

ISSN - 2175.8395



# Anais do VIII Workshop de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio

2014

Editores:  
Luiz Henrique Capparelli Mattoso  
Caue Ribeiro de Oliveira  
Humberto de Mello Brandão  
Marlene de Barros Coelho  
Daniel Souza Corrêa  
Maria Alice Martins

**Embrapa**

ISSN 2175-8395

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

**ANAIS DO VIII WORKSHOP DA REDE DE  
NANOTECNOLOGIA APLICADA AO AGRONEGÓCIO**

Maria Alice Martins  
Humberto de Mello Brandão  
Marlene de Barros Coelho  
Daniel Souza Corrêa  
Caue Ribeiro  
Luiz Henrique Capparelli Mattoso

**Editores**

Juiz de Fora, MG

2014

## Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

### **Embrapa Instrumentação**

Rua XV de Novembro, 1452  
Caixa Postal 741 - 13560-970 São  
Carlos-SP  
Fone: (16) 2107 2800  
Fax: (16) 2107 2902  
www.embrapa.br/instrumentacao  
cnpdia.sac@embrapa.br

### **Embrapa Gado de Corte**

Av. Rádio Maia nº 830, Zona  
Rural - 79106-550  
Campo Grande-MS  
Fone: (67) 3368-2000  
Fax: (67) 3368-2150  
www.embrapa.br/gado-de-corte  
cnpdc.sac@embrapa.br

### **Embrapa Gado de Leite**

Rua Eugênio do Nascimento, 610  
- Dom Bosco - 36038-330 Juiz de  
Fora - MG  
Fone: (32) 3311-7400  
Fax: (32) 3311-7401  
www.embrapa.br/gado-de-leite  
cnppl.sac@embrapa.br

### **Comitê de Publicações da Embrapa Instrumentação**

Presidente: João de Mendonça  
Naime  
Secretária-Executiva: Valéria de  
Fátima Cardoso  
Membros: Dra. Elaine Cristina  
Paris, Dra. Cinthia Cabral da  
Costa, Dra. Maria Alice Martins,  
Dra. Cristiane Sanchez Farinas.

### **Comitê de Publicações da Embrapa Gado de Corte**

Presidente: Pedro Paulo Pires  
Secretário-Executivo: Rodrigo  
Carvalho Alva  
Membros: Elane de Souza Salles,  
Valdemir Antônio Laura, Davi  
José Bungenstab, Andréa Alves  
do Egito, Roberto Giolo de  
Almeida, Guilherme Cunha  
Malafaia

### **Comitê de Publicações da Embrapa Gado de Leite**

Presidente: Elizabeth Nogueira  
Fernandes  
Secretário-Executivo: Fernanda  
Carolina Ferreira  
Membros: Francisco José da Silva  
Lédo, Isabele Uggeri Gabriel  
Moura, Kennya Beatriz Siqueira,  
Marcelo Henrique Otenio, Rui da  
Silva Verneque, Juliana Carine  
Gern

Revisor editorial: Valéria de Fátima Cardoso

Capa – Desenvolvimento: NCO; criação: Samuel Durães de Vasconcelos

Imagens da capa:

Imagem de MEV-FEG – Aline Roque, Viviane Soares  
Imagem de MEV-FEG – Amanda Chiuzoli, Viviane Soares  
Imagem de MEV-FEG – Caio Calvo, Viviane Soares  
Imagem de MEV-FEG – Ana Carolina Correa  
Imagem de MEV – Gilberto Souza, Viviane Soares  
Imagem de MEV – Poliana Spricigo, Viviane Soares  
Imagem de MEV-FEG – João Renato Arbex, Viviane Soares

## **1ª edição**

1ª impressão (2014): tiragem 50

Todos os direitos reservados.  
A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte,  
constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).  
CIP-Brasil. Catalogação-na-publicação.

Embrapa Instrumentação

---

Anais do VIII Workshop da rede de nanotecnologia aplicada ao agronegócio –  
2014 – São Carlos: Embrapa Instrumentação; Campo Grande: Embrapa Gado de Corte; Juiz  
de Fora: Embrapa Gado de Leite: Embrapa, 2014.

Irregular  
ISSN 2175-8395

1. Nanotecnologia – Evento. I. Martins, Maria Alice. II. Humberto de Mello Brandão. III.  
Marlene de Barros Coelho. IV. Daniel Souza Corrêa. V. Ribeiro, Caue. VI. Mattoso, Luiz Henrique  
Capparelli. VII. Embrapa Instrumentação. VIII. Embrapa Gado de Corte. IX. Embrapa Gado de Leite

---

© Embrapa 2014

## **Editores**

### **Maria Alice Martins**

Engenheira Química, D.Sc. em Química pela Universidade Estadual de Campinas.  
Pesquisadora da Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP

### **Humberto de Mello Brandão**

Médico Veterinário, D. Sc. Em Reprodução Animal pela Universidade de São Paulo.  
Pesquisador da Embrapa Gado de Leite

### **Marlene de Barros Coelho**

Engenheira Metalurgista, D. Sc. em Engenharia Metalúrgica e de Minas, UFMG.  
Pesquisadora na Embrapa Gado de Corte

### **Daniel Souza Corrêa**

Engenheiro de materiais, D.Sc. em Ciência de Materiais pela Universidade de São Paulo.  
Pesquisador da Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP

### **Caue Ribeiro**

Engenheiro de materiais, D.Sc. em Química pela Universidade Federal de São Carlos.  
Pesquisador da Embrapa Instrumentação, 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, São Carlos, SP



## **Agradecimentos**

A Rede AgroNano agradece a todos os seus membros e em particular os que participaram do Workshop com apresentação de trabalhos. Agradecemos igualmente às chefias da Embrapa Gado de Leite, Embrapa Gado de Corte e Embrapa Instrumentação, Unidades co-organizadoras deste evento; e aos gestores do Macroprograma 1, Dr. Jefferson Luis da Silva da Costa (2007 - 2011) e Dra. Patrícia Ianella (2011 – presente).

Agradecemos também ao comitê científico pela valorosa contribuição e à equipe responsável pela realização do evento, confecção e elaboração deste volume, em especial: Edilson Gabriel da Silva Junior, Amon Felipe Silva Santos, Amanda Soares Sousa, Suzane Ellen Bertoni, Ana Maria Felicori, Mônica Ferreira Laurito e Samuel Durães de Vasconcelos. A Rede AgroNano agradece a Aline Roque, Amanda Chiuzoli, Caio Calvo, Ana Carolina Correa, Gilberto Souza, Poliana Spricigo, João Renato Arbex e Viviane Soares pela cessão das imagens utilizadas na capa.

Rede AgroNano



## APRESENTAÇÃO

A aplicação ao Agronegócio é hoje um tópico central de todas as iniciativas brasileiras para o desenvolvimento da Nanotecnologia no Brasil. A Rede de Pesquisa em Nanotecnologia aplicada ao Agronegócio – Rede AgroNano – como pioneira nesta temática, estabeleceu ao longo de sua existência fóruns adequados para a discussão dos vários aspectos necessários para a efetiva adoção destes conhecimentos, como produtos e serviços pela sociedade. Assim, não somente aspectos da excelência técnica vêm sendo buscados, mas a integração entre diferentes atores – tanto instituições de pesquisa quanto do setor privado – e a formação de pessoal capacitado, para atender estas demandas.

A transversalidade do tema resultou em equipes de pesquisa transdisciplinares, inseridas em várias áreas do conhecimento e capazes de produzir continuamente resultados inovadores. Hoje, o desafio está em trazer à sociedade estes avanços, na forma de produtos e serviços, e alimentar a conexão entre áreas aparentemente tão díspares de forma a buscar contínua sinergia de esforços.

Os trabalhos deste Workshop são testemunha desta sinergia. Aplicações de sensores e biossensores no monitoramento de alimentos, solos e águas; filmes finos comestíveis e embalagens inteligentes para alimentos; bionanocompósitos; sistemas de liberação controlada de fármacos e insumos; estratégias de valoração de produtos agrícolas; avaliações de ciclo de vida e aspectos toxicológicos de nanopartículas e nanoestruturas; entre outros são exemplos que trazem imediatamente a importância de continuamente investir neste tema de fronteira aplicado a um dos setores econômicos de maior dinamismo e impacto para o país.

Desejamos a todos um bom Workshop 2014!

*Rede AgroNano*





## PREFÁCIO

A Nanotecnologia é uma ciência multidisciplinar emergente com potencial para trazer soluções inovadoras para diferentes setores estratégicos da economia, como por exemplo o Agronegócio. O aumento da demanda de alimentos e energia gerados em quantidade suficiente, de forma segura, com base em boas práticas agrícolas, e de formas sustentáveis, tornam-se desafios cada vez maiores para países em que a agricultura é a espinha dorsal da economia, como o Brasil. Neste cenário, a Nanotecnologia representa a oportunidade de revolucionar os sistemas agrícolas e alimentares. A sua ampla aplicabilidade permitirá inovações transformadoras gerando impactos nas áreas de segurança alimentar, qualidade e rastreabilidade de produtos, melhoria nos sistemas de distribuição inteligentes para nutrientes, pesticidas e medicamentos de uso animal, embalagens com maior desempenho, controle de precisão, redução da incidência de doenças, catalizadores para redução de poluição e limpeza de poluentes, entre outros.

A Embrapa foi uma das principais responsáveis pelo desenvolvimento de uma agricultura baseada em ciência, capitaneando juntamente com nossos parceiros, ações de pesquisa e desenvolvimento que nos levaram de nação importadora a grande produtora e exportadora de alimentos. Dentro dos novos desafios que se projetam no presente e futuro, a Embrapa tem exercido novamente participação fundamental nos avanços científicos e tecnológicos em Nano, uma vez que foi a responsável por catalisar e incubar a Rede de Pesquisa em Nanotecnologia aplicada ao Agronegócio – Rede AgroNano. Esta ampla Rede de Pesquisa materializou-se dentro da Embrapa na carteira de projetos do Macroprograma 1 – Grandes Desafios Nacionais no ano de 2006. Atualmente a Rede agrega pesquisadores, especialistas e estudantes de diferentes instituições de pesquisa e ensino de todo o Brasil, e colaboradores de importantes instituições internacionais. Este grupo vem se destacando por seu pioneirismo em aplicar a Nanociência na resolução dos problemas do Agronegócio – permeando desde o desenvolvimento de pesquisa básica à aplicada; produção e treinamento de força de trabalho em Nano; e forte

interlocução com um setor privado emergente altamente demandante de novas soluções.

Como toda iniciativa de fronteira do conhecimento, a Nanotecnologia também trará fortes questionamentos por parte da sociedade, sobre a segurança de suas aplicações. Novamente a Rede AgroNano se antecipa e já tem em andamento pesquisas em toxicologia e avaliação de riscos, evidenciando a seriedade e compromisso de seus pesquisadores e colaboradores com a sociedade.

O VIII Workshop da Rede de Nanotecnologias Aplicado ao Agronegócio reúne em seus Anais os resultados mais recentes dos esforços de pesquisa desta rede. Neste livro, poderemos encontrar trabalhos desenvolvidos com aplicação da nanotecnologia em sensores e biossensores, filmes, revestimentos comestíveis e embalagens funcionais, bionanocompósitos, novos materiais e processos, e aspectos de segurança, inovação e transferência de tecnologias em Nanotecnologias: uma amostra do potencial futuro que a nanociência pode proporcionar.

*Patrícia Ianella*

*Gestora do Macroprograma 1 – Grandes Desafios Nacionais.*

*Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento – DPD*

*Embrapa*

# SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1</b>	
<b>SENSORES E BIOSENSORES</b>	<b>25</b>
<hr/>	
SENSORES DE QUÍMICOS DE PANI/PSS: REPRODUTIBILIDADE DAS SUAS PROPRIEDADES ELÉTRICAS E SENSIBILIDADE	
G.S. Braga, F.J. Fonseca, L.H.C. Mattoso	27
<hr/>	
DESENVOLVIMENTO DE BIOSENSORES PLASMÔNICOS	
Linus Pauling F. Peixoto, Débora G. de Oliveira, Lídia A. Sena, Bráulio S. Archanjo, Gustavo F. S. Andrade	31
<hr/>	
FILMES NANOESTRUTURADOS BASEADOS EM NANOPARTÍCULAS DE OURO/FTALOCIANINAS PARA APLICAÇÃO EM SENSORES DO TIPO LÍNGUA ELETRÔNICA	
Luiza A. Mercante, Marcelo S. Nogueira, Daniel S. Correa, Luiz Henrique C. Mattoso	35
<hr/>	
NANOFIBRAS ELETROFIADAS DE BLENDA PA6/PAH PARA APLICAÇÕES EM SENSORES QUÍMICOS	
Luiza A. Mercante, Vanessa P. Scagion, Daniel S. Correa, Luiz Henrique C. Mattoso	38
<hr/>	
FILMES NANOESTRUTURADOS CONTENDO QUITOSANA PARA APLICAÇÃO COMO PLATAFORMA SENSORIAL	
Adriana Pavinatto, Luiza A. Mercante, Daniel S. Corrêa	40
<hr/>	
DESENVOLVIMENTO DE ARQUITETURAS NANOESTRUTURADAS PARA BIOSENSORES ELETROQUÍMICOS UTILIZANDO A TÉCNICA DE AUTOMONTAGEM	
Stanley E.R. Bilatto, Flávio M. Shimizu, Osvaldo N. Oliveira Jr., Odílio B.G.de Assis, Luiz H.C. Mattoso, Daniel S. Correa	42
<hr/>	
MICRO- E NANOFIBRAS DE POLIMETILMETACRILATO CONTENDO O POLÍMERO LUMINESCENTE MEH-PPV	
Aline P. Roque, Luiza A. Mercante, Vanessa P. Scagion, Juliano E. Oliveira, Luiz H. C. Mattoso, Leonardo De Boni, Cleber R. Mendonca, Daniel S. Correa,	45
<hr/>	
DETERMINAÇÃO VOLTAMÉTRICA DE ISOFLAVONAS TOTAIS E RUTINA EM GRÃOS, FOLHAS E RAIZES DE SOJA UTILIZANDO ELETRODO DE CARBONO VÍTREO	
Gabriella Magarelli, Thayanna M. Pedroza, Rosana S. Cavalcante, Jonatas G. da Silva, Luzia Helena C. Lima, Jurandir R. SouzaDe, Mercedes C. Carrão-Panizzi, Clarissa S. P. de Castro	48
<hr/>	
NANOFIBRAS POLIMÉRICAS DE PA6 E PA 6/PANI PARA APLICAÇÃO COMO CAMADA SENSITIVA EM SENSORES NANOESTRUTURADOS	
Vanessa P. Scagion, Karine Y. Sakamoto, Juliano E. Oliveira, Luiza Mercante, Luiz H. C. Mattoso, Marcos D. Ferreira, Daniel S. Corrêa	52
<hr/>	
CARACTERIZAÇÃO DE FILMES LBL DOS NANOCOMPÓSITOS HÍBRIDOS AGCL/ PANI	
Alexandra Manzoli, Luiza A. Mercante, Flávio M. Shimizu, Elaine C. Paris, Osvaldo N. Oliveira Jr., Daniel S. Corrêa, Luiz H. C. Mattoso	55
<hr/>	

ESTUDOS DE OTIMIZAÇÃO DE ETAPAS DA CONSTRUÇÃO DE UM BIOSSENSOR PARA DETECÇÃO DE SALMONELLA SPP. EM LEITE Aíris Maria Araújo Melo, Dalila Lima Alexandre, Maria de Fatima Borges, Evânia Altina Teixeira de Figueiredo, Carlucio Roberto Alves, Roselayne Ferro Furtado	58
SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES FINOS DE ZNO DEPOSITADOS POR DIP-COATING E EVAPORAÇÃO POR CANHÃO DE ELÉTRONS Alessandra Carla Mendes, Ariane Porto Ruiz, Máximo Siu Li, Elaine Cristina Paris, Luis H. C. Mattoso	62
<b>CAPÍTULO 2</b> <b>FILMES, REVESTIMENTOS COMESTÍVEIS E</b> <b>EMBALAGENS FUNCIONAIS PARA ALIMENTOS</b>	<b>67</b>
ADIÇÃO DE QUITOSANA EM FILMES A BASE DE GOMA DE CAJUEIRO: EFEITO SOBRE AS CARACTERÍSTICAS DE MOLHABILIDADE E MICROSCÓPICAS Odilio B. G. Assis, Carla S. Martins, Daniella L. Morgado	69
CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL E TÉRMICA DE BLENDS DE GOMA DE CAJUEIRO E QUITOSANA Odilio B. G. Assis, Carla S. Martins, Daniella L. Morgado	72
EFEITO DE DIFERENTES SOLVENTES SOBRE AS PROPRIEDADES CRISTALOGRÁFICAS DOS FILMES DE ZEÍNA Luana Gomes Cordeiro de Araújo, Eliton Souto Medeiros, Odilio Benedito Gomes Assis, Juliano Elvis Oliveira	76
AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO MECÂNICO DE FILMES COMESTÍVEIS INCORPORADOS COM MICROALGA <i>CHLORELLA VULGARIS</i> Amanda Vieira da Silva, Isaque Jerônimo Porto, Eliton Souto Medeiros, Jose Franciraldo de Lima, Juliano Elvis de Oliveira	80
PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO COMPLEXO DE INCLUSÃO DE ÓLEO DE ALHO COM B-CICLODEXTRINA Milena Gomes Barbosa da Silva, Isabela Cristina Barros Pereira, Roberta Ferreti Bonan, Luiz Henrique Capparelli Mattoso, Juliano Elvis Oliveira	83
AVALIAÇÃO DE FILMES COMESTÍVEIS DE MISTURAS DE K-CARRAGENANA, I-CARRAGENANA E ALGINATO Gabriela A. Paula <sup>1</sup> , Norma M. B. Benevides <sup>2</sup> , Arcelina P. Cunha <sup>2</sup> , Ana Vitória de Oliveira <sup>2</sup> , João Paulo S. Morais <sup>3</sup> , Henriette M. C. Azeredo <sup>4</sup> , Men de Sá M. Souza Filho	86
EFEITO DO PROCESSAMENTO E DAS CONDIÇÕES AMBIENTAIS NAS PROPRIEDADES MECÂNICAS DOS MATERIAIS BIODEGRADÁVEIS DE AMIDO DE AVEIA Melicia Cintia Galdeano, Allan Eduardo Wilhelm, Maria Vitória Eiras Grossmann, Suzana Mali, Carlos Wanderlei Piler de Carvalho, Mariane Maria de Souza	90
EFEITO DO PROCESSAMENTO E DAS CONDIÇÕES AMBIENTAIS NA SORÇÃO DE UMIDADE DOS MATERIAIS BIODEGRADÁVEIS DE AMIDO DE AVEIA Melicia Cintia Galdeano, Allan Eduardo Wilhelm, Maria Vitória Eiras Grossmann, Suzana Mali, Carlos Wanderlei Piler de Carvalho, Mariane Maria de Souza	94
ANÁLISES MICROSCÓPICAS DE BLENDAS DE QUITOSANA-EXTRATO ETANÓLICO DE CASCA DE PEQUI Caroline A. Breda, Daniella L. Morgado, Marta C. T. Duarte, Odilio B. G. Assis	98

PROPRIEDADES DE BARREIRA DE NANOCOMPÓSITOS PREPARADOS COM POLPA DE GOIABA	
Marcos Vinicius Lorevice, Marcia Regina de Moura, Caio Gomide Otoni, Luiz Henrique Capparelli Mattoso	102
<hr/>	
NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA UTILIZADAS NA MELHORIA DAS PROPRIEDADES MECÂNICAS DE FILMES COMESTÍVEIS	
Marcos Vinicius Lorevice, Marcia Regina de Moura, Caio Gomide Otoni, Luiz Henrique Capparelli Mattoso	105
<hr/>	
MINIATURIZAÇÃO DE PARTÍCULAS EM NANOEMULSÕES DE CINAMALDEÍDO NA MELHORIA DO DESEMPENHO ANTIMICROBIANO DE FILMES BIOPOLIMÉRICOS ATIVOS	
Caio G. Otoni, Márcia R. de Moura, Fauze A. Aouada, Geany P. Camilloto, Renato S. Cruz, Marcos V. Lorevice, Nilda de F. F. Soares, Luiz H. C. Mattoso	108
<hr/>	
REFINAMENTO DE EMULSÕES DE ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO ATRAVÉS DE ULTRASONICAÇÃO INFLUENCIA AS PROPRIEDADES MECÂNICAS DE FILMES DE METILCELULOSE	
Caio G. Otoni, Silvania F. O. Pontes, Eber A. A. Medeiros, Nilda de F. F. Soares	112
<hr/>	
DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA <i>SPIRULINA PLATENSIS</i>	
Anny Manrich, Beatriz da Cruz Mermejo, Jheyce Cristina Moraes, Juliano Elvis de Oliveira, Luiz Henrique Capparelli Mattoso Maria Alice Martins	116
<hr/>	
QUALIDADE PÓS-COLHEITA DE MAMÕES “GOLDEN” UTILIZANDO NANOEMULSÃO DE CERA DE CARNAÚBA	
Thaís L. Ohashi, Lucimeire Pilon, Poliana C. Spricigo, Marcela Miranda, Daniel S. Correa, Marcos D. Ferreira	120
<hr/>	
MUDANÇA NA COLORAÇÃO EM FILMES DE AMIDO ACRESCIDOS COM NANOFIBRAS DE EUCALIPTO E PÓ DE AÇAÍ	
Camila Miriam Moraes, Thaís Ferreira da Silva, Gustavo Denzin Tonoli, Kelen Cristina dos Reis	124
<hr/>	
SÍNTESE DE NANOEMULSÃO DE CERA VEGETAL E AVALIAÇÃO NA CONSERVAÇÃO PÓS-COLHEITA DE FRUTOS	
Marcela Miranda; Brenda Domhof; Marina De Mori Morselli Ribeiro; Poliana Cristina Spricigo; Lucimeire Pilon; Daniel Souza Corrêa; Marcos David Ferreira	128
<hr/>	
AVALIAÇÃO DA INTERAÇÃO DOS FILMES DE ZEÍNA COM ADIÇÃO DE NANOFIBRAS DE CELULOSE NO ORGANISMO DE RATOS MACHOS DA VARIEDADE WISTAR	
CORRÊA, T. R. A., SCRAMIN, J. A., BIFFE, B., WANG, C.C., NONAKA, K. O., FORATO, L.A., BERNARDES-FILHO, R..	132
<hr/>	
OTIMIZAÇÃO NO MÉTODO DE PREPARO DE NOVOS FILMES COMESTÍVEIS CONTENDO POLPA DE CACAU	
Marcia R. de Moura, Thainara L. Castro, Luiz H. C. Mattoso	135
<hr/>	
PROPRIEDADES DE BARREIRA E MECÂNICAS DE NANOCOMPÓSITOS CONTENDO ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO	
Ronaldo S. Sasaki, Márcia R. de Moura	139
<hr/>	
ANÁLISE DA INIBIÇÃO MICROBIOLÓGICA OBTIDA UTILIZANDO FILME DE PECTINA COM NANODISPERSÃO DE ÓLEO DE CRAVO	
Ronaldo S. Sasaki, Luiz H. C. Mattoso, Márcia R. de Moura	142
<hr/>	

SOLUÇÕES CONSERVANTES A BASE DE QUITOSANA NANOPARTICULADA NA PÓS-COLHEITA DE <i>GERBERA JAMESonii</i> Poliana Cristina Spricigo, Jéssica Prada Trento, Lucimeire Pilon, Márcia Regina de Moura Aouada, Luiz Henrique Capparelli Mattoso, Daniel Souza Corrêa; Marcos David Ferreira.	145
FILMES DE AMIDO, GOMA DE CAJUEIRO E MONTMORILONITA. PARTE 1. INFLUÊNCIA DO TEOR DE ARGILA E DO TEMPO DE SONICAÇÃO SOBRE AS PROPRIEDADES DOS FILMES. Aláides M. B. Pinto, Talita M. Santos, Carlos Alberto Caceres, Edson N. Ito., Henriette M. C. Azeredo	149
FILMES DE AMIDO, GOMA DE CAJUEIRO E MONTMORILONITA. PARTE 2. APLICAÇÃO COMO REVESTIMENTO DE AMÊNDOAS DE CASTANHAS DE CAJU Aláides M. B. Pinto, Talita M. Santos, Janice R. Lima, Henriette M. C. Azeredo	153
FILMES DE EMULSÕES DE AMIDO E GOMA DE CAJUEIRO COM CERA DE CARNAÚBA – EFEITOS DAS PROPORÇÕES SOBRE AS PROPRIEDADES Delane C. Rodrigues, Carlos A. Caceres, Hálisson L. Ribeiro, Henriette M. C. Azeredo	156
FILMES DE HEMICELULOSES DE PALHA DE TRIGO – EFEITOS DO ÁCIDO CÍTRICO Charis Kontou-Vrettou, Keith Waldron, Graham K. Moates, Nikolaus Wellner,, Henriette M. C. Azeredo	160
MODIFICAÇÃO QUÍMICA DE NANOCRISTAIS DE CELULOSE BACTERIANA José Clauber Vieira Almeida, Niédja Fittipaldi Vasconelos, Lílian Chayn Alexandre, Men de Sá Moreira de Souza Filho, João Paulo Saraiva Morais, Morsyleide de Freitas Rosa	164
ANÁLISE TOXICOLÓGICA EM RATOS Wistar DE REVESTIMENTOS COMESTÍVEIS A BASE DE KAFIRINAS E NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA. Juliana Aparecida Scramin, Tassiane Regina Alves Corrêa, Bruna Biffe, Charles Chenwei Wang, Keico Okino Nonaka, Rubens Bernardes-Filho, José Avelino Santos Rodrigues, Lucimara Aparecida Forato.	168
AVALIAÇÃO DE FILMES CELULÓSICOS, COM FUNÇÃO ATIVA ANTIOXIDANTE, COMO EMBALAGEM PARA CARNE COZIDA Joice C. Resende, Victor G. L. Souza, Nilda de Fátima Ferreira Soares, Eber Antonio A. Medeiros, Ana Flávia R. Costa, Lucas P. Domenez, Luciano B. Rusciolelli	171
COMPORTAMENTO REOLÓGICO DE NANOCOMPÓSITOS (POLIETILENO/ MONTMORILONITA) Johnson C. P. Santos, Nilda De Fátima F. Soares, Victor Gomes Lauriano de Souza, Cícero Cardoso Pola, Allan Robledo Fialho e Morais, José Antônio Queiroz Lafetá Jr., Renata Silva Diniz, Angélica Ribeiro da Costa Rita C. S. Sousa, Jane Sélia Reis Coimbra	175
AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DE MORANGOS EMBALADOS COM FILMES DE PEBD COM NANOPARTÍCULA DE PRATA Fernanda da Cunha Puti, Aline Aparecida Becaro, Daniel Souza Corrêa,, Marcos David Ferreira	179
FILME CELULÓSICO ANTIFÚNGICO PARA CONTROLE DE <i>ASPERGILLUS FLAVUS</i> EM AMENDOIM Victor G. L. Souza, Flávia C. F. Demuner, Luciano B. Rusciolelli, Cícero C. Pola Nilda de Fátima F. Soares, Nathália R. de Melo, Washington A. da Silva, Eber Antonio A. Medeiros.	182

ESTUDO DAS PROPRIEDADES MECÂNICAS E DE BARREIRA EM FILMES DE GELATINA E GALACTOMANANA INCORPORADOS COM NANOCELULOSE DE FIBRA DE ALGARROBA ( <i>PROSOPIS JULIFLORA</i> )	
Mabel Ribeiro da Cruz, Edla Freire Melo, Men de Sá Moreira de Souza Filho,, Henriette Monteiro Cordeiro de Azeredo	186
EFEITO DO ULTRASSOM DE PONTA NO PREPARO DE FILMES DE AMIDO COM DE ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO E ACEROLA	
Monica Guimarães Farias, Edla Maria Bezerra Lima, Antonieta Middea, Carlos Wanderlei Piler Carvalho, Aline Borges de Oliveira.	190
<b>CAPÍTULO 3</b>	
<b>BIONANOCOMPÓSITOS</b>	<b>195</b>
CARACTERIZAÇÃO DE NANOCRISTAIS DE CELULOSE POR MICROSCOPIA DE FORÇA ATÔMICA.	
Góes, T. S., Hausen, M., Rosa, M. F., De Menezes, A. J., Mattoso, L. H. C., Leite, F. L.	197
PROPRIEDADES DE FILMES CELULÓSICOS NANOESTRUTURADOS PRODUZIDOS A PARTIR DE POLPA <i>KRAFT</i> DE <i>PINUS SP.</i>	
Lívia Cássia Viana, Graciela Ines Bolzon de Muniz, Washington Luiz Esteves Magalhães	200
MORFOLOGIA E PROPRIEDADES FÍSICAS DE NANOCOMPÓSITOS PECTINA – PALIGORSQUITA	
Francys K. V. Moreira, Alfredo R. S. Neto, José M. Marconcini, Luiz H. C. Mattoso,, Edson N. Ito	204
PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA DE FILMES DE FARINHA DE MANDIOCA E DE FARINHA DE TARO INCORPORADOS DE ZEÓLITA MODIFICADA	
Andresa Viana Ramos, Carlos Wanderlei Piler de Carvalho, Verônica Maria de Araújo Calado	208
COMPÓSITOS BIODEGRADÁVEIS DE POLI(ÁCIDO LÁTICO) E FIBRA DE CURAUÁ: TRATAMENTO E COMPATIBILIZAÇÃO DAS FIBRAS.	
Alfredo R. Sena Neto, Luiz H. C. Mattoso, José M. Marconcini	211
ESTUDO DE FIBRAS DE FOLHAS DE ABACAXIS VISANDO PRODUÇÃO DE COMPÓSITOS POLIMÉRICOS	
Alfredo R. Sena Neto, Marco A.M. Araujo, Fernanda V. D. Souza, Luiz H. C. Mattoso, José M. Marconcini	215
ESTUDO MORFOLÓGICO DO NANOCOMPÓSITO POLIETILENO DE BAIXA DENSIDADE/NANOFIBRAS DE ALGODÃO (PEBD/NC)	
Kelcilene B. R. Teodoro, Ana Carolina Corrêa, Eliangela de M. Teixeira, José Manoel Marconcini, Luiz Henrique Capparelli Mattoso	219
ESTUDO DAS PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS DOS CLONES PC 119, PM 10, PB 291, E RRIM 600	
Maycon Jhony Silva, Rogério Manoel Biagi Moreno, Erivaldo J. Scaloppi Jr., Paulo de Souza Gonçalves, Luiz Henrique Capparelli Mattoso, Maria Alice Martins	222
CARACTERIZAÇÃO DE NANOCOMPÓSITOS DE NANOFIBRAS DE CELULOSE E BORRACHA NATURAL	
Suelen Zenatti, Morsyleide de Freitas Rosa, Rogério M. B. Moreno, Erivaldo José Scaloppi Junior, Paulo de Souza Gonçalves, Luiz Henrique C. Mattoso, Maria Alice Martins	226



<b>ESTRUTURAS SUPRAMOLECULARES DE A-LACTOALBUMINA E GLICOMACROPETÍDEO: SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO</b> Renata Silva Diniz, Jane Sélia dos Reis Coimbra, Luiza Helena Meller da Silva, Angélica Ribeiro da Costa, Adenilson Abranches Monteiro, José Antônio de Queiroz Lafetá Júnior, Johnson Clay Pereira Santos, Igor José Boggione Santos	230
<b>AVALIAÇÃO DE FILMES DE GOMA DE CAJUEIRO ELETRODEPOSITADOS EM SUPERFÍCIE DE PLATINA</b> Emanuela I. P.L. Chaves, Rubênia S. Monte, Ana Cláudia M. Mariano, Paulo R. V. Ribeiro, Celli R. Muniz, Carlúcio R. Alves, Roselayne F. Furtado	233
<b>CARACTERIZAÇÃO DE GOMA DE CAJUEIRO SUBMETIDA A PROCESSO DE RETICULAÇÃO</b> Ana Cláudia Moura Mariano, Francisco Wanderson Moreira Ribeiro, Luana Guabiraba Mendes, Carlucio Roberto Alves, Roselayne Ferro Furtado	237
<b>NANOFIBRAS DE CELULOSE MICROFIBRILADA DE MADEIRA DE EUCALIPTO: EXTRAÇÃO MECÂNICA E APLICAÇÃO EM FILMES DE AMIDO</b> Thaís Ferreira da Silva, Alessandra de Souza Fonseca, Janyelle Severino Alves, Gustavo Denzin Tonoli, Kelen Cristina dos Reis.	240
<b>CARACTERIZAÇÃO LIGNOCELULÓSICA DE FIBRAS DE FOLHAS DE ABACAXIS SILVESTRES E HÍBRIDOS.</b> Raiza Maria Prado Barboza, Alfredo Rodrigues de Sena Neto, Fernanda Vidigal Duarte Souza, Luis Henrique Capparelli Mattoso, José Manoel Marconcini.	244
<b>EXTRATO DE ALGAROBA COMO FONTE ALTERNATIVA PARA PRODUÇÃO DE CELULOSE BACTERIANA</b> E. S. Nascimento, H. S. L. Lima, F. K. Andrade, A. I. S. Brígida, M. F. Borges, J. P. S. Morais, C. R. Muniz, M. S. M. Souza Filho, M. F. Rosa	248
<b>OBTENÇÃO DE NANOCRISTAIS DE CELULOSE BACTERIANA</b> Niédja Fittipaldi Vasconcelos, José Clauber Vieira Almeida, Lílian Chayn Alexandre, Men de Sá Moreira de Souza Filho, João Paulo Saraiva Morais, Morsyleide de Freitas Rosa	251
<b>PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE CELULOSE BACTERIANA OBTIDA A PARTIR DO LÍQUIDO DE SISAL</b> H. S. L. Lima, E. Nascimento, A. I. Brígida, F. K. Andrade, M. F. Borges, C. R. Muniz, L. C. Alexandre, A. R. Cassales, J. P. S. Morais, M. F. Rosa	255
<b>NOVA ABORDAGEM PARA OBTENÇÃO DE NANOWHISKERS DE CELULOSE DA FIBRA DE COCO</b> J. S. ALMEIDA, D. M. NASCIMENTO, A. F. dias, M. C. B. FIGUEIRÊDO, M. S. M. SOUZA FILHO, M. F. ROSA	259
<b>CARACTERIZAÇÃO DA NOVOCELULOSE DA FIBRA DE COCO OBTIDA POR DIFERENTES MÉTODOS</b> Jessica S. Almeida, Amanda F. Dias, Diego M. Nascimento, Maria C. Brito de Figueiredo, Celli R. Muniz, Men de Sá Moreira de Souza Filho, Morsyleide F. Rosa	262
<b>AVALIAÇÃO DA ECO-EFICIÊNCIA DO SISTEMA DE BIORREFINARIA DA FIBRA DA CASCA DO COCO VERDE</b> Amanda F. Dias, Jessica S. Almeida, Diego M. Nascimento, Maria C. Brito de Figueiredo, Morsyleide F. Rosa.	265
<b>CARACTERIZAÇÃO DE COLMOS DE <i>GUADUA WEBERBAUERI</i> PILGER</b> José Rubens Angelloto, João Paulo Saraiva Morais, Celli Rodrigues Muniz, Lílian Chayn Alexandre, Ana Ribeiro Cassales, André Luís Sousa Pereira, Elias Melo de Miranda, Andrea Raposo, Morsyleide de Freitas Rosa	268

EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOCRISTAIS DE CELULOSE DE <i>GUADUA WEBERBAUERI</i> PILGER Rayane Rodrigues de Sousa, Diego Magalhães do Nascimento, Niédja Fittipaldi Vasconelos, João Paulo Saraiva Morais, Lílian Chayn Alexandre, Ana Ribeiro Cassales, Elias Melo de Miranda, Andrea Raposo, Morsyleide de Freitas Rosa	272
ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE LIGNINA ACETOSOLV DE FIBRA DA PRENSAGEM DO DENDÊ Jéssica Miranda Abreu, Nágila Freitas Souza, João Paulo Saraiva Morais, Celli Rodrigues Muniz, Lílian Chayn Alexandre, Men de Sá Moreira de Souza Filho, Morsyleide de Freitas Rosa	275
EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOESTRUTURAS DE FONTES RENOVÁVEIS João Paulo Saraiva Morais, Men de Sá Moreira de Souza Filho, Lílian Chayn Alexandre, Ana Ribeiro Cassales, Morsyleide de Freitas Rosa	279
APROVEITAMENTO DOS RESÍDUOS DA MANGA <i>TOMMY ATKINS</i> PARA O DESENVOLVIMENTO DE BIOPLÁSTICO Cordeiro, E. M. S., Nobre, P. A., Mattos, A. L. A., Souza Filho, M. S. M., Morais, J. P. S., Rosa, M. F., Ito, E. N.	282
MELHORIA DAS PROPRIEDADES MECÂNICAS E DE BARREIRA DE FILMES DE POLI (ÁLCOOL VINÍLICO) PELA ADIÇÃO DE NANOCELULOSE OBTIDA DE PSEUDOCAULE DE BANANEIRA André Luís Sousa Pereira, Judith Pessoa de Andrade Feitosa, Lílian Chayn Alexandre, Men de Sá Moreira de Souza Filho, João Paulo Saraiva Morais, Morsyleide de Freitas Rosa	287
NANOCELULOSE DE LÍNTER DE ALGODÃO: ANÁLISE DO RESÍDUO DO PROCESSO André Luís Sousa Pereira, José Clauber Almeida, Men de Sá Moreira de Souza Filho, João Paulo Saraiva Morais, Ana Ribeiro Cassales, Morsyleide de Freitas Rosa	290
COMPÓSITOS POLIMÉRICOS REFORÇADOS COM FIBRAS DE ABACAXI HÍBRIDO EM UMA MATRIZ DE POLI (ÁCIDO LÁTICO). Pedro Ivo Cunha Claro, Alfredo Rodrigues de Sena Neto, Luiz Henrique Capparelli Mattoso, José Manoel Marconcini	293
AValiação DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA FIBRA DE SURUCUCUMIRÁ Jessica Romanatto, José Manoel Marconcini, Alessandra de Almeida Lucas, Antenor Pereira Barbosa, Luiz Henrique Capparelli Mattoso, Maria Alice Martins	296
CRESCIMENTO DO FILME POLIPIRROL/GOMA DE CAJUEIRO SOBRE SUPERFÍCIE DE OURO Rubênia S. Monte, Roselayne F. Furtado, Emanuela I. P. L. Chaves, Carlucio R. Alves	299
ESTUDO DA DISPERSÃO DE NANOTUBOS DE CARBONO EM MATRIZ POLIMÉRICA BIODEGRADÁVEL DE POLI (ÁCIDO LÁTICO) – PLA. Wagner M. Pachekoski, Alfredo Sena, Daniela Becker, José M. Marconcini, Luiz H.C. Mattoso.	303
NANOFIBRAS DE CELULOSE MICROFIBRILADA DE MADEIRA DE EUCALIPTO: APLICAÇÃO EM FILMES DE QUITOSANA Nathane Silva Resende, Eduardo Valério de Barros Vilas Boas, Gustavo Henrique Denzin Tonoli, Kelen Cristina dos Reis.	307
BRANQUEAMENTO DE RÁQUIS E CASCAS DE MACAÚBA ( <i>ACROCOMIA ACULEATA</i> (JACQ.) LODD. EX MART) VISANDO A OBTENÇÃO DE CELULOSE Fábio Galvani, Grazielly Munhões Sorrilha, Vitor Brait Carmona, José Manoel Marconcini, Simone Palma Favaro	310

PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOESTRUTURAS PROTEICAS FORMADAS POR A-LACTOALBUMINA E LISOZIMA Adenilson Abranches Monteiro, Jane Sélia dos Reis Coimbra, Angélica Ribeiro da Costa, Renata Silva Diniz	314
DETERMINAÇÃO DE GRUPOS FUNCIONAIS E SÍTIOS ÁCIDOS DO POLIHIDROXIBUTIRATO (PHB) E DE COMPÓSITOS PHB/CASCA DE CAFÉ Ana Carolina Cortez Lemos, Kelen Cristina dos Reis, Joaquim Paulo da Silva, Teodorico de Castro Ramalho	317
EFEITOS ESTRUTURAIS, DE CONFORMAÇÃO E ORIENTACIONAIS NA INTERAÇÃO DE QUITOSANA E MODELOS DE MEMBRANA CELULAR A. Pavinatto, A. L. Souza, J.A.M. Delezuk, F. J. Pavinatto, S. P. Campana-Filho, O. N. Oliveira Jr.	321
<b>CAPÍTULO 4</b> <b>NOVOS MATERIAIS E PROCESSOS EM NANOTECNOLOGIA E SUAS APLICAÇÕES NO AGRONEGÓCIO</b>	<b>325</b>
DOPAGEM DE ZNO COM N (ZNO:N) E APLICAÇÃO EM PROCESSOS FOTOCATALÍTICOS Ivan Mouritys Pereira Silva, Gabriela Byzynski Soares, Caue Ribeiro de Oliveira, Elson Longo	327
ELETRODOS DE SRTIO <sub>3</sub> ATRAVÉS DE MÉTODO MODIFICADO DE PRECURSORES POLIMÉRICOS Marina Raschetti, Gabriela Byzynski Soares, Caue Ribeiro de Oliveira, Elson Longo	331
ESTUDO DA INTERAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA COM ANTIBIÓTICOS POR TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS E DA AÇÃO ANTIBACTERIANA <i>IN VITRO</i> DESTES MATERIAIS Aline Luciano Filgueiras, Diego Paschoal, Mariana Lopes, Marina Barros Campos, Cláudio Galuppo Diniz, Hélio Ferreira dos Santos, Antonio Carlos Sant'Ana	335
AValiação de diferentes resíduos agroindustriais para a produção da celulose bacteriana por <i>GLUCONACETOBACTER HANSENI</i> L.M.F. GOTTSCHALK, I.R. BARBOSA, E.F. SOUZA, A.I.S. BRIGIDA, E.M. PENHA, E.M.M. OLIVEIRA	339
ESTUDO DA LIBERAÇÃO CONTROLADA DO HERBICIDA AMETRINA EM COMPÓSITOS À BASE DE PVA – CARVÃO ATIVADO Ricardo Bortoletto-Santos, Caue Ribeiro	344
MODELOS CINÉTICOS DE ABSORÇÃO DE ÁGUA EM ESPUMAS DE PVA OBTIDAS POR FREEZE DRYING Isabela Cristina Barros Pereira, Milena Gomes Barbosa da Silva, Luiz Henrique Capparelli Mattoso, Eliton Souto Medeiros, Juliano Elvis Oliveira	348
PROPRIEDADES ANTIMICROBIANAS DAS NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA ENCAPSULADAS COM CLOREXIDINA Isaque Jerônimo Porto, Allan Reis Albuquerque, Roberta Ferreti Bonan, Eliton Souto Medeiros, Luiz Henrique Capparelli Mattoso, Juliano E. Oliveira	352
HETEROESTRUTURAS DE WO <sub>3</sub> :TiO <sub>2</sub> APLICADAS NA FOTODEGRADAÇÃO DE CORANTES Oliveira, J.A., Castro, I. A., Paris, E. C., Ribeiro, C., Giraldi, T. R., Poirier, G. Y.	355

NANOPARTÍCULAS LIPÍDICAS SÓLIDAS COMO CARREADOR PARA OS HERBICIDAS ATRAZINA E SIMAZINA: PREPARO E CARACTERIZAÇÃO Jhones Luiz Oliveira, Estefânia V. R. Campos, Camila Morais Gonçalves da Silva, Tatiane Pasquoto, Renata Lima, Leonardo Fernandes Fraceto	359
INCREMENTO DA ADESÃO SUPERFICIAL DE MADEIRA POR MEIO DE PLASMA A FRIO Pedro Henrique Gonzalez de Cademartori, Graciela Inês Bolzon de Muniz, Washington Luiz Esteves Magalhães	363
AValiação fotocatalítica de nanossemicondutores baseados em óxidos de zinco e cobalto obtidos por moagem de alta energia Dias, J.A, GiralDI, T.R, Ramos, A.S, Minucci, M.Z, Arantes, V.L, Maestrelli, S.C.	367
AValiação da quantidade de passes na obtenção de MFC'S e sua influência nas propriedades mecânicas de papéis kraft Elaine Cristina Lengowski, Washington Luiz Esteves Magalhães, Graciela Inês Bolzon de Muniz	371
NOVOS NANOCOMPÓSITOS FERTILIZANTES NITROGENADOS DE LIBERAÇÃO LENTA: O IMPACTO DE POLÍMEROS NAS PROPRIEDADES E APLICAÇÃO Elaine I. Pereira, Camila C. T. da Cruz, Caue Ribeiro	373
AValiação da atividade antibacteriana de filmes finos de quitosana/nanopartículas de própolis contra <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> Rejane C. Goy, Márcia C. R. S. Ferreira, Rubens B. Filho	377
FORMAÇÃO DE NANOESTRUTURAS DE A-LACTOALBUMINA COM GOMA ACÁCIA POR UM PROCESSO VERDE E SUA CARACTERIZAÇÃO Fábíola Cristina de Oliveira, Jane Sélia dos Reis Coimbra, Rachel Campos Sabioni, Eduardo Basílio de Oliveira, Mariana Helena Cardoso Costa, Igor José Boggione Santos	380
SÍNTESE DO BIVO <sub>4</sub> E APLICAÇÃO NA FOTODEGRADAÇÃO DE AZUL DE METILENO SOB RÁDIAÇÃO VISÍVEL Osmando F. Lopes, Vagner R. de Mendonça, Waldir Avansi, Caue Ribeiro	384
DESENVOLVIMENTO DE MATRIZ BIODEGRADÁVEL PARA O ENCAPSULAMENTO DE HERBICIDA. Adriana de Campos, Camila M. Zequine, Amanda S. Giroto, Caue Ribeiro, José M. Marconcini	388
SÍNTESE DE NANOCOMPÓSITOS UTILIZADOS PARA LIBERAÇÃO LENTA DE FOSFATOS MINERAIS Amanda S. Giroto, Caue Ribeiro	392
CARACTERIZAÇÃO DO FERTILIZANTE SUPERFOSFATO SIMPLES – UM ESTUDO SOBRE O EFEITO DA MOAGEM SOBRE A CINÉTICA DE SOLUBILIZAÇÃO Fábio Plotegher, Caue Ribeiro	395
SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE FASES FOSFÁTICAS MINERAIS: HIDROXIAPATITA E FLUORAPATITA. Fábio Plotegher, Isabela Pezzopane Cobra e Caue Ribeiro	399
MOAGEM E CARACTERIZAÇÃO DE UMA ROCHA FOSFÁTICA NATURAL (BAYOVAR) COM POTENCIAL USO PARA FERTILIZAÇÃO DIRETA. Fábio Plotegher, Caue Ribeiro	403

OTIMIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINCO OBTIDO VIA MÉTODO HIDROTÉRMICO	
Rafaela da Silveira André, Bruno Mascarenhas, Daniel Souza Corrêa, Elaine Cristina Paris, Luiz H. C. Mattoso	407
AVALIAÇÃO DO USO DE NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA NA COAGULAÇÃO/F-LOCULAÇÃO DE MICROALGAS CRESCIDAS EM EFLUENTE SUINÍCOLA	
Francisco Noé da Fonseca, William Michelon, Melissa Paola Mezzari, Márcio Luís Busi da Silva	411
ANÁLISE DA SOLUBILIDADE DE NANOPARTÍCULAS DE HIDROXIAPATITA PARA APLICAÇÃO COMO FONTE DE FÓSFORO	
Camila R. Sciena, Maria F. Santos, Cauê Ribeiro, Daniel S. Corrêa, Elaine C. Paris	414
EFEITO DO POLIETILENOGLICOL NAS NANOFIBRAS DE POLI(ÁCIDO LÁTICO)	
Rafaella T. Paschoalin, Glaucia S. Brich, Juliano E. Oliveira, Luiz H. C. Mattoso	418
SÍNTESE DE NANOESTRUTURAS ATIVAS CONTENDO ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO	
Juliana R. Souza, Márcia R. de Moura, Daniel S. Corrêa, Luiz H. C. Mattoso	422
EFEITO ENCAPSULANTE DA SS-CICLODEXTRINA EM NANOFIBRAS DE POLI(ÁCIDO LÁTICO)(PLA) OBTIDAS POR FIAÇÃO POR SOPRO EM SOLUÇÃO (SBS)	
Gláucia Silveira Brichi, Juliano Elvis de Oliveira, Luiz Henrique Capparelli Mattoso	426
CARACTERIZAÇÃO HIDROFÍLICA E CINÉTICA DE NANOCOMPÓSITOS ESTRUTURADOS	
Adriel Bortolin, Fauze Ahmad Aouada, André R. T. Serafim, Caue Ribeiro, Luiz Henrique Capparelli Mattoso	429
OBTENÇÃO DE NANOCOMPÓSITOS DE CELULOSE BACTERIANA E HIDROXIAPATITA A PARTIR DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS	
Eden Batista Duarte, Maria Fátima Borges, Men de Sá M. Souza Filho, Fábila Andrade, Judith P. A. Feitosa, Celli Rodrigues Muniz, Ana I S. Brígida, João Paulo Saraiva Moraes, Morsyleide F. Rosa	432
PAINÉIS PRODUZIDOS A PARTIR DA CASCA DO COCO VERDE SEM ADIÇÃO DE RESINAS SINTÉTICAS	
Celso P. Araújo Junior, Carlos A. Cáceres, Adriano L. A. Mattos, Men de Sá M. Souza Filho, Judith P. A. Feitosa, Celli R. Muniz, Morsyleide F. Rosa	436
RELAÇÃO IDEAL ENTRE TI:N NO PROCESSO DE DOPAGEM DE $TiO_2$ COM N PARA MELHORIA DA ATIVIDADE FOTOCATALÍTICA	
FORMAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E ESTABILIDADE DAS NANOESTRUTURAS DE CONJUGADOS DE $\beta$ -LACTOGLOBULINA COM GOMA ARÁBICA	
Fabíola Cristina de Oliveira, Jane Sélia dos Reis Coimbra, Rachel Campos Sabioni, Eduardo Basílio de Oliveira, Igor José Boggione Santos, Mariana Helena Cardoso Costa	444
OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE SÍNTESE DE HIDROGÉIS NANOCOMPÓSITOS BIODEGRADÁVEIS	
Helena A. G. B. de Araújo, Luiz H. C. Mattoso, Fauze A. Aouada	448
CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA PELA TÉCNICA DE ESPALHAMENTO DE LUZ DINÂMICO (DLS)	
Mendes, J. E., Camargo, E. R., Sousa, C. P., Pessoa, J. D. C.	451

NANOFIBRAS DE PLA/TIO <sub>2</sub> PREPARADAS PELO MÉTODO DE FIAÇÃO POR SOPRO EM SOLUÇÃO: CARACTERIZAÇÃO TÉRMICA E MORFOLÓGICA Gláucia S. Brichi, Rodrigo G. F. Costa, Caue Ribeiro, Luiz H.C. Mattoso	455
NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS NA LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACOS Freitas, J. C. de, Campos, M. G. N., Escolano, A. M., Marques, R. F. C.	458
OBTENÇÃO DE PÓS E FILMES NANOESTRUTURADOS À BASE DE ÓXIDO DE ZINCO Ariane Porto Ruiz, Rafaela da Silveira André, Alessandra Carla Mendes, Elaine Cristina Paris	462
ESTUDO DA SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE MAGNETITA PELO MÉTODO SOLVOTÉRMICO A PARTIR DE CLORETO DE FERRO E FERRO METÁLICO Fernando Barbosa de Freitas Silva, Caue Ribeiro Oliveira, Elaine Cristina Paris, Geraldo Magela da Costa	466
OTIMIZAÇÃO DA SÍNTESE DE ÓXIDO CÚPRICO: USO DE SURFACTANTE Lílian Cruz Santos, Flávia Stefanini Ribeiro, Elaine C. Paris	469
SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS ESFÉRICAS E MONODISPERSAS DE SÍLICA Amanda Chiuzoli Silva, Alessandra Carla Mendes, Caue Ribeiro, Elaine Cristina Paris	473
FOTOCATÁLISE DE PESTICIDAS EM ÁGUA PELO NB <sub>2</sub> O <sub>5</sub> HIDROTERMAL Érico Daniel Witzel dos Reis, Luiz Ferreira Neves Junior, Elaine Cristina Paris	475
ESTUDO DE NANOCOMPÓSITOS DE HIDROXIAPATITA/NB <sub>2</sub> O <sub>5</sub> NA FOTODEGRADAÇÃO DE PESTICIDAS Henrique Cesar Musetti, Tamires Barcellos Fonseca, Luiz Ferreira Neves Júnior, Érico dos Reis, Elaine Cristina Paris	480
LIBERAÇÃO LENTA DE NUTRIENTES A PARTIR DE NANOCOMPÓSITOS CARREGADOS COM ARGILOMINERAIS André R. T. Serafim, Adriel Bortolin, Fauze Ahmad Aouada, Caue Ribeiro, Luiz Henrique Capparelli Mattoso	484
NANOCOMPÓSITOS A BASE DE AMIDO-ARGILA APLICADOS A LIBERAÇÃO CONTROLADA DE HERBICIDA Camila C. T. Cruz, Amanda S. Giroto, Adriana de Campos, Elaine I. Pereira, José M. Marconcini, Caue Ribeiro	488
AValiação MORFOLÓGICA DE NANOFIBRAS DE PLA OBTIDAS POR FIAÇÃO POR SOPRO EM SOLUÇÃO UTILIZANDO O SOLVENTE DIMETILCARBONATO Delne Domingos da Silva Parize, Juliano Elvis de Oliveira, José Manoel Marconcini, Luiz Henrique Capparelli Mattoso	491
CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E MORFOLÓGICA DE ANTIBIÓTICO B-LACTÂMICO ENCAPSULADO EM NANOPARTICULAS PARA O TRATAMENTO DE INFECÇÕES BOVINAS R. G. Castanheira, R. S. Araújo, L. T. Oliveira, G. M. Garcia, J. M. C. Vilela, H. M. Brandão, V. C. F. Mosqueira	495
AFM CHARACTERIZATION OF PEG-BLOCK-PLA BIODEGRADABLE NANOPARTICLES Giani Martins Garcia, Margareth Spangler Andrade, José Mário Carneiro Vilela, Patrice Hildgen, Vanessa Carla Furtado Mosqueira	499

POLY(D, L-LACTIDE)- CHITOSAN NANOCAPSULES MORPHOLOGICAL FEATURES	L.T. Oliveira, G.M. Garcia, J.M.C. Vilela, M.S. Andrade, V.C.F. Mosqueira	502
ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE NANOPARTÍCULAS DE PRÓPOLIS CONTRA ALGUMAS BACTÉRIAS COMUNS EM CONTAMINAÇÃO DE CARNE	Alves, H. C., Martins, J. T., Bernardes-Filho, R., Sousa, C. P., Teixeira, J. A., Vicente, A. A.	505
CO-PRECIPITAÇÃO <i>IN SITU</i> DE BIOHÍBRIDOS MULTIFUNCIONAIS BASEADOS EM CARBOXIMÉTIL-DEXTRANA E HIDRÓXIDO DUPLO LAMELAR	Francys K. V. Moreira, David Britt, Roberto J. A. Bustillos, Tara H. McHugh, José M. Marconcini, Luiz H. C. Mattoso	509
ESTUDO DA ESTABILIDADE DE VITAMINAS NANOENCAPSULADAS EM SUSPENSÃO AQUOSA E EM SUBSTRATOS SÓLIDOS (FUBÁ)	Flávia G. Pinola, Douglas de Britto, Lícia M. Lundstedt, Odilio B.G. Assis, Luiz H.C. Mattoso	512
NANOPARTÍCULAS DE TRIMETIL QUITOSANA. I - CARACTERIZAÇÃO E EFICÁCIA DE ENCAPSULAMENTO DE VITAMINAS HIDROSSOLÚVEIS	Douglas de Britto, Marcia R. de Moura, Fauze A. Aouada, Flávia G. Pinola, Lícia M. Lundstedt, Odilio B. G. Assis, Luiz H. C. Mattoso	516
NANOPARTÍCULAS DE TRIMETIL QUITOSANA. II - PERFIL DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE VITAMINAS HIDROSSOLÚVEIS	Douglas de Britto, Marcia R. de Moura, Fauze A. Aouada, Flávia G. Pinola, Lícia M. Lundstedt, Odilio B. G. Assis, Luiz H. C. Mattoso	520
<b>CAPÍTULO 5</b>		
<b>ESTUDO DOS ASPECTOS DE SEGURANÇA EM NANOTECNOLOGIA</b>		<b>525</b>
ANÁLISE DO NÚMERO DE CÉLULAS E APOPTOSE EM EMBRIÕES BOVINOS EXPOSTOS A NANOFIBRAS DE CELULOSE E A NANOTUBOS DE CARBONO	Michele Munk Pereira, Eliza Diniz de Souza, Carolina Capobiango Romano Quintão,, Juliana Gern, Nádia Rezende Barbosa Raposo, José Manoel Marconcini,, Luiz Sérgio de Almeida Camargo, Luiz Orlando Ladeira, Humberto de Mello Brandão	527
ESTUDO <i>IN VITRO</i> DO EFEITOS DE NANOPARTICULAS DE TITANATO DE BÁRIO EM LEUCÓCITOS	Michele Munk Pereira, Wanessa Araújo Carvalho, Mariana Machado Araujo do Nascimento, Saulo Ribeiro da Silva, Juliana Carine Gern, Alessandro de Sá Guimarães,, Humberto de Mello Brandão	530
EFEITOS DE NANOFIBRAS DE CELULOSE E NANOTUBOS DE CARBONO NO METABOLISMO ENERGÉTICO DA MICROALGA <i>KLEBSORMIDIUM FLACCIDUM</i>	Michele Munk Pereira, Juliana Carine Gern, Claude Yéprémian, Alain Couté, Ludovic Mouton, José Manoel Marconcini, Luiz Orlando Ladeira, Nádia Rezende Barbosa Raposo, Roberta Brayner	534
AGREGAÇÃO E CARGA DE SUPERFÍCIE DE NANOFIBRAS DE CELULOSE: IMPLICAÇÕES CITOTÓXICAS	Michele Munk Pereira, Juliana Carine Gern, Saulo Ribeiro da Silva, Claude Yéprémian, Alain Couté, Ludovic Mouton, José Manoel Marconcini, Nádia Rezende Barbosa Raposo, Roberta Brayner	537

AVALIAÇÃO DA MICROBIOTA DE SOLOS EXPOSTOS A NANOFIBRAS CELULOSICAS	
Gabriela Sanches, Natália Bilesky, Ana C. Corrêa, Eliangela M. Teixeira, Kelcilene B. R. Teodoro, José M. Marconcini, Luiz H. C. Mattoso, Leonardo F. Fraceto, Renata de Lima	540
ECOTOXICIDADE AQUÁTICA DE MICRO E NANOPARTÍCULAS DE TITANATO DE BÁRIO EM <i>ANABAENA FLOS-AQUAE</i>	
Hudson C. Polonini, Roberta Brayner, Nádia R. B. Raposo, Claude Yéprémian, Alain Couté, João B. Ribeiro, Juliana C. Gern, Alessandro S. Guimarães, Humberto M. Brandão	545
ECOTOXICIDADE AQUÁTICA EM <i>CHLORELLA VULGARIS</i> DE MICRO E NANOPARTÍCULAS DE TITANATO DE BÁRIO	
Hudson C. Polonini, Roberta Brayner, Nádia R. B. Raposo, Ludovic Mouton, Claude Yéprémian, Alain Couté, Guilherme Nunes de Souza, Juliana Carine Gern, Humberto M. Brandão	548
ECOTOXICIDADE AQUÁTICA DE MICRO E NANOPARTÍCULAS DE TITANATO DE BÁRIO EM <i>EUGLENA GRACILIS</i>	
Hudson C. Polonini, Roberta Brayner, Nádia R. B. Raposo, Claude Yéprémian, Alain Couté, Juliana C. Gern, Nívea M. Vicentini, Humberto M. Brandão	551
CARACTERIZAÇÃO DE MICRO E NANOPARTÍCULAS DE TITANATO DE BÁRIO PARA ENSAIOS DE TOXICIDADE	
Hudson C. Polonini, Roberta Brayner, Nádia R. B. Raposo, Marcos Antônio F. Brandão, Ludovic Mouton, Yann Sivry, Wanessa A. Carvalho, Juliana C. Gern, Humberto M. Brandão	555
EXPOSIÇÃO SUBLETAL DE DAPHNIA A ANATASE PROVOCA ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS DEPENDENTES DA CONDIÇÃO DE ILUMINAÇÃO	
Clemente, Z., Castro, V.L.S.S, Jonsson, C.M., Fraceto, L.F.	558
INDICADORES DE RISCO DO DESENVOLVIMENTO DAS NANOTECNOLOGIAS – UMA FERRAMENTA DE APOIO À DECISÃO	
Karen C. Massini, Katia R.E. Jesus, Odílio B. G. Assis	562
ANÁLISE INTEGRADA DOS CRITÉRIOS DE SEGURANÇA AMBIENTAL DOS NANOPRODUTOS	
Katia R.E. Jesus, Vera Lúcia S. S. de Castro, Odílio B. G. Assis	566
EFEITOS DE NANOPARTÍCULAS DE TIO <sub>2</sub> SOBRE A VIABILIDADE E A EXPRESSÃO GÊNICA EM FIBROBLASTOS BOVINOS <i>IN VITRO</i>	
Vanessa Candiotti Buzatto, Alexandre de Lima Oliveira, Marina Ibelli Pereira Rocha, Suelen Scarpa de Mello, Simone Cristina Méo Niciura	570
TOXICIDADE EM ALGAS <i>P. SUBCAPITATA</i> EXPOSTAS À NANOPARTÍCULAS DE PRATA ESTABILIZADAS COM PVA	
Aline A. Becaro, Claudio M. Jonsson, Fernanda C. Puti, Maria Célia Siqueira, Luiz H. C. Mattoso, Daniel S. Correa, Marcos D. Ferreira	574
ESTUDO DE CITOTOXICIDADE DAS NANOFIBRAS DE PVA/TIO <sub>2</sub> EM CÉLULAS DE FIBROBLASTOS BOVINOS	
Rodrigo Guerreiro Fontoura Costa, Michele Munk Pereira, Humberto de Mello Brandão, Caue Ribeiro, Luiz Henrique Capparelli Mattoso	577
OBTENÇÃO DE HIDROXIAPATITA NANOESTRUTURADA COM APLICAÇÃO PARA FERTILIZANTE E AVALIAÇÃO DE ASPECTOS DE NANOTOXICIDADE	
Flávia Fontes Pereira, Daniel Souza Corrêa, Marcos David Ferreira, Elaine Cristina Paris	580





## **Capítulo 1**

# **SENSORES E BIOSSENSORES**



## SENSORES DE QUÍMICOS DE PANI/PSS: REPRODUTIBILIDADE DAS SUAS PROPRIEDADES ELÉTRICAS E SENSIBILIDADE

\*G.S. Braga<sup>1,2</sup>, F.J. Fonseca<sup>2</sup>, L.H.C. Mattoso<sup>1</sup>

<sup>1</sup>EMBRAPA Instrumentação. <sup>2</sup>Escola Politécnica da Universidade de São Paulo.

\*gbraga@lme.usp.br

**Classificação:** Sensores e Biossensores.

### Resumo

Os sensores químicos usados neste trabalho são compostos por microeletrodos interdigitados de ouro recoberto com um filme polimérico automontado de polianilina (PANI) e poli(estireno-sulfonato de sódio) (PSS). Oito sensores foram fabricados a fim de se estudar a reprodutibilidade de suas propriedades elétricas e sua sensibilidade. Duas soluções de PANI, de mesma concentração e pH, foram usadas para fabricar os sensores: 6 com a primeira e 3 com a segunda. Os sensores foram interrogados em regime de corrente contínua para determinar sua condutividade elétrica, a qual era muito semelhante independentemente do lote de fabricação ( $1,77 \cdot 10^{-2} \pm 3,51 \cdot 10^{-3}$  S/cm). Adicionalmente, sua sensibilidade (medidas de capacitância) quando imersos alternadamente em água destilada e NaCl 1M, foram monitoradas. Durante a realização de 240 ciclos de imersões, a capacitância de todos os sensores reduziu na mesma proporção, independentemente do lote de fabricação. Os resultados obtidos até o momento indicam que é possível fabricar sensores químicos de PANI/PSS com alto grau de reprodutibilidade de suas propriedades elétricas e de sua sensibilidade e, o uso promissor desses filmes em larga-escala.

**Palavras-chave:** Sensores químicos; Automontagem; Polianilina; Condutividade elétrica e Medidas de capacitância.

### PANI/PSS CHEMICAL SENSORS: ELECTRICAL AND SENSING PROPERTIES REPRODUCIBILITY

#### Abstract

Chemical sensors used in this paper are composed of gold interdigitated microelectrodes coated with a polyaniline (PANI)/sodium sulfonated polystyrene (PSS) polymeric film deposited via the layer-by-layer technique. Eight sensors were fabricated to study their electrical and sensing properties reproducibility. Two PANI solutions with the same concentration and pH were used to fabricate the sensors: six sensors were prepared with the first solution and 3 sensors with the second. Sensors were interrogated in constant current regimen to determine their electrical conductivity, which was very similar regardless batch deposition ( $1,77 \cdot 10^{-2} \pm 3,51 \cdot 10^{-3}$  S/cm). Additionally, their sensing (capacitance measurements) when immersed, alternatively, in distilled water and NaCl 1M was monitored. During the execution of 240 immersion cycles, the capacitance of all sensors decreased in the same proportion, regardless batch deposition. Results so far indicate that it is possible to fabricate PANI/PSS chemical sensors with high reproducibility regarding their electrical and sensing properties and mostly important, the promising use of PANI/PSS chemical sensors in large-scale.

**Keywords:** Chemical sensors; Layer-by-layer; Polyaniline; Electrical conductivity and Capacitance measurements.

## 1 INTRODUÇÃO

Sensores químicos não-específicos, que são empregados na língua eletrônica (LE) [1], são usados na análise de diversos tipos de líquidos como soja [2], água [3], suco de frutas [4], vinhos [4], combustível [5], entre outros. Nesses estudos demonstrou-se o grande potencial de usá-los na indústria, principalmente no monitoramento da qualidade da água [3]. Contudo para que esses sensores possam ser usados em aplicações industriais é necessário que possam ser produzidos em larga escala com alto grau de repetibilidade e reprodutibilidade, possibilitando a substituição de sensores defeituosos ou antigos, assim como a multiplicação de sistemas já operantes. Em uma contribuição anterior, demonstramos que era possível produzir filmes com alto grau de repetibilidade e reprodutibilidade de suas propriedades morfológicas, principalmente para filmes de polianilina (PANI) e poli(estireno-sulfonato de sódio) (PSS) [6]. Contudo não foram encontrados estudos sobre a repetibilidade e reprodutibilidade das pro-

priedades elétricas desses sensores, assim como de sua sensibilidade. Assim neste estudo propõe-se a análise sistemática de sensores químicos de PANI/PSS, avaliando a repetibilidade e reprodutibilidade das propriedades elétricas e morfológicas dos sensores desde sua fabricação até seu desgaste com o uso, assim como a sua sensibilidade durante a execução de diversos ciclos de imersões em água destilada e uma solução salina (NaCl 1M).

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Materiais

Polianilina (PANI, Mw 10,000 g mol<sup>-1</sup>) e poli(estireno-sulfonato de sódio) (PSS, Mw 70,000 g mol<sup>-1</sup>) foram comprados da Aldrich Co (EUA) e usados como recebidos. Todos os outros produtos químicos usados para limpar os microeletrodos e na preparação dos sensores eram de grau analítico e foram usados como recebidos. Água ultrapura (resistividade 18 MW cm) usada na fabricação dos sensores foi obtida com um sistema de purificação Milli-Q.

### 2.2 Fabricação dos sensores

Os microeletrodos de ouro usados na fabricação dos sensores contém 50 pares de dígitos com 10µm de espaçamento, 10µm de largura e 5mm de comprimento [1]. Eles foram recobertos com um filme polimérico ultrafino de PANI/PSS depositados pela técnica de automontagem via atração eletrostática [7] com o auxílio de um sistema de deposição automatizado (Haubenteuer, V Company do Brasil), descrito anteriormente [6]. Para as deposições, soluções aquosas de PANI e PSS foram preparadas com a mesma concentração (1 g.L<sup>-1</sup>) e pH (2,7). Os sensores fabricados possuem 10 bicamadas. Todas as deposições foram feitas em temperatura ambiente (25°C).

### 2.3 Amostras de água

Amostras de água destilada e NaCl (1 M) preparadas com água destilada foram usadas no estudo da sensibilidade dos sensores químicos. Todas as amostras foram preparadas em triplicatas e armazenadas na geladeira até o uso.

### 2.4 Sistema de medições

Os sensores químicos foram interrogados em regime de corrente contínua e alternada. No primeiro o objetivo foi determinar a condutividade elétrica dos filmes de PANI/PSS, através das curvas de corrente em função da tensão elétrica para cada um dos sensores. Para tanto se usou o potenciostato da Autolab PGSTAT302N, acoplado a um computador com o *software* Nova 1.8. O potencial de varredura foi de -1 a 1V, com passo de 0,05 V e uma taxa de varredura de 0,1 V/s. Para se calcular a condutividade dos filmes, mostrados na Tabela 1, foi usada a Equação 1. Os valores de resistência são obtidos diretamente das curvas IxV, enquanto que os valores de espessura são mostrados na Tabela 1.

$$\sigma = \frac{A}{R \times B \times C \times 1.10^{-7}} \quad (1)$$

Onde:

A = Espessura dos dígitos (10µm);

B = Comprimento dos dígitos (496990 µm);

C = Espessura (nm)

No segundo o objetivo foi verificar a sensibilidade dos sensores químicos com a repetição de diversos ciclos de imersão (água destilada – NaCl). Para isso os sensores foram montados na forma de um arranjo e conectados a um medidor de impedâncias (SOLARTRON SI 1260) através de um multiplexador de 10 canais, que possibilita a interrogação de todos os sensores sequencialmente. As medições e aquisição dos dados foi feita por um computador através de uma plataforma desenvolvida no *software* LabView. As medições foram feitas a temperatura ambiente (25°C), em 1 kHz e com 50 mV de amplitude do sinal. Adicionalmente, as medições eram iniciadas após o acondicionamento dos sensores nas amostras por 1 minuto (para estabilização). Entre cada ciclo, os sensores eram limpos com a imersão em água ultrapura, com agitação, por 5 minutos. Cada medição durava em média 5 minutos, o que corres-

ponde a 50 medições sequenciais para cada sensor. A média dessas 50 medições era calculada e o valor obtido foi usado na interpretação dos resultados.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

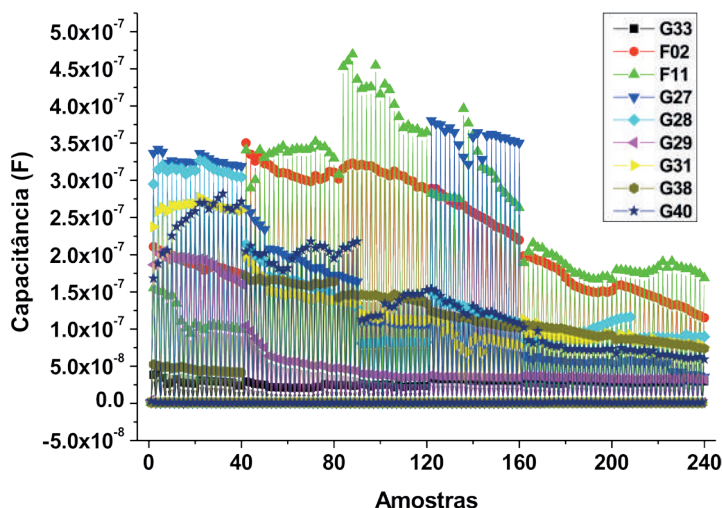
As variações de espessura e condutividade elétrica de todos os sensores fabricados são apresentadas na Tabela 1. Eles estão agrupados por lotes de fabricação, em função da solução polimérica usada em seu preparo e todos juntos (diferentes soluções de PANI). Como se pode observar, os filmes apresentaram alta repetibilidade da espessura (6%), porém baixa reprodutibilidade (40%), devido a uma grande variação de espessura entre os dois primeiros lotes e o terceiro. No caso da condutividade elétrica, os filmes apresentaram pouca repetibilidade (20%) e pouca reprodutibilidade (20%), porém os valores médios de condutividade são bem similares e de mesma ordem de grandeza. A condutividade elétrica dos sensores de PANI ( $10^{-2}$  S/cm) é muito semelhante a descrita por Paloheimo ( $10^{-2}$  à  $10^{-1}$  S/cm) [8]. Adicionalmente, com a execução dos ciclos, ocorre uma redução na condutividade elétrica dos sensores, indo de  $10^{-2}$  à  $10^{-6}$  S/cm. Esse efeito já era esperado pela perda de dopagem da PANI com a execução dos ciclos além da remoção da própria PANI dos sensores.

**Tabela 1.** Valores médios de espessura e condutividade elétrica dos sensores de PANI fabricados em diferentes lotes (lotes 1 a 3) usando duas soluções de PANI distintas (soluções 1 e 2) de mesma concentração e pH. Entre parênteses são apresentadas as variações em percentual.

Sensores de PANI	Espessura (nm)	Condutividade (S/cm)
Lote 1 (solução 1)	100,60 ± 6,06 (6,03%)	2,06.10 <sup>-2</sup> ± 2,95.10 <sup>-3</sup> (14,32%)
Lote 2 (solução 1)	135,07 ± 25,12 (18,60%)	1,55.10 <sup>-2</sup> ± 2,90.10 <sup>-3</sup> (18,74%)
Lote 3 (solução 2)	50,33 ± 3,51(6,98%)	1,70.10 <sup>-2</sup> ± 3,42.10 <sup>-3</sup> (20,14%)
Lotes da solução 1	117,83 ± 25,02 (21,23%)	1,80.10 <sup>-2</sup> ± 3,82.10 <sup>-3</sup> (21,18%)
Todos os lotes	99,42 ± 37,88 (38,10%)	1,77.10 <sup>-2</sup> ± 3,51.10 <sup>-3</sup> (19,84%)

Na Figura 1 é mostrado a curva de capacitância em função do número de amostras de todos os primeiros 120 ciclos (240 amostras). Nessa figura, as medições na solução salina estão na parte mais positiva do eixo y, enquanto que as de água destilada estão mais próximas do eixo x. Nesse gráfico pode-se observar que todos os sensores apresentaram a mesma tendência com o decorrer das ciclagens, o valor da capacitância medida diminui. Outro aspecto muito interessante é que os sensores G27, G31 e G40 não foram medidos de forma ininterrupta. Após 120 medições (60 ciclos) eles foram guardados e após a execução de 110 ciclos foram recolocados em uso. Como se pode notar, os novos valores de capacitância medidos são praticamente os mesmos de antes da interrupção, indicando que o armazenamento dos sensores não afeta a sua resposta elétrica. O sensor G38 por sua vez, foi armazenado imediatamente após sua fabricação ficando guardado até a execução de 170 ciclos, quando foi colocado em uso (aproximadamente 6 meses). Esse sensor foi fabricado juntamente dos outros sensores de código G. Como se pode observar os valores de capacitância medidos com esse sensor são muito similares aos obtidos com os demais sensores, indicando que a armazenagem do sensor após sua fabricação não acarreta em nenhuma perda de sensibilidade ou de suas propriedades elétricas. Adicionalmente, ao analisarmos os sensores F02 e F11, que foram fabricados em um terceiro lote, pode-se notar que os valores iniciais de capacitância são distintos dos demais, porém apresentam a mesma tendência que os outros: redução da capacitância com a execução dos ciclos. E também, parecem convergir para o mesmo valor que os outros sensores. Da Figura 1 pode-se concluir que independentemente de quando os sensores foram fabricados ou de sua forma de uso (imediato ou não, contínuo ou não), todos eles apresentam o mesmo comportamento com a execução dos ciclos, assim como valores de capacitância similares, indicando que é possível substituir um sensor em uso por um outro armazenado, sem perda de informação.

Esses resultados demonstraram que o desgaste dos filmes de PANI/PSS, assim como as mudanças de suas propriedades elétricas são muito semelhantes em termos percentuais, independentemente de quando são fabricados, contudo o processo de fabricação dos sensores precisa ser melhor otimizado para reduzir ainda mais as diferenças entre sensores de um mesmo lote e de lotes diferentes.



**Figura 1.** Valores de capacitância em função do número de amostras analisadas para todos os sensores com até 120 ciclos de execução. Os maiores valores no eixo y correspondem as amostras de sal enquanto que os valores mais próximos de zero correspondem as amostras de água destilada.

#### 4 CONCLUSÃO

Os sensores de PANI/PSS fabricados apresentaram alto grau de repetibilidade de suas propriedades morfológicas, com variações próximas à 6% em um mesmo lote, porém pouca reprodutibilidade, com variação de cerca de 40% entre lotes diferentes. Suas propriedades elétricas (condutividade) apresentaram pouca repetibilidade (variações entre 15 e 20%) e pouca reprodutibilidade (variação de 20%), indicando que o processo de fabricação dos sensores de PANI/PSS precisa ser melhor otimizado. Adicionalmente, a resposta elétrica (capacitância) de todos os sensores apresentou um comportamento parecido com a execução de ciclos de imersões em água destilada e NaCl 1M: queda do valor medido com o decorrer das imersões, com todos os valores convergindo para uma mesma faixa de capacitância, independentemente de quando foram fabricados ou se seu uso foi contínuo ou não. Esse resultado demonstrou que os sensores podem ser armazenados após a sua fabricação ou após um uso inicial sem perda de suas propriedades elétricas. Essa observação é muito importante porque indica a possibilidade de se substituir um sensor presente na LE por um outro similar sem perda de informação ou necessidade de se substituir o banco de dados criado previamente.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores gostariam de agradecer as agências FAPESP (08/57706-4), CAPES (Edital Rede Nanobiotec Brasil 04/2008) e EMBRAPA Instrumentação pelo suporte financeiro.

#### REFERÊNCIAS

- [1] N.K.L. WIZIACK, et al; Effect of film thickness and different electrodes geometries on the performance of chemical sensors made of nanostructured conducting polymer films; Sens. and Act. B 122 (2007) 484-492.
- [2] C. GREGORUT, et al.; Application of electronic tongue in identification of soybeans; AIP Conf. Proc. 1137 (2009) 533-534.
- [3] G.S. BRAGA, et al.; Performance of an electronic tongue during monitoring 2-metilisoborneol and geosmin in water samples; Sens. Actuators B: Chem. 171-172 (2012) 181-189.
- [4] A. RIUL, et al.; An artificial taste sensor based on conducting polymers; Bio & Bio 18 (2003) 1365-1369

- [5] N.K.L. WIZIACK, et al.; A sensor based on mass and capacitance transducers for the detection of adulterated gasolines; *Sensors and Actuators B* 140 (2009) 508-513.
- [6] G.S. BRAGA, et al.; Influence of the deposition parameters on the morphology and electrical conductivity of PANI/PSS self-assembled films; *Mat Sci. and Eng. C* 28 (2008) 555-562.
- [7] Y.M. LVOV, G. DECHER; Assembly of Multilayer Ordered Films by Alternating Adsorption of Oppositely Charged Macromolecules; *Crystallography Reports*, 39, 4 (1994) 628-647.
- [8] J. PALOHEIMO, et al.; Conductivity, thermoelectric power and field-effect mobility in self-assembled films of polyanilines and oligoanilines; *Synthetic Metals* 68 (1995) 249-257

---

## DESENVOLVIMENTO DE BIOSSENSORES PLASMÔNICOS

\*Linus Pauling F. Peixoto<sup>1</sup>, Débora G. de Oliveira<sup>1</sup>, Lídia A. Sena,<sup>2</sup> Bráulio S. Archanjo,<sup>2</sup>  
Gustavo F. S. Andrade<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Nanoestruturas Plasmônicas, Núcleo de Espectroscopia e Estrutura Molecular, Departamento de Química, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG. <sup>2</sup> Divisão de Metrologia de Materiais, Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO), Duque de Caxias, RJ.

\*linuspauling\_@hotmail.com

**Classificação:** Sensores e Biossensores.

### Resumo

Biossensores plasmônicos utilizando de SERS e LSPR têm sido usados como ferramentas em várias aplicações relacionadas a diagnóstico nos últimos anos. Possuem alto desempenho, rapidez de análise e baixo custo. O objetivo desse trabalho é a construção e aplicação desses biossensores baseados em nanobastões de Au modificados por proteínas para ensaios de reconhecimento molecular. Os resultados preliminares nos mostram que as AuNRs sintetizadas são promissoras na construção destes.

**Palavras-chave:** Biossensores;SERS;LSPR;AuNPs;Plasmônica

### DEVELOPMENT OF PLASMONICS BIOSENSORS

#### Abstract

SERS and LSPR plasmonic biosensors have been used as important tools for diagnostics in the last years. This has been possible because those sensors are fast and low cost, with a high detection performance. The present work reports the construction and application of biosensors based on Au nanorods modified by protein aiming molecular recognition events. The preliminary results indicate that the AuNRs are very promising for the construction of plasmonic based biosensors.

**Keywords:** Biosensors;SERS;LSPR;AuNPs;Plasmonics

## 1 INTRODUÇÃO

Biossensores são dispositivos analíticos que podem nos dar informações de uma resposta biológica através de um sinal eletrônico. Para isso, tem-se um bio-receptor que reconhece o analito em questão e um transdutor que converte a resposta biológica em um sinal eletrônico mensural. Este bio-receptor pode ser um microrganismo, organela, enzima, célula, anticorpo, ácido nucleico entre outros. (Velusamy *et al.*, 2010)

Estes sensores são ferramentas de detecção importantes para muitas aplicações como alimentação, biomedicina, cuidados com a saúde, farmacêutica e controle de meio ambiente.(Pérez-López and Merkoçi, 2011)

Também é possível a aplicação de biossensores no diagnóstico de câncer. Devido à alta prevalência, a cada dia tem-se a necessidade de novas tecnologias tanto para prevenção quanto para o diagnóstico dessa doença (Leite *et al.*, 2011) De maneira similar, existe a possibilidade de se utilizar bios-



sensores para identificar a ocorrência de doenças negligenciadas ou doenças tropicais negligenciadas.

Nesse contexto da necessidade de desenvolver métodos de pré-exames ou diagnóstico rápido para doenças desse tipo, está inserida a construção dos biossensores plasmônicos que utilizam da ressonância do plasmon de superfície localizado (LSPR). A capacidade de detecção desse efeito se baseia no deslocamento da banda LSPR com a modificação do ambiente em que as nanopartículas de metais como Au, Ag e Cu estão imersos, o que permite a detecção de espécies em concentrações baixíssimas. (Mayer and Hafner, 2011) A LSPR resulta em grande intensificação do campo eletromagnético local (Mayer and Hafner, 2011). Esse efeito de intensificação permite a ocorrência de fenômenos espectroscópicos intensificados, como o efeito de espalhamento Raman intensificado por superfície (SERS) e a fluorescência intensificada por superfície (SEF). (Aroca, 2006) O efeito SERS aumenta de  $10^4$  a  $10^6$  vezes a intensidade do espalhamento Raman de adsorbatos. O tamanho e a forma das nanoestruturas estão diretamente ligados às propriedades de LSPR de nanopartículas metálicas devido às mudanças na polarização da superfície. Atualmente várias formas de nanoestruturas podem ser obtidas; entre elas nanoesferas, nanotriângulos, nanocubos, nanoprismas, nanobastões, nanoshells, nanobranches, nanobipirâmides entre outros. (Petryayeva and Krull, 2011)

Este trabalho tem como objetivo geral a construção de biossensores nanoestruturado baseado nas técnicas de LSPR e SERS para a utilização no diagnóstico precoce de doenças.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

A construção de um biossensor plasmônico utilizando nanopartículas consiste em alguns passos apresentados de maneira resumida a seguir:

### 2.1 Síntese de nanoestruturas anisotrópicas de Au

Uma suspensão de nanopartículas precursoras (seed) é preparada a partir de uma solução de CTAB (brometo cetiltrimetilamônio) ( $5 \text{ mL}$ ,  $0,20 \text{ mol L}^{-1}$ ), e  $5 \text{ mL}$  de  $\text{HAuCl}_4$  ( $0,0005 \text{ mol L}^{-1}$ ). A seguir, é adicionado  $0,60 \text{ mL}$  de  $0,010 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaBH}_4$  em banho de gelo, sob agitação vigorosa, mantida por  $2 \text{ min}$ . A suspensão marrom-esverdeada obtida é mantida em temperatura ambiente por  $30 \text{ min}$ . A solução de crescimento dos nanorods consiste na adição de CTAB ( $5 \text{ mL}$ ,  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ ) a diferentes volumes de solução  $0,0040 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{AgNO}_3$  ( $0,5$ ;  $0,10$ ;  $0,15$ ;  $0,20$  ou  $0,25 \text{ mL}$ ). A essa solução são adicionados  $5 \text{ mL}$  de  $0,001 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{HAuCl}_4$ , e solução de ácido ascórbico ( $0,070 \text{ mL}$ ;  $0,07888 \text{ mol L}^{-1}$ ). Finalmente, são adicionados  $12 \mu\text{L}$  da solução seed na temperatura entre  $27\text{-}30^\circ\text{C}$ ; a coloração da solução muda para vermelho em cerca de  $10\text{-}20$  minutos. (Nikoobakht and El-Sayed, 2003)

### 2.2 Imobilização de BSA e proteção superficial:

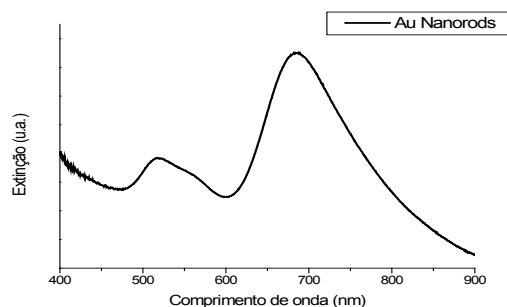
É utilizada uma proteína modelo, a albumina de soro bovino (BSA). A modificação da superfície consiste em adicionar à suspensão de AuNPs uma solução de ácido mercaptoundecanoico (MUA), para obter uma camada molecular ligada ao Au com um grupo carboxila disponível em solução. A seguir, as AuNPs são incubadas em uma solução 1:1 de N-hidroxissuccinamida (NHS) e N-etilN-(3-dietilaminopropil) carbodiimida (EDC) por  $3 \text{ h}$ . Finalmente, uma solução aquosa de BSA é adicionada às nanopartículas de Au com a superfície modificada, que reage com a camada modificada por NHS/EDC, a fim de imobilizar a proteína-modelo. (Monteiro *et al.*, 2012) Para os testes envolvendo o efeito SERS, as nanopartículas são também modificadas com o corante tipo-indocianina IR-820. Após a modificação das AuNPs com a proteína BSA, são utilizados como protetores quitosana e polietileno glicol-tiolado (PEG-SH).

### 2.3 Detecção de anticorpos (anti-BSA).

A detecção por LSPR consiste em adicionar as AuNPs modificadas por BSA com a superfície protegida em uma solução de anti-BSA em tampão salino de fosfato (PBS) e análise dos deslocamentos da banda LSPR com o evento de reconhecimento molecular. Para detecção por SERS, as AuNPs modificadas serão colocadas em contato com o slide de vidro/anti-BSA. (Porter *et al.*, 2008)

A imobilização do anti-BSA será realizada através da modificação da superfície de vidro utilizando aminopropil trimetóxisilano (APTMS). Em seguida, será realizado um período de cura a  $120^\circ\text{C}$ . A seguir, o slide será exposto a uma solução do anti-BSA em PBS por um período de  $3 \text{ h}$ . (Qin *et al.*, 2007)

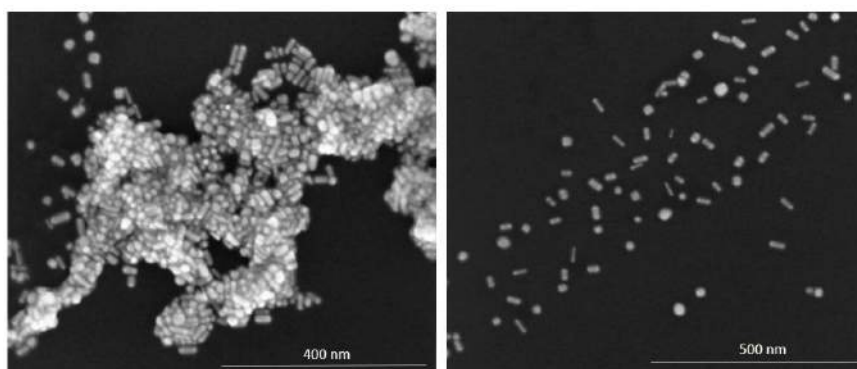
### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO



**Figura 1.** Espectro LSPR dos AuNRs utilizando de 150 $\mu$ L de AgNO<sub>3</sub>.

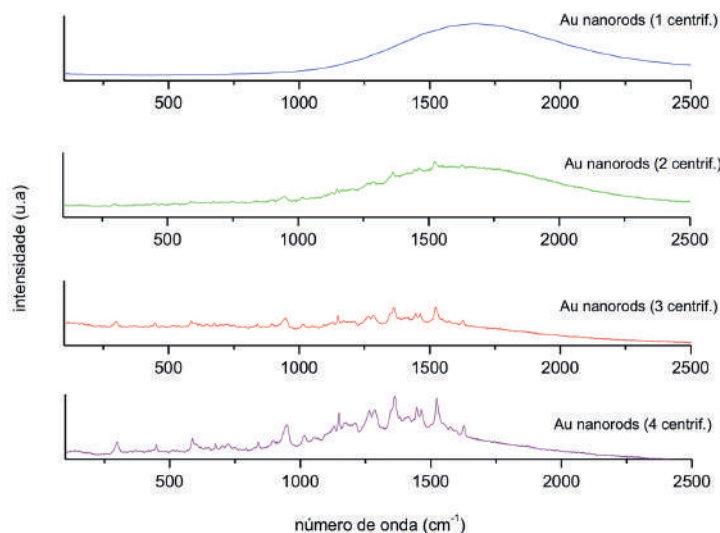
O espectro no UV-visível de nanobastões de Au (AuNRs) está apresentado na Figura 1. Nos espectros da Figura 1 é possível observar duas bandas, uma em 515 nm e outra de maior intensidade em 684 nm. Essas bandas são características dos AuNRs, e correspondem à ressonância de plasmon de duas diferentes dimensões dos bastões, longitudinal e transversal. (Nikoobakht and El-Sayed, 2003)

A presença das duas bandas características no espectro LSPR é um forte indicativo da formação de AuNRs. A Figura 2 apresenta imagens MEV características para os AuNRs obtidos nesse trabalho. É possível verificar nas imagens apresentadas na Figura 2 que os procedimentos de síntese resultaram em alto rendimento de nanobastões, com apenas pequena parte das nanopartículas apresentadas formatos diferentes (esféricos, por exemplo).



**Figura 2.** MEV dos AuNRs

Na preparação dos AuNRs obtêm-se uma suspensão com as nanopartículas recobertas com grande excesso de CTAB, o direcionador da formação de bastões. Para que haja uma boa interação entre os AuNRs e as espécies de interesse, é necessário retirar esse excesso. Isso é feito com a centrifugação desses bastões e redispersão em água deionizada. Esse procedimento precisa ser otimizado para que a modificação dos AuNRs seja melhorada. O diagnóstico para a retirada do CTAB e melhora do acesso de adsorbatos foi realizado utilizando o efeito SERS do corante IR-820. A Figura 3 apresenta os espectros SERS do IR-820 em suspensões de AuNRs que foram submetidas a diferentes números de centrifugações.



**Figura 3.** Espectros Raman do IR-820  $10^{-6}$ M, variando o número de centrifugações da suspensão de AuNRs. Radiação excitante em 633 nm

Observa-se na Figura 3 que há uma diminuição da fluorescência do corante com o número de centrifugações, o que indica que mais corante tem acesso à superfície dos AuNRs, suprimindo a fluorescência do corante, e favorecendo a observação do espectro SERS.

#### 4 CONCLUSÃO

Foram sintetizados AuNRs e a caracterização por LSPR e MEV confirmou alto rendimento dos procedimentos de preparação utilizados; além disso, verificou-se que a atividade SERS depende do número de centrifugações, verificando-se que quatro procedimentos são suficientes. Com estes resultados preliminares pudemos observar que os AuNRs podem ser utilizados para a construção de biossensores SERS e LSPR a partir da otimização dos passos de modificação superficial.

#### AGRADECIMENTOS

UFJF, CAPES, FAPEMIG, CNPq.

#### REFERÊNCIAS

- AROCA, R. Surface-Enhanced Vibrational Spectroscopy. New York: John Wiley & Sons, 2006. 260
- FAN, M.; ANDRADE, G. F. S.; BROLO, A. G. A review on the fabrication of substrates for surface enhanced Raman spectroscopy and their applications in analytical chemistry. *Analytica Chimica Acta*, v. 693, n. 1–2, p. 7-25, 2011.
- LEITE, F. M. C.; BUBACH, S.; AMORIM, M. H. C.; CASTRO, D. S. de; PRIMO, C. C. Mulheres com Diagnóstico de Câncer de Mama em Tratamento com Tamoxifeno: Perfil Sócio demográfico e Clínico. *Revista Brasileira de Cancerologia*, v. 57, n. 1, p. 15-21, 2011.
- MAYER, K. M.; HAFNER, J. H. Localized Surface Plasmon Resonance Sensors. *Chemical Reviews*, v. 111, n. 6, p. 3828-3857, 2011. MONTEIRO, J. P. et al. SPR based biosensor using surface relief grating in transmission mode. *Sensors and Actuators B: Chemical*, v. 174, n. 0, p. 270-273, 2012.
- NIKOUBAKHT, B.; EL-SAYED, M. A. Preparation and Growth Mechanism of Gold Nanorods (NRs) Using Seed-Mediated Growth Method. *Chemistry of Materials*, v. 15, n. 10, p. 1957-1962, 2003.
- PETRYAYEVA, E.; KRULL, U. J. Localized surface plasmon resonance: Nanostructures, bioassays and biosensing—A review. *Analytica Chimica Acta*, v. 706, n. 1, p. 8-24, 2011.

PORTER, M. D. et al. SERS as a bioassay platform: fundamentals, design, and applications. *Chemical Society Reviews*, v. 37, n. 5, p. 1001-1011, 2008. >

PÉREZ-LÓPEZ, B.; MERKOÇI, A. Nanomaterials based biosensors for food analysis applications. *Trends in Food Science & Technology*, v. 22, n. 11, p. 625-639, 2011.

QIN, M. et al. Two methods for glass surface modification and their application in protein immobilization. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 60, n. 2, p. 243-249, 2007.

VELUSAMY, V. et al. An overview of foodborne pathogen detection: In the perspective of biosensors. *Biotechnology Advances*, v. 28, n. 2, p. 232-254, 2010.

---

## FILMES NANOESTRUTURADOS BASEADOS EM NANOPARTÍCULAS DE OURO/FTALOCIANINAS PARA APLICAÇÃO EM SENSORES DO TIPO LÍNGUA ELETRÔNICA

\*Luiza A. Mercante, Marcelo S. Nogueira, Daniel S. Correa, Luiz Henrique C. Mattoso

Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio (LNNA) – Embrapa Instrumentação (CNPDIA), São Carlos, SP.

\*lamercente@gmail.com

**Classificação:** Sensores e Biossensores.

### Resumo

O uso de sensores do tipo Língua Eletrônica com base em filmes nanoestruturados vem apresentando excelentes resultados para a diferenciação de substâncias que constituem os paladares básicos e na detecção de impurezas em amostras líquidas. Neste sentido, nesse trabalho apresentamos a obtenção de unidades sensitivas utilizando-se nanopartículas de ouro (AuNP) recobertas com poli(cloridrato de alilamina) (PAH) e ftalocianinas de níquel e de cobre tetrassulfonadas (NiTsPc e CuTsPc) em filmes LbL. Caracterização da morfologia da superfície, rugosidade e outras propriedades físico-químicas dos filmes obtidos foram realizadas por espectroscopia na região do infravermelho e UV-Vis, microscopia eletrônica de varredura, microscopia de força atômica e medidas elétricas. Os resultados obtidos demonstraram que os filmes nanoestruturados de Au@PAH/MTsPc foram obtidos com sucesso e se mostraram potenciais para aplicações como sensores e biossensores.

**Palavras-chave:** Língua eletrônica; Filmes LbL; Nanopartículas de ouro.

### NANOSTRUCTURED FILMS BASED ON GOLD NANOPARTICLE/PHTHALOCYANINE FOR APPLICATION IN ELECTRONIC TONGUE SENSORS

#### Abstract

The use of electronic tongue devices based on polymeric materials to evaluate and distinguish liquids has grown largely in the last decade due to its sensitivity and versatility. Herein we report the incorporation of gold nanoparticles (AuNP) in the polymeric matrix of poly(allylamine hydrochloride) (PAH) to enhance the properties of tetrasulfonated nickel and copper phthalocyanine (NiTsPc and CuTsPc) in LbL films. Characterization of the surface morphology, roughness and other physicochemical properties of nanostructured films were carried out by UV-Vis and Infrared spectroscopy, scanning electron microscopy, atomic force microscopy and electrical measurements. The obtained results demonstrated that the growth of Au@PAH/MTsPc LbL films was successfully achieved and therefore these films could be used in sensing and biosensing applications.

**Keywords:** Electronic tongue; LbL films; Gold nanoparticles.

## 1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de sensores e biossensores baseados em filmes nanoestruturados tem se mostrado como uma ferramenta muito eficaz para a análise de líquidos, poluentes e contaminantes, de-

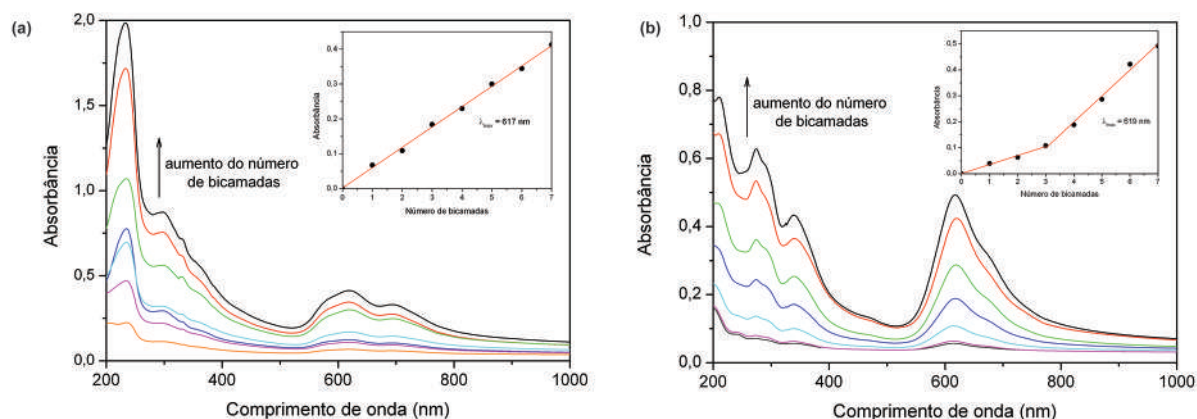
vido à sua versatilidade e sensibilidade. (ŚLIWINŚKA et al., 2014). A alta sensibilidade desses sistemas está relacionada com a natureza nanoestruturada dos filmes, a qual permite um contato íntimo entre a camada sensível e a substância de interesse (analito). (RIUL et al., 2010) Vários tipos de materiais têm sido utilizados como camadas sensíveis, incluindo polímeros semicondutores sintéticos e polímeros naturais, no entanto, faz-se necessário o desenvolvimento de novos materiais para melhorar ainda mais a sensibilidade dos sensores. Neste sentido, neste trabalho apresentamos a síntese, funcionalização e caracterização de nanopartículas de ouro com poli(cloridrato de alilamina) e a utilização deste material juntamente com ftalocianinas para fabricação de filmes automontados para modificação de eletrodos interdigitados.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Nanopartículas de ouro foram sintetizadas adicionando-se, sob agitação, uma solução de  $\text{NaBH}_4$  à uma mistura contendo PAH e  $\text{HAuCl}_4$ . Após a obtenção e caracterização das nanopartículas, os sensores foram preparados a partir da deposição de bicamadas poliméricas sobre eletrodos interdigitados de platina por meio da técnica de automontagem (LbL). Nesta técnica, camadas alternadas do polícatión ( $\text{Au@PAH}$  ou PAH) e do poliânion (ftalocianina de cobre -  $\text{CuTsPc}$  ou ftalocianina de níquel -  $\text{NiTsPc}$ ) foram depositadas sobre o substrato através de imersões sucessivas nas respectivas soluções. Os sensores obtidos foram caracterizados utilizando-se as técnicas de espectroscopia na região do ultravioleta visível (UV-Vis) e do Infravermelho (FTIR), microscopia de força atômica (AFM) e medidas elétricas.

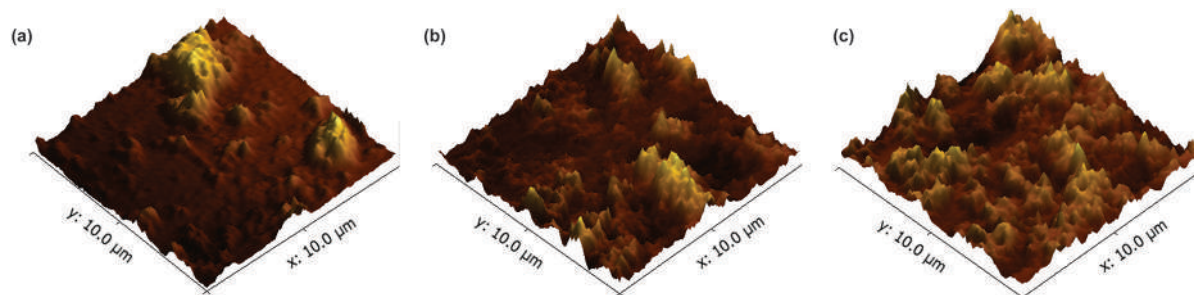
## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O monitoramento do crescimento dos filmes foi feito através da deposição de 0 a 7 bicamadas de  $\text{Au@PAH/CuTsPc}$  e  $\text{Au@PAH/NiTsPc}$  sob substratos de quartzo. Na Figura 1 pode-se observar um aumento do valor da absorbância em função do número de bicamadas depositadas. Através do monitoramento da banda centrada em torno de 615 nm, atribuída às transições  $\pi-\pi^*$ , é possível observar uma dependência linear da absorção com o número de bicamadas depositadas para os dois filmes, indicando um crescimento uniforme do filme sobre o substrato.



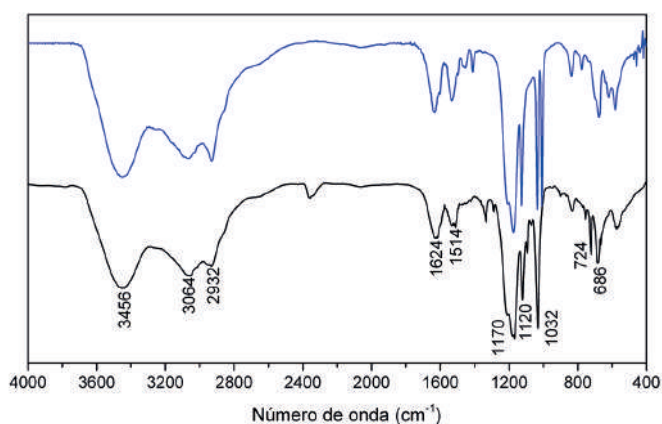
**Figura 1.** Espectro de absorção na região do UV-Vis para diferentes números de bicamadas ( $n=1$  a  $7$ ) dos filmes de (a)  $\text{Au@PAH/CuTsPc}$  e (b)  $\text{Au@PAH/NiTsPc}$ . *Inset:* variação da absorção (considerando a banda em 617 e 619 nm) em função do número de bicamadas.

O crescimento e a formação dos filmes nanoestruturados também foram analisados por imagens de AFM em uma área de  $10 \mu\text{m} \times 10 \mu\text{m}$ , como mostrado na Figura 2. As imagens obtidas mostraram que tanto a rugosidade quanto a espessura dos dois sistemas aumentaram com o número de bicamadas, conforme esperado.



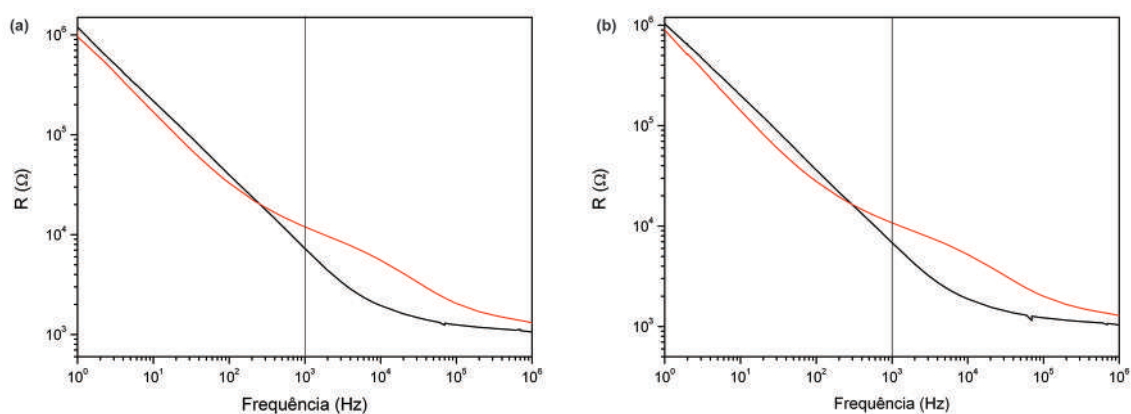
**Figura 2.** Imagens de AFM dos filmes de 3, 5 e 7 bicamadas de Au@PAH/CuTsPc.

De acordo com dados de FTIR (Figura 3), pode-se observar a presença de bandas referentes às deformações dos polications e dos poliânions, confirmando a formação do filme. Por essa técnica, pode-se verificar que o crescimento dos filmes LbL é conduzido por interações eletrostáticas entre os grupamentos  $\text{SO}^{3-}$  das ftalocianinas e os grupos  $\text{NH}_3^+$  do PAH.



**Figura 3.** Espectro de FTIR dos filmes formados por 15 bicamadas de Au@PAH/CuTsPc (azul) Au@PAH/NiTsPc (preto).

O comportamento elétrico dos filmes automontados obtidos foi avaliado através de medidas de impedância elétrica (Figura 4), na faixa de 1 Hz a 1 MHz, e os resultados revelaram uma melhora da resposta resistiva do material, devido à presença de nanopartículas de ouro.



**Figura 4.** Resposta elétrica (resistência), dos eletrodos interdigitados modificados com filmes contendo (linha preta) ou não (linha vermelha) Au@PAH. Filmes usando como poliânion (a) CuTsPc e (b) NiTsPc.

#### 4 CONCLUSÃO

Neste trabalho mostrou-se que utilizando-se a técnica de automontagem foi possível funcionalizar com sucesso a superfície de eletrodos interdigitados com nanopartículas de ouro e ftalocianinas

obtendo-se filmes poliméricos uniformes. Estes sensores automontados serão utilizados como camada sensível para aplicação sensorial em sistemas baseados na LE.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPESP (Processo nº 2012/23880-3), CNPq e à EMBRAPA pelo apoio financeiro.

## REFERÊNCIAS

RIUL, A.; DANTAS, C. A. R.; MIYAZAKI, C. M.; OLIVEIRA Jr., O. N.; MATTOSO, L. H. C. Recent advances in electronic tongues. *Analyst*, v. 135, p. 2481-495, 2010.

SŁIWINŚKA, M.; WISNIEWSKA, P.; DYMERSKI, T.; NAMIESŃNIK, J.; WARDENCKI, W. Food Analysis Using Artificial Senses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 62, p. 1423-1448, 2014.

---

## NANOFIBRAS ELETROFIADAS DE BLENDA PA6/PAH PARA APLICAÇÕES EM SENSORES QUÍMICOS

\*Luiza A. Mercante, Vanessa P. Scagion, Daniel S. Correa, Luiz Henrique C. Mattoso

Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio (LNNA) – Embrapa Instrumentação (CNP/DIA), São Carlos, SP.

\*lamercente@gmail.com

**Classificação:** Sensores e Biossensores.

### Resumo

A eletrofiacção é uma técnica que vem sendo muito utilizada para a fabricação de micro- e nanofibras, devido à sua versatilidade e potencial para aplicações em diversos campos. As fibras fiadas por este processo oferecem várias vantagens, como elevada área de superfície em relação ao volume, alta porosidade e a capacidade de manipular a composição de nanofibras, a fim de obter as propriedades e funções desejadas. Neste trabalho, foi investigada a eletrofiacção de blendas de poliamida 6 (PA6) com poli(cloridrato de alilamina) (PAH) para a obtenção de nanofibras para aplicação em sensores químicos. Foram investigados os efeitos da concentração da poliamida 6, da tensão e da distância da agulha ao coletor no processo de obtenção das fibras. As nanofibras obtidas foram caracterizadas pelas técnicas de microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia na região do infravermelho (FTIR) e difração de raios-X (DRX).

**Palavras-chave:** Eletrofiacção; Nanofibras; Blendas poliméricas.

### ELECTROSPUN NANOFIBERS OF PA6/PAH BLENDS FOR CHEMICAL SENSOR APPLICATIONS

#### Abstract

The electrospinning is recognized as an efficient technique for the fabrication of polymeric micro- and nanofibers due to its versatility and potential for applications in many fields. The fibers spun by this process offers several advantages such as high surface area relative to volume, high porosity and the ability to manipulate the composition of nanofibers in order to obtain the desired properties and functions. In this work, we investigated the electrospinning of polyamide 6 (PA6)/poly(allylamine hydrochloride) (PAH) to obtain nanofibers for chemical sensors. The effects of PA6 concentration, the voltage and the distance between the needle and fiber collector were investigated. The nanofibers obtained were characterized by X-ray diffraction (XRD), scanning electron microscopy (SEM) and infrared spectroscopy (FTIR).

**Keywords:** Electrospinning; Nanofibers; Polymeric Blends.

## 1 INTRODUÇÃO

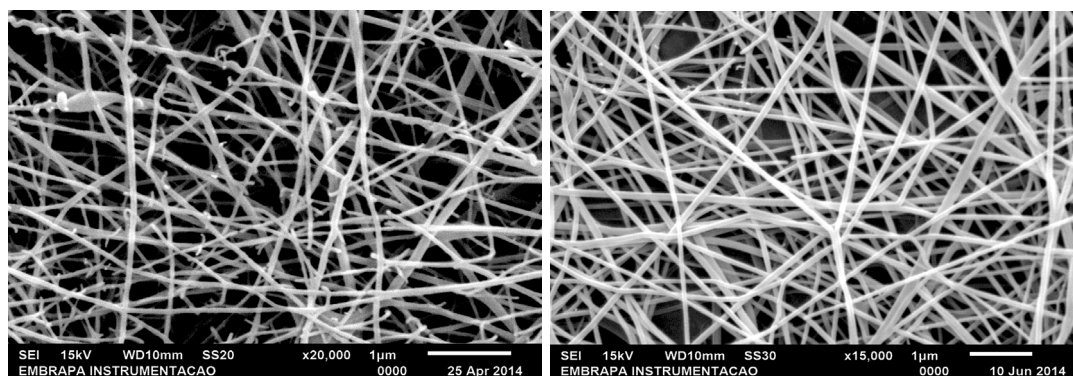
Dentre as metodologias para a produção de nanomateriais, a técnica de eletrofição se destaca devido à possibilidade de obtenção de fibras com diferentes funcionalidades e com diâmetros e formas ajustáveis (AGARWALA et al., 2013). As fibras produzidas por essa técnica são da ordem de micrômetros a nanômetros e podem apresentar características importantes para aplicações biomédicas e tecnológicas, como microfiltração, dispositivos óticos e em sensores (LLORENS et al. 2013 e BHARDWAJ et al., 2010). Neste trabalho apresentamos a obtenção e caracterização de nanofibras eletrofiadas de blendas poliméricas de poliamida 6 (PA6) com poli(cloridrato de alilamina) (PAH).

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram preparadas soluções contendo 10 e 20% (m/v) de PA6 em ácido fórmico. Em seguida, foi adicionado o PAH na proporção de 30% (m/m). Além da concentração da PA6, variou-se também a tensão aplicada (18, 20 e 22 kV) e a distância entre a agulha e o coletor (3, 5 e 10 cm). As outras condições empregadas durante a eletrofição das blendas foram: vazão de 0,01 mL/h e diâmetro da agulha de 8 mm. As nanofibras obtidas foram caracterizadas pelas técnicas de microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia na região do infravermelho (FTIR) e difração de raios-X (DRX).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estudos têm mostrado que parâmetros como concentração do solvente e tensão aplicada podem afetar consideravelmente o tamanho e a morfologia das fibras obtidas pelo processo de eletrofição. Na Figura 1 são apresentadas as imagens de MEV das nanofibras de PA6/PAH obtidas após a variação da concentração de PA6. Pode-se observar que o aumento na concentração do PA6 levou a obtenção de fibras com morfologia uniforme e com diâmetro de aproximadamente 90 nm.



**Figura 1.** Imagens de MEV de nanofibras obtidas a partir da eletrofição de blendas de PA6/PAH utilizando-se 10% de PA6 (esquerda) e 20% de PA6 (direita).

Mantendo-se as demais variáveis fixas e analisando-se apenas o efeito da variação da tensão aplicada, notou-se uma diminuição do diâmetro médio das fibras à medida que se aumentou a tensão aplicada. Neste estudo, pode-se observar também uma diminuição no diâmetro das nanofibras com a adição do PAH, comportamento que pode ser explicado pelo aumento da condutividade da solução. Os espectros de FTIR das nanofibras de PA6/PAH confirmaram a presença dos grupamentos químicos dos dois polímeros no material obtido.

## 4 CONCLUSÃO

Nanofibras de blendas de PA6/PAH com diâmetro em torno de 90 nm e morfologia uniforme foram obtidas com sucesso utilizando-se a técnica de eletrofição. As nanofibras obtidas serão utilizadas para modificação de eletrodos interdigitados para aplicação em sensores químicos.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPESP (Processo nº 2012/23880-3), CNPq e à EMBRAPA pelo apoio financeiro.



## REFERÊNCIAS

AGARWALA, S.; GREINER, A.; WENDORFF, J. H. Functional materials by electrospinning of polymers. *Progress in Polymer Science*, v. 38, p. 963-991, 2013.

LLORENS, E.; ARMELIN, E.; PÉREZ-MADRIGAL, M. M.; DEL VALLE, L. J.; ALEMÁN, C.; PUI-GGALÍ, J. Nanomembranes and Nanofibers from Biodegradable Conducting Polymers. *Polymers*, v. 5, p. 1115-1157, 2013.

BHARDWAJ, N.; KUNDU, S. C. Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique. *Biotechnology Advances*, v. 28, p. 325-347, 2010.

---

## FILMES NANOESTRUTURADOS CONTENDO QUITOSANA PARA APLICAÇÃO COMO PLATAFORMA SENSORIAL

\*Adriana Pavinatto, Luiza A. Mercante, Daniel S. Corrêa

Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio (LNNA), Embrapa Instrumentação (CNPDIA), São Carlos, SP.

\*adrianapavinatto@yahoo.com.br

**Classificação:** Sensores e Biossensores.

### Resumo

Filmes nanoestruturados contendo quitosana têm apresentado bom desempenho como plataforma sensorial no desenvolvimento de biossensores. Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo a fabricação de filmes nanoestruturados através da técnica camada por camada (LbL) formados pelo polieletrólito catiônico quitosana (Qui), o aniônico poli(3,4-etilenodioxitiofeno) – poli(estirenosulfonato) (PEDOT:PSS) e Ftalocianina de Cu II tetrasulfonada (Ft), para posterior uso como plataforma na imobilização de enzimas. A formação dos filmes foi monitorada por espectroscopia na região do UV-Vis e infravermelho, que também foram utilizadas para análise da estrutura química dos filmes. A morfologia dos filmes será avaliada por microscopias de força atômica (AFM), eletrônica de varredura (MEV) e de transmissão (MET).

**Palavras-chave:** Filmes nanoestruturados, Quitosana, PEDOT:PSS, Ftalocianina, Biossensor.

### NANOSTRUCTURED FILMS CONTAINING CHITOSAN APPLIED AS SENSORIAL PLATFORM

#### Abstract

Nanostructured films containing chitosan have shown a good performance as sensing platform for the development of biosensors. In this context, this work aims at manufacturing nanostructured films through the layer-by-layer technique (LbL). The films are formed by cationic polyelectrolyte chitosan (Chi), the anionic poly(3,4-ethylenedioxythiophene): poly (estirenosulfonate) (PEDOT:PSS) and tetrasulfonated Cu II phthalocyanine (Ft), which will be used as platform for enzymes immobilization. The formation of the films was monitored by UV-visible and infrared spectroscopy, which was also used as structural analysis of the films. The morphology of the films will be evaluated by atomic force (AFM), scanning electron (SEM) and transmission (TEM) microscopy.

**Keywords:** Nanostructured films, Chitosan, PEDOT:PSS, Phthalocyanine, Biosensor.

## 1 INTRODUÇÃO

A técnica de automontagem (LbL, do inglês *Layer-by-Layer*) é uma técnica de formação de filmes nanométricos, baseada na interação entre os materiais utilizados. As interações podem ser ligações covalentes, adsorção química, forças de Van de Waals ou, mais recentemente proposta por Decher e seus colaboradores, interações eletrostáticas (DECHER, Gerard *et al.*, 1992). A formação de filmes LbL, tendo como força motriz interações eletrostáticas, baseia-se na interação física de materiais de

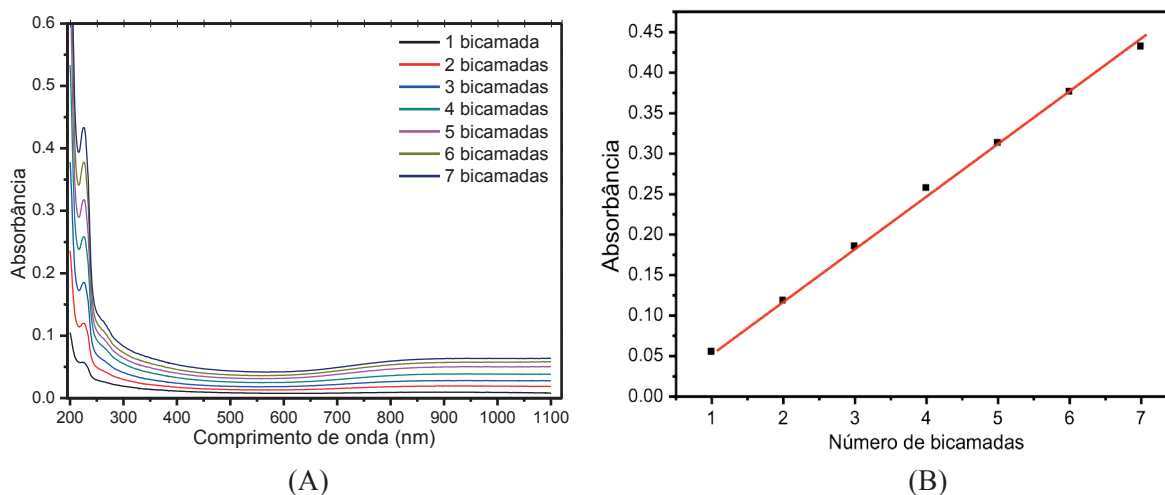
carga elétrica oposta. Os filmes são então formados, reorganizando espontaneamente os componentes em substrato sólido, levando a formação das multicamadas nanométricas. As camadas se formam pela imersão sucessiva do substrato em soluções de materiais com cargas opostas, sendo os materiais mais frequentemente utilizados os polieletrólitos catiônicos e aniônicos. O fato da quitosana ser um polieletrólito linear com alta densidade de carga positiva e com capacidade de formar filmes com facilidade, a torna um material apropriado para confecção de filmes automontados (KIM, Se-Kwon, *et al.*, 2005). A formação de filmes ultrafinos auto-organizados é essencial para o desenvolvimento da plataforma sensorial, sendo assim, o objetivo desse trabalho foi desenvolver arquiteturas adequadas para imobilização do sítio sensorial e posterior detecção do analito.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Os filmes nanoestruturados foram formados pela técnica de automontagem (LbL) em substratos de quartzo e silício. As arquiteturas utilizadas foram Qui/PEDOT:PSS e Qui/Ft sendo os filmes formados por 7 bicamadas dos materiais. Foram utilizadas soluções de Qui, PEDOT:PSS e Ft na concentração de 0,5 mg/mL e o tempo imersão do substrato nas soluções foi de 10 minutos para soluções de Qui e 3 minutos para soluções de PEDOT:PSS e Ft. O monitoramento da formação das bicamadas foi feito através da técnica de espectroscopia na região do UV-Vis enquanto que a caracterização estrutural foi feita através da espectroscopia na região do infravermelho.

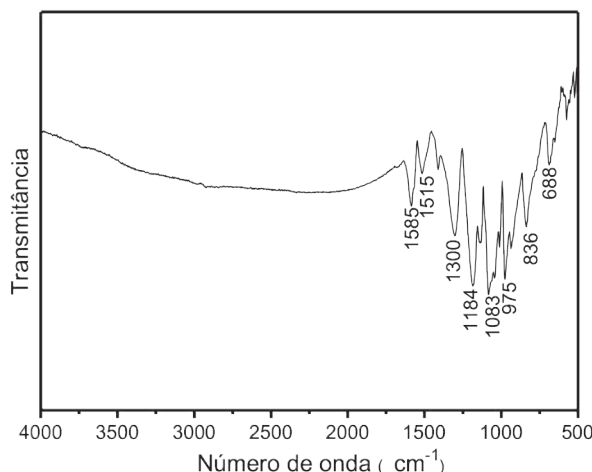
## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O crescimento dos filmes foi acompanhado por espectroscopia na região do UV-Vis, através de medidas do aumento da absorbância em função do número de bicamadas depositadas. A Figura 1(A) mostra os espectros obtidos para os filmes automontados formados por 0 a 7 bicamadas de Qui/PEDOT:PSS. Através do monitoramento da banda em 225 nm, atribuída à transição  $\pi-\pi^*$  do complexo (PEDOT:PSS), foi possível verificar uma dependência linear da absorção com o número de bicamadas depositadas, indicando um crescimento uniforme dos filmes poliméricos sobre o substrato. É observada também no espectro uma banda centrada em 980 nm característica do PEDOT no estado dopado.



**Figura 1.** Espectro de absorção na região do UV-Vis para diferentes números de bicamadas dos filmes de Qui/PEDOT:PSS (A) e variação da absorção (considerando pico em 230 nm) em função do número de bicamadas, mostrando o comportamento linear ( $R^2 = 0,99$ ) (B).

O mesmo comportamento linear de crescimento foi observado para os filmes Qui/Ft. O espectro de infravermelho para o filme Qui/PEDOT:PSS é mostrado na Figura 2, apresentando as bandas de transmissão características do PEDOT:PSS: em  $1515\text{ cm}^{-1}$  (C=C),  $1300\text{ cm}^{-1}$  (C-C),  $975\text{ cm}^{-1}$  (S-O), e  $688\text{ cm}^{-1}$  (C-S) referentes as ligações do anel tiofênico, enquanto que as bandas em  $1184\text{ cm}^{-1}$  e  $1083\text{ cm}^{-1}$  são referentes ao estiramento da ligação C-O-C no grupo dioxietileno. Além dessas, o espectro apresenta intensa banda em  $1585\text{ cm}^{-1}$  referente à deformação angular N-H de amida II da quitosana, comprovando a presença de ambos os materiais no filme. O espectro na região do infravermelho para o filme de Qui/Ft também apresentou as bandas de transmissão característica dos materiais formadores do filme.



**Figura 2.** Espectro no infravermelho para o filme Qui/PEDOT:PSS com 7 bicamadas.

#### 4 CONCLUSÃO

Neste trabalho foi utilizada a técnica de LbL para crescimento de filmes nanoestruturados contendo quitosana. O crescimento dos filmes Qui/PEDOT:PSS e Qui/Ft, monitorado através do aumento na absorbância pelo número de bicamadas, apresentou comportamento linear. O espectro na região do infravermelho confirmou, através das bandas de transmissão características, a presença dos materiais no filme. Esses filmes serão utilizados como plataforma na imobilização de enzimas.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a EMBRAPA e a FAPESP - processo: 2013/26712-7, pelo apoio financeiro.

#### REFERÊNCIAS

DECHER, G.; HONG J. D.; SCHMITT, J. Buildup of ultrathin multilayer films by a self-assembly process: III. Consecutively alternating adsorption of anionic and cationic polyelectrolytes on charged surfaces. *Thin Solid Films*, v. 210, n.1, p. 831-835, 1992.

KIM, S. K.; RAJAPAKSE, N. Enzymatic production and biological activities of chitosan oligosaccharides (COS): A review. *Carbohydrate Polymers*, v. 62, p. 357-368, 2005.

---

## DESENVOLVIMENTO DE ARQUITETURAS NANOESTRUTURADAS PARA BIOCENSORES ELETROQUÍMICOS UTILIZANDO A TÉCNICA DE AUTOMONTAGEM

**\*Stanley E.R. Bilatto<sup>1,2</sup>, Flávio M. Shimizu<sup>2,3</sup>, Osvaldo N. Oliveira Jr.<sup>3</sup>, Odilio B.G.de Assis<sup>2</sup>, Luiz H.C. Mattoso<sup>1,2</sup>, Daniel S. Correa<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Departamento de Química, UFSCar, São Carlos, SP. <sup>2</sup>Lab Nacional de Nanotec para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP. <sup>3</sup>Instituto de Física de São Carlos, USP, São Carlos, SP.

\*stanleyebr@yahoo.com.br

**Classificação:** Sensores e Biossensores.

#### Resumo

O presente estudo visou o desenvolvimento de filmes com arquiteturas nanoestruturadas para utilização em biossensores. Foram depositados filmes nanoestruturados através da técnica de automontagem

(layer-by-layer technique - LbL) utilizando as enzimas: lisozima, pepsina e tripsina e os polímeros hidrocloreto de polialilamina (PAH) como policátion e Poliestireno-sulfonato (PSS) como poliânion. O crescimento dos filmes foi caracterizado pela técnica espectroscópica na região do UV-Vis e a análise morfológica pela técnica de Microscopia de Força Atômica. Obtiveram-se filmes uniformes e com bom recobrimento superficial.

**Palavras-chave:** Biossensor; Layer-by-Layer; Polímeros, Enzimas.

## DEVELOPMENT OF NANOSTRUCTURED ARCHITECTURES TO ELECTROCHEMICAL BIOSENSORS USING SELF-ASSEMBLY TECHNIQUE

### Abstract

The present work aims at developing films with nanostructured architectures to use in biosensors. Layer-by-layer nanostructured films were obtained with the following enzymes: lysozyme, pepsin and trypsin and the polymers: polyallylamine hydrochloride (PAH) and polystyrene sulfonate (PSS) which are the polycation and polyanion, respectively. The film growth was characterized by UV-Vis spectroscopic technique and the morphological analysis by Atomic Force Microscopy. Uniforms films with good surface coverage were observed.

**Keywords:** Biosensor; Layer-by-Layer; Polymer; Enzyme.

## 1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de sensores e biossensores produzidos com materiais nanoestruturados se tornaram uma ferramenta imprescindível na avaliação de insumos e na detecção de contaminantes. Na agroindústria, contudo, a aplicação de biossensores encontra-se ainda incipiente e com largo espaço para exploração.

Biossensores são geralmente definidos como dispositivos que utilizam um bioreceptor seletivo com afinidade para uma amostra ou um analito de interesse. O bioreceptor (geralmente uma espécie bioquímica como anticorpos, oligonucleotídeos ou enzimas) é acoplado a um transdutor que utiliza um típico mecanismo bioquímico de reconhecimento e converte o resultado de interação em um sinal mensurável. O uso de uma enzima associada a um eletrodo é uma das mais simples e eficientes classes de biossensores. Esta aproximação combina a especificidade de uma reação enzimática com a força analítica de uma detecção eletroquímica. A enzima é normalmente imobilizada sobre um transdutor condutor e o sinal elétrico obtido é correlacionado com a espécie ou concentração do substrato a ser detectado (CORREA, 2014).

Neste trabalho será apresentada a preparação e caracterização de arquiteturas enzimáticas-polímeras nanoestruturadas para a detecção de patogênicos, para futura utilização em biossensores.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Todas os reagentes empregados neste trabalho foram adquiridos da Sigma Aldrich: Lisozima, código L6876; Tripsina, código T8003 e Pepsina, código P6887, assim como os polímeros utilizados para o crescimento dos filmes: hidrocloreto de polialilamina (PAH) (policátion) e poliestireno-sulfonato (PSS) (poliânion).

Para preparo das enzimas foram utilizadas as soluções: Lisozima: pH = 6.2 tampão fosfato; Tripsina: pH = 8.3 tampão trizma; Pepsina: pH = 1.6 tampão fosfato.

Os filmes automontados foram depositados sobre lâminas de quartzo utilizando a técnica de LbL (DECHER, 1997). Antes do crescimento das bicamadas com as enzimas, depositaram-se 2 camadas poliméricas de PAH/PSS para favorecer o crescimento dos filmes enzimáticos. Foram estudados três arranjos de filmes: PAH/Pepsina, PAH/Lisozima e PAH/Tripsina, com distintas bicamadas (0 a 7).

O crescimento dos filmes automontados foi acompanhado utilizando-se a técnica de espectroscopia UV-Vis (Perkin Elmer – Lambda 25) e a caracterização morfológica pela técnica de Microscopia de Força Atômica com o equipamento Dimension V (Veeco), utilizando pontas de silício anexadas a um microcantilever de constante de mola 42,0 N/m e frequência de ressonância de 285,0 KHz. Todas as imagens foram obtidas em modo tapping<sup>TM</sup> com velocidade de varredura de 1,0 Hz. A raiz quadrada da média da rugosidade (Rms) e a espessura foram calculadas usando o software Gwyddion (Versão 2.18, Novembro 2008).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estudou-se a formação de filmes automontados com as enzimas tripsina, tripsina e lisozima em lâminas de quartzo, sendo acompanhado a cinética de crescimento dos filmes, ou seja, a variação na concentração de material adsorvido na superfície do quartzo em função do incremento da absorbância observado em 220 nm. Foram depositadas bicamadas PSS/enzima, variando-se a concentração das enzimas.

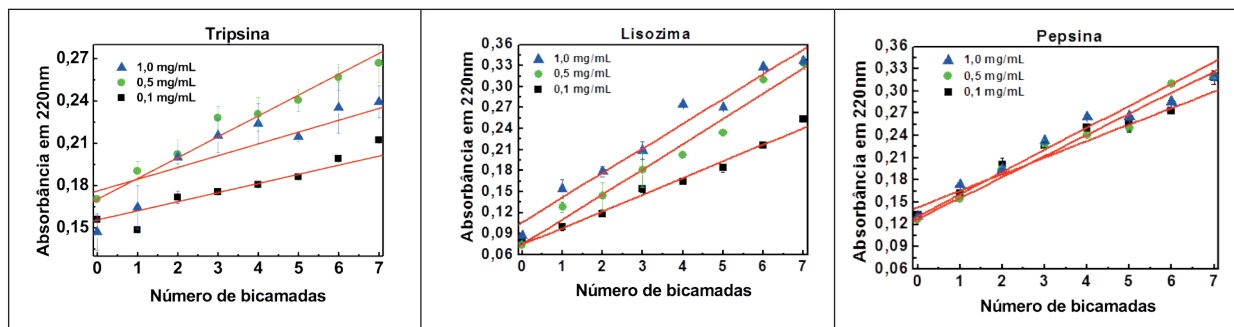
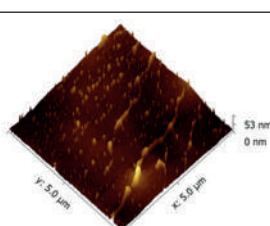
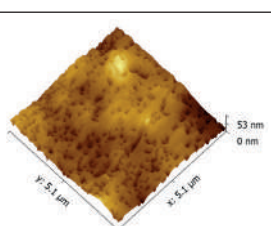
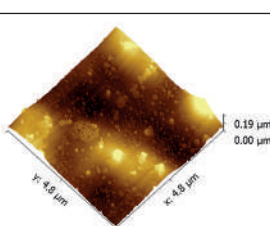
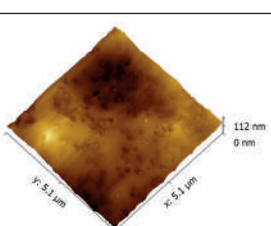


Figura 1. Gráfico da absorbância de diferentes bicamadas de enzimas (Tripsina, Lisozima e Pepsina, respectivamente) sobre quartzo variando-se a concentração enzimática.

Pode-se observar um crescimento constante e linear em todos os casos analisados. O crescimento nos valores de absorbância comprovaram que a deposição por LbL resulta na adsorção das bicamadas polímero/enzima.

Segundo estudos (JIN, 1995), a dependência da resposta do eletrodo com o número de camadas enzimáticas é alcançada com a deposição de até 6-7 camadas, onde observou a transição da dependência cinética para a difusional, obtendo uma resposta elétrica constante. Para o nosso estudo, determinou-se a utilização de no máximo 7 camadas enzimáticas. Pode-se também observar a variação do crescimento dos filmes com as diferentes concentrações, das quais optou-se por utilizar a concentração de 0.5 mg/mL, por ser uma concentração média e apresentar um caráter otimizado frente a maiores concentrações.

Na Figura 2, estão apresentadas as micrografias de força atômica comparando “substrato de quartzo/camada colchão” com “substrato de quartzo/camada colchão/1 camada enzimática”. Os valores de rugosidade estão indicados abaixo de cada imagem.

Substrato + camada colchão	1 camada enzimática
<b>Tripsina</b>	
 <p><math>r_q = 2,38 \text{ nm}</math></p>	 <p><math>r_q = 1,55 \text{ nm}</math></p>
<b>Pepsina</b>	
 <p><math>r_q = 3,65 \text{ nm}</math></p>	 <p><math>r_q = 1,7 \text{ nm}</math></p>

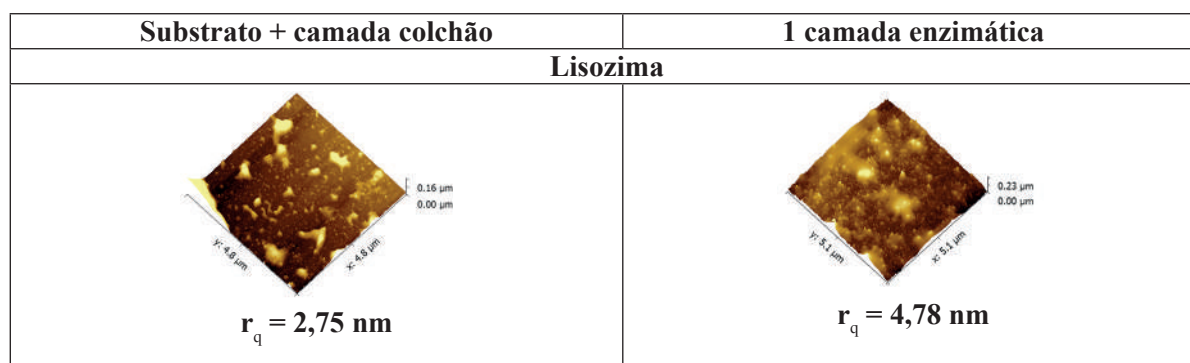


Figura 2. Micrografias de força atômica.

Pode-se observar que a deposição da camada colchão recobriu totalmente o substrato, porém de forma irregular. A deposição de tripsina e pepsina diminuiram o valor da rugosidade dos filmes auto-montados, enquanto a lisozima teve efeito contrário, aumentando a rugosidade.

#### 4 CONCLUSÃO

O estudo realizado determinou os parâmetros para o crescimento de filmes poliméricos/enzimáticos utilizando a técnica de LbL, assim como a concentração das enzimas a serem utilizadas. Estudos por AFM demonstraram a eficiência de recobrimento da arquitetura proposta. Novos estudos e caracterizações físico-químicas estão em andamento para aplicação destes filmes em biossensores.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq, Finep, FAPESP, Capes e Projeto MP1 Rede Agronano – Embrapa.

#### REFERÊNCIAS

CORREA, D.S., MEDEIROS, E.S., OLIVEIRA, J.E., PATERNO, L.G. AND MATTOSO, L.H.C. Nanostructured Conjugated Polymers in Chemical Sensors: Synthesis, Properties and Applications. *J. Nanosci. Nanotechnology*, v. 14, n. 9, p. 6509-6527, 2014.

DECHER, G. Fuzzy Nanoassemblies: Toward Layered Polymeric Multicomposites. *Science* 277, p. 1232, 1997.

JIN, W., BIER, F., WOLLENBERGER, U., SCHELLER, F. Construction and characterization of multi-layer-enzyme electrode-Covalent binding of quinoprotein glucose dehydrogenase onto gold electrodes. *Biosensors Bioelec*, 10, p. 823–829, 1995.

## MICRO- E NANOFIBRAS DE POLIMETILMETACRILATO CONTENDO O POLÍMERO LUMINESCENTE MEH-PPV

\*Aline P. Roque,<sup>1</sup> Luiza A. Mercante,<sup>1</sup> Vanessa P. Scagion,<sup>1,2</sup> Juliano E. Oliveira,<sup>3</sup> Luiz H. C. Mattoso,<sup>1</sup> Leonardo De Boni,<sup>4</sup> Cleber R. Mendonca,<sup>4</sup> Daniel S. Correa,<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio (LNNA), Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP. <sup>2</sup>Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), São Carlos, SP. <sup>3</sup>Departamento de Engenharia de Materiais (DEMAT), Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa, PB.

<sup>4</sup>Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo (USP), São Carlos, SP.

\*alineperoque@gmail.com

**Classificação:** Sensores e Biossensores.

## Resumo

Neste trabalho micro- e nanofibras foram produzidas pela técnica de eletrospiação utilizando os polímeros polimetilmetacrilato (PMMA) e poly[2-methoxy-5-(2-ethylhexyloxy)-1,4-phenylenevinylene] (MEH-PPV). A dissolução dos polímeros foi feita em clorofórmio por, aproximadamente, 4h com a adição do surfactante catiônico, CTAB. A adição de surfactante visa a obtenção de fibras com morfologias mais uniformes e diâmetros menores, através diminuição da tensão superficial da solução polimérica. O processo foi realizado à temperatura ambiente e o aparato experimental consistiu de uma fonte de alta voltagem, uma bomba injetora, um tubo capilar com uma agulha de pequeno diâmetro e um coletor metálico. A solução de PMMA 5% (m/m); 0,1% MEH-PPV(m/m) e 10% CTAB(m/m) em clorofórmio permitiu a obtenção de fibras com baixa rugosidade superficial, com diâmetro médio de 170 nm, e apresentando a fluorescência intensa centrada em 550 nm

**Palavras-chave:** Eletrospiação; PMMA; MEH-PPV; CTAB

## POLY(METHYLMETHACRYLATE) MICRO- AND NANOFIBERS CONTAINING LUMINESCENT POLYMER MEH-PPV

### Abstract

In this work, micro and nanofibers of poly(methylmethacrylate) (PMMA) and poly[2-methoxy-5-(2-ethylhexyloxy)-1,4-phenylenevinylene] (MEH-PPV) were produced by electrospinning technique. Polymer solutions were prepared by dissolving them in chloroform for, approximately, 4h and CTAB surfactant was also added to the solution to help obtaining PMMA/MEH-PPV nanofibers with small diameters and smooth surface by decreasing the surface tension of the polymeric solution. The experiment was carried out at room temperature and the experimental setup consisted of a high voltage power supply, an injection pump, a syringe with a needle of small diameter and a metallic collector. The solution in concentrations of 5% (w/w) PMMA; 0,1% MEH-PPV(w/w) and 10% CTAB(w/w) was dissolved in chloroform, which allowed us to obtain nanofibers with smooth surface and average diameter of 170nm, in addition to an intense fluorescence at 550 nm.

**Keywords:** Electrospinning, PMMA; MEH-PPV; CTAB

## 1 INTRODUÇÃO

O processo de eletrospiação baseia-se na aplicação de um campo elétrico intenso em uma gota de solução polimérica que se mantém coesa pelas forças de tensão superficial, em um tubo capilar. O campo elétrico induz uma densidade de carga na superfície do líquido, a qual devido à repulsão eletrostática, cria uma força em direção oposta à tensão superficial. Com o aumento da intensidade do campo elétrico, a superfície na ponta do capilar se alonga formando uma estrutura conhecida como cone de Taylor. A trajetória do jato de solução é controlada pelo campo elétrico, o solvente é evaporado e as fibras carregadas são depositadas em superfície metálica (Piperno et al., 2006). Fibras nanométricas obtidas pela eletrospiação possuem propriedades melhoradas em relação às micrométricas, como elevada razão área superficial/volume, maior resistência à tração e também possibilidade de funcionalização da superfície das fibras com moléculas de interesse com aplicações diversas nas áreas de engenharia, medicina, etc (Li et al., 2004). No presente estudo, micro- e nanofibras poliméricas foram preparadas a partir da dissolução de PMMA, MEH-PPV e CTAB em clorofórmio.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

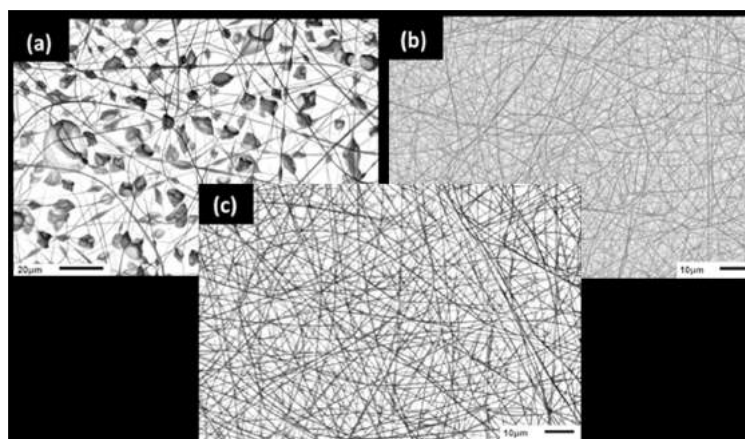
Inicialmente soluções de 5%PMMA/100%clorofórmio e 5%PMMA/100%clorofórmio/10%CTAB foram preparadas pela dissolução do PMMA por, aproximadamente, 4h e, em seguida, eletrofiadas sem dopagem de MEH-PPV (para análise morfológica). Posteriormente, às mesmas soluções, foi acrescentado aproximadamente 0,1% do polímero eletroluminescente. Parâmetros relacionados à concentração de MEH-PPV, proporção de solventes, taxa de ejeção do polímero, distância agulha-coletor e tensão aplicada, foram variados a fim de se verificar a influência dessas variáveis na morfologia das fibras. As fibras dopadas com MEH-PPV foram eletrofiadas diretamente em substrato vítreo, enquanto as fibras sem dopagem foram eletrofiadas em folha de alumínio (ambos colados ao coletor metálico). O processo foi realizado à temperatura ambiente e o aparato experimental consistiu de uma fonte de alta voltagem, uma bomba injetora, um tubo capilar com uma agulha de pequeno diâmetro e um coletor metálico – cilindro rotativo de alta velocidade para que as nanofibras obtidas pudessem ser orientadas circunferencialmente. A morfologia e o diâmetro das amostras de fibras obtidas foram caracterizadas e analisadas por imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) da marca JEOL-JSM modelo 6510.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pelos estudos pode-se observar que a natureza do polímero e do solvente influencia significativamente no resultado do processo de produção de fibras a partir da técnica de eletrospinning. Através da realização de diferentes testes observou-se que o diâmetro das fibras varia proporcionalmente à concentração de polímero na solução e a presença de *beads* aumenta com a diminuição da concentração. Desse modo, a utilização do surfactante CTAB auxiliou na eliminação das imperfeições na superfície das fibras e obtenção de fibras com diâmetros menores. A Tabela 1 apresenta os valores dos diâmetros obtidos e em seguida suas respectivas micrografias. Observa-se na Figura 1a) a presença de *beads* nas fibras sem a adição de CTAB e em seguida na Figura 1b) as fibras, produzidas nas mesmas condições, com a adição de CTAB.

**Tabela 1.** Diâmetros obtidos para as nanofibras de PMMA e de PMMA/MEH-PPV

PMMA (m/v)	MEH-PPV (m/m)	CTAB (m/m)	Diâmetro (nm)
5%	-	-	449 ± 135
5%	-	10%	169 ± 74
5%	0,1%	10%	168 ± 32



**Figura 1.** Micrografia das nanofibras de (a) 5% PMMA, (b) 5%PMMA + 10%CTAB, (c) 5% PMMA+ 10% CTAB+ 0,1% MEH-PPV

### 4 CONCLUSÃO

A solução de PMMA 5% (m/m); 0,1% MEH-PPV(m/m) e 10% CTAB (m/m) em clorofórmio permitiu a obtenção de fibras com baixa rugosidade superficial e com diâmetro médio de 170 nm. A presença de CTAB na solução polimérica proporcionou a obtenção de fibras sem *beads* e com baixos diâmetros devido à diminuição da tensão superficial da solução polimérica. As fibras dopadas com MEH-PPV com e sem adição de CTAB apresentaram fluorescência intensa centrada em 550nm, cuja propriedade é interessante para aplicações em sensores ópticos nanoestruturados.

### AGRADECIMENTOS

Embrapa, FAPESP e CNPq.

### REFERÊNCIAS

LI, D.; XIA Y.N. Electrospinning of Nanofibers: Reinventing the Wheel?. *Advanced Materials*, v.16, p.1151-1170, 2004.

PIPERNO, S.; LOZZI, L., RASTELLI, M., PASSACANTANDO, M.; SAUTUCCI, S.. PMMA nanofibers production by electrospinning, *Applied Surface Science*, v. 252, p. 5583-5586, 2006.



## DETERMINAÇÃO VOLTAMÉTRICA DE ISOFLAVONAS TOTAIS E RUTINA EM GRÃOS, FOLHAS E RAIZES DE SOJA UTILIZANDO ELETRODO DE CARBONO VÍTREO

\*Gabriella Magarelli<sup>1</sup>, Thayanna M. Pedroza<sup>2</sup>, Rosana S. Cavalcante<sup>3</sup>, Jonatas G. da Silva<sup>2</sup>, Luzia Helena C. Lima<sup>1</sup>, Jurandir R. SouzaDe<sup>4</sup>, Mercedes C. Carrão-Panizzi<sup>5</sup>, Clarissa S. P. de Castro<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia - LSA, Brasília, DF. <sup>2</sup>Universidade Católica de Brasília, Brasília, DF. <sup>3</sup>Universidade de Brasília, Planaltina, DF. <sup>4</sup>Universidade de Brasília, IQ/LQAA, Brasília, DF. <sup>5</sup>Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS.

\*gabriella.magarelli@embrapa.br

**Classificação:** Sensores e Biossensores.

### Resumo

Neste trabalho, os teores de isoflavonas totais e rutina foram determinados em sementes, folhas e raízes de 24 genótipos de soja da Embrapa, utilizando-se método voltamétrico de pulso diferencial validado e o eletrodo de carbono vítreo. Os genótipos foram preparados por meio de extrações sólido líquido (etanol 70%) e em fase sólida (SPE) e as concentrações de isoflavonas totais e rutina foram determinadas nas seguintes condições experimentais: eletrólito suporte: tampão fosfato, pH = 6; amplitude de pulso de 50 mV e velocidade de varredura de 50 mV s<sup>-1</sup>. As concentrações de isoflavonas totais na soja variaram nas sementes de 127,5 ± 27,2 µg g<sup>-1</sup> (BRS 295) a 902,6 ± 2,5 µg g<sup>-1</sup> (BRS 133) e nas raízes de 137,1 ± 83,8 µg g<sup>-1</sup> (BRS 243) a 2808 µg g<sup>-1</sup> (BRS 216). Nas folhas, as concentrações de rutina variaram de 0,86 mg g<sup>-1</sup> (BRS 294) a 1,4 mg g<sup>-1</sup> (BRS 295 e 268). Estes resultados mostram que os genótipos BRS 246, BRS 261, BRS 283 e BRS 317, por apresentarem altos teores de isoflavonas nas sementes, podem ser utilizados no processamento de alimentos funcionais à base de soja. Além disso, os genótipos BRS 133 e BRS 216, por também apresentarem altos teores desses compostos nas raízes, e os genótipos BRS 294, BRS 268 e BRS 295, por apresentarem rutina nas folhas, podem ser fontes de estudos para tolerância ou resistência de soja a pragas e doenças.

**Palavras-chave:** Soja; Flavonoides; Voltametria de pulso diferencial; Eletrodo de carbono vítreo.

### VOLTAMETRIC DETERMINATION OF TOTAL ISOFLAVONES AND RUTIN IN SOYBEAN LEAVES, SEEDS AND ROOTS BY USING GLASSY CARBON ELECTRODE

#### Abstract

In this study, the total isoflavone and rutin contents were determined in seeds, leaves and roots of 24 genotypes of Embrapa, by using an optimized and validated differential pulse voltammetric method and a glassy carbon electrode. Genotypes were prepared by solid-liquid extraction (70% ethanol) and solid phase extraction (SPE) and the total isoflavone and rutin concentrations were determined by standard addition method using the following experimental conditions: supporting electrolyte: phosphate buffer, pH = 6; pulse amplitude of 50 mV and scan rate of 50 mV s<sup>-1</sup>. The concentration of total isoflavones in soybean seeds ranged from 127.5 ± 27.2 µg g<sup>-1</sup> (BRS 295) to 902.6 ± 2.5 µg g<sup>-1</sup> (BRS 133) and in soybean roots ranged from 137.1 ± 83.8 µg g<sup>-1</sup> (BRS 243) to 2808 µg g<sup>-1</sup> (BRS 216). In soybean leaves, rutin concentration varied from 0.86 mg g<sup>-1</sup> (BRS 294) to 1.4 µg g<sup>-1</sup> (BRS 295 and 268). These results show that BRS 246, BRS 261, BRS 283 and BRS 317 genotypes can be used in the processing of soy-based functional foods because they presented high levels of isoflavones in seeds. Furthermore, BRS 133, BRS 216, BRS 294, BRS 268 and BRS 295 genotypes can be used as models in tolerance or resistance soybean studies to pests and diseases because they also have high levels of these compounds in roots or rutin in leaves.

**Keywords:** Soybean; Flavonoids; Differential pulse voltammetry; Glassy carbon electrode

#### Publicações relacionadas:

MAGARELLI, G.; LIMA, L.-H. C.; SILVA, J. G.; SOUZA, J. R.; CASTRO, C. S. P. Rutin and total isoflavones determination in soybean at different growth stages by using voltammetric methods, Microchemical Journal. DOI: 10.1016/j.microc.2014.06.019.

## 1 INTRODUÇÃO

A soja é uma das culturas mais cultivadas no mundo, sendo os principais países produtores: EUA (35%), Brasil (26%), Argentina (21%) e China (6%) (1). O uso da soja como fonte de alimento tem aumentado devido a suas propriedades nutricionais e suas características funcionais, atribuídas à presença dos flavonoides. Dentre os flavonoides presentes na soja, as isoflavonas e a rutina são aqueles mais relatados em grãos e folhas de soja e têm sido associados à resistência da soja a pragas (2),(3). Alguns genótipos de soja brasileiros, com altas concentrações de rutina e genistina, apresentaram resistência acentuada para *Anticarsia gemmatilis* (2). O genótipo de soja PI 227687, que possui a maior concentração de genistina e daidzina, foi considerado o mais promissor para uso em programas de melhoramento de soja como fonte de resistência a percevejos (3). Este trabalho tem como objetivo a aplicação de dois métodos sensíveis, baseados na Voltametria de Pulso Diferencial (DPV) e em um eletrodo de carbono vítreo, na determinação de flavonoides (rutina e isoflavonas totais) em 24 genótipos de soja brasileira e em diferentes partes das plantas de soja (sementes, folhas e raízes). Os resultados deste trabalho são bastante importantes, pois podem subsidiar as pesquisas aplicadas ao melhoramento da soja e em programas de manejo integrado de pragas.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Os 24 genótipos de soja (BRS 133, BRS 184, BRS 213, BRS 216, BRS 232, BRS 243, BRS 245, BRS 246, BRS 255, BRS 257, BRS 258, BRS 259, BRS 260, BRS 261, BRS 262, BRS 268, BRS 282, BRS 283, BRS 284, BRS 294, BRS 295, BRS 316, BRS 317 e Embrapa 48) foram semeados em duplicatas, em campos experimentais da Embrapa Soja (Londrina-PR), em 2009. No estádio de desenvolvimento R6 (sementes completamente desenvolvidas, mas ainda imaturas), os genótipos foram colhidos e suas folhas, raízes e sementes acondicionados separadamente em sacos plásticos e mantidos sob congelamento a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  até o momento da análise. O preparo dos genótipos de soja foi realizado por extração sólido-líquido (2 mL etanol; 70%) de 0,1 g de sementes, folhas e raízes desidratados e triturados, com posterior sonicação (20 min.) e centrifugação do extrato (10 min à 13.000 rpm). Em seguida, foi realizada uma extração de fase sólida do sobrenadante, utilizando-se cartucho com 200 mg de fase sólida polimérica (Perkin Elmer), com as seguintes etapas: pré-condicionamento do cartucho com 4 mL de água ultrapura e metanol (50:50); eluição dos interferentes e da amostra com 2 mL de metanol 10% e 4 mL de metanol e acetonitrila (50:50), respectivamente. As medidas voltamétricas foram realizadas por meio do analisador voltamétrico 797 VA (Metrohm) e uma célula eletroquímica composta pelos eletrodos: carbono vítreo ( $\varnothing = 2\text{ mm}$ ) (trabalho), Ag/AgCl (KCl 3,0 M) (referência) e platina (auxiliar). Os parâmetros voltamétricos e de análise adotados foram: Técnica de Pulso Diferencial (DPV), amplitude de pulso de 50 mV; velocidade de varredura de  $50\text{ mVs}^{-1}$ ; potencial inicial = 0,000 V; potencial final = 1,000 V; tampão fosfato, pH 6,0. A quantificação das isoflavonas totais e da rutina nas amostras foi realizada por meio de adições sucessivas de 15 - 20  $\mu\text{L}$  de genisteína ( $1,0 \times 10^{-3}\text{ M}$ ) e 20  $\mu\text{L}$  de rutina ( $1,0 \times 10^{-3}\text{ M}$ ) na célula eletroquímica contendo 10 mL de tampão fosfato, pH 6,0, e 0,5 - 2,0 mL dos extratos dos genótipos de soja. Os métodos voltamétricos de determinação de rutina e das isoflavonas totais foram validados segundo o documento orientativo do Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO) (4). Para a análise de clusters (método hierárquico) entre os genótipos analisados, foi utilizado o software livre “Action” (<http://www.portaction.com.br>).

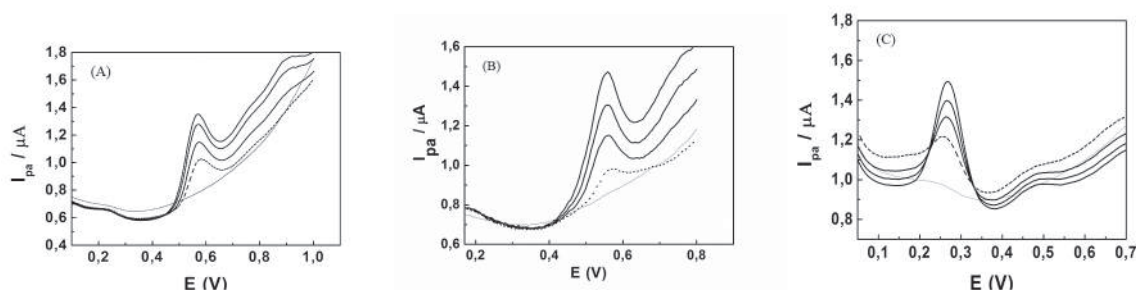
## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os parâmetros de validação dos métodos obtidos por meio das curvas de calibração da genisteína e da rutina são mostrados na tabela 1. A precisão dos métodos apresentou como resultados: repetitividade (intra-dia) (Desvio Padrão Relativo (DPR): 7 a 10% – rutina e 7 a 15% - genisteína); precisão intermediária (inter-dia) (DPR: 10 a 21% – rutina e 16 a 28% - genisteína). Os resultados referentes à exatidão do método foram: recuperação de 92 - 111% para a genisteína e de 85 - 107% para a rutina. No caso dos testes de recuperação da genisteína e rutina, quantidades conhecidas destes padrões foram adicionadas nos extratos das sementes e das folhas, respectivamente. Os perfis dos voltamogramas dos padrões e das amostras mostraram picos de corrente sensíveis e livres de interferentes, o que demonstrou a boa seletividade dos métodos.

Tabela 1. Parâmetros de validação do método

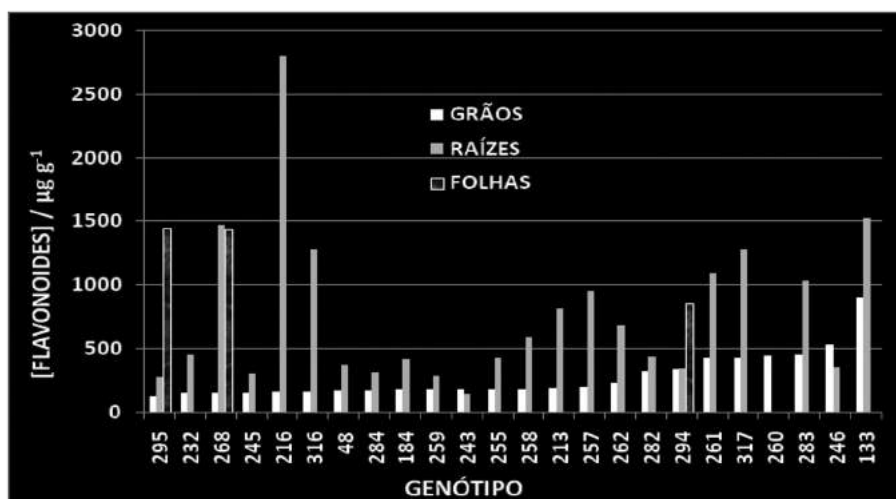
Parâmetro	Genisteína	Rutina
Equação da curva e coeficiente de correlação	$I_{pa} (A) = -8,1 \times 10^{-9} + 0,068 [genisteína]/M$ $r = 0,9944$	$I_{pa} (A) = -4,4 \times 10^{-8} + 0,110 [rutina]/M$ $r = 0,9986$
Faixa linear/faixa de trabalho (M)	$1,5 \times 10^{-6} - 9,0 \times 10^{-6}$	$1,0 \times 10^{-6} - 7,0 \times 10^{-6}$
Limite de detecção (M)	$6,0 \times 10^{-7}$	$5,0 \times 10^{-7}$
Limite de quantificação (M)	$1,5 \times 10^{-6}$	$1,0 \times 10^{-6}$

Os extratos de sementes e raízes de soja analisados apresentaram voltamogramas com a presença de somente um pico de corrente de oxidação ( $I_{pa}$ ) em potenciais de 0,559 V – 0,589 V (Figuras 1 A e B). Este perfil voltamétrico é coincidente com o perfil voltamétrico de uma mistura de isoflavonas (genisteína, daidzeína, gliciteína, genistina, glicitina e daidzina), que apresenta também somente um pico de corrente de oxidação em uma faixa de potenciais de 0,500 V e 0,600 V, como resultado da oxidação do grupo 4'-hidroxi localizado no anel B das isoflavonas (5). Os extratos das folhas de soja apresentaram um pico de corrente de oxidação em potencial de 0,262 V, coincidente com o potencial de pico de corrente da rutina (Figura 1C).



**Figura 1.** Voltamogramas de pulso diferencial de (A) 1 mL do extrato de semente de soja (BRS 133) em 10 mL de tampão fosfato, pH 6,0, com adições sucessivas de 15  $\mu$ L de genisteína  $1,0 \times 10^{-3}$  M; (B) 500  $\mu$ L do extrato da raiz de soja (BRS 259) em 10 mL de tampão fosfato, pH 6,0, com adições sucessivas de 15  $\mu$ L de genisteína  $1,0 \times 10^{-3}$  M; (C) 1 mL do extrato da folha (BRS 294) em 10 mL de tampão fosfato pH 6,0 com adições sucessivas de 20  $\mu$ L de rutina  $1,0 \times 10^{-3}$  M.

Em todas as variedades de soja analisadas foram encontradas isoflavonas nos grãos e nas raízes de soja. Nas sementes, as médias de concentrações variaram de  $127,5 \pm 27,2 \mu\text{g g}^{-1}$  (BRS 295) a  $902,6 \pm 2,5 \mu\text{g g}^{-1}$  (BRS 133). Nas raízes, as médias de concentrações foram maiores e variaram de  $137,1 \pm 83,8 \mu\text{g g}^{-1}$  (BRS 243) a  $2808 \mu\text{g g}^{-1}$  (BRS 216). Em três genótipos de soja, a rutina foi detectada nas folhas em concentrações de:  $1,4 \text{ mg g}^{-1}$  (BRS 268);  $0,86 \text{ mg g}^{-1}$  (BRS 294) e  $1,4 \text{ mg g}^{-1}$  (BRS 295). A figura 2 mostra o gráfico das concentrações de isoflavonas totais determinadas nas sementes e nas raízes e rutina nas folhas dos genótipos de soja estudados. Considerando que os altos teores de isoflavonas nas raízes e nas sementes podem conferir resistência às plantas de soja a pragas e doenças, realizou-se uma análise de clusters tomando as concentrações de isoflavonas totais nas sementes e nas raízes como variáveis. Nesta análise, verificou-se a formação de quatro grupos: Grupo 1 - genótipo BRS 133, com concentrações altas de isoflavonas nas sementes e raízes ( $902,6$  e  $1.523,4 \mu\text{g g}^{-1}$ , respectivamente); Grupo 2 - genótipo BRS 216, com concentração muito elevada de isoflavonas nas raízes ( $2.808 \mu\text{g g}^{-1}$ ); Grupo 3 - genótipos BRS 246, 261, 283, 317, com concentrações altas de isoflavonas nas sementes ( $421,5$  a  $529,0 \mu\text{g g}^{-1}$ ) e Grupo 4 - o restante dos genótipos, com concentrações mais baixas de isoflavonas nas sementes e nas raízes ( $148$  a  $336,2 \mu\text{g g}^{-1}$  e  $137,1$  a  $1470,6 \mu\text{g g}^{-1}$ , respectivamente).



**Figura 2.** Concentrações de flavonoides totais ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) nas sementes (isoflavonas), raízes (isoflavonas) e folhas (rutina) das plantas dos diferentes genótipos de soja.

#### 4 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos demonstram que os métodos voltamétricos validados foram eficientes na determinação de isoflavonas totais nos grãos e nas raízes e rutina nas folhas de 24 genótipos de soja e são sensíveis (baixos limites de detecção e quantificação), precisos, seletivos e exatos. As análises mostraram concentrações maiores de isoflavonas totais nas raízes do que nos grãos da soja e, além disso, a presença da rutina nas folhas. Após a análise estatística, foi possível agrupar os genótipos que apresentaram maiores concentrações de flavonoides, como: BRS 216, BRS 133, BRS 246, BRS 261, BRS 283 e BRS 317 (isoflavonas totais nas raízes e nos grãos de soja), e BRS 268 e BRS 265 (rutina nas folhas). Tais resultados poderão ser úteis para subsidiar pesquisas de melhoramento de plantas e manejo integrado de pragas, bem como estudos sobre matéria prima para processamento de alimentos funcionais.

#### AGRADECIMENTOS

Ao Cleverson Ritter Urrutia (Embrapa Soja) pelo plantio e coleta dos genótipos de soja. À EMBRAPA, CAPES, UnB e CNPq pelas bolsas de estudantes e pelos auxílios financeiros.

#### REFERÊNCIAS

- (1) Secretaria da Agricultura e Abastecimento. S O J A - disponível em <[www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/.../soja\\_\\_2013\\_14.pdf](http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/.../soja__2013_14.pdf)> Acesso em: 14 de jul. 2014.
- (2) PIUBELLI, G.C.; HOFFMAN-CAMPO, C.B.; MOSCARDI, F.; MIYAKUBO, S.H.; OLIVEIRA, M.C.N. Are chemical compounds important for soybean resistance to *Anticarsia gemmatilis*? *Journal of Chemical Ecology*, n. 31, p. 1509–1525, 2005.
- (3) PIUBELLI, G. C.; HOFFMANN-CAMPO C. B.; ARRUDA, I. C.; LARA, F. M. Nymphal development, lipid content, growth and weight gain of *Nezara viridula* (L.) (Heteroptera: Pentatomidae) fed on soybean genotypes. *Neotropical Entomology*, n. 32, p. 127-132, 2003.
- (4) INMETRO, Orientação sobre validação de métodos analíticos, DOQ-CGCRE-008, p. 25, 2011.
- (5) MAGARELLI, G.; LIMA, L.- H. C.; SILVA, J. G.; SOUZADE, J. R.; CASTRO, C. S. P. Rutin and total isoflavones determination in soybean at different growth stages by using voltammetric methods, *Microchemical Journal*. DOI: 10.1016/j.microc.2014.06.019.

# NANOFIBRAS POLIMÉRICAS DE PA6 E PA 6/PANI PARA APLICAÇÃO COMO CAMADA SENSITIVA EM SENSORES NANOESTRUTURADOS

\*Vanessa P. Scagion<sup>1</sup>, Karine Y. Sakamoto<sup>2</sup>, Juliano E. Oliveira<sup>3</sup>, Luiza Mercante<sup>4</sup>, Luiz H. C. Mattoso<sup>4</sup>, Marcos D. Ferreira<sup>4</sup>, Daniel S. Corrêa<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Biotecnologia, Universidade Federal de São Carlos, SP. <sup>2</sup> Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, SP. <sup>3</sup> Departamento de Engenharia de Materiais, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB. <sup>4</sup> Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP.  
\*vanessa.scagion@gmail.com

**Classificação:** Sensores e Biossensores.

## Resumo

Este trabalho versa sobre a caracterização de nanofibras poliméricas de Nylon 6 (PA6) e de uma blendagem polimérica de PA6/ Polianilina (PAni) empregados na modificação de eletrodos interdigitados para serem empregados em sensores químicos. A modificação do eletrodo foi realizada através da técnica de eletrospinning variando as concentrações de PAni em relação a massa de PA6. A morfologia das nanofibras foi analisada por meio da técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Os resultados mostraram uma boa dispersão das nanofibras, e evidenciaram que o aumento da concentração de PAni ocasionou um decréscimo no diâmetro das nanofibras.

**Palavras-chave:** Nanofibras de PA6; Eletrospinning; Polianilina.

## PA6 AND PA6/PANI POLYMERIC NANOFIBERS FOR APPLICATION AS SENSITIVE LAYERS IN NANOSTRUCTURED SENSORS.

### Abstract

This work reports the characterization of polymeric nanofibers based on Nylon 6 (PA6) and PA6/ Polyaniline (PAni) blend used to modify interdigitated electrodes to be used in chemical sensors. The electrode modification was carried out by the electrospinning technique varying PAni concentrations in regarding to PA6 mass. The nanofiber morphology was analyzed by Scanning Electron Microscopy (SEM) technique. The results showed a good dispersion of nanofibers and evidenced that the increase of polyaniline concentration caused a decrease in the diameter of the nanofibers.

**Keywords:** PA6 Nanofibers; Electrospinning; Polyaniline.

## 1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos tem se observado um aumento no interesse em nanotecnologia, por ser um campo de pesquisa multidisciplinar, podendo ser aplicado em diversas áreas, como no agronegócio, na indústria farmacêutica, medicina, eletrônica, entre outras. Segundo Rossi-Bergmann, B. (2008) esta ciência tem como princípio o fato que os nanomateriais podem apresentar propriedades químicas, físico-químicas e comportamentos diferenciados dos mesmos em escalas maiores. Devido a este comportamento, os materiais nanoestruturados estão sendo cada vez mais estudados e utilizados. Uma das possíveis aplicações para estes materiais é no desenvolvimento de sensores e biossensores. Os sensores produzidos com materiais poliméricos nanoestruturados têm se mostrado uma ferramenta bastante promissora para detectar e qualificar insumos, como produtos alimentícios e líquidos, devido a sua alta sensibilidade e capacidade de detecção.

Neste contexto, temos o surgimento da língua eletrônica (RIUL *et al.*, 2003), um sistema que compreende um conjunto de sensores com camadas sensitivas diferenciadas, que juntos originam uma resposta global sobre o analito. A modificação dos eletrodos pode ser feita de várias formas, dentre as quais podem ser destacadas a deposição direta de nanofibras sobre os eletrodos, como descrito no trabalho de Oliveira *et al.* (2013), ou através da formação de filmes LbL sobre as nanofibras, como descrito por Oliveira *et al.*, (2012).

Dentre os polímeros que podem ser utilizados no processo de eletrospinning destaca-se o Nylon 6, um termoplástico também conhecido como Poliamida 6 (PA 6), o qual vem sendo bastante empregado devido as suas ótimas propriedades mecânicas, elétricas e térmicas, além de boa resistência a agentes

químicos. Já entre os polímeros condutores largamente utilizados temos a polianilina (PAni) devido a sua estabilidade química em condições ambientes, baixo custo e fácil controle de síntese, maior grau de solubilidade em alguns solventes e por ter seu grau de condutividade controlado através do processo de dopagem protônica ou redox. Outros polímeros condutores que também são bastante empregados são poli(estireno sulfonato de sódio) (PSS) e o polipirrol (PPy), devido a proporcionarem uma melhora na resposta elétrica dos sensores químicos.

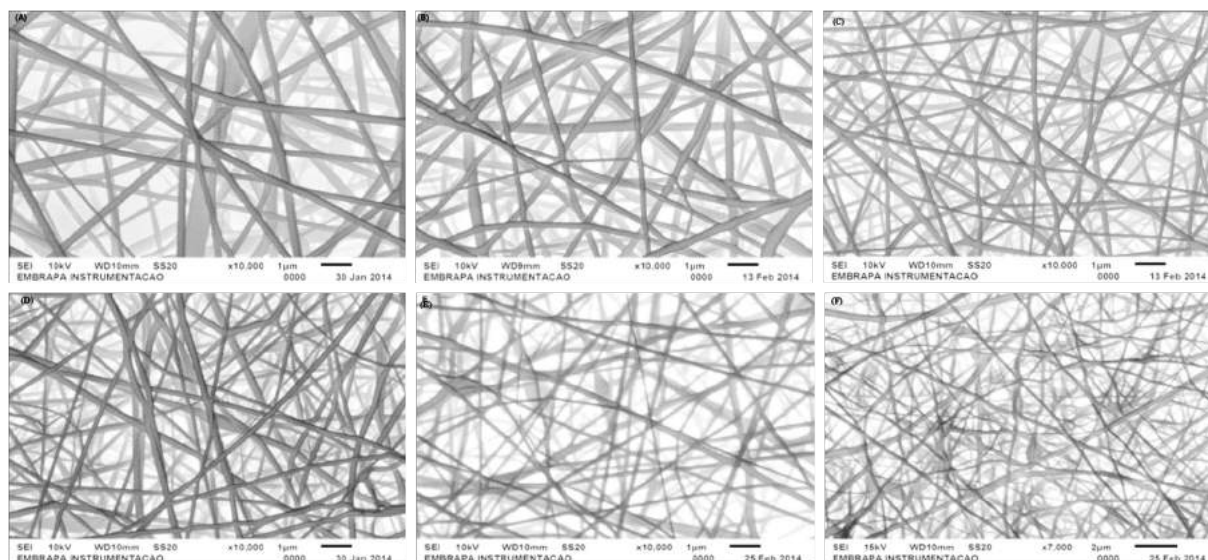
Desta forma, a modificação de eletrodos através do acoplamento da camada sensível ao meio físico é muito importante, visto que esta interação terá um profundo efeito sobre a seletividade e sensibilidade do sensor, ou seja, sobre seu desempenho. Visando a modificação de eletrodos interdigitados de platina, para posterior utilização como sensores químicos no sistema de língua eletrônica, este projeto tem como objetivo geral modificar estes eletrodos com nanofibras poliméricas da blenda Nylon 6/PAni, obtida com a técnica de eletrofição, como também com a formação de bicamadas LbL de PPy/PSS sobre as nanofibras poliméricas de Nylon 6, obtidas com a eletrofição.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

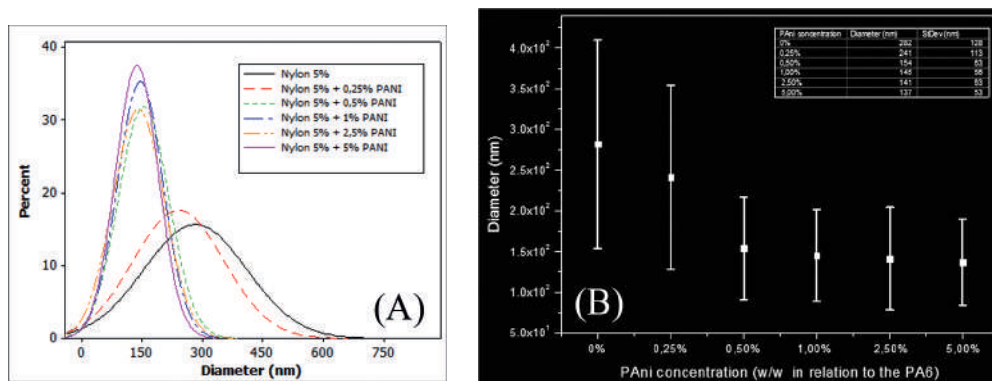
Para obtenção das nanofibras de PA6 foi preparada uma solução de 5% (m/v) de PA6 em relação ao solvente 1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-propanol (HFIP). Posteriormente, foram incorporadas quantidades de diferentes concentrações de PANI em relação à massa de PA6, as quais foram: 0%, 0,25%; 0,5%; 1,0%; 2,5% e 5,0%. As condições utilizadas na eletrofição, em todas as soluções, foram: tensão de 16kV; taxa de ejeção de 0,01mL h<sup>-1</sup> e distância de trabalho de 5cm.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O aumento da incorporação da PAni no PA6 resultou em uma diminuição progressiva no diâmetro médio das fibras (Gráfico 1(B)), porém não foi observado uma significativa alteração na distribuição e homogeneidade das mesmas (Gráfico 1(A)). Bagheri *et al.*, 2012 obtiveram, com a técnica de eletrofição, nanofibras de PA6/PAni com diâmetro médio de 200nm, o que está de acordo com as obtidas neste estudo. A diminuição progressiva do diâmetro com o aumento da concentração da PANI pode ser devida à interação desta com o solvente, o que diminui a viscosidade da solução. A diminuição da viscosidade facilita o estiramento em alta tensão, diminuindo o diâmetro da fibra.



**Figura 1.** Micrografias das nanofibras de PA 6 e PA 6/PANI. (A) PA 6 5% m/V em relação à HFIP; (B) PA 6 5% m/V + 0,25% PANI m/m em relação ao PA 6; (C) PA 6 5% m/V + 0,5% PANI m/m em relação ao PA 6; (D) PA 6 5% m/V + 1,0% PANI m/m em relação ao PA 6; (E) PA 6 5% m/V + 2,5% PANI m/m em relação ao PA 6; (F) PA 6 5% m/V + 5,0% PANI m/m em relação ao PA 6.



**Figura 2.** Distribuição Normal do diâmetro médio das nanofibras (A); e variação do diâmetro médio de acordo com o aumento de concentração de PANi (B).

#### 4 CONCLUSÃO

A formação de nanofibras da blenda polimérica mostrou-se satisfatória, pois foram obtidas mantas homogêneas, sem a presença de *beads*, os quais representariam um problema, principalmente na aplicação destas em sensores. Os *beads* podem bloquear os espaçamentos entre os *fingers* do eletrodo interdigitado causando uma perda de sensibilidade e eficiência do sensor, diminuindo a interação do analito com o eletrodo. A diminuição do diâmetro médio da fibra com o aumento da PANi é muito interessante para a aplicação destas como camadas sensitivas em sensores, uma vez que aumenta a superfície de contato, melhorando a sensibilidade de detecção do sistema.

#### AGRADECIMENTOS

Departamento de Biotecnologia da Universidade Federal de São Carlos, Embrapa Instrumentação, CAPES, CNPq.

#### REFERÊNCIAS

- ROSSI-BERGMANN, B. A nanotecnologia: da saúde para além do determinismo tecnológico. Artigos e ensaios, p. 54-57, 2008.
- RIUL, A. Jr.; SOTOB, A.M.G.; MELLOCO, S.V.; BONEB, S.; TAYLORB,D.M.; MATTOSO, L.H.C. An electronic tongue using polypyrrole and polyaniline. *Synthetic Metals*, v. 132, p.109–116, 2003.
- OLIVEIRA, J. E.; GRASSI, V.; SCAGION, V. P.; MATTOSO, L. H. C.; GLENN, G. M.; MEDEIROS, E. S. Sensor Array for Water Analysis Based on Interdigitated Electrodes Modified With Fiber Films of Poly(Lactic Acid)/Multiwalled Carbon Nanotubes. *IEEE SENSORS JOURNAL*, v. 13, n. 2, p. 759-766, 2013.
- OLIVEIRA, J. E.; SCAGION, V. P.; GRASSI, V.; CORREA, D. S. ; MATTOSO, L. H. C.. Modification of electrospun nylon nanofibers using layer-by-layer films for application in flow injection electronic tongue: Detection of paraoxon pesticide in corn crop. *Sensors and Actuators. B, Chemical*, v. 171, p. 249-255, 2012.
- BAGHERI, H.; AGHAKHANI, A.. Polyaniline-nylon-6 electrospun nanofibers for headspace adsorptive Microextraction. *Analytica Chimica Acta*, v. 713, p. 63– 69, 2012.

## CARACTERIZAÇÃO DE FILMES LBL DOS NANOCOMPÓSITOS HÍBRIDOS AGCL/PANI

\*Alexandra Manzoli<sup>1</sup>, Luiza A. Mercante<sup>1</sup>, Flávio M. Shimizu<sup>1,2</sup>, Elaine C. Paris<sup>1</sup>, Osvaldo N. Oliveira Jr.<sup>2</sup>, Daniel S. Corrêa<sup>1</sup>, Luiz H. C. Mattoso<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio (LNNA), Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP. <sup>2</sup>Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo (USP), São Carlos, SP.  
\*alexxiamanzoli@gmail.com

**Classificação:** Sensores e Biossensores.

### Resumo

O desenvolvimento e pesquisa de novos materiais obtidos por meio da inserção de matrizes inorgânicas em materiais poliméricos formando nanocompósitos híbridos tem atraído grande atenção devido a possibilidade de ajuste da relação entre as propriedades e estrutura dos materiais. O AgCl/PANI tem emergido como uma excelente alternativa para evitar o processo de dopagem/desdopagem da PANI, além de apresentar baixa dependência com o pH. Neste trabalho reportamos a fabricação de filmes LbL de AgCl/PANI-PSS, sendo que o nanocompósito híbrido foi obtido com síntese “one-step”. O processo de cinética de adsorção foi modulado por meio da equação de Johnson-Mel-Avrami, correspondendo a um crescimento 3D, o que indica nucleação dos esferoides durante o processo de adsorção, cujos dados corroboraram com as medidas de MFA.

**Palavras-chave:** AgCl/PANI; Nanocompósitos híbridos; Filmes LbL; cinética de adsorção; AFM.

### CHARACTERIZATION OF AGCL /PANI HYBRID NANOCOMPOSITE FILMS

#### Abstract

The development and research of new materials obtained by means of insertion of an inorganic matrix into polymeric materials, yielding hybrids nanocomposites, has attracted much attention due the possibility of tailoring the materials structure/property relationship. AgCl/PANI has emerged as an excellent alternative to avoid the easy doping/de-doping process of PANI, presenting low dependence with the pH. Here we report for the first time the fabrication of LbL films obtained from AgCl/PANI hybrid nanocomposites synthesized by one-step route. Kinetics of adsorption process was modeled by Johnson-Mel-Avrami equation yielding a 3D-growth, indicating spheroids nucleation during adsorption process, which was corroborated by AFM measurements.

**Keywords:** AgCl/PANI; Hybrids Nanocomposites; LbL films; Kinetics of adsorption, AFM.

## 1 INTRODUÇÃO

Os polímeros condutores são largamente utilizados em sensores químicos devido à capacidade de alterar, de maneira reversível, seus níveis de condutividade elétrica quando expostos a diferentes substâncias químicas e ambientes diversos. Por mudar o nível de dopagem, a condutividade da polianilina pode ser modificada para ajustar-se a aplicações específicas entretanto, isto é um problema quando aplicada em sensor para líquidos, sendo seu uso restrito a meios ácidos (IRIMIA-VLADU *et. al.*, 2006). Por esta razão, o desenvolvimento e a pesquisa de novos materiais obtidos por meio da inserção de polímeros orgânicos em matrizes inorgânicas, formando nanocompósitos híbridos, tem emergido como uma excelente alternativa para evitar o fácil processo de desdopagem, tornando possível a utilização dos sensores em meios neutros ou até mesmo básicos. Estes sensores são geralmente obtidos com a deposição de uma camada ativa sobre um eletrodo para interagir com um analito. Por isto, muitas técnicas de fabricação de filmes têm sido usadas, mas a técnica de Layer-by-Layer (LbL) é uma das que mais tem atraído atenção devido a simplicidade experimental para fabricar multicamadas nanoestruturadas destes materiais, além de seu baixo custo (SRIVASTAVA *et. al.*, 2008).



## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Preparação dos filmes de AgCl/PANI-PSS com a técnica de Layer-by-Layer (LbL)

A obtenção das bicamadas de AgCl/PANI-PSS foi feita com a técnica de Layer-by-Layer (LBL), com deposição alternada dos polímeros de cargas opostas (AgCl/PANI e PSS) sobre lâminas de quartzo, sendo que após cada imersão nas soluções poliméricas os substratos foram lavados com imersão em solução HCl pH 3 e secos em fluxo de nitrogênio.

### 2.2 Caracterização dos filmes LbL de AgCl/PANI-PSS

Os filmes LbL de AgCl/PANI-PSS foram caracterizados com as técnicas:

#### 2.2.1 Espectroscopia de Absorção no UV-Vis

Foi utilizado um equipamento da Perkin-Elmer, Lambda 25 e substratos de lâminas de quartzo para deposição dos filmes. Esta técnica foi utilizada para avaliar o mecanismo de adsorção dos nanocompósitos de AgCl/PANI durante a deposição do filme LbL. Esta avaliação foi feita por meio de um modelamento matemático da cinética de adsorção com a equação de Johnson–Mehl–Avrami (JMA) (RAPOSO, M. *et al.*, 1997), a qual é uma descrição fenomenológica do processo da cinética de adsorção e tem sido adequadamente usada para explicar o crescimento dos filmes poliméricos. A equação JMA é dada por:

$$A = k_1 \left( 1 - \exp\left(-\frac{t}{\tau_1}\right) \right) + k_2 \left( 1 - \exp\left(-\left(\frac{t}{\tau_2}\right)^n\right) \right) \quad (1)$$

Onde A é a absorvância selecionada, k e n são constantes,  $\tau_1$  e  $\tau_2$  são os tempos característicos. A primeira exponencial corresponde a uma cinética de primeira ordem com  $\tau_1$  atribuído à nucleação dos domínios poliméricos, enquanto a segunda exponencial é atribuída ao crescimento dos núcleos já formados.

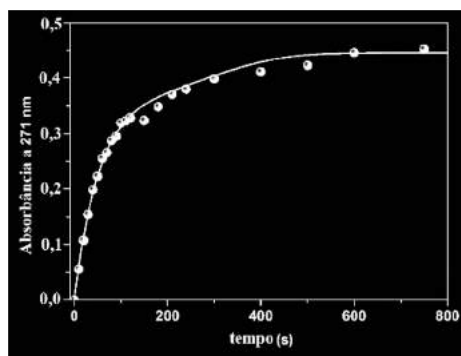
#### 2.2.2 Microscopia de Força Atômica (MFA)

Esta técnica foi utilizada para caracterizar filmes LbL de AgCl/PANI-PSS com 3, 5 e 7 bicamadas em relação a morfologia e a rugosidade. As análises foram feitas em um microscópio de força atômica Dimension V (Veeco), utilizando pontas de silício anexadas a um microcantilever de constante de mola 42,0 N/m e frequência de ressonância de 285,0 KHz. Todas as imagens foram obtidas em modo tapping<sup>TM</sup> com velocidade de varredura de 1,0 Hz. A raiz quadrada da média da rugosidade (Rms) e a espessura foram calculadas usando o *software* Gwyddion (Versão 2.18, Novembro 2008).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

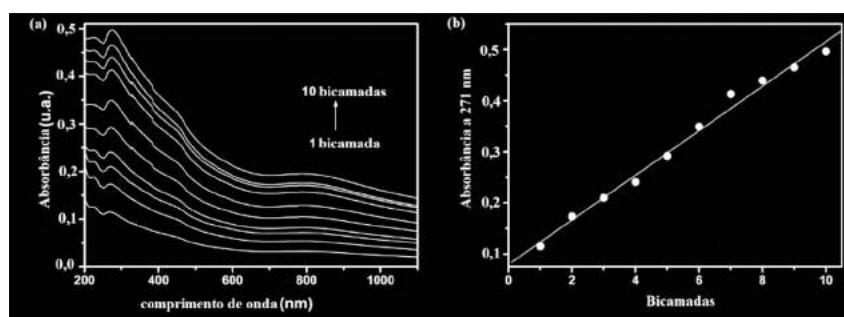
### 3.1 Caracterização dos filmes de AgCl/PANI-PSS obtidos com a técnica de Layer-by-Layer (LbL)

A Figura 1 mostra a curva experimental e a obtida por meio do modelamento matemático com a equação JMA para o filme LbL de AgCl/PANI-PSS. Por meio da Figura 1 foi possível observar que a saturação da adsorção do polímero ocorreu após os 300 s, o que é confirmado pelo parâmetro obtido  $\tau_2 = 345$  s. Foi obtido um valor para o parâmetro n igual a 3, que é correspondente a um crescimento 3D dos esferoides poliméricos.<sup>14</sup> A partir da obtenção do tempo de saturação do polímero, 345 s, foi possível fazer um estudo do crescimento do filme LbL de AgCl/PANI-PSS sobre substrato de quartzo com a técnica de espectroscopia de absorção no UV-Vis, cujos resultados são mostrados nas Figuras 2 (a) e (b).



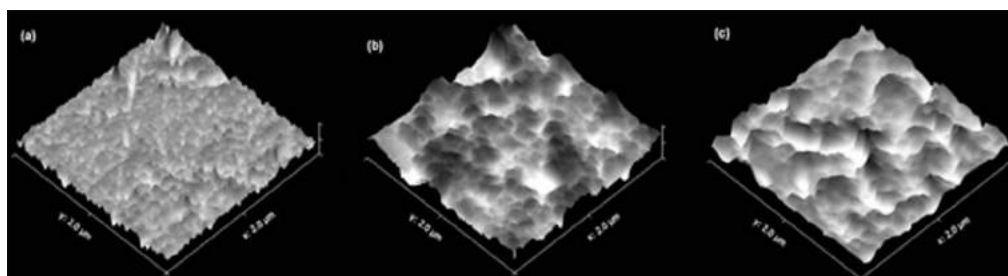
**Figura 1.** Curva da cinética de adsorção para o filme LbL de AgCl/PANI. A linha sólida representa o ajuste matemático obtido com o modelo JMA.

Na Figura 2 (a) é possível observar dois picos de absorção em 271 e 840 nm, os quais são atribuídos a transição  $\pi$ - $\pi^*$  respectivamente dos anéis benzenóide e quinóide na cadeia da polianilina.<sup>15</sup> Na Figura 2 (b) foi possível observar a dependência linear da absorvância medida a 271 nm com o número de bicamadas depositadas, o que indica uma adsorção regular do material em cada bicamada, levando a um crescimento uniforme do filme LbL sobre o substrato.



**Figura 2.** (a) Espectro de absorção UV-Vis para o filme Layer-by-Layer de AgCl/PANI-PSS, obtido de 1 a 10 bicamadas e (b) Absorção (considerando o pico a 271 nm) como uma função do número de bicamadas depositadas, mostrando a dependência linear.

A Figura 3 mostra os aspectos morfológicos dos filmes LbL de AgCl/PANI-PSS obtidos com 3, 5 e 7 bicamadas utilizando a técnica de microscopia de força atômica. Por meio desta Figura foi possível observar um recobrimento uniforme dos filmes de AgCl/PANI-PSS obtidos com 3, 5 e 7 bicamadas sobre o substrato, com morfologia globular típica das polianilinas.<sup>16</sup> Foi possível observar o crescimento dos núcleos já formados com o número de bicamadas depositadas no filme, o qual foi acompanhado com um aumento da rugosidade ( $R_{rms}$ ),  $R_{rms} = 38$  nm, 41,1 nm e 52 nm respectivamente para 3, 5 e 7 bicamadas. O aumento tanto da rugosidade e da homogeneidade na camada superficial confirma o crescimento 3D do filme LbL de AgCl/PANI-PSS, como determinado com o modelamento JMA.



**Figura 3.** Imagem 3D obtida com a técnica de MFA da superfície dos filmes LbL de PANI/AgCl-PSS formados com (a) 3, (b) 5 e (c) 7 bicamadas.

#### 4 CONCLUSÃO

Os nanocompósitos híbridos de AgCl/PANI adequadamente obtidos com a síntese “one-step” foram utilizados para fabricar filmes LbL nanoestruturados, os quais foram caracterizados com as técnicas de espectroscopia UV-Vis e MFA, enquanto os parâmetros para o processo de adsorção foram estabelecidos usando o modelo JMA.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o suporte financeiro da FAPESP, CNPq, CAPES e EMBRAPA do Brasil.

#### REFERÊNCIAS

IRIMIA-VLADU, M.; FERGUS, J. W. Impedance spectroscopy of thin films of emeraldine base polyaniline and its implications for chemical sensing. *Synthetic Metals*, v. 156, p. 1396–1400, 2006.

SRIVASTAVA, S.; KOTOV, N. A. Composite Layer-by-Layer (LBL) Assembly with Inorganic Nanoparticles and Nanowires. *Accounts of Chemical Research*, v. 41, p. 1831-1841, 2008.

RAPOSO, M.; PONTES, R. S.; MATTOSO, L. H. C.; OLIVEIRA Jr., O. N. Kinetics of Adsorption of Poly(o-methoxyaniline) Self-Assembled Films. *Macromolecules*, v. 30, p. 6095-6101, 1997.

---

## ESTUDOS DE OTIMIZAÇÃO DE ETAPAS DA CONSTRUÇÃO DE UM BIOSENSOR PARA DETECÇÃO DE SALMONELLA SPP. EM LEITE

Aíris Maria Araújo Melo<sup>1</sup>, Dalila Lima Alexandre<sup>2</sup>, Maria de Fatima Borges<sup>3</sup>, Evânia Altina Teixeira de Figueiredo<sup>1</sup>, Carlucio Roberto Alves<sup>2</sup>, \*Roselayne Ferro Furtado<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE. <sup>2</sup>Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, CE.

<sup>3</sup>Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE.

\*roselayne.furtado@cnpat.embrapa.br

**Classificação:** Sensores e Biossensores.

#### Resumo

Durante o desenvolvimento de imunossensores para a detecção de patógenos estudos de otimização das etapas de montagem são conduzidos visando melhor desempenho da resposta analítica. Neste trabalho, três procedimentos de limpeza e diferentes concentrações de biomoléculas (proteína A e anticorpo), foram testados para a montagem de um dispositivo capaz de detectar *Salmonella* spp. em leite. Foi montado um sistema a partir da modificação da superfície de ouro com monocamada automontada de tiol. Utilizou-se a proteína A para direcionar a imobilização do anticorpo primário e a resposta analítica foi obtida por meio da ligação do anticorpo secundário marcado com enzima peroxidase. As medidas eletroquímicas foram avaliadas por voltametria cíclica. Verificou-se que a limpeza mecânica com alumina seguida de sonicação em banho com etanol foi mais eficiente para a limpeza da superfície. Nos estudos de otimização da concentração de proteína A, melhor resposta foi obtida a partir da concentração de 7,5 mg ml<sup>-1</sup>. Para a etapa da avaliação da melhor concentração de anticorpo primário foi encontrada a concentração de 75,0 mg mL<sup>-1</sup>. Estes resultados estão sendo aplicados no desenvolvimento de um imunossensor para detecção de *Salmonella* spp. em leite.

**Palavras-chave:** Biossensor; Segurança de alimentos; *Salmonella*; Patógenos; Monitoramento

#### OPTIMIZATION STUDIES FOR THE DEVELOPMENT OF A BIOSENSOR FOR DETECTION OF SALMONELLA SPP. IN MILK

##### Abstract

In the developing immunosensors for pathogens detection, the optimization studies of construction steps are needed in order to obtain better analytical response. In this work, three cleaning procedures and different concentrations of biomolecules (protein A and antibody) were tested to enhance the analytical

response in the *Salmonella* spp. detection in milk. Firstly, gold surface was modified with self assembly monolayer technique using thiol. Protein A was used to direct immobilization of primary antibody and the analytical response was obtained after binding of secondary antibody labeled with horseradish peroxidase. Electrochemical measurements were evaluated by cyclic voltammetry technique. It was found that mechanical treatment with alumina followed by sonication in ethanol was more efficient to clean of gold surface. In the optimization study of the concentration of protein A, the best response was obtained from concentration of 7.5 mg ml<sup>-1</sup>. Moreover, in the study of the antibody concentration, the best result was 75.0 mg mL<sup>-1</sup>. These results has been used in the development of an immunosensor for detecting *Salmonella* spp. in milk.

**Keywords:** Biosensor; Food safety; *Salmonella*; Pathogens: Monitoring

**Publicações relacionadas:** Melo, A.M.A., Alexandre, D.L., Borges, M.F., Figueiredo, E.A.T., Alves, C.R., Furtado, R.F. Electrochemical characterization of an immunosensor for detection of *Salmonella* spp. In: Anais do 16th International Biotechnology Symposium and Exhibition, Fortaleza-CE, 2014.

## 1 INTRODUÇÃO

A identificação de microrganismos patogênicos é de fundamental importância no controle da qualidade do processo produtivo para a prevenção de surtos alimentares. Bactérias do gênero *Salmonella* têm sido relatadas como os principais agentes etiológicos de doenças transmitidas por alimentos (CDC, 2013). Os métodos convencionais de identificação são demorados, caros e requerem pessoal qualificado para realização das análises. Nesse cenário, esforços têm sido direcionados para o desenvolvimento de metodologias analíticas rápidas e práticas. Trabalhos recentes relatam desenvolvimento de biosensores capazes de detectar presença de bactérias ou seus metabólitos (toxinas) de forma rápida, específica e com limites de detecção menores que os métodos convencionais (VELUSAMY, 2010). Um biossensor capaz de detectar a presença de *Salmonella* spp. pode ser uma ferramenta de grande importância no controle de qualidade na indústria de alimentos.

No desenvolvimento de um imunossensor são várias as etapas de montagem até se conseguir um sistema estruturado e capaz de conhecer um analito. Para alcançar o máximo de eficiência em termos de resposta analítica, estudos de otimização são necessários para avaliação e seleção dos melhores procedimentos e concentrações de biomoléculas que serão utilizados na montagem do imunossensor. Anteriormente as etapas de montagem do dispositivo, a limpeza adequada da superfície é de fundamental importância na remoção das sujidades e preparação da superfície. Para sistemas que utilizam a técnica de monocamada automontada, uma limpeza da superfície ineficiente decorre em alterações na cinética de montagem das monocamadas formadas por tióis, reduzindo assim a reprodutibilidade destes sistemas (MENDES, 2006). A montagem do biossensor inicia-se com a ligação de biomoléculas direta ou indiretamente. Biossensores têm apresentado melhores resultados quando biomoléculas têm sido imobilizadas de forma ordenada e não adsorvidas diretamente a superfície. No presente trabalho, a superfície de ouro foi modificada com tiol, proteína A e anticorpo primário que após a ligação com o antígeno foi formado um sanduíche com anticorpo secundário conjugado a peroxidase. Ressalta-se que, proteína A extraída de cepas de *Staphylococcus aureus* é um receptor de membrana altamente estável que liga-se a fração Fc de imunoglobulinas, especialmente IgGs, funcionando como molécula de orientação de anticorpos. Essa orientação é importante para o aumento da especificidade e sensibilidade do imunossensor (BACAN, 2000).

Estudos de otimização nas seguintes etapas de desenvolvimento: limpeza da superfície do eletrodo, definição da concentração de proteína A e da concentração do anticorpo foram realizados no presente trabalho. Os resultados dos estudos estão sendo aplicados na montagem de um imunossensor capaz de detectar *Salmonella* spp. em leite.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi realizado com cepas de referência *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium ATCC® 51812™, crescidas em caldo infusão cérebro coração a 35°C por 24 h. Foram utilizados como anticorpos, soros polivalentes anti-*Salmonella* O Poli A-I e Vi adquiridos da Difco™. Os anticorpos foram purificados por precipitação com (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> com 45% de saturação (GRENN; HUGS, 1995) e sua concentração foi definida pelo método de Bradford (1976). Para a obtenção do anticorpo secundário, o anticorpo primário foi conjugado com a enzima peroxidase de raiz forte - Horseradish (HRP) (Sigma-Aldrich®) conforme metodologia de Avrameas (1969).

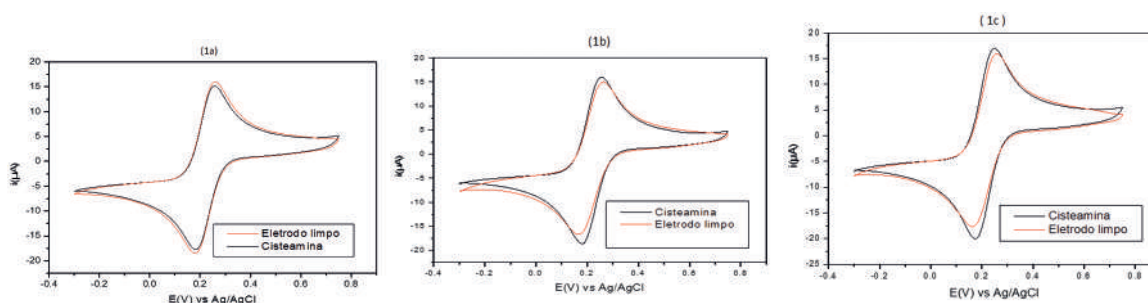
Três diferentes procedimentos de limpeza da superfície foram testados para selecionar aquele que resultou em maior área eletroativa do eletrodo para a formação da monocamada automontada de cisteamina 10 mM. Este resultado foi obtido por meio da técnica de voltametria cíclica em solução de  $K_3[Fe(CN)_6]$  4mM e KCl 1M com janela de potencial de -0,30 a 0,75 V e velocidade de varredura de  $100\text{mV s}^{-1}$ . Os procedimentos testados foram os seguintes: a) polimento com alumina ( $3\ \mu\text{m}$ ) durante 5 min, seguida por limpeza em etanol 96% em banho ultrassônico durante 5 min; b) procedimento a seguido de imersão em solução piranha (1:3 –  $H_2O_2:H_2SO_4$ ) durante 3 min; c) procedimento b seguido de limpeza eletroquímica de 25 ciclos com  $H_2SO_4$  0,5 M e faixa de potencial de 0 a 1,5 V. Definida a etapa de limpeza a superfície de ouro foi modificada com cisteamina (10 mM), submetida as etapas de imobilização de proteína A e anticorpo primário.

A resposta analítica foi obtida utilizando-se um inóculo de *Salmonella* com  $10^8$  UFC  $\text{mL}^{-1}$ . Para detecção do sinal eletroquímico um anticorpo secundário marcado pela enzima peroxidase foi utilizado no formato de um sistema sanduíche. A resposta analítica do biossensor foi avaliada por meio de métodos voltamétricos utilizando sistema eletroquímico de três eletrodos, com um eletrodo Ag/AgCl como referência, um eletrodo helicoidal de platina como auxiliar e eletrodo de ouro ( $\varnothing_{\text{int}} = 0,020\ \text{cm}^2$ ) como trabalho. Foi empregado um potenciostato/galvanostato (Autolab/PGSTAT12) com o software GPES. As respostas voltamétricas foram geradas após a adição de peróxido de hidrogênio e hidroquinona. Nos estudos de otimização para a definição das concentrações de biomoléculas, a resposta analítica foi avaliada nas seguintes concentrações de proteína A: 2,5; 5,0; 7,5 e 10  $\text{mg mL}^{-1}$  e de anticorpo primário: 25; 50; 75 e 100  $\text{mg mL}^{-1}$ .

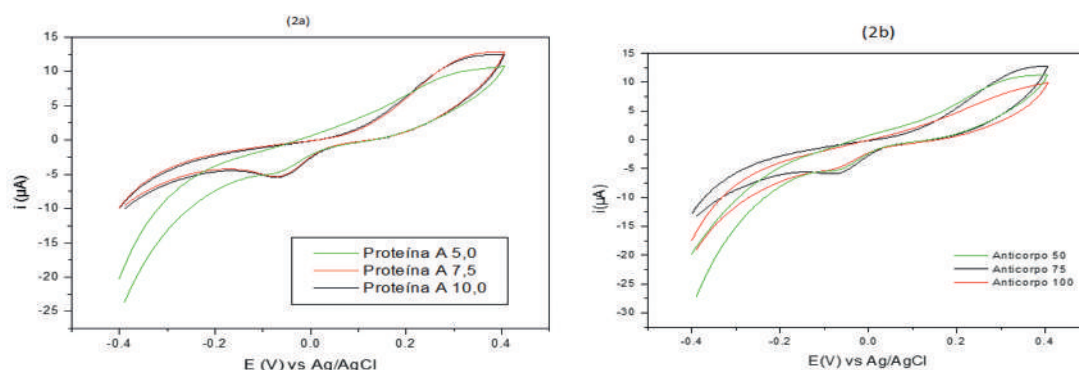
### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A formação da monocamada de cisteamina sobre superfície de ouro pode ser monitorada por meio de redução na amplitude de corrente dos picos catódicos e anódicos do voltamograma. Conforme pode ser visto na figura 1 este comportamento foi apresentado apenas pelo procedimento de limpeza com polimento mecânico durante 5 min, seguida por limpeza em etanol em banho ultrassônico durante 5 min (figura 1a), sendo este escolhido para dar continuidade ao trabalho.

Avaliação das concentrações de proteína A no desempenho do biossensor indicou a presença de picos mais resolutos e com maior corrente no pico catódico a partir de 7,5  $\text{mg mL}^{-1}$  (figura 2a). Na análise de otimização da concentração de anticorpo primário, observando o mesmo comportamento do resultado obtido para proteína A, a concentração de anticorpo indicada foi 75  $\text{mg mL}^{-1}$  (figura 2b).



**Figura 1.** Voltametria cíclica do biossensor para os três procedimentos de limpeza testados: a) polimento com alumina ( $0,3\ \mu\text{m}$ ) durante 5 min, seguida por limpeza em etanol 96% em banho ultrassônico durante 5 min; b) procedimento a seguido de imersão em solução piranha (1:3 –  $H_2O_2:H_2SO_4$ ) durante 3 min; c) procedimento b seguido de limpeza eletroquímica de 25 ciclos com  $H_2SO_4$  0,5 M e faixa de potencial de 0 a 1,5 V. As leituras foram realizadas em solução de  $K_3[Fe(CN)_6]$  4mM e KCl 1M, faixa de potencial de -0,30 a 0,75 V a  $100\text{mV s}^{-1}$ .



**Figura 2.** Voltametria cíclica do biossensor variando concentrações: a) Proteína A 5,0; 7,5 e 10 mg mL<sup>-1</sup>b) Anticorpo primário 50; 75 e 100 mg mL<sup>-1</sup>. Leituras realizadas em tampão PBS (pH 7,4) em presença de hidroquinona (4mM) e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (600 mM), faixa de potencial de -0,4 a 0,4V a 100 mV s<sup>-1</sup>.

#### 4 CONCLUSÃO

Os estudos das etapas de otimização da montagem do biossensor demonstraram que a limpeza da superfície do eletrodo de ouro através do polimento com alumina (0,3 μm) durante 5 minutos seguida da sonicação em etanol por 5 minutos permitiu a formação mais eficiente da monocamada de cisteamina. Por sua vez, concentrações de proteína A de 7,5 e 10 mg mL<sup>-1</sup> e do anticorpo de 75 mg mL<sup>-1</sup>, resultaram em melhor resposta analítica do dispositivo. Estes resultados estão sendo utilizados no desenvolvimento de um imunossensor para detecção de *Salmonella* spp. em leite.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a CAPES e CNPQ pelo suporte financeiro.

#### REFERÊNCIAS

- AVRAMEAS, S. Coupling of enzymes to proteins with glutaraldehyde. Use of the conjugates for the detection of antigens and antibodies. *Immunochemistry*, v. 6, n. 1, p. 43-49, 1969.
- BABACAN, S.; PIVARNIK, P.; LETCHER, S.; RAND, A.G. Evaluation of antibody immobilization methods for piezoelectric biosensor application. *Biosensors and Bioelectronics*, v. 15, n. 11-12, p. 615-621, 2000.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, v. 72, p. 248, 1976.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). U.S. Department of Healthy and Human Service. Surveillance for Foodborne Disease Outbreaks — United States, 1998–2008. Morbidity and Mortality Weekly Report 2013; vol 62. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/mmwr/pdf/ss/ss6202.pdf>>. Acesso em: 15 out. 2013.
- GREEN, A. A.; HUGHS, W. L. *Methods in Enzymology*. v. 1. New York: Academic Press, 1955.
- MENDES, R. K. Investigação dos efeitos dos procedimentos de imobilização em monocamadas auto-organizadas da enzima peroxidase no desenvolvimento de um biossensor. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, 2006.
- VELUSAMY, V.; Arshak, K.; Korostynska, O.; Oliwa, K.; Adley, C. An overview of foodborne pathogen detection: In the perspective of biosensors. *Biotechnology Advances*, v. 28, p. 232-254, 2010.

# SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES FINOS DE ZNO DEPOSITADOS POR DIP-COATING E EVAPORAÇÃO POR CANHÃO DE ELÉTRONS

\*Alessandra Carla Mendes<sup>1</sup>, Ariane Porto Ruiz<sup>1</sup>, Máximo Siu Li<sup>2</sup>, Elaine Cristina Paris<sup>1</sup>, Luis H. C. Mattoso<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP. <sup>2</sup> Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP.

\*alecarlausp@yahoo.com.br

**Classificação:** Sensores e Biossensores.

## Resumo

Óxido de zinco (ZnO) é um semicondutor do tipo-n com estrutura cristalina hexagonal do tipo wurtzita, considerado um material de baixo custo, não-tóxico e biocompatível. É um material atrativo para aplicações óptico-eletrônicas em decorrência da elevada mobilidade eletrônica e da fotoluminescência na região do ultravioleta e visível. As propriedades físico-químicas do ZnO podem ser ajustadas pelo controle da dimensão e morfologia microestrutural, parâmetros fortemente influenciados pelo método de preparação. Neste contexto, resinas poliméricas e pós de ZnO foram sintetizados através do método dos precursores poliméricos, com o intuito de obter filmes finos pelas técnicas de *dip-coating* e evaporação por canhão de elétrons (PVD). Como etapa inicial da caracterização dos filmes obtidos por deposição química e física, imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e microscopia de força atômica (AFM) mostraram que os filmes depositados por PVD apresentam superfície mais uniforme e com melhor qualidade óptica. No entanto, a rugosidade destes filmes aumentou de 20 para 100 nm após tratamento térmico a 500°C. Com base nas condições iniciais de síntese por *dip-coating* (deposição de 3 camadas, viscosidade de 15 e 25 cP, tempo de emersão do substrato de 1s), não foi possível obter filmes espessos e uniformes, de modo que os parâmetros de deposição deverão ser otimizados futuramente.

**Palavras-chave:** Óxido de zinco; Filmes finos; Métodos dos precursores poliméricos; PVD; Dip-coating.

## SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF ZNO THIN FILMS DEPOSITED BY DIP-COATING AND ELECTRON BEAM EVAPORATION

### Abstract

Zinc oxide (ZnO) is a n-type semiconductor crystallizing in hexagonal wurtzite structure and is considered a low cost, non-toxic and biocompatible material. It is an attractive material for opto-electronic applications as a result of the high electron mobility and the photoluminescence response in the ultraviolet and visible region. The physicochemical properties of ZnO can be tailored by controlling dimension and morphology, parameters that are greatly influenced by the preparation method. In this context, polymeric resins and ZnO powders were synthesized by the polymeric precursor method in order to obtain thin films using the dip-coating and electron beam evaporation (PVD) techniques. As an initial characterization of the films deposited by chemical and physical methods, images of electron microscopy (SEM) and atomic force microscopy (AFM) showed that the films deposited by PVD have a uniform surface with better optical quality. However, the surface roughness of these films increased from 20 to 100 nm after heat treatment at 500°C. Considering the initial conditions by dip-coating deposition (deposition of three layers, viscosity of 15 and 25 cP, substrate emersion time of 1s), it was not possible to obtain a thick and uniform film, concluding that the deposition parameters should be optimized in the future.

**Keywords:** Zinc oxide; Thin films; Polymeric precursor method; PVD; Dip-coating.

## 1 INTRODUÇÃO

Óxido de zinco (ZnO) é um semicondutor do tipo-n com estrutura cristalina hexagonal do tipo wurtzita. É um material atrativo para aplicações óptico-eletrônicas devido à sua elevada mobilidade eletrônica e resposta fotoluminescente na região do ultravioleta e visível (HUANG, M. H. 2001). Características como baixo custo, biocompatibilidade, não-toxicidade, elevada transparência, elevada resistência à radiação, baixa temperatura de processamento, estabilidade química e térmica permitem a

aplicação deste semicondutor em uma grande variedade de dispositivos, como sensores químicos e biológicos (CARUSO, F. 2001 E KUMAR, S. 2008), diodos emissores de luz, diodos laser, fotocatalisadores, células solares e sensores de gás.

As propriedades físico-químicas do ZnO podem ser ajustadas pelo controle da dimensão e morfologia microestrutural, parâmetros fortemente influenciados pelo método de preparação (LIN, J. 2007). Dentre os vários métodos químicos, o método dos precursores poliméricos combina a formação de complexos metálicos com a polimerização de orgânicos, permitindo a síntese de composições com propriedades únicas tanto na forma de resinas poliméricas, pós e monolitos. Dentre os métodos físicos de deposição de filmes finos, a técnica de evaporação por canhão de elétrons (*Physical Vapour Deposition*-PVD) permite a evaporação de materiais com diferentes temperaturas de fusão. Sendo assim, o objetivo principal deste trabalho foi realizar uma primeira etapa de caracterização (morfológica) dos filmes sintetizados por *dip-coating* e PVD, com o intuito de realizar um processo de otimização das condições de deposição.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Síntese das amostras: pós e resinas poliméricas

Resinas poliméricas e pós de ZnO foram sintetizados através do método dos precursores poliméricos, utilizando-se acetato de zinco [ $Zn(C_2H_3O_2)_2$ , Synth] como precursor. Considerando a proporção molar de Zn / ácido cítrico igual a 1:6, o acetato de zinco foi adicionado à solução aquosa de ácido cítrico anidro ( $C_6H_8O_7$ , Vetec) sob agitação constante. Etilenoglicol ( $C_2H_6O_2$ , J.T. Backer) foi adicionado à solução de citrato de Zn considerando a razão em massa de ácido cítrico / etilenoglicol igual a 3:2. Essa solução foi mantida em agitação constante e aquecida à temperatura de 80-90°C a fim de promover a reação de poliesterificação e evaporação do excesso de solvente para o ajuste da viscosidade da resina. Para a obtenção dos pós de ZnO, parte dessa resina resultante foi calcinada a 300°C por 2h com taxa de aquecimento de 10°C/min. O pó resultante foi macerado em almofariz de ágata e dividido em três porções, as quais foram tratadas termicamente a 400, 500 e 600°C por 2h, com taxa de aquecimento de 10°C/min.

### 2.2 Síntese dos filmes

A partir da resina polimérica, com viscosidade de 15 e 25 cP, filmes foram depositados em substratos de soda-lima previamente limpos utilizando-se a técnica de *dip-coating*. O substrato foi imerso e emerso na resina polimérica com velocidade controlada, considerando um tempo total de 3s. Para cada filme foram depositadas 4 camadas. Entre a deposição de uma camada e outra, os filmes foram submetidos a um tratamento térmico a 300°C por 2h com taxa de aquecimento de 1°C/min, seguido por um tratamento a 500°C por 2h com taxa de aquecimento de 5°C/min. Os filmes foram resfriados lentamente até a temperatura ambiente, com taxa de 25°C/min.

Considerando o método físico de evaporação (PVD), substratos de soda-lima e silício devidamente limpos foram colocados no sistema de evaporação em um suporte a 15 cm do cadinho de tântalo, onde a pastilha do pó a ser evaporada foi depositada. Foram utilizadas pastilhas do pó de ZnO tratado a 600°C. O canhão de elétrons foi acionado com uma tensão de ~3 kV para acelerar o feixe de elétrons sobre a pastilha do material precursor que está no cadinho. A corrente do feixe foi mantida constante e igual a 20 mA durante o processo de evaporação. O tempo de evaporação é um parâmetro importante neste processo de deposição e deve ser também otimizado. Após a deposição, os filmes foram submetidos a um tratamento térmico a 500°C por 2h, com taxa de aquecimento de 1°C/min.

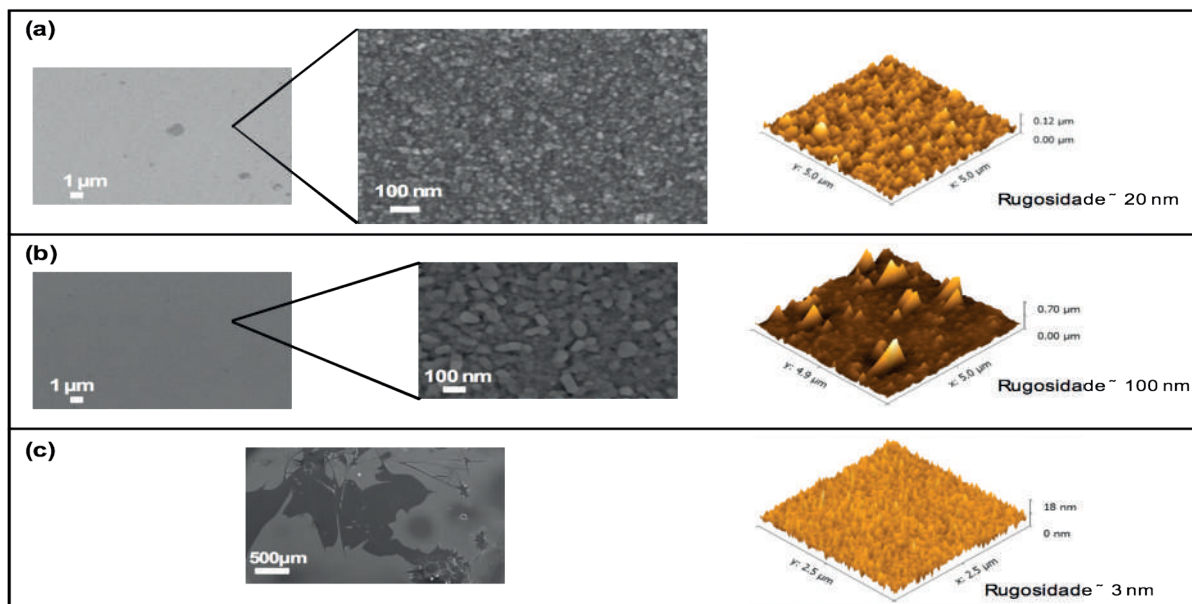
### 2.3 Técnicas de caracterização

Apenas como etapa inicial do processo de caracterização, duas técnicas de microscopia foram consideradas para a avaliação da superfície dos filmes. Um microscópio eletrônico de varredura de efeito de campo (MEV-FEG), JEOL JSM 6701F, foi usado para investigar a microestrutura, enquanto que um microscópio de força atômica (AFM), Dimension V (Veeco), foi utilizado na avaliação da rugosidade da superfície dos filmes sintetizados.



### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 mostra as micrografias obtidas por MEV-FEG para (a) filme depositado por PVD (espessura  $\sim 300$  nm), (b) filme anterior após tratamento térmico a  $500^\circ\text{C}$  por 2h sob fluxo de ar sintético e (c) filme depositado por *dip-coating*. Um aumento da resolução mostra que os filmes exibem microestruturas nanométricas. As imagens obtidas por AFM também estão apresentadas na figura.



**Figura 1.** Micrografias obtidas por MEV-FEG e imagens de AFM para (a) filme depositado por PVD (espessura  $\sim 300$  nm), (b) filme anterior após tratamento térmico a  $500^\circ\text{C}$  por 2h e (c) filme depositado por *dip-coating* (espessura  $\sim 70$  nm).

Correlacionando as imagens da Figura 1, é possível concluir que, embora a uniformidade da superfície e a qualidade óptica dos filmes depositados por PVD sejam melhores, a rugosidade destes filmes é maior em comparação ao filme depositado por *dip-coating*, provavelmente devido à maior espessura. A rugosidade é ainda maior após o tratamento térmico destes filmes, resultado do aumento da agregação das partículas e consequente aumento do tamanho de grão. É importante ressaltar que o tratamento térmico é necessário para a recuperação da estequiometria do ZnO. Filmes com espessura superior a  $2 \mu\text{m}$  trincaram após a realização deste tratamento térmico. Fatores como a espessura, aderência do filme ou até mesmo o coeficiente de dilatação do substrato podem influenciar este tipo de comportamento.

No caso dos filmes depositados por *dip-coating*, é importante ressaltar a importância da espessura, a qual é bem menor em comparação aos filmes depositados por PVD, de modo que maior número de camadas deve ser depositado. Partindo das condições consideradas inicialmente (descritas no sub-item 2.2), não foi possível obter filmes uniformes, uma vez que os filmes não aderiram bem à superfície dos substratos. Sendo assim, não só a espessura, mas também os demais parâmetros de síntese, como a viscosidade da resina, velocidade de imersão do substrato, tipo e limpeza do substrato deverão ser variados sistematicamente com o intuito de obter filmes com boa qualidade óptica. Novos testes de deposição também serão feitos paralelamente.

### 4 CONCLUSÃO

Resinas poliméricas e pós de ZnO foram sintetizados através do método dos precursores poliméricos e utilizados na deposição de filmes por PVD e *dip-coating*. Por PVD, foi possível obter filmes uniformes e com boa qualidade óptica, ao contrário da deposição por *dip-coating*. Para ambas as técnicas, os parâmetros de deposição deverão ser otimizados com o intuito de obter filmes uniformes, com boa qualidade óptica e com resposta fotoluminescente satisfatória para que possam ser futuramente aplicados como bio e/ou imunossensores ópticos. Nesta etapa, as propriedades ópticas, estruturais e morfológicas destes filmes serão caracterizadas e correlacionadas.

## **AGRADECIMENTOS**

Gostaríamos de agradecer à EMBRAPA, CNPq e CAPES pelo suporte financeiro a este projeto de pós-doutorado.

## **REFERÊNCIAS**

HUANG, M. H.; MAO, S.; FEICK, H.; YAN, H.; WU, Y.; KIND, H.; WEBER, E.; RUSSO, R.; YANG, P. Room temperature ultraviolet nanowire nanolasers. *Science*, v. 292, n. 5523, p. 1897-1899, 2001.

CARUSO, F. Nonengineering of particle surface. *Advanced Materials*, v. 13, n. 1, p. 11-22, 2001.

KUMAR, S.; CHEN, S. Nanostructured zinc oxide particles in chemically modified electrodes for biosensors applications, v. 41, n. 2, p.141-158, 2008.

LIN, J.; YU, M.; LIN, C.; LIU, X. Multiform oxide optical materials via the versatile Pechini-type sol-gel process: Synthesis and characteristics. *Journal of Physical Chemistry C*, v. 111, n. 16, p. 5835-5845, 2007.



## **Capítulo 2**

# **FILMES, REVESTIMENTOS COMESTÍVEIS E EMBALAGENS FUNCIONAIS PARA ALIMENTOS**



## ADIÇÃO DE QUITOSANA EM FILMES A BASE DE GOMA DE CAJUEIRO: EFEITO SOBRE AS CARACTERÍSTICAS DE MOLHABILIDADE E MICROSCÓPICAS

\*Odilio B. G. Assis<sup>2</sup>, Carla S. Martins<sup>1</sup>, Daniella L. Morgado<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de São Carlos (graduação em Biotecnologia). <sup>2</sup> Embrapa Instrumentação.

\*odilio.assis@embrapa.br

**Classificação:** Filmes, revestimentos comestíveis e embalagens funcionais para alimentos.

### Resumo

Formulações mistas de goma de cajueiro e quitosana, com pequenas adições de glicerol foram elaboradas e filmes processados por *casting*. Os filmes foram caracterizados com respeito à hidrofiliabilidade superficial e observações por MEV. Os resultados indicam a redução da molhabilidade com o aumento do teor de quitosana e um leve efeito da adição de glicerol como plastificante, tornando os filmes mistos mais hidrofóbicos. A microscopia revelou a variação entre fraturas tipicamente frágeis (goma pura) para fraturas plásticas (com plastificante) a uma condição de total ausência de fraturas (filmes com quitosana).

**Palavras-chave:** Goma de cajueiro; Quitosana; Filmes finos; Molhabilidade; Análises microscópicas.

### CHITOSAN ADDITION IN BASED CHASHEW-GUM FILMS: EFFECT ON WETABILITY AND MICROSCOPIC CHARACTERISTICS

#### Abstract

Blends combining cashew gum and chitosan, with small additions of plasticizer were prepared for film processing by casting. and characterized concerning the hydrophilicity (sessile water drop method) and the surfaces observed by SEM. The results show a reduction on wettability as the chitosan content increases in the films and a slight effect of the glycerol addition as plasticizer resulting in more hydrophobic films. The microscopic analysis reveal a change on the film fractures

**Keywords:** Cashew gum; Chitosan; Thin films; Wettability; Microscopy analysis.

## 1 INTRODUÇÃO

A goma de cajueiro (GC) consiste em um exsudado extraído do tronco do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) e caracterizado como um heteropolissacarídeo ramificado com alta massa molar e composição média constituída de galactose (72%) glucose (14%), arabinose (4.6%), ramnose (3.2%) e ácido glucurônico (4.5%) (de Paula et al., 1998). Alguns autores apontam a GC como efetiva na redução de alguns fungos e bactérias (Marques et al., 1992; Torquato et al., 2004) e recentemente tem sido avaliada em uma série de aplicações de cunho médico-farmacêutico. Apesar de sua boa compatibilidade a GC apresentam uma desvantagem com relação a outros polissacarídeos por apresentar uma alta afinidade com água, o que resulta em alta molhabilidade e rápida absorção de água. Estas características traduzem em uma rápida perda da estabilidade matricial quando em contato com meio aquoso. A formação de blendas ou entrecruzamento com materiais similares pode vir a ser uma solução para reduzir essas características e ampliar a aplicabilidade da GC. Neste sentido neste trabalho é avaliado o efeito da adição de pequenas quantidades de quitosana na formulação de blendas para o processamento de filmes a base de GC.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

A goma de cajueiro (GC) foi fornecida pelo CNPAT (Fortaleza) e foi purificada seguindo o procedimento básico apresentado por COSTA e co-autores (1996). A Chi empregada (média massa molar, Sigma-Aldrich) e o glicerol da Synth. Os géis foram preparados segundo as formulações dispostas na Tabela 1 e os filmes obtidos por deposição sobre placas de acrílico.

**Tabela 1.** Formulações empregadas no processamento dos filmes.

Filme	GC (%wt)	Quitosana (%wt)	Glicerol (%wt)
A	5	0	0
B	5	0,5	0
C	5	0,5	1
D	5	1,5	0
E	5	1,5	1
F	0	1,5	0

As alterações na molhabilidade foram estimadas em função das concentrações por medida do ângulo de contato de água deionizada (sessile water drop method), em gotas em volumes próximos a 10 $\mu$ L. Os ângulos foram estatisticamente registrados em sistema CAN101 Optical Contact Angle Meter (KSV Instruments - Finland), como a média de seis medidas sobre cada superfície. As análises microscópicas foram realizadas em microscópio eletrônico de varredura Jeol JSM-6510LV em tiras recobertas com ouro sob a voltagem de 2.5 kV.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Molhabilidade

A histerese relativa aos ângulos de contatos medidos sobre as superfícies dos filmes estão apresentadas na Figure 1. Podem ser observados dois comportamentos distintos relativos aos filmes A e F. A quitosana pura (filme F) tem um ângulo inicialmente hidrofóbico (ao redor de 100°) com uma dependência com o tempo típica para este tipo de material com um comportamento recessivo com tendência de estabilidade para ângulos entre 85-80°. Tal comportamento está em boa concordância com os valores encontrados na literatura (2010). Explicações para este comportamento implicam uma série de mecanismos atuando conjuntamente como apresentados por FARRIS et al., 2011.

Por outro lado, os filmes de GC puro (A) apresenta inicialmente um ângulo de contato bastante elevado (próximo a 84°), porém este muda imediatamente após a deposição da gota com estabilização ao redor de 40°. Este valor caracteriza um material hidrofílico e a queda imediata do ângulo pode ser interpretada como a penetração espontânea de água na matriz via percolação, consistente com o modelo apresentado por FARRIS et al., 2011.

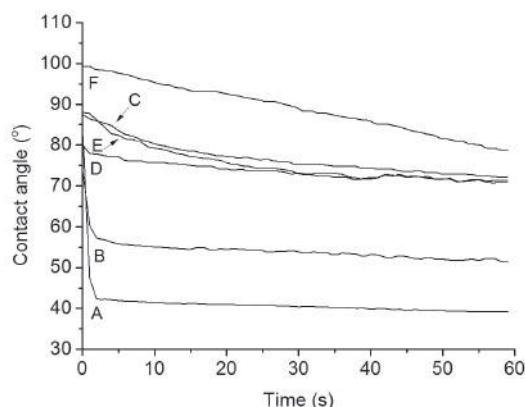
Comparando os filmes A e F fica evidente que a quitosana é consideravelmente mais hidrofóbica que a goma. Com o aumento do teor de quitosana na blenda (Filmes B e D) as superfícies tendem a um comportamento mais hidrofóbico com gotas estabilizando para os ângulos em torno de 52° e 75° para o filme D. Pode-se observar que a adição de apenas 0,5% w/w de quitosana reduz significativamente o decaimento inicial refetindo uma redução na capacidade de sorção da blenda.

Um interessante resultado pode ser observado quando 1% wt de glicerol é adicionado como plastificante (filmes C and E), indicando que independentemente da proporção de quitosana o glicerol introduz comportamento idêntico nos filmes, com um ângulo inicial de aproximadamente 87° seguido de decaimento e estabilização em torno de 75-78°.

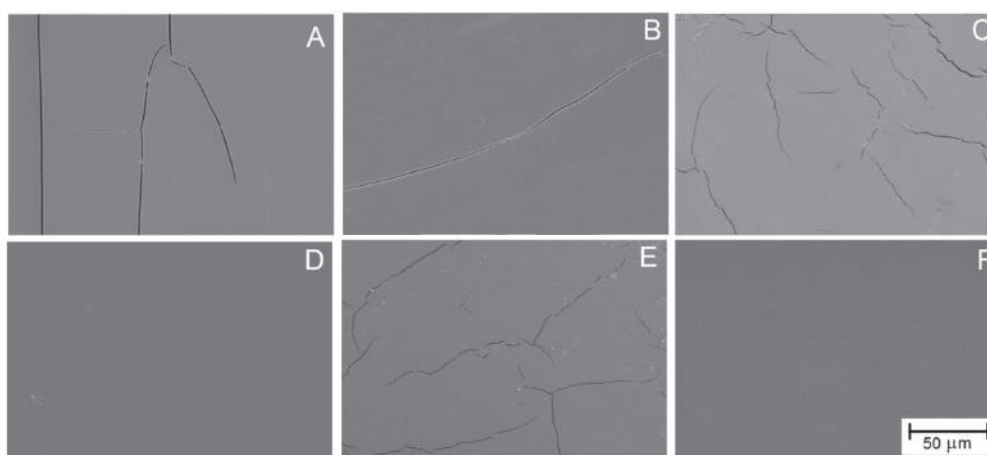
#### 3.2 Observação microscópica

As observações por MEV dos diferentes filmes demonstram similaridades nas topografias dos filmes nos quais o efeito da adição de quitosana e de glicerol podem ser identificados.

Como visto na série de imagens da Figura 2, exemplo de filme processado a partir de Goma pura (Filme A) apresenta uma superfície plana regular, embora com trincas se propagando ao longo da matriz. Essas fraturas apresentam alinhamentos contínuos e formação de pontes entre as trincas evidenciando um comportamento frágil, segundo análises similares apresentadas por Rocha-Rangel, 2011. A adição de 0,5%w/w de quitosana na formulação (filme B) confere uma redução na densidade de trincas contudo, sem a eliminação completa. Fraturas ainda são observadas sobre a superfície ainda em padrão frágil.



**Figura 1.** Variação do ângulo de contato com o tempo, conforme médias medidas sobre as superfícies. As letras correspondem às formulações apresentadas na Tabela 1.



**Figura 2.** Microfotografias por MEV das superfícies dos filmes. As letras correspondem as formulações apresentadas na Tabela 1.

O aspecto das fraturas é alterado quando 1% wt de glicerol é adicionado (Filme C). Nestes as trincas não se apresentam mais lineares e contínuas mas sim irregularmente distribuídos na estrutura em formatos curvilíneos e com descontinuidades, revelando uma nítida tendência a um caráter dúctil. Em nenhum filme formado é observado separações de fases indicando que tanto os polissacarídeos quanto a presença de plastificante são compatíveis para a formação de misturas homogêneas.

#### 4 CONCLUSÃO

Filmes homogêneos podem ser obtidos por casting através do ajuste adequado das concentrações de goma de cajueiro e quitosana. É possível afirmar que tanto a adição de quitosana como a de glicerol interfere no comportamento hidrofílico dos filmes, alterando as superfícies para um comportamento mais hidrofóbico. Todas as formulações, com exceção do filme de goma pura (Filme A) apresentam razoável maneabilidade. A adição de plastificante altera o aspecto das fraturas de frágil para dúctil.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores são gratos à FAPESP (Processo: 2012/12889-0), CNPq (Processo: 310283/2012-4) e à Rede AgroNano da Embrapa.

#### REFERÊNCIAS

BRITTO, D.; ASSIS, O.B.G. Hydrophilic and morphological aspects of films based on quaternary salts of chitosan for edible applications. *Packaging Technology and Science*. v.23, p.111–119, 2010.



COSTA, S.M.O.; RODRIGUES, J.F.; PAULA, R.C.M. Monitoração do processo de purificação de gomas naturais: goma do cajueiro. *Polímeros*, v. 6, n.2, p. 49–55, 1996.

FARRIS, S.; INTROZZI, L.; BIAGIONI, P.; HOLZ, T.; SCHIRALDI, A.; PIERGIOVANNI, L. Wet-ting of Biopolymer coatings: Contact angle kinetics and image analysis investigation. *Langmuir*. v.27, p.7563–7574, 2011

MARQUES, M.R.; ALBUQUERQUE, L.M.B.; XAVIER-FILHO, J. Antimicrobial and insecticidal activities of cashew tree gum exudate. *Annals Applied Biology*. v.121, p.371–377, 1992

PAULA, R.C.M.; HEATLEY, F.; BUDD, P.M. (1998) Composition and structure of *Anacardium Occidentale* exudate polysaccharide from Brazil. *Polymer International*, v.45, p. 27–35, 1998.

ROCHA-RANGE, E. Fracture Toughness Determinations by Means of Indentation Fracture. In: *Nanocomposites with Unique Properties and Applications in Medicine and Industry* (Cuppoletti J, ed.) p. 21-37. InTech, Rijeka, Croatia

TORQUATO, D.S.; FERREIRA, M.L.; SÁ, G.C.; BRITO, E.S.; PINTO, G.A.S.; AZEVEDO, E.H.F. Evaluation of antimicrobial activity of cashew tree gum. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. v. 20, p. 505–507, 2004

---

## CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL E TÉRMICA DE BLENDS DE GOMA DE CAJUEIRO E QUITOSANA

\*Odilio B. G. Assis<sup>2</sup>, Carla S. Martins<sup>1</sup>, Daniella L. Morgado<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de São Carlos (graduação em Biotecnologia). <sup>2</sup> Embrapa Instrumentação.  
\*odilio.assis@embrapa.br

**Classificação:** Filmes, revestimentos comestíveis e embalagens funcionais para alimentos.

### Resumo

Formulações mistas de goma de cajueiro e quitosana, com pequenas adições de glicerol como plastificante foram elaboradas e filmes processados por *casting*. Os filmes resultantes foram caracterizados por FTIR e por TGA. Os resultados indicam a plena compatibilidade entre os polímeros e aumento da estabilidade com o aumento do teor de quitosana na composição. As interações do plastificante ocorrem preferencialmente com os grupos hidroxilas da quitosana.

**Palavras-chave:** Goma de cajueiro; Quitosana; Filmes finos, Caracterização estrutural.

### STRUCTURAL AND THERMAL CHARACTERIZATION OF CASHEW-GUM CHITOSAN BLENDS

#### Abstract

Formulation combining cashew gum and chitosan, with small additions of plasticizer were prepared for film processing by casting, and characterized by FTIR and TGA. The results show a complete compatibility between polymers and an increasing in the structure stability as the content of chitosan in the blend is increased. The interactions with the plasticizer take place preferentially with the hydroxyl groups of chitosan.

**Keywords:** Cashew gum; Chitosan; Thin films; Structural characterization.

## 1 INTRODUÇÃO

Filmes finos processados a partir de polímeros naturais têm assumido um papel estratégico em diversas aplicações biotecnológicas. Diferentes tipos de polissacarídeos têm sido avaliados para estes fins, entre eles a goma de cajueiro (GC), que consiste em um exsudado extraído do tronco do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.). Esta apresenta alta massa molar e estruturalmente descrita como um

heteropolissacarídeo ramificado com composição química média de galactose (72%) glicose (14%), arabinose (4.6%), rarnnose (3.2%) e ácido glicurônico (4.5%) (Paula et al., 1998). Isoladamente, a GC não apresenta boas características filmogênicas, sendo altamente hidrofílica e quebradiça. Estudos preliminares indicam que a formação de blendas com polímeros similares e o uso de pequenas concentrações de plastificantes podem melhorar consideravelmente as características mecânicas e a estabilidade estrutural (Britto et al., 2012).

Neste sentido, a quitosana (Chi) é um forte candidato à formação de blendas com a GC. No presente trabalho filmes formados a partir de formulações combinadas de GC-Chi e com pequenas adições de glicerol (Gli) foram processados por casting e avaliados com respeito às características estruturais e térmicas por FTIR e TGA.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

A goma de cajueiro (GC) foi fornecida pela Embrapa Agroindústria Tropical (Fortaleza, CE) colhidas de árvores cultivadas de *A. occidentale* L. Esta goma foi purificada seguindo o procedimento básico apresentado por COSTA e co-autores (1996). A Chi empregada (média massa molar, Sigma-Aldrich) e o glicerol da Synth. Os géis foram preparados segundo as formulações dispostas na Tabela 1 e os filmes obtidos por deposição sobre placas de acrílico.

**Tabela 1.** Formulações empregadas no processamento dos filmes.

Filme	GC (%wt)	Quitosana (%wt)	Glicerol (%wt)
A	5	0	0
B	5	0,5	0
C	5	0,5	1
D	5	1,5	0
E	5	1,5	1
F	0	1,5	0

As análises por infravermelho foram realizadas em espectrômetro Spectrum 100 da Perkin Elmer ao ar, em pastilhas de KBr. As medidas termogravimétricas foram realizadas em um TGA da TA Instruments (Q500) em taxa de aquecimento de 10 °C min<sup>-1</sup> (atmosfera de N<sub>2</sub>).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Análise Espectroscópica

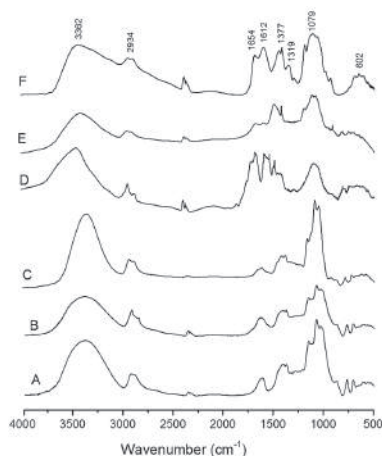
Na Figura 1 estão os espectros de FTIR para os filmes da Tabela 1. As bandas referente à quitosana pura (filme F) têm sido amplamente identificadas na literatura (Silva et al, 2009) e correspondem a padrões vibracionais tipicamente encontrados na maioria dos polissacarídeos. Para os filmes de GC puro (Filme A) é observado uma larga banda centrada em 3362 cm<sup>-1</sup> identificada como estiramento das hidroxilas –OH, visualizada em todas as estruturas polissacarídeas. Uma banda menos intensa localizada próxima a 2934 cm<sup>-1</sup> pode ser atribuída ao estiramento simétrico e assimétrico dos grupos C-H do anel glicosamina (C4), também uma típica vibração polissacarídea. A banda ao redor de 1650 cm<sup>-1</sup> é característica de vibrações dos grupos C=O e C-C do ácido glicurônico, confirmando a presença do grupo –COO. Absorções subsequentes em torno de 1377 cm<sup>-1</sup> são características da vibração angular simétrica no plano (tesoura) do –CH<sub>2</sub>- e uma absorção irregular e larga banda observada na região de 1079 cm<sup>-1</sup> pode ser atribuída ao estiramento do COH das ligações glicosídicas CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub> e do dobramento O-H. Esta banda é proporcionalmente mais intenso para polissacarídeos exsudados segundo a caracterização apresentado por MOTHÉ et al. (2008).

Nos filmes de Chi (Filme F) o espectro apresenta bandas similares com algumas reduções ou ganhos nas intensidades absorvidas. Pode-se notar a sobreposição da banca da glucosamina (em 2934 cm<sup>-1</sup>), cujo pico é melhor definido para a GC, e uma definição mais clara do doublet em 1654 cm<sup>-1</sup> (atribuído ao átomo na posição C2 do grupo NH<sub>2</sub> da amida I) e um sinal típico em 1612 cm<sup>-1</sup> (que corresponde ao

dobramento NH da amida II modo vibracional). Um ombro observado em  $1319\text{ cm}^{-1}$  é característico dos grupos -OH,  $-\text{NH}_2$  ou -CO e visualizado apenas no espectro da Chi.

Pequenas quantidades de Chi na mistura (Filme B) não introduzem alterações significativas no espectro da GG (Filme A). Variação nas intensidades das bandas nos dois espectros são notadas principalmente nas absorbâncias relativas ao -OH em  $3362\text{ cm}^{-1}$  como também a redução das vibrações correspondentes aos grupos CH e OH ao redor de  $1079\text{ cm}^{-1}$ . Quando o teor de Chi é de 1,5% w/w (Filme D), múltiplos picos característicos da amida I e II ( $1654$  a  $1319\text{ cm}^{-1}$ ) tornam-se mais intensos e as vibrações angulares simétrica no plano (tesoura) dos grupos  $\text{CH}_2$  na região de  $1079\text{ cm}^{-1}$  aparecem com uma única banda mais definida. Estes resultados sugerem a consolidação entre os dois polissacarídeos.

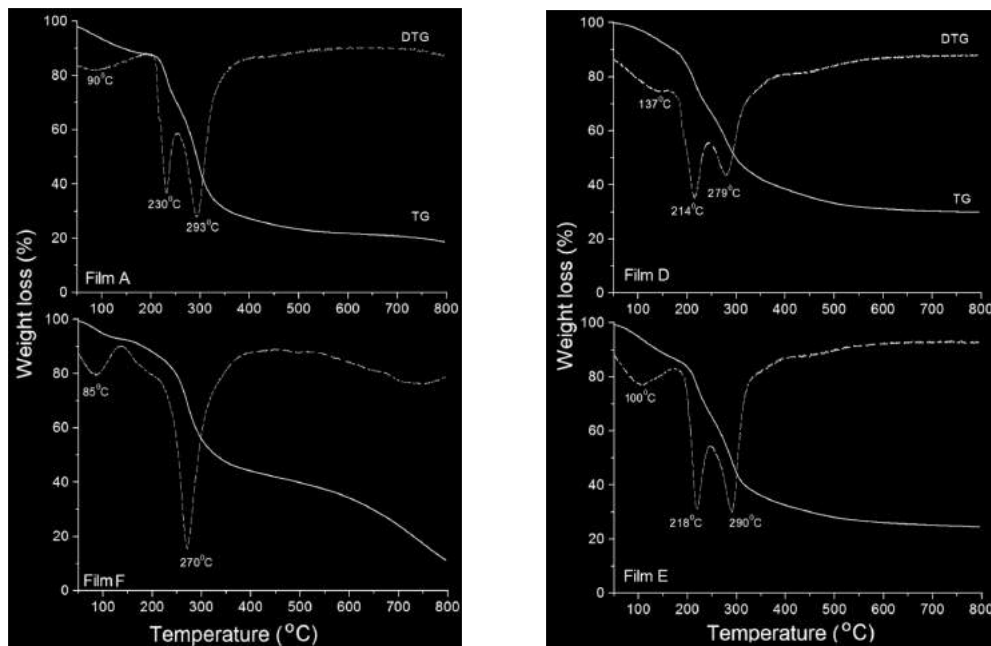
A incorporação de 1% w/w de Gli como plastificante (Filmes C e E) resulta em diferente efeito dependente da concentração de Chi (0,5 ou 1,5% w/w). No espectro do Filme C (baixa quantidade de Chi) não são observados alterações no formato dos espectros. Com o aumento do teor de Chi (Filme E), bandas típicas da Chi entre  $1654$  e  $1319\text{ cm}^{-1}$  são marcadamente reduzidas. Esses picos estão associados com os grupos -NH da amida I e amida II. De acordo com KO et al., (1997), as bandas de amida da Chi tendem a desaparecer quando os grupos acetamidos são substituídos por aminas primárias. Essas observações suportam que alterações nas estruturas dos filmes podem ocorrer devido a interações entre as moléculas de Gli e os grupos amino e hidroxilas na matriz da Chi, efeito este não observado no com a estrutura da GC.



**Figura 1.** Espectros de FTIR para filmes de GC e Chi e suas combinações Segundo identificações apresentadas na Tabela 1.

### 3.2 Análise Térmica

As curvas termogravimétricas para os filmes de GC e Chi puros estão representados na Figura 2. As curvas tracejadas correspondem às derivadas da massa (DTG) que permitem a identificação da ocorrência de cada evento térmico como a temperatura de decomposição máxima (Td) de cada amostra.



**Figura 2.** Curvas TG e DTG dos filmes GC pura (Filme A), Chi pura (Filme F) e das blendas GC-Chi com e sem plastificante (Gli a 1% w/wn). Taxa de aquecimento de 10 °C/min.

Ambos materiais seguem um mesmo padrão com um perda contínua de massa em um estágio inicial de desidratação seguido por eventos associados à decomposição polimérica.

A curva TG para o filme A (GC pura) revela três eventos distintos. O primeiro identificado a 90°C corresponde à dessorção de água quimicamente ligada. O segundo estágio a 230°C e um terceiro evento mais intenso a 293°C, estão relacionados à despolimerização, descarbonização e a decomposição pirolítica com formação de água CO, e CH<sub>4</sub>.

Com respeito às blendas, o comportamento térmico é próximo ao registrado para o filme de GC puro. Todas as blendas apresentam desidratação em temperaturas superiores a aquelas registradas para o Filme F indicando uma maior interação com a água provavelmente em função de uma maior densidade de sítios polares presentes na estrutura da GC. Um aumento da massa residual a 800 °C também é observado nas blendas quando comparadas com o filme de quitosana pura (F).

## AGRADECIMENTOS

Os autores são gratos à FAPESP (Processo: 2012/12889-0), CNPq (Processo: 310283/2012-4) e à Rede AgroNano da Embrapa.

## REFERÊNCIAS

- BRITTO, D.; RIZZO, J.S.; ASSIS, O.B.G. Effect of carboxymethylcellulose and plasticizer concentration on wetting and mechanical properties of cashew tree gum-based films. *International Journal of Polymer Analysis and Characterisation*, v.17, n.4, p.302–311, 2012.
- COSTA, S.M.O.; RODRIGUES, J.F.; PAULA, R.C.M. Monitoração do processo de purificação de gomas naturais: goma do cajueiro. *Polímeros*, v. 6, n.2, p. 49–55, 1996.
- KO, M.J.; JO, W.H.; KIM, H.C.; LEE, S.C. Miscibility of chitosan/polyamide 6 blends. *Polymer Journal*. v.28, n.12, p. 997–1001, 1977.
- MOTHÉ, C.G.; SOUZA, I.V.; CALAZANS, G.M.T. Antitumor activity of cashew gum from *Anacardium occidentale* L. *Agro Food Industry Hi-Tec*. v.19, n.6, p.38-40, 2008.
- PAULA, R.C.M.; HEATLEY, F.; BUDD, P.M. (1998) Composition and structure of *Anacardium Occidentale* exudate polysaccharide from Brazil. *Polymer International*, v.45, p. 27–35, 1998.

SILVA, A.D.; FEITOSA, J.P.A.; PAULA, H.C.B.; PAULA, R.C.M. (2009) Synthesis and characterization of cashew gum/acrylic acid nanoparticles. *Material Science and Engineering C*. v. 29, p. 437-441, 2009.

## EFEITO DE DIFERENTES SOLVENTES SOBRE AS PROPRIEDADES CRISTALOGRÁFICAS DOS FILMES DE ZEÍNA

\*Luana Gomes Cordeiro de Araújo<sup>1</sup>, Eliton Souto Medeiros<sup>1</sup>, Odilio Benedito Gomes Assis<sup>2</sup>, Juliano Elvis Oliveira<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Centro de Tecnologia (CT), Departamento de Engenharia de Materiais (DEMat), João Pessoa, PB. <sup>2</sup> Embrapa Instrumentação Agropecuária, Laboratório de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio (LNNA), São Carlos, SP.

\*luana\_eng\_alim@hotmail.com

**Classificação:** Filmes, revestimentos comestíveis e embalagens funcionais para alimentos.

### Resumo

Zeínas são as principais proteínas de armazenagem do milho com forte hidrofobicidade e solubilidade única e tem sido considerada como um biopolímero alimentar versátil. Neste estudo, os filmes de zeínas foram preparados a partir de soluções alcoólicas. Os efeitos dos diferentes tipos de solventes (Etanol, Isopropanol, Metanol e NaOH) sobre as propriedades cristalográficas dos filmes de zeínas foram investigados pela técnica de difração de raio-X. Os ângulos de dispersão de raios-X mostraram padrões de espaçamentos  $d$  de  $\approx 4,4$  e  $\approx 10,2$  Å, que foram atribuídas a distância média da espinha dorsal dentro da estrutura de uma  $\alpha$ -hélice de zeínas e ao espaçamento de empacotamento inter-hélice, respectivamente. A modificação do solvente influenciou nos espaçamentos cristalográficos.

**Palavras-chave:** Zeínas, Difração de raio-X, Isopropanol, Metanol, Etanol.

### EFFECT OF SOLVENT ON CRYSTALLOGRAPHIC PROPERTIES OF ZEIN FILMS

#### Abstract

Zein is the major storage protein from corn with strong hydrophobicity and unique solubility and has been considered as a versatile food biopolymer. In this study, zein films were prepared by casting from alcoholic solutions. The effects of different solvents (ethanol, isopropanol, methanol and NaOH) in crystallographic properties of the zein films were investigated by the technique of X-ray diffraction. The angles of dispersion X-ray pattern showed spacings of  $\approx 4.4$  and  $d \approx 10.2$  Å, which were assigned the average distance within the backbone structure of a  $\alpha$ -helix zein packaging and spacing inter-helix, respectively. The modification of the solvent influences the crystallographic spacings.

**Keywords:** Zein, X-ray diffraction, isopropanol, methanol, ethanol.

## 1 INTRODUÇÃO

A zeína engloba um grupo de proteínas solúveis em álcool encontrado no endosperma do milho, que é responsável por 50% ou mais da proteína total do endosperma [1].

Atualmente, as aplicações de zeína são limitadas a formulações de agentes de revestimento para as indústrias alimentar e farmacêutica. O interesse renovado em zeína como um material polimérico é resultado, em parte, ao impacto negativo de plásticos à base de petróleo sobre o meio ambiente [2].

Zeínas são consideradas proteínas globulares e constituídas de frações classificadas de acordo com sua massa relativa e solubilidade, como zeínas  $\alpha$ ,  $\gamma$ ,  $\beta$  e  $\delta$ . As zeínas  $\alpha$  são as mais abundantes constituindo aproximadamente 80% de todas as zeínas [3]. Essas proteínas contêm 10 segmentos helicoidais sucessivos dispostos de forma antiparalela que são estabilizados por ligações de hidrogênio [4].

A superfície da molécula de zeína compreende domínios hidrófobos ( $> 50\%$ ) e hidrofílicos [5]. A propriedade hidrófoba da zeína é altamente relacionada com a elevada percentagem de resíduos de aminoácidos não-polares, tais como, a leucina, prolina e alanina [6]. Tradicionalmente, a presença de misturas binárias de etanol aquoso (60-95%, v/v) e água permite a melhoria da solubilidade e dispersibilidade de partículas de zeína [7-8]. A microestrutura da zeína está altamente relacionada com a

concentração de zeína, a concentração de etanol aquoso e o emprego de agentes tensoativos nas misturas [8-9]. Como alternativa, durante a evaporação da solução do binário, a morfologia da estrutura de auto-montagem da zeína pode variar dependendo do tipo e concentração de solventes e solutos [8].

O objetivo deste trabalho foi investigar o efeito de diferentes solventes sobre as propriedades cristalográficas dos filmes zeína por difração de raios-X.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

As amostras de zeínas (CAS Number 9010-66-6) foram obtidas da Sigma-Aldrich. Os solventes utilizados na obtenção dos filmes foram: Álcool etílico absoluto P.A. (EtOH) e Álcool metílico P.A. (MeOH) da FMAIA, Álcool isopropílico P.A. (IPA) da CINÉTICA e o Hidróxido de sódio (NaOH) e a água destilada foram adquiridos no Laboratório de Solidificação Rápida (LSR).

Os filmes foram obtidos por dissolução da zeína a (20% m/v) em uma mistura de água:solvente (1:4 v/v) e homogeneizado por agitação moderada. As soluções foram depositadas em placas de teflon. Após evaporação espontânea do solvente na temperatura ambiente ( $25\pm 3^\circ\text{C}$ ), os filmes foram manualmente destacados.

A difratometria de raios-X (DRX) foi utilizada para acompanhar a evolução das fases dos diferentes filmes a base de zeínas. Utilizou-se, para tanto, o difratômetro de raios-X-SIEMENS D5000, sendo empregado a radiação de  $\text{CuK}(\alpha)$ , cujo comprimento de onda é  $\lambda = 1,54\text{\AA}$ . Os ensaios foram realizados à temperatura ambiente, com diferença de potencial da ordem de 40kV e uma corrente de 30mA. Foi utilizado um passo de  $0,01^\circ$ , tempo por passo de 3s e o ângulo  $2\theta$  (2-theta) variando entre de 0 e 50 graus. A difração de raios X foi realizada com a amostra em forma de filme, com 20 x 20 mm de dimensão.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

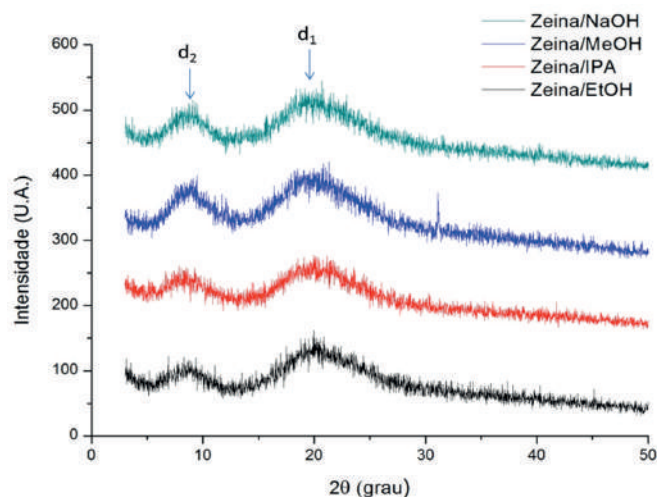
São apresentados na Figura 1 os difratogramas de raios X dos filmes de zeína solubilizados em EtOH, IPA, MeOH e NaOH.

Os filmes à base de zeína apresentaram dois picos característicos de difração, o primeiro pico foi observado em  $2\theta \approx 20^\circ$  e o segundo pico em  $2\theta \approx 8,5^\circ$ , esses picos correspondem a dois espaçamentos  $d_1$ ,  $d_2$  e  $d_3$ , respectivamente.

O filme solubilizado com EtOH apresentou espaçamento  $d_1$  de 4,4Å e  $d_2$  de 9,9Å. Valores bem próximos foram obtidos por HAN et al. [10] em  $2\theta = 19,4^\circ$  ( $d_1 = 4,6\text{\AA}$ ) e  $2\theta = 9,2^\circ$  ( $d_2 = 9,5\text{\AA}$ ).

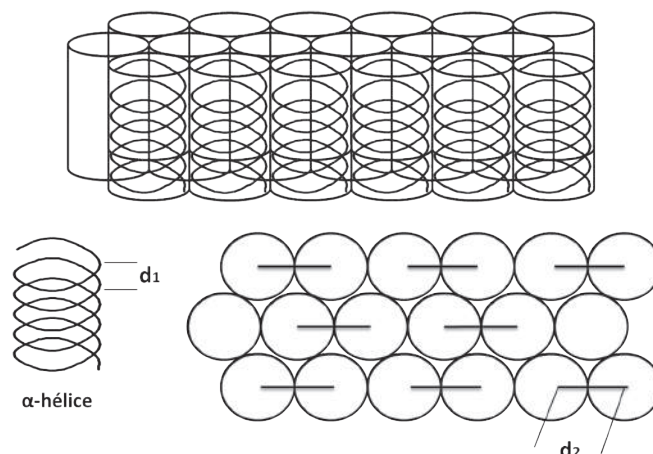
Os filmes solubilizados com MeOH, IPA e NaOH apresentaram espaçamento  $d_1$  de 4,5; 4,3 e 4,5Å, respectivamente, e espaçamento  $d_2$  de 9,9; 10,7 e 10,2Å, respectivamente.

O espaçamento  $d_1$  atribuído ao esqueleto de uma  $\alpha$ -hélice (Figura 2) não se alterou de forma significativa com os solventes utilizados, o que indica que a estrutura helicoidal da zeína permaneceu estável sob as condições experimentais do estudo. Isso pode ser explicado pelo fato da  $\alpha$ -hélice ser a estrutura secundária mais abundante e mais estável em proteínas, e por esta configuração se realizada por ligações de hidrogênio intramoleculares [11]. No entanto, o espaçamento  $d_2$  relacionado com o empacotamento das inter-hélices, se mostrou mais sensível com a mudança dos solventes. Esse aumento no valor do espaçamento  $d_2$  implica em inter-hélices menos empacotadas. Isso sugere que houve uma modificação na estrutura terciária da zeína conferindo maior mobilidade molecular. Essa modificação pode ser explicada pela diminuição das interações eletrostáticas e de van der Waals existentes na estrutura terciária.



**Figura 1.** Difratogramas de raios X dos filmes de zeína solubilizados em EtOH, IPA, MeOH e NaOH.

Acredita-se que a distância média da espinha dorsal dentro da estrutura de uma  $\alpha$ -hélice de zeína pode estar relacionada com o curto espaçamento-d em torno de  $4,5\text{\AA}$ , ao passo que o maior espaçamento-d de cerca de  $10\text{\AA}$  é considerado o espaçamento de empacotamento inter-hélice ou a distância média de aproximação das hélices vizinhas tal como descrito na literatura [5]. Uma vez que o espaçamento-d de cerca de  $10\text{\AA}$  está relacionado com o empacotamento inter-hélice ou aproximação de hélices vizinhas, a diminuição da sua intensidade implica a ruptura de agregados moleculares de zeína [12].



**Figura 2.** Modelo estrutural para um agregado molecular de zeína (baseado em [11]).

O parâmetro utilizado para avaliar a intensidade relativa foi a razão da área dos picos em  $2\theta \cong 8,5^\circ$  e  $20^\circ$  ( $A_2/A_1$ ). A Tabela 1 apresenta os espaçamentos d e a razão de área ( $A_2/A_1$ ) para os filmes de zeína.

Os valores de ( $A_2/A_1$ ) são semelhantes para os diferentes filmes analisados, com exceção do filme solubilizado com IPA. Wang et al. [11] obteve razão ( $A_2/A_1$ ) de 0,25 para zeína em pó. Oliviero et al. [13] estudando diferentes lotes de zeína solubilizados com polietilenoglicol obteve uma razão ( $A_2/A_1$ ) de 0,56 e 0,52 para os lotes de zeína (02K0054) e (065K0110), respectivamente.

**Tabela 1.** Espaçamentos-d e razão de área ( $A_2/A_1$ ) para os filmes de zeína solubilizados com EtOH, MeOH, IPA e NaOH, obtidos dos gráficos de DRX.

Filmes	$d_1$	$d_2$	$A_2/A_1$
Zeína/EtOH	4,4	9,9	0,36
Zeína/MeOH	4,5	9,9	0,30
Zeína/IPA	4,3	10,7	0,63
Zeína/NaOH	4,5	10,2	0,33

#### 4 CONCLUSÃO

Os resultados indicam que os solventes não alteraram a estrutura secundária da zeína, devido à baixa variação do valor de  $d_1$ . Porém, alteraram a estrutura terciária da zeína implicando em modificação no empacotamento entre as hélices. Os solventes IPA e NaOH conferiram maior mobilidade aos filmes de zeína.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq (409955/2013-2), Laboratório de Solidificação Rápida (LSR-UFPB), Finep, Capes e Projeto MP1 Rede Agronano – Embrapa.

#### REFERÊNCIAS

- CROSTON, C. B.; EVANS, C. B. “The Industrial Uses of Corn Proteins”, in: Crops in Peace and War. The 1950–1951 Yearbook of Agriculture, USDA, Washington, DC 1951, p. 607.
- LAWTON, J. W. Cereal Chem. 79, 1, 2002.
- BICUDO, R. C.; BICUDO, T. C.; FORATO, L. A.; COLNAGO, L. A. & LANÇAS, F. M. - “Análise de zeínas  $\alpha$  do milho por LC-ESI-Q/TOF”, Comunicado Técnico n.77, Embrapa Instrumentação, CNPDIA, São Carlos, 3p. (2006).
- MATSUSHIMA, N.; DANNO, G. I.; TAKEZAWA, H. & IZUMI, Y. - Biochim. Biophys. Acta, 1339, p.14 [http://dx.doi.org/10.1016/S0167-4838\(96\)00212-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0167-4838(96)00212-9), (1997).
- LAI, H. M.; GEIL, P. H.; PADUA, G. W. J. X-ray diffraction characterization of the structure of zein–Oleic acid films. Journal of Applied Polymer Science. Vol. 71, 1267-1281, (1999).
- SHUKLA, R., CHERYAN, M. Zein: the industrial protein from corn. Ind. Crop. Prod. 13, 171–192, 2001.
- KIM, S., XU, J. Aggregate formation of zein and its structural inversion in aqueous ethanol. J. Cereal Sci. 47, 1–5, 2008.
- WANG, Y., PADUA, G.W. Formation of zein microphases in ethanol–water. Langmuir 26, 12897–12901, 2010
- QIN, W., LEILEI, Y., PADUA, G.W. Effect of hydrophilic and lipophilic compounds on zein microstructures. Food Biophys. 3, 174–181, 2008.
- HAN, YI-LONG.; XU, Q.; LU, ZHI-QIAN.; WANG, JIN-YE. Preparation of transparent zein films for cell culture applications. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces Vol. 120, 55–62. 2014.
- WANG, Y.; FILHO, F. L.; GEIL, P.; PADUA, G. W. Effects of Processing on the Structure of Zein/Oleic Acid Films Investigated by X-Ray Diffraction. Macromol. Biosci. 5, 1200–1208, 2005.



YAO, C.; LI, X.; SONG, T. Preparation and Characterization of Zein and Zein/Poly-L-lactide Nanofiber Yarns. *Journal of Applied Polymer Science*, Vol. 114, 2079–2086 (2009).

OLIVIERO, M.; DI MAIO, E.; IANNACE, S. Effect of Molecular Structure on Film Blowing Ability of Thermoplastic Zein. *Journal of Applied Polymer Science*, Vol. 115, 277–287 (2010).

---

## AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO MECÂNICO DE FILMES COMESTÍVEIS INCORPORADOS COM MICROALGA *CHLORELLA VULGARIS*

Amanda Vieira da Silva<sup>1</sup>, Isaque Jerônimo Porto<sup>1</sup>, Eliton Souto Medeiros<sup>1</sup>, Jose Franciraldo de Lima<sup>2</sup>, \*Juliano Elvis de Oliveira<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal da Paraíba, Departamento de Engenharia de Materiais, PB.

<sup>2</sup>Universidade Federal de Campina Grande, Departamento de Engenharia de Agrícola, PB.

\*juliano.materiais@gmail.com

**Classificação:** Filmes, revestimentos comestíveis e embalagens funcionais para alimentos.

### Resumo

Os filmes comestíveis são empregados há muito tempo como forma de conservação de alimentos. Atualmente, polímeros biodegradáveis, como o poli(vinil álcool), PVA, vem sendo utilizados para formação desses filmes devido às suas boas características e facilidade na formação de filmes. A microalga *Chlorella vulgaris*, que compõe uma área de crescente estudo, apresenta além de facilidade de cultivo, elevados índices proteicos. Assim, o presente trabalho tem como objetivo avaliar o efeito mecânico da incorporação da microalga *Chlorella vulgaris* em filmes de PVA obtidos pelo método de evaporação de solvente, através do ensaio do filme de PVA puro, do filme de PVA em conjunto com a microalga passado por dupla filtração, e do filme de PVA e microalga sem a filtração. Com os resultados obtidos pode-se observar que a incorporação da microalga afetou as propriedades mecânicas dos filmes de PVA puro, que apresentaram um aumento na resistência mecânica quando submetidos ao ensaio de tração.

**Palavras-chave:** Filmes comestíveis; Polialcool vinílico; *Chlorella vulgaris*.

### EVALUATION OF MECHANICAL BEHAVIOR OF EDIBLE FILMS INCORPORATED WITH *CHLORELLA VULGARIS*

#### Abstract

Edible films are used as a way of preserving food. Currently, biodegradable polymers such as poly (vinyl alcohol), PVA, is being used for produced these films due to its good features and ease of film formation. The microalgae *Chlorella vulgaris*, which comprises a research area of increasing study in materials science and engineering. Then this study aims to evaluate the mechanical effect of the incorporation of microalgae *Chlorella vulgaris* in PVA films obtained by solvent evaporation method, by testing neat PVA film and PVA/microalgae films. By results it can be observed that the incorporation of microalgae affected the pure PVA films that showed a increase in strength when subjected to strain.

**Keywords:** Edible films; PVA; *Chlorella vulgaris*.

## 1 INTRODUÇÃO

Como forma de retardar a desidratação e consequente aumento da conservação de frutas e hortaliças por longas distâncias durante seu transporte, desde o século XIII, na China vem sendo empregada a utilização de filmes e revestimentos comestíveis (ASSIS et al., 2009).

Os filmes comestíveis são películas finas e flexíveis que possuem espessuras distintas, formados por macromoléculas biológicas (MORAES et al., 2008). Esses filmes são constituídos por substâncias não danosas à saúde e desempenham função dependente do tipo de alimento a ser recoberto, além do tipo de degradação a que este é susceptível (MAIA et al., 2000).

Para a produção de filmes biopoliméricos com melhores propriedades mecânicas algumas vezes são misturados biopolímeros com polímeros biodegradáveis (MORAES et al., 2008).

Dentre estes polímeros, o poli (vinil álcool), PVA, é uma dos mais utilizados, pelo fato de possuir excelentes propriedades e características, como por exemplo, propriedades de resistência e barreira a gases (MARANGON, 2008), agente de aumento de viscosidade, além de ser um dos poucos polímeros semicristalinos solúveis em água que possui boas características mecânicas e facilidade de formação de filmes (JUNIOR, 2011; MARAGON, 2008).

As microalgas constituem um grupo de microrganismos não muito estudados e, portanto, apenas algumas centenas dentre as dez mil espécies existentes foram pesquisadas, dessa forma, compõem uma área a ser explorada de maneira mais aprofundada (SANTOS, 2009).

A microalga *Chlorella vulgaris* pertencente à classe Chlorophyceae, ordem Chlorococcales e família Oocystaceae (SANTOS et al., 2009), vem despertando o interesse econômico devido à facilidade de cultivo e elevado conteúdo proteico. Esta espécie apresenta ainda a capacidade de estimular o sistema imunológico, e de sintetizar compostos com propriedades terapêuticas (TEIXEIRA et al., 2008).

Os filmes comestíveis devem apresentar flexibilidade e resistência à ruptura de forma a se adequar às superfícies do alimento revestido, garantindo cobertura total ao mesmo. Assim, as propriedades mecânicas de tração expressam a resistência do filme quando este for submetido ao alongamento durante a tração (RIGO, 2006).

À vista disto, o presente trabalho possui como objetivo avaliar o efeito mecânico da incorporação da microalga *Chlorella vulgaris* em filmes de PVA, por meio do ensaio de tração dos filmes de PVA puro, de PVA em conjunto com a microalga passado por dupla filtração, e do filme de PVA e microalga sem a filtração. Com este propósito, a resistência mecânica dos filmes foi avaliada por ensaio de tração de acordo com as normas ASTM para ensaio de tração em polímero.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Os filmes biopoliméricos foram feitos utilizando a microalga *Chlorella vulgaris* e o polímero PVA pelo método de evaporação de solvente. Foram feitos filmes de PVA puro, PVA incorporado com a microalga e PVA incorporado com a microalga sem filtração da solução.

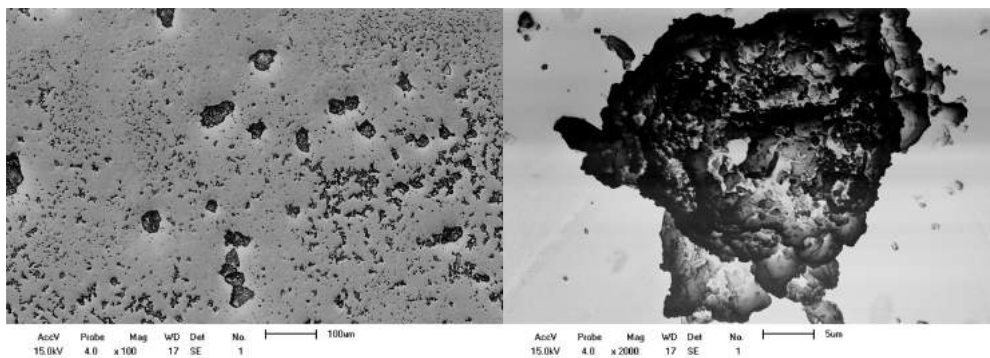
Usando balão volumétrico foi medido 150 mL de água destilada e colocado num béquer sobre um agitador com aquecimento. Para obtenção de filmes de PVA puro, à aproximadamente 80°C (para melhor solubilização), era adicionado 7,5g de PVA, e para obtenção dos filmes de PVA com microalga, a quantidade de 0,3g de microalga era adicionada à água destilada e agitada com temperatura por aproximadamente 10 minutos. Passado esse tempo, a solução foi filtrada duas vezes com auxílio de funil de Buchner e Kitassato. Após filtração, a solução foi colocada no agitador com aquecimento em aproximadamente 80°C e era adicionada a mesma quantidade de PVA necessária para obtenção dos filmes puros até que houvesse dissolução completa das partículas na solução. Na obtenção dos filmes de PVA com microalga sem filtração, foram seguidos os mesmos passos anteriores, porém, sem a filtração.

Terminado o processo, a solução foi despejada sobre bandejas de vidro e em moldes de corpos-de-prova de tração para subsequentes ensaios e análises, e postos para secar durante 24 horas para a formação dos filmes através da evaporação do solvente.

O comportamento mecânico dos revestimentos de zeína foram avaliados através de ensaios de tração utilizando o equipamento AUTOGRAPH AG-X 10KN da Shimadzu e seguindo a norma técnica ASTM D638. Foi analisado o módulo de resistência à tração e o limite de ruptura para 5 corpos de prova por amostras. A velocidade de ensaio utilizada foi de 1mm/min.

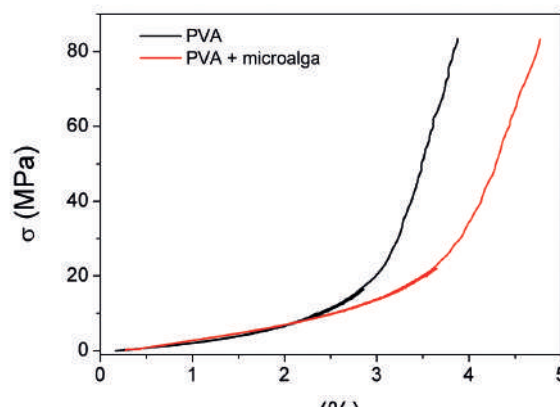
## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A figura 1 indica a morfologia da microalga adicionada nos filmes de poli(álcool vinílico). Podemos notar pela Figura 1(a) a dispersão no diâmetro das partículas, sendo que as maiores partículas de *C. vulgaris* se encontravam na faixa de 25µm.



(a) (b)  
**Figura 1.** Micrografias (MEV) da *Chlorella vulgaris*

O efeito da adição da microalga no comportamento mecânico dos filmes de PVA pode ser avaliado na Figura 2.



**Figura 2.** Efeito da adição de microalga no comportamento mecânico dos filmes de PVA

Os filmes de PVA apresentam inicialmente um comportamento não linear seguido por um regime plástico. A adição de partículas da microalga aos filmes de PVA induziu a um aumento na resiliência e na ductilidade dos filmes. No entanto, a tensão de ruptura se manteve inalterada.

#### 4 CONCLUSÃO

Filmes de PVA e de PVA/ *C. vulgaris* foram produzidos de forma eficiente pela técnica de evaporação do solvente. A adição da microalga *C. vulgaris* levou a um aumento na resiliência e ductilidade dos filmes de PVA. Além disso, não houve alteração em sua tensão de ruptura.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Fazenda Tamanduá (Patos/Paraíba) pela doação da microalga, ao Laboratório de Solidificação Rápida da UFPB, a Embrapa e ao CNPq (Processo 409955/2013-2).

#### REFERÊNCIAS

ASSIS, O. B. G.; BRITTO, D.; FORATO, L. A.; O uso de biopolímeros como revestimentos comestíveis protetores para conservação de frutas *in natura* e minimamente processadas. São Carlos: Embrapa Instrumentação Agropecuária, 2009. 23 p.

MORAES, I. C.; SILVA, G. G. D.; CARVALHO, R. A.; HABITANTE, A. M. Q. B.; BERGO, P. V. A.; SOBRAL, P. J. A.; Influência do grau de hidrólise do poli(vinil álcool) nas propriedades físicas de filmes à base de blendas de gelatina e poli(vinil álcool) plastificados com glicerol. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, 28(3): 738-745, jul.-set. 2008

MAIA, L. H.; PORTE, A.; SOUZA, V. F.; Filmes comestíveis: aspectos gerais, propriedades de barreira a umidade e oxigênio. B.CEPPA, Curitiba, v. 18, n. 1, p. 105128, jan./jun.2000.

MARANGON, A.A.S.; Compósitos de pva/caulinita e pva/caulinita funcionalizada. 92 p.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais)- Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

JUNIOR, E. S. C.; Desenvolvimento de matriz de Quitosana/PVA, quimicamente reticulada para aplicação potencial em engenharia de tecido epitelial. Dissertação (Doutorado apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Engenharia Metalúrgica e de Minas)- Universidade Federal de Minas Gerais, Dezembro, 2008.

SANTOS, L. B. G.; CALAZANS, N. K.; MARINHO, Y. F.; SANTOS, A. P. F.; NASCIMENTO, R. M. N.; VASCONCELOS, R. F. L.; DANTAS, D. M. M.; GÁLVEZ, A. O.; Influência do fotoperíodo no crescimento da *Chlorella vulgaris* (chlorophyceae) visando produção de biodiesel. Disponível em: <[http://www.eventosufrpe.com.br/jepex2009/cd/lista\\_area\\_12.htm](http://www.eventosufrpe.com.br/jepex2009/cd/lista_area_12.htm)>. Acesso em: 14 abr. 2014.

TEIXEIRA, C.; SILVA, E.; CRUZ, M.; NAVARRO, A.C.; A eficácia da *Chlorella* como inibidor de apetite associada ao exercício físico e dieta balanceada alterando a composição corporal. Revista brasileira de obesidade, nutrição e emagrecimento. Issn 1981-9919.

RIGO, L. N.; DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES COMESTÍVEIS. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos)- Universidade Regional Integrada e das Missões-URI, Campus de Erechim. Erechim, RS, 2006.

---

## PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO COMPLEXO DE INCLUSÃO DE ÓLEO DE ALHO COM B-CICLODEXTRINA

Milena Gomes Barbosa da Silva<sup>1</sup>, Isabela Cristina Barros Pereira<sup>1</sup>, Roberta Ferreti Bonan<sup>2</sup>, Luiz Henrique Capparelli Mattoso<sup>3</sup>, \*Juliano Elvis Oliveira<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal da Paraíba, Departamento de Engenharia Química, PB. <sup>2</sup>Universidade Federal da Paraíba, Departamento de Engenharia de Materiais, PB. <sup>3</sup>Embrapa Instrumentação, Laboratório Nacional de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio, São Carlos, SP.

\*juliano.materiais@gmail.com

**Classificação:** Filmes, revestimentos comestíveis e embalagens funcionais para alimentos.

### Resumo

As ciclodextrinas (CDs) são oligossacarídeos cíclicos, constituídos por unidades de glicose 1,4-ligadas, e são denominadas alfa ( $\alpha$ ) (6 unidades), beta ( $\beta$ ) (7 unidades) e gama ( $\gamma$ )-ciclodextrinas (8 unidades). Estas macromoléculas, que podem ser representadas como anéis hidrofóbicos e grupos hidroxila primários, podem encapsular uma grande variedade de compostos. Estes complexos de inclusão são de especial interesse devido às suas propriedades antimicrobianas de grande interesse em aplicações envolvendo embalagens biomédicas e alimentares. Complexos de inclusão com atividade antimicrobiana podem ser incorporados em filmes biopoliméricos. Neste estudo, o complexo de inclusão entre a  $\beta$ -ciclodextrina e o óleo de alho foram sintetizados pelo método de solução. Em seguida, todas as amostras foram caracterizadas por espectroscopia de infravermelho. Os espectros de infravermelhos indicam a interação entre  $\beta$ -ciclodextrina e ácido alho. Em etapas futuras do projeto, estes complexos de inclusão com atividade antimicrobiana serão incorporados em filmes de zeína para revestimento de queijo coalho.

**Palavras-chave:** complexo de inclusão; óleo de alho; caracterização; FTIR

## REPARATION AND CHARACTERIZATIONS OF INCLUSION COMPLEX OF GARLIC OIL WITH $\beta$ -CYCLODEXTRIN

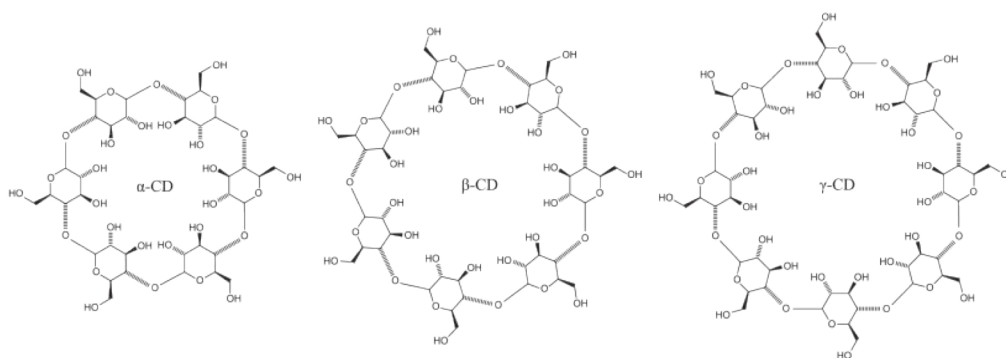
### Abstract

Cyclodextrins (CDs) are cyclic oligosaccharides consisting of 1,4-linked glucose units, and are named alpha ( $\alpha$ ) (6 units), beta ( $\beta$ ) (7 units) and gamma ( $\gamma$ )-cyclodextrins (8 units). These macromolecules, which can be spatially represented as a hydrophobic rings and primary hydroxyl groups, can encapsulate a large variety of compounds due to the hydrophobic character of their internal cavity. These inclusion complex are of special interest in this context because of their antimicrobial properties which are useful for medical and food packaging applications. Antimicrobial inclusion complex can be loading into biopolymers films. In this study, inclusion complex were synthesized by solution method. Then, all samples were characterized by infrared spectroscopy. Infrared spectra indicate the interaction between  $\beta$ -cyclodextrin and garlic acid. In the next steps, these antimicrobial inclusion complexes were loading into zein films for cheese packaging applications.

**Keywords:** inclusion complex; garlic oil; characterization; FTIR

## 1 INTRODUÇÃO

Normalmente as ciclodextrinas (CDs) constituem uma nova classe de excipientes farmacêuticos usadas para alterar as propriedades físico-químicas e biológicas indesejáveis de certos fármacos através da complexação dos mesmos com as CDs. A característica mais importante das CDs é a sua habilidade de formar complexos de inclusão com diversas moléculas. No geral, as ciclodextrinas podem apresentar três diferentes tipos de estruturas (Figura 1) constituídas por seis, sete ou oito unidades de glicose, denominadas, respectivamente,  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$  – ciclodextrin (Qian,2008).



**Figura 1.** Estrutura química das ciclodextrinas

Devido a sua cavidade hidrofóbica as ciclodextrinas podem complexar distintos compostos numa estequiometria usual de 1:1 mols. A reação de complexação facilita a solubilização de substâncias lipossolúveis sem perda de sua atividade biológica. Em solução, a molécula hóspede vai estar localizada, integral ou parcialmente dentro da cavidade da ciclodextrina, estando o complexo solvatado ou rodeado por moléculas do solvente, geralmente a água(Qian,2009). As moléculas incluídas normalmente ficam orientadas de modo que se alcance o máximo contato entre a parte hidrofóbica da molécula hóspede e a cavidade da ciclodextrina de natureza apolar. Várias técnicas de preparação foram desenvolvidas para formação de complexos de inclusão com CDs. Destacam-se os processos de liofilização e atomização, por possibilitar a obtenção de complexos em estado sólido com elevada eficiência de complexação em escala industrial(Singh,2012). A utilização de novas técnicas de encapsulamento de moléculas que favoreçam a interação entre seus componentes, como variações nos procedimentos das técnicas mais tradicionais, têm sido pesquisadas.

As ferramentas disponíveis para caracterização destes sistemas complexos vem sendo ampliadas, possibilitando sua compreensão e controle. Neste sentido, técnicas de observação indireta dos fenômenos de encapsulamento, como os tradicionais diagramas de solubilidade de fases, são complementadas pela introdução de métodos de RMN, difração de raios X e a análise térmica(Qian,2009).

Os avanços na tecnologia industrial permitem produzir complexos entre CDs e produtos naturais com elevado grau de rendimento. Apesar disso, o caráter heterogêneo destas CDs contribui para sua elevada solubilidade aquosa e não constitui um fator que limite sua utilização industrial (Qian,2008).

Estudos recentes demonstram a possibilidade de utilizar essas substâncias em diversas aplica-

ções biomédicas, como veículos para entrega de fármacos e agentes biológicos, tendo como propósito a liberação sustentada do princípio ativo. Adicionalmente, através da inclusão, os compostos podem ficar protegidos contra oxidação, degradação pela luz, calor e elevada volatilidade a temperatura ambiente (Singh,2012).

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 MATERIAIS

O óleo de alho e a  $\beta$ -ciclodextrina empregados neste trabalho foram adquiridos da Sigma-Aldrich. Os solventes utilizados na obtenção dos filmes serão: água destilada e álcool etílico PA (FMaia).

### 2.2 MÉTODOS

#### 2.2.1 Formação dos Complexos óleo de alho/ $\beta$ -ciclodextrina

O procedimento de preparação mais habitual consiste na solubilização da CD em água e posterior adição do composto ativo em excesso. A ciclodextrina foi dissolvida em 30 ml de água destilada, a 55°C por 30 min sob forte agitação magnética. Em seguida foi adicionado o óleo de alho (0,465 ml,  $d=1,073$  g/ml) para produzir uma razão molar entre hóspede e hospedeiro de 1:1 (m/m). A mistura foi agitada a 55°C durante 4 h. O produto foi congelado a -4°C e liofilizado para obtenção do complexo de inclusão no estado sólido.

#### 2.2.2 Caracterização dos Complexos óleo de alho/ $\beta$ -ciclodextrina

Após a produção, os complexos de inclusão foram caracterizados através da técnica de espectroscopia de infravermelho (FTIR) com o intuito de avaliar o grau de eficiência da reação de complexação. Além disso foi investigado a atividade antimicrobiana do complexo frente a *Staphylococcus aureus* através de ensaios padronizados de difusão em ágar.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O espectro de infravermelho para o óleo de alho se encontra na Figura 2.

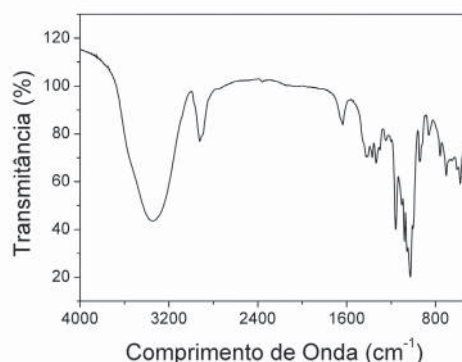


Figura 2. Espectro de Infravermelho do óleo de alho

O espectro do óleo de alho consiste de uma banda de absorção do estiramento assimétrico da ligação dupla no grupamento químico  $=CH_2$  ( $3080cm^{-1}$ ) e do estiramento simétrico do grupamento  $=CH_2$  ( $2977cm^{-1}$ ) e do estiramento dos grupamentos  $-CH_2$  ( $2904cm^{-1}$ ). O pico por volta de  $1630cm^{-1}$  é atribuído a vibração da ligação dupla  $C=C$  no grupamento alil. Os picos por volta de  $1420$  e  $1400cm^{-1}$  podem ser atribuídos ao estiramento  $CH_2$ . Os picos por volta de  $920cm^{-1}$  são atribuídos a vibração do estiramento do grupamento  $C-S-C$ . Adicionalmente o espectro de infravermelho apresenta picos na região entre  $800$  e  $700cm^{-1}$  que estão associados ao estiramento da ligação  $S-C$ .

Os experimentos de difusão em ágar para avaliação da atividade antimicrobiana foram realiza-

dos baseados na Norma M2-A8 do Manual Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)/NCCLS de 2003. Para tanto foi utilizado o microrganismo Gram-positivo *Staphylococcus aureus* (ATCC 13565). Na fase preliminar dos experimentos foi constatado que o óleo de alho, assim como o complexo, apresentou ação antimicrobiana contra o microrganismo investigado.

#### 4 CONCLUSÃO

Neste trabalho foi produzido com sucesso o complexo de inclusão  $\beta$ -ciclodextrina/óleo. Análises espectroscópicas possibilitaram avaliar a eficiência da reação de complexação e ensaios de avaliação microbiológica identificaram a ação antimicrobiana dos complexos contra *S. aureus*.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores gostariam de agradecer ao Laboratório Nacional de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio, a Embrapa e ao CNPq (Processo 409955/2013-2).

#### REFERÊNCIAS

Qian, L.; Guan, Y.; Xiao, H., INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICS, 357(1-2), p.244-251, 2008.

Qian, L.; Guan, Y.; Ziaee, Z.; et al., CELLULOSE, 16(2), p.309-317, 2009.

Singh, Preeti; Saengerlaub, Sven; Wani, Ali Abas; et al., PIGMENT & RESIN TECHNOLOGY, 41(6), p.368-379, 2012.

---

### AVALIAÇÃO DE FILMES COMESTÍVEIS DE MISTURAS DE $\kappa$ -CARRAGENANA, $\iota$ -CARRAGENANA E ALGINATO

Gabriela A. Paula<sup>1</sup>, Norma M. B. Benevides<sup>2</sup>, Arcelina P. Cunha<sup>2</sup>, Ana Vitória de Oliveira<sup>2</sup>, João Paulo S. Morais<sup>3</sup>, \*Henriette M. C. Azeredo<sup>4</sup>, Men de Sá M. Souza Filho<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Piauí. <sup>2</sup>Universidade Federal do Ceará. <sup>3</sup>Embrapa Algodão. <sup>4</sup>Embrapa – Secretaria de Relações Internacionais.

\*henriette.azeredo@embrapa.br.

**Classificação:** Filmes, revestimentos comestíveis e embalagens funcionais para alimentos.

#### Resumo

Filmes comestíveis foram preparados a partir de várias proporções de  $\kappa$ -carragenana,  $\iota$ -carragenana e alginato, segundo um delineamento de misturas (centroide simplex). A  $\kappa$ -carragenana foi o componente que mais contribuiu para a barreira à umidade e as propriedades mecânicas (exceto a elongação), enquanto a  $\iota$ -carragenana prejudicou tais propriedades. O alginato melhorou a uniformidade e transparência dos filmes, enquanto a presença de  $\iota$ -carragenana promoveu a formação de agregados e prejudicou a transparência.

**Palavras-chave:** Biopolímeros; Filmes comestíveis; Galactanas sulfatadas.

#### EVALUATION OF EDIBLE FILMS FROM MIXTURES OF $\kappa$ -CARRAGEENAN, $\iota$ -CARRAGEENAN, AND ALGINATE

##### Abstract

Edible films have been prepared with different proportions of  $\kappa$ -carrageenan,  $\iota$ -carrageenan and alginate, according to a simplex-centroid mixture design.  $\kappa$ -carrageenan was the component which most contributed to moisture barrier and overall tensile properties (except elongation), while  $\iota$ -carrageenan mostly impaired those properties. Alginate enhanced film uniformity and transparency, while  $\iota$ -carrageenan provided a high density of clusters and, accordingly, the highest effect on opacity.

**Keywords:** Biopolymers; Edible films; Sulfated galactans.

## 1 INTRODUÇÃO

Carragenanas são uma família de polissacarídeos produzidos por certas algas vermelhas (Rhodophyta) como principal material de parede celular (Campo et al., 2009). São galactanas sulfatadas, consistindo de sequências lineares alternadas de  $\beta$ -galactose e  $\alpha$ -galactose, esta geralmente na forma 3,6-anidra (Campo et al., 2009; Yang et al., 2009). As algas brasileiras *Solieria filiformis* e *Hypnea musciformis* sintetizam, respectivamente,  $\iota$ - e  $\kappa$ -carragenanas (Araújo et al., 2012; Aziza et al., 2008). Os alginatos, isolados de algas pardas, são copolímeros lineares de ácidos manurônico e gulurônico (Donati et al., 2005).

O objetivo do estudo foi avaliar os efeitos das proporções relativas de  $\kappa$ -carragenana,  $\iota$ -carragenana e alginato sobre as propriedades de filmes.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Extração das carragenanas

As algas *Hypnea musciformis* e *Solieria filiformis* foram coletadas nas praias do Pacheco (Caucaia, CE) e de Flexeiras (Trairi, CE), respectivamente. O alginato de sódio (Grindsted® FD175) foi fornecido pela Danisco Brasil Ltda.

Para a extração de carragenanas, as algas foram agitadas a 250 rpm por 12 h em água (1% m/v). Após filtração (malha de nylon 500 mesh), o resíduo foi submetido a extração com água (80°C, 4 h) e novamente filtrado. O filtrado foi adicionado de etanol (3 volumes) por 24 h, filtrado em malha de nylon, e o precipitado foi dialisado contra água destilada e liofilizado.

### 2.2 Preparação dos filmes

Dez filmes foram preparados, com diferentes proporções entre os componentes, segundo um delineamento de misturas. Para cada formulação, 5 g da mistura de polissacarídeos foi adicionada de glicerol (1.25 g), diluída em 200 mL de água destilada e homogeneizada (Ultra-Turrax T-25, Ika, 15000 rpm, 15 min). As dispersões foram degasadas a vácuo, depositadas sobre placas de vidro e niveladas para uma espessura final (seca) de 0,3 mm. Após secagem (24°C, 24 h), os filmes foram cortados, destacados e condicionados por 40 h a 24°C em ambiente a 50% UR.

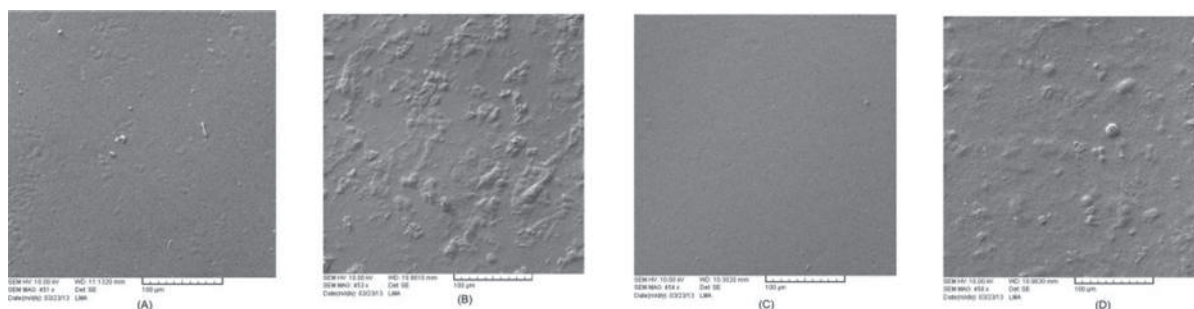
### 2.3 Caracterização dos filmes

Os filmes foram submetidos às determinações: opacidade, medida pela área sob a curva de um espectro de absorvância (400–800 nm) de amostras colocadas sobre a face interna da cubeta, perpendicularmente ao feixe de luz; Permeabilidade ao vapor de água, baseada no método E96-80 (ASTM, 1989); Propriedades mecânicas, segundo método D882-00 (ASTM, 2000), em máquina universal de testes (Emic DL-3000) com célula de carga de 100 N; FTIR, em espectrofotômetro Varian 660-IR, na faixa de números de onda de 4000 a 650  $\text{cm}^{-1}$ , com resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ , em 25 varreduras; Imagens de microscopia eletrônica de varredura (TESCAN, VEGA/XMU), com voltagem de aceleração de 10 kV, e aumento de 450 vezes.

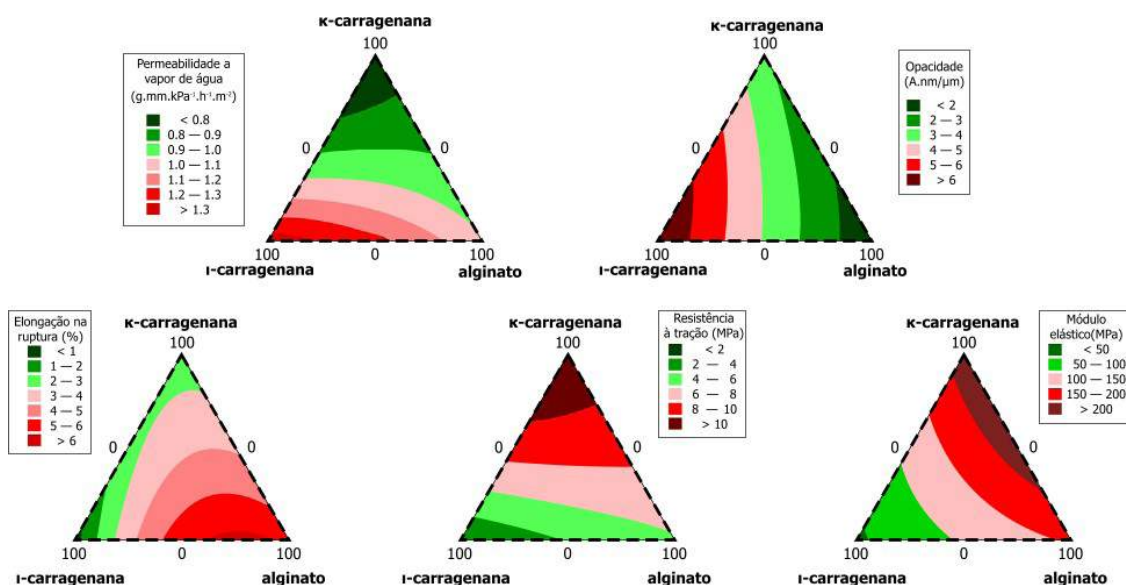
## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As imagens de MEV (Figura 1) indicam a diferença de homogeneidade da superfície dos filmes. O alginato formou o filme mais homogêneo, sendo também o componente que mais favoreceu a transparência (Figura 2), enquanto a  $\iota$ -carragenana (IC) formou o filme mais heterogêneo e mais opaco. A heterogeneidade dos filmes de IC está provavelmente relacionada aos seus efeitos negativos sobre as propriedades mecânicas e barreiras dos filmes, como indicado na Figura 2. A  $\kappa$ -carragenana (KC), por outro lado, foi o componente mais efetivo para melhorar a barreira a vapor de água, a resistência e o módulo, enquanto o alginato favoreceu a elongação.



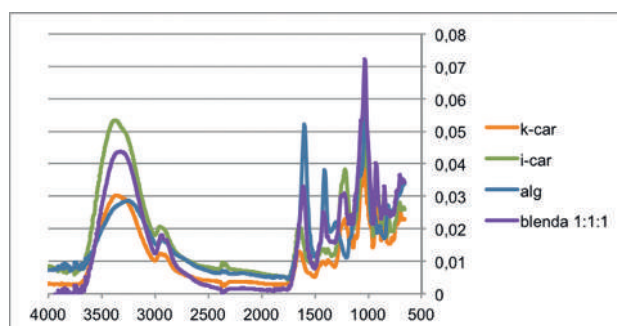


**Figura 1.** Imagens de MEV de filmes de  $\kappa$ -carragenana (A),  $\iota$ -carragenana (B), alginato (C) e de blenda 1:1:1 (D).



**Figura 2.** Representação gráfica dos modelos.

O espectro de FTIR dos filmes (Figura 3) apresentam bandas comuns, associadas a estiramento de grupos OH a  $3200\text{--}3500\text{ cm}^{-1}$  e estiramento de C-H a  $2900\text{--}2930\text{ cm}^{-1}$  (Paşcalău et al., 2012). O filme de alginato apresenta fortes bandas a  $1594\text{ cm}^{-1}$  e  $1407\text{ cm}^{-1}$ , atribuídas a estiramento assimétrico e simétrico de  $-\text{COO}^-$  (Paşcalău et al., 2012), enquanto as bandas a  $813$  e  $1025\text{ cm}^{-1}$  devem-se aos ácidos manurônico e gulurônico, respectivamente (Gómez-Ordóñez & Rupérez, 2011). Os filmes com carragenanas têm uma banda característica a  $1240\text{--}1210\text{ cm}^{-1}$ , associada ao estiramento assimétrico de  $\text{O}=\text{S}=\text{O}$  (Paşcalău et al., 2012), mais intenso para IC (2 grupos sulfato). O ombro a  $1190\text{ cm}^{-1}$  deve-se ao estiramento simétrico de  $\text{S}=\text{O}$  (Nanaki et al., 2010). Ambas as carragenanas têm uma banda a  $845\text{--}850\text{ cm}^{-1}$  para o sulfato em C4 do anel de galactose, enquanto a IC tem uma banda adicional a  $800\text{ cm}^{-1}$ , devida ao sulfato em C2 da 3,6-anidrogactose (Prado-Fernández et al., 2003). Outras bandas características de carragenanas são: estiramento assimétrico de C-O-C a  $1150\text{ cm}^{-1}$ ; estiramento simétrico de S-O a  $1068\text{--}1064\text{ cm}^{-1}$ ; estiramento de C-O-C na 3,6-anidrogactose a  $920\text{ cm}^{-1}$  (Nanaki et al., 2010).



**Figura 3.** Espectro de FTIR de filmes de  $\kappa$ -carragenana (k-car),  $\iota$ -carragenana (i-car), alginato (alg) e de blenda dos polissacarídeos (1:1:1).

#### 4 CONCLUSÃO

Os polissacarídeos apresentaram diferentes efeitos sobre os filmes formados. A  $\iota$ -carragenana, que formou filmes opacos e heterogêneos, prejudicou as propriedades mecânicas e de barreira dos filmes. O alginato favoreceu a transparência e a elongação dos filmes, e a  $\kappa$ -carragenana foi o componente mais efetivo para melhorar a barreira a vapor de água, a resistência e o módulo.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o suporte financeiro da Embrapa. H.M.C. Azeredo agradece ao CNPq pela Bolsa de Produtividade em Pesquisa (304179/2012-4).

#### REFERÊNCIAS

ARAÚJO, I.W.F.; RODRIGUES, J.A.G.; VANDERLEI, E.S.O.; PAULA, G.A.; LIMA, T.B.; BENEVIDES, N.M.B. Iota-carrageenans from *Solieria filiformis* (Rhodophyta) and their effects in the inflammation and coagulation. *Acta Scientiarum – Technology*, Maringá, v. 34, p. 127-135, 2012.

ASTM. Standard test methods for water vapor transmission of materials. E96-80. *Annual Book of ASTM Standards*. Philadelphia: American Society for Testing and Materials, 1989.

ASTM. Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. D882-00. *Annual Book of ASTM Standards*. Philadelphia: American Society for Testing and Materials, 2000.

AZIZA, M.; GIVERNAUD, T.; CHIKHAOUI-KHAY, M.; BENNASSER, L. Seasonal variation of the growth, chemical composition and carrageenan extracted from *Hypnea musciformis* (Wulfen) Lamouroux harvested along the Atlantic coast of Morocco. *Scientific Research and Essay*, v. 2, p. 509-514, 2008.

CAMPO, V.L.; KAWANO, D.F.; SILVA JR., D.B.; CARVALHO, I. Carrageenans: Biological properties, chemical modifications and structural analysis – A review. *Carbohydrate Polymers*, London, v. 77, p. 167-180, 2009.

DONATI, I.; HOLTAN, S.; MØRCH, Y.A.; BORGOGNA, M.; DENTINI, M.; SKJÅK-BRÆK, G. New hypothesis on the role of alternating sequences in calcium-alginate gels. *Biomacromolecules*, Stockholm, v. 6, p. 1031-1040, 2005.

GÓMEZ-ORDÓÑEZ, E.; RUPÉREZ, P. FTIR-ATR spectroscopy as a tool for polysaccharide identification in edible brown and red seaweeds. *Food Hydrocolloids*, Amsterdam, v. 25, p. 1514-1520, 2011.

NANAKI, S.; KARAVAS, E.; KALANTZI, L.; BIKIARIS, D. Miscibility study of carrageenan blends and evaluation of their effectiveness as sustained release carriers. *Carbohydrate Polymers*, London, 79, 1157-1167, 2010.

PAȘCALĂU, V.; POPESCU, V.; POPESCU, G.L.; DUDESCU, M.C.; BORORDI, G.; DINESCU, A.; PERHAIȚA, I.; PAUL, M. V. The alginate/ $\kappa$ -carrageenan ratio's influence on the properties of the cross-linked composite films. *Journal of Alloys and Compounds*, v. 536S, p. S418-S423, 2012.

PRADO-FERNÁNDEZ, J.; RODRÍGUEZ-VÁZQUEZ, J.A.; TOJO, E.; ANDRADE, J.M. Quantitation of  $\kappa$ -,  $\iota$ - and  $\lambda$ -carrageenans by mid-infrared spectroscopy and PLS regression. *Analytica Chimica Acta*, Amsterdam, v. 480, p. 23-37, 2003.

YANG, B.; YU, G.; ZHAO, X.; JIAO, G.; REN, S.; CHAI, W. Mechanism of mild acid hydrolysis of galactan polysaccharides with highly ordered disaccharide repeats leading to a complete series of exclusively odd-numbered oligosaccharides. *FEBS Journal*, Cambridge, v. 276, p. 2125-2137, 2009.

## EFEITO DO PROCESSAMENTO E DAS CONDIÇÕES AMBIENTAIS NAS PROPRIEDADES MECÂNICAS DOS MATERIAIS BIODEGRADÁVEIS DE AMIDO DE AVEIA

\*Melicia Cintia Galdeano<sup>1</sup>, Allan Eduardo Wilhelm<sup>1</sup>, Maria Vitória Eiras Grossmann<sup>2</sup>, Suzana Mali<sup>2</sup>, Carlos Wanderlei Piler de Carvalho<sup>1</sup>, Mariane Maria de Souza<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Embrapa Agroindústria de Alimentos, EMBRAPA. <sup>2</sup> Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Agrárias, UEL. <sup>3</sup> Departamento de Alimentos, UFRRJ  
\*melicia.galdeano@embrapa.br

**Classificação:** Filmes, revestimentos comestíveis e embalagens funcionais para alimentos.

### Resumo

A característica hidrofílica dos biomateriais a base de amido resulta em alta instabilidade diante de diferentes condições ambientais. O amido de aveia, por possuir um conteúdo maior de lipídios, torna-se uma fonte interessante, uma vez que a hidrofobicidade aumentada pode atuar reduzindo sua capacidade de sorção de umidade. O objetivo do trabalho foi investigar as propriedades mecânicas de perfuração de filmes e laminados de amido de aveia, produzidos por *casting* e extrusão, respectivamente, plastificados com glicerol, sorbitol e ureia e armazenados em diferentes condições de umidade relativa. Mesmo com a presença do lipídio nativo, os materiais ainda mostraram instabilidade diante do aumento da umidade relativa, sendo observado um decréscimo na força e um aumento na deformação nos testes de perfuração.

**Palavras-chave:** *Extrusão; Casting; Plastificante; Perfuração.*

### EFFECT OF PROCESSING AND ENVIRONMENTAL CONDITIONS IN THE MECHANICAL PROPERTIES OF OAT STARCH BIODEGRADABLE MATERIALS

#### Abstract

The hydrophilic character of starch-based biomaterials generates high instability under different environmental conditions. Oat starch shows an interesting alternative for starch films because it contains higher lipid content than other common starches. This increased hydrophobicity can act reducing the moisture sorption capacity. The objective of this study was to investigate the puncture mechanical properties of oat starch films and sheets produced by casting and extrusion, respectively, plasticized with glycerol, sorbitol and urea and stored at different relative humidity. Even with the presence of native lipid, the materials still showed instability upon increasing the relative humidity for storage. Under higher humidity, a decrease in strength and an increase in deformation in puncture tests were observed.

**Keywords:** *Extrusion; Casting; Plasticizer; Puncture.*

#### Publicações relacionadas:

GALDEANO, M.C.; MALI, S.; GROSSMANN, M.V.E.; YAMASHITA, F.; GARCÍA, M.A. Effects of plasticizers on the properties of oat starch films. *Materials Science & Engineering. C, Biomimetic Materials, Sensors and Systems*, v. 29, p. 532-538, 2009.

GALDEANO, M.C.; GROSSMANN, M.V.E.; MALI, S.; BELLO-PEREZ, L.A.; GARCIA, M.A.; ZAMUDIO-FLORES, P.B. Effects of production process and plasticizers on stability of films and sheets of oat starch. *Materials Science & Engineering. C, Biomimetic Materials, Sensors and Systems*, v. 29, p. 492-498, 2009.

## 1 INTRODUÇÃO

Os materiais plásticos convencionais produzidos a partir de polímeros sintéticos são inertes ao ataque de microrganismos. Esta propriedade faz com que esses materiais apresentem longa vida útil mas, por outro lado, ocasiona sérios problemas ambientais após o seu descarte. Essa realidade vem estimulando as pesquisas para o desenvolvimento de embalagens biodegradáveis (MALI et al., 2010).

Entre os polímeros naturais, o amido tem sido bastante estudado. O amido apresenta comportamento termoplástico, mas, ao ser utilizado puro, forma filmes quebradiços e com baixa flexibilidade. Este problema pode ser resolvido pelo emprego de plastificantes (CHEN & LAI, 2008). O amido de

aveia é de particular interesse por possuir propriedades únicas como um teor lipídico até quatro vezes maior que outros amidos (GALDEANO et al., 2009). A presença deste material pode dificultar a sorção de umidade dos filmes e refletir em menor variação das propriedades mecânicas diante diferentes condições ambientais.

Dois processos tecnológicos são amplamente utilizados para produção de materiais biodegradáveis: um processo laboratorial úmido (*casting*), baseado na dispersão do amido em solução e, um processo a seco (extrusão), baseado nas propriedades termoplásticas do amido (SOUZA & ANDRADE, 2000). No processo de “*casting*” o polímero é dissolvido e aquecido e a solução resultante é transferida para um suporte, onde seca até total evaporação. Embora este processo apresente a vantagem de produzir filmes que podem ser submetidos a diversos testes, ele apresenta desvantagens em relação ao *scale up* industrial e ao alto custo de preparo das soluções (ZHAI et al., 2003).

O objetivo deste trabalho foi produzir filmes por *casting* e laminados por extrusão de amido de aveia e investigar os efeitos do processamento e das condições ambientais nas propriedades mecânicas dos biomateriais.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Extração do amido

A extração do amido de aveia foi realizada pela técnica proposta por Lim et al. (1992).

### 2.2 Produção dos filmes e laminados

Os filmes foram produzidos, segundo a técnica de *casting*, usando glicerol (20% p/p de amido), sorbitol (16% p/p de amido) e ureia (16% p/p de amido) como plastificantes. As dispersões de amido (2,7% sólidos) e o plastificante foram aquecidos até 80°C e mantidas por 10 minutos nesta temperatura, utilizando um viscoamílografo Brabender Pt 100 (Alemanha). As soluções filmogênicas foram espalhadas sobre a placa de acrílico e o material foi seco a 60 °C. A espessura dos filmes foi cerca de 100 µm. Os laminados foram produzidos através de duas passagens pelo extrusor. O amido e o plastificante (na mesma concentração usada para os filmes) foram condicionados a 20% de umidade e extrusados em equipamento monorosca (BEUTELSPACHER S.A., México) com canhão de 9 mm de diâmetro e matriz de 1 mm, L/D de 24,1, rotação do parafuso de 80 rpm e 4 zonas de temperaturas (50, 110, 110, 80 °C). Os peletes foram re-extrusados em extrusor monorosca (BEUTELSPACHER S.A.) com 30 mm de diâmetro, L/D 24,1 e matriz para filmes (200 mm × 1 mm). A temperatura de extrusão variou de acordo com o plastificante: glicerol (70, 125, 125, 125 °C), sorbitol (70, 110, 115, 110 °C) e ureia (80, 115, 115, 90 °C). A espessura dos laminados foi reduzida por uma calandra. Nos laminados com glicerol a espessura final foi 684 µm. Para os laminados com sorbitol e ureia, a espessura foi 1001 µm e 1216 µm, respectivamente. Esta diferença é inerente ao modo como os componentes são estruturados em cada matriz polimérica.

### 2.3 Caracterização dos materiais

#### 2.3.1 Testes mecânicos de perfuração

Foram determinadas a força (N) e o deslocamento (mm) na perfuração utilizando um TA-TX2i Stable Micro Systems (Inglaterra). As amostras, equilibradas nas URs 11, 57, 76 e 90% por 48 h a 25 °C, foram perfuradas por um probe cilíndrico de 5 mm de diâmetro a uma velocidade de 0,8 mm/s.

#### 2.3.2 Análise estatística

Realizou-se análise de variância (ANOVA) utilizando o programa STATISTICA 5.0 (Statsoft, Oklahoma). Diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ ) foram determinadas usando o teste de Tukey.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Força na perfuração

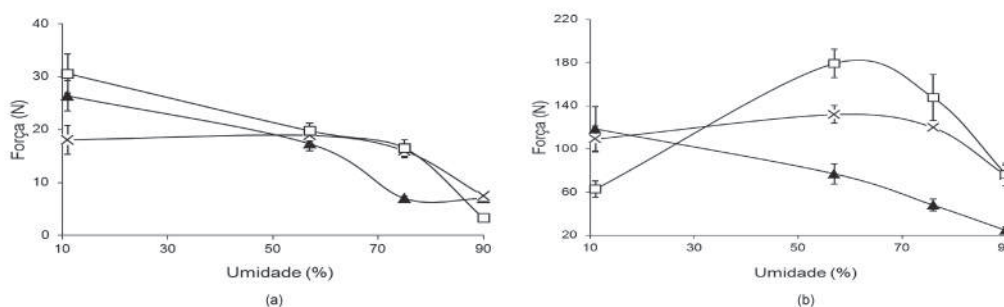
Os filmes e os laminados sofreram redução na força de perfuração com o aumento da UR, independente do tipo de plastificante utilizado (Figura 1). A presença de água ocasionou aumento da mobilidade das cadeias poliméricas, resultando em decréscimo das interações intermoleculares e redução na força de perfuração (FORSSEL et al., 2009). O grau do decréscimo na força de perfuração foi dependente do tipo de plastificante. Massa molar, concentração, hidrofobicidade, configuração e número total de grupamentos hidroxilas dos plastificantes são fatores que podem afetar as interações entre os plastificantes e os polímeros, resultando nestas diferenças (CUQ et al., 1997).

Em geral não houve diferença entre os filmes plastificados com glicerol e sorbitol. Este comportamento pode ser atribuído às similaridades estruturais dos reagentes. Sob alta UR (90%), o efeito plastificante da água neutralizou o efeito dos reagentes, igualando as propriedades dos filmes. Filmes com ureia, em baixa UR (11%), apresentaram alta resistência de perfuração (31N), o que pode ser devido à formação de interações mais estáveis entre amido-ureia (CHUY & BELL, 2006).

Os laminados com ureia apresentaram-se frágeis sob 11% de UR. A presença de ureia não hidratada, em condição de baixa UR, pode explicar este comportamento. De acordo com Ma et al. (2005), cerca de 0,25 g de ureia ligam-se a 1 g de amido e, a ureia excedente agindo como um sólido enfraquece a estrutura, produzindo materiais quebradiços. Com o aumento do teor de água ocorre a dissolução da ureia, impedindo este efeito.

Os laminados foram mais resistentes à perfuração que os filmes, o que pode estar relacionado às espessuras dos materiais e não somente ao tipo de processo utilizado.

A técnica de *casting* evidenciou uma tendência diferenciada da observada para a extrusão em relação ao efeito de cada plastificante, indicando que os processos induzem respostas distintas.

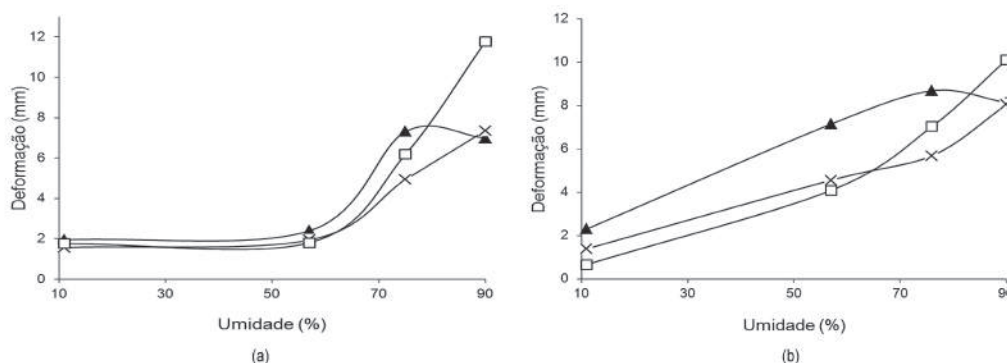


**Figura 1.** Efeito da umidade relativa e tipo de plastificante na força de perfuração em filmes (a) e laminados (b) de amido de aveia. ▲ glicerol, × sorbitol, □ ureia.

#### 3.2 Deslocamento na perfuração

A deformação aumentou com o aumento da UR (Figura 2) devido à diminuição das interações intermoleculares. Os filmes mostraram baixa deformação (< 1,9 mm) em UR menor que 57%. A 76% de UR, os valores de deformação dos filmes encontraram-se entre 4,9 e 7,3 mm. Filmes com glicerol apresentaram os maiores valores, seguidos pelos filmes com ureia (sob UR de 90% a deformação foi 11,7 mm). Os laminados com glicerol apresentaram maior deformação. Sob 90% de UR, os laminados com ureia foram os mais deformáveis (10,1 mm), sendo nesta condição, a presença da água foi decisiva, como já discutido antes.

É possível evidenciar diferença na deformação dos materiais entre os processos de *casting* e extrusão. No primeiro, ocorreu uma estabilidade até alcançar 57% de UR, seguido de um aumento acentuado e, no segundo caso, o aumento obedeceu, em geral, a um comportamento linear.



**Figura 2.** Efeito da umidade relativa e tipo de plastificante no deslocamento na perfuração em filmes (a) e laminados (b) de amido de aveia. ▲ glicerol, × sorbitol, □ ureia.

#### 4 CONCLUSÃO

A presença dos lipídios nativos não foi suficiente para evitar as alterações nas propriedades mecânicas frente às diferentes condições ambientais. O sorbitol foi o plastificante mais efetivo, pois produziu materiais com propriedades mecânicas similares às dos outros plastificantes, embora tenha sido usado em menor concentração molar. Os processos utilizados apresentam diferenças nos parâmetros de funcionamento, como temperatura, esfriamento do material, tipo de fluxo, entre outros, o que poderia explicar as diferenças encontradas.

#### AGRADECIMENTOS

Agradecemos à empresa SL Cereais e Alimentos pelo apoio na pesquisa.

#### REFERÊNCIAS

- CHUY, S.; BELL, L.N. Buffer pH and  $pK_a$  values as affected by added glycerol and sucrose. *Food Research International*, v.39, p.342-348, 2006.
- FORSSELL, P.M.; HULLEMAN, S.H.D.; MYLLARINEN, P.J.; MOATES, G.K.; PARKER, R. Ageing of rubbery thermoplastic barley and oat starches. *Carbohydrate Polymers*, v.39, p.43-51, 1999.
- CHEN, C.H.; LAI, L.S. Mechanical and water vapor barrier properties of tapioca starch/decolorized hsian-tsoa leaf gum films in the presence of plasticizer. *Food Hydrocolloids*, v.22, p.15841-1595, 2008.
- CUQ, B.; GONTARD, N.; CUQ, J.L.; GUILBERT, S. Selected functional properties of fish myofibrillar protein-based films as affected by hydrophilic plasticizers thickness. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.45, n.3, p.622-626, 1997.
- GALDEANO, M.C.; MALI, S.; GROSSMANN, M.V.E.; YAMASHITA, F.; GARCÍA, M.A. Effects of plasticizers on the properties of oat starch films. *Materials Science & Engineering*, v.29, p.532-538, 2009.
- LIM, W.J.; LIANG, Y.T.; SEIB, P.A.; RAO, C.S. Isolation of oat starch from oat flour. *Cereal Chemistry*, v.69, n.3, p.233-236, 1992.
- MA, X.F.; YU, J.G.; MA, Y.B. Urea and formamide as a mixed plasticizer for thermoplastic wheat flour. *Carbohydrate Polymers*, v.60, p.111-116, 2005.
- MALI, S.; GROSSMANN, M.V.E. ; YAMASHITA, F. Filmes de amido: produção, propriedades e potencial de utilização. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 31, p.137-156, 2010.

SOUZA, R.C.R.; ANDRADE, C.T. Investigação dos processos de gelatinização e extrusão de amido de milho. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v.10, n.1, p.24-30, 2000.

ZHAI, M.; YOSHII, F.; KUME, T. Radiation modification of starch-based plastic sheets. *Carbohydrate Polymers*, v.52, p.311-317, 2003.

---

## EFEITO DO PROCESSAMENTO E DAS CONDIÇÕES AMBIENTAIS NA SORÇÃO DE UMIDADE DOS MATERIAIS BIODEGRADÁVEIS DE AMIDO DE AVEIA

\*Melicia Cintia Galdeano<sup>1</sup>, Allan Eduardo Wilhelm<sup>1</sup>, Maria Vitória Eiras Grossmann<sup>2</sup>, Suzana Mali<sup>2</sup>, Carlos Wanderlei Piler de Carvalho<sup>1</sup>, Mariane Maria de Souza<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Agroindústria de Alimentos, EMBRAPA. <sup>2</sup>Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Agrárias, UEL. <sup>3</sup>Departamento de Alimentos, UFRRJ  
\*melicia.galdeano@embrapa.br

**Classificação:** Filmes, revestimentos comestíveis e embalagens funcionais para alimentos.

### Resumo

A principal desvantagem de materiais biodegradáveis a base de amido é sua característica hidrofílica, o qual resulta em baixa estabilidade sob diferentes condições ambientais. O maior teor de lipídio do amido de aveia poderia conferir característica mais hidrofóbica aos materiais, resultando em redução da capacidade de sorção de umidade. O objetivo deste trabalho foi estudar o comportamento de filmes e laminados de amido de aveia, produzidos por *casting* e extrusão, respectivamente, e plastificados com glicerol, sorbitol e ureia sob diferentes umidades relativas. Mesmo na presença de lipídio nativo, os materiais ainda mostraram instabilidade nas diferentes umidades de armazenagem. Os materiais plastificados com glicerol mostraram maior capacidade de sorção de água. Quando os dois processos (*casting* e extrusão) foram comparados foi observada tendência similar sobre o efeito final.

**Palavras-chave:** *Extrusão; Casting; Plastificante.*

### EFFECT OF PROCESSING AND ENVIRONMENTAL CONDITIONS IN THE MOISTURE SORPTION OF OAT STARCH BIODEGRADABLE MATERIALS

#### Abstract

The main disadvantage of biodegradable starch-based materials is their hydrophilic character, which leads to low stability when these materials are submitted to different environmental conditions. The higher lipid content of oat starch could impart more hydrophobic characteristics to its materials, thereby could act reducing the moisture sorption capacity. The objective of this study was to investigate the behavior of oat starch films and sheets produced by casting and extrusion, respectively, plasticized with glycerol, sorbitol and urea and stored at different relative humidity. Even with the presence of native lipid, the materials still showed instability upon increasing the relative humidity for storage. Materials plasticized with glycerol showed higher water sorption capacity. When the two processes (casting and extrusion) were compared similar trends were observed on the final effects.

**Keywords:** *Extrusion; Casting; Plasticizer.*

#### Publicações relacionadas:

GALDEANO, M.C.; GROSSMANN, M.V.E.; MALI, S.; BELLO-PEREZ, L.A.; GARCIA, M.A.; ZAMUDIO-FLORES, P.B. Effects of production process and plasticizers on stability of films and sheets of oat starch. *Materials Science & Engineering*, v.29, p.492-498, 2009.

## 1 INTRODUÇÃO

Apesar de fazerem parte de nosso dia-a-dia, os plásticos são parte significativa do volume de lixo presente em aterros. Esta realidade está estimulando o desenvolvimento de materiais alternativos para minimizar o impacto ambiental causado pelo seu uso excessivo (MALI et al. 2010).

Os estudos têm focado no desenvolvimento de embalagens biodegradáveis a partir de fontes renováveis e o amido é um dos mais promissores candidatos devido a sua alta disponibilidade e baixo custo. O principal desafio na produção de materiais à base de amido é reduzir seu caráter hidrofílico e melhorar a estabilidade diante diferentes condições ambientais. Portanto, o amido de aveia pode apresentar vantagem em comparação a outros amidos uma vez que contém cerca de 1 a 3% de lipídio (GALDEANO et al. 2009). Este material hidrofóbico pode agir como uma barreira ao vapor de água, reduzindo a sorção de umidade e resultando em materiais mais estáveis.

Além da natureza do amido, o tipo de processamento e o plastificante determinam as propriedades dos materiais. Dois processos tecnológicos são amplamente utilizados para produção de materiais biodegradáveis: um processo laboratorial úmido (*casting*), baseado na dispersão do amido em solução e, um processo a seco (extrusão), baseado nas propriedades termoplásticas do amido (SOUZA & ANDRADE, 2000). O objetivo do trabalho foi produzir filmes (*casting*) e laminados (extrusão) de amido de aveia e investigar os efeitos do processamento e das condições ambientais nas propriedades de sorção de umidade.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Extração do amido

A extração do amido de aveia foi realizada pela técnica proposta por Lim et al. (1992).

### 2.2 Produção dos filmes e laminados

Os filmes foram produzidos, por *casting*, usando glicerol (20%), sorbitol (16%) e ureia (16%) como plastificantes. As dispersões de amido (2,7% sólidos) e o plastificante foram aquecidos até 80°C utilizando um viscoamílografo Brabender Pt 100 (Alemanha). As soluções foram espalhadas sobre uma placa de acrílico e o material foi seco a 60 °C. A espessura dos filmes foi cerca de 100 µm. Os laminados foram produzidos por extrusão. O amido e o plastificante (na mesma concentração usada para os filmes) foram condicionados a 20% de umidade e extrusados em equipamento monorosca (Beutelspacher S.A., México) com canhão de 9 mm de diâmetro e matriz de 1 mm, L/D de 24,1, 80 rpm e 4 zonas de temperaturas (50, 110, 110, 80 °C). Os peletes foram reextrusados em extrusor monorosca (Beutelspacher S.A.) com 30 mm de diâmetro, L/D 24,1 e matriz para filmes (200 mm × 1 mm). A temperatura de extrusão variou de acordo com o plastificante: glicerol (70, 125, 125, 125 °C), sorbitol (70, 110, 115, 110 °C) e ureia (80, 115, 115, 90 °C). A espessura dos laminados foi reduzida por uma calandra. Nos laminados com glicerol a espessura final foi 684 µm. Para os laminados com sorbitol e ureia, a espessura foi 1001 µm e 1216 µm, respectivamente. Esta diferença é inerente ao modo como os componentes são estruturados em cada matriz polimérica.

### 2.3 Caracterização dos materiais

#### 2.3.1 Cinética de sorção

Os materiais foram deixados por 20 dias sob UR (umidade relativa) de 0% e depois condicionados nas URs de 11, 32, 57, 76 e 90%. Os pesos foram anotados a cada hora e a umidade foi determinada em estufa a 105 °C. Os dados de sorção de umidade foram ajustados de acordo com o modelo de Peleg (PELEG, 1998).

#### 2.3.2 Análise estatística

Realizou-se análise de variância (ANOVA) utilizando o programa STATISTICA 5.0 (Statsoft, Oklahoma). Diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ ) foram determinadas usando o teste de Tukey.

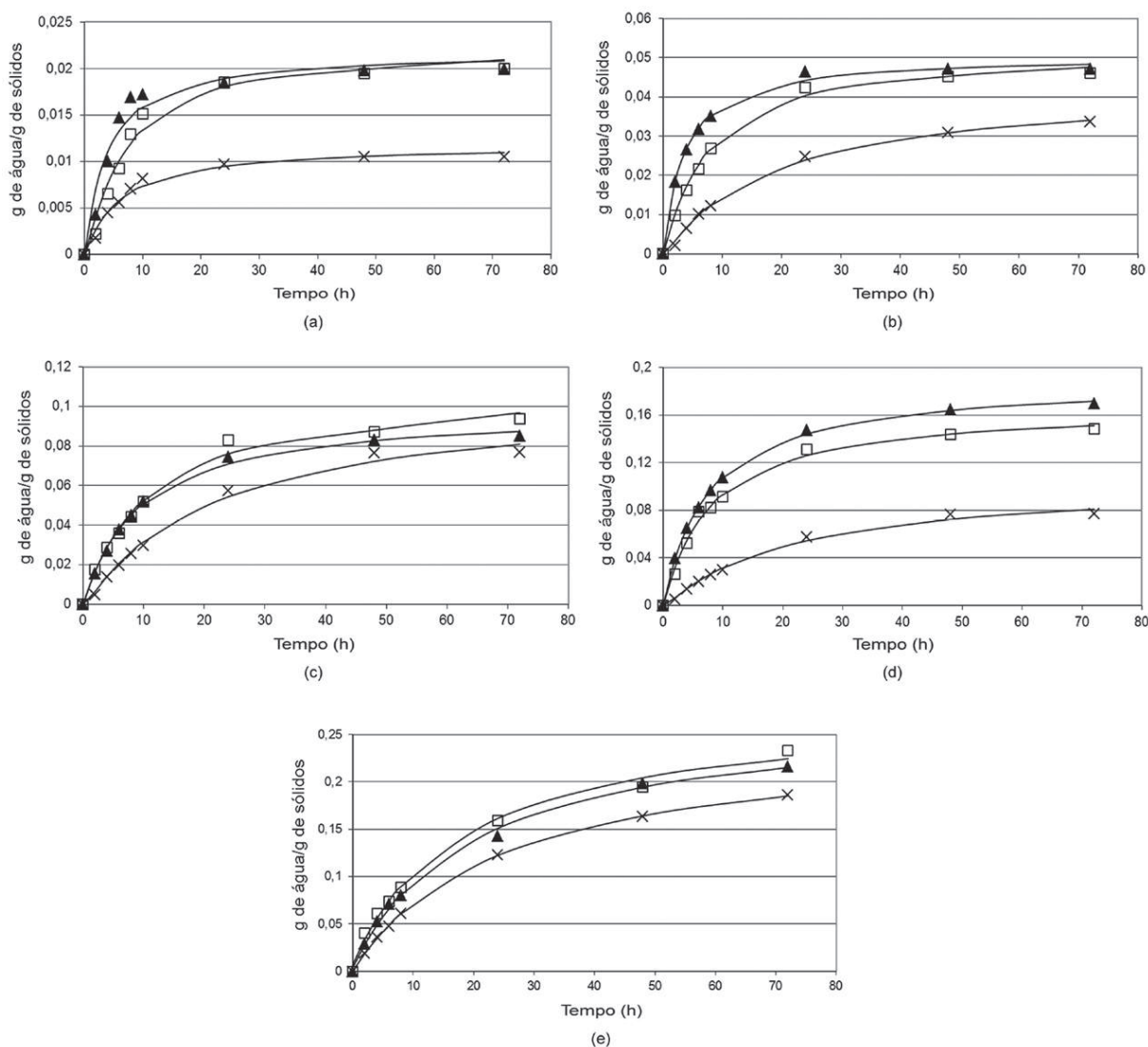


### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

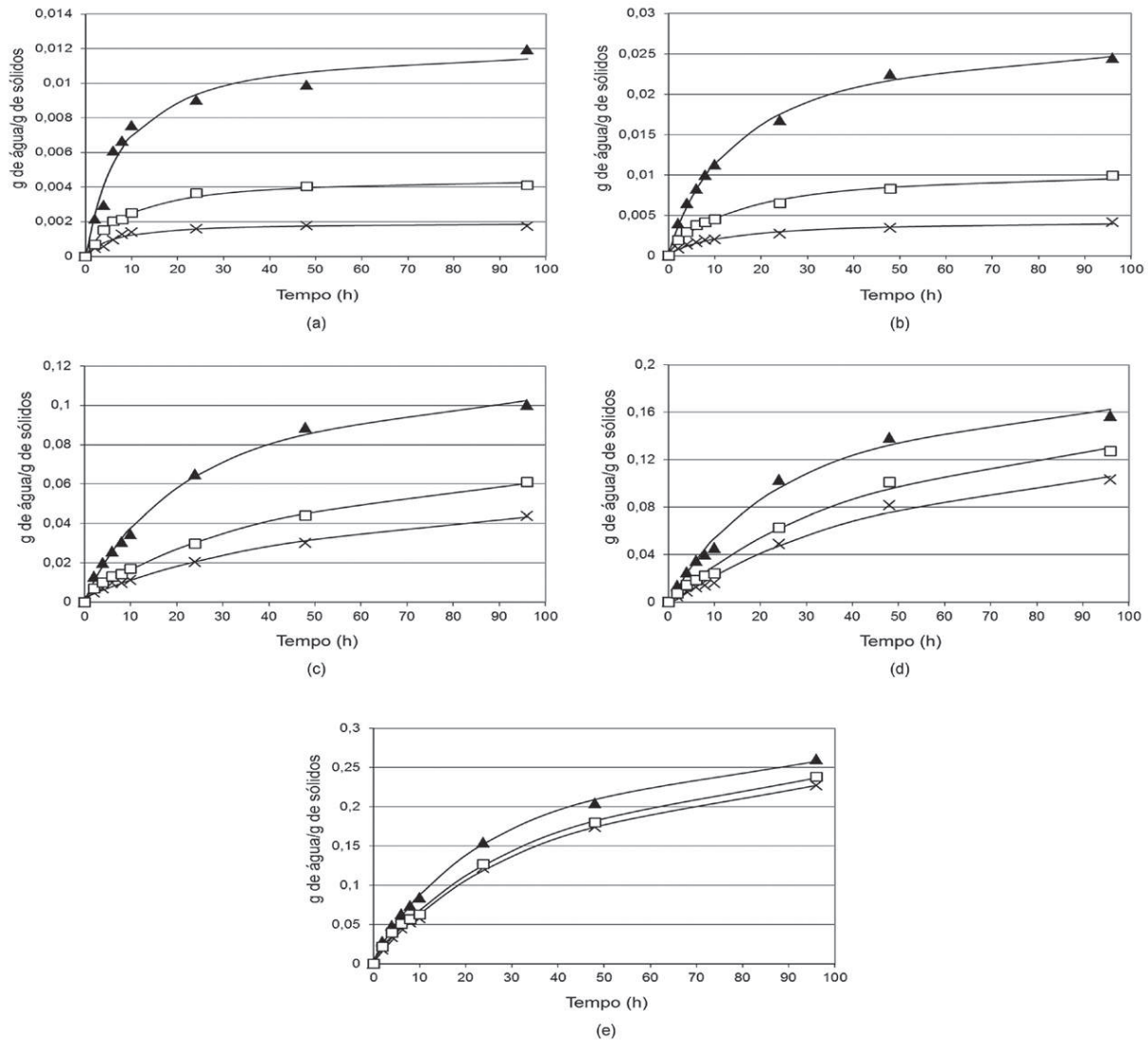
#### 3.1 Cinética de sorção de água

É possível diferenciar duas zonas evidenciando as diferentes cinéticas de sorção; uma sorção de umidade mais rápida nos estágios iniciais e uma menor quantidade de água sorvida durante o prolongamento do tempo (Figuras 1 e 2).

Para os filmes armazenados até 76% de UR, o teor de umidade alcançou um platô, indicando que eles se equilibraram com a UR de armazenagem (Figura 1). Este comportamento não foi verificado para os filmes armazenados a 90% de UR e para os laminados armazenados acima de 57% de UR. O tempo de equilíbrio da umidade e o teor de água adsorvida foram influenciados pela UR de armazenagem e o tipo de plastificante.



**Figura 1.** Curvas de sorção de umidade dos filmes de amido de aveia em diferentes URs: 11% (a), 32% (b), 57% (c), 76% (d) e 90% (e). ▲ glicerol, × sorbitol, □ ureia. As linhas são do modelo Peleg.



**Figura 2.** Curvas de sorção de umidade dos laminados de amido de aveia em diferentes URs: 11% (a), 32% (b), 57% (c), 76% (d) e 90% (e). ▲ glicerol, × sorbitol, □ ureia. As linhas são do modelo Peleg.

Os dados ajustados ao modelo de Peleg (Quadro 1) mostraram que os filmes plastificados com glicerol apresentaram maior velocidade de sorção (menor  $k_1$ ) em menores URs (11 e 32%), o que pode estar relacionada ao seu menor tamanho facilitando sua incorporação na matriz polimérica. Em URs maiores que 57%, os filmes com glicerol continuaram apresentando valores baixos de  $k_1$ . Em toda faixa de UR estudada (11% a 90%), os filmes com sorbitol foram os que adsorveram mais lentamente (maior  $k_1$ ). Este comportamento pode ser explicado pelo provável efeito antiplastificante (forte interação com amido) deste reagente. Para os laminados, em todas as URs, os materiais plastificados com glicerol apresentaram menores  $k_1$  e  $k_2$ , seguidos pelos laminados plastificados com ureia e os com sorbitol. Somente a 90% de UR, os materiais com ureia mostraram maior capacidade de sorção (menor  $k_2$ ) que os laminados com glicerol. As explicações para estas diferenças podem estar relacionadas ao tamanho da molécula do plastificante, presença de grupamentos aminos da ureia e/ou efeito antiplastificante do reagente. Os filmes apresentaram menor capacidade de sorção de água que os laminados.

**Quadro 1.** Parâmetros do modelo de Peleg<sup>a</sup> dos filmes e laminados de amido de aveia.

Unidade Relativa (%)	FILME			LAMINADO		
	Plastificante			Plastificante		
	Glicerol	Sorbitol	Ureia	Glicerol	Sorbitol	Ureia
<b>11</b>						
$k_1$	158,80	472,05	290,95	586,38	2771,53	1697,89
$k_2$	43,69	81,13	43,89	79,56	497,39	211,62
$R^2$	0,97	0,99	0,98	0,98	0,98	0,99
<b>32</b>						
$k_1$	69,11	417,39	145,72	550,79	2892,82	1378,40
$k_2$	19,68	22,74	19,71	35,41	235,75	94,86
$R^2$	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99
<b>57</b>						
$k_1$	91,82	200,22	99,89	193,55	969,24	603,16
$k_2$	9,98	9,17	8,89	7,83	14,33	11,02
$R^2$	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99
<b>76</b>						
$k_1$	40,24	45,42	45,33	130,37	340,99	260,73
$k_2$	5,26	5,85	6,32	4,70	5,62	4,86
$R^2$	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99
<b>90</b>						
$k_1$	74,30	99,94	67,71	90,36	132,09	128,17
$k_2$	3,70	4,02	3,66	3,02	3,07	2,98
$R^2$	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99

$a M(t) = m_0 + (t/(k_1 + k_2t))$ , onde  $M_t$  é a unidade após o tempo,  $m_0$  é o conteúdo de unidade inicial,  $k_1$  é a constante de velocidade de Peleg ( $h / (g \text{ água} / g \text{ sólidos})$ ) e  $k_2$  é a constante de capacidade de Peleg ( $g \text{ água} / g \text{ sólidos}$ ).

#### 4 CONCLUSÃO

A presença dos lipídios nativos não foi suficiente para evitar as alterações na sorção de água frente às diferentes condições ambientais. Os biomateriais plastificados com glicerol apresentaram maior velocidade e capacidade de sorção de água. O processo de extrusão resultou na formação de estruturas mais abertas ou fragmentadas, o que é confirmado pela maior capacidade de sorção de água.

#### REFERÊNCIAS

- GALDEANO, M.C.; MALI, S.; GROSSMANN, M.V.E.; GARCÍA, M.A. Effects of plasticizers on the properties of oat starch films. *Materials Science & Engineering*, v.29, p.532-538, 2009.
- LIM, W.J.; LIANG, Y.T.; SEIB, P.A.; RAO, C.S. Isolation of oat starch from oat flour. *Cereal Chemistry*, v.69, n.3, p.233-236, 1992.
- MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E. ; YAMASHITA, F. Filmes de amido: produção, propriedades e potencial de utilização. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 31, p. 137-156, 2010.
- PELEG, M. An empirical model for the description of moisture sorption curves. *Journal of Food Science*, v.53, p.1219-1216, 1988.
- SOUZA, R.C.R.; ANDRADE, C.T. Investigação dos processos de gelatinização e extrusão de amido de milho. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v.10, n.1, p.24-30, 2000.

## ANÁLISES MICROSCÓPICAS DE BLENDA DE QUITOSANA-EXTRATO ETANÓLICO DE CASCA DE PEQUI

\*Caroline A. Breda<sup>1</sup>, Daniella L. Morgado<sup>2</sup>, Marta C. T. Duarte<sup>3</sup>, Odilio B. G. Assis<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Depto de Ciência de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP. <sup>2</sup> Embrapa Instrumentação. <sup>3</sup> Divisão de Microbiologia, Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas, UNICAMP.

\*carol\_breda@yahoo.com.br

**Classificação:** Filmes, revestimentos comestíveis e embalagens funcionais para alimentos.

### Resumo

Filmes obtidos por *casting* a partir de formulação de quitosana e extrato etanólico de casca de pequi, na proporção 50:50 (v/v), foram caracterizados por microscopia de força atômica (AFM) e microscopia eletrônica de varredura (MEV). As análises por AFM revelaram que a topografia da blenda quitosana-extrato apresenta uma maior rugosidade na superfície, possivelmente devido à diferença de evaporação do solvente em cada componente. Análises por MEV contudo, mostram uma estrutura relativamente homogênea, com ausência de formação aparente de fases, embora com algumas trincas principalmente para o filme misto sugerindo a possível necessidade de plastificante para a melhoria das propriedades mecânicas.

**Palavras-chave:** Blendas poliméricas; *Caryocar brasiliense*; Filmes comestíveis; Quitosana.

### AFM AND SEM ANALYSES OF CHITOSAN-ETHANOLIC EXTRACT OF PEQUI PEEL BLEND

#### Abstract

Films processed by casting from a mixture of chitosan and ethanolic extract of pequi peel, in the proportion of 50:50, were characterized by atomic force microscopy (AFM) and by scanning electron microscopy (SEM). The AFM analyses reveal a more irregular topography in the blended chitosan-extract film with elevated roughness values, what is supposed to occur due to the different solvent evaporation from each component. SEM observations however, showed a relatively regular structure in both films, with apparent absence of phase formation, though some cracks are visualized, mainly for the blended film suggesting the necessity of plasticizer addition in order to improve the mechanical properties.

**Keywords:** Polymeric blends; *Caryocar brasiliense*; Edible films, Chitosan

## 1 INTRODUÇÃO

A produção e caracterização de filmes comestíveis a partir de biopolímeros é uma área em franca expansão cujos interesses estão voltados na agregação de características como biodegradabilidade, baixo custo e potencial emprego na conservação e indústria de alimentos (GIOSAFATTO et al., 2014). Além de proporcionarem efeito de barreira, esses filmes podem atuar como sistemas de transporte de aditivos sintéticos ou naturais, como os extratos vegetais (SILVA-WEISS et al., 2013).

Recentemente, o uso de extratos vegetais como agentes conservantes vem ganhando atenção devido às suas propriedades antibacteriana, antifúngica e antioxidante (DE RODRÍGUEZ et al., 2011), no entanto, ainda são escassos os trabalhos que apliquem e caracterizem os conservantes extraídos de espécies nativas do cerrado brasileiro. Dentre essas espécies, o pequi (*C. brasiliense*) apresenta grande potencial comercial. Seu fruto já é plenamente empregado na alimentação e a extração de seus óleos tem sido utilizada na elaboração de cosméticos (AMARAL et al., 2014), contudo, as suas cascas, cujo rendimento corresponde a 80% do peso total, usualmente são descartadas após o processamento.

Assim, o objetivo do presente trabalho foi o de elaborar filme de quitosana acrescido de extrato etanólico da casca do pequi e, nesta etapa, caracterizá-lo estruturalmente por microscopia de força atômica (AFM) e microscopia eletrônica de varredura (MEV).

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Obtenção do extrato etanólico

O extrato foi obtido a partir da mistura de 10 g das cascas de pequi secas e reduzidas em pó, com 500 mL de etanol absoluto, seguido de agitação a 200 rpm em agitador tipo mesa rotatória a 25 °C durante 3 horas. Decorrido este período, o extrato foi filtrado e o resíduo resultante reextraído como anteriormente. Por fim, o material resultante da segunda extração foi lavado com 250 mL de etanol e os filtrados combinados e evaporados a vácuo a 30 °C, até total volatilização do solvente, levando à obtenção do extrato seco.

## 2.2 Preparo dos géis e filmes

As soluções dos filmes comestíveis foram preparadas a partir da dissolução de quitosana de média massa molar (Sigma) na concentração previamente estabelecida de 4 g/L em ácido acético a 1% (v/v), seguidos de agitação por um período de 18 h a 25 °C. A formulação do filme acrescido de extrato foi produzida a partir da mistura do gel com extrato da casca do pequi (2 mg/mL) previamente solubilizado em água destilada e homogeneizado em ultrassom por 3 minutos. Após a adição do extrato, a mistura foi homogeneizada por 30 minutos em agitador magnético.

Os filmes foram processados pela técnica de *casting*, na qual 20 mL de cada solução foram dispostos em placas de Petri de polipropileno com 5,5 cm de diâmetro e submetidos à secagem espontânea na temperatura ambiente por cerca de 10 dias e posteriormente destacados manualmente. Os reagentes empregados neste trabalho foram adquiridos da Synth.

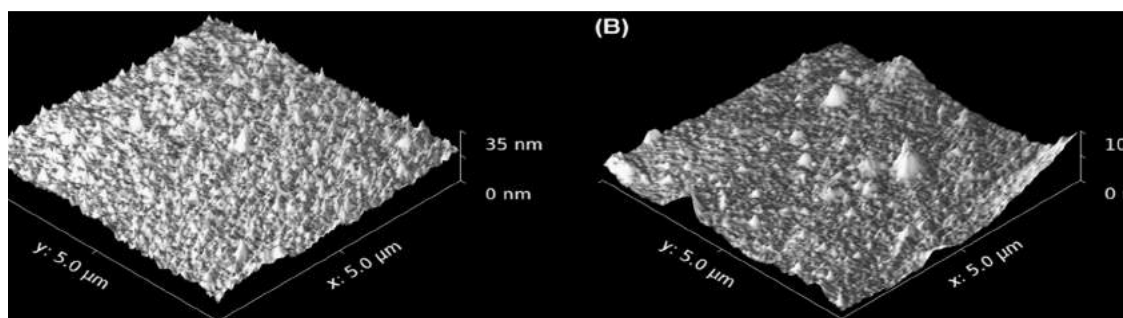
## 2.3 Análises das superfícies por AFM e MEV

As avaliações morfológicas foram realizadas diretamente nos filmes utilizando um AFM Veeco, Dimension V, em áreas aleatórias de 5,0 µm x 5,0 µm em modo intermitente. Utilizou-se o programa Gwyddion v. 2.36 no processamento e análise das imagens. Para o MEV as amostras foram metalizadas com ouro e observadas em microscópio Jeol JSM-6510LV.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As imagens topográficas geradas por AFM dos filmes resultantes estão apresentadas na Figura 1 (A e B). Pode-se observar que o filme contendo apenas quitosana (A) apresenta uma superfície com aspecto rugoso, porém com irregularidades homogêneas e variações de altura não muito acentuadas (pico máximo a 35 nm). A análise da rugosidade média quadrática da área varrida resulta em um valor de RMS = 2,36 nm. Para a blenda (quitosana-extrato) análise em área similar apresenta uma menor homogeneidade com flutuações de altura até 106 nm e maior rugosidade média quadrática RMS = 8,90 nm, ou seja, aproximadamente 4 vezes superior à medida realizada para o filme de quitosana pura.

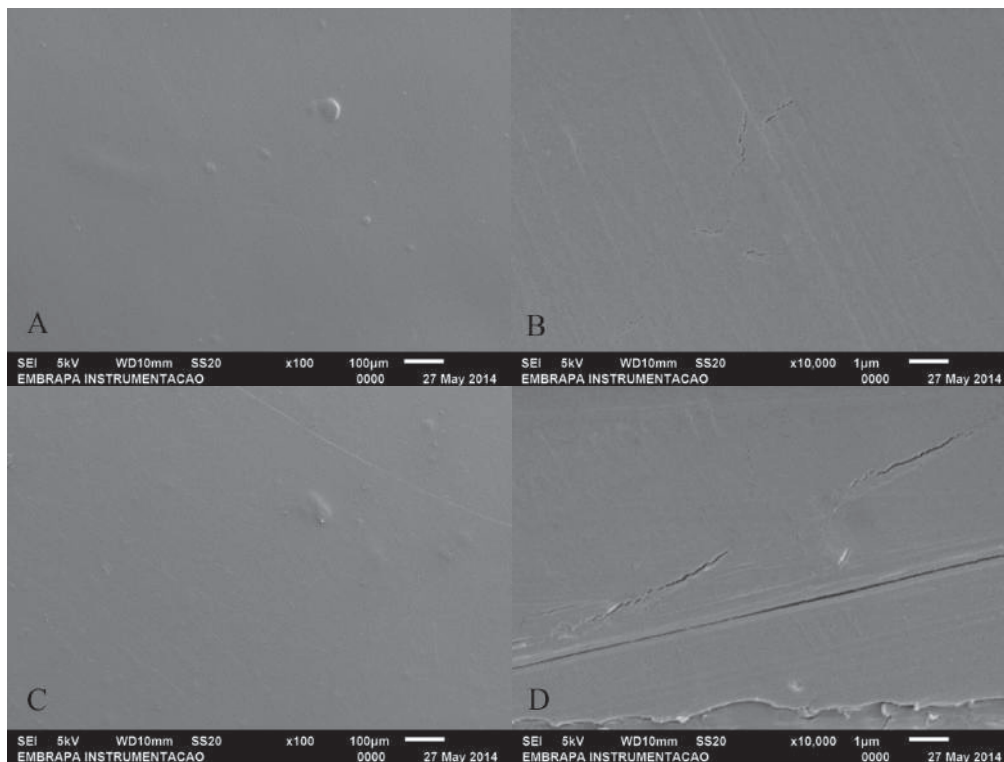
As fotomicrografias obtidas por MEV, dispostas na Figura 2, apresentam a aparência geral de um filme de quitosana e da blenda em duas ampliações distintas. Observa-se que ambos os filmes em baixa ampliação (A e C), apresentam superfícies bastante homogêneas com algumas pequenas irregularidades, provavelmente decorrentes do contato e cura dentro do molde ou da formação de bolhas durante a evaporação do solvente.



**Figura 1.** Imagens topográficas por AFM típicas obtidas nos filmes de quitosana (A) e blenda quitosana-extrato (B) (área de 5 x 5 µm).

Para um aumento maior (B e D) já se torna possível observar algumas trincas na matriz, mais intensas na formulação mista, o que pode indicar a necessidade futura da adição de plastificante para a formação de um filme com melhores propriedades mecânicas.

De um modo geral, embora as análises por microscopia atômica mostrem que as superfícies variam com incorporação do extrato etanólico, não ficam evidenciadas a formação ou separação de fases quando observadas por microscopia eletrônica. Esses resultados estão em concordância com o trabalho de Gniewosz et al. (2014), o qual mostra que os extratos vegetais são compatíveis com matrizes à base de hidrocolóides.



**Figura 2.** Fotomicrografias MEV das superfícies de filmes de quitosana (A e B) e da blenda com extrato da casca de pequi (C e D), em ampliações distintas (100 e 10.000x).

#### 4 CONCLUSÃO

Filmes processados a partir de misturas de quitosana e extrato etanólico de casca de pequi apresentam, segundo análises microscópicas, uma estrutura regular com algumas diferenças com respeito à topografia das superfícies. Os filmes combinados resultam em uma superfície mais rugosa e uma maior densidade de trincas, sugerindo uma provável necessidade de adição de plastificantes para a melhoria das propriedades mecânicas. De uma forma geral não foram detectadas formação ou separação de fases entre os compostos. A pesquisa encontra-se em estágio inicial e demais análises estão em fase de realizações para uma plena caracterização dessas blendas e definições de potenciais aplicações.

#### AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pela concessão de bolsa à primeira autora (Processo nº 2011/19057-7) e à EMBRAPA (Rede AgroNano).

#### REFERÊNCIAS

AMARAL, L. F. B.; MORIEL, P.; FOGGIO, M. A.; MAZZOLA, P. G. *Caryocar brasiliense* supercritical extract possesses antimicrobial and antioxidante properties useful for personal care products. *BMC Complementary & Alternative Medicine*, v. 14, n. 73, 2014.

DE RODRÍGUEZ, D. J.; GARCIA, R. R.; CASTILLO, F. D. H.; GONZALEZ, C. N. A.; GALINDO, A. S.; QUINTANILLA, J. A. V.; ZUCCOLOTTO, L. E. M. *In vitro* antifungal activity of extracts of Mexican Chihuahuan Desert plants against postharvest fruit fungi. *Industrial Crops and Products*, v. 34, p. 960-966, 2011.

GIOSAFATTO, C. V. L.; PIERRO, P. D.; GUNNING, P.; MACKIE, A.; PORTA, R. MARINIELLO, L. Characterization of *Citrus* pectin edible films containing transglutaminase-modified phaseolin. *Carbohydrate Polymers*, v. 106, p. 200-208, 2014.

GNIEWOSZ, M.; SYNOWIEC, A.; KRAŚNIEWSKA, K. PRZYBYŁ, J. L.; BĄCZEK, K.; WĘGLARZ, Z. The antimicrobial activity of pullulan film incorporated with meadowweet flower extracts (*Filipendulae ulmariae flos*) on postharvest quality of apples. Food Control, v. 37, p. 351-361, 2014.

LOPES, P. S. N.; PEREIRA, E. B. C.; PEREIRA, A. V.; MARTINS, E. R.; FERNANDES, R. C. Pequi. In: VIEIRA, R. F.; AGOSTINI-COSTA, T. S.; SANO, S. M.; FERREIRA, F. R. (Eds.), Frutas nativas da região Centro-Oeste do Brasil. Embrapa, Brasília, 2010. P. 277-312.

SILVA-WEISS, A.; IHL, M.; SOBRAL, P. J. A.; GOMEZ-GUILLEN, M. C.; BIFANI, V. Natural additives in bioactive edible films and coatings: functionality and applications in foods. Food Engineering Reviews, v. 5, p. 200-216, 2013.

---

## PROPRIEDADES DE BARREIRA DE NANOCOMPÓSITOS PREPARADOS COM POLPA DE GOIABA

\*Marcos Vinicius Lorevice<sup>1,4</sup>, Marcia Regina de Moura<sup>2</sup>, Caio Gomide Otoni<sup>3,4</sup>, Luiz Henrique Capparelli Mattoso<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Química, UFSCar, São Carlos, SP. <sup>2</sup>Departamento de Física e Química, FEIS, UNESP, Ilha Solteira, SP. <sup>3</sup>Departamento de Engenharia de Materiais, UFSCar, São Carlos, SP. <sup>4</sup>LNNA, Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP.  
\*marcos.lorevice@gmail.com

**Classificação:** Filmes, revestimentos comestíveis e embalagens funcionais para alimentos.

### Resumo

Uma alternativa para driblar o alto descarte de embalagens a partir de polímeros derivados do petróleo é a produção de embalagens, filmes de revestimento para alimentos, a partir de polímeros biodegradáveis e de fontes renováveis. Devido às baixas propriedades físicas desses polímeros, nanoestruturas vêm sendo adicionadas à matriz, de forma a incrementar tais propriedades. O trabalho teve como objetivo produzir filmes de hidroxipropil metilcelulose (HPMC) com polpa de goiaba (PG) e estudar o efeito da adição de nanopartículas de quitosana (NPQS) na permeabilidade ao vapor de água (PVA) de tais filmes. As NPQS foram sintetizadas com dois tamanhos diferentes, ambos inferiores à 400nm. Os filmes foram produzidos por "casting". Para todos os filmes foram feitas medidas de espessura e PVA. Os filmes de HPMC/PG com as NPQS de menor tamanho apresentaram menor PVA devido a maior homogeneidade na dispersão das NPQS na matriz de HPMC/PG. Tais resultados mostram que os nanocompósitos HPMC/PG/NPQS podem ser futuramente aplicados em embalagens para alimentos.

**Palavras-chave:** Filmes Comestíveis; HPMC; Quitosana; Nanopartículas; Polpa de Goiaba.

### BARRIER PROPERTIES OF HYDROXYPROPYL METHYLCELLULOSE EDIBLE FILMS WITH GUAVA PUREE AND CHITOSAN NANOPARTICLES.

#### Abstract

A novel of preventing the high impact of petroleum-based packaging discard is the production of coatings and films from biodegradable polymers and renewable sources. However, due to the low physical properties of such materials, nanostructures have been added to polymer matrices in order to improve these properties. The goal of this work was to produce edible films from hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) and guava puree (PG) as well as to study the effect of the addition of chitosan nanoparticles (NPQS) in their water vapor permeability (PVA). The NPQS was synthesized in two different sizes, both of them below 400 nm. The films were obtained through casting and were analyzed as to thickness and PVA. The films having HPMC/PG and NPQS of the smallest size showed the best improvement in the barrier properties, demonstrating that the composites HPMC/PG/NPQS can be applied in the production of food packaging with desirable physical properties.

**Keywords:** Edible Films; HPMC; Chitosan; Nanoparticles; Guava puree.

## 1 INTRODUÇÃO

A produção de embalagens a partir de derivados de petróleo, cujo descarte é indiscriminado e a degradação ainda é mínima, tem impulsionado pesquisas na produção de embalagens a partir de materiais biodegradáveis e de fontes renováveis.

O hidroxipropil metilcelulose (HPMC) e a quitosana (QS), ambos polissacarídeos, vêm sendo reportados na literatura como uma alternativa na fabricação de embalagens. Entretanto, as baixas propriedades físicas (mecânicas, térmicas e de barreira) dessas novas embalagens vem sendo reforçadas com a adição de nanoestruturas, como nanopartículas de quitosana (NPQS), cujos trabalhos de MARTELLI et al. (2012); LOREVICE et al. (2012) e LOREVICE et al. (2014) demonstraram incremento em tais propriedades físicas com a adição de NPQS. Além de adicionar propriedades nutritivas aos filmes com adição de polpas de banana, goiaba e mamão, respectivamente.

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi produzir filmes de HPMC e polpa de goiaba (PG) adicionando NPQS para melhorias nas propriedades de barreira ao vapor de água.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

As NPs de QS foram sintetizadas pelo método de gelatinização ionotrópica com QS e tripolifosfato de sódio (TPP), segundo método reportado por LOREVICE et al (2014). Foram feitas duas síntese de NPs, tamanhos diferentes a partir de quantidades diferentes de QS. O tamanho das NPs foi analisado no Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments Inc., Irvine, Calif., U.S.A.) O filme controle de HPMC foi preparado utilizando o método “casting” a partir de uma solução de razão 2/98 de HPMC/água, adicionando ainda 2% m/V de polpa de goiaba (PG) obtida pela De Marchi. Filmes constituídos somente de polpa não apresentaram propriedades satisfatórias de modo que o HPMC foi adicionado ao filme controle. Valores de permeabilidade ao vapor de água (PVA) foram determinados a partir do método modificado ASTM E96-92, utilizado para determinar a umidade relativa (RH) do filme, descrito na literatura por MCHUGH et al (1993).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As NPQS foram sintetizadas com sucesso, obtendo dois tamanhos distintos. A partir da Tabela 1, constata-se que a concentração de QS interfere satisfatoriamente no tamanho médio das NPs, uma vez que, o aumento esse reportado por MOURA et al. (2009) e LOREVICE et al. (2014), cuja maior concentração de QS favorece a formação de partículas maiores. O potencial zeta positivo se deve aos grupos  $\text{NH}_3^+$  provenientes da QS. Os valores mostraram-se satisfatórios, uma vez que valores acima de 20mV demonstram estabilidade da solução coloidal das NPQS.

Tabela 1. Caracterização das NP de QS.

Concentração QS	Tamanho médio e Potencial Zeta das NPs		
	Nanopartículas	Tamanho Médio (nm)	Potencial Zeta (mV)
0,85mg/mL	NPQS1	250 ± 9	60,3 ± 0,7
1,25mg/mL	NPQS2	351 ± 20	62,0 ± 0,5

Para diferenciar as sínteses, utilizou-se a nomenclatura NPQS e os números 1 e 2.

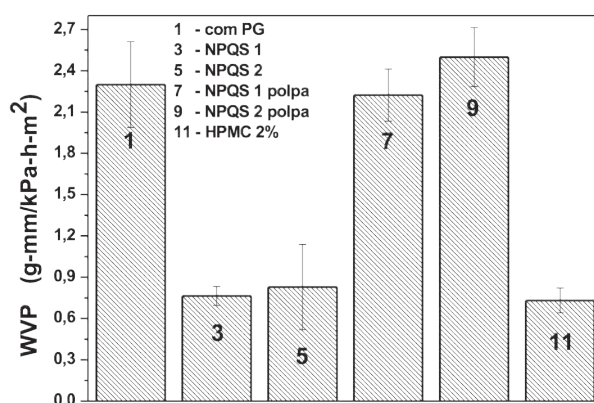
Os filmes de HPMC com PG foram obtidos com sucesso e apresentaram propriedades satisfatórias: manuseabilidade, homogeneidade e continuidade, características estas, encontradas nos filmes de HPMC/PG e nos filmes HPMC/PG/NPQS. A espessura dos filmes com e sem NPQS não apresentou variação significativa:  $69,0 \pm 5,0 \mu\text{m}$  (filmes HPMC/PG) e  $55,5 \pm 5,5 \mu\text{m}$  (filmes HPMC/PG/NPQS).

A Figura 1 mostra os resultados de PVA de todas as amostras feitas. A primeira constatação é o aumento da permeabilidade com a adição de PG a matriz de HPMC.

Segundo LOREVICE et al. (2012) isso se deve ao efeito plastificante da PG na matriz, que aumenta a distância média entre as cadeias do polímero, permitindo assim, um tráfego maior de moléculas de água, aumentando portanto a PVA dos filmes de HPMC com PG. Ainda segundo LOREVICE et al. (2014), devido ao método utilizado para obter valores da PVA, por perda de massa de água do meio interno para o meio externo por difusão em uma área conhecida do filme, a PG, por possuir grande quan-



tidade de açúcares (grupos hidroxilas) e facilidade de interagir com moléculas de água, pode aumentar a quantidade de água difundida no filme, e conseqüentemente, aumentar o valor da PVA, mesmo que nem todas moléculas de água atravessassem o filme. Por este motivo, nos filmes cuja PG foi adicionada, ocorreu um aumento nos valores da PVA.



**Figura 1.** Valores de permeabilidade ao vapor de água (WVP) de filmes de HPMC, PG e NPQS: (1) Filmes de HPMC com PG; (3) Filmes de HPMC com NPQS 1; (5) Filmes de HPMC com NPQS 2; (7) Filme de HPMC com NPQS 1 e PG; (9) Filme de HPMC com NPQS 2 e PG.; (11) Filme de HPMC (2%)

Podemos observar também, que a adição de NPQS à matriz de HPMC diminuiu a PVA, resultado este, já reportado por MOURA et al. (2009). Este mesmo comportamento foi observado para os filmes de HPMC/PG/NPQS com o menor tamanho, enquanto as NPQS de maior tamanho aumentaram a PVA dos filmes. Segundo LOREVICE et al. (2014), NPQS com menor tamanho, tendem a preencher, de forma mais homogênea, os espaços entre as cadeias da matriz polimérica, dificultando a passagem de moléculas de água. As NPQS de maior tamanho tendem a se aglomerar e sua distribuição na matriz polissacarídica é menor, o que resulta valores maiores de PVA.

#### 4 CONCLUSÃO

As NPQS foram sintetizadas com sucesso e obtiveram-se valores de tamanho médio abaixo de 400nm além do potencial zeta acima de 20 mV, indicando estabilidade da solução coloidal de NPQS. Os filmes produzidos com HPMC/PG se formaram, assim como os filmes de HPMC/PG/NPQS, ambos apresentando propriedades satisfatórias quanto à manuseabilidade, homogeneidade e continuidade. A adição de PG aumentou os valores de PVA, entretanto a adição de NPQS aos filmes de HPMC/PG incrementaram os valores de PVA dos filmes, demonstrando assim, que tal nanocompósito pode ser uma alternativa para produção de novas embalagens, biodegradáveis e renováveis.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPESP (Projeto2012/24362-6) pelo auxílio à pesquisa, à Embrapa e DFQ-FEIS-UNESP pela estrutura de pesquisa e aos demais órgãos de fomento e financiamento à pesquisa FINEP/MCT, CAPES, CNPq.

#### REFERÊNCIAS

ASTM- Standard test methods for water vapor transmission of materials. Standards Designation: E96-80. In Annual Book of ASTM, ASTM, 771-778, Philadelphia, PA..

LOREVICE, M. V.; MOURA, M. R. de; AOUADA, F. A.; MATTOSO, L. H. C. Development of Novel Guava Puree Films Containing Chitosan Nanoparticles. Journal of Nanoscience and NanoTechnology, v.12, p.2711 - 2718, 2012.

LOREVICE, M. V.; MOURA, M. R. de; MATTOSO, L. H. C. Nanocompósito de polpa de mamão e nanopartículas de quitosana para aplicação em embalagens. Química Nova. No Prelo, 2014.

MARTELLI M. R.; BARROS, T. T.; MOURA, M. R. de; MATTOSO, L. C. H.; ASSIS, O. B. G. Effect of chitosan nanoparticles and pectin content on mechanical properties and water vapor permeability of banana puree films. *Journal of Food Science*, v.78, N98 – N103, 2013.

MCHUCH, T. H.; AVENA-BUSTILLOS, R.; KROCHTA, J. M. Hydrophilic edible filmes: Modified prock ness. *Journal of Food Science*, v. 58, p. 890 -903, 1993.

MOURA, M. R. de; AOUADA, F.A.; AVENA-BUSTILLOS, R. J.; MCHUGH, T. H.; KROCHTA, J. M.; MATTOSO, L. H. C. Improved barrier and mechanical properties of novel hydroxypropyl methylcellulose edible films with chitosan/tripolyphosphate nanoparticles *Journal of Food Engineering*, v.92, p. 448 - 453, 2009.

OTONI, C. G.; MOURA, M. R de; AOUADA, F. A.; CAMILLOTO, G. P.; CRUZ, R. S.; LOREVICE, M. V.; SOARES, N. de F. F.; MATTOSO, L. H. C. Antimicrobial and physical-mechanical properties of pectin/papaya puree/cinnamaldehyde nanoemulsion edible composite films. *Food Hydrocolloids*, v.41, p.188-194, 2014.

---

## NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA UTILIZADAS NA MELHORIA DAS PROPRIEDADES MECÂNICAS DE FILMES COMESTÍVEIS

Marcos Vinicius Lorevice<sup>1,4</sup>, Marcia Regina de Moura<sup>2</sup>, Caio Gomide Otoni<sup>3,4</sup>, Luiz Henrique Capparelli Mattoso<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Química, UFSCar, São Carlos, SP. <sup>2</sup>Departamento de Física e Química, FEIS, UNESP, Ilha Solteira, SP. <sup>3</sup>Departamento de Engenharia de Materiais, UFSCar, São Carlos, SP.

<sup>4</sup>LNNA, Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP.

\*marcos.lorevice@gmail.com

**Classificação:** Filmes, revestimentos comestíveis e embalagens funcionais para alimentos.

### Resumo

O descarte de embalagens de difícil degradação tem motivado pesquisas que produzam embalagens a partir de polissacarídeos por ser biodegradável e de fontes renováveis. Entretanto suas baixas propriedades físico-químicas (mecânica, térmica e de barreira) tem intensificado o estudo na adição de nanoestruturas que incrementem tais propriedades. Deste modo o trabalho teve como objetivo produzir filmes de hidroxipropil metilcelulose (HPMC) e polpa de goiaba (PG) com nanopartículas (NPs) de quitosana (QS). As NPs de foram sintetizadas por ionização ionotrópica. Os filmes foram produzidos pelo método “casting”. As NPs apresentaram dois tamanhos distintos abaixo dos 400 nm. Os filmes com HPMC, PG e NPs se formaram e apresentaram propriedades satisfatórias. Para tais filmes foram feitas análise de tensão máxima de ruptura e de alongação máxima. Os filmes de HPMC, PG e NPs com tamanho menor apresentaram propriedades mecânicas mais satisfatórias, permitindo que estes filmes possam ser aplicados em futuras embalagens de alimentos.

**Palavras-chave:** Filmes Comestíveis; HPMC; Quitosana; Nanopartículas; Polpa de Goiaba.

### MECHANICAL PROPERTIES OF EDIBLE FILMS WITH GUAVA PUREE AND CHITOSAN NANOPARTICLES.

#### Abstract

The disposal of hardly degradable packaging has motivated novel researches in the development of packaging from polysaccharides due to their renewable and biodegradable properties. However, their low physicochemical properties have encouraged the incorporation of nanostructures that can improve the packaging properties. Then, the goal of this work was to produce edible films from hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) added by guava puree (PG) and chitosan (QS) nanoparticles (NPs). These NPs were synthesized based on the ionic gelation of QS with sodium tripolyphosphate (TPP). The films were obtained through casting. The size of NPs showed two different values, both of them being below 400 nm. The films containing HPMC, PG and NPs displayed good visual and textural properties. The mechanical attributes tensile strength (TM) and elongation at break (E) were determined. The films comprise HPMC, PG and NPs of the smallest size demonstrated the best improvement in the mechanical

properties, denoting a means of producing novel packaging with these materials.

**Keywords:** Edible films, HPMC, Chitosan, Nanoparticles, guava puree

## 1 INTRODUÇÃO

O crescimento no consumo de alimentos industrializados e naturais tem levado a um descarte excessivo de embalagens produzidas a partir de polímeros cujas degradação e matéria-prima são limitada. Deste modo, produzir tais embalagens a partir de materiais renováveis e degradáveis tem se mostrado uma boa alternativa para a limitação das embalagens atuais. Biopolímeros, como polissacarídeos de origem vegetal e animal, tais como hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) e Quitosana (QS) apresentam características que podem suprir tais limitações, entretanto apresentam propriedades físicas-químicas (mecânicas, térmicas e de barreira) inferiores quando são aplicadas na fabricação de embalagens. (ESPITIA et al. 2014)

Um caminho encontrado tem sido incrementar as propriedades das embalagens biodegradáveis adicionando a estas nanoestruturas – nanopartículas (NPs) - cuja presença, na matriz polimérica, tem aumentado satisfatoriamente tais propriedades (mecânicas, térmicas e de barreira). Trabalhos recentes têm mostrado que a adição de NPs de QS à matriz de polissacarídeos como HPMC incrementou as propriedades mecânicas. Esse resultado ainda foi verificado quando tais NPs de QS foram adicionadas a matrizes de HPMC com polpa de frutas como banana, goiaba e mamão, com objetivo de proporcionar propriedades nutritivas e organolépticas aos filmes (MARTELI et al. 2013; LOREVICE et al. 2012; OTONI et al. 2014).

Sendo assim, o presente trabalho teve como objetivo produzir embalagens, filmes, a partir de uma matriz de HPMC e polpa de goiaba adicionar NPs de QS de modo a estudar o incremento na propriedade mecânica que as NPs podem promover.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

As NPs de QS foram sintetizadas pelo método de gelatinização ionotrópica com QS e tripoli-fosfato de sódio (TPP), segundo método reportado por CALVO et al (1997) e LOREVICE et al (2014). Foram feitas duas síntese de NPs, tamanhos diferentes a partir de concentrações diferentes de QS. O tamanho das NPs foi analisado no Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments Inc., Irvine, Calif., U.S.A.). O filme controle de HPMC foi preparado utilizando o método “casting” a partir de uma solução de razão 2/98 de HPMC/água. Foi utilizada polpa de goiaba da De Marchi. Filmes constituídos somente de polpa não apresentaram propriedades satisfatórias de modo que o HPMC foi adicionado ao filme controle. As análises mecânicas dos filmes foram realizadas com base no método ASTM D882-975, cortando-os em forma retangular com dimensões controladas. Em seguida, realizou-se o ensaio de tração para obter: a tensão máxima (TM) e alongação máxima (E) de cada um dos filmes.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As NPQS foram sintetizadas com sucesso, obtendo dois tamanhos distintos para cada concentração de QS utilizada. A partir da Tabela 1, constata-se que a concentração de QS interfere satisfatoriamente no tamanho médio das NPs, uma vez que concentrações mais elevadas aumentam a viscosidade da solução, dificultando a interação entre os precursores das NPs, formando NPs maiores cuja energia de formação é menor, o que torna a formação desta mais favorável. (LOREVICE et al. 2014)

**Tabela 1.** Valores de tamanho médio para diferentes nanopartículas de Quitosana.

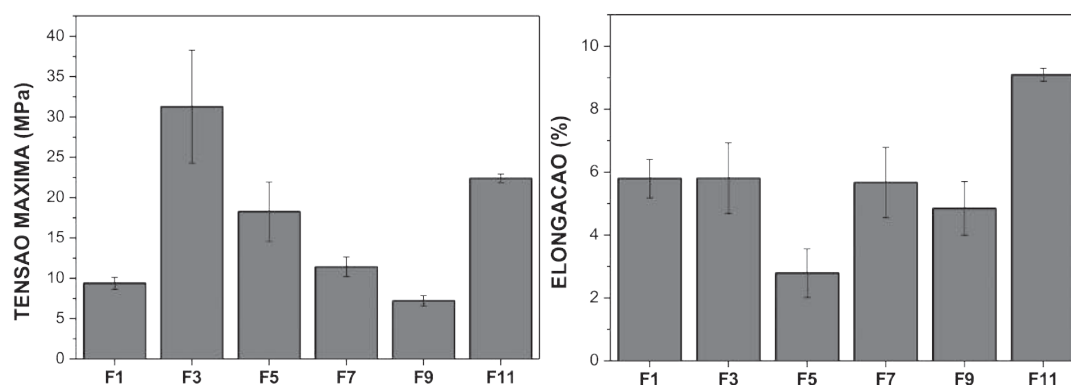
Concentração QS	Tamanho médio e Potencial Zeta das NPs			
	Quitosana	Nanopartículas	Tamanho Médio (nm)	Potencial Zeta (mV)
0,85mg/mL		NPQS1	250 ± 9	60,3 ± 0,7
1,25mg/mL		NPQS2	351 ± 20	62,0 ± 0,5

*Para diferenciar as sínteses, utilizou-se a nomenclatura NPQS e os números 1 e 2.*

Os filmes produzidos apenas com PG não se formaram. Sendo assim, o filme controle utilizado foi de HPMC com PG. A adição do HPMC permitiu a formação de filmes com espessura média de  $69,0 \pm 5,0 \mu\text{m}$  e com NPs e PG apresentou valores  $55,5 \pm 5,5 \mu\text{m}$ . Tais filmes apresentaram propriedades satisfatórias quanto à homogeneidade, continuidade e manuseabilidade. A Figura 1 apresenta os valores das propriedades mecânicas de tensão máxima de ruptura (TM) e porcentagem de alongação na ruptura

(E) dos filmes. Consta-se uma diminuição na TM quando se adiciona PG aos filmes. Isso se deve, segundo LOREVICE et al (2012), à existência de açúcares na PG, o que resulta em um efeito plastificante nos filmes, diminuindo as interações secundárias das cadeias do HPMC. Tal diminuição é compensada com a adição de NPs de QS. Segundo MOURA et al. (2009) e LOREVICE et al. (2014), a presença de NPs de QS na matriz de HPMC incrementa as interações intermoleculares entre as cadeias do polímero, tornando assim, a matriz compacta, o que resulta em valores maiores de TM.

O tamanho das NPs influenciou nos valores de TM. As NPs menores se dispersam de forma mais homogênea sobre a matriz, resultando em valores melhores de TM, enquanto as NPs maiores tendem a se aglomerar e formar “sítios”, regiões de aglomerados de partículas, de forma não homogênea, o que resulta em pontos concentradores de tensão, acarretando assim em menores dos valores de TM.



**Figura 1.** Comparativo de valores de Tensão Máxima e de Elongação de filmes de HPMC e polpa de goiaba contendo ou não NPs de QS: (F1) HPMC+polpa; (F3) HPMC + NPQS1; (F5) HPMC + NPQS2; (F7) HPMC + NPQS1+polpa; (F9) HPMC + NPQS2+ polpa; (F11) HPMC.

Outra propriedade analisada foi a elongação do filme até a ruptura, ou seja, quanto o filme pode se deformar antes que se rompa. Observa-se pela Figura 1 que há uma diminuição na elongação dos filmes tanto quando se adiciona NPs, quando se adiciona PG. A adição de PG aos filmes de HPMC e NPs de QS no trabalho de LOREVICE et al. (2012) resultou em um efeito plastificante nos filmes, em que a TM diminuiu e a elongação na ruptura aumenta.

Nos filmes obtidos neste trabalho, a PG diminuiu a TM, todavia a elongação também sofre uma diminuição, o que ocorre também com a adição de NPs de QS. No caso da adição das NPs, a elongação diminuiu, pois as interações entre as cadeias aumentam, dificultando o escoamento e estiramento dessas cadeias, fraturando o filme sem que este se deforme, tornado assim o filme mais rígido.

No caso da adição de PG, a diminuição da elongação se deve a possíveis interações das hidroxilas dos açúcares da PG com as cadeias do HPMC, que não incrementam a TM, mas tornam o filme pouco suscetível a deformação. A presença de PG na matriz pode tencionar as cadeias do polímero, de forma que qualquer força exercida sobre o filme não seja transferida para estiramento de cadeias, mas para o rompimento dessas, fraturando assim o filme.

#### 4 CONCLUSÃO

As NPs de QS foram sintetizadas com sucesso, obtendo-se dois tamanhos diferentes. Filmes de HPMC e PG se formaram, apresentando propriedades satisfatórias quanto à manuseabilidade, continuidade e homogeneidade.

A incorporação das NPs de QS aos filmes não modificou as características visuais dos filmes. Entretanto aumentou as propriedades mecânicas dos filmes, TM. A elongação não sofreu diminuição com a adição de PG e NPs de QS. Tais resultados demonstram uma boa alternativa para produção de embalagens de alimentos que apresentem propriedades biodegradáveis.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPESP (Projeto2012/24362-6) pelo auxílio à pesquisa, à Embrapa e DFQ-FEIS-UNESP pela estrutura de pesquisa e aos demais órgãos de fomento e financiamento à pesquisa FINEP/MCT, CAPES, CNPq.

## REFERÊNCIAS

- ASTM- Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting (1997). D882-97. In Annual book of American Standard Testing Methods. Philadelphia, USA, PA: ASTM.
- CALVO, P.; REMUNÁN-LÓPEZ, C.; VILA-JATO, J.L.; ALONSO, M.J. Novel Hydrophilic Chitosan–Polyethylene Oxide Nanoparticles as Protein Carriers Journal Applied Polymer Science, v.63, p.125-132, 1997.
- ESPITIA, P. J. P.; DU, W.; AVENA-BUSTILLOS, R. DE J.; SOARES, N. DE F. F.; MCHUGH, T. H. Edible films from pectin: Physical-mechanical and antimicrobial properties - A review. Food Hydrocolloids, v. 35, p.287-296, 2014.
- LOREVICE, M. V.; MOURA, M. R. de; AOUADA, F. A.; MATTOSO, L. H. C. Development of Novel Guava Puree Films Containing Chitosan Nanoparticles. Journal of Nanoscience and NanoTechnology, v.12, p.2711 - 2718, 2012.
- LOREVICE, M. V.; MOURA, M. R. de; MATTOSO, L. H. C. Nanocompósito de polpa de mamão e nanopartículas de quitosana para aplicação em embalagens. Química Nova. No Prelo, 2014.
- MARTELLI M. R.; BARROS, T. T.; MOURA, M. R. de; MATTOSO, L. C. H.; ASSIS, O. B. G. Effect of chitosan nanoparticles and pectin content on mechanical properties and water vapor permeability of banana puree films. Journal of Food Science, v.78, N98 – N103, 2013.
- MOURA, M. R. de; AOUADA, F.A.; AVENA-BUSTILLOS, R. J.; MCHUGH, T. H.; KROCHTA, J. M.; MATTOSO, L. H. C. Improved barrier and mechanical properties of novel hydroxypropyl methylcellulose edible films with chitosan/tripolyphosphate nanoparticles Journal of Food Engineering, v.92, p. 448 - 453, 2009.
- OTONI, C. G.; MOURA, M. R. de; AOUADA, F. A.; CAMILLOTO, G. P.; CRUZ, R. S.; LOREVICE, M. V.; SOARES, N. de F. F.; MATTOSO, L. H. C. Antimicrobial and physical-mechanical properties of pectin/papaya puree/cinnamaldehyde nanoemulsion edible composite films. Food Hydrocolloids, v.41, p.188-194, 2014.

---

## MINIATURIZAÇÃO DE PARTÍCULAS EM NANOEMULSÕES DE CINAMALDEÍDO NA MELHORIA DO DESEMPENHO ANTIMICROBIANO DE FILMES BIOPOLIMÉRICOS ATIVOS

\*Caio G. Otoni<sup>1,2</sup>, Márcia R. de Moura<sup>1,2,4</sup>, Fauze A. Aouada<sup>4</sup>, Geany P. Camilloto<sup>5</sup>, Renato S. Cruz<sup>5</sup>, Marcos V. Lorevice<sup>1,6</sup>, Nilda de F. F. Soares<sup>3</sup>, Luiz H. C. Mattoso<sup>1,2,6</sup>

<sup>1</sup>LNNA, Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP. <sup>2</sup>PPG-CEM, Departamento de Engenharia de Materiais, UFSCar, São Carlos, SP. <sup>3</sup>LABEM, Departamento de Tecnologia de Alimentos, UFV, Viçosa, MG. <sup>4</sup>Departamento de Física e Química, FEIS, UNESP, Ilha Solteira, SP. <sup>5</sup>Departamento de Tecnologia, UEFS, Feira de Santana, BA. <sup>6</sup>PPGQ, Departamento de Química, UFSCar, São Carlos, SP.  
\*caiogomide@gmail.com

**Classificação:** Filmes, revestimentos comestíveis e embalagens funcionais para alimentos

### Resumo

A crescente demanda por inovação motiva o desenvolvimento de embalagens ativas para alimentos. Cinnamaldeído, componente antimicrobiano majoritário do óleo essencial de canela, pode ser liberado por filmes ativos e substituir conservantes sintéticos. O presente trabalho teve por objetivo produzir nanoemulsões de cinnamaldeído com partículas de diferentes tamanhos e avaliar este efeito no desempenho antimicrobiano de filmes de pectina e polpa de mamão. Maiores velocidades de agitação reduziram mais o tamanho das partículas. Cinnamaldeído exibiu efeito antimicrobiano contra *Escherichia coli*,

*Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus*. A miniaturização das partículas potencializou o efeito inibitório devido à maior área superficial e à maior migração.

**Palavras-chave:** Embalagens Ativas; Nanoemulsão; Cinamaldeído; Pectina

## **DROPLET MINIATURIZATION OF CINNAMALDEHYDE NANOEMULSIONS IMPROVES THE ANTIMICROBIAL PERFORMANCE OF ACTIVE BIOPOLYMER FILMS**

### **Abstract**

The rising demand for innovation encourages the development of active packaging for food. Cinnamaldehyde, the major antimicrobial component of cinnamon essential oil, may be released by active films and replace synthetic preservatives. This work aimed at producing cinnamaldehyde nanoemulsions of different droplet sizes, as well as assessing its effect on the antimicrobial performance of pectin/papaya puree films. Increased stirring energies reduced droplet diameter to higher extents. Cinnamaldehyde inhibited *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes*, and *Staphylococcus aureus*. The reduction on droplet size improved bacterial inhibition due to the increased surface area and migration.

**Keywords:** Active Packaging; Nanoemulsion; Cinnamaldehyde; Pectin

### **Publicações relacionadas:**

Caio G. Otoni, Márcia R. de Moura, Fauze A. Aouada, Geany P. Camilloto, Renato S. Cruz, Marcos V. Lorevice, Nilda de F. F. Soares, Luiz H. C. Mattoso. Antimicrobial and physical-mechanical properties of pectin/papaya puree/cinnamaldehyde nanoemulsion edible composite films. *Food Hydrocolloids* 41:188-194, 2014.

## **1 INTRODUÇÃO**

Matrizes biopoliméricas têm sido amplamente exploradas no desenvolvimento de embalagens para alimentos. A pectina é um biopolímero que, quando adicionado de polpas de frutas e conservantes, tem grande potencial para a produção de embalagens ativas antimicrobianas comestíveis, as quais liberam gradativamente conservantes para os alimentos. Óleos essenciais de plantas têm sido foco de estudos devido à ocorrência natural e às propriedades antimicrobianas contra micro-organismos patogênicos e deterioradores de alimentos (BURT, 2004). O óleo essencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) destaca-se como um potencial substituto de conservantes sintéticos em alimentos. Seu componente majoritário, cinamaldeído, é o responsável pelas propriedades antimicrobianas, o que já fora comprovado em embalagens ativas (ROJAS-GRAÜ; AVENA-BUSTILLOS; FRIEDMAN; HENIKA; MARTÍN-BELLOSO; MCHUGH, 2006). Uma das maneiras de incorporar compostos hidrofóbicos (como o cinamaldeído) em materiais hidrossolúveis sem que haja separação de fase é a produção de emulsões de óleo-em-água. Quanto menores forem as partículas da fase dispersa, maiores serão suas áreas superficiais e suas capacidades de migração (HUANG; YU; RU, 2010). Nanoemulsões, cujas partículas variam em diâmetro de 20 a 500 nm, apresentaram maior acessibilidade e disponibilidade que emulsões convencionais, com partículas entre 1 e 100 µm (SOLANS; IZQUIERDO; NOLLA; AZEMAR; GARCIA-CELMA, 2005). O presente trabalho teve por objetivo produzir nanoemulsões de cinamaldeído com partículas de diferentes tamanhos e avaliar este efeito no desempenho antimicrobiano de filmes ativos de pectina e polpa de mamão contra *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus*.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Material**

Cinamaldeído (pureza superior a 93%; Petite Marie, Itaquaquecetuba, SP), Tween 80 (Synth, Diadema, SP), pectina (CP Kelco, Atlanta, EUA), polpa de mamão (De Marchi, Jundiaí, SP) e água ultrapura foram utilizados nas formulações das emulsões e dos filmes. Caldo TSB (Acumedia Manufactures Inc., Lansing, EUA) e meios de cultura TSA (Acumedia Manufactures Inc.) e Mueller Hinton (Becton, Dickinson and Co., Sparks, EUA) foram usados nos ensaios microbiológicos.

## 2.2 Emulsificação

À água ultrapura (fase contínua) foram adicionados 2% (m/m) de cinamaldeído (fase dispersa) e 1,5% (m/m) de Tween 80 (emulsificante), seguidos de agitação a 7000, 12000 ou 16000 rpm por 4 min em *T25 Ultra-Turrax* (IKA Werke GmbH & Co, Staufen, Alemanha).

## 2.3 Tamanho das partículas

O tamanho médio e o índice de polidispersividade (PDI) das partículas de cinamaldeído em emulsão foram determinados 1 h após a emulsificação através de espalhamento de luz em equipamento *Zetasizer Nano Series* (Malvern Instruments Inc., Worcestershire, Inglaterra).

## 2.4 Conformação em filmes

Soluções aquosas contendo 3% (m/m) de pectina e 6% (m/m) de polpa de mamão foram diluídas (1:1) nas emulsões produzidas, produzindo soluções filmogênicas com composições mássicas de 1,5% de pectina, 3% de polpa de mamão, 1,0% de cinamaldeído e 0,75% de Tween 80. Após, foram espalhadas sobre substrato polimérico para polimerização por evaporação do solvente a  $25 \pm 2$  °C por 48 h.

## 2.5 Propriedades antimicrobianas

Culturas de *E. coli* (ATCC 11229), *S. aureus* (ATCC 6538), *L. monocytogenes* (ATCC 15313) e *S. enterica* serovar Choleraesuis (ATCC 10708) foram inoculadas em tubos contendo caldo TSB e armazenadas por 24 h a 37 °C até serem transferidas para novos tubos contendo caldo TSB, onde cresceram por mais 12 h a 37 °C. As suspensões foram estriadas em meio TSA em placas de Petri, as quais foram incubadas a 37 °C por 18-24 h. Colônias isoladas foram inoculadas em soluções salinas (0,85% m/v) até que a turbidez coincidissem com a do padrão McFarland 0,5 ( $10^8$  UFC·mL<sup>-1</sup>). As suspensões foram plaqueadas com *swabs* em ágar Mueller Hinton. Os filmes foram cortados em discos de 1 cm de diâmetro, esterilizados superficialmente por radiação UV e posicionados no centro das placas de Petri (1 disco por placa) contendo o meio de cultura inoculado. As placas foram incubadas a 37 °C por 16-18 h (CLSI, 2012). Os diâmetros das zonas de inibição em torno dos filmes foram medidos com paquímetro (Mitutoyo Corp., Kanogawa, Japão).

## 2.6 Tratamento estatístico dos dados

Os dados obtidos foram analisados no programa *Minitab* 14.12.0 (State College, EUA) através de análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Tamanho das partículas

A Tabela 1 apresenta os valores de tamanho e PDI das partículas de cinamaldeído em emulsão antes da incorporação às soluções filmogênicas e da conformação destas em filmes.

**Tabela 1.** Diâmetro médio (*D*) e índice de polidispersividade (PDI) de partículas de cinamaldeído

Velocidade de agitação (rpm)	<i>D</i> (nm)	PDI
7000	271,95 ± 18,70 <sup>a</sup>	0,301 ± 0,020 <sup>a</sup>
12000	121,75 ± 7,47 <sup>b</sup>	0,215 ± 0,023 <sup>b</sup>
16000	41,32 ± 1,05 <sup>c</sup>	0,225 ± 0,014 <sup>b</sup>

<sup>a-c</sup> numa mesma coluna, valores médios ± desvios padrões diferentes ( $p < 0,05$ ) antecedem letras diferentes

Maiores taxas de cisalhamento impostas por maiores velocidades de rotação durante a etapa de

agitação levaram a partículas menores ( $p < 0,05$ ). Neste estudo, todas as velocidades de agitação miniaturizaram as partículas até a escala nanométrica (Tabela 1).

O PDI é um indicativo de como a distribuição do tamanho das partículas é espalhada. As partículas de cinamaldeído apresentaram distribuições de tamanho estreitas, já que os valores de PDI não foram superiores a 0,3 (Tabela 1). É relevante mencionar que os valores médios de PDI não foram diferentes ( $p > 0,05$ ), exceto no caso da emulsão analisada 1 h após ser preparada a 7000 rpm (Tabela 1). Isto é atribuído ao fornecimento de menor energia ao sistema durante a emulsificação, tornando a distribuição de tamanho mais larga.

### 3.2 Propriedades antimicrobianas

As áreas das zonas de inibição dos quatro micro-organismos testados, medidas em torno dos discos de filmes produzidos, estão apresentadas na Tabela 2.

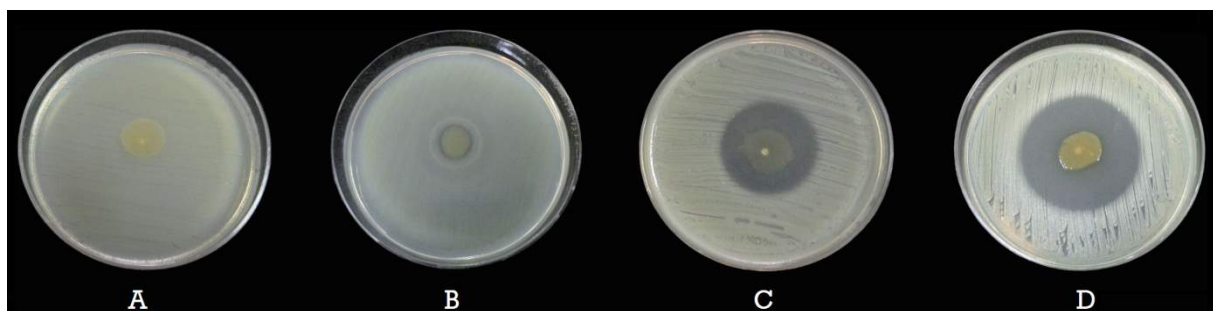
**Tabela 2.** Áreas das zonas de inibição de *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes*, e *Staphylococcus aureus* pelos filmes ativos

Filme	Área da zona de inibição (mm <sup>2</sup> )			
	<i>E. coli</i>	<i>S. enterica</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>S. aureus</i>
A	9,2 ± 0,8 <sup>a</sup>	39,5 ± 4,7 <sup>a</sup>	188,9 ± 3,6 <sup>a</sup>	171,3 ± 21,1 <sup>a</sup>
B	24,4 ± 0,5 <sup>a</sup>	63,7 ± 6,9 <sup>a</sup>	271,9 ± 4,3 <sup>b</sup>	314,9 ± 4,3 <sup>b</sup>
C	47,8 ± 1,6 <sup>b</sup>	161,8 ± 63,6 <sup>b</sup>	375,2 ± 0,6 <sup>c</sup>	710,6 ± 60,7 <sup>c</sup>

<sup>a-c</sup> numa mesma coluna, valores médios ± desvios padrões diferentes ( $p < 0,05$ ) antecedem letras diferentes

Os filmes adicionados de nanoemulsões de cinamaldeído levaram à formação de zonas de inibição (Tabela 2), confirmando seu poder inibitório. Filmes incorporados com partículas menores tiveram melhores ( $p < 0,05$ ) desempenhos antimicrobianos, indicados por maiores ( $p < 0,05$ ) zonas de inibição (Tabela 2). Este comportamento é ilustrado na Figura 1.

Gotículas em nanoemulsões têm áreas superficiais superiores àquelas em emulsões convencionais, levando a maior disponibilidade do composto disperso (HUANG; YU; RU, 2010). Os melhores desempenhos antimicrobianos de partículas menores encontradas no presente estudo são, portanto, atribuídos às maiores habilidades de migração do composto ativo dos filmes para as células microbianas. Esta tese é suportada por Huang, Yu e Ru (2010), que apontam como principal vantagem de nanoemulsões sobre emulsões convencionais o transporte facilitado de compostos fitoquímicos pelas membranas celulares, resultando em maior concentração de fitoquímicos no plasma e, logo, em maior biodisponibilidade.



**Figura 2.** Zonas de inibição de *Salmonella enterica* em torno dos filmes sem cinamaldeído (A) e com emulsões aquosas de cinamaldeído obtidas por agitações a 7000 (B), 12000 (C) e 16000 rpm (D).

## 4 CONCLUSÃO

Pode-se concluir, com base no presente estudo, que o tamanho das partículas em nanoemulsões de cinamaldeído pode ser controlado pelo nível de energia mecânica fornecido durante a emulsificação



e que a miniaturização destas partículas potencializa seus desempenhos antimicrobianos quando incorporados em filmes ativos.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem CAPES, FAPESP 2013/14366-7, CNPq, UNESP-FEIS, LABEM-UFV e EMBRAPA.

## REFERÊNCIAS

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, v. 94, n. 3, p. 223-253, 2004.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Performance standards for antimicrobial disk Susceptibility tests; approved standard (11<sup>th</sup> ed). Wayne, PA, USA: Clinical and Laboratory Standards Institute. CLSI document M02-A11, 2012. [www.clsi.org](http://www.clsi.org).

HUANG, Q.; YU, H.; RU, Q. Bioavailability and delivery on nutraceuticals using nanotechnology. *Journal of Food Science*, v. 75, n. 1, p. R50-R57, 2010.

ROJAS-GRAÜ, M. A.; AVENA-BUSTILLOS, R. J.; FRIEDMAN, M.; HENIKA, P. R.; MARTÍN-BELLOSO, O.; MCHUGH, T. H. Mechanical, barrier and antimicrobial properties of apple puree edible films containing plant essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 54, n. 24, p. 9262-9267, 2006.

SOLANS, C.; IZQUIERDO, P.; NOLLA, J.; AZEMAR, N.; GARCIA-CELMA, M. J. Nanoemulsions. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, v. 10, n. 3-4, p. 102-110, 2005.

---

## REFINAMENTO DE EMULSÕES DE ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO ATRAVÉS DE ULTRASONICAÇÃO INFLUENCIA AS PROPRIEDADES MECÂNICAS DE FILMES DE METILCELULOSE

\*Caio G. Otoni<sup>1,2</sup>, Sylvania F. O. Pontes<sup>3</sup>, Eber A. A. Medeiros<sup>3</sup>, Nilda de F. F. Soares<sup>3</sup>

<sup>1</sup>LNNA, Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP. <sup>2</sup>PPG-CEM, Departamento de Engenharia de Materiais, UFSCar, São Carlos, SP. <sup>3</sup>LABEM, Departamento de Tecnologia de Alimentos, UFV, Viçosa, MG.

\*caiogomide@gmail.com

**Classificação:** Filmes, revestimentos comestíveis e embalagens funcionais para alimentos.

### Resumo

Como os consumidores demandam cada vez mais alimentos livres de conservantes sintéticos, o óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*) (OEO) tem sido incorporado através de emulsões a matrizes poliméricas hidrossolúveis. A estabilidade das emulsões é aumentada miniaturizando-se as partículas até a escala nanométrica. Este trabalho objetivou produzir filmes de metilcelulose (MC) adicionados de emulsões de OEO refinadas por ultrasonicação, assim como avaliar o efeito do OEO e de seu refinamento nas propriedades mecânicas dos filmes. A ultrasonicação miniaturizou as partículas de OEO e estreitou a sua distribuição de tamanhos. O OEO reduziu a rigidez e aumentou a extensibilidade dos filmes de MC. O refinamento da emulsão potencializou este efeito.

**Palavras-chave:** Embalagens Ativas; Nanoemulsão; Orégano; Metilcelulose; Ultrasonicação

### REFINING OREGANO ESSENTIAL OIL EMULSIONS THROUGH ULTRASONICATION AFFECTS THE MECHANICAL PROPERTIES OF METHYLCELLULOSE FILMS

#### Abstract

As consumers increasingly demand synthetic preservative-free foods, oregano (*Origanum vulgare*) es-

sential oil (OEO) has been incorporated through emulsions into water-soluble polymer matrices. The stability of such emulsions is increased by reducing droplet size up to the nanoscale. This work aimed at producing methylcellulose (MC) films added by OEO emulsions refined by ultrasonication, as well as evaluating the effect of both OEO addition and refining on the films' mechanical properties. Ultrasonication miniaturized OEO droplets and narrowed their size distribution. OEO plasticized MC films, reducing their stiffness while increasing their extensibility. OEO droplet miniaturization improved this effect. **Keywords:** Active Packaging; Nanoemulsion; Oregano; Methylcellulose; Ultrasonication

#### **Publicações relacionadas:**

Caio G. Otoni, Silvania F. O. Pontes, Eber A. A. Medeiros, Nilda de F. F. Soares. Edible films from methylcellulose and nanoemulsions of clove bud (*Syzygium aromaticum*) and oregano (*Origanum vulgare*) essential oils as shelf life extenders for sliced bread. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 62:5214-5219, 2014.

## **1 INTRODUÇÃO**

A demanda crescente dos consumidores por alimentos com menores cargas de conservantes sintéticos motiva o desenvolvimento de técnicas alternativas de conservação. Antimicrobianos naturais, como o óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*) (OEO), têm sido incorporados em embalagens ativas capazes de liberá-los para o alimento, garantindo a segurança de seu consumo (Du et al., 2009). A incorporação de substâncias apolares como o OEO em soluções poliméricas aquosas causa separação de fase espontânea, já que a estabilidade é atingida quando a área interfacial entre as fases imiscíveis é mínima. Isto é indesejável por formar filmes heterogêneos, logo surfactantes são adicionados para garantir a estabilidade. Outra maneira de aumentar a estabilidade é através da miniaturização das micelas em emulsão até a escala nanométrica, produzindo nanoemulsões com partículas de diâmetros entre 20 e 500 nm (Otoni et al., 2014). Objetivou-se, com o presente trabalho, produzir filmes de metilcelulose (MC) adicionados de emulsões de OEO refinadas por ultrasonicação, assim como avaliar o efeito do OEO e de seu refinamento nas propriedades mecânicas dos filmes.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Material**

OEO (Ferquima Ltda.), Tween 80 (Labsynth), MC (Sigma-Aldrich Ltda.), Polietilenoglicol (PEG) (Isofar Ltda.) e água foram utilizados nas formulações das emulsões e dos filmes.

### **2.2 Emulsificação**

Adicionaram-se 4% (m/v) de OEO, 3% (m/v) de Tween 80 e 0,2% (m/v) de PEG a água ultrapura, agitando-se por 5 min a 1000 rpm para produzir emulsões convencionais (EC), as quais foram ultrasonificadas por 10 min em equipamento DES500 (Unique Group) à frequência de 20 kHz e potência de 400 W para produzir nanoemulsões (NE).

### **2.3 Tamanho das partículas**

O diâmetro médio e o índice de polidispersividade (PDI) das partículas de OEO em emulsão foram determinados por espalhamento de luz em equipamento *Nanophox* (Sypatec GmbH).

### **2.4 Conformação em filmes**

Às emulsões previamente produzidas foram adicionados 2% (m/v) de MC como matriz polimérica. As soluções foram homogeneizadas por 30 min a 6 rpm e espalhadas sobre placas de vidro para secarem a  $25 \pm 2$  °C por 12 h. Para fins de comparação, filme controle foi produzido da mesma forma, porém apenas contendo MC, PEG e Tween 80.

## 2.5 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A morfologia dos filmes foi avaliada em microscópio TM3000 (Hitachi, Inc.), operando com voltagem de aceleração de 15 kV e magnificação de 10000X.

## 2.6 Propriedades mecânicas

Os filmes foram cortados em corpos de prova de 100 mm × 25 mm. Resistência à tração (RT), módulo de elasticidade (ME) e alongação na ruptura (ER) foram determinados em máquina universal de ensaios mecânicos, modelo 3367 (Instron Corp.) com célula de carga de 1 kN e com garras inicialmente espaçadas de 50 mm e que se afastavam a 50 mm·min<sup>-1</sup>.

## 2.7 Tratamento estatístico dos dados

Os dados obtidos foram analisados no programa SAS 9.1 (SAS Institute, Inc.) através de análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Tamanho das partículas

A Tabela 1 apresenta os valores de tamanho e PDI das partículas de OEO.

**Tabela 1.** Diâmetro médio (*D*) e índice de polidispersividade (PDI) de partículas de óleo essencial de orégano em emulsão convencional (EC) e nanoemulsão (NE)

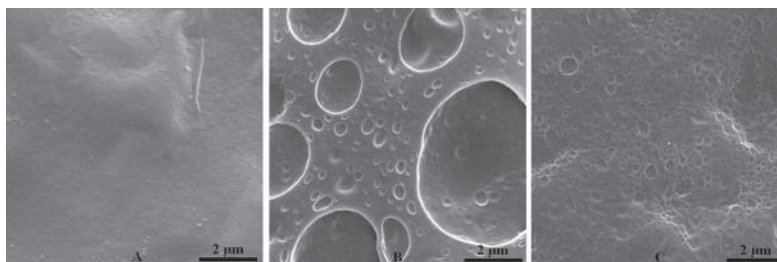
Emulsão	<i>D</i> (nm)	PdI
EC	1313,38 ± 1302,41 <sup>a</sup>	0,983
NE	180,59 ± 84,76 <sup>b</sup>	0,220

<sup>a-b</sup> numa mesma coluna, valores médios ± desvios padrões diferentes ( $p < 0,05$ ) antecedem letras diferentes

ECs, produzidas através de agitação a baixa velocidade, apresentaram partículas com diâmetros de alguns micrômetros, maiores ( $p < 0,05$ ) que aquelas presentes nas NEs (Tabela 1). A miniaturização de micelas em emulsão é um processo não espontâneo que exige a aplicação de energia suficiente para aumentar suas áreas superficiais uma vez superada a energia livre de superfície (Abbas et al., 2013). A energia aplicada durante a agitação a baixa velocidade não foi suficiente para miniaturizar as partículas de OEO até a escala nanométrica. A ultrasonicação, contudo, criou forças disruptivas extremas oriundas de um intenso campo acústico, levando à rápida formação e colapso de microbolhas nas interfaces das partículas (Mason et al., 2006). Este colapso, conhecido por cavitação, induziu turbulência e ondas de choque que miniaturizaram as partículas de OEO até a escala nanométrica. Outra diferença notória entre os métodos de emulsificação refere-se ao PDI. ECs apresentaram valores de PDI próximos à unidade (Tabela 1), indicando uma larga e multimodal distribuição de tamanhos. As NEs, por outro lado, apresentaram distribuição de tamanhos estreita, sugerida por baixos valores de PDI (Tabela 1). Esta diferença é atribuída ao maior fornecimento de energia na ultrasonicação quando comparado à emulsificação convencional, dado que as micelas tendem a assumir um diâmetro de equilíbrio à medida que o fornecimento de energia é aumentado, levando à formação de emulsões mais uniformes e, portanto, com menores valores de PDI (Otoni et al., 2014).

### 3.2 Microscopia eletrônica de varredura

As imagens de MEV estão apresentadas na Figura 1.



**Figura 1.** Imagens típicas, obtidas por microscopia eletrônica de varredura, de filmes de metilcelulose (A) adicionados de emulsão convencional (B) ou nanoemulsão (C) de óleo essencial de orégano.

O filme controle apresentou superfície homogênea e sem a evidência de gotículas em emulsão (Figura 1A). Por outro lado, gotículas são facilmente observadas nos filmes emulsionados (Figura 1B e 1C). O filme de MC adicionado de EC de OEO apresentou partículas muito maiores e um perfil de distribuição de tamanhos de partículas mais heterogêneo que o filme de MC adicionado de NE de OEO. Isto valida os valores de tamanho de partícula e de PDI obtidos por espalhamento de luz (Tabela 1) e indica, ainda, que as emulsões permaneceram estáveis no tocante do tamanho de suas partículas durante a polimerização dos filmes de MC.

### 3.3 Propriedades mecânicas

Os atributos mecânicos RT, ME e ER estão apresentados na Tabela 2.

**Tabela 2.** Propriedades mecânicas de filmes de metilcelulose (MC) adicionados de emulsão convencional (EC) ou nanoemulsão (NE) de óleo essencial de orégano

Filme	RT (MPa)	ME (MPa)	ER (%)
MC	5,40 ± 1,13 <sup>a</sup>	118,86 ± 24,53 <sup>a</sup>	20,46 ± 2,71 <sup>a</sup>
EC	8,05 ± 1,45 <sup>a</sup>	104,21 ± 4,15 <sup>a</sup>	34,08 ± 5,17 <sup>b</sup>
NE	7,61 ± 1,32 <sup>a</sup>	72,94 ± 10,97 <sup>b</sup>	54,77 ± 1,66 <sup>c</sup>

<sup>a-c</sup> numa mesma coluna, valores médios ± desvios padrões diferentes ( $p < 0,05$ ) antecedem letras diferentes

O OEO teve efeito plastificante sugerido pela clara tendência na redução do ME e pelo aumento ( $p < 0,05$ ) da ER em relação ao filme controle (Tabela 2). A RT não foi afetada ( $p > 0,05$ ). Alguns trabalhos reportam o mesmo efeito plastificante de óleos essenciais, que enfraquece as interações intermoleculares entre cadeias poliméricas adjacentes e resulta em filmes menos rígidos e mais flexíveis (Du et al., 2009; Bilbao-Sáinz et al., 2010). A miniaturização das partículas de OEO potencializou o efeito plastificante: partículas menores aumentaram ( $p < 0,05$ ) a ER e reduziram ( $p < 0,05$ ) o ME dos filmes. Este efeito é atribuído à maior capacidade de partículas menores em se alocarem entre as cadeias poliméricas, comprometendo as interações intermoleculares.

## 4 CONCLUSÃO

Em síntese, filmes emulsionados com OEO foram produzidos com sucesso. A ultrasonicação foi efetiva na miniaturização das partículas de OEO e no estreitamento da distribuição dos tamanhos destas. O OEO agiu como plastificante no filme de MC, reduzindo sua rigidez e aumentando sua extensibilidade. A miniaturização das partículas de OEO potencializou este efeito, o que é promissor para a produção de filmes para aplicações nas quais a flexibilidade é essencial.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o CNPq e o LABEM-UFV.

## REFERÊNCIAS

- ABBAS, S.; HAYAT, K.; KARANGWA, E.; BASHARI, M.; ZHANG, X. An overview of ultrasound-assisted food-grade nanoemulsions. *Food Engineering Reviews*, v. 5, n. 3, p. 139-157, 2013.
- MASON, T. G.; WILKING, J. N.; MELESON, K.; CHANG, C. B.; GRAVES, S. M. Nanoemulsions: formation, structure, and physical properties. *Journal of Physics: Condensed Matter*, v. 18, n. 41, p. R635, 2006.
- OTONI, C. G.; MOURA, M. R.; AOUADA, F. A.; CAMILLOTO, G. P.; CRUZ, R. S.; LOREVICE, M. V.; SOARES, N. F. F.; MATTOSO, L. H. C. Antimicrobial and physical-mechanical properties of pectin/papaya puree/cinnamaldehyde nanoemulsion edible composite films. *Food Hydrocolloids*, v. 41, p. 188-194, 2014.
- DU, W.-X.; OLSEN, C. W.; AVENA-BUSTILLOS, R. J.; MCHUGH, T. H.; LEVIN, C. E.; FRIEDMAN, M. Effects of allspice, cinnamon, and clove bud essential oils in edible apple films on physical properties and antimicrobial activities. *Journal of Food Science*, v. 74, n. 7, p. M372-M378, 2009.
- BILBAO-SÁINZ, C.; AVENA-BUSTILLOS, R. J.; WOOD, D. F.; WILLIAMS, T. G.; MCHUGH, T. H. Nanoemulsions prepared by a low-energy emulsification method applied to edible films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 58, n. 22, p. 11932-11938, 2010.

---

## DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA *SPIRULINA PLATENSIS*

\*Anny Manrich<sup>1</sup>, Beatriz da Cruz Mermejo<sup>1</sup>, Jheyce Cristina Moraes<sup>1</sup>, Juliano Elvis de Oliveira<sup>2</sup>, Luiz Henrique Capparelli Mattoso<sup>1</sup> Maria Alice Martins<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Embrapa Instrumentação, LNNA, São Carlos, SP. <sup>2</sup> Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB.  
\*anny.manrich@gmail.com

**Classificação:** Filmes, revestimentos comestíveis e embalagens funcionais para alimentos.

### Resumo

A microalga verde-azulada do grupo *Cyanobacter* denominada *Spirulina platensis* tem sido alvo de pesquisa e exploração em diversas áreas, como suplementação proteica de dieta humana e de animais, obtenção de substâncias bioativas para desenvolvimento de fármacos, produção de filmes de embalagens e para uso terapêutico no tratamento de determinadas doenças. Em sua composição estão aminoácidos essenciais e outros compostos de alto valor nutricional, entretanto relatos sobre a caracterização química da alga produzida no Brasil ainda não são conhecidos. Neste trabalho, a *Spirulina*, cultivada no Estado da Paraíba, foi caracterizada quanto a sua composição de lipídeos, clorofila, proteína, carboidratos, umidade, cinzas e análise química elementar por espectroscopia de energia dispersiva (EDS). Resultados mostram que a *Spirulina* brasileira possui 53% de proteína, 33% de carboidratos, 3% de lipídeos e 10% de cinzas. Análise qualitativa de elementos demonstrou a presença de metais e microelementos pertencentes à dieta humana, como K, Mg, Zn, e Na; e também a presença de alumínio em pequenas quantidades, o que pode ser resultado de contaminação de solo ou água de cultivo, indicando que deve ser estabelecido limite para o consumo diário deste material. Desta forma, a composição química da *Spirulina* brasileira é favorável ao seu uso em diversas áreas, incluindo alimentação humana.

**Palavras-chave:** *Spirulina platensis*; microalga; caracterização química; EDS.

### CHEMICAL CHARACTERIZATION OF *SPIRULINA PLATENSIS*

#### Abstract

The blue-green microalgae *Spirulina platensis* from the *Cyanobacter* group has been subject of research and exploration in various areas, such as for use as protein supplement in human and animal diets, to obtain bioactive substances for pharmaceutical developments, in film and packaging production and for therapeutic use in the treatment of certain diseases. It contains essential amino acids and other com-

pounds of high nutritional value. Reports on the chemical characterization of this algae produced in Brazil are not yet known. In this work, *Spirulina* cultivated in the state of Paraíba was characterized by moisture, ash, lipids, chlorophyll, protein and carbohydrates contents and chemical elements by energy dispersive spectroscopy (EDS). Results showed that *Spirulina* has a favorable chemical composition for food applications among other applications.

**Keywords:** *Spirulina*; microalgae; chemical characterization; EDS.

**Publicações relacionadas:** Caracterização da *Spirulina platensis* por termogravimetria, VI Jornada científica – Embrapa São Carlos

## 1 INTRODUÇÃO

A *Spirulina* é uma microalga verde-azulada pertencente ao grupo *Cyanobacter*, de micro-organismos fotossintetizantes que, apesar de serem unicelulares, agrupam-se formando filamentos. O grande interesse pelo estudo dessa microalga se deve ao seu alto potencial de aplicação, pois, além de conter entre 50 e 70%, em massa seca, de proteínas e aminoácidos essenciais; e possuir lipídeos, vitaminas e minerais de importante valor nutricional; estudos indicam que ela possui propriedades terapêuticas no tratamento de algumas doenças. Além de uso para suplementação de dieta humana e de animais, algumas áreas de aplicação da *Spirulina* são: tratamento de efluentes, obtenção de energia e obtenção de substâncias bioativas para uso em fármacos e cosméticos (Habib et al., 2008). Outra possível aplicação é na área de materiais, na produção de filmes comestíveis e de embalagens biodegradáveis, em substituição ao uso de materiais derivados de petróleo. Isso porque filmes produzidos à base de proteínas costumam ter propriedades superiores de barreira a gases ( $\text{CO}_2$  e  $\text{O}_2$ ) em comparação com filmes biodegradáveis à base de lipídeos e carboidratos (Zeller et al., 2012; Ou et al., 2005). A caracterização química de *Spirulina* comercial e não comercial já foi realizada por alguns autores. Ortega-Calvo, 1993 analisaram algumas espécies de algas vendidas como suplementação alimentar na Espanha, e Gaese, 2012 analisou *Spirulina platensis* cultivada no lago El Khadra, no Egito. Ambos verificaram que a microalga possui teores de proteínas acima de 50%, lipídeos em torno de 8% e carboidratos em torno de 16%, além de cinzas, com cerca de 10%. No entanto, não há relatos dessa caracterização realizada para a microalga no Brasil.

Neste trabalho, a caracterização química da *Spirulina platensis* cultivada na Fazenda Tamanduá, PB, foi realizada. Determinou-se a umidade, o teor de lipídios, clorofila, proteínas, carboidratos, cinzas e de elementos químicos por espectroscopia de energia dispersiva (EDS).

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Material

*Spirulina platensis* comercial na forma de pó seco foi cedida pela Fazenda Tamanduá, PB, Brasil. Os padrões de carboidratos de grau de HPLC foram adquiridos da Sigma-Aldrich: celobiose, glicose, xilose, ácido glucorônico, ácido galacturônico e arabinose. Outros reagentes foram grau PA.

### 2.2 Métodos

#### 2.2.1 Determinação do teor de umidade

O teor de umidade foi determinado usando uma balança de umidade de marca Marte, modelo ID50, operando a 105 °C até peso constante. Amostras analisadas continham 1,0 g e as medidas foram realizadas em triplicata.

#### 2.2.2 Determinação de extrativos

Extrações solventes sequenciais usando éter de petróleo e acetona foram utilizadas para determinar lipídios totais e teor de clorofila da *Spirulina*. Extrações foram feitas usando método de extração sólido-líquido com extrator tipo Soxhlet. Para o ensaio, 2 g de amostra foram envoltos com um filtro de papel e posicionado sobre o extrator 250 mL de solvente foram colocados em frascos previamente pesados para extração contínua de 8 horas com 10 ciclos por hora. Após remoção completa do solvente

num forno a 50 °C, o frasco foi pesado e o teor de extrativos calculado. As amostras foram secas e usadas para a caracterização de carboidratos.

### 2.2.3 Determinação de carboidratos

A determinação da composição de carboidratos foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), seguindo o procedimento descrito na norma ASTM E1758-01 para determinação de carboidratos em biomassa. Uma massa de 0,3 g de Spirulina livre de extrativos foi pesada. Foram adicionados 3,0 mL de ácido sulfúrico a 72%, sob agitação à temperatura ambiente durante 60 minutos. O material é submetido a autoclave a 121 °C durante 30 minutos e deixado resfriar até temperatura ambiente. O material foi filtrado e o pH foi ajustado a 5-6; filtrada e analisada por HPLC, utilizando um equipamento de cromatografia Varian 356 - LC (Agilent, EUA) com detector de RID 410 de troca iônica uma coluna Amimex HPX 87 H (Bio - Rad, EUA) e fase móvel H<sub>3</sub>SO<sub>4</sub> 5mM, a 50 °C, fluxo de 0,6 mL min<sup>-1</sup>. Os cromatogramas foram analisados e os carboidratos quantificados por meio da curva de calibração determinado para cada composto padrão (celobiose, glicose, xilose, arabinose, ácido galacturônico e ácido glucurônico).

### 2.2.4 Determinação do teor de cinzas

A determinação de cinzas foi realizada de acordo com a norma NREL/TP 510-42618 para biomassa. 200 mg de Spirulina foram colocados em cadinhos pré-pesados e levados a um forno tipo Mufla. O teor de cinzas foi calculado pesando-se os cadinhos no final do procedimento.

### 2.2.5 Determinação do teor de proteína

O teor de nitrogênio foi determinado por meio de análise elementar (CHN) com uso de equipamento da Perkin Elmer, modelo 2400. A porcentagem de proteína presente no material foi calculada multiplicando a porcentagem de nitrogênio por 6,25, como descrito na norma NREL/TP-510-42625 para determinação de proteína em biomassa.

### 2.2.6 Espectroscopia de energia dispersiva (EDS)

EDS é uma técnica analítica utilizada para a análise elementar de uma amostra. Esta análise foi realizada com o um microscópio de varredura da marca Jeol, modelo JSM 6510 oi operado em modo EDS (raios X) e 10 kV. A preparação das amostras foi feita a deposição de carbono pelo método de “Sputtering”, utilizando-se um equipamento Leica EM SCD 050 Sputter Coater.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Composição Química

A Spirulina apresentou 10,05% ± 0,05 de umidade. A composição química completa em porcentagem de massa seca é apresentada na Tabela 1. A porcentagem de proteína da alga representa mais de 50% em base seca, o que está de acordo com o descrito pela literatura (Habib et al., 2008; Zeller, et al., 2012).

**Tabela 1.** Composição química da Spirulina platensis em massa seca.

Componente	Porcentagem (% massa seca)	Desvio padrão (%)
<b>Proteína</b>	53,1	0,1
<b>Carboidratos</b>	33,6	1,9
<b>Lipídeos</b>	2,87	0,16
<b>Clorofila</b>	0,74	0,02
<b>Cinzas</b>	9,86	0,35

Componente	Porcentagem (% massa seca)	Desvio padrão (%)
<b>Total</b>	100,2	

Análise cromatográfica por HPLC apresentou os seguintes carboidratos para a Spirulina: celobiose: 3,2%; ácido glucurônico: 8,1%; ácido galacturônico: 2,9%; glicose: 8,1%; xilose: 7,2%; arabinose: 3,0%. Isso significa que a Spirulina contém 11,3% de celulose; 19,3% de hemicelulose e 2,9% de pectina; em massa seca. Autores referem-se à composição prevalente hemicelulósica e menos celulósica de carboidratos de algas verdes (Domozyk et. al., 1980).

A análise de extrativos realizada em duas etapas teve como objetivo a caracterização de lipídeos e clorofilas (ou extrativos não lipídicos) separadamente. Sendo o solvente de baixa polaridade, o éter de petróleo deve extrair os lipídeos e certas vitaminas lipofílicas da Spirulina. O método mais utilizado para extração de lipídeos totais é a extração Folch, empregando uma mistura 2:1 clorofórmio:metanol. No entanto, devido à toxicidade do clorofórmio, outros solventes ou misturas utilizando solventes de alcanos com álcoois podem ser eficientemente utilizados. Utiliza-se éter de petróleo ou éter etílico para a determinação rotineira de lipídeos, denominada também como extrato etérico. (Akoh, 2008). A clorofila, por sua vez, pode ser seletivamente extraída por acetona (Kobayashi et.al. 1997).

A composição de elementos químicos encontrados na Spirulina pela técnica de EDS é mostrada na Tabela 2. Por ser uma biomassa, a microalga contém majoritariamente os elementos orgânicos C, N e O. Outros elementos presentes como S e P, também fazem parte da construção das proteínas e células. Cu, Zn, Mg, K, Na e Cl estão entre os minerais e microelementos essenciais à ingestão humana. No entanto, os limites de ingestão diários para cada elemento devem ser observados para que este não se torne tóxico. O limite de ingestão de cobre para um homem adulto, segundo o Conselho regulatório do Governo dos Estados Unidos para alimentos e nutrição, *U.S. Food and Nutrition Board of the National Academies Institute of Medicine* (IOM), é de 10 mg por dia e para o zinco é de 40 mg. O alumínio, também detectado pela análise qualitativa de EDS, é considerado tóxico. Segundo a FAO, o limite de ingestão diária máxima é de 7 mg/Kg de massa corporal (FAO/WHO). Desta forma, a presença de Al na Spirulina não impediria seu consumo como alimento, desde que respeitados os limites de ingestão diários. A Spirulina pode concentrar íons encontrados no seu ambiente de cultivo (água e solo). Ela cresce preferencialmente em água alcalina, incorporando minerais e elementos químicos, que incorpora em sua constituição química. Por esse motivo, a alta capacidade de biossorção da Spirulina deve ser levada em consideração quando se escolhe o meio de cultivo, pois ela pode também absorver metais pesados como chumbo e mercúrio, caso presentes no meio de cultivo (Gaese, 2012).

**Tabela 2.** Elementos químicos presentes na Spirulina platensis e seu teor em porcentagem.

C	N	O	Na	Mg	Al	P	S	Cl	K	Cu	Zn
24,67	7,44	25,29	6,29	0,70	0,44	3,20	3,05	11,42	13,31	2,25	1,94

#### 4 CONCLUSÃO

A Spirulina platensis comercial cultivada no Brasil (fazenda Tamanduá) foi caracterizada neste trabalho. Resultados mostram que a Spirulina brasileira possui 53% de proteína, 33% de carboidratos, 3% de lipídeos e 10% de cinzas. Análise qualitativa de elementos por EDS demonstra a presença de K, Mg, Zn, e Na; Cl, Cu, os quais pertencentes à dieta humana. Entretanto demonstra a presença de alumínio, elemento considerado tóxico, geralmente originário de contaminações do meio (solo, água), indicando que deve ser estabelecido limite para o consumo diário deste material. Desta forma, a composição química da Spirulina é favorável ao seu uso na alimentação e em outras aplicações, como a de produção de filmes biodegradáveis, devido à alta quantidade de proteínas.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Capes, ao CNPq, FINEP e Projeto MP1 Rede Agronano – Embrapa.



## REFERÊNCIAS

AKOH, C. C. E MIN, D. B. Food Lipids: Chemistry, Nutrition, and Biotechnology, 3<sup>rd</sup>. Edition CRC Press 2008, 928 p.

DOMOZYCH, D.S.; STEWART, K.D.; MATTOX, K.R. The comparative aspects of cell wall chemistry in the green algae (Chlorophyta). *Journal of Molecular Evolution*, v. 15, p. 1-12, 1980.

FAO/WHO. Expert Committee on Food Additives. Evaluation of certain food additives and contaminants. 33rd Report. Geneva: World Health Organization – WHO, 1989. p. 26, 27, 47. (Technical Report Series n 776). Disponível em: <[http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO\\_TRS\\_776.pdf](http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_776.pdf)>. Acessado em: 01 julho 2014.

GAESE, H. Chemical Composition and Potential Application of *Spirulina platensis* Biomass. *International Journal of Agriculture & Environment*, n. 4, 2012.

HABIB, M.A.B.; PARVIN, M; HUNTINGTON, T.C.; HASAN, M.R. A review on culture, production and use of *Spirulina* as food for humans ad feeds for domestic animals and fish. *FAO Fisheries and Aquaculture Circular No. 1034*. Rome, 2008.

KOBAYASHI, Y. KURIMURA, Y. SAKAMOTO e TSUJI, Y. Selective extraction of astaxanthin and chlorophyll from the green alga *Haematococcus pluvialis* M. *Biotechnology Techniques*, v. 11, v. 9, p. 657–660, 1997.

ORTEGA-CALVO, J.J.; MAZUELOS, C.; HERMOSIN, B. AND SAIZ-JIMENEZ, C. Chemical composition of *Spirulina* and eukaryotic algae food products marketed in Spain. *Journal of Applied Phycology*, n. 5, p.425-435, 1993.

OU, S.; WANG, Y.; TANG, S.; HUANG, C.; JACKSON, M.G. Role of ferulic acid in preparing edible films from soy protein isolate. *Journal of Food Engineering*, n.70, p.205–210, 2005.

U.S. Food and Nutrition Board of the National Academies Institute of Medicine (IOM). Disponível em <<http://www.iom.edu/Activities/Nutrition/SummaryDRIs/DRI-Tables.aspx>>. Acessado em: 30 de julho de 2014.

ZELLER, M.A.; HUNT, R.; JONES, A.; SHARMA, S. Bioplastic blends from *Spirulina* and *Chlorella* Microalgae. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 150, n. 5, p. 3264-3275, 2013.

---

## QUALIDADE PÓS-COLHEITA DE MAMÕES “GOLDEN” UTILIZANDO NANOEMULSÃO DE CERA DE CARNAÚBA

\*Thaís L. Ohashi<sup>1</sup>, Lucimeire Pilon<sup>2</sup>, Poliana C. Spricigo<sup>1</sup>, Marcela Miranda<sup>1</sup>, Daniel S. Correa<sup>1,3</sup>, Marcos D. Ferreira<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP. <sup>2</sup>Embrapa Hortaliças, Gama, DF. <sup>3</sup>Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP.  
\*thais\_ohashi@yahoo.com.br

**Classificação:** Filmes, revestimentos comestíveis e embalagens funcionais para alimentos.

### Resumo

O presente estudo propôs caracterizar uma emulsão comercial de cera de carnaúba (Tanwax<sup>®</sup>) e avaliar a influência de diferentes concentrações desta emulsão comercial (2.4 e 4.8%) como revestimento para mamões ‘Golden’ durante o armazenamento. Análises físico-químicas foram realizadas, tais como perda de massa fresca, coloração da casca, índice de doenças, firmeza, pH, teor de sólidos solúveis, acidez titulável, *ratio* e teor de ácido ascórbico. A caracterização da emulsão de cera de carnaúba apresentou

parâmetros de estabilidade consistentes com nanopartículas. A aplicação de cera de carnaúba (2.4%) atrasou o amadurecimento em mamões; reduziu a incidência de doenças, perdas de massa fresca e firmeza; além de proporcionar maior brilho.

**Palavras-chave:** *Carica papaya* L.; Revestimento; Nanopartículas; Cera de carnaúba; Análises físico-químicas.

## POSTHARVEST QUALITY OF 'GOLDEN' PAPAYAS USING CARNAUBA WAX NANOEMULSION

### Abstract

This study aims to characterize a commercial emulsion of carnauba wax (Tanwax®) and evaluate the influence of different concentrations of this commercial emulsion (2.4 and 4.8%) as a protective coating for 'Golden' papayas during storage. Physicochemical analyses were performed, which include: fresh weight loss, peel color, decay index, firmness, pH, soluble solids content, titratable acidity, maturity index and ascorbic acid content. The characterization of carnauba wax emulsion presented stability parameters consistent with nanoparticles. Carnauba wax application (2.4%) delayed papayas ripening; reduced decay incidence, fresh weight and firmness losses; in addition providing higher brightness.

**Keywords:** *Carica papaya* L.; Coating; Nanoparticles, Carnauba wax, Physicochemical analyses.

### Publicações relacionadas:

Efeito do Revestimento de Cera de Carnaúba em Mamões 'Golden'. In: VII Workshop de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio, 2013, São Carlos, SP.

Qualidade Físico-Química de Mamões Revestidos com Cera de Carnaúba. In: IV Simpósio Brasileiro de Pós-Colheita de Frutas, Hortaliças e Flores e VII Encontro Nacional sobre Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças, 2013, Ribeirão Preto, SP.

## 1 INTRODUÇÃO

O mamão (*Carica papaya* L.) é um dos frutos mais populares e economicamente importantes de países tropicais e subtropicais. No entanto, como um fruto climatérico, o mamão é altamente perecível, mostrando altas taxas de perda devido a contaminações microbiológicas, distúrbios fisiológicos, danos mecânicos, maturação excessiva, manuseio inadequado e perda de integridade estrutural. Esses fatores podem se manifestar isoladamente ou em combinação, proporcionando perdas quantitativas, qualitativas e/ou nutricionais (SANKAT & MAHARAJ, 1997). Assim, o controle do amadurecimento durante o armazenamento e distribuição é importante para manter a alta qualidade dos frutos até chegar ao consumidor (ROHANI et al., 1997; HAMZAH et al., 2013).

A cera de carnaúba tem mostrado ser uma boa alternativa para a melhoria do armazenamento de frutos. A aplicação de cera de carnaúba melhora a aparência e controla a taxa de transpiração dos frutos, o que reduz a perda de massa e mantém a firmeza (KAPLAN, 1986), com consequente aumento da vida útil dos frutos (HAGENMAIER & BAKER, 1994; BARMAN et al., 2011). A nanotecnologia tem aplicações importantes em todos os aspectos da cadeia alimentar, incluindo armazenamento, monitoramento da qualidade, processamento e embalagens de alimentos (NEETHIRAJAN & JAYAS, 2011).

No entanto, a influência de nanocera de carnaúba sobre os atributos de qualidade e vida útil de mamões ainda não foi investigada. Portanto, este estudo propôs avaliar a influência da emulsão comercial de cera de carnaúba (Tanwax®) nas características físico-químicas de mamões 'Golden' (*Carica papaya* L.) durante o armazenamento.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Os mamões 'Golden' (*Carica papaya* L.) foram obtidos a partir de culturas comerciais localizadas em Linhares, ES, com o estágio 2 de maturação externa (correspondente a ¼ do amadurecimento dos frutos, com 15 a 25% da superfície da casca amarela) (USDA, 2004). Os frutos foram selecionados para eliminar aqueles com qualquer dano mecânico e doença, sendo lavados com detergente neutro e mantidos a 12 °C durante um dia. A emulsão de cera de carnaúba 16% (Tanwax TA 2C-76/A da Empresa Tanquímica, São Paulo) foi usada como solução base para as diluições. Os tratamentos consistiram na diluição em água desta emulsão comercial em duas concentrações diferentes: (1) solução Tanwax 2.4% (v/v) por imersão dos frutos inteiros durante 3 min, (2) solução Tanwax 4.8% (v/v) por imersão dos frutos inteiros durante 3 min, e

(3) controle: frutos lavados. O excesso de cera foi escoado por 10 minutos e, em seguida, o revestimento foi formado por secagem à temperatura ambiente durante 30 minutos e armazenado em câmara fria a  $22 \pm 1$  °C e 60-70% UR. As amostras foram analisadas a cada três dias em um total de 9 dias de armazenamento a frio.

A técnica de espalhamento dinâmico de luz foi usada para avaliar a partícula média (diâmetro hidrodinâmico) e o índice de polidispersão. O valor de potencial zeta em mV foi determinado utilizando o analisador Zetasizer Nano ZS (Nano Series, Malvern Instruments Ltd, França). As análises foram realizadas por diluição (1/100) da emulsão de cera de carnaúba em água Milli-Q® e os resultados foram expressos como a média de cinco repetições (VENKATRAMAN et al., 2005).

As avaliações físico-químicas realizadas foram: perda de massa fresca com o auxílio de uma balança digital e calculada em % com relação ao peso no dia 0; coloração da casca utilizando um refletômetro Hunter Lab, modelo 45/0-L, expressos em valores de  $L^*$ , croma e ângulo hue; índice de doenças através do método descrito por Cao et al. (2010); firmeza utilizando um texturômetro TA.XTplus Texture Analyser, equipado com uma sonda inoxidável de 4 mm de diâmetro; pH determinado em pHmetro PHS-3B (AOAC, 2010); teor de sólidos solúveis com um refratômetro digital Atago RX-5000cx e expressos em graus Brix, acidez titulável determinada por titulação de 10 g de amostra diluída em 50 mL de água destilada e 1% de fenolftaleína com 0.1 N de hidróxido de sódio (NaOH) até a mudança de cor (AOAC, 2010); *ratio* calculada da relação entre sólidos solúveis e acidez titulável; e teor de ácido ascórbico determinado pelo método de titulação por 2,6-diclorofenolindofenol (AOAC, 2010).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com esquema fatorial 3 x 4 (três tratamentos x quatro dias de amostragem) e três repetições, totalizando 36 amostras, tendo como unidade experimental cada mamão. Os resultados foram submetidos à análise de variância utilizando-se o programa Statistical Analysis System. As médias foram comparadas entre si pelo teste LSD, adotando-se o nível de significância de 5%.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A cera de carnaúba analisada tem tamanho de partícula de cerca de 42 nm com estreita polidispersão, indicando uma boa homogeneidade de tamanho desta emulsão. Os valores de potencial zeta da amostra indicam que as nanopartículas foram estáveis em solução, pois os valores mensurados foram maiores do que - 30 mV em módulo (ATTAMA et al., 2007).

A perda de massa fresca aumentou significativamente em todos os tratamentos durante o período de armazenamento. No entanto, os tratamentos de mamões 'Golden' revestidos com nanopartículas de cera de carnaúba em ambas concentrações de 2.4 e 4.8%, promoveram menor perda de massa em relação ao tratamento controle ao longo dos dias de armazenamento. Outros estudos têm mostrado que o revestimento de ceras em frutos é eficaz para reduzir a perda de massa, proporcionando menor murchar e taxa de doença e assim, manter a qualidade dos produtos (BARMAN et al., 2011).

A luminosidade e o croma mostraram diferenças significativas estatisticamente, porém, com pouca variação e percepção visual. Os mamões tratados com cera de carnaúba apresentaram maior brilho, melhorando a aparência em relação ao controle, como em Kaplan (1986), Hagenmaier e Baker (1994).

Os tratamentos com cera de carnaúba inibiram o aumento do índice de doenças, especialmente na concentração de 2.4%. Este fato pode ter ocorrido devido à atmosfera modificada promovida pela cera, o que retardou o amadurecimento e senescência dos frutos, reduzindo a sensibilidade dos tecidos à infecção por agentes patogênicos (PETRACEK et al., 1998).

Embora a perda de firmeza dos mamões ter sido observada em todos os tratamentos, os frutos revestidos com cera de carnaúba 2.4% apresentaram menor perda ( $p \leq 0.05$ ) (Tabela 1) devido à barreira física causada pelo revestimento, o que reduziu as trocas gasosas e frequência respiratória dos frutos através da atmosfera modificada (KAPLAN, 1986).

Os valores de pH aumentaram para todos os tratamentos, semelhante ao observado para os limões revestidos com nanopartículas de quitosana (HASHEMI & TAGHINEZHAD, 2012). As amostras tratadas com cera de carnaúba 4.8% apresentaram os maiores valores de pH (Tabela 1), diferindo significativamente dos demais tratamentos ( $p \leq 0.05$ ). O valor mais elevado de pH pode corresponder à menor acidez titulável.

O uso de nanopartículas de cera de carnaúba não mostrou nenhum efeito significativo sobre os parâmetros de sólidos solúveis, acidez titulável e *ratio* em mamões ( $p \geq 0.05$ ) (Tabela 1). As pequenas diferenças nas amostras possivelmente indicam uma estabilidade química da qualidade dos frutos, com mudanças físicas aparentes e eficazes devido ao uso da cera. Outros estudos encontraram resultados semelhantes (JACOMINO et al., 2003; JO et al., 2014).

**Tabela 1.** Firmeza, pH, sólidos solúveis, acidez titulável, *ratio* e ácido ascórbico em mamões revestidos com Tanwax, uma emulsão comercial de cera de carnaúba diluída em 2.4 e 4.8% durante o armazenamento por 9 dias a  $22 \pm 1$  °C e 60-70% UR

Tratamentos	Firmeza	pH	Sólidos solúveis	Acidez titulável	<i>Ratio</i>	Ácido ascórbico
	N		°Brix	g 100 mL <sup>-1</sup>	SS/AT	mg 100 mL <sup>-1</sup>
Controle	2.16 ab	5.25 b	13.63 a	0.08 a	183.43 a	70.70 a
Tanwax 2,4%	2.50 a	5.26 b	13.67 a	0.08 a	183.10 a	73.75 a
Tanwax 4,8%	1.80 b	5.49 a	13.83 a	0.07 a	195.68 a	68.75 a
CV (%)	28.7	1.8	7.3	7.9	10.5	17.3

Médias seguidas de letras diferentes na vertical diferem significativamente pelo teste de LSD ( $p \leq 0.05$ ).

#### 4 CONCLUSÃO

O uso da nanoemulsão de cera de carnaúba 2.4% para mamões foi a mais eficiente em manter a qualidade externa, reduzir a perda de massa dos frutos durante o período de armazenamento e prolongar a vida útil. A cera de carnaúba 4.8% apresentou eficiência inferior na conservação de mamões, mesmo quando comparada ao tratamento controle, demonstrando limites de saturação do soluto e resultando em efeitos adversos. Os biofilmes e revestimentos baseados em nanopartículas são ótimas alternativas para a conservação de alimentos, podendo substituir as embalagens convencionais ou serem aplicadas em combinação com elas, melhorando os seus efeitos.

#### AGRADECIMENTOS

À Embrapa Instrumentação e à Capes (NanoBiotecnologia) pelo auxílio da bolsa 2010/821336.

#### REFERÊNCIAS

- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis of the AOAC. 18. ed. 2005 Revision 3. Gaithersburg: AOAC International, 2010. 1 v.
- ATTAMA, A. A.; SCHICKE, B. C.; PAEPENMÜLLER, T.; MÜLLER-GOYMANN, C. C. Solid lipid nanodispersions containing mixed lipid core and a polar heterolipid: Characterization. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 67, p. 48-57, 2007.
- BARMAN, K.; ASREY, R.; PAL, R. K. Putrescine and carnauba wax pretreatments alleviate chilling injury, enhance shelf life and preserve pomegranate fruit quality during cold storage. *Scientia Horticulturae*, v. 130, p. 795-800, 2011.
- CAO, S.; HUI, Z.; PANG, B. Optimization of postharvest ultrasonic treatment of strawberry fruit. *Postharvest Biol. Technol.*, v. 55, p. 150-153, 2010.
- HAGENMAIER, R. D.; BAKER, R. A. Wax microemulsions and emulsions as citrus coating. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, v. 42, p. 899-902, 1994.
- HAMZAH, H. M.; OSMAN, A.; TAN, C. P.; GHAZALI, F. M. Carrageenan as an alternative coating for papaya (*Carica papaya* L. cv. Eksotika). *Postharvest Biol. Technol.*, v. 75, p. 142-146, 2013.
- HASHEMI, J.; TAGHINEZHAD, E. Effects of Nano Composite Coating on the Lemon Quality. In: *International Conference of Agricultural Engineering*, Valencia, Spain, 2012.
- JACOMINO, A. P.; OJEDA, R. M.; KLUGE, R. A.; FILHO, J. A. S. Postharvest conservation of guavas through carnauba wax emulsion applications. *Brazilian Magazine of Fruticulture*, v. 25, p. 401-405, 2003.
- JO, W.; SONG, H.; SONG, N.; LEE, J.; MIN, S. C.; SONG, K. B. Quality and microbial safety of 'Fuji' apples coated with carnauba-shellac wax containing lemongrass oil. *Food Science and Technology*, v. 55, p. 490-497, 2014.

KAPLAN, H. J. Washing waxing and color-adding. In: WARDOWSKI, W. F.; NAGY, S.; GRIERSON, W. (Eds.). Fresh Citrus Fruit. New York: AVI Publishing, 1986. p. 379-395.

NEETHIRAJAN, S.; JAYAS, D. S. Nanotechnology for the Food and Bioprocessing Industries. Food Bioprocess Technol., v. 4, p. 39-47, 2011.

PETRACEK, P. D.; DOU, H.; PAO, S. The influence of applied waxes on postharvest physiological behavior and pitting of grapefruit. Postharvest Biology and Technology, v. 14, p. 99-106, 1998.

ROHANI, M. Y.; ZAIPUN, M. Z.; NORHAYATI, M. Effect of modified atmosphere on the storage life and quality of Eksotika papaya. Journal of Tropical Agriculture and Food Science, v. 25, p. 103-113, 1997.

SANKAT, C. K.; MAHARAJ, R. Papaya. In: MITRA, S. K. (Ed.). Postharvest Physiology and Storage of Tropical and Subtropical Fruits. Cab International, UK, 1997. p. 167-189.

USDA. USDA Agriculture Handbook. USDA, Agr. Mktg. Serv., Washington, DC. 2004.

VENKATRAMAN, S. S.; JIE, P.; MIN, F.; FREDDY, B. Y.; LEONG-HUAT, G. Micelle-like nanoparticles of PLA-PEG-PLA triblock copolymer as chemotherapeutic carrier. Int. J. Pharm, v. 298, p. 219-232, 2005.

---

## MUDANÇA NA COLORAÇÃO EM FILMES DE AMIDO ACRESCIDOS COM NANOFIBRAS DE EUCALIPTO E PÓ DE AÇAÍ

\*Camila Miriam Morais<sup>1</sup>, Thaís Ferreira da Silva<sup>2</sup>, Gustavo Denzin Tonoli<sup>3</sup>, Kelen Cristina dos Reis<sup>3</sup>

Centro Universitário de Lavras - UNILAVRAS<sup>1</sup>, Departamento de Ciência dos Alimentos (DCA), UFLA<sup>2</sup>, Departamento de Ciências Florestais (DCF)<sup>3</sup>- Universidade Federal de Lavras, UFLA, MG.  
\*milamirian2008@hotmail.com

**Classificação:** Filmes, revestimentos comestíveis e embalagens funcionais para alimentos

### Resumo

Filmes de amido de milho acrescidos com nanofibras de eucalipto e pó de açaí foram analisados quanto às propriedades na mudança de coloração em presença de diferentes pH's. Os filmes foram obtidos pelo "processo casting" e constatou-se que em meio ácido os filmes tendiam ao rosa e em meio básico ao marrom, esta diferença na coloração se dá devido a presença de antocianinas que são pigmentos responsáveis por uma variedade de cores atrativas de frutas, flores e folhas que variam do vermelho ao azul.

**Palavras-chave:** Filme; Amido; pH; Cor; Nanofibras

### CHANGE IN COLOURING IN FILMS WITH STARCH ADDITION EUCALYPTUS NANOFIBERS AND ACAI POWDER

#### Abstract

Films of cornstarch added to eucalyptus nanofibers and acai powder were analyzed for their properties in color change in the presence of different pH's. The films were obtained by the "casting procedure" and it was observed that in acidic films tended to pink to brown and basic medium, this difference in color is due to anthocyanin pigments which are responsible for a variety of attractive colors fruit, leaves and flowers ranging from red to blue.

**Keywords:** Film; Starch; pH; Color; Nanofibers

## 1 INTRODUÇÃO

Os filmes biodegradáveis podem ser caracterizados a base de macromoléculas que são políme-

ros naturais. O amido tem sido considerado como um dos candidatos mais promissores, principalmente por sua disponibilidade de preço baixo e produção a partir de fontes renováveis. No Brasil, as cinco espécies consideradas como fontes de amido comercial são o milho, trigo, arroz, batata e mandioca (COSTA, 2008).

A aplicação de nanofibras em filmes para embalagens promete abrir novas possibilidades para melhorar não só as propriedades, mas também a eficiência, contribuindo para a preservação de alimentos fresco ao estender sua vida útil, além de reduzir os resíduos de embalagens (SORRENTINO et al, 2007).

Os filmes inteligentes consistem em sistemas onde a comunicação com o consumidor é possível, por exemplo, através de informações relacionadas a qualidade e segurança do produto através das embalagens. Isso envolve a incorporação de sensores ou indicadores que respondem por sinal (elétrico ou colorimétrico) as alterações das condições iniciais (DAINELLI, 2008). Entre os diferentes tipos de embalagens inteligentes, encontram-se as indicadoras de pH, que indicam a correlação entre o produto embalado e seu pH através de sensores químicos ou fisicamente associados a embalagens. Esse tipo de embalagem é uma alternativa interessante para a indústria de alimentos, sendo utilizados em carnes e frutas além de outros produtos, pois existe um interesse em desenvolver métodos para a avaliação da frescura destes de tal forma que o próprio consumidor possa avaliar as condições de consumo mediante a indicação de alterações de pH do alimento (HERRY; O'GRAY; HOGAN, 2006). A mudança no pH altera a cor devido as antocianinas que são pigmentos derivados de sais flavílicos solúveis em água e responsáveis pela ampla variedade de cores azul, violeta, vermelha e rosa na maioria de flores e frutos.

Por tanto, o objetivo do presente trabalho foi, desenvolver filmes biodegradáveis formulados a base de amido de milho e reforçados com nanofibras de eucalipto, além do reforço foi incorporado pigmento natural antocianina, neste caso o pó de frutos de açaí, onde o teor de antocianinas totais na casca é de 263 mg/ 100g (BOBBIO, 2000). Os filmes biodegradáveis ativos obtidos foram estudados quanto as propriedades óticas e avaliados o potencial da mudança de cor do filme em função da alteração de pH do meio após mergulhar os filmes em soluções tampões de pH ácido, básico e neutro.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Obtenção de caracterização das nanofibras celulósicas

Para obtenção de nanofibras foi preparada uma solução contendo 2,5% de polpa branqueada comercial de Eucalipto em água, saturada por no mínimo 48 h e agitada mecanicamente por 20 min. Para obtenção das nanofibras utilizou-se um desfibrilador mecânico (Grinder supermasscoloider MKCA6-3, MASUKO SANGYOU Co., Ltda.) com velocidade de trabalho de 1700 rpm e corrente elétrica de 5A. A suspensão de nanofibras em aspecto gelatinoso foi obtida após 90 passagens pelo moinho, coletadas e armazenadas em ambiente resfriado.

### 2.2 Elaboração do filme

Os filmes de amido foram elaborado pelo processo "casting". (SOBRAL, 2000) a partir de 3g de milho, 20% glicerol (plastificante), pó de açaí com diferentes concentrações (10%, 20% e 30% em relação a massa do amido) 100mL de água destilada. O pó com antocianina foi obtido a partir de frutos de açaí macerados e este foi misturado à suspensão de amido em água com aquecido e agitação constante (65°C por 5 min). Após resfriamento a mistura (10mL) foi vertida em placas de petri e levada em estufa com ventilação forçada (20°C por 72 horas) para secagem. A mudança de cor do filmes obtidos foram analisados utilizando-se soluções padrões de pH = 4 (ácido), pH=7 (neutro) e pH = 12 (básico).

### 2.3 Propriedades óticas dos filmes

As leituras foram realizadas com espectrofotômetro de cor (colorímetro Konica Minolta, CM-5), com ângulo de observação 10° e iluminante D65 para obter as coordenadas  $L^*a^*b^*$  ( $L^*$  = luminosidade, faixa de 0 (preto) a 100 (branco); parâmetro  $a^*$  = variação no eixo verde/vermelho ( $-a^*/a^*$ ) e o parâmetro  $b^*$  = variação no eixo azul/amarelo ( $-b^*/b^*$ ). As leituras foram realizadas no padrão C.I.E.  $L^*a^*b^*$ , onde os valores  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  são usados para calcular a diferença de cor, o  $C^*$  = croma (representando a intensidade da cor ou saturação) e o  $H^*$  = ângulo Hue (vermelho a 0°, amarelo a 90°, verde a 180°, e azul a 270°).

As alterações em cada parâmetro individual de cor foram calculadas de acordo com as Eq. 1 a

3 (HUNTERLAB, 1996):

$$\Delta L^* = L^* - L^*_0 \quad (1)$$

$$\Delta a^* = a^* - a^*_0 \quad (2)$$

$$\Delta b^* = b^* - b^*_0 \quad (3)$$

Onde:  $L^*_0$ ,  $a^*_0$  e  $b^*_0$  referem-se ao parâmetro inicial de cor da amostra. A diferença total de cor ( $\Delta E^*$ ) foi determinada usando a Eq.4, de acordo com HUNTERLAB (1996):

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2 + (\Delta L^*)^2} \quad (4)$$

A cromaticidade ou croma ( $C^*$ ) foi obtida pela equação:  $C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}}$ , na qual, a e b são parâmetros de  $L^*a^*b^*$ . O ângulo Hue é definido como iniciando no eixo +a e é expresso em graus, sendo que  $0^\circ$  corresponde a +a (vermelho),  $90^\circ$  corresponde a +b (amarelo),  $180^\circ$  corresponde a -a (verde) e  $270^\circ$  corresponde a -b (azul). O valor de Hue é a variável que melhor representa a evolução de coloração.

Para o cálculo de tonalidade empregou-se a fórmula do ângulo Hue ( $H^\circ$ ) de acordo com os valores de  $a^*$  e  $b^*$  obtidos, da seguinte forma:

- Valores de  $a^*$  e  $b^* > 0$ :  $H^\circ = \arctg(b^*/a^*)$
- Valores de  $a^* < 0$  e  $b^* > 0$ :  $H^\circ = 180^\circ + \arctg(b^*/a^*)$
- Valores de  $a^*$  e  $b^* > 0$ :  $H^\circ = 270^\circ + \arctg(b^*/a^*)$
- Valores de  $a^*$  e  $b^* > 0$ :  $H^\circ = 360^\circ + \arctg(b^*/a^*)$

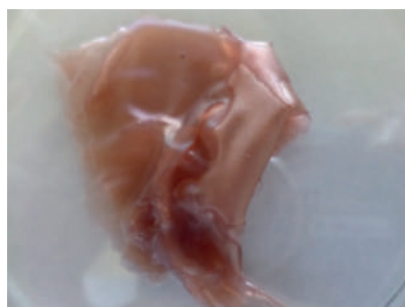
### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Mudança de cor nos filmes

Os filmes ficaram escuros e opacos por causa da adição do pó de açaí. Constatou-se que em meio ácido os filmes tendiam a cor rosa e em meio básico a cor marrom conforme Figura 1, 2 e 3 abaixo. Esta diferença na coloração se dá devido a presença de antocianinas.



**Figura 1.** Filmes de amido reforçados com nanofibras de eucalipto e adicionados de pó de açaí.



**Figura 2.** Filmes de amido reforçados com nanofibras de eucalipto e pó de açaí submetidos à solução padrão de pH= 4.



**Figura 3.** Filmes de amido reforçados com nanofibras de eucalipto e pó de açaí submetidos à solução padrão de pH=12.

### 3.2 Propriedades ópticas dos filmes poliméricos

Os resultados obtidos por meio da análise de cor utilizando o espectrofotômetro estão apresentados na Tabela 1.

**Tabela 1.** Valores médios dos parâmetros de cor para filmes de amido reforçados com nanofibras e adicionados de diferentes concentrações de pó extraído de frutos de açaí.

Análise de cor para filmes de açaí												
	Concentração 0%			Concentração 20%			Concentração 30%			Concentração 10%		
Repetições	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*
Média	98,94	0,06	0,39	29,65	3,24	3,97	29,96	3,13	3,45	31,87	0,72	1,14
Alterações $\Delta L^*$ , $\Delta a^*$ , $\Delta b^*$				-69,29	3,18	3,59	-68,98	3,07	3,06	-67,07	0,66	0,76
Diferença total. cor ( $\Delta E^*$ )				69,45			69,12			67,07		
Croma ( $C^*$ )				5,12			4,33			1		
Ângulo (Hue) ( $H^*$ )				0,89			0,78			0,85		

L (luminosidade) 0=preto e 100=branco, a (-verde, + vermelho) e b (-azul, +amarelo), seguindo a metodologia de Ghoparde et al. (1995).

Croma é parte da cor, na qual não há participação da luminosidade, representada no espaço bi-dimensional. O material é considerado transparente quando a luz incidente o atravessa com mínimo de absorção e reflexão. O oposto da transparência é a opacidade, onde o objeto absorve ou reflete toda luz nele incidente, sem que ocorra a transmissão de luz. A cor das amostras transparentes é avaliada pela transmissão da luz, fazendo a leitura da luz transmitida. O croma ( $C^*$ ) define a intensidade de cor, ou seja, valores próximos a zero são indicativos de cores neutras (branco e/ou cinza) e valores ao redor de 60 indicam cores vividas e/ou intensas (FERNANDES *et al*, 2010). O ângulo hue representa a coloração ou tonalidade. Os filmes de açaí apresentaram cores intensas mais voltadas para o vermelho/amarelo como indica os valores de  $L^*a^*b$  e, conforme aumenta-se a concentração do pó de açaí, as cores ficam mais intensas.

## 4 CONCLUSÃO

O resultado esperado no experimento foi alcançado com êxito. No meio ácido os filmes ficaram rosa e no meio básico marrom e com o aumento da concentração do pó de açaí as tonalidades ficaram mais intensas, podendo estes serem utilizados para a fabricação de embalagens inteligentes.

## AGRADECIMENTOS

UFLA, FAPEMIG, CNPq e CAPES pelo apoio financeiro.

## REFERÊNCIAS

BOBBIO, F.O.; DRUZIAN, J.; ABRÃO, P.A.; BOBBIO, P.A.; FADELLI, S. Identificação e quantificação das antocianinas do fruto do açaizeiro (euterpe Oleracea Mart). Cienc. Tecnol. Aliment, v.20, n.3, 2000



COSTA, D. L. M. G. Produção por extrusão de filmes de alto teor de amido termoplástico de mandioca com poli(butileno adipato co-tereftalato) (PBAT). 2008. 90p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2008.

Dainelli, D.; Gontard, N.; Spyropoulos, D.; Zondervan, E. & Tobback, P. - Trends Food Sci. Technol., 19, p.S103 (2008).

KERRY, J.P.; O'GRADY, M.N.; HOGAN, S.A. Past, current and potential utilisation of active and intelligent packaging systems for meat and muscle-based products. A review. Meat science, v.74, p. 113-130, 2006.

SORRENTINO, A.; GORRASI, G.; VITTORIA, V. Potential perspectives of bio-nanocomposites for food packaging applications. Trends in Food Science & Technology, Amsterdam, v. 18, n. 2, p. 84-95, 2007. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2006.09.004>.

---

## SÍNTESE DE NANOEMULSÃO DE CERA VEGETAL E AVALIAÇÃO NA CONSERVAÇÃO PÓS-COLHEITA DE FRUTOS

Marcela Miranda<sup>1</sup>; Brenda Domholf<sup>1</sup>; Marina De Mori Morselli Ribeiro<sup>2</sup>; Poliana Cristina Spricigo<sup>1</sup>; Lucimeire Pilon<sup>3</sup>; \*Daniel Souza Corrêa<sup>4</sup>; Marcos David Ferreira<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de São Carlos-UFSCar. <sup>2</sup>Universidade de São Paulo-USP. <sup>3</sup>Embrapa Hortaliças.

<sup>4</sup>Embrapa Instrumentação.

\*[daniel.correa@embrapa.br](mailto:daniel.correa@embrapa.br)

**Classificação:** Filmes, revestimentos comestíveis e embalagens funcionais para alimentos.

### Resumo

A manutenção da qualidade e redução de perdas em frutas e hortaliças são os principais interesses das tecnologias aplicadas à pós-colheita. O uso de revestimentos comestíveis mostra-se eficiente na manutenção da qualidade de frutos, uma vez que pode promover alteração da permeabilidade de vapor de água, redução da contaminação por micro-organismos e aumento da vida útil dos frutos. Esses revestimentos quando nanoestruturados têm suas propriedades mecânicas, térmicas e de barreira melhoradas. Este trabalho objetivou a obtenção de nanoemulsão de cera vegetal e posterior aplicação na conservação pós-colheita de frutos. A nanoemulsão foi obtida através do aquecimento das fases oleosa e aquosa; adição de uma sob a outra e ciclo de homogeneização. As amostras foram caracterizadas por meio de microscopia eletrônica de varredura, medidas de tamanho (diâmetro hidrodinâmico), índice de polidispersão e potencial zeta. As nanopartículas apresentaram tamanho de 160nm, compatível com nanoemulsões e índice de polidispersão estreito. As medidas de potencial zeta apresentaram moderada estabilidade coloidal (-24 mV). A obtenção de nanoemulsão de cera vegetal com bons parâmetros de estabilidade, através do processo de homogeneização à alta pressão, possibilita a sua utilização na conservação pós-colheita de frutos.

**Palavras-chave:** Filmes Nanoestruturados; Nanopartículas Lipídicas; Cera Vegetal; Revestimento Comestível

### PLANT WAX NANOEMULSION SYNTHESIS AND EVALUATION POST-HARVEST FRUIT

#### Abstract

The quality maintenance and loss reduction in fruits and vegetables are of great interest for the post-harvest technology application. Edible coatings showed to be effective in maintaining fruit quality, because they can change the permeability of water vapor; reduce contamination by microorganisms and increase fruit shelf life. By using nanostructured edible coatings, mechanical, thermal and barrier properties are improved. The work aimed at obtaining plant wax nanoemulsion and use it as post-harvest treatment in fruits. The nanoemulsion was obtained by heating up the oil and aqueous phases, adding one under the other and then by performing a homogenization cycle. The samples were characterized by scanning electron microscopy (SEM), measurements of size, polydispersion index and zeta potential. Nanoparticles with 160 nm were obtained, compatible with nanoemulsions and narrow polydispersion index;

the zeta potential measurements showed moderate colloidal stability (-24,9 mV). The synthesis of nanoemulsion plant wax with good stability, by a high pressure homogenization process, enables its use in post-harvest treatment of fruits.

**Keywords:** Nanostructured Films; Lipid nanoparticles; Plant wax; Edible coating

## 1 INTRODUÇÃO

A manutenção da qualidade físico-química de frutas e hortaliças entre a colheita e o consumo é o principal interesse das tecnologias pós-colheita, as quais buscam aumentar a conservação e a qualidade dos produtos, reduzindo perdas qualitativas e quantitativas. Dentre essas tecnologias, revestimentos podem ser usados em frutos e hortaliças para melhorar ou substituir algumas funções realizadas pelas camadas da epiderme natural. Filmes e revestimentos comestíveis são aplicados em finas camadas de material sobre os alimentos, e após a evaporação do solvente, o depósito forma uma fina película sobre a superfície (CARVALHO FILHO, 2000).

Cera vegetal tem sido aplicada sobre frutos e hortaliças desde a década de 1930 com a finalidade de diminuir a perda de umidade, reduzir a abrasão da superfície do fruto durante o seu manuseio, melhorar a integridade mecânica e controlar a composição gasosa interna dos frutos (LIN e ZHAO, 2007).

O uso de revestimentos comestíveis mostra-se eficiente na manutenção da qualidade de frutos, já que podem: alterar a permeabilidade de vapor de água; diminuir a deposição de micro-organismos, aumentar a vida útil dos frutos, conferir maior brilho e atratividade visual. Revestimentos na forma nanoestruturada podem promover melhoras em suas propriedades mecânicas, térmicas e de barreira (WANG *et al.*, 2007; BELBEKHOUCHE *et al.*, 2011). Sendo assim, uma estratégia interessante é utilizar rotas físicas ou químicas que consigam diminuir o tamanho de alguns sistemas e obter as nanoemulsões, as quais podem apresentar características diferenciadas em relação às emulsões convencionais para revestimento de frutos.

Apesar das ceras vegetais serem extensivamente utilizada para formação de revestimentos convencionais, este polímero natural foi pouco estudado para formação de filmes nanoestruturados (BRITTO; ASSIS, 2007; MOURA *et al.*, 2009). Este estudo teve como finalidade a obtenção de nanoemulsão de cera vegetal para aplicação na conservação da qualidade pós-colheita de frutos.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

A obtenção da nanoemulsão foi realizada através da adição da fase oleosa aquecida (emulsificante e cera vegetal), sobre a fase aquosa (água deionizada), lentamente e sob agitação rápida, sob temperatura controlada de ambos os sistemas. Após adição, o sistema foi mantido sob agitação durante 5 minutos (MEHNERT e MADER, 2001; SOUTO e MÜLLER, 2005; DAS e CHAUDHURY, 2011).

As medidas de tamanho (diâmetro hidrodinâmico), potencial zeta (estabilidade coloidal) e índice de polidispersão das amostras foram realizadas diluindo-as na razão de 1:100 em água Milli-Q e posteriormente avaliadas em analisador de partículas da Malvern Instruments-Zetasizer Nano ZS90 (Nano Series, Malvern Instruments Ltd, France), acoplado a um detector de ângulo fixo de 90° e 25 °C de temperatura. Distribuições de tamanho e de polidispersão foram determinadas e expressas como a média de cinco réplicas (Görner *et al.*, 1999; Venkatraman *et al.*, 2005).

A análise morfológica da nanoemulsão de cera vegetal foi realizada em microscópio eletrônico de varredura de alto vácuo (FEG-SEM JEOL JSM-6701F®), distribuindo-se uma gota da solução diluída 1:400 sobre um waffer de silício e seca em dissecador a vácuo de policarbonato durante 24 h. As amostras foram colocadas em stubs e revestidas com uma camada de carbono, por evaporação (Sputter Coater ® SCD050 LEICA, com acessório para evaporação de carbono).

As avaliações pós-colheita físico-químicas, microbiológicas e fisiológicas de frutos revestidos com a nanoemulsão de cera vegetal serão realizadas em próxima etapa do projeto.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tamanho hidrodinâmico, índice de polidispersão (PDI) e potencial zeta são informações sobre a estabilidade de uma emulsão. De modo geral, o PDI apresenta a distribuição de tamanho das nanopartículas e, frequentemente, suspensões coloidais com valores de até 0,2 são consideradas como bons indicadores de estabilidade (LEMARCHAND *et al.*, 2003). Já o potencial zeta ( $\zeta$ ) é um parâmetro que indica a carga superficial das partículas e, geralmente, valores (em módulo) acima de 30 mV evidenciam

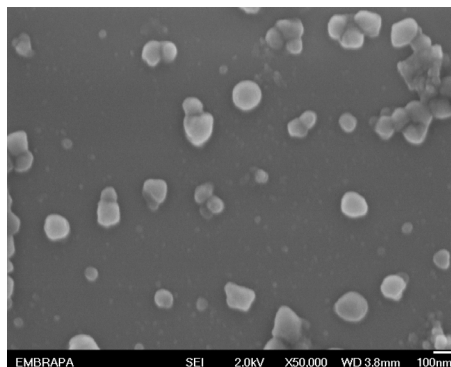
estabilidade em suspensão, já que a carga da superfície impede a agregação de partículas (MOHANRAJ E CHEN, 2006). A tabela 1 apresenta os valores de tamanho hidrodinâmico, índice de polidispersão e potencial zeta da nanoemulsão obtida.

**Tabela 1.** Valores de tamanho hidrodinâmico (nm), índice de polidispersão (PDI) e o potencial zeta ( $\zeta$ ) obtidos para a nanoemulsão de cera vegetal.

Caracterização Nanoemulsão de cera de vegetal	
Parâmetro	Nanoemulsão de cera de vegetal
Diâmetro hidrodinâmico (Size- nm)	160
Índice de polidispersão (PDI)	0,146
Potencial zeta ( $\zeta$ ) (mV)	- 24,9

Os resultados apresentados na Tabela 1 evidenciam que a nanoemulsão de cera de vegetal obtida apresenta tamanho (diâmetro hidrodinâmico) de 160 nm e polidispersão estreita, indicando uma boa homogeneidade de tamanho das partículas (LEMARCHAND *et al.*, 2003). As medidas de potencial zeta apresentaram moderada estabilidade coloidal em solução (-24,9 mV), uma vez que valores de boa estabilidade devem ser em módulo, maiores que 30 mV (GUTERRES *et al.*, 1995; ATTAMA *et al.*, 2007).

A imagem de microscopia eletrônica de varredura MEV (Figura 1) confirma o pequeno diâmetro e a homogeneidade de tamanho das nanopartículas de cera vegetal, obtidas através da nanoemulsão sintetizada.



**Figura 1.** Imagem de microscopia eletrônica de varredura (MEV), evidenciando a morfologia das nanopartículas de cera vegetal obtidas a partir da nanoemulsão sintetizada.. Escala: 100 nm, aumento de 50.000x.

#### 4 CONCLUSÃO

Através do processo de emulsificação foi possível a obtenção de nanoemulsão com bons parâmetros de estabilidade. Posteriormente, a nanoemulsão obtida será avaliada na conversação pós-colheita de frutos. Espera-se que a continuidade deste trabalho permita aprimorar a produção de ferramentas de caracterização destas nanoemulsões, ainda pouco estudadas para alguns lipídios vegetais, que poderão ser estendidas para a análise da preservação de diversos frutos.

#### AGRADECIMENTOS

CNPq-Processo 482535/2012-1; Capes e Embrapa Instrumentação

#### REFERÊNCIAS

ATTAMA, A.A., SCHICKE, B.C., PAEPENMÜLLER, T., MÜLLER-GOYMANN, C.C., 2007. Solid lipid nanodispersions containing mixed lipid core and a polar heterolipid: Characterization. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 67, 48-57.

- BELBEKHOUCHE, S.; BRAS, J.; SIQUEIRA, G.; CHAPPEY, C.; LEBRUN, L.; KHELIFI, B.; MA-RAIS, S.; DUFRESNE, A. Water sorption behavior and gas barrier properties of cellulose whiskers and microfibrils films. *Carbohydrate Polymers*, Barking, v. 83, p. 1740-1748, 2011.
- BRITTO, D.; ASSIS, O.B.G. Synthesis and mechanical properties of quaternary salts of chitosan-based films for food application. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 41, p. 198-203, 2007.
- CARVALHO FILHO, C. D. Avaliação da Vida de Armazenagem e Qualidade de Cerejas (*Prunus avium* L.) cv. Ambrunés, com a Utilização de Coberturas Comestíveis. 2000. 134 f. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) – FEAGRI, UNICAMP, Campinas.
- Das, S., Chaudhury, A. Recent advances in lipid nanoparticle formulations with solid matrix for oral drug delivery. *American Association of Pharmaceutical Scientists, AAPS Pharmscitech*, 12, (1), p. 62-76, 2011.
- GÖRNER, T., GREF, R., MICHENOT, D., SOMMER, F., TRAN, M.N., DELLACHERIE, E., 1999. Lidocaine –loaded biodegradable nanospheres. I. Optimization of the drug incorporation into the polymer matrix. *J. Control. Release*. 57, 259-268.
- GUTERRES, S.S., FESSI, H., BARRATT, G., DEVISSAGUET, J.P., PUISIEUX, F., 1995. Poly (D, L-lactide) nanocapsules containing diclofenac. I. Formulation and stability study. *Int. J. Pharm.* 113, 57-63.
- LEMARCHAND, C., COUVREUR, P., VAUTHIER, C., COSTANTINI, D., GREF, R., 2003. Study of emulsion stabilization by graft copolymers using the optical analyzer Turbiscan. *International Journal of Pharmaceutics*. 254, 77-82.
- LIN, D.; ZHAO, Y. Innovations in the development and application of edible coatings for fresh and minimally processed fruits and vegetables. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, v. 6, n. 3, p. 60-75, 2007.
- MEHNERT, W., MADER, K. Solid lipid nanoparticles: production, characterization and applications. *Advanced Drug Reviews*, 47, p. 165-196, 2001.
- MOHANRAJ, V.J., CHEN, Y., 2006. Nanoparticles – A Review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 5, 561-573.
- MOURA, M.R. de; AOUADA, F.A.; AVENA-BUSTILLOS, R.J., McHUGH, T.H. KROCHTA, J.M.; MATTOSO, L.H.C. Improved barrier and mechanical properties of novel hydroxypropyl methylcellulose edible films with chitosan/tripolyphosphate nanoparticles. *Journal of Food Engineering*, v.92, p.448-453, 2009.
- SOUTO, E. B, MÜLLER, R. H. Lipid nanoparticles (SLN and NLC) for drug delivery, in *Nanoparticles for pharmaceutical applications*, Capítulo 5. American Scientific Publishers, p.103 – 121, 2005.
- VENKATRAMAN, S.S., JIE, P., MIN, F., FREDDY, B.Y., LEONG-HUAT, G., 2005. Micelle-like nanoparticles of PLA-PEG-PLA triblock copolymer as chemotherapeutic carrier. *Int. J. Pharm.* 298, 219-232.
- WANG, X.; YAN, Y.; YOST, M. J.; FANN, S. A.; DONG, S.; LI, X. Nanomechanical characterization of micro/nanofiber reinforced type I collagens. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, Hoboken, v. 83A, n. 1, p. 130-135, 2007.

# AVALIAÇÃO DA INTERAÇÃO DOS FILMES DE ZEÍNA COM ADIÇÃO DE NANOFIBRAS DE CELULOSE NO ORGANISMO DE RATOS MACHOS DA VARIEDADE WISTAR

\*CORRÊA, T. R. A.<sup>1</sup>, SCRAMIN, J. A.<sup>1</sup>, BIFFE, B.<sup>2</sup>, WANG, C.C.<sup>2</sup>, NONAKA, K. O.<sup>2</sup>, FORATO, L.A.<sup>1</sup>, BERNARDES-FILHO, R.<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP. <sup>2</sup>Universidade Federal de São Carlos, Departamento de Fisiologia, SP.

\*tassianecorrea@ig.com.br

**Classificação:** Filmes, revestimentos comestíveis e embalagens funcionais para alimentos.

## Resumo

Para avaliar o efeito da ingestão de alimentos revestidos com filmes a base de zeína com adição de nanofibras de celulose, foi realizado um experimento com dois grupos de ratos Wistar. O primeiro grupo foi alimentado com ração revestida com o filme de zeína e nanofibra de celulose e o segundo com ração sem revestimento. Esses animais foram acompanhados diariamente quanto a seus hábitos fisiológicos e, após a eutanásia, analisou-se alguns órgãos e realizou-se teste sanguíneo. Os resultados indicaram que a ingestão da ração revestida com a solução filmogênica apenas alterou a quantidade hídrica ingerida pelos ratos, isso devido a ração após revestida ter um alto teor de proteína, além disso, a taxa de colesterol dos animais que se alimentaram com ração revestida apresentou um pequeno aumento, aumentando assim o tamanho do baço. Com isso, conclui-se que apesar de ter aumentado as concentrações séricas do colesterol total e peso do baço dos ratos experimentais em relação aos ratos controles, não foi observado alterações nos outros parâmetros analisados, o que é um indicativo de que a ração não causou problemas à saúde dos animais.

**Palavras-chave:** Filmes comestíveis; Nanofibras de celulose; Zeína; Nanotoxicidade.

## EVALUATION OF CHRONIC INTERACTION OF ZEIN FILMS WITH CELLULOSE NANOFIBERS ADDITION IN THE ORGANISM OF WISTAR MALE RATS

### Abstract

To evaluate the effect of intake based films coated with zein with added cellulose nanofibers, food, an experiment was conducted with two groups of Wistar rats. The first group was fed coated with zein film and cellulose nanofiber and the second with uncoated feed ration. These animals were monitored daily for their daily eating habits and after euthanasia examined whether some organ and blood test was performed. The results indicated that ingestion of the coated food changed only water quantity ingested by rats that feed after coated due to having a high protein content, in addition, the cholesterol of the animals that were fed diet coated presented a little altered, thereby increasing the size of the spleen. Thus, it is concluded that despite increased concentrations serum total cholesterol and spleen weight of the experimental rats compared to control rats, no change was observed in the other parameters analyzed, which is an indication that the diet did not cause health problems of animals.

**Keywords:** Edible films; Cellulose nanofibers; Zein; Nanotoxicidade.

## 1 INTRODUÇÃO

A utilização de revestimentos comestíveis a base de proteínas altamente hidrofóbicas aplicadas diretamente na superfície de alimentos é uma das alternativas que vem sendo estudada para minimizar perdas referentes ao manuseio, armazenamento e transporte oferecendo ao produtor de frutas mais rentabilidade e ao consumidor produtos de maior qualidade.

Dentre os materiais estudados, as proteínas, principalmente as de origem vegetal são as mais promissoras por serem biodegradáveis, atóxicas e obtidas de fontes renováveis. Entre outras vantagens, filmes a base dessas proteínas quando aplicados diretamente nas superfícies de alimentos, não alteram a cor, sabor e formam uma barreira contra umidade e oxigênio diminuindo a troca gasosa com o ambiente, diminuindo as perdas nos processos pós-colheita (SCRAMIN et al., 2007), além de ter potencial para substituir o uso de polímeros sintéticos de uso tradicional nos alimentos, melhorando a integridade mecânica e as características dos alimentos.

Sendo assim, as zeínas (proteínas de reserva do milho) por serem hidrofóbicas se tornam um bom exemplo de matéria-prima para o desenvolvimento de filmes comestíveis. No entanto, o uso desta proteína pura é limitado, pois os filmes produzidos são quebradiços sendo necessário adicionar outros componentes como plastificantes e nanofibra de celulose, que são materiais de baixo custo e boas propriedades mecânicas (OLIVEIRA et al., 2009) que ajudam na homogeneização dos filmes e melhoram suas propriedades mecânicas.

As nanofibras de celulose vêm sendo incorporadas em soluções filmogênicas, pois além de serem biodegradáveis têm sido avaliadas em estudos como agente de reforço para matrizes poliméricas (MOREIRA et. al, 2010).

Os filmes comestíveis a base de zeínas com nanofibras de celulose, podem reduzir perdas e agregar valores em frutos e outros alimentos; contudo, mesmo os filmes sendo obtidos de fontes naturais e provavelmente não oferecerem qualquer riscos ao serem ingeridas, é necessário investigar o seu comportamento quando ingerida, se é retida em algum órgão, se é absorvida em nosso sistema digestivo ou se simplesmente ela é excretada. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a interação crônica dos filmes finos com o organismo de ratos machos da variedade Wistar.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

As nanofibras de celulose foram gentilmente cedidas pelo grupo de Novos Materiais da Embrapa Instrumentação. Estas foram dispersas em água em uma ponteira ultrassônica. Após a dispersão das nanofibras adicionou-se etanol P.A. até obter uma solução de etanol 70%, em seguida foram adicionadas as zeínas em quantidade para se obter uma solução com 4% de massa. Após a adição da zeína, adicionou-se também o plastificante, no caso, ácido oleico (AO) e a solução foi homogeneizada sob agitação por 20 minutos.

Em seguida, foi misturado na ração triturada a solução filmogênica até obter uma massa molhada. Colocou-se essa ração para secar em estufa em temperatura de  $\pm 28^{\circ}\text{C}$  por 2 dias até a total secagem.

Para o teste de toxicidade foi utilizado ratos da linhagem Wistar. Foram utilizados 20 ratos machos com idade de três meses de vida e tiveram a dieta padronizada com ração Nuvilab-Manutenção® e água, ambos à vontade. Os animais foram divididos em dois grupos. Um grupo de animais foram tratados, com ração revestida com filme de 4% de zeína, 0.1% de nanofibra de celulose e 0.25% de ácido oleico e o outro grupo de animais foram alimentados com a ração sem revestimento.

Os animais foram mantidos em gaiolas metabólicas e acompanhados diariamente quanto a seus hábitos alimentares. Após o tratamento, os animais foram eutanasiados por decapitação

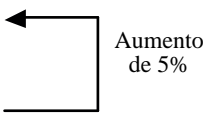
Os resultados apresentam-se como média acumulada da semana  $\pm$  EPM (Erro Padrão da Média), comparados entre o grupo de ratos experimental e o controle pela análise de variância ANOVA seguido do teste t de Student aplicados utilizando o software Origin Pro 9.0. O nível de significância adotado foi de  $p < 0,05$ .

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O consumo de água dos animais foi quantificado diariamente, durante todo o experimento. O volume de água consumido pelos animais não manteve um padrão durante todo o período, porém ao analisarmos o consumo acumulado médio de água dos animais, observamos que o grupo experimental consumiu volume maior do que o grupo controle, e isso foi significativamente diferente. Isto pode ser explicado, pelo aumento no consumo de proteína dos animais, pois segundo Freudenberg et. al (2012), ratos que foram tratados com uma dieta rica em proteínas houve um aumento considerável na ingestão hídrica e excreção de urina dos mesmos. O que condiz com os resultados de teor de proteína realizado na Embrapa Pecuária Sudeste na ração revestida oferecida aos ratos, onde mostrou que a ração revestida aumentou o teor proteico da mesma em aproximadamente 5%.

**Tabela 1.** Teor de proteína realizado em rações revestida e não revestida.

Análise do Teor de Proteína		
Nº. Lab.	SETEMBRO – 2013	g/Kg
1	Ração Revestida (Zeína + Nanofibra de Celulose)	37,14
2	Ração sem Revestimento	36,41


 Aumento de 5%

Como descrito por Oberdorster et al (2006), uma das possíveis rotas das NFCs é a absorção pelo trato gastrointestinal podendo ser eliminada pelas fezes ou circular na linfa e sangue e ser distribuídos para vários órgãos como rim, baço, fígado e coração. Na análise do peso do rim, baço, fígado e coração, se mantiveram com pesos semelhantes entre os dois grupos, no entanto o baço apresentou um aumento significativo segundo o teste T de Student em relação ao grupo controle.

Esse aumento no peso do baço do grupo experimental, pode ser explicado pelo aumento no nível do colesterol (tabela 3), pois segundo estudos realizados, normalmente as concentrações elevadas de gorduras podem provocar aumento no tamanho do baço.

**Tabela 2.** Tabela de peso dos órgãos: Rim, Baço, Fígado e Coração.

	Rim	Baço	Fígado	Coração
Experimental	2,4 g		11,4 g	1,2 g
Controle	2,3 g		10,2 g	1,3 g

### 3.1 PARÂMETROS BIOQUÍMICOS SANGUÍNEOS

Como mostrado na tabela 3, a análise bioquímica sanguínea do grupo de ratos experimental mostrou que a ingestão da ração revestida com filmes de zeína com adição de nanofibras de celulose não provocaram nenhuma alteração significativa nos parâmetros sanguíneos, exceto o colesterol total que no grupo experimental houve um aumento significativo.

Provavelmente a taxa metabólica dos animais foi aumentada, isto é, o gasto energético foi maior. Segundo Lei et. al (2008) isto pode ser devido à alteração fisiológicas das glândulas da tireóide, das adrenais ou da hipófise.

A demanda energética pode ser suprida pela lipólise, o que poderia acarretar o aumento dos níveis séricos de colesterol como foi observado nestes animais. O aumento do colesterol não afetou o fígado, pois os níveis de TGO, TGP e fosfatase alcalina não foram alteradas.

**Tabela 3.** Testes Sanguíneos dos animais.

Teste Sanguíneo dos animais			Teste Sanguíneo dos animais		
Tipo	Controle	Experimental	Tipo	Controle	Experimental
Ácido Úrico (mg/dL)	1,4	1,4		123,5	107,9
Creatinina (mg/dL)	0,6	0,5	Fósforo (mg/dL)	6,4	6,3
Triglicérides (mg/dL)	72,4	84,4	Cálcio (mg/dL)	9	8,9
			Bilirrubina Total (mg/dL)	0,2	0,2
Glicose (mg/dL)	95,6	88,7	Bilirrubina direta (mg/dL)	0,1	0,1
	286,8	260,9	Bilirrubina indireta (mg/dL)		
	71	61,3			

## 4 CONCLUSÃO

No experimento com os ratos Wistar alimentados por 7 semanas com filmes de zeína, com adição de nanofibras de celulose, para avaliar a nanotoxicidade, conclui-se que aumentaram as concentrações séricas do colesterol total e peso do baço dos ratos experimentais em relação aos ratos controles. Porém não foi observado alterações nos demais parâmetros analisados, além disso, tanto o grupo controle como o grupo experimental manteve um ganho na massa corporal durante todo o experimento, consumiram ração e ingeriram água de forma normal e excretaram também de forma normal, o que é um indicativo de que a ração revestida não alterou a saúde dos animais.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq, Finep, Capes e Projeto MP1 Rede Agronano – Embrapa. A professora Keico Okino Nonaka por auxiliar e emprestar as dependências do laboratório de Neuroendocrinologia para a realização do experimento com os animais.

## REFERÊNCIAS

FREUDENBERG, A.; PETZKE, K. J.; KLAUS, S. Dietary L-leucine and L-alanine supplementation have similar acute effects in the prevention of high-fat diet-induced obesity. *Amino Acids*, vol. 44, n. 2, p. 519–528, 2012.

LEI, R., WU, C., YANG, B., MA, H., SHI, C., WANG, Q., YUAN, Y., LIAO, M. Integrated metabolomic analysis of the nano-sized copper particle-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity in rats: a rapid in vivo screening method for nanotoxicity. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, v. 232, n. 2, p. 292–301, Oct 15 2008.

MOREIRA, F. K. V. Desenvolvimento de nanocompósitos poliméricos biodegradáveis a partir de pectina, amido e nanofibras de celulose. São Carlos: UFSCar, 2010. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de São Carlos, 181 p., São Carlos, 2010.

OBERDÖRSTER, E.; ZHU, S.; BLICKLEY, T. M.; MCCLELLAN-GREEN, P.; HAASCH, M. L. Ecotoxicology of carbon-based engineered nanoparticles: Effects of fullerene (C 60) on aquatic organisms. *Carbon*, v. 44, p. 1112–1120, 2006.

OLIVEIRA, F.B.; TEIXEIRA, E.M.; TEODORO, K.B.R.; MARCONCINI, J.M.; MATTOSO, L.H.C. Obtenção de nanofibras de celulose a partir de fibras de sisal para atuar como reforço em matrizes biodegradáveis. In *Anais do 10º CONGRESSO BRASILEIRO DE POLÍMEROS, CBPol, 10, 2009, Foz do Iguaçu. Anais...* São Carlos: ABPol, 2009. 1 CD-ROM.

SCRAMIN, J.A.; BRITTO, D. de; ASSIS, O.B.G.; COLNAGO, L.A.; FORATO, L.A. Caracterização da ação protetora de filmes à base de zeínas e ácido oléico aplicados em maçãs in natura. *Circular Técnica Embrapa Instrumentação*, v. 37, 3 p., 2007.

---

## OTIMIZAÇÃO NO MÉTODO DE PREPARO DE NOVOS FILMES COMESTÍVEIS CONTENDO POLPA DE CACAU

\***Marcia R. de Moura**<sup>1</sup>, **Thainara L. Castro**<sup>1</sup>, **Luiz H. C. Mattoso**<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Física e Química, FEIS, UNESP, Ilha Solteira, SP. <sup>2</sup>LNNA, Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP.  
\*marciadqi@gmail.com

**Classificação:** Filmes, revestimentos comestíveis e embalagens funcionais para alimentos.

### Resumo

A produção de filmes comestíveis a partir de biopolímeros com polpas de fruta tem-se mostrado uma alternativa para produção de novas embalagens. O intuito de diminuir o descarte de materiais não degradáveis no ambiente tem impulsionado o desenvolvimento de matérias-primas a partir de materiais naturais e renováveis para a aplicação em embalagens para alimentos. O objetivo do trabalho foi produzir filmes comestíveis de pectina contendo polpa de fruta, nesse caso o cacau, para análises das melhores condições de síntese que serão estudadas posteriormente em trabalhos futuros no nosso grupo de pesquisa.

**Palavras-chave:** Polpa de cacau; Filme comestível; Pectina.

### Abstract

The production of edible films from biopolymers with fruit puree has been an alternative for production of new packaging. The purpose of reducing the disposal of non-degradable materials in the environment has driven the development of raw materials from natural and renewable materials for application in food packaging. The objective was to produce edible films containing pectin and fruit puree, in this case cocoa, for analysis of the best synthesis conditions that will be studied later in future work in our research group.

**Keywords:** Cocoa Puree; Edible films; Pectin.



## **Publicações relacionadas**

Moura, M. R. de; Mattoso, L. H. C. Análise das melhores condições de síntese de novos filmes comestíveis sintetizados com polpa de cacau. 12º Congresso Brasileiro de Polímeros, 2013, Florianópolis.

## **1 INTRODUÇÃO**

O uso de materiais sintéticos como embalagem é grande, principalmente por sua disponibilidade, baixo custo e características funcionais, destacando-se as boas propriedades mecânicas, barreira aos gases e compostos aromáticos, e a facilidade de selagem térmica (ILES and MARTIN, 2013). No entanto, seu uso gera preocupação quando passamos a pensar em contaminação ambiental decorrente do descarte, uma vez que não são biodegradáveis e sua reciclagem consome grandes quantidades de energia térmica.

O interesse de manter, ou melhorar, a qualidade dos produtos embalados e, ao mesmo tempo, reduzir o desperdício de embalagens, tem encorajado a exploração de novos materiais de embalagens, como os filmes biodegradáveis formulados com matérias-primas oriundas de recursos renováveis (ARRIETA et al., 2013).

Diferentes compostos estão sendo incorporados a matrizes poliméricas, visando conferir-lhes propriedades diferenciadas. Uma das propriedades desejáveis é a produção de embalagens com ação antioxidante, que retardam ou diminuem o processo de oxidação do produto contido nela, e são de grande importância para a indústria, principalmente dos ramos alimentício e farmacêutico. A incorporação de antioxidantes naturais é uma alternativa interessante, apesar da diminuição das propriedades das matrizes com a adição desses antioxidantes naturais. Uma melhoria das propriedades pode ser alcançada com a incorporação de nanoestruturas na matriz desses filmes (MOURA et al., 2012).

O cacau (*Theobroma cacao*) fruto tipicamente brasileiro é uma das maiores fontes de polifenóis da alimentação – antioxidantes que desempenham um papel importante na prevenção da oxidação do LDL-colesterol (o colesterol “ruim”) e na inibição de processos inflamatórios no organismo, impedindo assim o acúmulo de gordura nas paredes dos vasos sanguíneos e reduzindo o risco de doenças cardiovasculares. Esta fruta contém também vitaminas do complexo B, que ajudam a manter a saúde dos nervos, a tonicidade muscular do aparelho gastrointestinal e atuam em casos de depressão. Sais minerais: fósforo (necessário para o cérebro, formação dos ossos e dentes e contração dos músculos cardíacos), ferro (que ajuda na produção de hemoglobina e oxigenação das hemácias), cálcio, além de proteínas. O objetivo do nosso trabalho é incorporar polpa de cacau em matrizes comestíveis de pectina, afim de primeiramente pesquisar a melhor condição de síntese de um filme ativo e carregado nutricionalmente. Para isso propriedades de dispersão do polpa na matriz foram estudadas em diferentes condições de síntese, para a escolha dos melhores materiais que serão utilizados em estudos futuros.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Preparo da polpa de cacau:**

A polpa de cacau utilizada foi industrial (De Marchi Ind. e Com. de Frutas Ltda (Sao Paulo, Brazil). Primeiramente a polpa foi filtrada, para remoção de partes sólidas não homogeneizadas na polpa como um todo, e posteriormente armazenada em geladeira.

### **2.2 Preparo dos filmes:**

O filme controle de pectina foi preparado utilizando o método “casting” a partir de uma solução de pectina e água. Filmes constituídos somente de polpa não apresentaram propriedades satisfatórias; propriedades estas encontradas nos filmes em que a pectina foi adicionada, mantendo-se ainda coloração característica do cacau e aroma da fruta. Para o preparo dos filmes com polpa foi utilizado 3,0 gramas de polpa para 2 gramas de pectina em água destilada.

### **2.3 Análise Subjetiva dos filmes:**

Na avaliação subjetiva são observadas as seguintes características: continuidade, homogeneidade e manuseabilidade (MONTERREY and SOBRAL, 1999). Essas características são observadas em

filmes sintetizados de diferentes formas, para poder haver comparação e escolha da melhor condição através de um planejamento fatorial.

## 2.4 Propriedade Mecânica:

A análise de tensão máxima (MPa) e alongação (%) foi realizada com base no método ASTM D882-975, cortando-os em forma retangular com dimensões controladas. Em seguida, realizou-se o ensaio de tração para obter: a tensão máxima ( $\sigma$ ) de cada um dos filmes e o quanto esse filme alonga até se romper.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi feita no início do trabalho uma avaliação subjetiva dos filmes. Na avaliação subjetiva foram observadas as seguintes características: continuidade (ausência de rupturas e fraturas após a secagem), homogeneidade (ausência de partículas insolúveis visíveis a olho nú, zonas de opacidade ou de cores diferenciadas) e manuseabilidade (possibilidade de manusear o filme sem riscos de ruptura).

Os filmes foram classificados de acordo com um padrão em excelente, bom ou deficiente. Para elaboração desse experimento foi montado um planejamento fatorial de  $2^3$ . Os fatores e níveis se encontram na Tabela 1.

Foi desenhado um protocolo experimental a partir do cruzamento das variáveis A, B e C a partir de uma análise fatorial  $2^3$ , gerando um total de 8 ensaios. As variáveis A, B e C significam concentração de pectina adicionada na polpa, pectina adicionada indiretamente ou diretamente à polpa (com mistura de solução de pectina na solução de polpa ou adicionada a pectina diretamente na solução de polpa) e temperatura de secagem do filme, respectivamente.

**Tabela 1.** Fatores e níveis utilizados no planejamento fatorial.

Variáveis	nível inferior (-)	nível superior (+)
A	Concentração do polímero 1,5%	Concentração do polímero 2%
B	Solução indireta	Solução direta
C	25 °C	35 °C

As suspensões (tanto de nanoesferas quanto de nanocápsulas) não apresentaram precipitados, ao serem deixadas em repouso por um período de um mês. Essa propriedade, em se tratando de futuras aplicações, é de extrema importância.

Na Tabela 2 é possível avaliar cada fator analisado e cada experimento com sua resposta.

**Tabela 2.** Matriz planejamento e valores das respostas para cada experimento realizado.

Experimentos	A	B	C	Continuidade	Homogeneidade	Manuseabilidade
1	+	+	+	●	■	♥
2	-	+	+	■	●	■
3	+	-	+	■	●	♥
4	-	-	+	♥	■	■
5	+	+	-	♥	●	♥
6	-	+	-	♥	●	●
7	+	-	-	●	■	♥
8	-	-	-	●	■	●

♥ excelente; ● boa; ■ deficiente

Como podem ser observados na Tabela 2, os filmes formados a partir dos experimentos 2 e 8

foram os que apresentaram piores características, sendo considerados deficientes.

No entanto, os filmes formados a partir dos experimentos 5 e 6 foram os que apresentaram melhores características, sendo considerados excelentes.

Com base nesses resultados é que escolhemos a concentração de polímero, modo de mistura e preparo da solução filmogênica (direta adição da pectina ou indireta na polpa de fruta) e a temperatura de síntese a fim de sintetizarmos os filmes para caracterizações.

De uma maneira geral os melhores filmes apresentaram-se com coloração característica da polpa de cacau e com um bom aspecto visual.

Outra preocupação no início foi controlar a espessura dos filmes, pois de acordo com GENNADIOS et al., 1993 o controle da espessura é importante para a uniformidade dos filmes formados, reprodutibilidade das medidas realizadas e validade da comparação entre filmes. Os filmes sintetizados por nós apresentaram similar espessura em todas as análises, onde a média da espessura foi de 0,05 mm.

Como a idéia do trabalho é a preocupação com a permanência do odor da fruta no filme, após um período de estocagem, nós comparamos o odor no filme com o da polpa pura um dia depois da síntese e 15 dias depois. O odor praticamente permanece no filme não descaracterizando o odor característico da fruta de preparo da solução filmogênica, nesse caso o cacau.

Na Tabela 3 é possível observarmos os valores de tensão máxima e alongação dos filmes (experimento 5 da matriz planejamento). Os filmes sintetizados apenas com pectina apresentaram tensão em torno de 17 MPa. Com a adição de polpa de fruta a tensão máxima nos filmes ficou em torno de 4,9 MPa.

**Tabela 3.** Tensão máxima de filmes contendo pectina pura e pectina com polpa de cacau.

Filme	Espessura (mm)	Tensão Máxima (MPa)	Elongação (%)
Somente Pectina	0,043 ± 0,001	17,0 ± 2,1	6,0 ± 0,4
Pectina + polpa de cacau	0,058 ± 0,003	4,9 ± 0,4	52,0 ± 4,1

Os valores de tensão dos filmes contendo polpa são menores que do polímero puro, mas o resultado está coerente se comparado com filmes de polpa de fruta sintetizados em outros trabalhos na literatura.

Os valores de alongação dos filmes de polpa de cacau destacaram-se em relação a outros, ou seja, esses filmes apresentam maior tenacidade. Tenacidade é uma medida de quantidade de energia que um material pode absorver antes de fraturar. Essa propriedade dá ao material capacidade de se deformar antes de se romper, aumentando seu campo de aplicação.

Testes adicionais de propriedades mecânicas e algumas análises térmicas do material estão em andamento, para o entendimento de novas propriedades. Estes testes contribuirão para a escolha do melhor filme de polpa proposto nessa pesquisa.

#### 4 CONCLUSÃO

Os filmes de polpa de fruta apresentaram boa propriedade de alongação. São manuseáveis e de odor e cor característicos da polpa de origem. As propriedades mecânicas podem ser melhoradas em trabalhos futuros com a adição de agentes de reforço na matriz, como por exemplo, nanopartículas. A aplicabilidade dos materiais é de importância para inovação em materiais para embalagens.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq, FAPESP, FINEP, CAPES, DFQ-FEIS-UNESP e Projeto MP1 Rede Agronano – Embrapa.

#### REFERÊNCIAS

ARRIETA, M.P.; LOPEZ, J.; FERRANDIZ, S.; PELTZER, M.A. Characterization of PLA-limonene blends for food packaging applications. *Polymer Testing*, v. 32, n. 4, p. 760-768, 2013.

GENNADIOS, A.; MCHUGH, T. H.; WELLER, C. L.; KROCHTA, J. M. Technomic Publishing Co, Inc. Lancaster USA, 1993.

ILES, A.; MARTIN, A. N. Expanding bioplastics production: sustainable business innovation in the chemical industry. *Journal of Cleaner Production*, v. 45, p. 38-49, 2013.

MONTERREY, E.S.; SOBRAL, P. J. A. Caracterização de propriedades mecânicas e óticas de biofilmes a base de proteínas miofibrilares de tilápia do nilo usando uma metodologia de superfície-resposta. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 19, n. 2, p. 294-301, 1999.

MOURA, M. R de; MATTOSO, L. H. C.; ZUCOLOTTI, V. Development of Cellulose-based Bactericidal Nanocomposites containing Silver Nanoparticles and their Use as Active Food Packaging. *Journal of Food Engineering*, v. 109, n. 3, p. 520-524, 2012.

---

## PROPRIEDADES DE BARREIRA E MECÂNICAS DE NANOCOMPÓSITOS CONTENDO ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO

Ronaldo S. Sasaki, Márcia \*R. de Moura

Departamento de Física e Química, FEIS, UNESP, Ilha Solteira, SP.

\*marciadqi@gmail.com

**Classificação:** Filmes, revestimentos comestíveis e embalagens funcionais para alimentos.

### Resumo

O objetivo deste trabalho é o desenvolvimento de filme nanocompósito produzido com pectina e nanoemulsão de óleo essencial de cravo. Para a caracterização das características do filme foram realizados testes de tração e permeabilidade de vapor de água (WVP). Para o filme de pectina pura obteve-se ruptura do filme em 12 MPa, com a presença da nanoemulsão o ponto de ruptura aumentou para 37MPa. No teste de permeabilidade de vapor no filme pectina pura de  $3,12 \text{ g mm K}^{-1} \text{ Pa}^{-1} \text{ h}^{-1} \text{ m}^{-2}$ , com nanoemulsão obteve-se uma diminuição da permeabilidade para  $1,3 \text{ g mm K}^{-1} \text{ Pa}^{-1} \text{ h}^{-1} \text{ m}^{-2}$ . Observando-se assim valores superiores aos do filme sem nanoemulsão.

**Palavras-chave:** Nanoemulsão; Permeabilidade ao vapor de água; Nanocompósito.

### FEASIBILITY OF CLOVE NANOEMULSION ADDITION FOR PHYSICAL PROPERTIES IN PECTIN FILM

#### Abstract

The objective of this paper is developing a nanocomposite film with pectin with clove essential oil nanoemulsion. For characterization of this film were realized traction testing and WVP analysis. Obtaining as results for pure pectin film the rupture occurred at 12 MPa and in presence of nanoemulsion the rupture occurred at 37 MPa. In WVP analysis the permeability of pure pectin film was  $3.12 \text{ g mm K}^{-1} \text{ Pa}^{-1} \text{ h}^{-1} \text{ m}^{-2}$  and in presence of nanoemulsion was obtained a decrease of permeability by  $1.3 \text{ g mm K}^{-1} \text{ Pa}^{-1} \text{ h}^{-1} \text{ m}^{-2}$ . Observing in these way interesting results when comparing with film without nanoemulsion.

**Keywords:** Nanoemulsion; Vapor Water Permeability; Nanocomposite.

**Publicações relacionadas:** Resumo aceito no CBECIMAT 2014.

## 1 INTRODUÇÃO

Para atender as necessidades do mercado, estão sendo desenvolvidas as chamadas embalagens “ativas”, que podem ser definidas como embalagens interagem de forma desejável com o alimento, aumentando sua estabilidade. Um exemplo de embalagem ativa é aquela que libera compostos antimicrobianos (CHOJNICKA-PASZUN et al., 2014). Este processo de liberação controlada de compostos antimicrobianos pode ocorrer sobre a superfície do alimento, prevenindo o crescimento de microrganismos deterioradores e patogênicos (HILL et al., 2013).

A crescente exigência do consumidor e os avanços no conhecimento sobre obtenção e estabilidade dos sistemas dispersos viabilizam o desenvolvimento de materiais diferenciados como, por exemplo, nanoemulsões, que além da inerente estabilidade, apresentam aspecto sensorial agradável, além de alto poder de dispersão. Uma classe de materiais que estão sendo bastante estudados na preparação de

nanoemulsões para aplicação em filmes ativos, são os óleos essenciais (SZCZEPANSKI and LIPSKI, 2014).

Filmes nanocompósitos produzidos a partir de polímeros naturais tem a característica de apresentarem alta hidroflicidade. Essa é umas das importâncias desse trabalho, pois com a introdução de uma fase oleosa na matriz sua hidroflicidade diminui, ampliando a gama de aplicações do material.

Este trabalho teve como objetivo o estudo das propriedades físicas de um filme com base polimérica pectina analisando assim a viabilidade da adição de nanoemulsão de cravo, nas propriedades mecânicas e na permeabilidade ao vapor de água.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Materiais

- Agente emulsificante comercialmente conhecido como Tween 80, Synth (Diadema,SP,Brasil)
- Eugenol(>93%) Petite Marie (Itaquaquecetuba,SP, Brasil)
- Pectina (LMP) CP Kelco (Campinas, Brasil)
- Preparação da nanoemulsão

Diluição direta em água, adicionando óleo essencial de cravo e tween 80, em seguida realizada a mistura em T25 ULTRA-TURRAX® (IKA® Werke GmbH & Co, Staufen, Alemanha) a 12000 e 16000 rpm por 5 min com o objetivo de se obter nanoemulsões em diferentes tamanhos.

### 2.2 Preparação do filme

Os filmes foram produzidos com soluções de 3 % de pectina(LMP) a partir da solubilização da pectina em água com agitação até solubilização (2 horas). As soluções obtidas foram incorporadas com as nanoemulsões preparadas. Para a preparação dos filmes foi despejada a solução em placas de acrílico e secadas em temperatura ambiente. Com os filmes secos estes foram removidos da superfície base e armazenados em papel alumínio e sacolas plásticas, sob refrigeração.

### 2.3 Propriedades mecânicas

As espessuras dos filmes foram medidas utilizando-se micrometro digital Mitutoyo(Mitutoyo Corp., Kanogawa, Japan) em 5 pontos aleatórios. As propriedades mecânicas analisadas foram tensão, e alongação para ruptura que foram medidos utilizando EMIC Universal Testing Machine according to standard method D882-97 (ASTM 1997).

### 2.4 Permeabilidade ao vapor de água

A permeabilidade ao vapor de água foi obtida utilizando-se a ASTM E96-80(ASTM 1989) modificada. As amostras de filme foram cortadas em formato circular e montadas em capsulas de poli(metil-metacrilato) com 6 mL de água para se criar um ambiente úmido dentro da capsula selada pela amostra e um anel para fixar-se a amostra à capsula. As capsulas foram armazenadas a temperatura controlada de  $25 \pm 1$  °C em estufa mantida à umidade baixa, devido utilização de sílica. As massas do sistema foram aferidas 8 vezes em tempos periódicos para analisar e calcular de acordo com McHugh(McHugh et al,1993) com unidades em  $g\ mm\ K^{-1}\ Pa^{-1}\ h^{-1}\ m^{-2}$ .

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em trabalhos anteriores observou-se que as nanoemulsões preparadas com 12000 rpm apresentaram tamanho maior que as nanoemulsões preparadas com 16000 rpm.

Analisando a tensão de ruptura obtida foram observados os resultados da Tabela 1 a seguir:

**Tabela 1.** Tensão de ruptura

Filme	Tensão (MPa)
Somente pectina	12 ± 0,5
Pectina + 12000 rpm	20 ± 1,1
Pectina + 16000 rpm	37 ± 1,4

Sendo possível observar aumento na resistência mecânica ao adicionar-se nanoemulsão de cra-vo ao filme de pectina. Esse aumento foi mais significativo nos filmes contendo nanoemulsão de tama-nho menor, comprovando a importância nesse caso, em se trabalhar com sistemas na escala nano.

Os valores de elongação estão apresentados na Tabela 2.

**Tabela 2.** Elongação dos filmes.

Filme	Elongação (%)
Somente pectina	17,13 ± 2,76
Pectina + 12000 rpm	42,00 ± 2,96
Pectina + 16000 rpm	59,05 ± 4,02

De acordo com os dados da Tabela 2 podemos observar que o nanocompósito contendo somente pectina não apresenta grande deformação antes de se romper. Já os que contem nanoemulsão apresen-tado alta elongação antes de se romper. Essa característica é interessante, pois mostra que os materiais sintetizados por nós se tornam-se mais tenazes. Ou seja, se deformam mais antes de se romper demons-trando melhores propriedades mecânicas nesse aspecto.

Na Tabela 3 são apresentados os valores de permeabilidade ao vapor de água dos materiais es-tudados no trabalho.

**Tabela 3.** Efeito da presença de nanoemulsão nos valores de WVP dos materiais.

Filme	WVP (g mm K <sup>-1</sup> Pa <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> m <sup>-2</sup> )
Somente pectina	3,12 ± 0,02
Pectina + 12000 rpm	1,60 ± 0,10
Pectina + 16000 rpm	1,30 ± 0,09

De acordo com a Tabela 3 é possível observar que os valores de permeabilidade ao vapor de água nos filmes contendo nanoemulsão (16000 rpm) decai quase 60% em relação ao filme contendo somente pectina pura. Essa facilidade em trabalhar com a hidroflicidade dos materiais nanocompósitos amplia as possibilidades de aplicações desses materiais.

#### 4 CONCLUSÃO

Filmes com presença de nanocompósitos apresentaram aumento nas características de resis-tência mecânica e de barreira. A presença da nanoemulsão nas características de resistência mecânica aumentou a tensão de 12 para 37 MPa. Também foi observado diminuição da permeabilidade de vapor de água sendo assim um interessante produto com possibilidades de aumento no número de aplicações como embalagens.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq, FAPESP, FINEP, CAPES, DFQ-FEIS-UNESP, e Projeto MP1 Rede Agronano – Embrapa.

## REFERÊNCIAS

ASTM- Standard test methods for water vapor transmission of materials. Standards Designation: E96-80. In Annual Book of ASTM, ASTM, 771-778, Philadelphia, PA.

ASTM- Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting (1997). D882-97. In Annual book of American Standard Testing Methods. Philadelphia, USA, PA: ASTM

CHOJNICKA-PASZUN, A.; DOUSSINAULT, S.; JONGH, H. Sensorial analysis of polysaccharide-gelled protein particle dispersions in relation to lubrication and viscosity properties. Food Research International, v. 56, n. 0, p. 199 - 210, 2014.

HILL, L.; GOMES, C.; TAYLOR, T. Characterization of beta-cyclodextrin inclusion complexes containing essential oils (trans-cinnamaldehyde, eugenol, cinnamon bark, and clove bud extracts) for antimicrobial delivery applications. Lwt-Food Science and Technology, v. 51, n. 1, p. 86-93, 2013.

MCHUGH, T.; AVENABUSTILLOS, R.; KROCHTA, J. Hydrophilic edible films - Modified procedure for water-vapor permeability and explanation of thickness effects. Journal of Food Science, v. 58, n. 4, p. 899-903, 1993.

SZCZEPANSKI, S.; LIPSKI, A. Essential oils show specific inhibiting effects on bacterial biofilm formation. Food Control, v. 36, n. 1, p. 224 - 229, 2014.

---

## ANÁLISE DA INIBIÇÃO MICROBIOLÓGICA OBTIDA UTILIZANDO FILME DE PECTINA COM NANODISPERSÃO DE ÓLEO DE CRAVO

Ronaldo S. Sasaki<sup>1</sup>, Luiz H. C. Mattoso<sup>2</sup>, \*Márcia R. de Moura<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Física e Química, FEIS, UNESP, Ilha Solteira, SP. <sup>2</sup>LNNA, CNPDIA, EMBRAPA, São Carlos, SP.  
\*marciadqi@gmail.com

**Classificação:** Filmes, revestimentos comestíveis e embalagens funcionais para alimentos.

### Resumo

A partir do crescente estudo de embalagens biodegradáveis, temos também as embalagens poliméricas com nanodispersão. Este trabalho tem como objetivo analisar as propriedades microbiológicas em um filme de pectina com nanoemulsão de óleo essencial de cravo. Para a caracterização das propriedades microbiológicas do filme foi efetuado teste de halo de inibição e os resultados foram comparados entre o filme de pectina puro e o filme de pectina com nanodispersão de óleo essencial de cravo. Neste teste foram utilizadas as seguintes culturas: *S.Aureus* e *E.Coli*. A partir disto foram observados resultados interessantes para nanopartículas de 140nm, com halo de inibição de 4,81cm para *E.Coli* e 3,12cm para *S.Aureus*.

**Palavras-chave:** Óleo essencial de cravo; Pectina; Propriedades microbiológicas

### ANALYSIS OF MICROBIOLOGICAL INHIBITION OBTAINED IN PECTIN FILM WITH CLOVE OIL NANODISPERSION

#### Abstract

Beyond enhance of biodegradable package studies, there is polymeric packages with nanodispersion. This paper has as objective analyze microbiologic properties in clove essential oil nanodispersion pectin film. In characterization of film microbiological properties was expressed as growth inhibitory zone diameter and the results compared with a pure pectin film and a clove essential oil pectin film. For these analysis were used two different strains *S.Aureus* and *E.Coli*. Obtaining interesting results for 140 nm nanoparticles, with halo of inhibition of 4.81cm for *E.Coli* and 3.12cm for *S.Aureus*.

**Keywords:** Clove essential oil; Pectin; Microbiological properties.

**Publicações relacionadas:** Resumo aceito no CBECIMAT 2014.

## 1 INTRODUÇÃO

Este trabalho teve como objetivo o estudo das propriedades microbiológicas de um filme com base polimérica pectina analisando assim a viabilidade da adição de nanoemulsão de cravo.

Nanoemulsões são utilizadas nas indústrias: farmacêutica, aromas e alimentícia. Com o objetivo de adicionar-se características interessantes ao produto (GHOSH et al., 2013).

Óleos essenciais são líquidos oleaginosos obtidos a partir de plantas com características aromáticas os quais tem interessantes características antimicrobiológicas. Sendo uma matéria prima interessante pois é um produto natural tornando-se assim uma interessante opção aos conservantes não naturais, além disso barateiam o produto (HILL et al., 2013; SZCZEPANSKI e LIPSKI, 2014).

A pectina é um polissacarídeo presente na parede celular de plantas sendo esta altamente utilizada como matéria prima de produtos alimentícios como: gelatina, geleia e estabilizante de produtos lácteos (FRAYE et al. 2010). Ao solubilizar-se em água é possível a formação de filmes de pectina devido sua capacidade filmogênica (CHOJNICKA-PASZUN et al., 2014).

O óleo essencial de cravo tem como principal composto o eugenol um composto conhecido pelas suas propriedades antifúngica, antibacteriana e anti-inflamatória.

O presente trabalho teve como objetivo sintetizar e caracterizar nanoemulsões de óleo essencial de cravo de diferentes tamanhos. E analisar as propriedades antibactericidas desses materiais quando incorporados em matrizes poliméricas, nesse caso a pectina.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Materiais

- Agente emulsificante comercialmente conhecido como Tween 80, Synth (Diadema,SP,Brasil)
- Eugenol(>93%) Petite Marie (Itaquaquecetuba,SP, Brasil)
- Pectina (LMP) CP Kelco (Campinas, Brasil)
- Preparação da nanoemulsão

Diluição direta em água, adicionando óleo essencial de cravo e tween 80, em seguida realizada a mistura em T25 ULTRA-TURRAX® (IKA® Werke GmbH & Co, Staufen, Alemanha) a 12000 e 16000 rpm por 5 min com o objetivo de se obter nanoemulsão em diferentes tamanhos.

### 2.2 Tamanho das partículas da nanoemulsão.

A distribuição do tamanho e a carga superficial das nanocápsulas foram medidas no equipamento NanoZS (Malvern Instruments Inc. USA). As medidas foram realizadas em triplicata na temperatura de 25 °C. Após uma hora da preparação e 72 horas após.

### 2.3 Preparação do filme

Os filmes foram produzidos com soluções de 3% de pectina(LMP) a partir da solubilização da pectina em água com agitação até solubilização (2 horas).

As soluções obtidas foram incorporadas com as nanoemulsões preparadas. Para a preparação dos filmes foi despejada a solução em placas de acrílico e secadas em temperatura ambiente. Com os filmes secos estes foram removidos da superfície base e armazenados em papel alumínio e sacolas plásticas, sob refrigeração.

### 2.4 Culturas de bactérias utilizadas

*Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) e *Escherichia coli* (*E. coli*) culturas obtidas de BacFar – CE-FAR DIAGNÓSTICA LTDA (*S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922). As culturas foram cultivadas em tryptic soy agar. A incubação foi efetuada em 32°C. Sendo o meio de cultura agar preparado com adição de 15g L<sup>-1</sup> de agar bacteriológico.



## 2.5 Análises microbiológicas

Para analisar-se a atividade microbiológica dos filmes foram cortados discos de 1cm de diâmetro de partes aleatórias dos filmes analisados e colocados no meio de cultura inoculado. Método este padronizado a partir da inoculação do meio de cultura. As placas foram incubadas à 37°C por 24h. Obtendo-se assim dados que foram expressos como halo de inibição (cm) sendo realizado em triplicata (KUMAR et al., 2010).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em se tratando de características visuais as duas (12000 e 16000 rpm) apresentaram opalescência característica de suspensões nanométricas (Fig. 1).

Na Tabela 1 podemos observar os valores de tamanho médio para os materiais sintetizados uma hora após o preparo e 72 horas após o preparo.

**Tabela 1.** Tamanho médio de nanoemulsões sintetizadas em diferentes condições.

Velocidade de preparação	Tamanho Médio (nm) 1 hora após	Tamanho Médio (nm) 72 horas após
12000 rpm	300,12 ± 3,47	292,50 ± 3,10
16000 rpm	140,00 ± 1,02	142,30 ± 1,21

Como podemos observar na Tabela 1 o aumento na velocidade de rotação no preparo das nanoemulsões provoca uma diminuição no tamanho dessas emulsões. E após um período de 72 horas a estabilidade dessa suspensão ainda permanece estável, pois o tamanho médio praticamente não é alterado.

A atividade microbiológica de óleos essenciais pode ser classificada em três graus de inibição: fraco (halo de inibição ≤ 1,2cm), moderado (1,2cm ≤ halo de inibição ≤ 2,0cm) e forte (halo de inibição ≥ 2,0cm) (LV et al., 2011; AIT-OUAZZOU et al., 2012).

Analisando os halos de inibição foram observados os resultados da Tabela 2 a seguir:

**Tabela 2.** Halo de inibição microbiológica

Tipo de bactéria	Pectina + 12000 rpm	Pectina + 16000 rpm
<i>E. coli</i> ATCC 25923	1,20 cm ± 0,10	2,81 cm ± 0,15
<i>S. aureus</i> ATCC 25922	2,53 cm ± 0,20	3,12 cm ± 0,20

De acordo com a tabela observamos que nossos nanocompósitos apresentaram grau de inibição forte para três valores encontrados. Demonstrando o potencial ativo no combate a bactérias do material sintetizado por nós. A maior atividade foi para os nanocompósitos contendo pectina e nanoemulsão que apresentaram menores tamanhos (3,12 cm para *S. Aureus*). Esse fato deve ser devido a maior facilidade do penetramento da membrana da bactéria para inibição, de partículas com tamanho menores.

## 4 CONCLUSÃO

Ao analisar os filmes com presença de nanocompósitos foi possível observar interessante inibição microbiológica para o filme com nanocompósitos de óleo essencial de cravo. Com resultados de halo de inibição significativos tanto para bactérias do tipo *E. Coli* como *S.Aureus*. Demonstrando assim potencial bactericida e influencia do tamanho das partículas de nanoemulsão no grau de inibição. Podendo este tipo de embalagem ser utilizada como camada bactericida para preservação de alimentos suscetíveis ao ataque de microorganismos.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq, FAPESP, FINEP, CAPES, DFQ-FEIS-UNESP, e Projeto MP1 Rede Agronano – Embrapa.

## REFERÊNCIAS

AIT-OUAZZOU, A. et al. Evaluation of the chemical composition and antimicrobial activity of Mentha pulegium, Juniperus phoenicea, and Cyperus longus essential oils from Morocco. Food Research International, v. 45, n. 1, p. 313-319, 2012.

CHOJNICKA-PASZUN, A.; DOUSSINAULT, S.; JONGH, H. Sensorial analysis of polysaccharide-gelled protein particle dispersions in relation to lubrication and viscosity properties. Food Research International, v. 56, n. 0, p. 199 - 210, 2014.

FRAEYE, I. et al. Fine-tuning the properties of pectin-calcium gels by control of pectin fine structure, gel composition and environmental conditions. Trends in Food Science & Technology, v. 21, n. 5, p. 219 - 228, 2010.

GHOSH, V.; MUKHERJEE, A.; CHANDRASEKARAN, N. Ultrasonic emulsification of food-grade nanoemulsion formulation and evaluation of its bactericidal activity. Ultrasonics Sonochemistry, v. 20, n. 1, p. 338-344, 2013

HILL, L.; GOMES, C.; TAYLOR, T. Characterization of beta-cyclodextrin inclusion complexes containing essential oils (trans-cinnamaldehyde, eugenol, cinnamon bark, and clove bud extracts) for antimicrobial delivery applications. Lwt-Food Science and Technology, v. 51, n. 1, p. 86-93, 2013.

KUMAR, P. et al. Preparation and characterization of novel  $\beta$ -chitin/nanosilver composite scaffolds for wound dressing applications. Carbohydrate Polymers, v. 80, n. 3, p. 761 - 767, 2010.

LV, F. et al. In vitro antimicrobial effects and mechanism of action of selected plant essential oil combinations against four food-related microorganisms. Food Research International, v. 44, n. 9, p. 3057-3064, 2011.

SZCZEPANSKI, S.; LIPSKI, A. Essential oils show specific inhibiting effects on bacterial biofilm formation. Food Control, v. 36, n. 1, p. 224 - 229, 2014.

---

## SOLUÇÕES CONSERVANTES A BASE DE QUITOSANA NANOPARTICULADA NA PÓS-COLHEITA DE *GERBERA JAMESONII*

\*Poliana Cristina Spricigo<sup>1</sup>, Jéssica Prada Trento<sup>1</sup>, Lucimeire Pilon<sup>2</sup>, Márcia Regina de Moura Aouada<sup>3</sup>, Luiz Henrique Capparelli Mattoso<sup>4</sup>, Daniel Souza Corrêa<sup>4</sup>; Marcos David Ferreira<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>UFSCar. <sup>2</sup> Embrapa Hortaliças. <sup>3</sup>UNESP. <sup>4</sup>Embrapa Instrumentação.

\*polianaspricigo@yahoo.com.br

**Classificação:** Filmes, revestimentos comestíveis e embalagens funcionais para alimentos.

### Resumo

A gérbera é uma das flores de corte mais populares no Brasil, devido a sua beleza e variedade de cores. Para que as flores de corte tenham maior durabilidade é necessária adoção de tecnologias pós-colheita, como soluções conservantes. Essas soluções podem conter componentes como carboidratos e inibidores da proliferação de microrganismos. O objetivo deste trabalho foi testar uma solução conservante contendo quitosana nanoparticulada durante a vida pós-colheita de gérberas por quinze dias de armazenamento. Os tratamentos utilizaram as seguintes soluções: água destilada, solução de quitosana e solução de quitosana nanoparticulada. As avaliações realizadas foram: taxa de absorção, taxa de transpiração e

luminosidade. Foram utilizadas cinco hastes nos tratamentos e a cada três dias foram realizados cortes basais para melhorar as condições de absorção. O melhor desempenho para taxa de absorção foi obtido pelas hastes armazenadas na solução de quitosana nanoparticulada, enquanto que a taxa de transpiração não apresentou diferença estatística entre tratamentos. A luminosidade apresentou leve escurecimento em flores conservadas em água destilada. Concluiu-se que a solução contendo quitosana nanoparticulada contribuiu para manter a qualidade durante a pós-colheita das hastes de gérbera.

**Palavras-chave:** *Gerbera jamesonii*; Absorção; Transpiração; Luminosidade. Ângulo de Curvatura.

## CHITOSAN NANOPARTICLE PRESERVATIVE SOLUTION IN GERBERA POSTHARVEST Abstract

Gerbera is one of the most popular cut flowers in Brazil, due to its beauty and colors variety. For increasing durability of cut flowers, the adoption of postharvest technologies is required, such as preservatives solutions. These solutions may contain components such as carbohydrates and compounds to inhibit microorganism proliferation. The aim of this study was to evaluate a preservative solution containing chitosan nanoparticles for gerberas postharvest treatment during fifteen days of storage. Treatments employed the following solutions: distilled water, chitosan solution and chitosan nanoparticle solution. The analyses carried out include: absorption rate, transpiration rate and lightness. Five stems were used for each treatment, and at very three days the basal sections were cut to improve absorption. The best performance for absorption rate was obtained by stems stored in chitosan nanoparticles solution, while no statistical difference between treatments was observed for transpiration rate. The coloration showed slight darkening in flowers kept in distilled water and chitosan solution. It was concluded that solution containing chitosan nanoparticles contributed to maintain quality of gerbera stems during postharvest.

**Keywords:** Absorption; Transpiration; Luminosity; Bend Angle.

## 1 INTRODUÇÃO

Gérberas são flores individuais que pertencem a família Asteraceae. Possuem grande espectro de cores e estão entre as flores mais comercializadas do mundo (TEERI et al., 2006). Apenas no Brasil o faturamento do setor em 2012 foi de R\$ 4,8 bilhões, com área plantada de 13.800 mil ha (IBRAFLOR, 2014).

O balanço hídrico em flores de corte é determinante para a longevidade das hastes (BOROCHOV et al., 1982). O xilema é o vaso condutor que absorve a água e a distribui ao longo dos tecidos vegetais, e portanto, qualquer oclusão em sua estrutura deve ser prevenida. A proliferação de microrganismos é uma das causas principais da oclusão dos xilemas, e pode ser evitada pelo uso de soluções conservantes (VAN DOORN, 1997).

O uso da quitosana na agricultura tem sido uma tendência por possuir características desejáveis, aliando o controle de fungos e bactérias à segurança ao ambiente e aos seres humanos. O desenvolvimento de novos produtos para a floricultura auxilia no desenvolvimento do setor e inovações nano tecnológicas possibilitam o uso de materiais com propriedades superiores àquelas encontradas em materiais convencionais (NAIR et al., 2010; MURTY et al., 2013).

Este trabalho objetivou testar uma solução conservante de quitosana nanoparticulada em hastes florais de gérbera ao longo do armazenamento, visando melhorar condições de absorção e manter a qualidade das flores.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Gérberas (*Gerbera jamesonii* cv. 'Stanza') foram adquiridas em São Carlos-SP e levadas o Laboratório de Pós-Colheita da Embrapa Instrumentação. No laboratório, após corte sob água, as hastes florais foram selecionadas para eliminação de defeitos e reidratadas por 2h. O experimento foi conduzido em câmara fria com temperatura controlada de  $5 \pm 2^\circ\text{C}$  e umidade relativa de  $80 \pm 10\%$ .

Os tratamentos realizados foram: água destilada (controle), solução de quitosana, e solução de quitosana nanoparticulada. A solução de quitosana foi preparada dissolvendo-se 2 g de quitosana em 1 L de solução 2% de ácido cítrico. A solução de quitosana nanoparticulada foi preparada dissolvendo-se 2 g de quitosana em 1 L de solução 2% de ácido cítrico e posteriormente, sob agitação intensa, adicionando-se 28 mL de tripolifosfato de sódio à 70 mL desta solução. O tamanho médio da partícula foi determinado em trabalhos anteriores e corresponde a 110 nm. Cada tratamento foi composto por 5 hastes florais que foram colocadas em recipiente individual contendo 40 mL de solução. Os recipientes foram

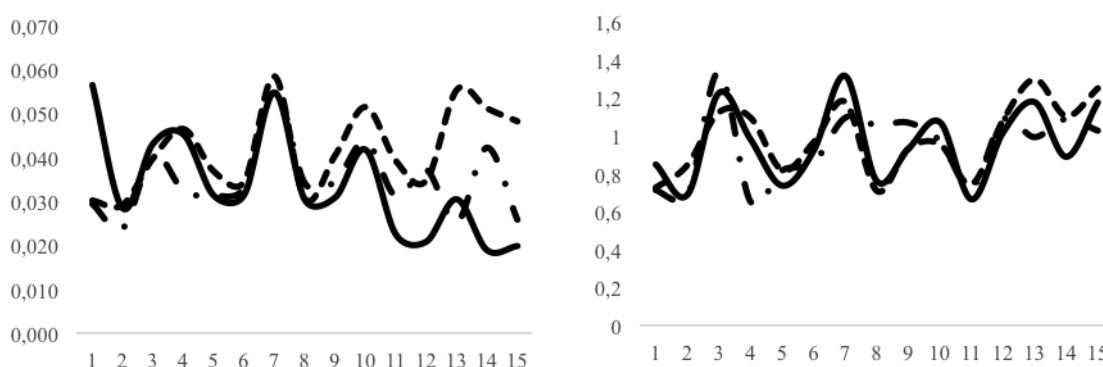
fechados com duas camadas de filme PVC para prevenir a evaporação da solução.

As análises realizadas foram: taxa de absorção, taxa de transpiração e luminosidade das hastes. A taxa de absorção foi calculada em  $\text{mg g}^{-1} \text{MF dia}^{-1}$ , sendo calculada pela fórmula:  $V = (\text{PSi} - \text{PSf}) / \text{PHi}$ , em que V: taxa da solução absorvida ( $\text{mg g}^{-1} \text{MF dia}^{-1}$ ); PSi: massa inicial da solução (mg); PSf: massa final da solução (mg); PHi: massa final da haste (mg). A taxa de transpiração foi estimada, em  $\text{mg g}^{-1} \text{MF dia}^{-1}$ , em que:  $T = V - (\text{PH} (f) - \text{PH} (i))$ ; em que T: taxa de transpiração; V: taxa da solução absorvida; PH (i): massa da haste no início; PH (f): massa da haste no final. MF: Massa fresca. (VAN DOORN e VASLIER, 2002). A luminosidade foi aferida com auxílio de um colorímetro HunterLab.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas utilizando-se o teste de Tukey a 5% de significância.

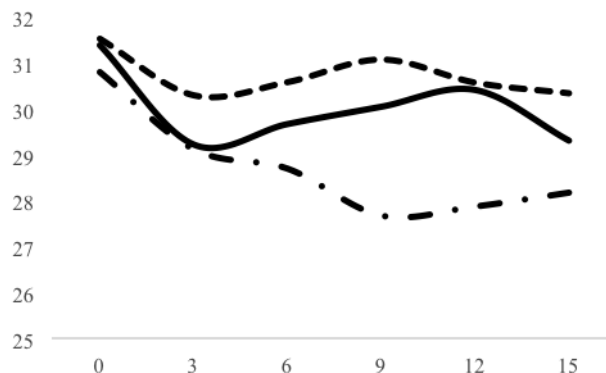
### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A taxa de absorção nas hastes florais de gérberas variou ao longo dos dias e apresentou diferenças estatisticamente significativas entre tratamentos. Os cortes na parte basal das hastes colaboraram para o incremento da entrada de água ao longo dos dias (Figura 1). O valor de absorção médio foi de  $0,034 \text{ mg g}^{-1} \text{MF dia}^{-1}$  para as hastes em água destilada;  $0,035 \text{ mg g}^{-1} \text{MF dia}^{-1}$  para hastes armazenadas em solução de quitosana e  $0,042 \text{ mg g}^{-1} \text{MF dia}^{-1}$  para solução de quitosana nanoparticulada. A absorção das hastes em solução de quitosana nanoparticulada pode ter sido favorecida pelo controle mais efetivo de microrganismos, levando a prevenção da oclusão dos xilemas por fungos e bactérias, assim como o entupimento dos vasos de secreções produzidos por estes (VAN DOORN, 1997). A taxa de transpiração não foi influenciada pelos tratamentos (Figura 1).



**Figura 1.** Taxa de absorção (à esquerda) e taxa de transpiração (à direita) em  $\text{mg g}^{-1} \text{MF dia}^{-1}$  em hastes de gérberas armazenadas em — água destilada ; - • - solução de quitosana e - - - solução de quitosana nanoparticulada durante 15 dias de armazenamento.

Ao final do armazenamento, as hastes florais que não foram mantidas em solução de quitosana nanoparticulada apresentaram escurecimento de suas lígulas. Flores possuem tecidos vegetais sensíveis a variação do conteúdo de água e são acometidas por danos permanentes por desidratação. Este escurecimento pode estar ligado ao desequilíbrio no balanço hídrico, com a mortalidade das células vegetais e aparecimento de pontos necrosados. A coloração é um dos atributos de qualidade mais valorizados pelos consumidores durante a compra, assim como o frescor. Embora as hastes florais permaneçam em solução, aparentemente com suprimento ilimitado, mudanças na aparência das pétalas podem indicar que a flor está perdendo água (SANTOS, 2009).



**Figura 2.** Luminosidade em hastes de gérberas armazenadas em — água destilada ; -•- solução de quitosana e - - - solução de quitosana nanoparticulada durante 15 dias de armazenamento.

#### 4 CONCLUSÃO

A solução conservante contendo quitosana nanoparticulada foi eficiente na manutenção da qualidade de gérberas ao longo do armazenamento, favorecendo a absorção e a coloração das flores.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem apoio financeiro da Embrapa, CNPq, FAPESP e CAPES.

#### REFERÊNCIAS

- BOROCHOV, A.; MAYAK, S.; BROUN, R. The involvement of water stress and ethylene in senescence of cut carnation flowers. *Journal of Experimental Botany*, Oxford, v.33, n.137, p.1202-1209, 1982.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE FLORICULTURA. Dados gerais do setor. Campinas: Ibraflor, 2014. Disponível em: <<http://www.ibraflor.com/publicacoes/vw.php?cod=213>>. Acesso em: 12 abr 2014.
- MURTY, B.S.; SHANKAR, P.; RAJ, B.; RATH, B.B.; MURDAY, J. *Textbook of nanoscience and nanotechnology*. Springer. 256p. 2013.
- NAIR, R., VARGHESE, S.H.; NAIR, B.G.; MAEKAWA, T.; YOSHIDA, Y.; KUMAR, D. S. Nanoparticulate material delivery to plants. *Plant Science*, v.179, p. 154-163. 2010.
- SANTOS, J.S. Armazenamento e reidratação de inflorescências de *Epidendrum ibaguense* KUNTH. Dissertação. 2009. 75p (Mestrado em Fisiologia Vegetal). Universidade Federal de Viçosa, UFV, Viçosa, 2009.
- TEERI, H.T.; ELOMA, A.P.; KOTILAINEN, M.; ALBERT, V. Mining plant diversity: Gerbera as a model system for plant development and biosynthetic research. *BioEssay* 28: 756-767. 2006.
- VAN DOORN, W. G. Water relations of cut flowers. *Horticultural Review*, 18: v.1-85, 1997.
- VAN DOORN, W.G.; VASLIER, N. Wounding-induced xylem occlusion in stems of cut chrysanthemum flowers: roles of peroxidase and catechol oxidase. *Postharvest Biology and Technology*, v.26, p.275-284, 2002.

## FILMES DE AMIDO, GOMA DE CAJUEIRO E MONTMORILONITA. PARTE 1. INFLUÊNCIA DO TEOR DE ARGILA E DO TEMPO DE SONICAÇÃO SOBRE AS PROPRIEDADES DOS FILMES.

Alaídes M. B. Pinto<sup>1</sup>, Talita M. Santos<sup>1</sup>, Carlos Alberto Caceres<sup>2</sup>, Edson N. Ito<sup>3</sup>,  
\*Henriette M. C. Azeredo<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Ceará. <sup>2</sup>Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira. <sup>3</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

<sup>4</sup>Embrapa – Secretaria de Relações Internacionais.

\*henriette.azeredo@embrapa.br.

**Classificação:** Filmes, revestimentos comestíveis e embalagens funcionais para alimentos.

### Resumo

Vários estudos têm sido conduzidos sobre formação de filmes biopoliméricos para uso em alimentos. A incorporação de montmorilonita (MMT) como estruturas de reforço tem sido sugerida para melhorar o desempenho físico-mecânico de biomateriais. MMT foi adicionada a filmes de amido e goma de cajueiro (GC), e sua influência avaliada segundo um delineamento composto central com 2 variáveis: concentração de MMT e tempo de sonicação. A MMT aumentou a resistência à tração e o módulo elástico até certo ponto, mas comprometeu essas propriedades quando em altas concentrações, provavelmente por problemas de dispersão. A sonicação favoreceu as propriedades mecânicas, por melhorar a dispersão de MMT. A MMT também melhorou a barreira dos filmes à umidade, graças ao efeito de tortuosidade conferido pela argila, mas, por outro lado, reduziu a transparência dos filmes.

**Palavras-chave:** Biopolímeros; Filmes comestíveis; Nanoargilas; Nanocompósitos.

### STARCH, CASHEW TREE GUM AND MONTMORILLONITE FILMS. PART 1. INFLUENCE OF CLAY CONTENT AND SONICATION TIME ON FILM PROPERTIES.

#### Abstract

Several studies have been conducted on developing biopolymer films for food application. The incorporation of montmorillonite (MMT) as reinforcing structures has been suggested to improve the physico-mechanical performance of biomaterials. MMT was added to starch and cashew tree gum films, and its influence was evaluated by means of a central composite design with 2 variables: MMT concentration and sonication time. MMT increased tensile strength and elastic modulus up to a certain point, but impaired those properties when in high concentrations, probably because of dispersion problems. Sonication favored tensile properties by enhancing MMT dispersion. MMT also enhanced the film moisture barrier, thanks to the tortuosity effect conferred by the clay, but it reduced film transparency.

**Keywords:** Biopolymers; Edible films; Nanoclays; Nanocomposites.

## 1 INTRODUÇÃO

Várias pesquisas têm se focado em desenvolver filmes biopoliméricos para uso em alimentos. A goma de cajueiro (GC) é um heteropolissacarídeo de composição descrita previamente (De Paula et al., 1998). A formação de filmes de GC é dificultada por sua baixa viscosidade, resultante da estrutura muito ramificada e do caráter polianiónico, o que pode ser contornado pela combinação com biopolímeros mais viscosos.

Nanoestruturas de reforço são indicadas para melhorar o desempenho dos biopolímeros, que geralmente têm fracas propriedades mecânicas e de barreira, se comparados aos polímeros derivados de petróleo. Argilas do tipo montmorilonita (MMT) são excelentes estruturas de reforço, graças à alta área superficial e alta razão de aspecto (Uyama et al., 2003), além de reduzirem a permeação, por aumentarem a tortuosidade do caminho a ser percorrido pelos permeantes. A dispersão de argilas pode ser melhorada pelo uso de ultrassom, que gera cavitação e ciclos de pressão capazes de separar aglomerados e aumentar a distância entre lamelas (Vartiainen et al., 2010).

O objetivo deste estudo foi avaliar a influência dos teores de MMT e do tempo de sonicação sobre as propriedades de filmes de amido de mandioca e GC.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Elaboração dos filmes

A GC foi extraída de cajueiros da Embrapa Agroindústria Tropical (E.E. Pacajus, CE) e submetida à purificação (segundo Torquato et al., 2004). O experimento foi conduzido segundo um delineamento composto central com 2 variáveis: concentração de MMT (0-15% da massa de amido + GC) e tempo de sonicação (0-5 min). Amido de mandioca foi gelatinizado em água (90°C, 10 min), e os demais componentes foram adicionados – GC (100% em relação ao amido), MMT (K10, Sigma), glicerol (30% da massa de amido + GC) e Tween 80 (1% da massa de amido + GC). A mistura foi homogeneizada (Ultra-Turrax T-50, Ika, 15000 rpm, 15 min) e sonicada a 24 kHz (UP400S, Hielscher). As dispersões foram degasadas a vácuo, depositadas sobre placas de vidro, niveladas a 0,8 mm, e deixadas a secar (25°C, 50% UR, 16 h). As amostras secas foram cortadas e destacadas da superfície, condicionadas por 40 h a 24°C e 50% UR, e submetidas às determinações (2.2).

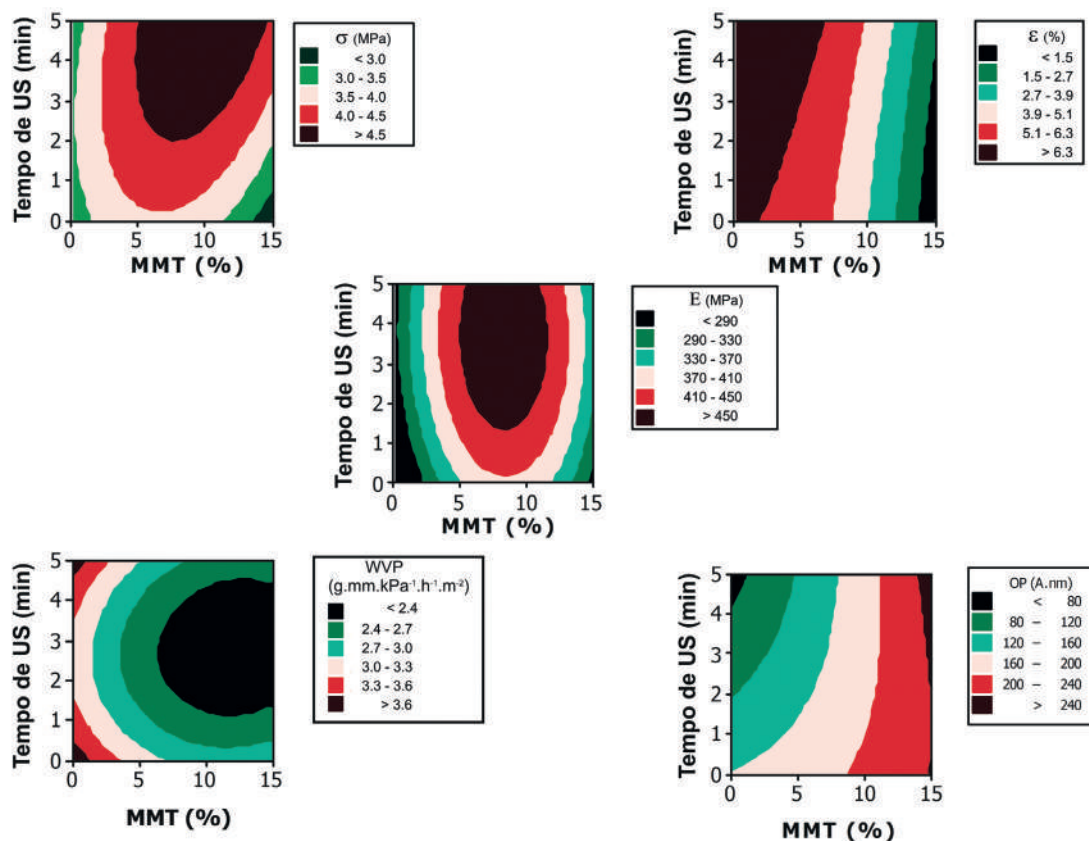
### 2.2 Caracterização dos filmes

Os filmes foram submetidos às seguintes determinações:

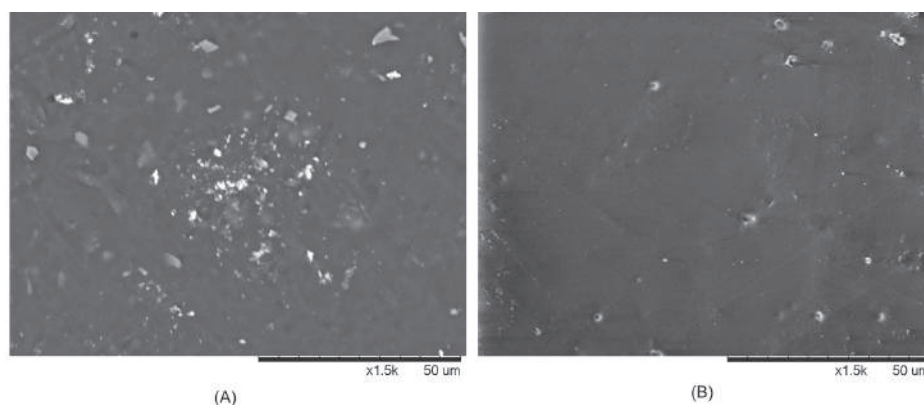
- Opacidade, medida pela área sob a curva de um espectro de absorvância (400–800 nm) de amostras colocadas sobre a face interna da cubeta, perpendicularmente ao feixe de luz.
- Permeabilidade ao vapor de água ( $P_{VA}$ ), baseada no método E96-80 (ASTM, 1989).
- Propriedades mecânicas, segundo método D882-00 (ASTM, 2000), em máquina universal de testes (Emic DL-3000) com célula de carga de 100 N.
- Imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV, Hitachi TM 3000), com voltagem de aceleração de 5 kV, e aumento de 1500 vezes.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os modelos quadráticos estão representados graficamente na Figura 1. A resistência e o módulo foram especialmente favorecidos pelo ultrassom (US), que provavelmente melhorou a dispersão da MMT na matriz (Almasi et al., 2010; Vartiainen et al., 2010). Além disso, o US pode ter auxiliado a solubilização de eventuais agregados residuais de amido que tenham permanecido (Cheng et al., 2010). De fato, as imagens de MEV (Figura 2) indicam que os agregados presentes no filme não sonicado (Figura 2A) foram reduzidos após 5 min de sonicação (Figura 2B). A adição de MMT até cerca de 10% aumentou a resistência e o módulo, mas maiores concentrações comprometeram essas propriedades, provavelmente devido a problemas de dispersão (Rhim, 2011). A elongação foi reduzida pela adição de MMT, como em outros estudos (Müller et al., 2011; Petersson & Oksman, 2006), o que pode ser atribuído a uma reduzida disponibilidade de plastificantes para interagir com a matriz (Müller et al., 2011). A permeabilidade foi reduzida pela MMT, corroborando outros estudos (Abdollahi et al., 2013; Duan et al., 2013), devido ao caminho tortuoso conferido pela argila à difusão de vapor de água e à forte interação entre a MMT e a matriz (Duan et al., 2013; Rhim, 2011). A MMT reduziu a transparência dos filmes, como observaram outros autores (Alboofetileh et al., 2013; Rhim, 2011), sugerindo incompleta dispersão na matriz (Rhim et al., 2009).



**Figura 1.** Representação gráfica dos modelos das respostas em função do tempo de sonicação (US) e da concentração de MMT.  $\sigma$ : resistência à tração;  $\epsilon$ : alongação na ruptura; E: módulo elástico; WVP: permeabilidade ao vapor de água; OP: opacidade.



**Figura 2.** Imagens de MEV de filmes com 7,5% MMT, sem sonicação (A) ou após 5 min de sonicação (B).

#### 4 CONCLUSÃO

As propriedades mecânicas foram favorecidas pela adição de 5-10% MMT e por tempos de sonicação de 3-5 min. A MMT melhorou também a barreira ao vapor de água dos filmes, mas reduziu sua transparência. O ultrassom melhorou a dispersão da MMT na matriz.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o suporte financeiro do CNPq (473975/2010-6) e da Embrapa. H.M.C. Azeredo agradece ao CNPq pela Bolsa de Produtividade em Pesquisa (304179/2012-4).



## REFERÊNCIAS

- ABDOLLAHI, M.; ALBOOFETILEH, M.; REZAEI, M.; BEHROOZ, R. Comparing physico-mechanical and thermal properties of alginate nanocomposite films reinforced with organic and/or inorganic nanofillers. *Food Hydrocolloids*, v. 32, p. 416-424, 2013.
- ALBOOFETILEH, M.; REZAEI, M.; HOSSEINI, H.; ABDOLLAHI, M. Effect of montmorillonite clay and biopolymer concentration on the physical and mechanical properties of alginate nanocomposite films. *Journal of Food Engineering*, v. 117, p. 26-33, 2013.
- ALMASI, H.; GHANBARZADEH, B.; ENTEZAMI, A. A. Physicochemical properties of starch–CMC–nanoclay biodegradable films. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 46, p. 1–5, 2010.
- ASTM. Standard test methods for water vapor transmission of materials. E96-80. *Annual Book of ASTM Standards*. Philadelphia: American Society for Testing and Materials, 1989.
- ASTM. Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. D882-00. *Annual Book of ASTM Standards*. Philadelphia: American Society for Testing and Materials, 2000.
- CHENG, W.; CHEN, J.; LIU, D.; YE, X.; KE, F. Impact of ultrasonic treatment on properties of starch film-forming dispersion and the resulting films. *Carbohydrate Polymers*, v. 81, p. 707-711, 2010.
- DE PAULA, R.C.M.; HEATLEY, F.; BUDD, P.M. Characterisation of *Anacardium occidentale* exudate polysaccharide. *Polymer International*, v. 45, p. 27–35, 1998.
- DUAN, Z.; THOMAS, N.L.; HUANG, W. Water vapour permeability of poly(lactic acid) nanocomposites. *Journal of Membrane Science*, v. 446, p. 112-118, 2013.
- MÜLLER, C.M.O.; LAURINDO, J.B.; YAMASHITA, F. Effect of nanoclay incorporation method on mechanical and water vapor barrier properties of starch-based films. *Industrial Crops and Products*, v. 33, p. 605-610, 2011.
- PETERSSON, L.; OKSMAN, K. Biopolymer based nanocomposites: Comparing layered silicates and microcrystalline cellulose as nanoreinforcement. *Composites Science and Technology*, v. 66, p. 2187-2196, 2006.
- RHIM, J.W. Effect of clay contents on mechanical and water vapor barrier properties of agar-based nanocomposite films. *Carbohydrate Polymers*, v. 86, p. 691-699, 2011.
- RHIM, J.W.; HONG, S.I.; HA, C.S. Tensile, water vapor barrier and antimicrobial properties of PLA/nanoclay composite films. *LWT – Food Science and Technology*, v. 42, p. 612-617, 2009.
- TORQUATO, D. S.; FERREIRA, M. L.; SÁ, G.C.; BRITO, E.S.; PINTO, G.A.S.; AZEVEDO, E.H.F. Evaluation of antimicrobial activity of cashew tree gum. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, v. 20, p. 505-507, 2004.
- UYAMA, H.; KUWABARA, M.; TSUJIMOTO, T.; NAKANO, M.; USUKI, A.; & KOBAYASHI, S. Green nanocomposite from renewable resources: plant oil-clay hybrid materials. *Chemistry of Materials*, v. 15, p. 2492-2494, 2003.
- VARTIAINEN, J.; TUOMINEN, M.; NÄTTINEN, K. Bio-Hybrid nanocomposite coatings from sonicated chitosan and nanoclay. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 116, p. 3638-3647, 2010.

## FILMES DE AMIDO, GOMA DE CAJUEIRO E MONTMORILONITA. PARTE 2. APLICAÇÃO COMO REVESTIMENTO DE AMÊNDOAS DE CASTANHAS DE CAJU

Alaídes M. B. Pinto<sup>1</sup>, Talita M. Santos<sup>1</sup>, Janice R. Lima<sup>2</sup>, \*Henriette M. C. Azeredo<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Ceará. <sup>2</sup>Embrapa Agroindústria Tropical.

<sup>4</sup>Embrapa – Secretaria de Relações Internacionais.

\*henriette.azeredo@embrapa.br.

**Classificação:** Filmes, revestimentos comestíveis e embalagens funcionais para alimentos.

### Resumo

Revestimentos comestíveis são películas biopoliméricas formadas sobre alimentos, auxiliando a embalagem na proteção contra fatores ambientais. A incorporação de argilas do tipo montmorilonita (MMT) como nanoestruturas de reforço tem sido sugerida para melhorar o desempenho físico-mecânico de biopolímeros. Amêndoas de castanhas de caju foram tratadas com revestimentos de amido e goma de cajueiro, adicionados ou não de MMT. Ambos os revestimentos reduziram a absorção de umidade e as taxas de oxidação das amêndoas durante a estocagem, sendo portanto consideradas efetivas para aumentar sua vida de prateleira. A presença de MMT aumentou a proteção do revestimento contra a umidade, mas não alterou a proteção oxidativa.

**Palavras-chave:** Biopolímeros; Revestimentos comestíveis; Nanoargilas; Nanocompósitos.

### STARCH, CASHEW TREE GUM AND MONTMORILLONITE FILMS. PART 2. APPLICATION AS COATINGS FOR CASHEW KERNELS

#### Abstract

Edible coatings are biopolymer films formed on food surfaces, enhancing the packaging protection against environmental factors. The incorporation of montmorillonite-type clays (MMT) as nanoreinforcements has been suggested to improve the physico-mechanical performance of biopolymers. Cashew kernels were treated with starch/cashew tree gum coatings, added or not with MMT. Both coatings reduced the moisture absorption and the oxidation rates of the kernels during storage, being thus considered as effective to increase their shelf life. The presence of MMT enhanced the coating protection against moisture, but not against oxidation.

**Keywords:** Biopolymers; Edible coatings; Nanoclays; Nanocomposites.

## 1 INTRODUÇÃO

A castanha de caju compõe uma cadeia de negócios concentrada no Nordeste brasileiro, especialmente no Ceará, principal exportador brasileiro. As amêndoas de castanhas de caju, por seu alto teor de lipídios e baixo teor de umidade, têm como principais causas de deterioração a rancidez (alteração sensorial causada pela oxidação de lipídios) e as alterações de textura devidas à absorção de umidade (Lima, 2002). A aplicação de revestimentos comestíveis às castanhas pode aumentar significativamente essa estabilidade, evitando a necessidade do acondicionamento em embalagens de alta barreira (mais espessas, e geralmente mais caras).

Revestimentos comestíveis são películas utilizadas para envolver alimentos, protegendo-os da ação dos fatores ambientais, como oxigênio e umidade, e aumentando a estabilidade do alimento. Os revestimentos auxiliam as embalagens na função de proteção, podendo reduzir o volume de embalagem utilizado para determinada aplicação. Entre os biopolímeros formadores de filmes e revestimentos, o amido tem ocupado lugar de destaque, por sua alta disponibilidade, baixo preço e razoável desempenho. No Brasil, uma das fontes mais utilizadas para extração de amido é a mandioca. A goma de cajueiro (GC) é um heteropolissacarídeo complexo exsudado de árvores de cajueiro, de estrutura semelhante à da goma acácia (Paula et al., 2002). Uma de suas possíveis aplicações é a elaboração de filmes, especialmente em combinação com outros biopolímeros, como alginato (AZEREDO et al., 2012), para contornar o problema da baixa viscosidade da goma. A GC já foi estudada como matriz para revestimento de maçãs (Carneiro-da-Cunha et al., 2009).

O uso de nanoestruturas de reforço, como nanoargilas, tem sido frequentemente explorado para melhorar o desempenho físico-mecânico de materiais biopoliméricos. Argilas do tipo montmorilonita (MMT) têm baixa toxicidade, e são comumente usadas em produtos farmacêuticos, como excipiente ou composto ativo (Baek et al., 2012). Já foram estudadas como componentes de revestimentos comestíveis (Cortez-Vega et al., 2014), sendo excelentes estruturas de reforço, graças à alta área superficial e alta razão de aspecto, além de reduzir a permeação.

O objetivo do estudo foi aplicar dispersões de amido de mandioca e goma de cajueiro, adicionadas ou não de MMT, como revestimento em amêndoas de castanhas de caju, para retardar as principais formas de alteração que afetam sua estabilidade, a saber: a oxidação de lipídios (que resulta em rancidez) e a absorção de umidade (que prejudica a textura).

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Preparação das dispersões e aplicação sobre amêndoas de castanhas de caju

A GC foi extraída de cajueiros da Embrapa Agroindústria Tropical (E.E. Pacajus, CE) e submetida à purificação (segundo Torquato et al., 2004). Duas dispersões foram preparadas: AM/GC e AM/GC/MMT. Para preparar AM/GC, o amido foi gelatinizado em água (10% de amido em água, 90°C, 10 min), e os demais componentes foram adicionados – GC (100% em relação ao amido), glicerol (30% da massa de amido + GC) e Tween 80 (1% da massa de amido + GC). A mistura foi homogeneizada em Ultra-Turrax T-50 (Ika) a 15000 rpm por 15 min, e sonicada a 24 kHz (UP400S, Hielscher) por 2,5 min, e degasada a vácuo para remoção de bolhas de ar que comprometessem a continuidade dos revestimentos posteriormente formados. Para preparar AM/GC/MMT, o mesmo procedimento foi adotado, com a diferença de que a MMT (K10, Sigma) foi também incorporada à dispersão (a 7,5%, com base na massa de amido + GC).

As amêndoas foram imersas nas dispersões por 30 s, deixadas a secar, acondicionadas em sacos de PEBD e estocadas a 25°C, juntamente com amêndoas não revestidas (controle).

### 2.2 Avaliação da estabilidade das amêndoas de castanhas de caju

Os testes de estabilidade foram feitos a cada 30 dias por 120 dias: teores de umidade (gravimetria), atividade de água (AquaLab-Decagon CX-2), acidez e índice de peróxido (métodos Cd 3d-63 e Cd 8-53 da AOCS, 1993, respectivamente) dos óleos previamente extraídos (método Aa 4-38, AOCS, 1993).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As alterações nas amêndoas ao longo da estocagem estão representadas na Figura 2. Ambos os revestimentos reduziram a absorção de umidade pelas amêndoas (especialmente o com MMT), assim como a atividade de água ao longo da estocagem. Os dados de umidade e atividade de água indicam que os revestimentos, apesar de hidrofílicos (formados por polissacarídeos), apresentaram uma razoável barreira ao vapor de água, provavelmente evitando alterações de textura associadas à absorção de umidade pelas amêndoas, como perda de crocância, que é uma característica sensorial importante para esse tipo de produto. Quando comparado ao revestimento sem MMT, o revestimento nanocompósito foi mais efetivo para reduzir o teor de umidade das amêndoas, o que tem relação com a melhoria das propriedades de barreira conferida pela MMT, explicada pelo caminho tortuoso conferido pela argila à difusão de vapor de água e à forte interação entre a MMT e a matriz (Duan et al., 2013; Rhim, 2011).

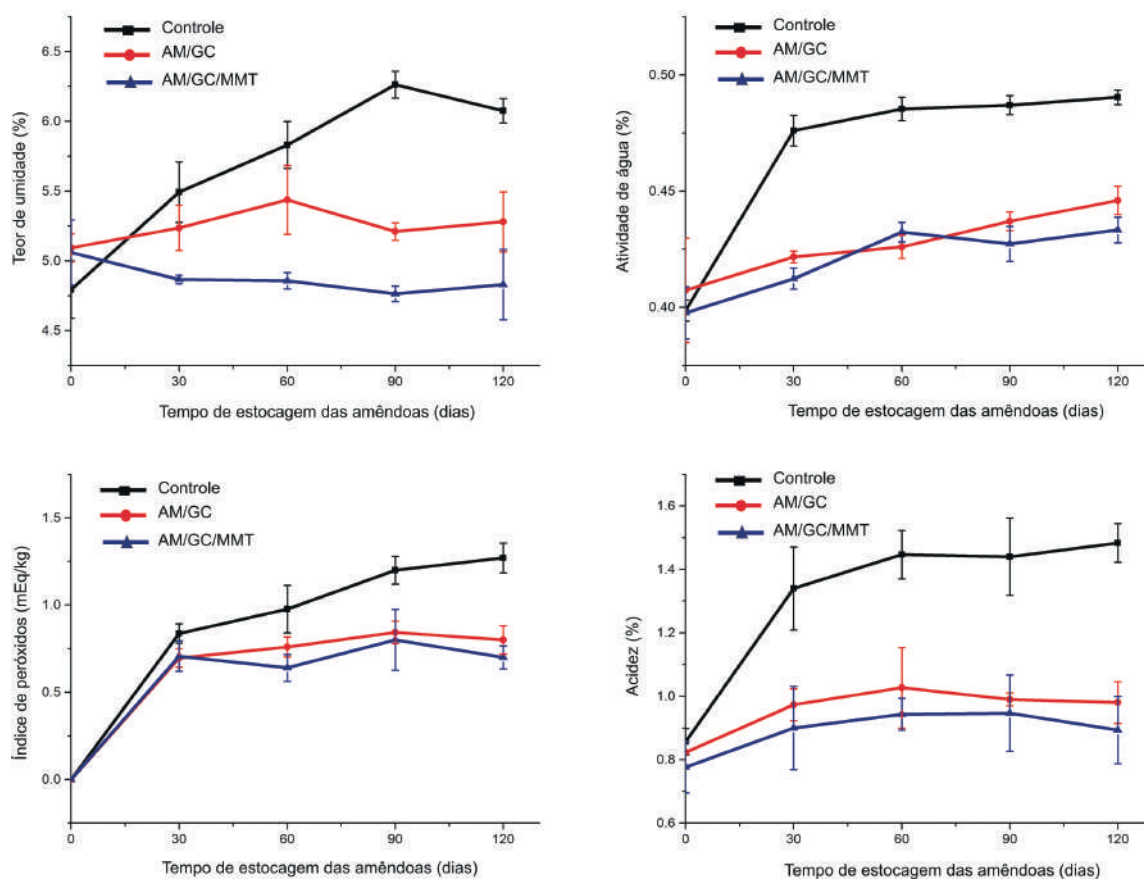


Figura 1. Estabilidade das amêndoas ao longo de 120 dias de estocagem.

As taxas de oxidação (representadas pelo índice de peróxidos e pela acidez) foram reduzidas pelos revestimentos, como evidenciado pelas menores alterações na acidez e no índice de peróxidos. Ou seja, ambos os revestimentos têm o potencial de reduzir a ocorrência de rancidez oxidativa em amêndoas de castanhas de caju. Outros estudos registraram efeitos de revestimentos de polissacarídeos no sentido de reduzir as taxas de oxidação de castanhas (Atarés et al., 2011; Haq et al., 2013). Por outro lado, devido ao efeito de tortuosidade previamente mencionado, era esperado que o revestimento com MMT tivesse apresentado melhor desempenho que o revestimento AM/GC, reduzindo ainda mais as taxas de oxidação das amêndoas, o que não ocorreu. Sendo a matriz (amido/goma de cajueiro) hidrofílica, portanto pouco permeável ao  $O_2$ , é possível que a permeabilidade ao  $O_2$  do revestimento sem MMT já fosse baixa o bastante para fazer com que o efeito da MMT fosse negligível.

#### 4 CONCLUSÃO

Ambos os revestimentos de amido de mandioca e goma de cajueiro (adicionados ou não de MMT) têm potencial semelhante para aumentar a vida de prateleira de amêndoas de castanhas de caju, reduzindo tanto as taxas de oxidação de lipídios (que resultam em rancidez oxidativa) quanto a absorção de umidade (que resulta em perda de crocância). A presença de MMT melhorou ligeiramente o desempenho do revestimento em termos de redução da absorção de umidade, mas não beneficiou o revestimento em termos de redução das taxas de oxidação.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o suporte financeiro do CNPq (473975/2010-6) e da Embrapa. H.M.C. Azeredo agradece ao CNPq pela Bolsa de Produtividade em Pesquisa (304179/2012-4).

## REFERÊNCIAS

- AOCS. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society. (4. ed.). Champaign: The American Oil Chemists' Society, 1993.
- ATARÉS, L.; PÉREZ-MASIÁ, R.; CHIRALT, A. The role of some antioxidants in the HPMC film properties and lipid protection in coated toasted almonds. *Journal of Food Engineering*, v. 104, p. 649-656, 2011.
- AZEREDO, H. M. C.; MIRANDA, K. W. E.; ROSA, M. F.; NASCIMENTO, D. M.; MOURA, M. R. Edible films from alginate-acerola puree reinforced with cellulose whiskers. *LWT. Food Science and Technology*, Philadelphia, v. 46, p. 294-297, 2012.
- BAEK, M.; CHOY, J.-H.; CHOI, S.-J. Montmorillonite intercalated with glutathione for antioxidant delivery: Synthesis, characterization, and bioavailability evaluation. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 425, p. 29-34, 2012.
- CARNEIRO-DA-CUNHA, M. G.; CERQUEIRA, M. A.; SOUZA, B. W. S.; SOUZA, M. P.; TEIXEIRA, J. A.; VICENTE, A. A. Physical properties of edible coatings and films made with a polysaccharide from *Anacardium occidentale* L. *Journal of Food Engineering*, v. 95, p. 379-385, 2009.
- CORTEZ-VEGA, W.R.; PIZATO, S.; SOUZA, J.T.A.; PRENTICE, C. Using edible coatings from Whitemouth croaker (*Micropogonias furnieri*) protein isolate and organo-clay nanocomposite for improve the conservation properties of fresh-cut 'Formosa' papaya. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, v. 22, p. 197-202, 2014.
- DUAN, Z.; THOMAS, N.L.; HUANG, W. Water vapour permeability of poly(lactic acid) nanocomposites. *Journal of Membrane Science*, v. 446, p. 112-118, 2013.
- HAQ, M. A.; ALAM, M. J.; HASNAIN, A. Gum Cordia: A novel edible coating to increase the shelf life of Chilgoza (*Pinus gerardiana*). *LWT – Food Science and Technology*, v. 50, p. 306-311, 2013.
- LIMA, J. R.; CAMPOS, S. D.; GONÇALVES, L. A. G. Relationship between water activity and texture of roasted and salted cashew kernel. *Journal of Food Science and Technology, Mysore*, v. 37, p. 512-513, 2000.
- PAULA, H. C. B.; GOMES, F. J. S.; PAULA, R. C. M. Swelling studies of chitosan/cashew gum physical gels. *Carbohydrate Polymers, Barking*, v. 48, p. 313-318, 2002.
- RHIM, J.W. Effect of clay contents on mechanical and water vapor barrier properties of agar-based nanocomposite films. *Carbohydrate Polymers*, v. 86, p. 691-699, 2011.
- TORQUATO, D. S.; FERREIRA, M. L.; SA, G. C.; BRITO, E. S.; PINTO, G. A. S.; AZEVEDO, E. H. F. Evaluation of antimicrobial activity of cashew tree gum, *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, Oxford, v. 20, p. 505-507, 2004.

---

## FILMES DE EMULSÕES DE AMIDO E GOMA DE CAJUEIRO COM CERA DE CARNAÚBA – EFEITOS DAS PROPORÇÕES SOBRE AS PROPRIEDADES

Delane C. Rodrigues<sup>1</sup>, Carlos A. Caceres<sup>2</sup>, Hálisson L. Ribeiro<sup>1</sup>, \*Henriette M. C. Azeredo<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Ceará. <sup>2</sup>Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira. <sup>3</sup>Embrapa - Secretaria de Relações Internacionais.

\*henriette.azeredo@embrapa.br

**Classificação:** Filmes, revestimentos comestíveis e embalagens funcionais para alimentos.

### Resumo

Filmes de emulsões foram preparados com diferentes proporções de goma de cajueiro (GC, 70-85%), amido de mandioca (AM, 15-30%) e cera de carnaúba (CC, 0-15%), segundo um delineamento de misturas simplex centroide, e algumas propriedades físicas foram modeladas em função dos componentes da mistura. CC teve alguns efeitos desejáveis sobre os filmes, reduzindo a permeabilidade ao vapor de água e a solubilidade em água, assim como melhorando a alongação. Por outro lado, os efeitos plasticizantes da CC resultaram em redução da resistência e do módulo elástico; além disso, a cera conferiu opacidade aos filmes. As proporções relativas de AM e GC não apresentaram efeitos significativos sobre as propriedades físicas dos filmes.

**Palavras-chave:** Polissacarídeos; Lipídios; Filmes comestíveis; Delineamento de misturas.

### EMULSION FILMS FROM STARCH, CASHEW TREE GUM AND CARNAUBA WAX – EFFECTS OF THE PROPORTIONS ON FILM PROPERTIES

#### Abstract

Emulsion films were prepared from different proportions of cashew tree gum (GC, 70-85%), cassava starch (AM, 15-30%), and carnauba wax (CC, 0-15%), according to a simplex-centroid mixture design, and some physical properties were modelled as functions of the mixture components. CC had some desirable effects on films, decreasing water vapor permeability and water solubility, as well as enhancing elongation. On the other hand, CC plasticizing effects resulted in decreased film strength and elastic modulus; moreover, it conferred opacity to the films. The relative proportions of AM and GC did not present significant effects on the physical properties of the films.

**Keywords:** Polysaccharides; Lipids; Edible films; Mixture design.

**Publicações relacionadas:** Rodrigues, D.C.; Caceres, C.A.; Ribeiro, H.L.; Abreu, R.F.A.; Cunha, A.P.; Azeredo, H.M.C. Influence of cassava starch and carnauba wax on physical properties of cashew tree gum-based films. *Food Hydrocolloids*, v. 38, p. 147-151, 2014.

## 1 INTRODUÇÃO

A goma de cajueiro (GC) é um heteropolissacarídeo exsudado de troncos de cajueiro, de composição previamente descrita (De Paula et al., 1998). A aplicação da GC como matriz de filmes é limitada por sua baixíssima viscosidade, o que pode ser compensado pela combinação com outros biomateriais mais viscosos, como amido.

Filmes de polissacarídeos são muito hidrofílicos, o que limita muitas aplicações. Ceras, como a de carnaúba (*Copernica cerifera*), são lipídios eficientes para conferir hidrofobicidade a filmes de polissacarídeos, reduzindo sua permeabilidade ao vapor de água e solubilidade em água, e tornando-os mais adequados para aplicações que requeiram certa resistência à umidade.

O objetivo do estudo foi combinar GC com AM e CC, e estudar o efeito das proporções dos componentes sobre as propriedades dos filmes resultantes.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Elaboração dos filmes

Os filmes foram formulados a partir de 3 componentes principais, segundo um delineamento de misturas: GC (goma extraída de cajueiros da E.E. de Pacajus da Embrapa Agroindústria Tropical, purificada segundo método descrito por Torquato et al., 2004); AM (amido de mandioca, Fecularia Juriti); CC (cera de carnaúba, Foncepi Exportadora).

O AM foi gelatinizado (8% em água, 90°C, 10 min). A CC foi adicionada dos surfactantes Tween 80 e Span 80 (5% e 15%, respectivamente, com base na massa de CC), fundida (85°C, 5 min) e misturada ao amido gelatinizado, em processador ultrassônico (UP400S, Hielscher, 24 kHz, 10 ciclos de 1 min). A GC foi misturada à emulsão (Ultra-Turrax T-50, Ika, 15 min, 4000 rpm), juntamente com glicerol (30% da massa de AM + GC). A emulsão resultante foi degasada a vácuo (30 mbar, 3 h, em disruptor ultrassônico DES500, Unique Group), e o filme foi obtido por *casting* em rama de secagem LTE-S (Mathis AG) a 60°C por 15 min, com fluxo de ar a 3 m<sup>3</sup>/h, para uma espessura final de 0,15 mm.

As amostras secas foram cortadas, destacadas e condicionadas por 40 h a 24°C e 50% UR.

## 2.2 Caracterização dos filmes

- Opacidade, medida pela área sob a curva de um espectro de absorbância (400–800 nm) de amostras colocadas sobre a face interna da cubeta, perpendicularmente ao feixe de luz.
- Permeabilidade ao vapor de água ( $P_{VA}$ ), baseada no método E96-80 (ASTM, 1989).
- Solubilidade em água, pela medida da perda de massa seca de uma amostra (disco de 2 cm de diâmetro) após agitação (175 rpm) em 45 mL de água a 25°C.
- Propriedades mecânicas, segundo método D882-00 (ASTM, 2000), em máquina universal de testes (Emic DL-3000) com célula de carga de 100 N.
- Imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV, Hitachi TM 3000), com voltagem de aceleração de 5 kV, e aumento de 200 vezes.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os gráficos representativos das respostas estão na Figura 1. A permeabilidade ao vapor de água (PVA) e a solubilidade em água foram reduzidas drasticamente pela CC, indicando que a cera foi efetiva em melhorar a barreira e a resistência à umidade, como observado em outros trabalhos com ceras incorporadas a filmes (Fabra et al., 2009; Soazo et al., 2011). As proporções relativas de AM e GC, por outro lado, não afetaram essas propriedades, provavelmente devido ao caráter similarmente hidrofílico de ambos os componentes. A opacidade foi aumentada pela CC, corroborando efeitos de ceras registrados em outros estudos (Fabra et al., 2009; Zúñiga et al., 2012). A presença de uma fase dispersa não miscível promove a opacidade como função das diferenças entre os índices de refração das fases e da concentração e dimensões das gotículas da fase dispersa (Villalobos et al., 2005). As proporções relativas de AM e GC não afetaram a opacidade, sugerindo a miscibilidade dos componentes (Maruhashi & Iida, 2001).

A CC reduziu a resistência e o módulo dos filmes (corroborando Jiménez et al., 2010 e Mehyar et al., 2012), e aumentou a elongação (como observado por Chiumarelli & Hubinger, 2012), indicando um efeito plastificante da cera (Aliheidari et al., 2013; Matsakidou et al., 2013) ou um efeito das descontinuidades conferidas pelos lipídios à matriz (Jiménez et al., 2010). As imagens de MEV (Figura 2) indicam a presença de descontinuidades no filme com CC (Fig. 2B), representando as gotículas de cera que, apesar de relativamente bem dispersas, apresentaram alguns agregados. No entanto, como a elongação não foi prejudicada (ao contrário, foi favorecida) pela CC, a hipótese do efeito plastificante parece mais plausível, além de ser corroborada por uma redução na temperatura de transição vítrea dos filmes (resultado não mostrado).

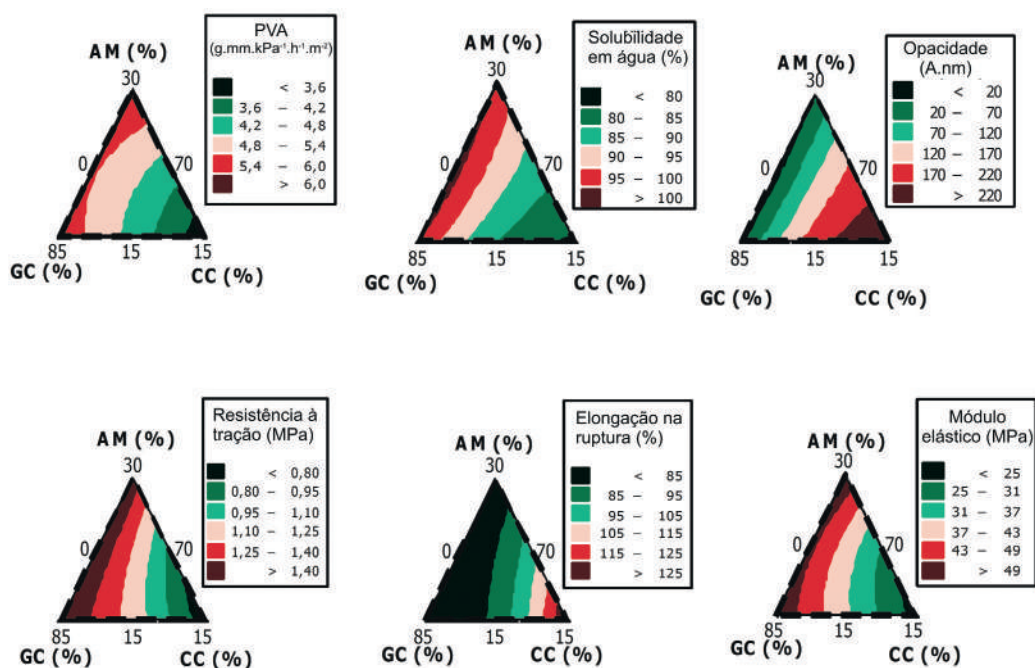
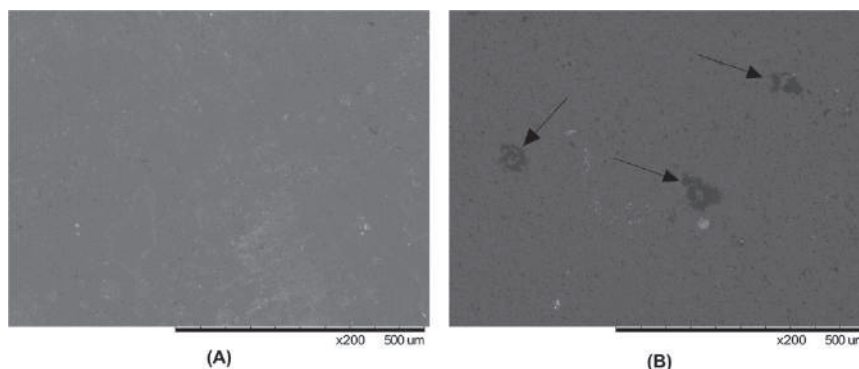


Figura 1. Representação gráfica das respostas em função das proporções dos componentes.



**Figura 2.** MEV de filme sem CC (A, proporções AM:GC:CC, 15:85:0) e com CC (B, proporções AM:GC:CC, 15:70:15), as setas indicando as descontinuidades.

#### 4 CONCLUSÃO

As propriedades físicas de filmes de emulsões de goma de cajueiro e amido de mandioca com cera de carnaúba não foram afetadas pelas proporções relativas de amido e cera de carnaúba. A cera atuou como plastificante, e sua incorporação resultou em filmes com melhor barreira e resistência à umidade, embora a transparência tenha sido comprometida.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o suporte financeiro do CNPq (473975/2010-6) e da Embrapa. H.M.C. Azeredo agradece ao CNPq pela Bolsa de Produtividade em Pesquisa (304179/2012-4).

#### REFERÊNCIAS

- ALIHEIDARI, N.; FAZAELI, M.; AHMADI, R.; GHASEMLOU, M.; EMEM-DJOMEH, Z. Comparative evaluation on fatty acid and Matricaria recutita essential oil incorporated into casein-based film. *International Journal of Biological Macromolecules*, Philadelphia, v.56, p.69-75, 2013.
- ASTM. Standard test methods for water vapor transmission of materials. E96-80. *Annual Book of ASTM Standards*. Philadelphia: American Society for Testing and Materials, 1989.
- ASTM. Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. D882-00. *Annual Book of ASTM Standards*. Philadelphia: American Society for Testing and Materials, 2000.
- DE PAULA, R.C.M.; HEATLEY, F.; BUDD, P.M. (1998). Characterisation of *Anacardium occidentale* exudate polysaccharide. *Polymer International*, London, v.45, p.27-35, 1998.
- FABRA, M.J.; HAMBLETON, A.; TALENS, P.; DEBEAUFORT, F.; CHIRALT, A.; VOILLEY, A. Influence of interactions on water and aroma permeabilities of  $\iota$ -carrageenan-oleic acid-beeswax films used for flavour encapsulation. *Carbohydrate Polymers*, London, v.76, p.325-332, 2009.
- JIMÉNEZ, A.; FABRA, M.J.; TALENS, P.; CHIRALT, A. Effect of lipid self-association on the microstructure and physical properties of hydroxypropyl-methylcellulose edible films containing fatty acids. *Carbohydrate Polymers*, London, v.82, p.585-593, 2010.
- MARUHASHI, Y.; IIDA, S. Transparency of polymer blends. *Polymer Engineering and Science*, v. 41, p. 1987-1995, 2001.
- MATSAKIDOU, A.; BILIADERIS, C.G.; KIOSSEOGLOU, V. Preparation and characterization of composite sodium caseinate edible films incorporating naturally emulsified oil bodies. *Food Hydrocolloids*, Amsterdam, v. 30, p. 232-240, 2013.



MEHYAR, G.F.; AL-ISMAIL, K.; HAN, J.H.; CHEE, G.W. Characterization of edible coatings consisting of pea starch, whey protein isolate, and carnauba wax and their effects on oil rancidity and sensory properties of walnuts and pine nuts. *Journal of Food Science*, Chicago, v. 77, p. E52-59, 2012.

SOAZO, M.; RUBIOLO, A.C.; VERDINI, R.A. Effect of drying temperature and beeswax content on physical properties of whey protein emulsion films. *Food Hydrocolloids*, Amsterdam, v. 25, n. 5, p. 1251-1255, 2011.

TORQUATO, D.S.; FERREIRA, M.L.; SÁ, G.C.; BRITO, E.S.; PINTO, G.A.S.; AZEVEDO, E.H.F. Evaluation of antimicrobial activity of cashew tree gum. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, v. 20, p. 505-507, 2004.

VILLALOBOS, R.; CHANONA, J.; HERNÁNDEZ, P.; GUTIÉRREZ, G.; CHIRALT, A. Gloss and transparency of hydroxypropyl methylcellulose films containing surfactants as affected by their microstructure. *Food Hydrocolloids*, Amsterdam, v. 19, p. 53-61, 2005.

ZÚÑIGA, R.N.; SKURTS, O.; OSORIO, F.; AGUILERA, J.M.; PEDRESCHI, F. Physical properties of emulsion-based hydroxypropyl methylcellulose films: Effect of their microstructure. *Carbohydrate Polymers*, London, v. 90, p. 1147-1158, 2012.

---

## FILMES DE HEMICELULOSOS DE PALHA DE TRIGO – EFEITOS DO ÁCIDO CÍTRICO

Charis Kontou-Vrettou<sup>1</sup>, Keith Waldron<sup>2</sup>, Graham K. Moates<sup>2</sup>, Nikolaus Wellner<sup>2</sup>,  
\*Henriette M. C. Azeredo<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Agricultural University of Athens, Greece. <sup>2</sup>Institute of Food Research, Norwich, UK. <sup>4</sup>Embrapa – Secretaria de Relações Internacionais.  
\*henriette.azeredo@embrapa.br

**Classificação:** Filmes, revestimentos comestíveis e embalagens funcionais para alimentos.

### Resumo

Vários estudos têm sido focados no desenvolvimento de filmes biodegradáveis. Um dos desafios apresentados pelos polissacarídeos é a baixa resistência dos filmes à água, que limita muitas aplicações em alimentos. Este estudo foi conduzido para avaliar a influência da reticulação com ácido cítrico (AC), catalisada ou não por NaH<sub>2</sub>PO<sub>2</sub>, sobre propriedades de filmes de hemicelulosos de palha de trigo. A presença de até 30% AC (com ou sem NaH<sub>2</sub>PO<sub>2</sub>) melhorou a resistência à água e a barreira dos filmes a umidade. Além disso, a tenacidade e alongação dos filmes foram aumentadas.

**Palavras-chave:** Biopolímeros; Filmes biodegradáveis; Polissacarídeos; Reticulação.

### WHEAT STRAW HEMICELLULOSE FILMS AS AFFECTED BY CITRIC ACID

#### Abstract

Several studies have been made on development of biodegradable films. One of the challenges presented by polysaccharide films is their poor water resistance which precludes their use in many food packaging applications. This study was conducted to evaluate the influence of crosslinking with citric acid (CA), catalysed or not with NaH<sub>2</sub>PO<sub>2</sub>, on properties of films from wheat straw hemicelluloses. The presence of up to 30% CA (with or without NaH<sub>2</sub>PO<sub>2</sub>) improved water resistance and water vapour barrier of the films. Moreover, the film toughness and elongation have been improved.

**Keywords:** Biopolymers; Biodegradable films; Polysaccharides; Crosslinking.

## 1 INTRODUÇÃO

Reticulação é o processo de formação de ligações “cruzadas” entre cadeias poliméricas, sejam essas ligações covalentes (reticulação química) ou interações mais fracas (física), formando redes tridi-

mensionais que reduzem a mobilidade da estrutura, melhorando sua resistência a água, além de melhorar geralmente as propriedades mecânicas (Balaguer et al., 2011). O ácido cítrico tem sido estudado como reticulante de filmes de polissacarídeos (Bonilla et al., 2013; Olsson et al., 2013), sendo o mecanismo atribuído a ligações diéster intermoleculares entre grupos hidroxila do polissacarídeo e dois grupos carboxila do ácido cítrico (Coma et al., 2003; Olsson et al., 2013).

O objetivo do estudo foi avaliar a influência de diferentes níveis de ácido cítrico (AC), com ou sem catalisador, sobre propriedades de filmes de hemiceluloses de palha de trigo (HCPT).

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Extração de hemiceluloses de palha de trigo

Palha de trigo foi moída a 0,5 mm e lavada com solução 0,2% de EDTA (90°C, 1 h). As HCPT foram extraídas com solução alcalina (pH 12,5) de  $H_2O_2$  a 2% por 16 h a 50°C. O sobrenadante resultante da centrifugação subsequente foi filtrado, e seu pH foi ajustado para 5. As HCPT foram precipitadas com etanol (1,5 volume). O resíduo da centrifugação foi seco a 25°C, e as HCPT foram moídas para formar um pó (Basic Mill A10, IKA).

### 2.2 Formação e caracterização dos filmes

Além de um tratamento controle (sem AC), foram usadas 4 concentrações de AC (5%, 10%, 20% e 30%, com base na massa de HCPT), com ou sem  $NaH_2PO_2$  (usado como catalisador, a 50% com base no AC). As HCPT foram solubilizadas em água destilada (5%, m/v) com glicerol (30% da massa de HCPT) e os demais componentes (AC e  $NaH_2PO_2$ ) em homogeneizador Ystral 7000 por 20 min. A dispersão foi degasada a vácuo e depositada sobre placas de petri para uma espessura final de 0,09 mm. Após a secagem, os filmes foram submetidos a cura (150°C, 10 min) para promover a reticulação. As amostras foram cortadas e destacadas da superfície, e condicionadas (40 h a 24°C, 50% UR) previamente às análises: permeabilidade ao vapor de água (PVA), baseada no método E96-80 (ASTM, 1989); solubilidade em água, por determinação de perda de massa seca por amostras (2 cm x 2 cm) após imersão por 6 h em água destilada a 25°C sob agitação (150 rpm); propriedades mecânicas, segundo método D882-00 (ASTM, 2000), em texturômetro TA.XT Plus (Stable Micro Systems) com célula de carga de 5 kg; FTIR (128 varreduras, resolução 2  $cm^{-1}$ ) com espectrômetro Digilab FTIR equipado com Digilab UMA 600.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 mostra o comportamento das propriedades dos filmes. O AC aumentou drasticamente o teor de matéria insolúvel, além de reduzir a permeabilidade a vapor de água (PVA), indicando a eficiência da reticulação para seu principal objetivo, corroborando outros estudos (Bonilla et al., 2013; Olsson et al., 2013). Além disso, a tenacidade dos filmes (área sob a curva tensão x deformação) foi aumentada pela adição de ácido cítrico. Porém, ao contrário do observado por Reddy & Yang (2010), a resistência e o módulo foram reduzidos, e a elongação aumentada, sugerindo um efeito plastificante que, embora aparentemente inconsistente com o efeito reticulante, foi observado anteriormente, ocorrendo paralelamente à reticulação (Shi et al., 2008; Wang et al., 2014).

Os efeitos do  $NaH_2PO_2$ , embora reportados previamente (Olsson et al., 2013; Reddy & Yang, 2010), foram predominantemente não significativos, corroborando Coma et al. (2003).

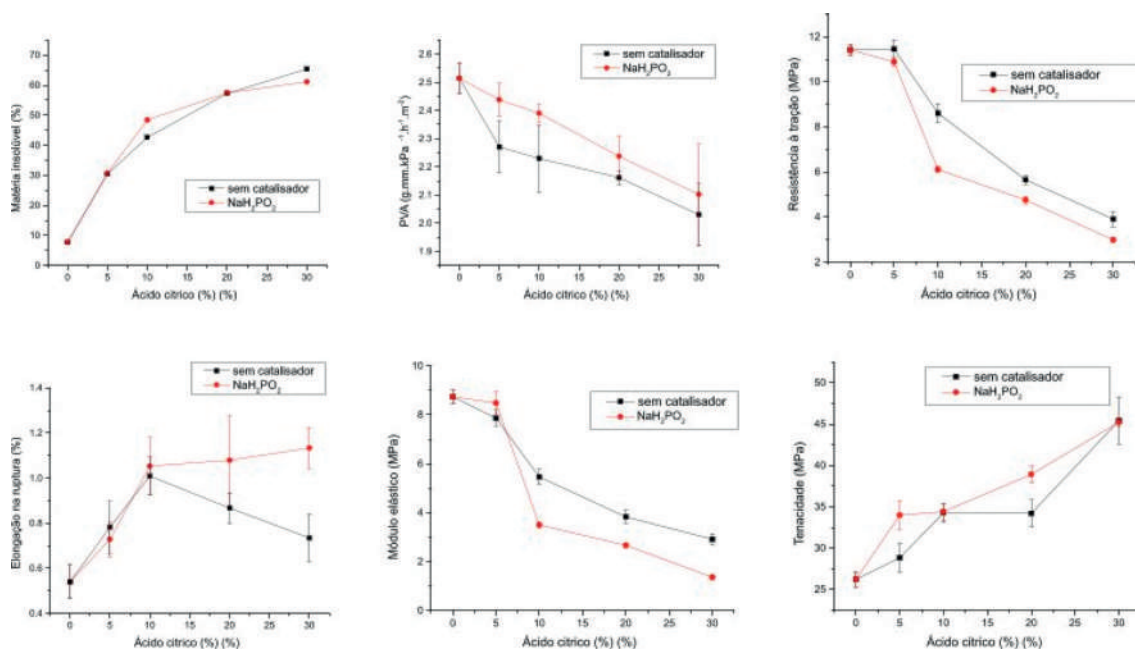


Figura 1. Propriedades dos filmes em função da concentração de ácido cítrico e da presença de catalisador.

A Figura 2 mostra os espectros de FTIR. Vários picos derivam das hemiceluloses: cadeia de xilana, entre 1125 e 1000 cm<sup>-1</sup> (Chaikumpollert et al., 2004), ligações glicosídicas a 926 cm<sup>-1</sup> e 897 cm<sup>-1</sup> (Egüés et al., 2013), e ramificações de arabinose nos ombros em 1150 cm<sup>-1</sup> e 980 cm<sup>-1</sup> (Egüés et al., 2013), estiramento C-H nos picos em torno de 2900 cm<sup>-1</sup> (Tong et al., 2008), dobramento de -OH a 1319 cm<sup>-1</sup> e deformação de C-H a 1381 cm<sup>-1</sup> (Chaikumpollert et al., 2004). Alguma lignina residual pode estar presente, evidenciada por ombros a 1515, 1450 e 1340 cm<sup>-1</sup> e pico a 1590 cm<sup>-1</sup> (Sgriecia et al., 2008). O estiramento de O-H em grupos hidroxila (3230-3270 cm<sup>-1</sup>) torna-se mais intensa e se desloca para uma frequência mais baixa, indicando mais ligações de hidrogênio (Wang et al., 2014). A presença de ligações éster pode estar indicada por um pequeno ombro a cerca de 1724 cm<sup>-1</sup> em filmes com AC, correspondendo a estiramento de C=O (Wang et al., 2014), relacionado à formação de anidridos, passo intermediário da reticulação (Demetri et al., 2008). A presença de AC promoveu aumento dos picos a 1206 cm<sup>-1</sup> (estiramento de C-O em AC), 1340, 828 e 1100 cm<sup>-1</sup>. Os filmes com NaH<sub>2</sub>PO<sub>2</sub> apresentaram picos adicionais a 2340 (vibração de PH<sub>2</sub> do hipofosfito), 1147 e 812 cm<sup>-1</sup>. O filme não curado apresentou espectro muito similar ao curado, exceto por alguns picos ligeiramente mais intensos, embora outros autores tenham reportado que a cura favorece a reticulação (Coma et al., 2003; Olsson et al., 2013).

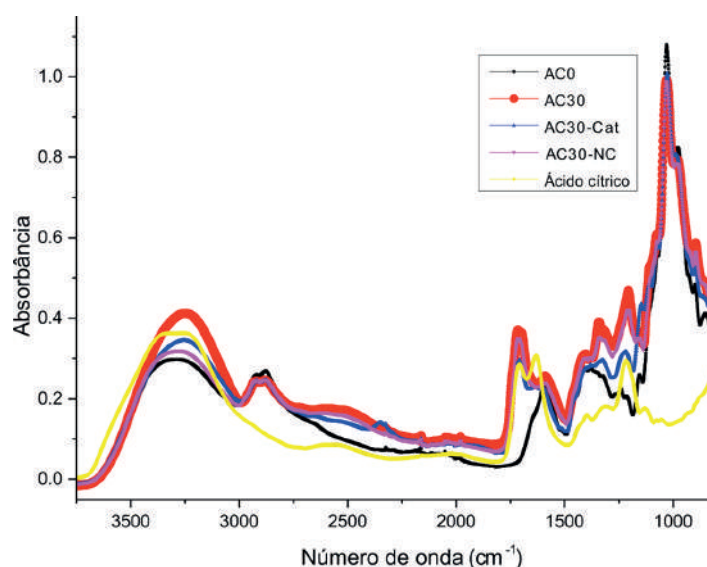


Figura 2. Espectros de FTIR. AC: filme controle; AC30: filmes com 30% de ácido cítrico (AC30-Cat, com NaH<sub>2</sub>PO<sub>2</sub>; AC30-NC, sem NaH<sub>2</sub>PO<sub>2</sub> e sem cura).

#### 4 CONCLUSÃO

O ácido cítrico (adicionado a até 30%) foi um eficiente reticulante de filmes de hemiceluloses de palha de trigo, melhorando a resistência à água e a barreira a umidade, exercendo paralelamente um efeito plastificante. O uso de hipofosfito de sódio como e o processo de cura a alta temperatura não favoreceram perceptivelmente a reação de reticulação.

Agradecimentos

Os autores agradecem o suporte financeiro do BBSRC e da Embrapa. H.M.C. Azeredo agradece ao CNPq pela Bolsa de Produtividade em Pesquisa (304179/2012-4).

#### REFERÊNCIAS

- ASTM. Standard test methods for water vapor transmission of materials. E96-80. Annual Book of ASTM Standards. Philadelphia: American Society for Testing and Materials, 1989.
- ASTM. Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. D882-00. Annual Book of ASTM Standards. Philadelphia: American Society for Testing and Materials, 2000.
- BALAGUER, M.P.; GÓMEZ-ESTACA, J.; GAVARA, R.; HERNANDEZ-MUÑOZ, P. Functional properties of bioplastics made from wheat gliadins modified with cinnamaldehyde. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 59, p. 6689-6695, 2011.
- BONILLA, J.; TALÓN, E.; ATARÉS, L.; VARGAS, M.; CHIRALT, A. Effect of the incorporation of antioxidants on physicochemical and antioxidant properties of wheat starch–chitosan films. *Journal of Food Engineering*, v. 118, p. 271-278, 2013.
- CHAIKUMPOLLERT, O.; METHACANON, P.; SUCHIVA, K. Structural elucidation of hemicelluloses from Vetiver grass. *Carbohydrate Polymers*, v. 57, p. 191-196, 2004.
- COMA, V.; SEBTI, I.; PARDON, P.; PICHAVANT, F. H.; DESCHAMPS, A. (2003). Film properties from crosslinking of cellulosic derivatives with a polyfunctional carboxylic acid. *Carbohydrate Polymers*, v. 51, p. 265–271, 2003.
- EGÜÉS, I.; ECEIZA, A.; LABIDI, J. Effect of different hemicelluloses characteristics on film forming properties. *Industrial Crops and Products*, v. 47, p. 331-338, 2013.
- OLSSON, E.; HEDENQVIST, M.S.; JOHANSSON, C.; JÄRNSTRÖM, L. Influence of citric acid and curing on moisture sorption, diffusion and permeability of starch films. *Carbohydrate Polymers*, v. 94, p. 765-772, 2013.
- REDDY, N.; YANG, Y. Citric acid cross-linking of starch films. *Food Chemistry*, v. 118, p. 702–711, 2010.
- SGRICCIA, N.; HAWLEY, M.C.; MISRA, M. Characterization of natural fiber surfaces and natural fiber composites. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, v. 39, p. 1632-1637, 2008.
- SHI, R.; BI, J.; ZHANG, Z.; ZHU, A.; CHEN, D.; ZHOU, X. et al. The effect of citric acid on the structural properties and cytotoxicity of the polyvinyl alcohol/starch films when molding at high temperature. *Carbohydrate Polymers*, v. 74, p. 763–770, 2008.
- TONG, Q.; XIAO, Q.; LIM, L.T. Preparation and properties of pullulan–alginate–carboxymethylcellulose blend films. *Food Research International*, v. 41, p. 1007-1014, 2008.
- WANG, S.; REN, J.; LI, W.; SUN, R.; LIU, S. Properties of polyvinyl alcohol/xylan composite films with citric acid. *Carbohydrate Polymers*, v. 103, p. 94-99, 2014.

## MODIFICAÇÃO QUÍMICA DE NANOCRISTAIS DE CELULOSE BACTERIANA

José Clauber Vieira Almeida<sup>1</sup>, Niédja Fittipaldi Vasconelos<sup>2</sup>, Lílían Chayn Alexandre<sup>3</sup>, Men de Sá Moreira de Souza Filho<sup>3</sup>, João Paulo Saraiva Morais<sup>3</sup>, \*Morsyleide de Freitas Rosa<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Ceará – IFCE. <sup>2</sup>Universidade Federal do Ceará – UFC. <sup>3</sup>Embrapa Algodão. <sup>4</sup>Embrapa Agroindústria Tropical.  
\*morsyleide.rosa@embrapa.br

**Classificação:** Filmes, revestimentos comestíveis e embalagens funcionais para alimentos.

### Resumo

As modificações químicas de nanocristais de celulose alteram propriedades interfaciais, melhorando as características e desempenho dos materiais. O presente trabalho utiliza a reação de eterificação via carboximetilação com NaOH e ácido monocloroacético, avaliando o uso de dois tipos de solventes: etanol e isopropanol no meio reacional. Foram realizadas análises de Grau de Substituição (GS), FTIR, TGA e potencial Zeta. Os nanocristais modificados, utilizando isopropanol, apresentaram maior GS e maior estabilidade da suspensão. Nos espectros de FTIR, foi apontada a presença da banda de absorção característica do ácido carboxílico (COO-) proveniente do grupamento carboximetil que foi introduzido na molécula. Observou-se uma redução da temperatura de degradação de aproximadamente 43 °C em comparação aos nanocristais não modificados.

**Palavras-chave:** Celulose bacteriana; Nanocristais; Carboximetilação; Etanol; Isopropanol.

### CHEMICAL MODIFICATION OF BACTERIAL CELLULOSE NANOCRYSTALS

#### Abstract

Chemical modification of cellulose nanocrystals modify interfacial properties, improving features and performance of the materials. The present study uses the reaction of etherification via carboxymethylation with NaOH and monochloroacetic acid. It was evaluated the use of two types of solvents: ethanol and isopropanol in the reactional medium. The analysis of substitution degree (SD), FTIR, TGA, and Zeta potential were performed. Modified nanocrystals using isopropanol presented the highest SD and higher suspension stability. In the FTIR spectra, it was indicated the presence of the characteristic absorption band of carboxylic acid (COO-) from the grouping carboxymethyl that was introduced in the molecule. There was a reduction of the degradation temperature of about 43 °C compared to unmodified nanocrystals.

**Keywords:** Bacterial cellulose; Nanocrystals; Carboxymethylation; Ethanol; Isopropanol.

## 1 INTRODUÇÃO

Modificações químicas são estratégias que permitem adaptar as propriedades interfaciais e ajustar o balanço hidrofiliicidade-hidrofobicidade, por meio da introdução de cargas eletrostáticas (positivas ou negativas) ou de grupamentos químicos na superfície de estruturas. Os nanocristais de celulose bacteriana (NCCB), por serem hidrofílicos e também apresentarem baixa solubilidade em água e em muitos outros solventes orgânicos, são funcionalizados quimicamente com o intuito de melhorar suas características superficiais e, conseqüentemente, sua processabilidade e desempenho.

Os diferentes produtos obtidos a partir da modificação química superficial dos nanocristais de celulose são caracterizados, principalmente, pelo grupo substituinte e pelo grau de substituição na cadeia. Podem-se citar diversas reações de modificação química para a nanocelulose: esterificação, eterificação, amidação, entre outras. Dentre as modificações citadas, a reação de eterificação via carboximetilação tem sido desenvolvida para melhorar a dispersão da nanocelulose em meio polar. A obtenção de nanocristais carboximetilados tem sido investigada com a finalidade de conferir propriedades específicas na produção de nanocompósitos, fornecendo produtos finais com propriedades físicas e mecânicas melhoradas (HABIBI, 2014). Seu uso em aplicações altamente sofisticadas como na produção de filmes e/ou revestimentos para alimentos tem sido uma área de bastante investigação (AULIN; GALLSTEDT; LINDSTROM, 2010).

Este trabalho teve como objetivo agregar aos nanocristais de celulose bacteriana novas funcionalidades através da modificação de eterificação via reação de carboximetilação.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Preparação do material

Inicialmente, as películas de celulose bacteriana (CB) foram brandamente limpas com solução de NaOH 0,4% (m/v) a temperatura ambiente por 24 horas e lavadas até pH neutro. Em seguida, o material celulósico foi cortado em pequenos pedaços, processados em ultra turrax, filtrado, liofilizado e moído.

### 2.2 Obtenção dos nanocristais de celulose bacteriana

Os nanocristais de celulose bacteriana (NCCB) foram obtidos a partir da hidrólise ácida empregando a combinação de  $H_2SO_4$  e HCl. Foram utilizadas 0,6g de CB liofilizada para 30 mL de solução de  $H_2SO_4$  a 50% (m/m) e 30 mL de solução de HCl a 36,5% (m/m) (proporção de 1:100, m:v) em reação por 2 horas, temperatura de 45°C e sob agitação magnética. A reação foi parada com adição de água deionizada gelada ( $\approx 5^\circ C$ ; 1:15 v:v). Os NCCB foram centrifugados (13.000 rpm, por 15 minutos à 20°C) e o material sedimentado foi ressuspenso em água deionizada gelada ( $\approx 5^\circ C$ , procedimento repetido 3 vezes). Em seguida, o material foi disperso em suspensão por sonda ultrassônica, submetido a diálise até pH neutro e armazenado em frasco de vidro.

### 2.3 Modificação química dos nanocristais de CB

Com o intuito de investigar a influência do solvente no meio reacional, foi avaliado o efeito de dois tipos de álcool, o etílico e o isopropílico, na reação de carboximetilação.

#### 2.3.1 Carboximetilação via álcool etílico

Para 30 mL da suspensão de NCCB (umidade = 98%) foram adicionados 100 mL de etanol P.A. A etapa de alcalinização se deu por gotejamento de 10 mL da solução de NaOH 60% (m/m), por 30 minutos, sob agitação magnética e em temperatura ambiente. A reação prosseguiu por 1 hora. Em seguida, foi adicionada ao meio alcalinizado uma mistura de 6,5 g de ácido monocloroacético dissolvidos em 15 mL de etanol P.A. Essa etapa foi realizada gota a gota, durante 30 minutos, sob agitação magnética e em temperatura ambiente. O sistema foi posteriormente aquecido a 60 °C por 2 horas. Decorrido todo o processo, a mistura foi centrifugada (13.000 rpm, por 15 minutos, a 20°C). O sobrenadante foi descartado e o material sedimentado foi ressuspenso em 150 mL de uma solução de metanol 70% (v/v) e neutralizado com ácido acético P.A. O material foi novamente centrifugado, o sobrenadante descartado e a fase sólida foi ressuspensa em 50 mL de metanol P.A (procedimento repetido 2 vezes). Por fim, os nanocristais de celulose carboximetilados foram secos em estufa a vácuo a 60°C (IBRAHIMet al.; 2011).

#### 2.3.2 Carboximetilação via álcool isopropílico

Foram utilizadas as mesmas condições descritas no item anterior (2.3.1) para a reação de carboximetilação dos NCCB usando como solvente o álcool isopropílico.

Os nanocristais de celulose bacteriana modificada via etanol e isopropanol foram caracterizados através do grau de substituição (GS) (PUSHPAMALAR *et al.*, 2006), FTIR e TGA em atmosfera de nitrogênio, com fluxo constante de 40 mL.min<sup>-1</sup>. As amostras foram aquecidas de 50°C a 750°C a uma taxa de aquecimento de 10 °C.min<sup>-1</sup>. Já as soluções de NCCB carboximetiladas foram analisadas por potencial Zeta.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

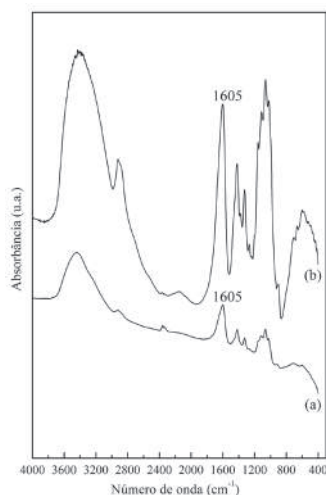
A Tabela 1 apresenta os resultados de GS e potencial Zeta para os nanocristais de celulose bacteriana carboximetiladas (NCCB-CMC) através dos dois tipos de solvente investigados e para a carboximetilcelulose comercial (CMC comercial). O maior valor do GS foi obtido com o álcool isopropílico. Os diferentes valores do grau de substituição podem ser explicados quando se considera a reatividade do solvente com o sódio. Quanto maior o carácter ácido dos álcoois, maior será sua reatividade, induzindo a formação do alcóxido. Dessa forma, as hidroxilas superficiais da celulose não participarão da reação.

Portanto, quanto menos reativo for o meio solvente com o sódio maior será o GS na cadeia da celulose. Em relação aos valores de potencial Zeta, pode-se perceber um aumento a medida que se conseguem graus de substituição maiores. Isso é atribuído à maior quantidade de cargas negativas, proveniente da inserção do grupamento  $\text{CH}_2\text{COO}^-$ , na superfície dos nanocristais. Todas as suspensões dos nanocristais de celulose carboximetilados apresentaram boa estabilidade (valores de potencial Zeta maiores que 30 mV, em módulo).

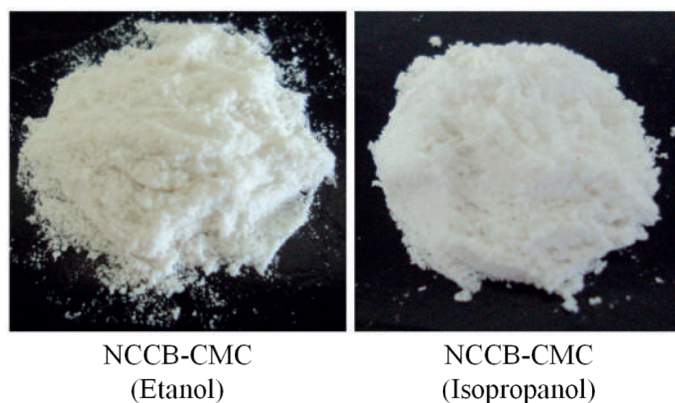
**Tabela 1.** Grau de substituição dos nanocristais de celulose bacteriana carboximetiladas (NCCB-CMC) e da carboximetilcelulose comercial e seus respectivos valores de potencial Zeta

	GS	Potencial Zeta (mV)
CMC comercial	1,3	-47,9 ± 1,7
NCCB – CMC (Etanol)	1,1	-41,9 ± 1,1
NCCB – CMC (Isopropanol)	1,6	-51,2 ± 4,3

Os espectros de FTIR da celulose, dos nanocristais e da carboximetilcelulose (Figura 1) apresentaram certa similaridade, indicando a presença de grupos funcionais em comum com a celulose e seus derivados. Comparando-se os espectros pode-se perceber a presença de uma nova e forte banda de absorção a  $1600\text{-}1610\text{ cm}^{-1}$ , característica do ácido carboxílico ( $\text{COO}^-$ ) proveniente do grupamento carboximetil que foi introduzido na molécula. Resultados semelhantes foram descritos por RACHTA-NAPUN *et al* (2012). A Figura 2 mostra imagens dos sais de nanocristais de celulose carboximetiladas via etanol e isopropanol.

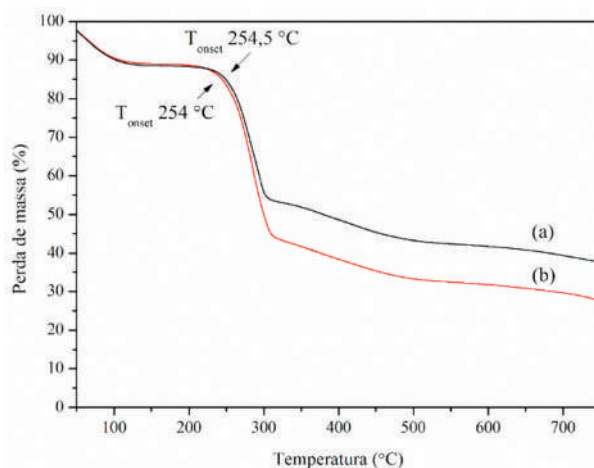


**Figura 1.** Espectros de FTIR das amostras: (a) NCCB-CMC (Etanol) e (b) NCCB-CMC (Isopropanol), indicando o pico referente à ( $\text{COO}^-$ ).



**Figura 2.** Imagens dos sais sódicos dos nanocristais de celulose carboximetiladas via etanol e isopropanol.

De acordo com a análise térmica, o tipo de solvente não alterou as temperaturas *Onset* (Figura 3). A diferença no teor de sólido, observado no perfil das curvas de degradação térmica, está relacionado com a quantidade de sais decorrente da funcionalização dos nanocristais. Tendo em vista que os NCCB-CMC via isopropanol apresenta um GS maior que o dos NCCB-CMC via etanol produzindo um teor de cinzas maior. Comparando esses resultados com o dos nanocristais sem modificação química ( $T_{\text{Onset}} = 296,9 \text{ }^\circ\text{C}$ ) observa-se uma redução da temperatura de início de degradação de aproximadamente  $43 \text{ }^\circ\text{C}$ . Na literatura são discutidos que a modificação química na superfície dos nanocristais de celulose pode alterar o comportamento termogravimétrico do material. Essa mudança pode estar associada com as variações na cristalinidade, ocasionada pelo processo de funcionalização (TAIPINA, 2012).



**Figura 3.** Curva termogravimétrica dos nanocristais de celulose carboximetiladas (a) em meio etanol e (b) em meio isopropanol.

#### 4 CONCLUSÃO

Resultados de FTIR confirmaram a reação de modificação química. O tipo de solvente, etanol e isopropanol, utilizados na reação de carboximetilação influenciaram no GS. O maior valor do GS foi obtido com o isopropanol como meio solvente por apresentar menor reatividade com o sódio. A funcionalização dos nanocristais de CB promoveu uma diminuição na temperatura inicial de degradação.

##### Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq, Embrapa, UFC e a CAPES pelo auxílio financeiro e ao Centro de Engenharia Biológica da Universidade do Minho (Braga, Portugal) pela celulose bacteriana.

#### REFERÊNCIAS

AULIN, C.; GALLSTEDT, M.; LINDSTROM, T. Oxygen and oil barrier properties of microfibrillated cellulose films and coatings. *Cellulose*, Berlim, v. 17, n. 3, p. 559-574, 2010.

TAIPINA, M. de O. Nanocristais de celulose: obtenção, caracterização e modificação de superfície. 2012. 89 p. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Estadual de Campinas, Unicamp, Campinas, 2012.

HABIBI, Y. Key advances in the chemical modification of nanocelluloses. *Chemical Society Reviews*, Londres, v.43, p. 1519-1542, 2014.

IBRAHIM, A. A.; ADEL, A. M.; EL-WAHAB, Z. H. A.; AL-SHEMY, M. T. Utilization of carboxymethyl cellulose based on bean hulls as chelating agent. Synthesis, characterization and biological activity. *Carbohydrate Polymers*, Amsterdam, v. 83, n. 1, p. 94-115, 2011.

PUSHPAMALAR, V.; LANGFORD, S.J.; AHMAD, M.; LIM, Y.Y. Optimization of reaction conditions for preparing carboxymethyl cellulose from sago waste. *Carbohydrate Polymers*, Amsterdam, v. 64, n. 2, p. 312-318, 2006.



RACHTANAPUN, P.; LUANGKAMIN, S.; TANPRASERT, K.; SURIYATEM, R. Carboxymethyl cellulose film from durian rind. *Food Science Technology*, Amsterdam, v. 48, n. 1, p. 52-58, 2012.

## ANÁLISE TOXICOLÓGICA EM RATOS WISTAR DE REVESTIMENTOS COMESTÍVEIS A BASE DE KAFIRINAS E NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA.

\*Juliana Aparecida Scramin<sup>1,2</sup>, Tassiane Regina Alves Corrêa<sup>1,2</sup>, Bruna Biffe<sup>1</sup>, Charles Chenwei Wang<sup>1</sup>, Keico Okino Nonaka<sup>1</sup>, Rubens Bernardes-Filho<sup>2</sup>, José Avelino Santos Rodrigues<sup>3</sup>, Lucimara Aparecida Forato<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Universidade Federal de São Carlos. <sup>2</sup>Embrapa Instrumentação. <sup>3</sup>Embrapa Milho e Sorgo  
\*ju.biotec08@gmail.com

**Classificação:** Filmes, revestimentos comestíveis e embalagens funcionais para alimentos.

### Resumo

Análises toxicológicas foram realizadas em ratos machos da linhagem Wistar. Os animais do grupo experimental foram alimentados durante 30 dias com ração revestida com uma solução filmogênica contendo 2% de kafirinas com 0,25% de óleo de canola e 0,1% de nanopartículas de quitosana em etanol e comparados com o grupo controle, alimentados com ração sem revestimento durante o mesmo período. Os parâmetros analisados foram: ingestão hídrica e consumo de ração, excreção de fezes e urina, massa corporal e massa dos órgãos, bem como parâmetros bioquímicos realizados pela análise do soro sanguíneo e parâmetros biofísicos e biomecânicos realizados nos ossos coletados após a eutanásia. De acordo com os resultados, não foi possível identificar efeito nocivo pela ingestão da ração revestida, pois os resultados obtidos para o grupo experimental foram semelhantes aos adquiridos para o grupo controle.

**Palavras-chave:** Revestimento Comestível; kafirinas; Nanopartículas de Quitosana; Toxicidade.

### WISTAR RATS TOXICOLOGICAL ANALYSIS OF EDIBLE COATINGS BASED ON KAFIRINS AND CHITOSAN NANOPARTICLES.

#### Abstract

Toxicological tests were performed in Wistar male rats. The experimental group was feed during 30 days with ration (mashed) coated with 2% kafirins with 0,25% canola oil and 0,1% chitosan nanoparticles and compared with the control group feed with ration without coating during the same period. The analyzed parameters were: water intake and feed intake, excretion of feces and urine, body weight, organ weights, and biochemical parameters carried through the blood serum. According to the results, it was not possible to identify harmful effect when ingesting the coating, since the results obtained for the experimental group was very similar to those obtained for the control group.

**Keywords:** Edible coating; kafirins; Chitosan nanoparticles; Toxicity.

## 1 INTRODUÇÃO

Para a comercialização e o consumo de alimentos “in natura” alguns fatores como aparência, aroma, textura e sabor são cruciais no momento da escolha. Para manter esses fatores por maior tempo, uma alternativa seria a aplicação de revestimentos comestíveis que agem como uma barreira em torno do alimento reduzindo a entrada e saída de gases, água, óleos, atuando como uma membrana contra a proliferação de agentes contaminantes como os fungos e bactérias (KROCTHA; MILLER, 1997). Dentre os materiais estudados, as proteínas, principalmente as hidrofóbicas como as Kafirinas (proteínas de reserva do sorgo) vem sendo utilizadas como matéria-prima para o desenvolvimento desses revestimentos comestíveis. Contudo, revestimentos a base dessas proteínas são geralmente quebradiços sendo necessário adicionar outros materiais que lhes confira flexibilidade como a nanopartículas. O uso de nanopartículas (NPs) na composição dos revestimentos comestíveis é uma forma de melhorar suas propriedades de aumento de tempo de prateleira (FERREIRA, 2011). No caso das nanopartículas de quitosana (NPs de QS), polissacarídeo oriundo de resíduos da indústria pesqueira, vem sendo estudado na aplicação de filmes comestíveis, pois a utilização destas NPs pode melhorar as propriedades mecânicas

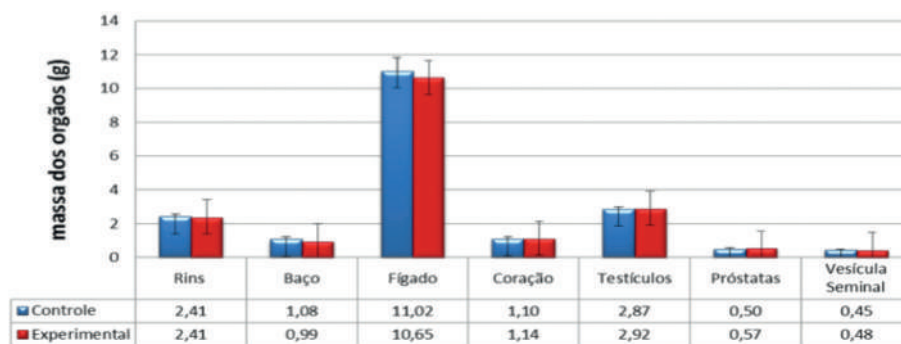
e de barreiras dos filmes (Moura et al., 2009). Além disso, estudos tem mostrado que NPs de QS e NPs de trimetilquitosana (TMQ) são estáveis e apresentam ação antimicrobiana (BLANCO, 2011), podendo evitar a proliferação de microrganismos na superfície dos alimentos. Como as NPs tem área superficial aumentada se comparadas com os materiais de mesma origem em escala maior, o seu comportamento provavelmente não será o mesmo, uma vez que suas propriedades foram modificadas, podendo causar algum efeito prejudicial ao organismo quando ingeridos (SOZER; KOKINI, 2009). Muitos trabalhos realizados sobre nanotoxicologia estão voltados para testes realizados em células “*in vitro*”, porém estes resultados podem não corresponder ou substituir os resultados obtidos em testes “*in vivo*”, havendo, então, a necessidade de se utilizar cobaias para a realização dos testes toxicológicos, pois, dependendo da forma na qual as NPs são administradas (via oral ou respiratória), as NPs podem seguir rotas diferentes no organismo (WANG, 2010).

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Para a realização do experimento toxicológico, inicialmente preparou-se uma solução contendo 2% de Kafirinas + 0,25% óleo de canola (OC) + 0,1% de NPs de quitosana diluídas em etanol absoluto sob agitação magnética por 4 horas. A ração comercial da marca Nuvilab já triturada foi então revestida, colocada em bandejas e seca em temperatura ambiente. As cobaias utilizadas foram ratos machos da variedade Wistar com idade de 3 meses. O experimento foi dividido em grupos de 10 ratos controles (alimentados com ração sem revestimento) e 10 ratos experimentais (alimentados com ração revestida). Os animais foram alojados individualmente em gaiolas metabólicas em um regime de luz (10 horas claro e 14 horas escuro) em temperatura controlada ( $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) para quantificar o consumo de ração, ingestão hídrica bem como realizar a coleta das fezes e urina. As fezes foram pesadas e o volume de urina quantificado. Os animais foram pesados 1 vez por semana, durante as 6 semanas de duração do experimento pesados para a obtenção dos valores referente à massa corporal. Após os 30 dias de experimento, os animais foram sacrificados. No dia do sacrifício, foram coletados os órgãos (rins, baço, fígado, coração, testículos, próstatas e vesícula seminal) e os mesmo foram pesados e armazenados a  $-80^{\circ}\text{C}$ . A coleta do sangue foi realizada assim que os ratos foram sacrificados, o mesmo foi centrifugado para a obtenção do soro. Os parâmetros bioquímicos foram obtidos pelo laudo elaborado pelo laboratório Maricondi da cidade de São Carlos. Este protocolo experimental com cobaias foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEAA) da Universidade Federal de São Carlos. Protocolo nº 078/2012. Todos os resultados foram comparados entre o grupo controle e experimental pela análise da variância ANOVA seguido do teste t de Student aplicados pelo software Oringim. O nível de significância adotado foi de  $p < 0,05$ .

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

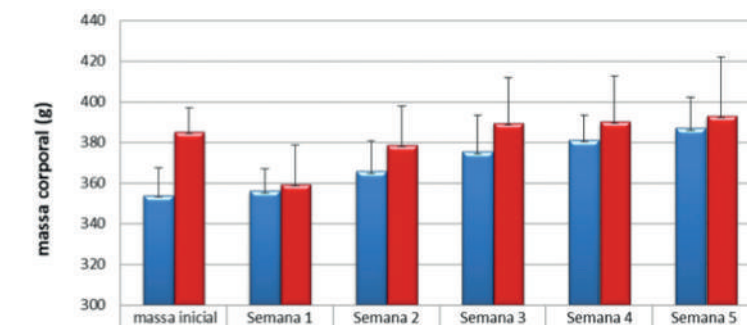
A pesagem dos animais é uma forma de verificar se os mesmos estão perdendo ou ganhando massa corporal (MC). Após uma semana de experimento, o grupo controle não apresentou alteração significativa em sua MC enquanto que o grupo experimental apresentou diminuição de aproximadamente 6,7% no valor médio, como mostra a figura 1.



**Figura 1.** Gráficos representativos da massa corporal dos grupos controle (azul) e experimental (vermelho).

As alterações na MC na primeira semana de experimento já era esperado, devido às mudanças de ambiente e da forma na qual os ratos eram alimentados, pois Segundo Neves et al. (2013) a mudança comportamental e principalmente a alteração na alimentação, são os principais parâmetros que influenciam diretamente no metabolismo dos ratos. Porém, o grupo controle não sofreu perda de MC durante

este mesmo período. Essa diferença entre os grupos pode ser explicada com base nos dados obtidos na quantificação do consumo de ração. Na primeira semana o grupo experimental teve um consumo de ração inferior (94,64 g – média do acúmulo de cada semana) quando comparado com o grupo controle (118,02). Sendo assim, essa perda de MC observada no grupo experimental durante a primeira semana de experimento pode então ser atribuída ao odor da ração revestida e a até mesmo ao gosto, uma vez que estes animais apresentam fatores sensoriais como olfato e paladar extremamente sensíveis, sendo capazes de detectar no ar odores de determinadas substâncias (ANDRADE et al., 2002). Entretanto, uma semana é considerada o tempo hábil para a readaptação destes animais. Nas semanas seguintes foi possível observar ganho de MC para ambos os grupos, como já esperado, indicando adaptação ao novo ambiente e crescimento de ambos os grupos e o mesmo foi observado no consumo de ração. O volume de água consumido pelos animais de ambos os grupos manteve-se num padrão durante todo o experimento para ambos os grupos e não houve diferença significativa de acordo com o teste Levene (teste t). O mesmo pode-se observar nos resultados obtidos pela quantificação das fezes e urina. Após os 30 dias de experimento, tanto o grupo controle quanto o grupo experimental foram eutanasiados, por decapitação, e foram retirados os seguintes órgãos: rins, baço, fígado, coração, testículos, próstata e as vesículas seminais onde os mesmos foram pesados para a obtenção de suas massas. As vesículas seminais foram esvaziadas para a pesagem. A análise mostrou que não houve diferença de massa entre os órgãos do grupo controle com os do grupo experimental.



**Figura 2.** Massa dos órgãos coletados após a eutanásia dos animais

Pela análise bioquímica sanguínea não se observou qualquer diferença significativa de acordo com o cálculo de Levene (teste t) e também não houve diferença significativa entre os grupos controle e experimental para todas as concentrações séricas aqui estudadas pela avaliação dos resultados apresentados na tabela 1.

**Tabela 1.** Concentrações séricas dos parâmetros bioquímicos analisados dos animais do grupo controle e experimental. Os dados estão apresentados como MED ± DP.

	Unidade	Controle	Experimental	
Triglicérides	mg/dL		64,44 ±27,08	78,89 ±27,57
Colesterol Total	mg/dL		62,78 ±6,61	69,44 ±7,60
Glicose	mg/dL		94 ±8,46	95,89 ±10,49
Ácido Úrico	mg/dL		1,41 ±0,46	1,31 ±0,32
Creatinina	mg/dL		0,58 ±0,07	0,51 ±0,03
AST	U/L		296,33 ±144,12	231,67 ±53,24
ALT	U/L		67,56 ±19,36	56,89 ±11,57
Fosfatase Alcalina	U/L		136,67±30,12	139,11±43,00
Fosforo	mg/dL		6,99 ±0,78	8,68 ±0,37
Cálcio	mg/dL		6,61±0,74	9,08 ± 0,54
Bilirrubinas Totais	mg/dL		0,2	0,2

#### 4 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos pelos testes toxicológicos indicaram que não houve diferença significativa nos parâmetros analisados entre os grupos controle e experimental. Isto indica que, neste pré diagnóstico, o revestimento contendo NPs de QS, não é nocivo, porém outros tipos de teste, como análise dos tecidos dos órgãos deverão ser realizados.

#### AGRADECIMENTOS

CNPq, Finep, Capes e Projeto MP1 Rede Agronano – Embrapa Instrumentação; Profa. Dra. Keico Okino. – UFSCar e Dr. José Avelino Santos Rodrigues- Embrapa Milho e Sorgo.

#### REFERÊNCIAS

ANDRADE, A., PINTO, SC., OLIVEIRA, RS., Animais de Laboratório: criação e experimentação. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, p. 388, 2002.

BLANCO, M. A., Avaliação da incorporação de nanopartículas de quitosana ao cimento endodôntico AH PLUS™. 2011, 66 f. Dissertação de Mestrado (Engenharia Metalúrgica e de Materiais) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011.

FERREIRA, M. D. Tecnologias Pós Colheita em Frutas e Hortaliças. Embrapa Instrumentação, São Carlos-SP, 2011.

KROCHTA, J.; MILLER, K. Oxygen and aroma barrier properties of edible films: A review. Trends Food Sci. Technol., v. 8, p. 228-237, 1997.

MOURA, M. R.; AOUADA, F. A.; ROBERTO J. AVENA-BUSTILLOS, TARA H. MCHUGH, JOHN M. KROCHTA, LUIZ H.C. MATTOSO. Improved barrier and mechanical properties of novel hydroxypropyl methylcellulose edible films with chitosan/tripolyphosphate nanoparticles. Journal of Food Engineering., v. 92, p. 448-453, 2009.

NEVES, S. M. P.; ONG, F. de M. P.; RODRIGUES, L. D.; SANTOS, R. A. dos; FONTES, R. S.; SANTANA, R. de O. Manual de Cuidados e Procedimentos com Animais de Laboratório do Biotério de Produção e Experimentação da FCF-IQ/USP. São Paulo, 2013.

SOZER, N.; KOKINI, J. L. Nanotechnology and its applications in the food sector. Trends in Biotechnology, Oxford, v. 27, n. 2, p. 82-89, 2009.

Wang, Charles Chenwei. Efeito da administração crônica de nanopartículas de óxido de ferro magnético em ratos adultos jovens. 2010, 77 p. Tese (Ciências Fisiológicas) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2010.

---

### **AVALIAÇÃO DE FILMES CELULÓSICOS, COM FUNÇÃO ATIVA ANTIOXIDANTE, COMO EMBALAGEM PARA CARNE COZIDA**

**Joice C. Resende, \*Victor G. L. Souza, Nilda de Fátima Ferreira Soares, Eber Antonio A. Medeiros, Ana Flávia R. Costa, Lucas P. Domenez, Luciano B. Rusciollelli**

Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais.

\* victorlauriano@yahoo.com.br

**Classificação:** Filmes, revestimentos comestíveis e embalagens funcionais para alimentos.

**Resumo**

Novas tecnologias vem sendo desenvolvidas no sentido de retardar a oxidação em alimentos, destacam-se dentre estas as embalagens ativas antioxidantes. Devido à crescente preocupação com os efeitos dos aditivos sintéticos à saúde humana, a incorporação de antioxidantes naturais, como polifenóis, tem sido priorizada. Desta forma, objetivou-se desenvolver biopolímeros incorporados com ácido gálico, catecol e hesperidina e avaliar sua aplicação na conservação de carne suína cozida. Apenas os filmes incorporados com ácido gálico e catecol apresentaram capacidade antioxidante pelo método DPD, tendo sido escolhidos para condução do estudo. Observou-se que durante o armazenamento, bifes envolvidos nos biopolímeros antioxidantes apresentaram redução do índice de TBARS, confirmando atividade protetora à oxidação conferida pela embalagem ativa e demonstrando o alto potencial para utilização na indústria de alimentos.

**Palavras-chave:** Acetato de celulose; antioxidantes naturais; embalagem ativa.

**ASSESSMENT OF CELLULOSE FILM, WITH ANTIOXIDANT PROPERTIES, AS PACKAGING FOR APPLICATION IN COOKED PORK MEAT****Abstract**

New technologies are being developed to retard oxidation in foods, stands out among these antioxidant active packaging. Due to the increasing concern about the effects of synthetic additives to human health, the incorporation of natural antioxidants, such as polyphenols, have been prioritized. Thus, this study aimed to develop biopolymers incorporated with gallic acid, catechol and hesperidin and evaluate its application in the conservation of pork cooked meat. Only films incorporated with gallic acid and catechol showed antioxidant capacity by DPD assay, having been chosen to conduct the study. It was observed that during storage, the meat involved in antioxidant polymers showed reduced TBARS values, confirming the oxidation protective activity conferred by active packaging and demonstrating the high potential for use in the food industry.

**Keywords:** Cellulose acetate; natural antioxidants; active packaging.

**Publicações relacionadas:** Relatório de iniciação científica.

**1 INTRODUÇÃO**

A oxidação lipídica constitui uma das principais causas da redução da vida útil dos alimentos, originando gostos e odores característicos do ranço, responsáveis pelo *off flavor* e rejeição do produto por parte dos consumidores (LIMA et al., 2013).

As embalagens ativas com propriedades antioxidantes têm sido amplamente estudadas em razão do seu elevado potencial na conservação de alimentos, e da sua capacidade de reduzir ou eliminar os efeitos causados pela oxidação (LÓPEZ-DE-DICASTILLO et. al., 2012).

Desta forma, objetivou-se desenvolver e avaliar filmes ativos a base de acetato de celulose incorporados com antioxidantes naturais e verificar sua ação antioxidante para aplicação em carne suína cozida.

**2 MATERIAIS E MÉTODOS**

O experimento foi montado utilizando um delineamento inteiramente casualizado com 3 repetições. Seguiu-se um esquema fatorial 3x2 (3 antioxidantes x 2 concentrações) para escolha dos filmes ativos, e um esquema fatorial 3x5 (3 biopolímeros x 5 tempos) na etapa de aplicação na carne suína cozida.

**2.1 Produção dos biopolímeros**

Os filmes celulósicos foram produzidos pelo método “casting” em máquina para filmes (RK Paint aplicator). Acetato de celulose (Rodia) foi solubilizado em acetona (Vetec) e os antioxidantes naturais ácido gálico 99% (AG), catecol 99% (CA) e hesperidina 80% (HE) (Sigma-Aldrich) foram adicionados às soluções filmogênicas nas concentrações de 1% e 10% (m/m), em relação à massa do polímero. Filmes controle (CTL) foram produzidos sem adição de antioxidantes. Foram adicionados 10% (m/m) de glicerol como plastificante em todos os tratamentos (SOARES et. al., 1998).

**2.2 Avaliação da atividade antiradical (AA) através do método colorimétrico N,N-dietil-p-fenilenediamina (DPD)**

A capacidade antioxidante dos filmes foi determinada *in vitro* pelo método colorimétrico DPD, e os resultados expressos como a média das duplicatas de cada repetição analisada (THÉRIAULT et al., 2006). Amostras de filme (2 x 2 cm) foram colocadas em uma célula eletrolítica contendo NaCl 0,15 M (Vetec) e submetidas a eletrólise por 1 minuto (10 mA). Após a eletrólise, 1 mL do eletrólito foi adicionado a 3 mL de solução de DPD 25 mg.mL<sup>-1</sup> (Sigma Aldrich). Os radicais livres gerados reagiram instantaneamente com o DPD produzindo uma coloração vermelha, medida a 515 nm em espectrofotômetro (GBC UV/VIS, 918). A atividade antiradical (AA) dos filmes equivale a capacidade de inibir o acúmulo de espécies oxidativas e, portanto, a coloração vermelha, calculada pela equação:

$$AA (\%) = [1 - (A_{\text{amostra}} / A_{\text{controle}})] \times 100 \quad (1)$$

Na equação 1;  $A_{\text{amostra}}$  = absorvância da solução eletrolisada na presença da amostra e  $A_{\text{controle}}$  = absorvância da solução eletrolisada de NaCl na ausência de antioxidantes.

Os tratamentos que obtiveram melhor capacidade antioxidante no teste “*in vitro*” foram selecionados para condução das etapas posteriores de caracterização e aplicação dos filmes no alimento.

### 2.3 Aplicação dos biopolímeros ativos em carne suína cozida

Bifes de carne suína fresca (*Longissimus dorsi*), obtidos no comércio local, com espessura média de 1,5 cm, foram cozidos (175 °C / 25 minutos) em forno industrial com controle de temperatura. Após cozimento e resfriamento, foram embalados intercalando-se filmes incorporados com 10% (m/m) de AG ou CA e filmes controle. O sistema foi então acondicionado em bandejas de poliestireno (PS) e envoltas em sacos de náilon polietileno (Náilon-PE) (Figura 1). As embalagens foram fechadas em seladora (Selovac, 200B) e armazenadas refrigeradas a  $4 \pm 2$  °C em refrigerador (Metalfrio, VB50).



Figura 3. Figura 1. Condições de embalagem da carne cozida.

A estabilidade oxidativa foi avaliada ao longo do tempo de armazenamento (0, 2, 4, 6 e 8 dias) por meio da determinação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (ROSMINI et al., 1996). Amostras de 5 g foram pesadas e adicionados 10 mL ácido tricloroacético (Vetec) 20% (m/v) e submetidos à agitação em mesa agitadora (Tecnal, TE-140) a 250 rpm por 5 minutos e em seguida centrifugados por 5 minutos em centrífuga (Sigma, 4K15) a 3.500 rpm. O sobrenadante foi filtrado em papel filtro qualitativo de porosidade 8µm. Cinco mililitros do filtrado foram combinados com 5 mL de ácido 2-tiobarbitúrico 0,02 M (Sigma Aldrich) e levados para aquecimento (100 °C por 30 minutos). O sistema foi então resfriado, e feita a leitura da absorvância das amostras em espectrofotômetro (Shimadzu UV, 1800) no comprimento de onda de 532 nm. A quantificação de malonaldeído (MDA) foi feita a partir de curva analítica construída com concentrações conhecidas de MDA, utilizando-se 1,1,3,3-Tetrametoxipropano (TMP) (Sigma Aldrich). Os resultados foram expressos em mg de MDA.kg<sup>-1</sup> de amostra.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Avaliação da atividade antiradical

Todos os filmes incorporados com os flavonóides na concentração de 1% não apresentaram ação

antioxidante pela avaliação da atividade antiradical, não tendo diferido significativamente ( $p > 0,05$ ) dos filmes controle. Por outro lado, nas concentrações de 10%, os filmes ativos, exceto os incorporados com hesperidina, foram eficazes na inibição da formação de compostos coloridos produzidos pela reação das espécies oxidativas com o DPD (Tabela 1). Sendo assim, tais tratamentos foram os selecionados para a etapa posterior de caracterização dos filmes.

**Tabela 1.** Atividade antiradical dos biopolímeros incorporados com 1% e 10% dos antioxidantes naturais avaliados

Tratamento	Atividade antiradical (%)
Controle	0*
Ácido gálico 1%	5,15 <sup>ns</sup>
Ácido gálico 10%	82,33 <sup>sig</sup>
Catecol 1%	2,06 <sup>ns</sup>
Catecol 10%	71,87 <sup>sig</sup>
Hesperidina 1%	0,87 <sup>ns</sup>
Hesperidina 10%	1,26 <sup>ns</sup>

\*Médias seguidas de ns não diferem estatisticamente do controle ( $p > 0,05$ ) e médias seguidas de sig diferem estatisticamente do controle ( $p < 0,05$ ), pelo teste Dunnett a 5% de probabilidade.

A propensão de um flavonóide inibir eventos mediados por radicais livres é regulada pela sua estrutura química. Uma vez que estes compostos se baseiam no núcleo de flavonóide, o número, a posição, e os tipos de substituições influenciam na atividade de antiradical, desta forma, a atividade antioxidante dos filmes ativos é determinada pelo agente ativo adicionado e por sua capacidade de se difundir da matriz polimérica para o meio/alimento. Os resultados sugerem que não houve migração da hesperidina para a solução salina utilizada no teste antiradical e, por consequência, tal filme não apresentou atividade antioxidante (CAO et al., 1997).

### 3.2 Estabilidade oxidativa da carne embalada com os filmes selecionados

A determinação das TBARS na carne cozida revelou existência de diferença significativa entre os filmes ativos e o filme CTL (Tabela 3). As análises indicaram que filmes contendo tanto 10% (m/m) de catecol quanto de ácido gálico foram efetivos na prevenção da oxidação, resultando em carnes com teores de MAD significativamente menores ( $p < 0,05$ ) que o controle.

Apenas as amostras em contato com os filmes incorporados com os antioxidantes apresentaram valores médios das TBARS inferiores ao limite de percepção de sabor estranho e rancidez oxidativa (0,5-1,0 mg MDA.kg<sup>-1</sup>) para carne suína (TARLADGIS et al., 1960). Os bifes embalados nos filmes controle apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) devido ao tempo de estocagem, a partir do quarto dia de armazenamento os valores médios de TBARS tornaram-se perceptíveis, o que provavelmente resultaria na rejeição do produto, diferentemente dos demais tratamentos.

**Tabela 2.** Estabilidade oxidativa de bifes de carne suína cozida embalados com filmes ativos

Estabilidade oxidativa	Tempo (dias)	Filmes		
		CTL	AG10%	CA 10%
TBARS (mg MDA / Kg carne)	0	0,25 ± 0,1 <sup>dA*</sup>	0,25 ± 0,1 <sup>aA</sup>	0,25 ± 0,1 <sup>aA</sup>
	2	0,89 ± 0,2 <sup>cA</sup>	0,22 ± 0,1 <sup>aB</sup>	0,26 ± 0,1 <sup>aB</sup>
	4	1,20 ± 0,1 <sup>bA</sup>	0,37 ± 0,1 <sup>aB</sup>	0,25 ± 0,1 <sup>aB</sup>
	6	1,71 ± 0,2 <sup>aA</sup>	0,43 ± 0,2 <sup>aB</sup>	0,31 ± 0,1 <sup>aB</sup>
	8	1,25 ± 0,1 <sup>bA</sup>	0,46 ± 0,1 <sup>aB</sup>	0,26 ± 0,1 <sup>aB</sup>

\*Média seguida pela mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas, não diferem entre si ( $p > 0,05$ ) em nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey.

#### 4 CONCLUSÃO

Os filmes antioxidantes testados proporcionaram maior estabilidade oxidativa ao alimento embalado, comprovando o potencial desta nova tecnologia na conservação de carne suína cozida e sua aplicabilidade na indústria de alimentos. A escolha dos antioxidantes é de extrema importância, visto que sua atividade está relacionada às suas características químicas e à capacidade de se difundir da matriz polimérica para o alimento acondicionado.

#### AGRADECIMENTOS

À CAPES, ao CNPq, à FAPEMIG e à FINEP pelo apoio financeiro.

#### REFERÊNCIAS

- CAO, G.; SOFIC, E.; PRIOR, R. L.; Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships. *Free Radical Biology & Medicine*. v. 22, p. 749-760, 1997.
- LIMA JÚNIOR, D. M.; RANGEL, A. H. N.; URBANO, S. A.; MORENO, G. M. B.; Oxidação Lipídica e Qualidade da Carne Ovina. *Acta Veterinária Brasilica*, v.7(1), p.14-28, 2013.
- LÓPEZ-DE-DICASTILLO, C., GÓMEZ-ESTACA, J., CATALÁ, R., GAVARA, R., HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P. Active antioxidant packaging films: Development and effect on lipid stability of brined sardines. *Food Chemistry*, v.131, p.1376–1384, 2012.
- ROSMINI, M. R.; PERLO, F.; PEREZ-ALVAREZ, J. A.; PAGÁN-MORENO, M. J.; GAGO-GAGO, A.; LOPEZ-SANTOVEÑA, F.; ARANDA-CATALÁ, V. TBA test by an extractive method applied to 'paté'. *Meat Science*, v. 42(1), p. 103-110, 1996.
- SOARES, N. F. F.; HOTCHKISS, J. H. Bitterness reduction in grapefruit juice through active packaging. *Packaging Technology and Science*, v. 11(1), p. 9-18, 1998.
- TARLADGIS, B. G.; WATTS, B. M.; YOUNATHAN, M. T.; DUGAN, L. A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. *J. Amer. Oil Chem. Society*, v. 37, p. 44-48, 1960.
- THÉRIAULT, M.; CAILLET, S.; KERMASHA, S.; LACROIX, M. Antioxidant, antiradical and anti-mutagenic activities of phenolic compounds present in maple products. *Food Chemistry*, v. 98, p. 490-501, 2006

---

### COMPORTAMENTO REOLÓGICO DE NANOCOMPÓSITOS (POLIETILENO/MONTMORILONITA)

**\*Johnson C. P. Santos<sup>1</sup>, Nilda De Fátima F. Soares<sup>1</sup>, Victor Gomes Lauriano de Souza<sup>1</sup>, Cícero Cardoso Pola<sup>1</sup>, Allan Robledo Fialho e Morais<sup>1</sup>, José Antônio Queiroz Lafetá Jr.<sup>1</sup>, Renata Silva Diniz<sup>1</sup>, Angélica Ribeiro da Costa<sup>1</sup>, Rita C. S. Sousa<sup>2</sup>, Jane Sélia Reis Coimbra<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais.

<sup>2</sup>Departamento de Química, Universidade Federal de Viçosa.

\* engenheiroa@yahoo.com.br

**Classificação:** Filmes, revestimentos comestíveis e embalagens funcionais para alimentos.

#### Resumo

O avanço tecnológico está associado ao aperfeiçoamento das propriedades dos materiais existentes e ao desenvolvimento de novos materiais que possuam melhores desempenhos estruturais e funcionais. Uma das melhores manifestações deste processo de desenvolvimento são os materiais compósitos. Este traba-



foi realizado o estudo e preparação de nanocompósitos de polietileno de baixa densidade incorporado com argila montmorilonita em diferentes concentrações e diferentes fontes de argilas (cloisite 20 A e cloisite 93 A). Os filmes foram processados pela técnica de intercalação do fundido em extrusora dupla rosca, com quatro zonas de aquecimento a 175, 185, 190 e 190 °C. Os nanocompósitos foram preparados em câmara de mistura com 2 tipos de argila em diferentes concentrações (0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,5; 3,5 e 4,5%) m/m. Os filmes nanocompósitos obtidos foram caracterizados por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e reologia. Os estudos das micrografias evidenciaram a morfologia de bastonetes, a qual sugere uma esfoliação e intercalação nas concentrações de 1,5 e 2,5%; já na concentração de 4,5%, a morfologia da superfície das amostras evidenciou aglomerado, indicando uma dificuldade de dispersão. Nos ensaios reológicos foi possível determinar a melhor característica do material para a incorporação de argila no PE.

**Palavras-chave:** Compósitos; Argila Organofílica; Filmes.

## NANOCOMPOSITES RHEOLOGICAL BEHAVIOR (MONTMORILLONITE/ POLYETHYLENE)

### Abstract

Technological advances are associated with the improvement of the existing material's properties and the development of new materials that have better structural and functional performances. Composites are one of the best demonstrations of this development process. This study aimed to study and prepare nanocomposites of low density polyethylene (PE) incorporated with montmorillonite clay at different concentrations and sources (Cloisite 20 A and Cloisite 93 A). The films were processed by melting blend extrusion at a twin screw extruder with four heating zones 175, 185, 190 and 190 ° C. The nanocomposites were prepared in a mixing chamber with two types of clay in different concentrations (0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.5, 3.5 and 4.5% w / w). The nanocomposite films were characterized by scanning electron microscopy (SEM) and rheology behavior. The rod morphology shown in the SEM images suggests that at concentrations varying from 1,5% to 2.5% the montmorillonite was exfoliated and intercalated; at concentration of 4.5%, the surface morphology of the samples showed cluster indicating a difficulty dispersion. The best material's characteristic for incorporation clay in PE was determined from the rheological assays.

**Keywords:** composites; Organophilic clay; Film.

**Publicações relacionadas:** Parte deste trabalho foi publicado como tese de doutorado.

## 1 INTRODUÇÃO

O aperfeiçoamento das propriedades físicas e químicas dos materiais existentes impulsionam o desenvolvimento de novos produtos com melhores desempenho estrutural e com funcionalidades diferenciadas. Nas últimas duas décadas, nanocompósitos poliméricos de argila têm atraído um grande interesse da academia e da indústria, devido ao fato de demonstrarem relativas melhorias nas propriedades mecânicas, térmicas e de barreiras quando comparados com os polímeros puros (OKAMOTO et al., 2000; LEE et al., 2002). Este estudo teve como objetivo desenvolver filmes nanocompósitos de polietileno de baixa densidade (PEBD) incorporados com argila montmorilonita e avaliar as estruturas e homogeneidade das misturas, por meio das micrografias dos filmes e do comportamento reológico dos nanocompósitos produzidos.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Os filmes nanocompósitos de PEBD contendo duas argilas diferentes, Cloisite 20A e Cloisite 93A, com diversas concentrações (0, 0,5, 1,0, 1,5, 2,5, 3,5 e 4,5 %) m/m, foram preparadas por mistura seguida de extrusão e caracterizado por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e reologia.

Dois cupons de cada filme foram cortados e fixados no suporte de porta-amostras do microscópio (*stub*), com auxílio de fita dupla-face. Em cada *stub*, foram fixados dois cupons de cada tratamento, um de forma longitudinal e outro de forma transversal. As amostras foram cobertas com 20 nm de ouro em Metalizador Balzers FDU 010 e, então, observadas e fotografadas em MEV: LEO 1430 VP.

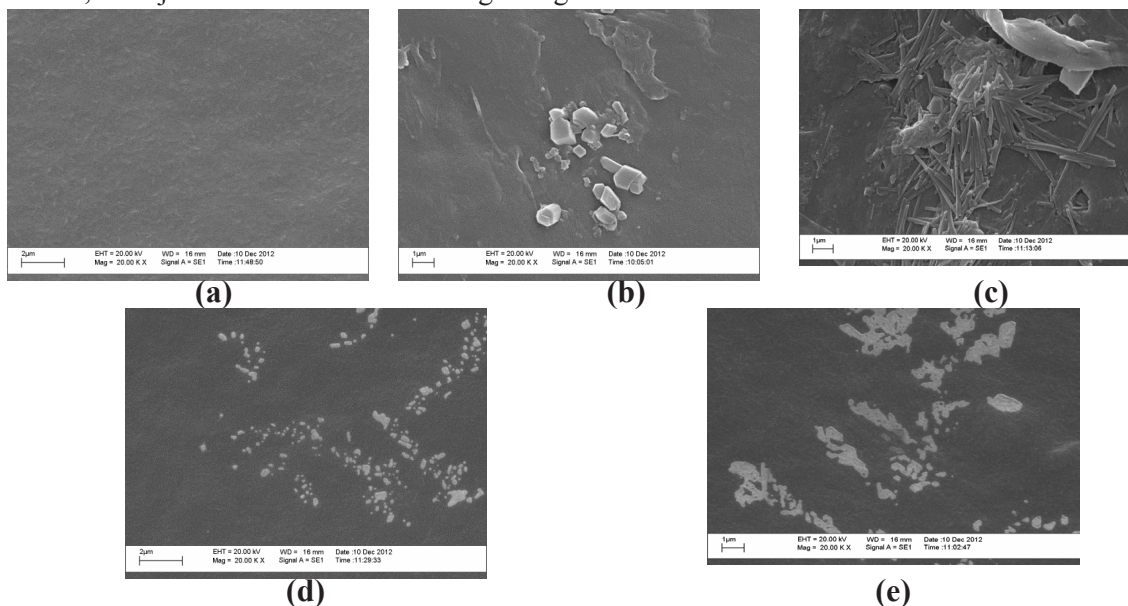
As propriedades reológicas das composições foram avaliadas em reômetro Bohlin Gemini HR-nano rotacional. A geometria utilizada foi a de placas paralelas com diâmetro de 25 mm e *gap* de 700 µm. As medições reológicas em estado oscilatório foram realizadas à temperatura constante de 200.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As fotomicrografias dos filmes obtidas por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV) permitiram observar a topografia da superfície dos filmes.

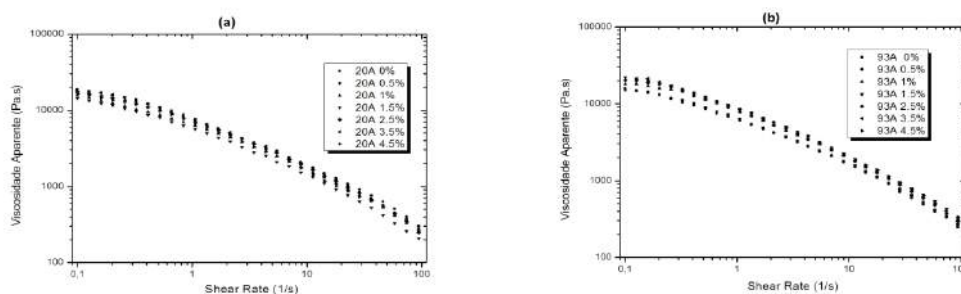
De acordo com as fotomicrografias de MEV abaixo, notam-se filmes com superfície homogênea (Figura 1a), o surgimento de aglomerados (Figura 1b), evidenciando a baixa dispersão da argila com a matriz polimérica. Na Figura 1c é observada uma fase dispersa de forma lamelar atribuindo à fase da montmorilonita agregada ao polímero. Comparando-se o nanocompósito da (Figura 1e) com as demais figuras é possível constatar uma maior alteração da estrutura superficial, com a presença de aglomerados maiores, ou seja estruturas tactóides da argila organofílica 20A.



**Figura 1.** Fotomicrografias superficiais dos filmes obtidas por MEV: (a) polietileno (PE); (b) PE-MMT (1,5% Cloisite 20A); (c) PE-MMT (2,5% Cloisite 20A); (d) PE-MMT (3,5% Cloisite 20A); (e) PE-MMT (4,5% Cloisite 20A).

#### 3.1.1 Comportamento ao escoamento

Estes ensaios foram realizados para analisar a influência do teor e do tipo da nanoargila nas propriedades reológicas das composições em estado fundido (200 °C). As amostras, em modo estacionário, foram submetidas a uma etapa prévia de condicionamento, através de um pré-cisalhamento (quebra da tixotropia) de 5 s<sup>-1</sup> durante 60 s e um tempo de equilíbrio de 180s. Após o pré-cisalhamento, a viscosidade aparente ( $\eta$ ) do composto foi obtida em função da taxa de deformação ( $\dot{\gamma}$ ), no intervalo de 0,1 a 100 s<sup>-1</sup>. Os resultados são mostrados na Figura 2 a seguir:



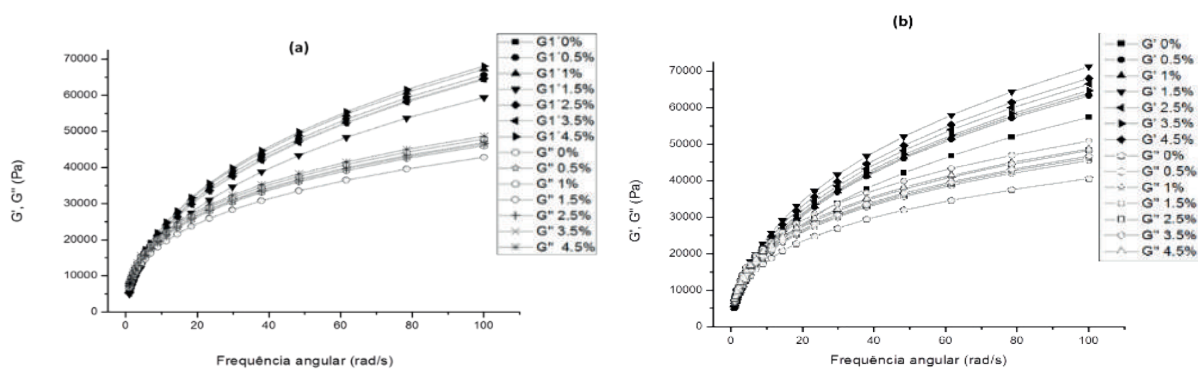
**Figura 2.** Viscosidade aparente ( $\eta$ ) x Taxa de deformação ( $\dot{\gamma}$ ) para PEMMT/20A (a) e PEMMT/93A (b).

Em ambos os casos, observa-se que a viscosidade aparente diminui significativamente (20000 a  $\approx 200-400$ ) Pa·s com o aumento da taxa de deformação aplicada ( $0,1 \text{ s}^{-1}$  a  $100 \text{ s}^{-1}$ ), apresentando comportamento pseudoplástico. Não foram observadas variações expressivas dos valores de viscosidade aparente em função dos teores e tipos de nanoargilas. Estes resultados podem ser explicados pelo baixo teor de nanoargila ( $\leq 5\%$ ). De maneira semelhante, Ali Durmus et al (2007) estudaram o efeito de nanocompósitos de argila 20A, com diferentes compatibilizantes e concentrações em polietileno de baixa densidade linear (PEBDL). Estes autores concluíram que não há efeitos significativos sobre a viscosidade aparente dos nanocompósitos, com até 5% de nanoargila com ou sem compatibilizante. A ausência de um agente de compatibilização demonstra que existe pouca adesão entre a nanoargila e a matriz polimérica, resultante de uma fraca ou ausente interação entre os dois componentes.

### 3.1.2 Viscoelasticidade

A caracterização da viscoelasticidade consistiu na análise dinâmica oscilatória na região viscoelástica linear (deformação de 10%). O módulo elástico ( $G'$ ) e o módulo viscoso ( $G''$ ) foram obtidos em função da frequência angular ( $\omega$ ), na faixa de  $1-100 \text{ rad}\cdot\text{s}^{-1}$ .

Os gráficos (Figura 3) indicam que a adição de ambas as argilas (20A e 93A) tiveram comportamento semelhante ao dos polímeros fundidos. Os valores de  $G'$  e de  $G''$  aumentam em função da frequência. Para frequências inferiores a aproximadamente  $9 \text{ rad}\cdot\text{s}^{-1}$ , os valores de  $G''$  são ligeiramente maiores que aqueles de  $G'$ , indicando que o material possui caráter de fluido viscoelástico. Entretanto, para a maior parte da faixa de frequência estudada ( $9 < \omega < 100$ )  $\text{rad}\cdot\text{s}^{-1}$ , os valores de  $G'$  superaram os de  $G''$ , caracterizando o material como sólido viscoelástico.



**Figura 3.** Módulo de elasticidade ( $G'$ ) e Módulo de viscosidade ( $G''$ ) x Frequência angular ( $\omega$ ) para PEMMT/20A (a) e PEMMT/93A (b).

A Figura 4 é uma representação alternativa do que foi exposto posteriormente. Trata-se dos valores de  $tg\delta$  (razão entre  $G''$  e  $G'$ ) em função da frequência angular nas análises. Como pode-se observar os valores de  $tg\delta$  tornam-se menores que 1 a partir da frequência igual a  $\approx 9 \text{ rad}\cdot\text{s}^{-1}$ .

Sarantópoulos, et al. (2002), faz relação a distribuição de massa molar (DPM) mais estreita, o que determina diferenças em propriedades reológicas (maior viscosidade e baixa resistência do fundido) que levam à maior dificuldade na extrusão dos filmes. Esta afirmação indica para uma melhor incorporação da argila no estado fundido, seria mais interessante a predominância do caráter de fluido viscoelástico.

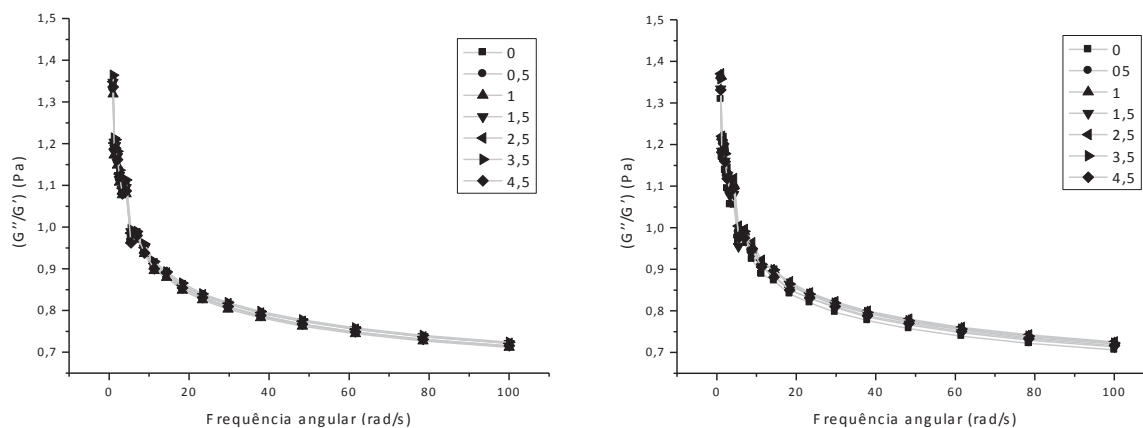


Figura 4. Valores de  $tg$  (razão entre  $G''$  e  $G'$ ) em função da frequência angular

### 3 CONCLUSÃO

Filmes nanocompósitos de polietileno de baixa densidade (PEBD) incorporados com argila montmorilonita foram desenvolvidos. Por meio das análises realizadas no MEV, foi possível observar partículas intercaladas nas menores concentrações (1,5 e 2,5%) de argila, em concentrações maiores (3,5 e 4,5%) surgiram compósitos aglomerados que dificultaram a dispersão no filme. Os estudos reológicos permitiram caracterizar a mistura como fluido viscoelástico, condição que facilita a incorporação da argila no polímero e ajuda no processo de extrusão. Investigações futuras são necessárias com nanocompósitos compatibilizados e não compatibilizados para maior dispersão de nanoargila, com o objetivo de melhorar as propriedades mecânicas destes nanocompósitos.

### AGRADECIMENTOS

Este estudo foi financiado pela CAPES, CNPq e FAPEMIG. Os autores agradecem ao Laboratório de Embalagem da UFV.

### REFERÊNCIAS

- Okamoto, M, Morita, S., Taguchi, H., Kim, Y.H., Kotato, T and Tateyama, H. (2000). Polymer 41, 3887.  
Lee, S.R. Park, H.M.; Lim, H., Kang, T; Li, X; Cho, W.J.; Ha, C.S., Polymer, 2002, 43, 2495.

## AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DE MORANGOS EMBALADOS COM FILMES DE PEBD COM NANOPARTÍCULA DE PRATA

\*Fernanda da Cunha Puti<sup>1</sup>, Aline Aparecida Becaro<sup>2</sup>, Daniel Souza Corrêa<sup>3</sup>,  
Marcos David Ferreira<sup>4</sup>

<sup>1,2</sup> Universidade Federal de São Carlos, São Carlos - SP. <sup>3,4</sup> Embrapa Instrumentação, São Carlos - SP  
\*nandacupu@hotmail.com

**Classificação:** Filmes, revestimentos comestíveis e embalagens funcionais para alimentos.

### Resumo

O morango (*Fragaria x ananassa* Duch) se destaca por ser um fruto com alto valor nutricional e por ser saboroso e atraente, porém as perdas em qualidade pós-colheita são altas. Nanopartículas de prata (NPAg) tem sido incorporadas em matrizes poliméricas para o desenvolvimento de embalagens e, em razão da sua atividade antimicrobiana, podem contribuir para a manutenção da qualidade de frutas e

hortaliças. Objetiva-se neste trabalho avaliar a qualidade pós-colheita e microbiológica de morango embalado por filmes contendo nanopartículas de prata e filmes convencionais. Morangos foram embalados por embalagens de polietileno de baixa densidade (PEBD) e por embalagens de PEBD contendo NPAg (PEBD.NPAg). O produto final foi armazenado em câmara-fria a  $20 \pm 2$  °C,  $90 \pm 5$  % UR, no período de nove dias. Os morangos foram analisados a cada três dias quanto ao pH, teor de ácido ascórbico, Ratio (sólido solúveis/acidez titulável) e contagem total de bolores e leveduras. Dentro das condições analisadas, os resultados demonstram que não houve diferença representativa nas análises físico-químicas entre os tratamentos estudados. Os filmes com NPAg inibiu parcialmente o crescimento de bolores e leveduras. O projeto ainda está sendo executado e novos ensaios serão realizados.

**Palavras-chave:** *Fragaria x ananassa* Duch; Embalagens; Microbiologia; Polietileno de baixa densidade.

## PHYSICOCHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL QUALITY OF STRAWBERRY PACKAGED BY LDPE WITH SILVER NANOPARTICLE.

### Abstract

Strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch) stands out for being a fruit with high nutritional value and for being tasty and attractive, but losses in postharvest quality are high. Silver nanoparticles (AgNP) has been incorporated in polymer matrices for the development of packaging and, because of their antimicrobial activity, may contribute to maintaining the quality of fruits and vegetables. Objective of this paper is to evaluate the postharvest and microbiological quality of strawberry packed for films containing silver nanoparticles and conventional films. Strawberries were packaging for low density polyethylene (PEBD) and LDPE packaging containing AgNP (PEBD.NPAg). The final product was stored at  $20 \pm 2$  °C,  $90 \pm 5\%$  RH, the period of nine days. The strawberries were analyzed every three days for pH, ascorbic acid level, ratio (solid soluble / titratable acid) and total count of yeasts and molds. Within the conditions analyzed, the results showed that there was no difference in representative physicochemical analyzes among treatments. PEBD.NPAg partially inhibited the growth of yeasts and molds. The project is still running and new tests are performed.

**Keywords:** *Fragaria x ananassa* Duch, packaging; microbiology; low density polyethylene.

## 1 1 INTRODUÇÃO

Os morangos (*Fragaria x ananassa* Duch) são frutos de grande interesse por seu valor nutricional, ser uma boa fonte de vitamina C, antocianinas e flavonoides, sua coloração atrativa vermelho brilhante e pelo odor característico (ODRIOZOLA-SERRANO *et al.*, 2010, MORAES *et al.*, 2008). Porém, os morangos tem vida útil muito curta e são sensíveis a danos mecânicos, a perda de água e a deterioração fisiológica (MUNOZ-DELGADO, 1997; BRAGA, 2012). O mercado consumidor de morangos frescos é exigente quanto a qualidade dos atributos sensoriais (coloração e sabor) bem como a ausência de defeitos (BRAGA, 2012). Incorporar nanopartículas de prata em matriz polimérica para desenvolver embalagens de alimentos, pode inibir o crescimento microbiano e assim prolongar a vida útil dos produtos. Utilizar este tipo de embalagem pode permitir uma vida de prateleira mais longa para os morangos, agregando valor em toda a cadeia produtiva do morango. Várias tecnologias têm sido aplicadas na indústria alimentar. A nanotecnologia vem beneficiando vários setores da indústria alimentícia e uma delas é a produção de embalagens (CUSHEN *et al.*, 2014). Incorporar nanopartículas metálicas em filmes poliméricos é uma estratégia para o desenvolvimento de embalagens mais adequadas para conservação de frutas, prolongando sua vida pós-colheita. As nanopartículas de prata têm sido incorporadas em embalagens de alimentos para exercerem sua atividade antimicrobiana (CUSHEN *et al.*, 2014). A literatura indica que as nanopartículas de prata também podem ter ação antifúngica (PRUCEK *et al.*, 2011). Objetiva-se neste trabalho avaliar a qualidade pós-colheita e microbiológica de morango embalado por filmes contendo nanopartículas de prata e filmes convencionais.

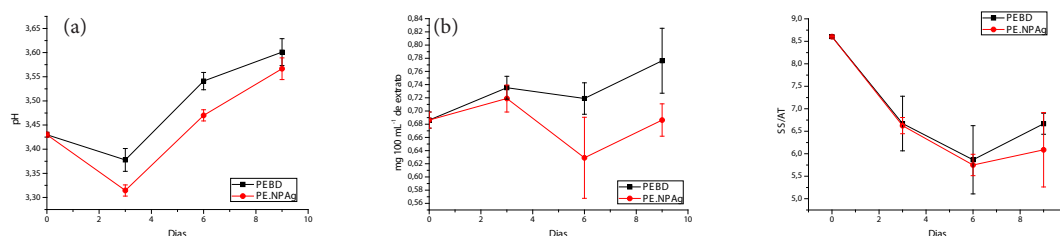
## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Morangos, cultivar 'Albion' foram colhidos em Estiva – Minas Gerais. Os morangos foram sanitizados com Sumaveg 200 ppm e embalados com filmes de Polietileno de Baixa Densidade (PEBD) e filmes de PEBD contendo nanopartículas de prata (PE.NPAg). Os morangos foram armazenados em câmara-fria a 20 °C, simulando temperatura ambiente, por nove dias. Análises físico-químicas realizadas foram: Perda de massa fresca, determinada em balança digital de precisão ( $\pm 0,1$  g), modelo Marte

AS 2000 C; *Ratio*, obtido por meio da relação entre o teor de sólidos solúveis (SS) e a acidez titulável (AT) e Teor de ácido Ascórbico determinado a partir da titulação com reativo de Tillmans (2,6 diclorofenolindofenol de sódio a 0,1 %), com resultados expressos em mg 100 mL<sup>-1</sup> de extrato das amostras homogeneizadas (RANGANA, 1977). Análise microbiológica foi realizada nos morangos, determinando a contagem total de bolores e leveduras, utilizando meio de cultura Potato Dextrose Agar (PDA) incubando a 25°C por 3 dias.

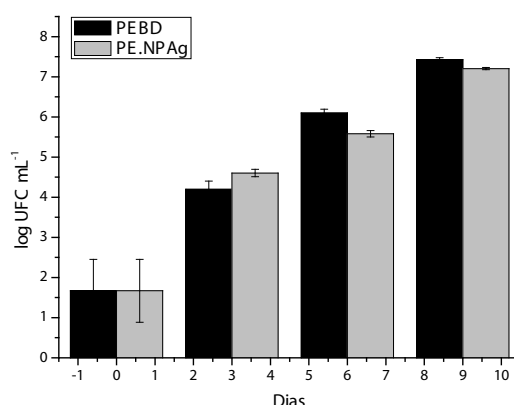
### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os morangos embalados com filmes contendo nanopartículas de prata tiveram o mesmo comportamento quanto ao pH ao longo dos dias de armazenamento, porém os frutos do tratamento PE.NPAg estavam mais ácido que os embalados com PEBD (Figura 1.a). Os valores encontrados para pH estão próximo ao encontrado por Nielsen e Leufvén (2008) (pH=3.4). Observou-se decréscimo do *Ratio* até o sexto dia com aumento no último dia de análise para os dois tratamentos (Figura 1.b). Observa-se no décimo dia que PE.NPAg obteve valores menores para *Ratio* o que pode indicar menor senescência do fruto comparado com o controle PEBD. A relação SS/AT está relacionada com o sabor dos frutos, fator apreciável pelo mercado consumidor. A Figura 1.c mostra que morangos embalados com PE.NPAg obtiveram menores valores para ácido ascórbico comparado com PEBD.



**Figura 1.** Análises físico-químicas: (a) pH, (b) *Ratio* (SS/AT) e (c) Teor de Ácido Ascórbico.

A contagem total de bolores e leveduras está expressa na Figura 2. Nota-se que, exceto no segundo dia de análise, os morangos embalados por PEBD.NPAg mostraram menor contagem microbiológica, com exceção do segundo dia de análise. As nanopartículas de prata podem inibir o crescimento de bolores e leveduras (KIM *et al.*, 2008) aspecto de interesse na conservação pós-colheita de morangos.



**Figura 2.** Contagem de bolores e leveduras de morangos.

### 4 CONCLUSÃO

Conclui-se que os filmes contendo nanopartículas de prata não influenciaram na qualidade pós-colheita de morangos e apresentou pequena inibição no crescimento de bolores e leveduras nas condi-

ções analisadas. Outros ensaios serão feitos para avaliar a atividade antimicrobiana destes filmes para outros grupos de microrganismos.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq, Finep, Capes, FAPESP e Projeto MP1 Rede Agronano – Embrapa.

## REFERÊNCIAS

BRAGA, D. A. Qualidade pós-colheita de morangos orgânicos tratados com óleos essenciais na pré-colheita. 2012. 74 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras, 2012.

CUSHEN, M.; KERRY, J.; MORRIS, M. CRUZ-ROMERO, M.; CUMMINS, E. Nanotechnologies in the food industry: Recent developments, risks and regulation. *Trends in Food Science & Technology*, v. 24, p. 30-46, 2012.

KIM KJ, SUNG WS, MOON SK, CHOI JS, KIM JG, LEE DG. Antifungal effect of silver nanoparticles on dermatophytes. *J Microbiol Biotechnol.*; v. 18, p. 1482-1484, 2008.

MORAES, I. V. M.; CENCI, S. A.; BENEDETTI, B. C.; MAMEDE, A. M. G. N.; SOARES, A. G., BARBOSA, H. T. G. Características físicas e químicas de morango processado minimamente e conservado sob refrigeração e atmosfera controlada. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, v. 28, n.2, p. 274-281, 2008.

MUNOZ-DELGADO, J. Effects of freezing, storage and distribution on quality and nutritive attributes of foods, in particular fruit and vegetables. London: Applied Science Publishers, 1977.

Seguir a NBR 6023-ABNT agosto de 2002.

NIELSEN, T.; LEUFVÉN, A. The effect of modified atmosphere packaging on the quality of Honeoye and Korona strawberries. *Food Chemistry*, v. 107, p. 1053–1063, 2008.

ODRIOZOLA-SERRANO, I.; SOLIVA-FORTUNY, R.; MARTÍN-BELLOSO, O. Changes in bioactive composition of fresh-cut strawberries stored under super atmospheric oxygen, low-oxygen or passive atmospheres *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 23, p. 37–43, 2010.

PRUCEK, R.; TUCEK, J.; KILIANOVA, M.; PANACEK, A.; KVITEK, L. FILIP, J.; KOLAR, M. TOMANKOVA, K. ZBORIL, R. The targeted antibacterial and antifungal properties of magnetic nanocomposite of iron oxide and silver nanoparticles. *Biomaterials*, v. 32, p. 4704-4713, 2011.

RANGANA, S. Manual of analysis fruit and vegetable products. New Delhi: McGraw-Hill.634p., 1977.

---

## FILME CELULÓSICO ANTIFÚNGICO PARA CONTROLE DE *ASPERGILLUS FLAVUS* EM AMENDOIM

**Victor G. L. Souza<sup>1</sup>, Flávia C. F. Demuner<sup>1</sup>, \*Luciano B. Rusciollelli<sup>1</sup>, Cícero C. Pola<sup>1</sup>, Nilda de Fátima F. Soares<sup>1</sup>, Nathália R. de Melo<sup>2</sup>, Washington A. da Silva<sup>3</sup>, Eber Antonio A. Medeiros<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup>Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil. <sup>2</sup>Universidade Federal Fluminense, Volta Redonda, Rio de Janeiro, Brasil. <sup>3</sup>Universidade Federal de São João Del-Rei, Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil.

\*luciano.bertollo@yahoo.com.br

**Classificação:** Filmes, revestimentos comestíveis e embalagens funcionais para alimentos.

### Resumo

*Aspergillus flavus* produzem aflatoxinas, substâncias potencialmente hepatocarcinogênicas, sendo prejudicial à saúde tanto de pessoas quanto de animais. O objetivo deste trabalho foi desenvolver um filme ativo incorporado com óleo essencial de funcho doce (OEFD) para acondicionar amendoim e promover a inibição deste fungo. Os filmes foram produzidos pelo método “cast” incorporando-se diferentes concentrações de OEFD. Foi realizado teste “in situ” dos biopolímeros como embalagem ativa para amendoins previamente inoculados com *Aspergillus flavus*. O filme ativo incorporado com 60% de OEFD apresentou redução de 1 ciclo logarítmico da população inicial do fungo *A. flavus*. O filme antimicrobiano mostra ser uma forma inovadora de garantir produtos mais seguros aos consumidores, por meio do uso de tecnologia de barreira.

**Palavras-chave:** Embalagem ativa; Óleo essencial de funcho doce; Acetato de celulose.

### ANTIFUNGAL CELLULOSIC FILM TO CONTROL *ASPERGILLUS FLAVUS* IN PEANUTS

#### Abstract

*Aspergillus flavus* produces aflatoxin, potentially carcinogenic substances which are harmful to the health for both people and animals. The aim of this study was to develop an active film incorporated with essential oil of sweet fennel (EOSF) for packing peanuts and promote inhibition of this fungus. The films were produced by the “cast” method with different concentrations of EOSF incorporated. Was realized a test “in situ” of biopolymers as active packaging for peanuts previously inoculated with *Aspergillus flavus*. The active film incorporated with 60% of OEFD decreased by 1 log cycle from the initial population of the *A. flavus*. The antimicrobial film proves to be an innovative way to safer products to consumers through the use of barrier technology.

**Keywords:** Active packaging; Essential oil of sweet fennel; Cellulose acetate.

**Publicação relacionadas:** ESPITIA, P. J. P.; SOARES, N. F. F.; TEÓFILO, R. F.; COIMBRA, J. S. R.; VITOR, D. M.; BATISTA, R. A.; FERREIRA, S. O.; ANDRADE, N. J.; MEDEIROS, E. A. A. Physical-mechanical and antimicrobial properties of nanocomposite films with pediocin and ZnO nanoparticles. *Carbohydrate Polymers*, v. 94, p. 199-208, 2013.

## 1 INTRODUÇÃO

*Aspergillus flavus* é um gênero de fungo saprófita presente em solos de todo o mundo. Pode contaminar e produzir aflatoxinas em produtos agrícolas como grãos, cereais e oleaginosas, desde o campo até o armazenamento e transporte. Das várias formas de aflatoxinas existentes, a B1 é a mais carcinogênica. Assim, o controle da contaminação dessas substâncias é de extrema importância nesses alimentos (AMARE e KELLER, 2014; BLESA et al., 2003).

Dentre os produtos agrícolas, o amendoim é um dos mais suscetíveis à contaminação por fungos do gênero *Aspergillus* (PRADO et al., 1999). A contaminação com *A. flavus* e aflatoxinas em amendoim e seus derivados têm despertado a atenção dos órgãos sanitários, tido como um problema de saúde pública mundial, uma vez que vários países exportam amendoim para o mundo inteiro (PEREIRE et al., 2002).

Assim, o desenvolvimento do fungo durante a cadeia produtiva pode ser evitado por meio do controle das condições de embalagem e armazenamento. Como alternativa, tem-se o desenvolvimento de uma embalagem que promova a inibição do crescimento do fungo *A. flavus*.

Com potencial para este tipo de aplicação, têm-se as embalagens ativas. Além de proteger o alimento, elas interagem com o mesmo, seja melhorando alguma propriedade do produto ou inibindo o desenvolvimento de microrganismos, por meio da migração de algum composto ativo. A interação com o produto armazenado pode-se dar de diferentes formas, como a incorporação de antimicrobiano em sachê, incorporação de antimicrobiano na resina polimérica, entre outras (SOARES et al., 2002).

O potencial antifúngico de extrato contendo óleo de funcho doce (*Foeniculum vulgare* Mill) em diferentes doses sobre diversos fungos do gênero *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* e *Curvularia lunata* foi avaliado (SINGH et al., 2002). Dentre os resultados, observaram-se que a dose de 6 µL do óleo promoveu inibição completa dos fungos *A. niger*, *A. flavus*, *Fusarium graminearum* e *F. moniliforme*. A capacidade antifúngica do óleo de funcho é devida aos compostos fenólicos e a anetola que possuem atividade antimicrobiana (NYCHAS, 1998; CURTIS et al. 1996).

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi desenvolver um filme ativo de base celulósica



incorporado com óleo essencial de funcho doce e avaliar ação antimicrobiana no controle do fungo *Aspergillus flavus* em amendoim.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Embalagem do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa – Minas Gerais (Viçosa, Minas Gerais – Brasil).

### 2.1 Produção do filme antimicrobiano

Os filmes foram produzidos pelo método “cast”, conforme SOARES (1998), utilizando acetato de celulose (Rodia) como matriz polimérica e acetona (Vetec-PA) como solvente. A solução filmogênica foi adicionado óleo essencial de funcho nas concentrações de 15%, 30% e 60% (m/m) em relação à resina utilizada. Filmes controle foram produzidos sem a adição de óleo essencial. Os filmes foram embalados à vácuo para análises posteriores.

### 2.2 Avaliação dos filmes quanto à inibição do *Aspergillus flavus*

Foram utilizados amendoins descascados e selecionados adquiridos no mercado local.

Com o objetivo de eliminar contaminações prévias no produto, os grãos foram submetidos ao tratamento térmico de 121 °C por 15 minutos (autoclave) e, em seguida, acondicionados à temperatura de 25 °C por 24 horas para realização da análise.

Foi realizado plaqueamento por esgotamento do fungo *Aspergillus flavus* em meio BDA, com incubação a 25 °C por seis dias. Foi retirada uma alçada de uma colônia isolada e transferida para nove ml de água peptonada 1% (m/v) e incubada a 25 °C por 24 horas. Esta suspensão foi utilizada para inoculação nos amendoins e a condução do experimento.

Os amendoins foram embalados em sacos elaborados com os filmes ativos com capacidade de 50 g e a estes foram inoculados 150 µL da suspensão de *A. flavus*. As embalagens foram seladas tendo o polietileno nãilon como embalagem secundária (Figura 1).



**Figura 1.** Amendoins embalados em filmes incorporados com óleo essencial de funcho doce nas concentrações de 0% (A), 30% (B) e 60% (C).

As embalagens foram armazenadas a 25 °C e o amendoim analisado nos tempos 0, 10, 20 e 30 dias.

Foram amostrados 25 g de amendoim de cada tratamento separadamente. Ao amendoim foi adicionado 225 mL de água peptonada 0,1% (m/v) e homogeneizado em stomacher por 2 minutos.

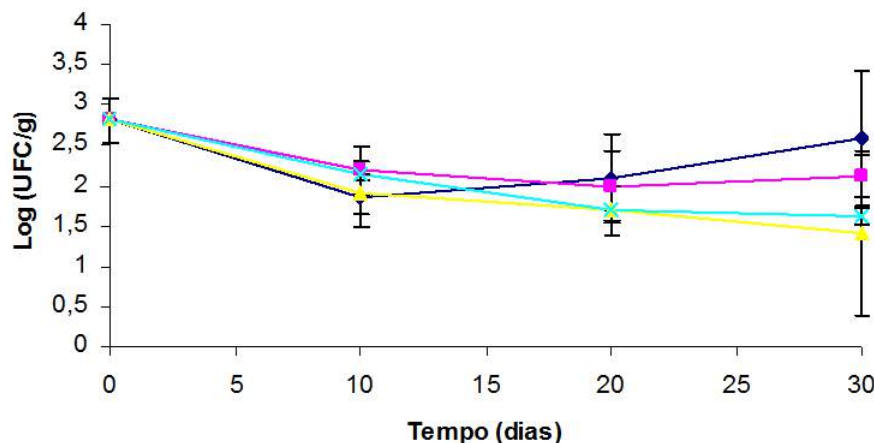
Foi realizado plaqueamento “pour plate” em meio BDA e as placas de Petri incubadas a 25 °C por seis dias.

### 2.3 Delineamento experimental e análise dos dados

Os experimentos foram realizados em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com duas repetições. Os dados foram avaliados através de análise de variância utilizando o teste F ao nível de 5% de probabilidade. Os dados foram interpretados por meio das comparações das médias utilizando o teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade. As análises foram realizadas utilizando o programa SAS (Statistical Analysis System – SAS Institute Inc., North Carolina, USA), versão 9.1, licenciado para a UFV.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A eficiência dos filmes ativos incorporados com óleo essencial de funcho doce na inibição do desenvolvimento de *A. flavus* se mostrou promissora pela avaliação “in situ” com amendoim, como pode ser observado na Figura 2. Durante os primeiros dez dias de estocagem houve inibição do crescimento do *A. flavus* em todos os tratamentos, havendo também redução da população inicial do fungo. Porém a inibição foi contínua apenas nos tratamentos onde os amendoins estavam acondicionados nos filmes ativos incorporados com óleo essencial de funcho doce.



**Figura 2.** Curva de inibição do crescimento de *A. flavus* inoculado em amendoins estocados a 25°C por 30 dias nas seguintes embalagens: Embalagem de polietileno. Embalagem com filme com 0% de óleo essencial de funcho doce (controle). Embalagem com filme incorporado com 30% de óleo essencial de funcho doce. Embalagem com filme incorporado com 60% de óleo essencial.

Ao final dos trinta dias de estocagem, os amendoins contidos nos filmes ativos incorporados com 60% (m/m) de óleo essencial de funcho doce tiveram redução de um ciclo logarítmico da população de *A. flavus* em comparação aos amendoins embalados em filme de polietileno.

A efetividade antifúngica do óleo essencial de funcho doce foi comprovada na literatura (SINGH et al., 2006), especificamente contra *A. flavus*. A menor efetividade observada nos resultados com o amendoim acondicionado nos filmes (Figura 2) pode estar relacionada com a baixa migração do composto antifúngico do óleo essencial para o amendoim. Além disso, a base celulósica pode ter contribuído para aumentar a retenção do óleo na resina, diminuindo a saturação dos compostos voláteis no ambiente da embalagem (BOTRE et al., 2010).

Apesar da inibição antimicrobiana “in vitro” ter sido relatada por meio da ação dos óleos essenciais (BOTRE et al., 2010), são necessárias concentrações maiores para obter a mesma eficiência nos teste “in vivo”, isto é, quando aplicados diretamente nos alimentos.

Outras formas de incorporação de compostos naturais na embalagem visando inibição microbiana vêm sendo estudadas, como por exemplo, o desenvolvimento de sachês incorporados com compostos antimicrobianos para inibição de fungos (SILVA et al., 2006). Sendo assim, pelo enorme potencial antifúngico do óleo essencial de funcho doce, o desenvolvimento de sachês incorporados com o mesmo pode ser uma alternativa para a inibição com maior eficiência de *Aspergillus flavus* em amendoins.

### 4 CONCLUSÃO

As embalagens desenvolvidas com filmes ativos antimicrobianos por meio da incorporação de óleo essencial de funcho doce (*Foeniculum vulgare* Mill) apresentaram eficácia quanto à inibição do crescimento do fungo *Aspergillus flavus*. Outras formas de incorporação de compostos naturais na embalagem visando a inibição microbiana devem ser estudadas para aumentar a eficiência da conservação. Esse sistema de embalagem, por meio de filme ativo, apresenta uma forma inovadora de garantir produtos mais seguros aos consumidores.

### AGRADECIMENTOS

À CAPES, ao CNPq, à FAPEMIG e à FINEP pelo apoio financeiro.

## REFERÊNCIAS

- AMARE, M. G.; KELLER, N. P. Molecular mechanisms of *Aspergillus flavus* secondary metabolism and development. *Fungal Genetics and Biology*, v. 66, 2014, p. 11-18.
- BLESA, J.; SORIANO, J. M.; MOLTÓ, MARÍN, J. C. R. AND MAÑES, J. Determination of aflatoxins in peanuts by matrix solid-phase dispersion and liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, v. 1011, 2003, 49-54.
- BOTRE, D. A.; SOARES, N. F. F.; ESPITIA, P. J. P.; SOUZA, S.; RENHE, I. R. T. Avaliação de filme incorporado com óleo essencial de orégano para conservação de pizza pronta. *Rev. Ceres*, v. 57, n.3, 2010, p. 283-291.
- CURTIS, O. F.; SHETTY, K.; CASSAGNOL, G., & PELEG, M. Comparison of synthetic and lethal effects of synthetic versions of plant metabolites (anethole, eugenol, carvacrol, thymol) on food spoilage yeast (*Debaromyces haneneni*). *Food Biotechnology*, v. 10, 1996, p. 55-73.
- NYCHAS, G. J. E. Natural antimicrobials from plants. New York: Chapman & Hall. 1998.
- PEREIRA, M. M. G.; CARVALHO, E. P.; PRADO, G. Crescimento e produção de aflatoxinas por *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*. *B.CEPPA*, v. 20, n. 1, 2002, p. 141-156.
- PRADO, G.; OLIVEIRA, M. S.; GAZZINELLI-MADEIRA, J. E. C.; GODOY, I. J.; CORRÊA, B.; JUNQUEIRA, R. G.; FERREIRA, S. O. Resistência de quatro genótipos de amendoim à produção de aflatoxina B1 após inoculação com *Aspergillus flavus*. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v.19, n.1, 1999.
- SILVA, W. A.; SOARES, N. F. F.; PEREIRA, J. M. A. T. K.; PIRES, A. C. S.; GONÇALVES, M. P. J. C. Inibição do fungo *Aspergillus flavus* através do uso de embalagem ativa. In: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2006, Curitiba. Editora TecArt, v. 1. 2006.
- SINGH, G.; KAPOOR, I. P. S.; PANDEY, S. K.; SINGH, U. K.; & SINGH, R. K. Studies on essential oils, Part 10: antibacterial activity of volatile oils of some spices. *Phytotherapy Research*, v. 16, 2002, 680-682.
- SOARES, N. F. F. Bitterness reduction in citrus juice through naringinase immobilized into polymer film. Ph. D. Dissertation. Cornell University, NY. 1998. 130p.
- SOARES, N. F. F.; RUTISHAUSER, D. M.; MELO, N.; CRUZ, R. S.; ANDRADE, N. J. Inhibition of microbial growth in bread through active packaging. *Packaging Technology and Science*, v. 15, n.3, 2002, 129-132.

---

**ESTUDO DAS PROPRIEDADES MECÂNICAS E DE BARREIRA EM FILMES DE GELATINA E GALACTOMANANA INCORPORADOS COM NANOCELULOSE DE FIBRA DE ALGAROBA (*PROSOPIS JULIFLORA*)**

**\*Mabel Ribeiro da Cruz<sup>1</sup>, Edla Freire Melo<sup>1</sup>, Men de Sá Moreira de Souza Filho<sup>2</sup>, Henriette Monteiro Cordeiro de Azeredo<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Universidade Federal do Ceará. <sup>2</sup>Embrapa Agroindústria Tropical.

<sup>3</sup>Embrapa – Secretaria de Relações Internacionais.

\*mabelribeirodacruz@yahoo.com.br

**Classificação:** Filmes, revestimentos comestíveis e embalagens funcionais para alimentos.

## Resumo

O enfoque principal deste trabalho foi desenvolver filmes biodegradáveis a partir de gelatina obtida de resíduos de tilápia (*Oreochromis niloticus*) e galactomanana extraída da Algaroba (*Prosopis juliflora*) incorporados com nanocristais de celulose extraídos da vagem da algaroba. A formulação dos filmes de gelatina 9% e galactomanana 6% foi feita utilizando 25% de glicerol (em base seca de gelatina e galactomanana) variando a quantidade de nanocristais de celulose nas concentrações de 2.5, 5 e 7.5% (em base seca de gelatina e galactomanana). Os filmes foram obtidos por casting e caracterizados quanto à permeabilidade ao vapor de água (PVA) e propriedades mecânicas de resistência à tração, alongação e módulo elástico. A utilização de nanocristais de celulose foram efetivos para reduzir a permeabilidade ao vapor de água (PVA) diminuindo a permeabilidade significativamente com a utilização de 5% de nanocelulose. A adição de nanocelulose incrementou a resistência à tração e módulo a partir de 2.5% com um pequeno decréscimo na concentração de 7.5%. Não houve efeito significativo com a adição de nanocelulose na alongação dos filmes.

**Palavras-chave:** Filmes biodegradáveis; Gelatina; Galactomanana; Nanocelulose.

## STUDY OF MECHANICAL PROPERTIES AND BARRIER IN FILMS FROM GELATIN AND GALACTOMANNAN INCLUDED WITH FIBER NANOCELLULOSE MESQUITE (*PROSOPIS JULIFLORA*)

### Abstract

The main focus of this work was to develop biodegradable films from gelatin obtained from waste tilapia (*Oreochromis niloticus*) and galactomannan extracted from mesquite (*Prosopis juliflora*) incorporated with cellulose nanocrystals extracted from the pods of mesquite. The formulation of the films of gelatin 9% and 6% galactomannan was performed using 25% glycerol (based on dry gelatin galactomannan) varying the amount of cellulose nanocrystals at concentrations of 2.5; 5 and 7.5% (by dry basis of gelatin and galactomannan). The films were obtained by casting and characterized as its permeability to water vapor (WVP) and mechanical properties of tensile strength, elongation and elastic modulus. The use of cellulose nanocrystals were effective to reduce the permeability to water vapor (WVP), decreasing the permeability significantly using 5% nanocelulose. Adding nanocelulose increased the tensile strength and modulus from 2.5% with a slight decrease in concentration of 7.5%. There was no significant effect with the addition of nanocelulose the elongation of the films.

**Keywords:** Biodegradable films; gelatin; galactomannan; Nanocellulose.

## 1 INTRODUÇÃO

O Brasil apresenta grande potencial para o aproveitamento de resíduos da agroindústria visto que grandes quantidades de resíduos animais e vegetais se acumulam diariamente, provocando problemas com a logística e o descarte desses materiais [AZEREDO, 2009] <sup>1</sup>.

Dentre os desafios ligados à tecnologia para produzir materiais biodegradáveis está o de possibilitar a melhoria aliada com a agregação de valor aos resíduos gerados pela indústria.

Os polímeros biodegradáveis mais utilizados na elaboração de filmes e coberturas comestíveis são as proteínas (gelatina, caseína, ovoalbumina, glúten de trigo, zeínas, proteínas miofibrilares), os polissacarídeos (galactomanana, amido e seus derivados, pectina, celulose e seus derivados, alginato, carragenana, quitosana) e os lipídeos (monoglicérides acetilados, ácido esteárico e ésteres de ácido graxo) [CUQ et al., 1995] <sup>2</sup>.

Neste contexto, no presente trabalho o objetivo maior consiste no desenvolvimento de blendas a partir da gelatina obtida da hidrólise parcial do colágeno ainda presente nos resíduos de carne mecanicamente separada (CMS) da tilápia e galactomanana extraída da semente da vagem de algaroba, sendo adicionados nanocristais de celulose da fibra da vagem de algaroba nas formulações dos filmes biodegradáveis.

Os filmes foram obtidos por casting e caracterizados quanto à permeabilidade ao vapor de água (PVA), propriedades mecânicas de resistência à tração, alongação e módulo elástico.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Os filmes foram preparados utilizando a técnica de casting onde a preparação das soluções filmogênicas foi obtida inicialmente com a hidratação dos materiais separadamente e em seguida foi feita uma solução de gelatina 9% (m/v) e uma solução de galactomanana 6% (m/v). Foi adicionado glicerol

em uma concentração fixa de 25% com base na massa seca de gelatina e galactomanana. A nanocelulose foi adicionada nas concentrações de 2,5, 5 e 7,5% também com base na massa seca. As soluções de gelatina e galactomanana ficaram sob agitação constante a temperatura ambiente por um período de aproximadamente uma hora. Ao solubilizar completamente a gelatina e a goma, as duas soluções foram misturadas e o plastificante (glicerol) foi adicionado a essa solução. No fim deste período, a solução de gelatina e galactomanana foram homogeneizadas por 15 minutos. Nos tratamentos com nanocelulose, esta recebeu um tratamento com ultrassom por 5 minutos e foi adicionada a solução junto com o glicerol. Em seguida, a mistura passou por um processo de degasagem por 30 minutos. As soluções filmogênicas obtidas foram vertidas sobre placas de vidro cobertas por superfície de poliéster (Mylar®), puxadas, na espessura de 1mm, dentro de uma estufa com circulação de ar com o auxílio de uma barra de alumínio e mantidas a 35 °C por 24 horas para secagem do filme.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 ENSAIO DE PERMEABILIDADE

A permeabilidade dos filmes de gelatina e galactomanana diminuiu conforme adicionou-se nanocelulose até a concentração de 5%, sendo verificado no filme de gelatina e galactomanana, incorporado com nanocelulose na concentração de 7,5%, um aumento da PVA como pode ser observado na Figura 1. Foi utilizado o Teste de Tuckey nas análises de permeabilidade ao vapor de água e ensaios mecânicos, para avaliar se houve diferenças significativas com o aumento de nanocelulose nos filmes; as letras diferentes indicaram valores com diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0.05$ ). Os valores obtidos de permeabilidade permitiram concluir que a adição de nanocelulose, até a concentração de 5%, aos filmes aumentou a barreira ao vapor de água, mostrando que a presença de nanocelulose dificulta a passagem das moléculas de água diminuindo o processo de difusão, ou seja, diminuindo a permeabilidade ao vapor de água resultando em uma melhora nas propriedades de barreira [AZEREDO et al., 2012]<sup>3</sup>. Porém ao aumentarmos a concentração de nanocelulose verificou-se um decréscimo da resistência que pode ser relacionado à aglomeração das partículas de nanocelulose na matriz. A nanocelulose distribuída uniformemente na matriz polimérica é fundamental para a melhoria das propriedades mecânicas e de barreira dos nanocompósitos, pois promove a formação das ligações de hidrogênio entre os polímeros e a nanocelulose, diminuindo o processo difusivo e proporcionando uma maior transferência da tensão das cadeias da matriz polimérica para os cristais de celulose [SANCHEZ-GARCIA et al., 2008]<sup>4</sup>.

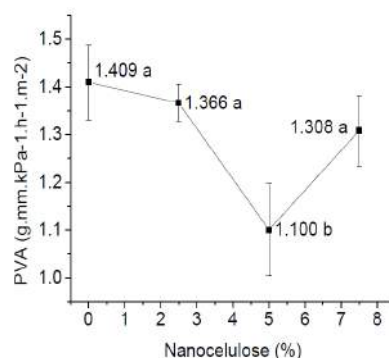
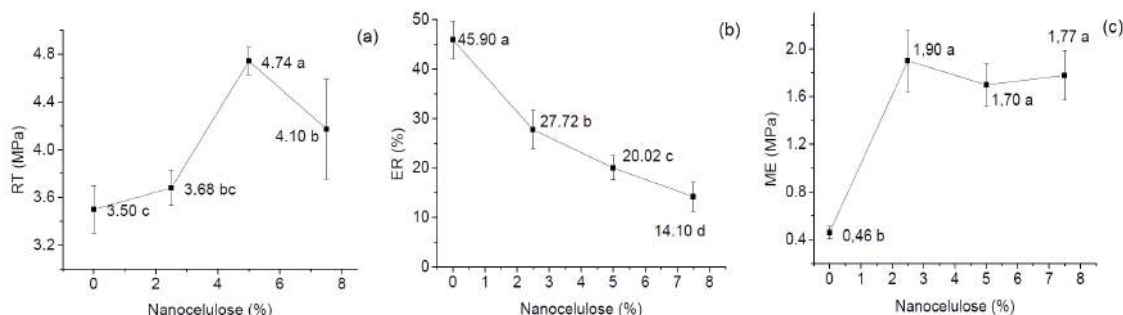


Figura 1. Valores da PVA de filmes de gelatina e galactomanana incorporados com nanocelulose.

#### 3.2 ENSAIOS MECÂNICOS

Os resultados de propriedades mecânicas, Figura 2, mostram que a nanocelulose foi eficiente como reforço nas características de resistência a tração e módulo de elasticidade. A resistência à tração aumentou com a adição de 2,5% de nanocelulose mostrando um aumento de 5,1% quando comparado com o filme de gelatina e galactomanana sem nanocelulose; no filme com adição de 5% de nanocelulose foi observada uma melhoria de 35,4%. Quando se aumenta a concentração de nanocelulose em 7,5%, pode-se verificar uma diminuição na resistência a tração comparada ao valor achado para o filme incorporado com 5%. Esse fato pode ser relacionado a uma possível reaglomeração dos nanocristais decorrente do aumento da concentração desses nanocristais. Isso é particularmente favorecido para sus-

pensões com potencial zeta não ideal, sendo considerada uma suspensão estável/ideal quando apresenta potencial zeta  $> 30\text{mV}$ , em módulo [ZHOU et al., 2012] <sup>5</sup>. No presente trabalho a nanocelulose utilizada apresentou potencial zeta no limite  $[30\text{mV}]$ , justificando essa hipótese. A elongação foi prejudicada pela adição de qualquer concentração de nanocelulose, isso se deve ao fato de que a cristalização do polímero resulta na fragilidade do mesmo causando uma diminuição na tensão de ruptura [SURYANEGARA et al., 2009] <sup>6</sup>. O módulo elástico, por sua vez, aumentou significativamente desde a adição de 2.5% de nanocelulose (sem diferenças entre as diferentes concentrações).



**Figura 2.** Gráficos de propriedades mecânicas (a) resistência à tração – RT, (b) elongação na ruptura – ER e (c) módulo de elasticidade – ME, de filmes de gelatina e galactomanana incorporados com nanocelulose.

#### 4 CONCLUSÃO

Foi possível obter filmes à base de gelatina de resíduos da tilápia e galactomanana extraída da algaroba, adicionados de nanocristais de celulose obtidos a partir das vagens da algaroba pela técnica de casting. Os filmes se apresentaram visualmente com boa aparência e manuseáveis.

Os nanocristais de celulose incorporados nos filmes de gelatina e galactomanana foram eficientes na melhoria da propriedade de barreira (redução da PVA) e da resistência à tração, tendo o filme com concentração de 5% apresentado os melhores resultados. A adição de nanocelulose aumentou o módulo elástico desde a adição de 2.5%, porém a elongação foi prejudicada pela adição de qualquer concentração de nano.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Embrapa Agroindústria Tropical, UFC e Capes pelo apoio financeiro.

#### REFERÊNCIAS

- AZEREDO, H. M. C. Nanocomposites for food packaging applications. *Food Res. Int.*, v. 42 (2009), p. 1240–1253.
- CUQ, B.; GONTARD, N.; GUILBERT, S. In: ROONEY, M. L. (Ed.). *Edible film and coating as active layers*. Springer, London (1995), p. 111-142.
- AZEREDO, H. M. C. et al. Nanoreinforced alginate- acerola puree coatings on acerola fruits. *J. Food Eng.*, v. 113 (2012), n. 4, p. 505-510.
- SANCHEZ-GARCIA, M. D.; GIMENEZ, E.; LAGARON, J. M. Morphology and barrier properties of solvent cast composites of thermoplastic biopolymers and purified cellulose fibers. *Carbohydr. Polym.*, v. 71 (2008), n. 2, p. 235-244.
- ZHOU, Y. M.; FU, S.Y.; ZHENG, L.M.; ZHAN, H.Y. Effect of nanocellulose isolation techniques on the formation of reinforced poly(vinyl alcohol) nanocomposite films, *Express Polym. Lett.*, v. 6 (2012), p. 794 – 804.
- SURYANEGARA, L.; NAKAGAITO, A. N.; YANO, H. The effect of crystallization of PLA on the thermal and mechanical properties of microfibrillated cellulose- reinforced PLA composites. *Compos. Sci. Technol.*, v. 69 (2009), n. 7-8, p. 1187-1192.

## EFEITO DO ULTRASSOM DE PONTA NO PREPARO DE FILMES DE AMIDO COM DE ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO E ACEROLA

Monica Guimarães Farias<sup>1</sup>, \*Edla Maria Bezerra Lima<sup>2</sup>, Antonieta Middea<sup>3</sup>,  
Carlos Wanderlei Piler Carvalho<sup>2</sup>, Aline Borges de Oliveira<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, UFRRJ, Seropédica/RJ.

<sup>2</sup> Laboratório de Extrusão e Cereais, Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro/RJ. <sup>3</sup> Setor de Caracterização Tecnológica - SCT, Centro de Tecnologia Mineral-CETEM, Rio de Janeiro – RJ.

\*lima@embrapa.br

**Classificação:** Filmes, revestimentos comestíveis e embalagens funcionais para alimentos.

### Resumo

O trabalho objetivou caracterizar quatro tipos de filmes de acerola adicionados de amido de mandioca e plastificantes elaborados por *casting* visando identificar procedimentos e formulações que melhor conferissem uniformidade e resistência ao filme, para tanto, foram elaboradas 4 rotas de pesquisa: A) sem ultrassom de ponta; B) com ultrassom de ponta; C) sem ultrassom de ponta adicionado de Óleo de Cravo a 25% e D) sem ultrassom de ponta adicionado de Óleo de Cravo a 50%. Os filmes foram analisados quanto a estrutura, morfologia e composição química por meio das técnicas de raios X (RX), microscopia ótica (MO) e eletrônica (MEV) associada à análise química pontual (EDS). Os resultados demonstraram que o ultrassom aumentou o contato entre as partículas, conferindo uniformidade morfológica e diminuiu a resistência ao esforço mecânico, adquirindo às imperfeições do substrato e, nos outros biofilmes a adição de óleo essencial de cravo (OEC) sem o uso do ultrassom de ponta conferiu maior plasticidade, aumento da resistência mecânica, heterogeneidade morfológica e um enriquecimento em K<sup>+</sup> à medida que se aumentou a concentração do OEC na mistura do filme.

**Palavras-chave:** Biofilmes, Barbados cherry, Ultrassom; Microscopia; MEV-EDS, Raios X.

### EFFECT OF TIP ULTRASOUND ON THE PREPARATION OF STARCH FILM ADDED OF CLOVE ESSENTIAL OIL AND BARBADOS CHERRY

#### Abstract

The study aimed to characterize four types of cassava starch films added of Barbados cherry and plasticizers prepared by casting and to identify formulations that conferred better film uniformity and resistance, four essays were conducted: A) without ultrasound tip ; B) with ultrasound tip; C) without ultrasound tip added Oil of Cloves 25% and D) without ultrasound tip added Oil of Cloves 50%. The films were analyzed concerning structure, morphology and chemical composition by means of X-ray techniques optical electron associated with spot chemical analysis and optical microscopy. The results demonstrated that ultrasound increased the contact between the particles, giving morphological uniformity and decreased resistance to mechanical stress, acquiring the imperfections of the plate and in the other biofilms adding clove essential oil (OEC) without the use of ultrasound given point greater plasticity, increased mechanical strength, morphological heterogeneity and enrichment of K + is increased as the concentration of the mixture of OEC film.

**Keywords:** Biofilms, Barbados cherry, Ultrasound; Microscopy; SEM-EDS, X-rays.

#### Publicações relacionadas:

FARIAS, M. G.; FAKHOURI, F. M., CARVALHO, C. W. P.; ASCHERI J. L. R.. Química Nova, v. 35, n. 3, p.546-552, 2012.

LIMA, E. M. B. ; ORTIZ, J. A. R. ; MORO, T.M.A. ; CARVALHO, C. W. P.; ASCHERI, J. L. R. Anais do VII Workshop de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio. São Carlos, SP: Embrapa Instrumentação, 2013. v. 1. p. 141-143.

## 1 INTRODUÇÃO

O Brasil está situado em terceiro lugar mundial entre os países produtores de frutas, com 41,2 milhões de toneladas. Apesar desta potencialidade agroindustrial, a perda de qualidade durante o arma-

zenamento, transporte e distribuição de alimentos frescos ainda é um problema a solucionar. Nas últimas décadas, a combinação de técnicas de conservação com embalagens tem-se mostrado promissora como o uso de embalagem rígida ou flexível para proteção física do alimento. As embalagens convencionais são grandes contribuintes para a produção de lixo no Brasil, o qual produz cerca de 240 mil toneladas de lixo por dia, sendo superior a Alemanha (85.000 t/dia) e Suécia (10.400 t/dia) e inferior aos Estados Unidos (607.000 t/dia).

Estas pesquisas tem se voltado para o uso de polímeros naturais na elaboração de filmes que funcionem como embalagens (WANG et al., 2010; SHEN et al. 2010; FARIAS et al., 2012), especificamente embalagens biodegradáveis a partir de biopolímeros naturais, capazes de formar adequadamente uma matriz coesa e contínua (TEIXEIRA, 2007). Estes novos materiais também tem a possibilidade em aumentar a qualidade e a vida de prateleira de frutas e vegetais, reduzindo perdas pós-colheita, além de possibilitar a adição de aditivos tais como: antioxidantes, vitaminas, agentes antimicrobianos e aromas, servindo como grande incentivo para tal propósito. Atualmente, o amido é um dos polímeros naturais mais estudados devido à sua abundância, disponibilidade e baixo custo relativo.

Uma característica interessante aos filmes é a possibilidade da adição de substâncias inibitórias na formulação, caracterizando as embalagens ativas, com capacidade de inibir o crescimento de microrganismos objetivando a segurança, melhoria da qualidade e propriedades sensoriais. A adição de substâncias antimicrobianas possibilita a redução da taxa de crescimento de microrganismos prolongando a vida de prateleira do alimento (FARIAS, 2011; SOUZA et al., 2011).

A obtenção destes filmes pode ser pelas técnicas de *casting*, extrusão termoplástica, moldagem e termoprensagem e sopro (MOŚCICKI et al. 2012).

O presente estudo visou desenvolver um filme funcional, comestível a base da mistura de amido de mandioca (AM), acerola (*Malpighia glaba*) (AC), óleo essencial de cravo (OEC) acrescida de água (AG) e glicerol (GL). O amido apresenta-se como alternativa, pois é capaz de formar matrizes poliméricas contínuas, acrescido da acerola que foi adicionada por destacar-se como excelente fonte de vitamina C e  $\beta$ -caroteno, agregando valor quando incorporado na elaboração de outros produtos e adicionado do OEC que atua como antimicrobiano natural.

Os filmes foram caracterizados quanto à sua espessura, a estrutura cristalina por meio das análises de difração de Raios X, a morfologia de superfície e a integridade do filme por meio das técnicas de microscopia ótica, utilizando luz refletida, e da microscopia eletrônica de varredura de alto vácuo acoplado a espectrometria de energia dispersiva de raios X (EDS) que caracterizou a composição química dos filmes.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Os filme foram elaborados segundo a técnica *casting* (GONTARD et al., 1993) nas proporções: acerola (83,31g), amido de mandioca (17,56 g), glicerol (4,8 g) e diluídos em água (322,75 mL), misturados manualmente (rota A) ou com o ultrassom de ponta, nas condições de 3 minutos de análises, com intensidade de 50% por 1s de pulso e 5s de descanso (rota B) modelo Branson Digital 450 (Xangai, China). A rota C teve as mesmas proporções de amido, acerola e água, com modificações na quantidade de glicerol (3,6 g) e a adição de (1,2 g) de OEC e a rota D teve as mesmas proporções de amido, acerola e água, com modificações na quantidade de glicerol (2,4 g) e a adição de (2,4 g) de OEC. Todos em condições controladas de cisalhamento e temperatura em um viscoamilógrafo Brabender (Duisburg, Alemanha). As soluções filmogênicas foram aquecidas sob constante agitação de 50 até 90°C, permanecendo nesta temperatura por 10 min e resfriadas até 50°C. Após o resfriamento da solução à temperatura ambiente, 41,7g de solução foram vertidas em placas *plexiglass* de 142 mm de diâmetro, onde o controle de peso foi aferido em balança semi-analítica (TECNAL, modelo B-TEC-330) e desidratado em estufa à temperatura de 30°C ( $\pm 2^\circ\text{C}$ ) por 46 h. Após completa secagem e remoção das placas, os filmes foram condicionados em câmaras herméticas com umidade relativa do ar controlada por meio de uma solução saturada de nitrato de magnésio ( $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ ) a 52,9%, sob vácuo. Nesta condição, os filmes foram mantidos por 6 dias até o equilíbrio do teor de umidade.

Neste processo foram estabelecidas quatro rotas analíticas para a elaboração de quatro modelos de filmes. Cada rota foi composta por 10 filmes, gelatinizados no viscoamilógrafo e secos em estufa à 30°C: **A)** AM + AC + AG + GL misturados manualmente; **B)** AM + AC + AG + GL misturados no ultrassom de ponta; **C)** AM + AC + AG + GL + OEC a 25% misturados manualmente e **D)** AM + AC + AG + GL + OEC 50% misturados manualmente.

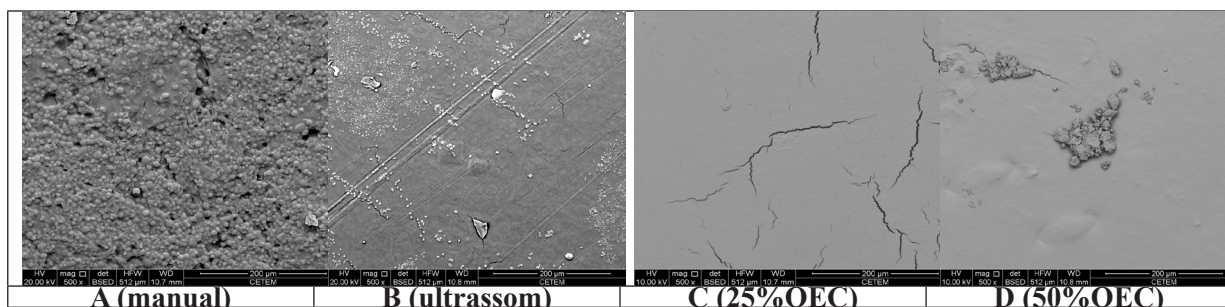
Os filmes foram analisados quanto à espessura por meio do micrometro digital Fowler IP 54 (Newton, EUA), estrutura cristalina pela Difração de Raios X segundo a metodologia descrita por Lima



et al., (2013) no equipamento Raios X D2 Phaser (Bruker AXS, Karlsruhe, Alemanha), sob as condições de  $V=30$ ,  $A=10$ ,  $I=0,002$ ,  $t=4s$ ,  $\text{giro}=15\text{rpm}$ ,  $2\theta=2^{\circ}\text{-}32^{\circ}$ ; a análise morfológica pelo microscópio ótico Zeiss modelo AxioImager.M2m, software: Zeiss AxioVision Rel. 4.8, objetivas: Zeiss EC Epiplan - 5x 0,13 HD, 10x 0,2 HD, 20x 0,4 HD e 50x 0,7 HD e Câmera: Zeiss AxioCam modelo MRc5. Os filmes foram aderidos ao suporte usando-se fita adesiva dupla face de carbono, e recobertas com ouro em um sputter BalTech SCD 050, posteriormente analisadas no microscópio eletrônico de varredura (MEV) FEI Quanta 400 (Hillsboro, OR, Estados Unidos) com um sistema de microanálise química por dispersão de energia (EDS) Bruker Quantax acoplado. Este sistema conta com espectrômetro de energia dispersiva Bruker XFlash 4030, tecnologia SSD (*silicon drift detector*) com janela de  $30\text{ mm}^2$ , e resolução espectral melhor que 133 eV para Mn  $ka$ . O MEV foi operado em alto vácuo, tensão de aceleração de elétrons de 10 kV para as amostras adicionados de óleo de cravo e a 20 kV para as demais, e spot size de 5." em aumentos de 100x, 500x, 1000x e 5000x.

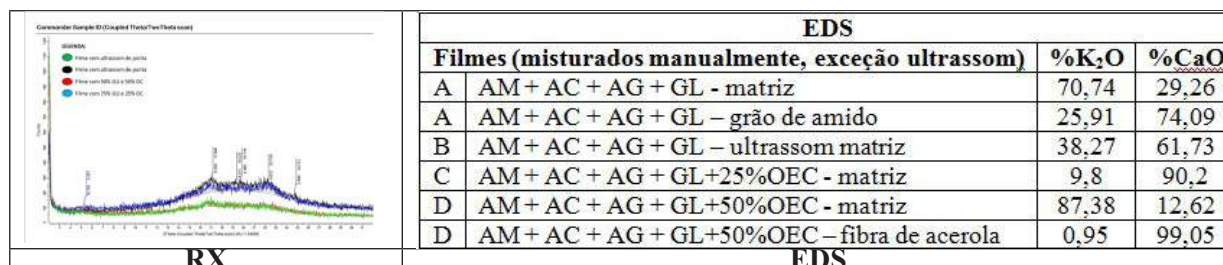
### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da análise de espessura demonstraram que os filmes elaborados com ultrassom tiveram uma espessura média de  $0,170\mu\text{m}$  e os elaborados manualmente a espessura média de  $0,174\mu\text{m}$ . As análises de microscopia ótica permitiram observar as fibras de acerolas por seu tamanho, imiscibilidade com a matriz e sua birrefringência sob a luz refletida dispersas aleatoriamente na matriz homogênea. A análise ao MEV possibilitou diferenciar comportamentos estruturais conforme figura 1:



**Figura 1.** A) matriz heterogênea com baixo microfissuramento; B) matriz homogênea com alto microfissuramento de modo concordante as imperfeições da placa; C) matriz homogênea com alto grau de microfissuramento aleatório D) matriz homogênea, com presença de micropartículas do óleo de cravo e menor presença de microfissuramento aleatório.

As análises de Raios X apresentaram melhor cristalinidade para o filme preparado com o ultrassom de ponta e o filme acrescido de 25% de OEC. As análises de EDS apresentaram uma distribuição uniforme da percentagem de óxidos para a amostra preparada com o ultrassom e um comportamento de distribuição aleatória para os demais preparos, com concentração de óxidos nas partes que não se misturaram totalmente, figura 2.



**Figura 2.** dados comparativos das análises de Raios X e EDS.

### 4 CONCLUSÃO

O uso do ultrassom aumentou o contato entre as partículas, possibilitando desenvolver um filme com uniformidade morfológica, matriz homogênea, menor resistência mecânica no processo de extração das placas, adquirindo as imperfeições da placa e microfissuramento paralelo a estas. Nas outras rotas, os filmes que tiveram a adição de OEC apresentaram maior plasticidade, aumento da resistência

mecânica a extração das placas, heterogeneidade morfológica e um enriquecimento em  $K^+$  à medida que se aumentou a concentração do OEC na mistura do filme quando comparados entre si e em relação ao filme padrão. O filme padrão apresentou-se heterogêneo, com a fase dos grãos de amido bem visível e menor índice de microfissuramento.

## AGRADECIMENTOS

Ao Sistema Embrapa de Gestão- SEG, Projeto Componente: PC3, Plano de Ação: PA3 e ao técnico Fernando Vasques do CETEM pelas análises ao Microscópio Ótico Zeiss modelo AxioImager. M2m.

## REFERÊNCIAS

FARIAS, M. G. Elaboração de filmes comestíveis de amido adicionados de polpa de acerola. 2011. 117 p. (Dissertação de mestrado). Departamento de Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro.

FARIAS, M. G.; FAKHOURI, F. M.; CARVALHO, C. W. P.; ASCHERI J. L. R. Caracterização Físico-Química de Filmes Comestíveis de Amido Adicionado de Acerola. *Química Nova*, v. 35, n. 3, p.546-552, 2012.

GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J.L. Water and glycerol as plasticizers affect mechanical and water-vapor barrier properties of an edible wheat gluten film. *Journal of Food Science*, v. 58, n. 1, p. 206-211, 1993.

LIMA, E. M. B. ; ORTIZ, J. A. R. ; MORO, T.M.A. ; CARVALHO, C. W. P. ; ASCHERI, J. L. R. . Adaptação da técnica de preparo das amostras de bioplásticos para análise de difração de raios-x. São Carlos, SP. Anais do VII Workshop de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio. São Carlos, SP: Embrapa Instrumentação, 2013. v.1, p. 141-143.

MOŚCICKI, L.; MITRUS, M.; WÓJTOWICZ, A.; ONISZCZUK, T.; REJAK, A.; JANSSEN, L.

Application of extrusion-cooking for processing of thermoplastic starch (TPS). *Food Research International*, v.47, p. 291- 299, 2012.

SHEN, X.L.& WU, J.M.& CHEN, Y.& ZHAO, G., “Antimicrobial and physical properties of sweet potato starch films incorporated with potassium sorbate or chitosan”, *Food Hydrocolloids*, v. 24,n. 4, p.285-290, 2010.

SOUZA, C. O; SILVA, L. T.; SILVA, J. R.; LOPEZ, J. A.; VEIGA-SANTOS, P.; DRUZIAN, J. I. Mango and Acerola Pulps as Antioxidant Additives in Cassava Starch Bio-based Film. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v. 1, p. 538-543, 2011.

TEIXEIRA E. M. Utilização de amido de mandioca na preparação de novos materiais termoplásticos. 2007. 115 p. (Tese de doutorado). Instituto de Química de São Carlos. Universidade de São Paulo. São Carlos.

WANG X. , SUN X., LIU H., LI M., MA Z. Barrier and mechanical properties of carrot puree films. *Food and Bioproducts Processing*, v.147, 2010.



## **Capítulo 3**

# **BIONANOCOMPÓSITOS**



## CARACTERIZAÇÃO DE NANOCRISTAIS DE CELULOSE POR MICROSCOPIA DE FORÇA ATÔMICA.

\*Góes, T. S.<sup>1</sup>, Hausen, M.<sup>1</sup>, Rosa, M. F.<sup>2</sup>, De Menezes, A. J.<sup>1</sup>,  
Mattoso, L. H. C.<sup>3</sup>, Leite, F. L.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>UFSCAR, DFQM, CCTS, Sorocaba, SP. <sup>2</sup>EMBRAPA, CNPAT, Fortaleza, CE. <sup>3</sup>EMBRAPA, CNPDIA, São Carlos, SP.

\*thaisgoes\_ufscar@hotmail.com

**Classificação:** Bionanocompósitos.

### Resumo

A crescente busca pelo desenvolvimento de materiais menos impactantes ao meio ambiente, tem encontrado nas fontes renováveis à base de celulose uma alternativa promissora para sua utilização como reforço em matrizes poliméricas, visando à produção de nanocompósitos biodegradáveis. O presente trabalho consiste num estudo da morfologia e da distribuição dos nanocristais de celulose de caroço de manga, vagem de algaroba, pseudocaule da bananeira e fibra do mesocarpo do dendê, realizados a partir da técnica de microscopia de força atômica. Os resultados obtidos mostraram-se promissores no que se refere à dispersão e as dimensões dos cristais, destacando assim o seu potencial para o desenvolvimento de nanocompósitos biodegradáveis.

**Palavras-chave:** Microscopia de força atômica; Materiais de Fontes renováveis; Nanocristais de celulose.

### CHARACTERIZATION OF CELLULOSE NANOCRYSTALS BY ATOMIC FORCE MICROSCOPY

#### Abstract

The increasing search for development of less environmentally impactful materials has found, in renewable sources of cellulose, a promising alternative. This can be used as reinforcement in polymer matrices to aim the production of biodegradable nanocomposites. The present work is a characterization of morphology and distribution of cellulose nanocrystals of mango's lump, mesquite pods, banana's pseudostem, and dende's mesocarp fibers using the atomic force microscopy (AFM) as technique. The results were promising regarding to dispersion and dimensions of the crystals, therefore highlighting their potential for development of biodegradable nanocomposites.

**Keywords:** Atomic force microscopy; Renewable Sources Materials; Cellulose Nanocrystals.

**Publicações relacionadas:** Caracterização de Nanocristais de Celulose: Pseudocaule da Bananeira, Manga, Vagem de Algaroba e Dendê por Microscopia de Força Atômica (em redação).

## 1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, um crescente interesse global, tem buscado o desenvolvimento de materiais menos agressivos à natureza. Em virtude disso, a utilização de fibras naturais apresenta considerável potencial de aplicação na produção de materiais que permeiem menores impactos ambientais. (SILVA, R. *et al.*, 2009). Dentre as fontes naturais para o desenvolvimento de polímeros biodegradáveis, encontra-se o amido e a celulose, podendo ser encontrados em grande escala na natureza. Assim, o desenvolvimento de novos materiais baseados na aplicação destes tem sido alvo de pesquisa. Quando as celuloses são submetidas à hidrólise ácida podem se converter com facilidade em nanocristais de celulose (CNC), também denominados de “*nanowhiskers*”. (LAHIJI, R. *et al.*, 2010).

Quando os CNC são incorporados às matrizes poliméricas, mesmo que em baixas concentrações, proporcionam boas propriedades mecânicas e químicas aos bionanocompósitos, além de se apresentarem como uma alternativa aos compósitos comuns. (LAHIJI, R. *et al.*, 2010).

Estes têm despertado grande interesse das indústrias por serem materiais em escala nanométrica e apresentarem menores riscos à saúde quando comparados com nanomateriais de origem sintética. Portanto, apresenta menor toxicidade, baixo custo e podem ser aplicados em diversos meios. (LEUNG.W. *et al.*, 2013).

As fibras naturais apresentam uma grande diversidade de espécies aptas à exploração, são produzidas mundialmente e no Brasil são cultivadas em larga escala pelas atividades agrícolas, além de

serem geradas como resíduos pelas agroindústrias. Destaca-se nesse contexto o desenvolvimento de bionanocompósitos reforçados com nanocristais de celulose, tais como o mesocarpo do dendê, por exemplo, que podem ser obtidos através dos resíduos gerados por meio da produção de biodiesel. (MORAIS, J. *et al.*, 2012).

Devido à necessidade industrial em avaliar as propriedades dos CNC, a fim incorporá-los na estrutura de bionanocompósitos, este estudo teve como objetivo caracterizar morfologicamente os CNC de pseudocaule da bananeira (PCB), vagem de algaroba (ALV), fibra do mesocarpo de dendê (ND) e do caroço de manga (MG), utilizando a microscopia de força atômica (AFM) para caracterizar suas dimensões.

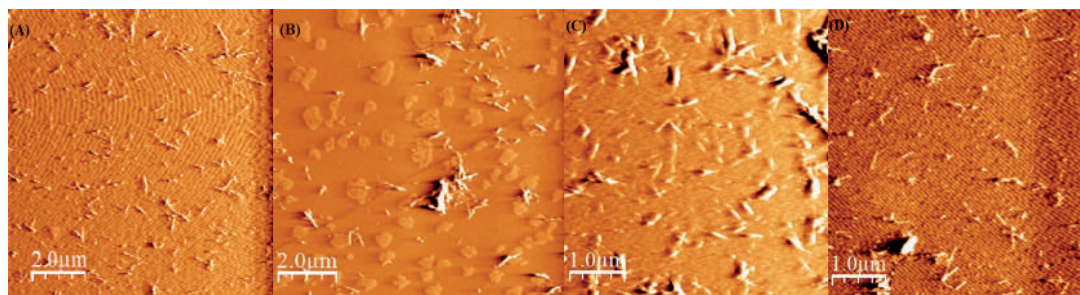
## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

As suspensões dos CNC de pseudocaule da bananeira, vagem de algaroba, dendê e manga foram fornecidas pela Embrapa Agroindústria Tropical, situada no estado do Ceará. Todas as fibras foram submetidas a determinadas condições e etapas químicas, como branqueamento e hidrólise ácida ( $H_2SO_4$ ), para obtenção das suspensões de nanocristais.

As morfologias dos CNC foram caracterizadas, usando o AFM (*modelo Veeco Multimode*), através do software (Nanoscope 7.30, *Veeco 2009*), utilizando-se cantilever de SiNi curto, no modo contato, com 1kHz de frequência de ressonância e ponta com raio entre 80 e 100 nm, e umidade relativa do ar  $\leq 40\%$ , e constante de mola entre 0,15-0,30 N/m. As diluições foram realizadas com água ultrapura (Milli-Q®) e mostraram que a melhor concentração para análise de AFM é a  $c = 0,5$  g/L. Assim, foi adicionado 20 $\mu$ L para adsorção das suspensões aquosas diluídas sobre uma amostra plana de mica muscovita. A secagem das suspensões para todas as amostras desse trabalho ocorreu à temperatura ambiente. Os dados das dimensões de comprimento e diâmetro/altura obtidos pelo AFM foram obtidos e analisados pelo Software WSxM 5.0 develop 6.5, e foram selecionadas pelos menos quatro medidas ( $n= 4$ ) de cada condição. Com estes dados foi determinada uma média e desvio padrão, com metodologia semelhante à reportada por LAHIJI, R *et al* (2010).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As morfologias dos CNC, aqui caracterizadas, podem ser observadas, através das imagens de topografia exibidas na figura 1 na qual os nanocristais se apresentam isoladamente dispersos, evidenciando sua forma geométrica, cilíndrica, como já encontrada por outros tipos de fontes renováveis, segundo estudos já realizados.



**Figura 1.** Imagens topográficas de microscopia de força atômica dos nanowhiskers de bananeira (A), Manga (B), Vagem de Algaroba (C) e Dendê (D). Áreas: A e B 100 $\mu$ m<sup>2</sup>; C e D 25 $\mu$ m<sup>2</sup>

Os CNC de PCB, ALV, ND e MG; apresentaram comprimentos médios que variaram entre (354-408)nm, (296-342)nm, (276-369)nm e (454-526) nm, e diâmetros médios em torno de (14-18) nm, (3,1-4,5)nm, (3-5)nm e (8-10)nm respectivamente. A tabela 1 apresenta a média dos valores obtidos, considerando que a altura dos nanocristais de celulose é relativa aos valores de diâmetro devido à interação da ponta de AFM (agulha) e a amostra, que conduz a um pequeno desvio. Todos os valores encontrados para os CNC deste estudo são próximos aos encontrados na literatura, também oriundos de fontes renováveis como madeira, abacaxi entre outros, também caracterizados por AFM. (SANTOS, R. *et al.*, 2013 e LAHIJI, R. *et al.*, 2010).

**Tabela 1.** Média das dimensões dos nanocristais de celulose determinadas por AFM

Nanowhiskers	Altura (nm)	Diametro (nm)	Comprimento (nm)	Razao de Aspecto (L/D)
PCB	20±4	16±2	381±27	19 ±4
ALV	5,3±1	3,8±0,7	319±23	60±17
ND	5±0,8	4,0±1	318±42	64±18
MG	13±3	9,0±1	490±36	38±11

Para correção do raio da amostra, devido à interação entre a ponta e a amostra foi utilizada a equação 1, para a determinação da largura dos nanocristais. Onde  $R_s$  é o raio da amostra,  $W$  é a Largura da imagem e  $R_t$  é o raio da ponta. E o raio da ponta utilizada para as dimensões deste estudo foi de 80nm para PCB e 100nm à ALV, MG e ND. (WANG, Y. *et al.*, 2007)

$$R_s = \frac{W^2}{20R_t} \quad (1)$$

Uma notável observação é dada aos valores de razão de aspecto dos CNC obtidos, de (19 ±4)nm para PCB, (60±17)nm para ALV, (64±18)nm para ND e (38±11)nm para MG. A razão de aspecto está relacionada intrinsecamente com o tipo de fonte, condição e preparação dos nanocristais. Portanto, altas quantidades de celulose podem favorecer um excelente efeito de reforço aos bionanocompósitos, o qual permite melhor desempenho mecânico em menores cargas. (ROSA, M. *et al.*, 2010).

Os valores das dimensões dos CNC se mantiveram consistentes com umidade relativa em média de 35%, um percentual estipulado como padrão neste trabalho para a realização das medidas. É praticamente impossível que os nanocristais de celulose se tornem mais ou menos espessos diante da umidade baixa e estável utilizada neste trabalho, visto que tais alterações estão vinculadas com a penetração e a difusão das moléculas de água aos nanocristais, proporcionando a separação das cadeias de celulose. Tais alterações na relação espessura x umidade ficaram comprovadas em estudos. (LAHIJI, R. *et al.*, 2010).

#### 4 CONCLUSÃO

Ressalta-se que a concentração (c) é um agente limitante quanto à obtenção dos CNC isolados, evidenciando que, em baixas concentrações, as aglomerações são menores e quase inexistentes nas imagens. Portanto, a  $c = 0,5$  g/L determinada neste trabalho permitiu a obtenção e a análise detalhada das fibras isoladas, tornando-se esta, a concentração ideal para futuras caracterizações de nanocristais de celulose. A caracterização morfológica por AFM evidenciou que CNC isolados e extraídos de fontes renováveis distintas apresentaram alto potencial de reforço em nanocompósitos como alternativa já empregada. Em suma, o AFM pode ser categorizado como uma técnica fidedigna que se adiciona aos demais microscópicos convencionais também utilizados para caracterização dos CNC. Além disso, a técnica de AFM apresenta peculiaridades particulares aos demais tipos de microscopia, pois é possível realizar análises de interação e atração molecular de materiais.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq, Finep, Capes e Projeto MP1 Rede Agronano – Embrapa. À EMBRAPA CNPAT pela preparação por hidrólise ácida e fornecimento da suspensão de *nanowhiskers* de manga, dendê, vagem de algaroba e pseudocaule da bananeira. À EMBRAPA CNPDIA pelo fomento e parte do Plano de Ação 2 vinculado ao Projeto Componente de Bionanocompósitos.

#### REFERÊNCIAS

SILVA, R.; HARAGUCHI, S.K.; MUNIZ, E.C.; RUBIRA, A.F. Aplicações de fibras lignocelulosicas na química de polímeros e em compósitos. *Quim Nova*, v.32, n.3 p.661-671, 2009.



LAHIJI, R.R.; XU, X.; REIFENBERGER, R.; RAMAN, A.; RUDIE, A.; MOON, R.J. Atomic Force Microscopy Characterization of Cellulose Nanocrystals, *Langmuir*, v.26, n.6, p.4480-4488, 2010.

LEUNG, W.C.A.; LAM, E.; CHONG, J.; HARAPOVIC, S.; LUONG, T.H.J. Reinforced Plastics and Aerogels by Nanocrystalline Cellulose *J.Nanopart. Res.*, v.15, p.1636, 2013.

MORAIS, J. P. S.; NORÕES, A. K. M.; SOUZA, N. F.; ROSA, M. F.; ALEXANDRE, L. C.; RAPÔSO, C.; NUNES, A. K. S.; PEIXOTO, C. A. Caracterização morfológica de nanocristais de celulose provenientes de resíduos fibrosos de oleaginosas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA, 4 & SIMPOSIO INTERNACIONAL DE OLEAGINOSAS ENERGETICAS - CBPol, 1, 2012, João Pessoa – PB. Anais. Embrapa Algodão: ABPol, 2012. p. 224-228.

SANTOS, R.M.; NETO, W.F.; SILVERIO, H.A.; MARTINS, D.F.; DANTAS, N.O.; PASQUINI, D. Cellulose nanocrystals from pineapple leaf, a new approach for thereuse of this agro-waste, *Industrial Crops and Products*, v.50, p.707– 714, 2013.

ROSA, M.F.; MEDEIROS, E.S.; MALMONGE, J.A.; GREGORSKI, K.S.; WOOD, D.F.; MATTOSO, L.H.C.; GLENN, G.; ORTS, W.J.; IMAM, S.H. Cellulose nanowhiskers from coconut husk fibers: Effect of preparation conditions on their thermal and morphological behavior, *Carbohydrate Polymers*, v.81, p.83–92, 2010.

WANG Y.; CHEN X. Carbon nanotubes: A promising standard for quantitative evaluation of AFM tip apex geometry, *Ultramicroscopy*, v.107, p.293-298, 2007.

---

## PROPRIEDADES DE FILMES CELULÓSICOS NANOESTRUTURADOS PRODUZIDOS A PARTIR DE POLPA KRAFT DE *PINUS SP.*

\*Lívia Cássia Viana<sup>1</sup>, Graciela Ines Bolzon de Muniz<sup>1</sup>, Washington Luiz Esteves Magalhães<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Engenharia e Tecnologia Florestal, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR.

<sup>2</sup>EMBRAPA Florestas, Colombo, PR.

\*licvianna@gmail.com

**Classificação:** Bionanocompósitos.

### Resumo

O objetivo deste trabalho foi determinar as propriedades físicas de filmes celulósicos nanoestruturados. Foi utilizada polpa *Kraft* não-branqueada de *Pinus sp.* Foram avaliados três diferentes números de passes da polpa pelo moinho desfibrilador Super Masscolloider Masuko Sangyo: 0, 10 e 30. Para cada tratamento foram produzidas cinco amostras. Para visualização das estruturas e dimensões das nanofibrilas de celulose foi usada a microscopia eletrônica de transmissão. Os filmes previamente acondicionados em sala climatizada foram destinados à confecção dos corpos de prova e realização dos ensaios físicos. A densidade aparente média apresentou-se cerca de três vezes maior nos filmes nanoestruturados quando comparados aos filmes do tratamento que não sofreu processo mecânico (L00). Filmes nanoestruturados apresentaram propriedades de resistência à tração com valores estatisticamente superiores ao tratamento L00. Maiores valores de densidade aparente e de resistência à tração foram encontrados para os filmes nanoestruturados, devido à estrutura mais compacta e de menor porosidade proporcionada pela maior superfície de contato das nanofibrilas.

**Palavras-chave:** Filmes Nanoestruturados; Celulose; Densidade Aparente; Tração

### PROPERTIES OF NANOSTRUCTURED CELLULOSIC FILMS FROM KRAFT PULP NANO-FIBERS OF *PINUS SP.*

#### Abstract

The objective of this work was to determine the physical properties of nanostructured cellulosic films. unbleached Kraft pulp of *Pinus sp.* was used. Three different passes of the pulp through the friction grinder Super Masscolloider Masuko Sangyo were investigated: 0, 10 and 30. Transmission Electron Microscopy

was used to visualize the structures and dimensions of the cellulose nanofibers. The previously conditioned five films samples per treatment were destined to physical characterization. The mean apparent density was about three times higher in nanostructured films compared to treatment that did not undergo mechanical process (L00). The nanostructured films showed tensile mechanical properties superior to untreated. Higher values of apparent density and tensile strength were found for nanostructured films, due to the more compact structure and lower porosity provided by greater contact surface area of the cellulose nanofibrils.

**Keywords:** Nanostructured films, Cellulose, Apparent density, Tensile

## 1 INTRODUÇÃO

A nanotecnologia é atualmente considerada uma das grandes áreas dentro dos setores em destaque da tecnologia que prenunciam grandes avanços à ciência e novas oportunidades nos mais diferenciados campos (CHAMAS, 2008; FRONE *et al.*, 2011). O uso e obtenção de nanofibrilas de celulose e suas aplicações em materiais compósitos tem despertado a atenção de pesquisadores por apresentar-se como material com alta resistência e rigidez, aliado ao fato do baixo peso (SIRÓ e PLACKETT, 2010). Além das suas excelentes propriedades mecânicas, nanofibrilas de celulose têm mostrado outras interessantes propriedades para reforços em nanocompósitos.

Neste cenário a nanotecnologia aplicada ao setor de celulose e papel pode possibilitar a obtenção de novos produtos nanoestruturados com excelentes propriedades de resistência a partir de materiais celulósicos. O produto obtido da polpa celulósica por meio de processos nanotecnológicos é a chamada celulose microfibrilada, que apresenta a capacidade de gerar fortes ligações de hidrogênio entre as microfibrilas da parede celular, produzindo um material com alta resistência. Estas propriedades fazem da nanocelulose um produto atraente para ser usado como aditivo em papel para melhoria das propriedades mecânicas como arrebentamento, rasgo e tração (GONZÁLEZ *et al.*, 2012)

A combinação favorável de elevadas propriedades de resistência juntamente com o fato de ser um material hidrofílico, biodegradável e renovável tornam nanofibrilas de celulose candidatas promissoras para uso comercial. Pesquisas sobre a aplicação da nanocelulose no setor de celulose e papel ainda são recentes e estão em fase inicial de exploração.

O objetivo deste trabalho foi determinar as propriedades físicas de filmes celulósicos nanoestruturados produzidos a partir de polpa *Kraft* não branqueada de *Pinus* sp.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Produção dos filmes nanoestruturados

Neste estudo foi utilizada polpa *Kraft* não branqueada obtida da madeira de *Pinus* sp. A polpa passou pelo processo mecânico de desintegração das fibras com o objetivo de promover a individualização das mesmas, seguindo então para as etapas de lavagem para retirada do excesso do licor de cozimento e centrifugação. A polpa *Kraft*, formando uma suspensão juntamente com água destilada na concentração 1% base massa seca seguiram para o processo mecânico de desfibrilação no moinho *Super Masscolloider Masuko Sangyo* (MKCA6-3; Masuko Sangyo Co., Ltd.) na frequência de 1500rpm. Foram avaliados dois diferentes números de passes pelo moinho: 10 e 30 (L10 e L30), além do tratamento sem nenhum processo mecânico (L00), totalizando três tratamentos. Parte da suspensão nanocelulósica obtida foi usada para observação da nanofibrilas por microscopia eletrônica de transmissão.

Filmes nanocelulósicos foram produzidos por meio da deposição da suspensão nanocelulósica sobre o conjunto papel filtro sob uma tela de nylon para serem filtrados a vácuo. Após serem filtrados foram levados para pré-secagem na estufa à temperatura de 60 °C durante 10 minutos e na seqüência secos na máquina formadora de papel sob temperatura em torno de 70°C durante um tempo variando de 20-30 minutos. Para produção dos mesmos foi estabelecida uma gramatura desejada de 60 g/m<sup>2</sup>. Para cada tratamento foram produzidas cinco repetições (filmes).

Os filmes nanoestruturados foram previamente acondicionados em sala climatizada com temperatura de 23 ± 2 °C e umidade relativa do ar de 50 ± 2% (Norma TAPPI T402-om-94) para posterior confecção dos corpos de prova e realização dos ensaios físicos (densidade aparente, absorção e resistência à tração).

Para visualização das estruturas e dimensões das nanofibrilas de celulose foi usado o Microscópio Eletrônico de Transmissão modelo Jeol JEM 1200EXII *Electron Microscope* (600 mil X). As

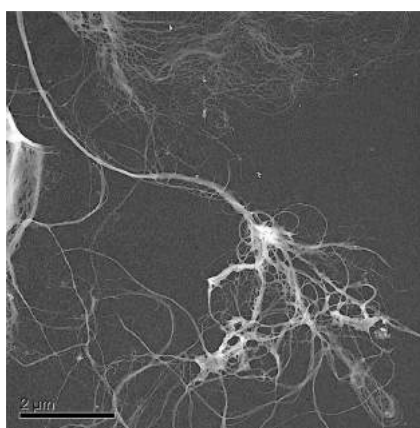
suspensões nanocelulósicas foram diluídas em água destilada e então realizada a substituição da água pelo álcool t-butílico para posterior aquisição de imagens (IWAMOTO *et al.*, 2007).

Na realização de cada ensaio físico foram avaliados cinco corpos de prova por tratamento. A densidade aparente dos filmes, expressa em  $\text{g/cm}^3$ , foi calculada pela relação entre a gramatura e a espessura do papel (Norma T220-om01). A absorção de água pelo método Cobb ( $\text{g/m}^2$ ), corresponde a massa de água absorvida por 1 metro quadrado do filme no tempo adotado de 60 segundos. O método foi adaptado da Norma T441-om98.

O ensaio de tração foi realizado de acordo com a norma NBR NM-ISO 1924-3:2006, utilizando-se um dinamômetro digital horizontal com distância entre as garras ajustada para 100mm e velocidade de ensaio de 10mm/min. A resistência à tração foi apresentada por meio do índice de tração (IT) que corresponde a relação entre a resistência e a gramatura de uma amostra, sendo expresso em N.m/g.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 apresenta imagem obtida por Microscopia Eletrônica de Transmissão, onde é possível observar nanofibrilas de celulose.



**Figura 1.** Nanofibrilas de celulose: aumento de 15000 vezes

A Tabela 1 apresenta os valores médios das propriedades físicas: densidade aparente, absorção Cobb<sub>60</sub> e resistência à tração dos filmes nanocelulósicos pertencentes aos diferentes tratamentos.

**Tabela 1.** Valores médios das propriedades de densidade aparente, absorção Cobb<sub>60</sub> e resistência à tração dos filmes nanocelulósicos para cada tratamento

Tratamento		DA( $\text{g/cm}^3$ )	Cobb60 ( $\text{g/m}^2$ )	IT (N.m/g)
L00	Média	0,34	195,6	40,89
	CV (%)	2,7	2,84	4,17
L10	Média	1,04	72,04	103,13
	CV (%)	1,97	4,35	8,77
L30	Média	1,17	71,78	81,75
	CV (%)	4,16	2,14	5,67

Onde: L00 = testemunha; L10 = tratamento com dez passes pelo moinho; L30 = tratamento com trinta passes pelo moinho  
DA = densidade aparente; IT = Índice de Tração; CV = coeficiente de variação.

Os valores médios da densidade aparente apresentados na Tabela 1 permitem concluir que a presença de nanofibrilas proporcionou um aumento considerável nas densidades, cerca de três vezes maior, quando comparada aos filmes que não sofreram tratamento mecânico (T00). Os valores foram de  $0,34 \text{ g/cm}^3$  para o L00 a  $1,17 \text{ g/cm}^3$  para o L30. Os valores encontrados para a densidade dos filmes nanocelulósicos neste trabalho estão próximos com os relatados por outros autores (HENRIKSSON *et al.*, 2008).

O aumento na densidade dos filmes está diretamente relacionado ao aumento das propriedades dos filmes. A porosidade diminui com o aumento da densidade e a maior superfície de contato entre as nanofibrilas de celulose adjacentes proporciona um maior número de ligações de hidrogênio formando uma rede mais densa resultando numa maior força e rigidez ao filme.

Em relação aos ensaios de absorção pelo método Cobb<sub>60</sub> é possível observar pela Tabelas 1 que os filmes nanocelulósicos apresentaram menor absorção quando comparados aos formados por fibras que não sofreram processo mecânico (L00). Os valores de absorção para os tratamentos não-deslignificados variaram de 71,78 (L30) a 195,60 g/m<sup>2</sup> (L00). Isso pode ser explicado pela estrutura bastante compacta e menor porosidade que estes filmes apresentam, diminuindo desta forma a penetração de água (DUFRESNE, 2012).

O índice de tração para os filmes apresentaram valores médios variando de 40,89 a 103,13 Nm/g, para os tratamentos L00 e L10, respectivamente. O aumento das propriedades mecânicas dos filmes pode ser explicado pela densa rede de ligações de hidrogênio criadas pela maior área superficial produzida após o processo de desfibrilação da polpa celulósica (SPENCE et al., 2010). A redução na resistência à tração apresentada pelos filmes pertencentes ao tratamento L30 pode ser resultado da degradação da celulose sofrida pelo processo de desfibrilação. O aumento do número de passes pelo moinho promove a diminuição das dimensões das fibras para níveis nanométricos mas também pode reduzir o grau de cristalinidade e polimerização da celulose, ocasionando uma diminuição nas propriedades mecânicas dos filmes (IWAMOTO et al., 2008).

#### 4 CONCLUSÃO

- A presença de nanofibrilas proporcionou um aumento considerável nas densidades para os tratamentos estudados;
- filmes nanocelulósicos apresentaram menor absorção de água pela menor porosidade e estrutura compacta que apresentam quando comparados aos tratamentos L00 e T00;
- a resistência dos filmes nanocelulósicos à tração apresentou valores significativamente maiores quando comparadas aos filmes produzidos a partir da polpa sem processo de desfibrilação.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq, Finep, Capes e Projeto MP1 Rede Agronano – Embrapa.

#### REFERÊNCIAS

- CHAMAS, C.I. Nanotechnology intellectual property in Brazil: Preliminary research note. World Patent Information, v.30, p.146–149, 2008.
- DUFRESNE, A. Nanocellulose: From Nature to High Performance Tailored Materials. Berlin: Walter De Gruyter Incorporated, 2012. 460p.
- FRONE, A.N.; PANAITESCU, D.M.; DONESCU, D. Some aspects concerning the isolation of cellulose micro- and nano- fibers. UPB Scientific Bulletin, v. 73, p. 133-152, 2011.
- GONZÁLEZ, I.; BOUFI, S.; PÈLACH, M.A.; ALCALÀ, M.; VILASECA, F.; MUTJÉA, P. Nanofibrillated cellulose as paper additive in Eucalyptus pulps. BioResources, v. 7, n°. 4, p. 5167-5180, 2012.
- HENRIKSSON, M.; BERGLUND, L.A.; ISAKSSON, P.; LINDSTRÖM, T.; NISHINO, T. Cellulose nano-paper structures and high toughness, Biomoleculares, v.9, p. 1579-1585, 2008.
- IWAMOTO, S.; KENTARO, A.; YANO, H. The Effect of Hemicelluloses on Wood Pulp Nanofibrillation and Nanofiber Network Characteristics. Biomacromolecules, Uji, v.9, p.1022–1026, 2008.
- IWAMOTO, S.; NAKAGAITO, A.N.; YANO, H. Nano-fibrillation of pulp fibers for the processing of transparent nanocomposites. Applied Physics A, v. 89, p. 461–466, 2007.
- SIRÓ, I.; PLACKETT, D. Microfibrillated cellulose and new nanocomposite materials: a review. Cellulose, v. 17, p. 459–494, 2010.

## MORFOLOGIA E PROPRIEDADES FÍSICAS DE NANOCOMPÓSITOS PECTINA – PALIGORSQUITA

Francys K. V. Moreira<sup>1,2</sup>, Alfredo R. S. Neto<sup>1,2</sup>, José M. Marconcini<sup>1</sup>, Luiz H. C. Mattoso<sup>1</sup>,  
\*Edson N. Ito<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Instrumentação (CNPDIA), São Carlos, SP. <sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais (PPG-CEM), Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), São Carlos, SP.

<sup>3</sup>Departamento de Engenharia de Materiais (DEMat), Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Natal, RN.

\*ito@ufnet.br

**Classificação:** Bionanocompósitos.

### Resumo

A combinação de biomacromoléculas e cristais anisotrópicos pode gerar uma nova classe de nanocompósitos com propriedades especiais. O presente estudo reporta o efeito de reforço do argilomineral fibroso paligorsquita (PGT) em filmes biodegradáveis de pectina (PEC). Os nanocompósitos PEC/PGT foram preparados por *casting* e caracterizados por microscopia eletrônica de varredura (MEV), ensaios de tração e termogravimetria (TG/DTG). A inclusão de pequenas quantidades de PGT (0,5%) aumentou expressivamente o módulo elástico e resistência à tração dos filmes, o que foi atribuído a uma efetiva interação interfacial entre a PEC e a PGT. Concentrações de PGT (>2,5%) aumentaram também a estabilidade térmica da matriz polimérica. Os resultados demonstram o potencial da PGT como agente de reforço em filmes de pectina para embalagens biodegradáveis e outras aplicações.

**Palavras-chave:** Polímero biodegradável; Nanotecnologia; Reforçamento Mecânico; Termoestabilidade; Anisotropia.

### MORPHOLOGY AND PHYSICAL PROPERTIES OF PECTIN-NANOFIBROUS PLYGORSKITE NANOCOMPOSITES

#### Abstract

Mixtures of biomacromolecules and anisotropic crystals can generate a new class of nanocomposites with outstanding properties. This study reports the reinforcing effect of the fibrous mineral palygorskite (PGT) on biodegradable pectin (PEC) films. The PEC/PGT nanocomposites were prepared through casting and characterized by scanning electron microscopy (SEM), tensile tests, and thermogravimetric analysis (TG/DTG). The inclusion of small amounts of PGT (0.5%) remarkably increased the elastic modulus and tensile strength of the films, which was associated to an effective interfacial interaction between PEC and PGT. Higher PGT concentrations also increased thermal stability of the pectin matrix. The results demonstrated the potential of PGT as reinforcing filler for pectin films, allowing usage as biodegradable packaging and others applications.

**Keywords:** Biodegradable polymer; Nanotechnology; Mechanical reinforcement; Thermal stability; Anisotropy.

**Publicações relacionadas:** Trabalho apresentado (oral/pôster) no Workshop da rede europeia EcoBioCAP (Ecoefficient Biodegradable Composite Advanced Packaging) realizado em Lisboa, Portugal, 2013.

## 1 INTRODUÇÃO

A natureza é fonte excepcional de macromoléculas com potencial para o desenvolvimento de plásticos mais compatíveis com o meio ambiente. Assim são as pectinas (PEC), uma família de polisacarídeos complexos que estruturam a parede celular dos vegetais. PEC são polissacarídeos aniônicos, hidrossolúveis e atóxicos. Sua composição é definida em maior parte por cadeias de poli( $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4)ácido D-galacturônico) (PGA) (MAXWELL et al. 2012).

As PEC possuem excelente capacidade filmogênica, logo elas podem ser utilizadas na produção de plásticos biodegradáveis para embalagens e outras aplicações. Contudo, filmes de pectina tendem a apresentar resistência mecânica e estabilidade térmica indesejáveis (GORRASI, BUGATTI & VITTO-RIA, 2012). A incorporação de reforços nanométricos em filmes de pectina pode contornar tais limitações uma vez que aumentos expressivos nas propriedades físicas são alcançados em nanocompósitos.

Nanoestruturas unidimensionais (1D) (nanotubos, nanofios etc.) vêm atraindo especial atenção devido às suas propriedades anisotrópicas e morfologias especiais. A alta razão de aspecto destas estruturas pode induzir aumentos expressivos nas propriedades físicas de um nanocompósito, devido às maiores interações que podem ser formadas com a matriz polimérica (DARDER et al. 2006).

A paligorsquita (PGT) é um silicato especial de fórmula  $Mg_5Si_8O_{20}(OH)_2(OH_2)_4 \cdot 4H_2O$ . Ela exibe morfologia fibrosa com cristais da ordem de 20 nm em diâmetro e comprimento de vários microns (LI et al. 2010). Sua estrutura cristalina consiste numa interposição de blocos de magnésio-silicato e túneis hidratados que crescem na direção axial (LI et al. 2010). Devido a sua elevada estabilidade térmica, rigidez mecânica e alta razão de aspecto, a PGT tem demonstrado ser um agente de reforço eficiente para polímeros sintéticos, tais como polietileno (LI et al. 2010) e polipropileno (CHEN et al. 2011). Todavia, estudos envolvendo a inclusão de PT em matrizes biodegradáveis são escassos, e seu efeito de reforço sobre matrizes de pectina ainda não foi investigado. Assim sendo, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da inclusão de paligorsquita sobre as propriedades de filmes biodegradáveis de pectina. Os nanocompósitos foram preparados via casting e as discussões baseadas nas caracterizações mecânicas, microscópicas e térmicas destes materiais.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

**Materiais:** Pectina ( $M_w = 180,000 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ , teor de PGA de 84%) proveniente da casca de frutas cítricas foi adquirida da CPKelco LTda., Brasil. Paligorsquita foi gentilmente fornecida pela União Brasileira de Mineração S.A. (UBM, Guadalupe, PI, Brazil). Todos os experimentos foram realizados utilizando água deionizada (resistividade de  $18.2 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$ ).

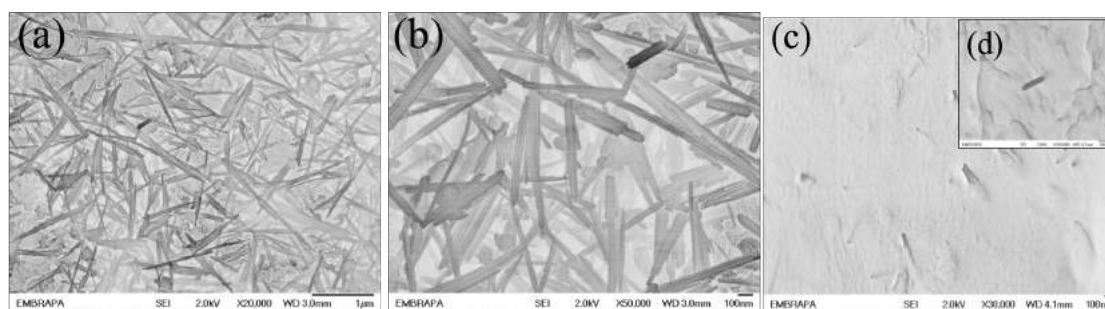
**Preparação dos nanocompósitos:** Soluções de pectina com concentração mássica de 1% foram preparadas mediante dissolução do polissacarídeo em água à 25 °C. Dispersões aquosas de PGT foram preparadas utilizando um sonicador Branson, aplicando pulsos de onda com frequência de 60 Hz durante 10 min. Então, massas precisas desta dispersão foram adicionadas à solução de pectina para formar misturas com concentração de PGT de 0,5%, 1% e 2.5% ( $m_{\text{paligorsquita}}/m_{\text{pectina}}$ ). As misturas foram espalhadas em um substrato e secadas à 40 °C por 24 h, resultando em filmes com espessura entre 60-80  $\mu\text{m}$ . Um filme de pectina puro também foi preparado e usado como controle. Todas as amostras foram armazenadas em sacos de polietileno antes das caracterizações.

**Caracterizações:** Análises microestruturais foram realizadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) em um microscópio JSM-670 da Jeol equipado com um canhão de emissão de campo (FEG). As amostras foram recobertas com ouro (~5 nm) e, em seguida, imageadas pelo modo de elétrons secundários. As propriedades mecânicas foram determinadas a partir de ensaios de tração seguindo a norma ASTM D882-09. Os ensaios foram realizados em uma máquina universal de testes mecânicos EMIC DL3000 equipada com uma célula de carga de 50 kgf. A estabilidade térmica dos materiais foi avaliada por termogravimetria (TG/DTG) em um equipamento Q500 da TA Instruments. As amostras foram aquecidas de 25 °C até 600 °C a uma taxa de  $10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  sob atmosfera de ar sintético com vazão de  $60 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ . Tais ensaios foram realizados com uma repetição

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

É amplamente conhecido que a PGT é um silicato natural com aspecto fibroso. Caracterizações por MEV-FEG confirmaram tal morfologia na amostra em estudo, Figura 1. É possível notar fibrilas individualizadas, como também na forma de aglomerados. O comprimento e o diâmetro destas fibrilas variaram entre 0,3  $\mu\text{m}$  – 1,7  $\mu\text{m}$  e 16 nm – 50 nm, respectivamente, estando em concordância com valores previamente reportados (LI et al. 2010).

Os filmes PEC/PGT se apresentaram macroscopicamente homogêneos. A microestrutura destes filmes é ilustrada através das microfotografias da amostra contendo 1% de PGT, Figura 1c e 1d.



**Figura 1.** Micrografias de MEV-FEG para a PGT (a) 20.000 X; (b) 50.000 X; e para o nanocompósito PEC/PGT (1%). (c) 30.000 X; (d) 100.000 X.

As fibrilas são visualizadas bem distribuídas e sem orientação na matriz de PEC, Figura 1c, indicando que uma boa desaglomeração da PGT foi promovida durante a preparação dos nanocompósitos. As micrografias revelaram ainda não existir uma região de separação na interface fibrila-matriz. Isto pode ser claramente observado em um aumento de 100.000 X, Figura 1d. No detalhe, uma fibrila com diâmetro de 20 nm aparece bem aderida à matriz de PEC. Isto se deve às interações interfaciais estabelecidas pela formação de ligações de hidrogênio entre os grupos hidroxilas (-OH) presentes nas cadeias de pectina e os grupos silanóis (Si-OH) localizados na superfície externa dos cristais de PGT.

A Tabela 1 apresenta as propriedades mecânicas para o filme de PEC puro e para os nanocompósitos contendo 0,5 – 2,5% de PGT. Os resultados mostram que a inclusão de PGT causou um efeito de reforço na matriz de PEC. O módulo elástico ( $E$ ), a resistência à tração ( $\sigma_T$ ) e a elongação na ruptura ( $\epsilon_B$ ) aumentaram de 2303 MPa para 3131 MPa, de 31,5 MPa para 49,2 MPa, e de 1,4% para 2,1% respectivamente, com a adição de 0,5% do silicato.

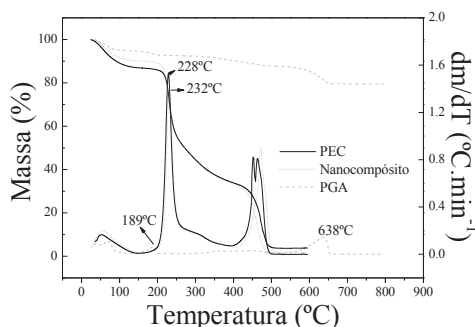
**Tabela 1.** Propriedades mecânicas dos filmes nanocompósitos pectina/paligorsquita

PGT (%)	$E$ (MPa)	$\sigma_T$ (MPa)	$\epsilon_B$ (%)
0	2303 ± 271	31,5 ± 9,0	1,4 ± 0,4
0,5	3130 ± 208	49,2 ± 5,4	2,1 ± 0,4
1	3138 ± 312	47,1 ± 6,1	1,9 ± 0,3
2,5	3354 ± 141	42,0 ± 7,2	1,5 ± 0,3

*Com o aumento da concentração de PGT, um ligeiro incremento nos valores de  $E$  ocorreu, enquanto  $\sigma_T$  e  $\epsilon_B$  diminuíram. Entretanto, o nanocompósito com 2,5% de PGT ainda apresentou  $\sigma_T$  superior e valores de elongação similares ao filme puro.*

Os resultados de termogravimetria são apresentados na Figura 2. As perdas de massa abaixo de 150 °C em todas as amostras correspondem à eliminação de umidade. O filme de PEC puro apresentou ainda duas etapas de perda de massa: entre 180 – 350 °C, com  $T_{m\acute{a}x} = 228^\circ\text{C}$ , relacionado à degradação das cadeias de pectina, e entre 400 – 500 °C a qual pode ser atribuída à oxidação do resíduo carbonáceo formado na etapa anterior [2]. Para a PGT duas etapas adicionais de perda de massa também podem ser observadas: entre 150 – 200 °C, com  $T_{m\acute{a}x} = 189^\circ\text{C}$ , atribuída à eliminação de moléculas de água coordenadas aos sítios ativos da PGT (íons  $\text{Mg}^{2+}$ ), e entre 580 – 650 °C, atribuída à desidroxilação estrutural da PGT (DARDER et al. 2006).

O nanocompósito contendo 2,5% de PGT apresentou um perfil térmico bastante similar ao do filme puro. Todavia, a  $T_{m\acute{a}x}$  relacionada à degradação da PEC foi ligeiramente aumentada de 228°C para 232°C. Este comportamento indica que a incorporação de paligorsquita pode melhorar a estabilidade térmica de filmes de pectina.



**Figura 2.** Curvas TG/DTG para o nanocompósito PEC/PGT contendo 2,5% de silicato e para seus componentes puros. Taxa de aquecimento de  $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ ; Atmosfera dinâmica de ar sintético  $60\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ .

Em geral, nanocompósitos poliméricos apresentam maior estabilidade térmica do que o polímero puro devido a efeitos de tortuosidade provocados pela fase dispersa, o que limita a difusão de oxigênio, bem como a de gases pirolíticos, retardando a degradação do polímero. No caso dos nanocompósitos PEC/PGT, a dimensionalidade 1D dos cristais de PGT é ineficiente no aumento da tortuosidade do caminho difusional dos gases envolvidos (CHIVRAC et al. 2010). Neste caso, a maior estabilidade térmica observada para o nanocompósito pode estar relacionada à presença de água de coordenação da PGT cuja eliminação via aquecimento reduz a temperatura da matriz de pectina. Isto pode ser inferido através da Figura 2, onde é observado que tais etapas de perda de massa se sobrepõem. Futuros estudos serão realizados para confirmar esta hipótese, bem como para avaliar a concentração de PGT capaz de aumentar significativamente a estabilidade térmica de filmes de pectina.

#### 4 CONCLUSÃO

A incorporação de paligorsquita nanofibrosa é capaz de estender a faixa de propriedades mecânica e térmica de filmes biodegradáveis de pectina. Isto foi atribuído à boa dispersão das fibrilas na matriz dos nanocompósitos e à afinidade química entre o polissacarídeo e o argilomineral.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq, CAPES, FINEP, Projeto MP1 Rede Agronano – Embrapa e FAPESP (Processo No. 2010/11584-5) pelo suporte financeiro e bolsas de estudo.

#### REFERÊNCIAS

- MAXWELL, E. G.; BELSHAW, N. J.; WALDRON, K. W.; MORRIS, V. J. Pectin - An emerging new bioactive food polysaccharide. *Trends in Food Science & Technology*, v. 24, p.64-73, 2012.
- GORRASI, G.; BUGATTI, V.; VITTORIA, V. Pectins filled with LDH-antimicrobial molecules: Preparation, characterization and physical properties. *Carbohydrate Polymers*, v. 80, p. 132-137, 2012.
- DARDER, M.; LÓPEZ-BLANCO, M.; ARANDA, P.; AZNAR, A. J.; BRAVO, J.; RUIZ-HITZKY, E. Microfibrillar Chitosan Sepiolite Nanocomposites. *Chemistry of Materials*, v.18,1602-1610, 2006.
- LI, W.; ADAMS, A.; WANG, J.; BLUMMICH, B.; YANG, Y. Polyethylene/palygorskite nanocomposites: Preparation by in situ polymerization and their characterization. *Polymer*, v. 51, p.4686-4697, 2010.
- CHEN, J.; CHEN, J.; ZHU, S.; CAO, Y.; LI, H. Mechanical Properties, Morphology, and Crystal Structure of Polypropylene/Chemically Modified Attapulgit Nanocomposites. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 121, 899–908, 2011.
- CHIVRAC, F.; POLLET, E.; SCHMUTZ, M.; AVÉROUS, L. Starch nano-biocomposites based on needle-like sepiolite clays. *Carbohydrate Polymers*, v. 80, p. 145–153, 2010.



# PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA DE FILMES DE FARINHA DE MANDIOCA E DE FARINHA DE TARO INCORPORADOS DE ZEÓLITA MODIFICADA

\*Andresa Viana Ramos<sup>1</sup>, Carlos Wanderlei Piler de Carvalho<sup>2</sup>, Verônica Maria de Araújo Calado<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Rio de Janeiro. <sup>2</sup>Embrapa Agroindústria de Alimentos.  
\*andresaramos@gmail.com

**Classificação:** Bionanocompósitos

## Resumo

A necessidade de substituição do uso de materiais plásticos oriundos de fontes não renováveis e resistentes à degradação faz com que seja crescente o interesse no desenvolvimento de alternativas viáveis, especialmente no desenvolvimento de filmes biodegradáveis para serem utilizados em produtos que são consumidos rapidamente, como é o caso de alimentos frescos. O emprego de farinhas amiláceas é uma alternativa ao uso do amido, uma vez que sua produção envolve menor grau de especialização e gera menos resíduo. A mandioca e o taro são vegetais ricos em amido muito consumidos na América do Sul, podendo ser empregados na produção de farinha. Deste modo este trabalho teve por objetivo obter filmes de farinha de taro e de farinha de mandioca e caracterizá-los quanto à sua permeabilidade ao vapor de água. A concentração de argila foi a única variável analisada com efeito sobre a permeabilidade ao vapor de água dos filmes de farinha de taro enquanto a temperatura de processo foi a única a influenciar a capacidade de barreira ao vapor de água dos filmes de farinha de mandioca. Os filmes de farinha de taro foram menos permeáveis ao vapor de água que os filmes de farinha de mandioca, o que pode ser atribuído tanto ao efeito da argila na formação de barreira às moléculas de água quanto à maior presença de proteínas na farinha de taro, que afetam positivamente a estrutura do filme.

**Palavras-chave:** Farinha de mandioca; Farinha de taro; Permeabilidade ao vapor de água

## WATER VAPOR PERMEABILITY OF CASSAVA FLOUR AND TARO FLOUR FILMS INCORPORATED WITH MODIFIED ZEOLITE

### Abstract

Necessity for replacement of the use of plastic materials deriving from non-renewable sources and resistant to degradation increases the interest in developing viable alternatives, especially about biodegradable films for use in products consumed rapidly, as fresh food. Starchy flours are an alternative to the use of starch, since its production involves less skill and generates less waste. Cassava and taro are starchy vegetables widely consumed in South America that could be employed in the production of flour. Therefore this study aimed to obtain taro flour and cassava flour films and to determine the water vapor permeability of films. Clay content was the only parameter to influence on water vapor permeability of taro flour films and process temperature was the only one to affect water vapor permeability of cassava flour films. Taro flour films were less permeable to water vapor than cassava flour films, which can be a result of the tortuous path formed by the nanoclay and the higher content of protein in taro flour, both positively affecting taro flour films structure.

**Keywords:** Cassava flour; Taro flour; Water vapor permeability.

## 1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de filmes biopoliméricos tem por objetivo substituir os tradicionais plásticos oriundos do petróleo, especialmente àqueles destinados a produtos consumidos rapidamente, como alimentos frescos. O uso de farinhas obtidas a partir dos mais diversos vegetais amiláceos tem se apresentado mais recentemente como uma alternativa interessante no desenvolvimento de biomateriais, uma vez que além do amido, elas costumam ser compostas por outros carboidratos, lipídeos e proteínas, que fazem com que o material resultante possua propriedades diferenciadas (Tapia-Blácido, 2006).

Entretanto, propriedades como barreira ao vapor de água e resistência mecânica são muitas vezes inferiores aos materiais obtidos de fontes não renováveis. A utilização de nanomateriais no desenvolvimento de nanobiocompósitos pode ser uma alternativa interessante por ser capaz de conferir ao ma-

terial formado maior resistência mecânica e menor permeabilidade ao vapor de água e a gases. A adição de nanoargilas vem sendo estudada nos últimos trinta anos com sucesso na melhoria das propriedades mecânicas e de barreira de materiais plásticos (Sinha Ray and Bousmina, 2005). A zeólita estilbita, por sua vez, é um argilomineral encontrada principalmente na região da Bacia do Parnaíba e os estudos de obtenção de concentrado zeolíticos provenientes dessa região têm mostrado resultados altamente promissores quanto ao seu uso nas mais diversas áreas (MONTE *et al*, 2009).

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

As farinhas de mandioca e de taro foram produzidas na Embrapa Agroindústria de Alimentos, de acordo com metodologia adotada por Nascimento *et al* (2012) a partir de vegetais obtidos no comércio local da cidade do Rio de Janeiro. O glicerol foi fornecido pela Vetec Química (Duque de Caxias, Brasil). A zeólita estilbita ( $d=91$  nm) quimicamente modificada a formas homoiônicas no Centro de Tecnologia Mineral (CETEM, Rio de Janeiro, Brasil) como descrito por MONTE *et al* (2009), gentilmente cedida pela Embrapa Solos e usada no desenvolvimento dos nanocompósitos.

Os filmes foram produzidos por *casting*. A argila foi dispersa em solução aquosa em dois passos: 30 min sob agitação magnética seguido por 30 min de banho ultrassônico (Unique, São Paulo, Brazil). Foi preparada uma solução aquosa contendo 4% (m/m) de farinha (de mandioca ou taro) e glicerol como plastificante. As soluções filmogênicas foram produzidas utilizando um viscoamílografo Brabender (Duisburg, Germany) sob agitação controlada (100 rpm), aquecida até a temperatura de processo na qual foi mantida por 10 min e resfriada a 50°C. Depois de resfriada, 60g da solução filmogênica foi disposta em placas de poliestireno de 140 mm de diâmetro e secas em estufa de circulação forçada de ar a 30°C por 36 h. Os filmes foram manualmente removidos das placas e armazenados a 52,9% de UR utilizando solução saturada de  $(Mg(NO_3)_2)$  a temperatura ambiente. As concentrações de glicerol ( $X_1$ ), argila ( $X_2$ ) e a temperatura de processo ( $X_3$ ) utilizadas na formulação dos filmes variaram de acordo com um planejamento fatorial  $2^3$  adicionados de 3 pontos centrais, conforme mostrado na Tabela 1.

A permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos filmes foi determinada segundo metodologia proposta por Vicentini (2003) utilizando células de policarbonato adaptadas (5,0 cm de diâmetro e 5,7 cm de altura) contendo água destilada a 100% de UR. A PVA calculada de acordo com a equação abaixo:

$$WVP = \left( \frac{g}{t \cdot A} \right) \times \left( \frac{x}{\Delta P} \right) \quad (1)$$

Sendo  $g / (t \cdot A)$  o fluxo de massa, A a área de permeação, g o ganho de massa e t o tempo total em horas. O termo  $g/t$  foi calculado como a regressão linear entre os pontos do ganho de massa e o tempo em estado estacionário; x é a espessura dos filmes e  $\Delta P$  a diferença de pressão entre a água pura e o ambiente contendo sílica gel.

**Tabela 1.** Planejamento experimental usado no preparo dos filmes e resultado da Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

FM/FT	Valores Originais			Valores Codificados			PVA	
	$X_1$	$X_2$	$X_3$	$X_1$	$X_2$	$X_3$	FM	FT
1	20	0	75	(-1)	(-1)	(-1)	2,7	2,2
2	50	0	75	(+1)	(-1)	(-1)	3,6	4,1
3	20	10	75	(-1)	(+1)	(-1)	3,6	2,1
4	50	10	75	(+1)	(+1)	(-1)	4,1	2,1
5	20	0	95	(-1)	(-1)	(+1)	4,7	3,8
6	50	0	95	(+1)	(-1)	(+1)	4,1	3,9
7	20	10	95	(-1)	(+1)	(+1)	4,4	2,3

$X_1$  = concentração de glicerol (% m/m de farinha),  $X_2$  = concentração de argila (% m/m de farinha) e  $X_3$  = temperatura de processo. PVA em  $g \cdot mm / m^2 \cdot h \cdot kPa^{-1}$

FM/FT	Valores Originais			Valores Codificados			PVA	
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	FM	FT
8	50	10	95	(+1)	(+1)	(+1)	4,4	2,4
9	35	5	85	0	0	0	4,3	4,4
10	35	5	85	0	0	0	3,0	4,3
11	35	5	85	0	0	0	3,6	3,9

X1 = concentração de glicerol (% m/m de farinha), X2 = concentração de argila (% m/m de farinha) e X3 = temperatura de processo. PVA em  $g \cdot mm/m^2 \cdot h \cdot KPa^{-1}$

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A PVA dos filmes de farinha de taro foi influenciada apenas pela concentração de argila, que foi estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ), tendo um efeito negativo sobre a permeabilidade dos filmes, sendo o aumento da concentração foi responsável pela diminuição da PVA dos filmes. A presença de nanoargilas na matriz polimérica tende a formar um ‘caminho tortuoso’ que dificulta a passagem do vapor de água pelo filme (Sinha Ray and Bousmina, 2005; Belibi *et al*, 2013). A curvatura foi estatisticamente significativa, o que indica que a dependência quadrática da PVA com relação aos parâmetros estudados pode ser avaliada em estudos posteriores. Souza et al (2012) desenvolveram filmes de amido de mandioca adicionados de montmorillonita sódica e observaram que aquelas produzidas com menores concentrações de glicerol e maiores concentrações de argila apresentaram menor PVA. Rodriguez-Marin et al (2013) também observaram uma diminuição da PVA de filmes de farinha de banana e de farinha de arroz pela adição de montmorillonita.

A PVA dos filmes de farinha de mandioca, por sua vez, foi afetada apenas pela temperatura de processo, que foi marginalmente significativa ( $0,05 < p < 0,1$ ). Temperaturas mais baixas podem não ser suficientes para gelatinizar por completo os grânulos de amido, fazendo com que existam grânulos não gelatinizados na matriz polimérica, criando uma estrutura tal que dificulte a passagem de vapor de água.

A concentração de argila não influenciou na PVA dos filmes de farinha de mandioca. Nascimento *et al* (2012) desenvolveram filmes de amido de mandioca e farinha de mesocarpo de maracujá incorporados de montmorillonita e observaram que a argila não influenciou na PVA de seus filmes. Os autores atribuíram esse efeito a incompatibilidade entre a matriz polimérica e a argila altamente hidrofóbica.

Para a maioria dos tratamentos avaliados, a PVA dos filmes de farinha de taro foi menor que dos filmes de farinha de mandioca, o que pode ser explicado pelo efeito da argila nos filmes de farinha de taro, que não foi observado nos filmes de farinha de mandioca. Além disso, o maior teor proteico da farinha de taro pode ter contribuído para a formação de uma matriz mais densa pela desnaturação proteica durante a formação dos filmes, que tende a aumentar a hidrofobicidade e diminuir a PVA, mesmo efeito observado por Rodriguez-Marin et al (2013) estudando filmes de farinha de banana e de farinha de arroz.

### 4 CONCLUSÃO

A permeabilidade ao vapor de água dos filmes de farinha de taro foi influenciada apenas pela concentração de argila e dos filmes de farinha de mandioca, pela temperatura de processo. Os filmes de farinha de taro apresentaram menor permeabilidade ao vapor de água que os filmes de farinha de mandioca, provavelmente pela maior presença de proteínas na farinha de taro e pela provável intercalação da argila na matriz polimérica dos filmes de farinha de taro. Análises microscópicas, de hidrofobicidade e de difração de raios x fazem-se necessárias a fim de confirmar a formação de nanocompósitos zeólita-farinha de taro e avaliar a hidrofobicidade dos materiais formados.

### AGRADECIMENTOS

À FAPERJ pela bolsa de mestrado Programa Bolsa nota 10 - 2013, Edital FAPERJ N.º 01/2013.

## REFERÊNCIAS

- Belibi, P. C. et al. Tensile and water barrier properties of cassava starch composite films reinforced by synthetic zeolite and beidellite. *Journal of Food Engineering*, v. 115, n. 3, p. 339-346, 2013.
- MONTE, M. B. M. M. et al. Nutrient release by a Brazilian sedimentary zeolite. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 2009. p.641-653.
- Nascimento, T. A.; Calado, V.; Carvalho, C. W. P. Development and characterization of flexible film based on starch and passion fruit mesocarp flour with nanoparticles. *Food Research International*, v. 49, n. 1, p. 588-595, Nov 2012.
- Rodriguez-Marin, M. L. et al. Nanocomposites of rice and banana flours blend with montmorillonite: Partial characterization. *Materials Science & Engineering C-Materials for Biological Applications*, v. 33, n. 7, p. 3903-3908, Oct 2013.
- Sinha Ray, S.; Bousmina, M. Biodegradable polymers and their layered silicate nanocomposites: In greening the 21st century materials world. *Progress in Materials Science*, v. 50, n. 8, p. 962-1079, 2005.
- Souza, A. C. et al. Cassava starch biodegradable films: Influence of glycerol and clay nanoparticles content on tensile and barrier properties and glass transition temperature. *LWT - Food Science and Technology*, v. 46, n. 1, p. 110-117, 2012.
- Tapia-Blácido, D. R. Filmes a base de derivados do amaranto para uso em alimentos. 2006. 351 Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- Vicentini, N. M. Elaboração e caracterização de filmes comestíveis à base de fécula de mandioca para uso em pós-colheita. 2003. 198 p. (botucatu). Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista

---

## COMPÓSITOS BIODEGRADÁVEIS DE POLI(ÁCIDO LÁTICO) E FIBRA DE CURAUÁ: TRATAMENTO E COMPATIBILIZAÇÃO DAS FIBRAS.

\*Alfredo R. Sena Neto<sup>1</sup>, Luiz H. C. Mattoso<sup>2</sup>, José M. Marconcini<sup>2</sup>

<sup>1</sup>PPGCEM, Universidade Federal de São Carlos. <sup>2</sup>EMBRAPA Instrumentação - CNPDIA.

\*alfredosena@yahoo.com.br

**Classificação:** Bionanocompósitos.

### Resumo

Este trabalho apresenta diferentes tratamentos e compatibilizações para fibras de curauá adicionadas ao poli(ácido lático) (PLA), com objetivo de se conseguir compósitos totalmente biodegradáveis com módulo elástico e resistência à tração superiores ao polímero puro. O tratamento das fibras das folhas de curauá com solução 1% (massa/volume) de NaOH proporcionou um aumento na resistência à tração e no módulo de elasticidade utilizando materiais menos agressivo ao ambiente e com uma geração minimizada de resíduos.

**Palavras-chave:** Fibras lignocelulósicas; Compósitos poliméricos; Propriedades mecânicas; Tratamento alcalino; Compatibilização.

### BIODEGRADABLE COMPOSITES OF POLY (LACTIC ACID) AND CURAUÁ FIBER: FIBER TREATMENT AND COMPATIBILIZATION.

#### Abstract

This study presents different treatments and compatibilizations to curauá fibers added into poly (lactic acid) (PLA), with the aim of achieving fully biodegradable composites with increments values of elas-

tic modulus and tensile strength. The treatment of the leaf fibers curauá with solution of 1% (weight / volume) NaOH provided an increase in tensile strength and elastic modulus using less environment aggressive materials and a minimized waste generation.

**Keywords:** Lignocellulosic fibers; Polymer composites; Mechanical properties; alkali treatment; compatibilization.

### Publicações relacionadas:

- Curaua leaf fiber (*Ananas comosus* var. *erectifolius*) reinforcing poly (lactic acid) biocomposites: Formulation and performance. Polymer Composites, 2014. DOI: 10.1002/pc.23059.

## 1 INTRODUÇÃO

Fibras lignocelulósicas apresentam altos módulos elásticos e resistências à tração. E apesar de vários polímeros não possui afinidade com fibras vegetais, existem diversos estudos com objetivo de utilizá-las em compósitos poliméricos (Araújo et al 2014; Campos et al, 2012; Huda et al, 2008; Kim et al, 2011; Plackett 2004). Com intuito de reforçamento efetivo em compósitos, tratamentos superficiais e/ou compatibilização dos componentes se faz necessário para aumentar a interação. Podendo ser obtido através de limpeza e modificações superficiais da fibra como tratamento alcalino, aplicação de silanos (Huda et al, 2008), ou resinas que façam a função de adesivos entre a fibra e o polímero com maior fração, como o poli(álcool vinílico) (PVA) (Kim et al, 2011) ou poli(caprolactona) (PCL) (Campos et al, 2012), e polímeros enxertados com substâncias bifuncionais como o anidrido maléico (Plackett 2004).

Este trabalho teve como objetivo realizar diferentes tratamentos da fibra de curauá e compatibilizações com PLA, e sob caracterização mecânica avaliou a eficiência do reforço no compósito com fibra de curauá e PLA.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizadas fibras de curauá, fornecidas pela Pematec. O PLA Ingeo3251D foi utilizado como matriz. O PCL foi o CAPA 6500. Clorofórmio, anidrido maléico, peróxido de benzoíla, hidróxido de sódio e PVA (Mw 31000 a 50000g/mol), foram utilizados com pureza PA. O peróxido de hidrogênio estava em solução, sendo a quantidade corrigida em acordo com a metodologia.

Antes da utilização, as fibras e o PLA foram secos em estufa Marconi MA 035 com circulação de ar a 40°C por 24 horas. Para preparação dos compósitos, as fibras foram moídas em moinho de facas Solab, com peneira de malha 18 mesh.

Foram realizados testes com tratamentos alcalinos, sob agitação e temperatura de 70°C, durante 1 hora, utilizando 25 ml de cada solução, conforme a Tabela 1. Depois, foram lavadas em água até neutralização e secas a 40°C por 24 horas. Finalmente, foram moídas com peneira de malha 30 mesh para análises FTIR e DRX.

**Tabela 1.** Formulações do tratamento alcalino e Ic.

Código	Concentração NaOH (%m/v)	Ic (%)
Bruta	0	67%
1%	1	77%
2%	2	79%
5%	5	87%
10%	10	89%

Uma difração de raios X foi realizada para caracterizar o índice de cristalinidade de celulose (Ic). Foi utilizado difratômetro Shimadzu, modelo XRD 600 com radiação Cu-K $\alpha$  (comprimento de onda: 1,54x10<sup>-10</sup>m). As condições de medidas foram: 30KV, 30mA com taxa de varredura de 2°/min., variando de 5 a 40°. O índice de cristalinidade de celulose (Ic) foi calculado pela subtração da área amorfa da área total das curvas ((1-Aa)/At)\*100%.

Espectroscopia de FTIR foi realizada em um Spectrum 1000 (Perkin Elmer), na faixa de 400–

4000 cm<sup>-1</sup>.

Conforme citado por Plackett (2004), cada molécula de anidrido maléico irá se ligar a uma unidade do PLA (mero), portanto tem-se a relação mássica de 98,06 de anidrido maléico para cada 72,065 de PLA. O peróxido entra com iniciador e catalisador da reação, sendo adicionado 5% em massa seca de peróxido (peróxido de benzoíla ou peróxido de hidrogênio), em relação à massa da mistura PLA/anidrido maléico. O PLA foi criomiconizado; o anidrido maléico e peróxido de benzoíla foram peneirados em malha de 355µm, para se evitar aglomerados. Mistura-se o PLA e anidrido maléico, adiciona-se clorofórmio, até obter uma solução de 30% massa/volume, por fim o peróxido. Todo o processo sob agitação até o material formar um gel espesso (aproximadamente 10 minutos), levado para secar em estufa à 40°C por 24 horas.

**Tabela 2.** Nomenclaturas dos compósitos.

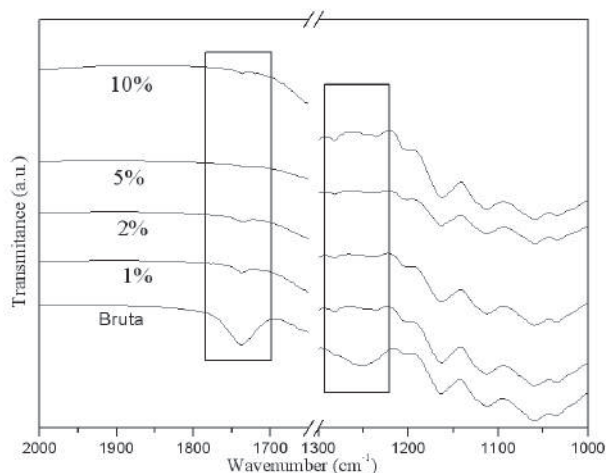
<b>Materiais Processados</b>	<b>Nomenclatura Compósitos</b>
PLA sem adição de fibra, compatibilizante ou outro polímero	PLA Puro
PLA com 15% de fibra em massa	PLA 15%Fibra NC
80%PLA+5%PVA+15%fibra de curauá	PLA PVA 15%Fibra
85% de PLA/PCL (80%PLA+20%PCL)+15% de fibra de curauá	PLA PCL 15%Fibra
80%PLA+15%fibra de curauá+ 5%PLA-g-MA catalisado com H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	PLA 15% Fibra 5% MaH
80%PLA+15%fibra de curauá+5%PLA-g-MA catalisado com peróxido de benzoíla	PLA 15% Fibra 5% MaB
PLA com 15% de fibra em massa, previamente tratada com NaOH (solução 1% <i>m/v</i> )	PLA 15% Fibra NaOH

Os compósitos foram processados com fração de 15% em massa de fibras de curauá (Tabela 2), em um misturador interno HAAKE Rheomix 600 conectado a um reômetro de torque, 50 rpm, temperatura de 185 °C e tempo de mistura de 4 minutos.

As formulações foram prensadas à 185°C, com cargas de 3 e 6 toneladas, com intervalos de aplicação e relaxação de 15 segundos cada. Desses filmes prensados, foram retiradas amostras com larguras médias de 10 mm, e comprimentos superiores a 100 mm. As amostras foram tracionadas em uma máquina de ensaios mecânicos universal Emic, modelo DL 3000, a taxa de 5mm/min. do travessão.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tratamento alcalino é realizado com intuito de limpar a superfície das fibras, retirar hemicelulose e lignina, como desprender as unidades celulares entre si, aumentando a área superficial, para maior interação das fibras com a matriz polimérica. Ao se retirar a lignina e hemicelulose, como outros materiais amorfos presentes, espera-se um aumento do Ic, mas ataques muito severos podem levar a obtenção de celulose do tipo II, que apresentam valores mecânicos inferiores; como pode conduzir para uma redução do Ic (Correa, 2010; Huda et al, 2008). O tratamento alcalino aumentou o Ic conforme aumentou a concentração de NaOH (Tabela 1). Para constatar qualitativamente a presença de lignina e hemicelulose, as fibras sob os diversos tratamentos alcalinos foram avaliadas por espectroscopia FTIR. Os espectros FTIR das fibras tratadas com NaOH são apresentados na Figura 1. Os picos presentes na fibra “Bruta” na faixa de 1724 e 1229 cm<sup>-1</sup>são atribuídos a hemicelulose e a lignina, respectivamente. Observa-se que o tratamento alcalino “1%” já foi suficiente reduzir os picos da lignina e hemicelulose, não observado uma maior variação para os outros tratamentos com maiores concentrações de NaOH. Ao final do ensaio foi medido o pH de todas as soluções: a solução “1%” apresentava pH 13, as demais já estavam na faixa de pH 14; gerando resíduo, consumindo tempo e água para neutralizar as fibras das soluções. Considerou-se o tratamento com solução “1%” de NaOH satisfatório para retirar constituintes indesejados às fibras. Foi tratada massa suficiente de fibras de curauá em “1%” de NaOH e produzidos compósitos (Tabela 2).



**Figura 1.** Espectros FTIR das fibras tratadas com diferentes tratamentos alcalinos (NaOH).

Os resultados dos ensaios mecânicos são apresentados na Tabela 3. Os compósitos reforçados com fibras tratadas com NaOH apresentaram os maiores resultados de resistência à tração e módulo elástico, sendo o único que apresentou incrementos na resistência à tração em relação à matriz pura. Conforme trabalho prévio com compósitos de PLA e frações de 5 a 40% com fibras de curauá sem tratamento ou compatibilização (Araújo et al 2014), a fração com 15% em massa de fibras apresentou a maior resistência à tração dos compósitos, mas seu valor foi 4% inferior em relação a matriz de PLA pura. O tratamento alcalino preparou a fibra para atuar como reforço mecânico efetivamente. Os compósitos com adição de PLA-g-MA apresentaram valores superiores de módulo elástico, em relação ao PLA puro, sendo o catalisado com peróxido de hidrogênio o maior valor (2,24GPa). Os demais compósitos apresentaram valores inferiores de resistência à tração e módulo elástico.

**Tabela 3.** Propriedades mecânicas dos compósitos.

Compósitos Processados	Módulo Elástico (GPa)	Resistência à Tração (MPa)
PLA Puro	1,89	34,62
PLA 15%Fibra NC	1,66	28,60
PLA PVA 15%Fibra	1,70	27,58
PLA PCL 15%Fibra	1,64	25,60
PLA 15%Fibra 5% MaH	2,24	31,14
PLA 15%Fibra 5% MaB	2,16	15,76
PLA 15%Fibra NaOH	2,74	37,49

#### 4 CONCLUSÃO

Pela análise do DRX e FTIR, o tratamento alcalino com 1% de NaOH em solução (m/v), foi satisfatório para preparar as fibras para utilização como reforço mecânico. Dentre os compósitos processados de PLA com fibras de curauá, o compósito com adição de fibras previamente tratadas com solução com 1% de NaOH apresentou incrementos de resistência à tração e módulo elástico. Confirmando a utilização de tratamento alcalino em fibra de folhas de curauá para emprego efetivo como reforço mecânico em compósitos poliméricos com PLA.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq (CNPq/PIBIC processo 152866/2010-8), FINEP, Capes e Projeto MP1 Rede Agronano.

## REFERÊNCIAS

- ARAUJO, M. A. M. D. et al. Curaua leaf fiber (*Ananas comosus var. erectifolius*) reinforcing poly (lactic acid) biocomposites: Formulation and performance. *Polymer Composites*, 2014. (Publicação somente online ao momento) DOI: 10.1002/pc.23059.
- CAMPOS, A.; MARCONCINI, J.M.; IMAM, S.H.; KLAMCZYNSKI, A.; ORTIS, W.J.; WOOD, D.H.; WILLIAMS, T.G.; MARTINS-FRANCHETTI, S.M.; MATTOSO, LHC. Morphological, mechanical properties and biodegradability of biocomposite thermoplastic starch and polycaprolactone reinforced with sisal fibers. *Journal of Reinforced Plastics and Composites*, v. 31, 2012, p. 573-581.
- CORREA, A. C. Preparação de nanofibras de celulose a partir de fibras de curauá para o desenvolvimento de nanocompósitos poliméricos com EVA. Tese, UFSCar, São Carlos. 2010.
- HUDA, M.S.; DRZAL, L.T.; MOHANTY, A.K.; MISRA, M. Effect of chemical modifications of the pineapple leaf fiber surfaces on the interfacial and mechanical properties of laminated biocomposites. *Composite Interfaces*, v. 15, 2008, p. 169-191.
- KIM, H.J.; MIYAMOTO, S.; TAKADA, Y.; TAKEMURA, K. Effect of surface modification on flexural properties of jute fiber green composites. In: 18TH INTERNATIONAL CONFERENCE ON COMPOSITE MATERIALS - Jeju Korea, 2011 Disponível em: <http://www.iccm-central.org/Proceedings/ICCM18proceedings/data/2.%20Oral%20Presentation/Aug24%28Wednesday%29/W05%20Research%20and%20Development%20of%20Green%20Composites/W5-2-AF0848.pdf>
- PLACKETT, D. Maleated Polylactide as an Interfacial Compatibilizer in Biocomposites. *Journal of Polymers and the Environment*, v. 12, n. 3, 2004, p. 131-138

---

## ESTUDO DE FIBRAS DE FOLHAS DE ABACAXIS VISANDO PRODUÇÃO DE COMPÓSITOS POLIMÉRICOS

\*Alfredo R. Sena Neto<sup>1</sup>, Marco A.M. Araujo<sup>1</sup>, Fernanda V. D. Souza<sup>2</sup>, Luiz H. C. Mattoso<sup>3</sup>, José M. Marconcini<sup>3</sup>

<sup>1</sup>PPGCEM, Universidade Federal de São Carlos. <sup>2</sup>EMBRAPA Mandioca e Fruticultura - CNPMF.

<sup>3</sup>EMBRAPA Instrumentação Agropecuária - CNPDIA.

\*alfredosena@yahoo.com.br

**Classificação:** Bionanocompósitos.

### Resumo

Foram estudadas 18 fibras de folhas de abacaxi (PALF) provenientes dos acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Abacaxi (BAG) da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, demonstrando que o índice de cristalinidade da celulose presente nas fibras apresenta relação direta com propriedades mecânicas e térmicas. Este estudo fornecerá indicadores para seleção e programa de melhoramento genético do gênero *Ananas*, com intuito de se desenvolver plantas para utilização de suas fibras como reforço mecânico em compósitos poliméricos.

**Palavras-chave:** Fibras lignocelulósicas; Abacaxi; Compósitos poliméricos; Propriedades mecânicas; propriedades térmicas.

### STUDY ON PINEAPPLE LEAF FIBERS FOR POLYMER COMPOSITES PRODUCTION

#### Abstract

18 varieties of pineapples leaf fibers (PALF) from the Active Germplasm Bank of Pineapples of Embrapa Cassava and Tropical Fruits were studied, showing that the crystallinity index of the cellulose present in the fibers is directly related with mechanical and thermal properties. This study will provide indicators for choosing and selective breeding of a genus *Ananas* program, which aims to develop the use of its fibers as mechanical reinforcement in polymer composites.



**Keywords:** Lignocellulosic fibers; Pineapple leaf fibers; Polymer composites; Mechanical properties; Thermal properties.

**Publicações relacionadas:**

- Characterization and comparative evaluation of thermal, structural, chemical, mechanical and morphological properties of six pineapple leaf fiber varieties for use in composites. *Industrial Crops and Products*, v. 43, p. 529-537, 2013. DOI: 10.1016/j.indcrop.2012.08.001.

## 1 INTRODUÇÃO

As fibras lignocelulósicas possuem um apelo ambiental, pois além de serem biodegradáveis, as fibras sintéticas (fibra de vidro, fibra de carbono, aramida, boro, etc.) utilizadas como reforços em compósitos, apresentam maiores consumos de energia elétrica na sua fabricação (Joshi et al. 2004; Sao et al., 2004). Acrescentando e em acordo com estudos realizados, algumas fibras vegetais, como as de abacaxi, apresentam propriedades similares ou superiores em relação a fibras de vidro e aramida, como módulo elástico e estabilidade dimensional (Leão et al. 2000; Martins et al. 2004). Estas propriedades superiores justificam o fato das fibras de abacaxi comercial (*Ananas comosus var. comosus*) possuírem muitos estudos quanto à sua utilização como reforço mecânico em compósitos poliméricos (Mukherjee e Satyanarayana, 1986; Leão et al., 2009), e o curauá (*Ananas comosus var. erectifolius*) possuir a sua utilização como reforço mecânico já consolidada (Leão et al. 2009).

Na unidade Embrapa Mandioca e Fruticultura em Cruz das Almas - BA é mantido um banco de germoplasma com cerca de 670 variedades do gênero *Ananas* e outras Bromeliáceas. Trabalhos anteriores (Mukherjee e Satyanarayana, 1986; Sena et al. 2013), apresentam a existência de uma relação direta entre as propriedades mecânicas e o índice de cristalinidade da celulose presente nas fibras, como concluíram existir variações entre as propriedades mecânicas e térmicas entre variedades de abacaxis (Sena et al, 2013).

Neste trabalho, 18 variedades foram submetidas a ensaios de tração e termogravimétrico, onde foi concluído existir variações entre as propriedades mecânicas e térmicas para cada variedade de cultivar, e a existência de relações entre ambas as propriedades térmicas e mecânicas com o índice de cristalinidade da celulose presente nas fibras.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Variedades estudadas

Fforam caracterizadas fibras de folhas de abacaxis (gênero *Ananas*), provenientes de 18 variedades do Banco de Germoplasma (BAG) da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Cruz das Almas – BA.

### 2.2 Espectroscopia por FTIR

Amostras de fibras moídas, foram comprimidas com KBr em pequenos discos e analisadas em espectrofotômetro Spectrum 1000 (Perkin Elmer). Foram realizadas 32 varreduras por amostra, com uma resolução de 2 cm<sup>-1</sup> na faixa de 400–4000 cm<sup>-1</sup>.

### 2.3 Termogravimetria (TG)

A análise termogravimétrica foi conduzida em equipamento TGA Q500 (TA Instruments), com faixa de temperatura variando de 30° a 600°C, sob atmosfera de ar sintético, com taxa de aquecimento de 10°C<sub>min</sub>.<sup>-1</sup>.

### 2.4 Difração de raios X

Difratogramas de raios X das fibras foram obtidos com auxílio de difratômetro Shimadzu, modelo XRD 600 com radiação Cu-K $\alpha$  (comprimento de onda: 1,54x10<sup>-10</sup>m). As condições de medidas foram: 30KV, 30mA com taxa de varredura de 2°<sub>min</sub>.<sup>-1</sup>, variando de 5 a 40°. Os difratogramas obtidos

foram deconvoluídos e o índice de cristalinidade de celulose (Ic) foi calculado pela subtração da área amorfa da área total das curvas  $((1-Aa)/At)*100\%$ . Aa é o valor da área sobre a curva correspondente a porção amorfa e At é a soma total das áreas dos picos, inclusive da porção amorfa.

## 2.5 Ensaios de tração

As fibras foram testadas conforme adaptação da ASTM D3379-75 em ensaios mecânicos sob tração, para a avaliação das propriedades: resistência à tração e módulo elástico, permitindo avaliar o desempenho mecânico das PALF e a possibilidade de utilização como reforços mecânicos em compósitos poliméricos. Trinta amostras foram ensaiadas usando uma máquina de ensaios mecânicos universal Emic, modelo DL 3000, a utilizando uma velocidade do travessão de  $5\text{mm}\cdot\text{min}^{-1}$ .

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os espectros FTIR das fibras apresentam formatos similares entre si, e são similares ao do curauá (Correa, 2010). Os picos localizados a  $1730$  e  $1625\text{ cm}^{-1}$  correspondem aos grupos acetil das ligações C-O, característicos da hemicelulose. Um pico de lignina está localizado na banda  $1595\text{ cm}^{-1}$ , devido vibrações no plano das ligações C=C aromáticas. A celulose é caracterizada pelas bandas  $1170\text{--}1150\text{ cm}^{-1}$ ,  $1050$  e  $1030\text{ cm}^{-1}$  (Correa, 2010).

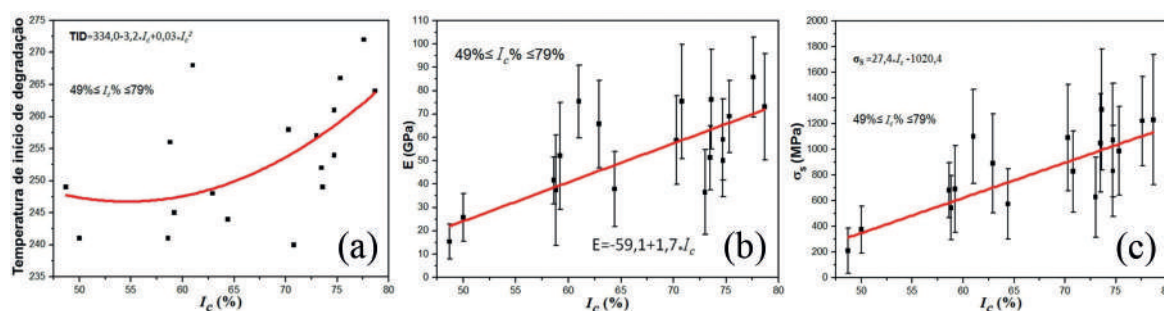
A temperatura de início de degradação (TID) variou de  $240$  a  $272^\circ\text{C}$  (Tabela 1) para as fibras estudadas, capacitando-as para serem utilizadas como reforços em compósitos com alguns polímeros comuns como polietileno e polipropileno (Canevarolo Jr., 2006), e com diversos polímeros biodegradáveis como PCL, PLA, PHB e amidos termoplásticos (Engelber e Kohn, 1991). Cinco variedades obtiveram valores superiores a  $260^\circ\text{C}$  (4, 5, 6, 7 e 11), com a fibra da variedade 6 atingindo  $272^\circ\text{C}$ , valor similar ao do curauá:  $273^\circ\text{C}$  (Correa 2010).

Os valores do Ic variaram de  $48,7$  a  $78,7\%$  (Tabela 1). Conforme Correa (2010) o curauá apresenta valor de  $64\%$ .

**Tabela 1.** Valores da temperatura de início de degradação (TID), índices de cristalinidade de celulose, módulo elástico e resistência à tração das fibras para cada variedade

Amostra	Identificação	Temperatura Onset ( $^\circ\text{C}$ )	Ic (%)	Módulo Elástico (GPa)	Resistência à Tração (MPa)
129	<i>Bromelia SP</i>	241	58,6	41,6	683
751	<i>Ananas comosus var. Comosus</i>	241	50	25,7	376
755	<i>Bilbergis sp.</i>	249	48,7	15,4	212
776	<i>Ananas comosus var. bracteatus</i>	244	64,4	37,9	574
804	<i>Ananas comosus var. erectifolius</i>	256	58,8	37,4	544
Hib	<i>Ananas macrodentes x Primavera</i>	245	59,2	52,1	691
1	<i>Neoglasiovia</i>	257	73	36,5	629
2	<i>Erect x Bract PL 02</i>	252	73,5	51,3	1049
3	<i>Erect x Bract PL 01</i>	258	70,3	58,8	1092
4	739 x 17- PL03	261	74,7	59,1	1071
5	750 x 128 - PL01	264	78,7	73	1231
6	126 x 804 - PL08	272	77,6	85,8	1221
7	526 x 804 - PL01	268	61	75,4	1100
8	526 x 804 PL05	249	73,6	76,3	1309
9	750 x 128 - PL02	248	62,9	65,7	891

Amostra	Identificação	Temperatura Onset (°C)	I <sub>c</sub> (%)	Módulo Elástico (GPa)	Resistência à Tração (MPa)
10	Prima X Macrod (716)	254	74,7	50	832
11	PL65	266	75,3	69	988
12	BGA 110 (bract)	240	70,8	75,4	828



**Figura 1.** Propriedades das fibras em função índice de cristalinidade da celulose: (a) Temperatura de início de degradação (TID); (b) Módulo elástico; (c) Resistência à tração.

Ao se traçar os valores da temperatura de início de degradação versus  $I_c$  é observado uma tendência direta (Fig. 1a).

Os valores médios dos módulos elásticos variaram de 15,4 a 85,8 GPa, e a resistência à tração variou de 212 a 1309 MPa (Tabela 1). Todas as fibras avaliadas estão habilitadas para serem utilizadas como reforço mecânico em compósitos com matrizes poliméricas (Agarwal et al., 2006).

Ao traçar gráficos de resistência à tração e módulo elástico versus os índices de cristalinidades de celulose das fibras das 18 variedades, observa-se tendência de aumento das propriedades com o aumento do  $I_c$  (Fig. 1b e 1c), confirmando estudos anteriores (Sena et al. 2013).

As propriedades mecânicas e térmicas variaram diretamente com o índice de cristalinidade da celulose ( $I_c$ ) presente nas fibras, indicando que o  $I_c$  servirá como indicador para seleção e programa de melhoramento genético de variedades do gênero *Ananas*, no intuito do desenvolvimento e seleção de plantas para utilização de suas fibras como reforço mecânico em compósitos poliméricos.

#### 4 CONCLUSÃO

Os valores do índice de cristalinidade da celulose presente nas fibras ( $I_c$ ) variaram diretamente com as propriedades mecânicas e térmicas, servindo de indicador para seleção de variedades de abacaxis.

Os valores dos módulos elásticos variaram de 15,4 a 85,8 GPa, a resistência à tração variou de 212 a 1309 MPa, e a temperatura de início de degradação medida por termogravimetria variou de 240 a 272°C, habilitando todas as fibras para utilização como reforço mecânico em compósitos poliméricos.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq (CNPq/PIBIC processo 152866/2010-8), Finep, Capes e Projeto MP1 Rede Agronano.

#### REFERÊNCIAS

AGARWAL, B. D.; BROUTMAN, L. J.; CHANDRASHEKHARA, K. Analysis and performance of fiber composites. John Wiley & Sons, 2006.

CANEVAROLO Jr, S. V. (2006). Ciência dos polímeros: um texto básico para tecnólogos e engenheiros. Artliber.

CORREA, A. C. Preparação de nanofibras de celulose a partir de fibras de curauá para o desenvolvimento de nanocompósitos poliméricos com EVA. Tese, UFSCar, São Carlos. 2010.

ENGELBERG, I.; KOHN, J. Physico-mechanical properties of degradable polymers used in medical applications: a comparative study. *Biomaterials*, v. 12, n. 3, p. 292-304, 1991. ISSN 0142-9612

Joshi, S.V.; Drzal, L.T.; Mohanty, A.K.; Arora, S. 2004. Are natural fiber composites environmentally superior to glass fiber reinforced composites? *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, 35, pp. 371-376. DOI: 10.1016/j.compositesa.2003.09.016.

Leão, A.L.; Caraschi, J.C.; Tan, I.H. 2000. Curaua fiber- A tropical natural fiber from Amazon - potential and applications in composites. In: Frollini, E.; Leão, A.L.; Mattoso, L.H.C. (Eds.) *Natural polymers and agrofibers composites*, Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos. ISBN: 85-86463-06-X

LEÃO, A.L.; MACHADO, I.S.; DE SOUZA, S.F.; SORIANO, L. Production of curauá (*Ananas erectifolius* L.B. Smith) fibers for industrial applications: characterization and micropropagation. In: *Acta Horticulturae* 822, 2009, p.227-238. Disponível :[http://www.actahort.org/books/822/822\\_28.htm](http://www.actahort.org/books/822/822_28.htm).

Martins, M.A.; Kiyohara, P.K.; Joékes, I. 2004. Scanning electron microscopy study of raw and chemically modified sisal fibers. *Journal of Applied Polymer Science*, 94, 2333-2340. DOI: 10.1002/app.21203.

MUKHERJEE, P.S.; SATYANARAYANA, K.G. Structure and properties of some vegetable fibers, Part 2: Pineapple fibre. *Journal of Materials Science*, v. 21, p. 51-56, 1986.

Sao, K.P.; Samantaray, B.K.; Bhattacharjee, S. 1994. X-ray study of crystallinity and disorder in ramie fiber. *Journal of Applied Polymer and Science* 52, 1687-1694. DOI: 10.1002/app.1994.070521203.

SENA NETO, A.R.; ARAUJO, M.A.M.; SOUZA, F.V.D.; MATTOSO, L.H.C.; MARCONCINI, J.M. Characterization and comparative evaluation of thermal, structural, chemical, mechanical and morphological properties of six pineapple leaf fiber varieties for use in composites. *Industrial Crops and Products*, v. 43, p. 529-537, 2013.

---

## ESTUDO MORFOLÓGICO DO NANOCOMPÓSITO POLIETILENO DE BAIXA DENSIDADE/NANOFIBRAS DE ALGODÃO (PEBD/NC)

\*Kelcilene B. R. Teodoro<sup>1,2</sup>, Ana Carolina Corrêa<sup>1</sup>, Eliangela de M. Teixeira<sup>3</sup>, José Manoel Marconcini<sup>1</sup>, Luiz Henrique Capparelli Mattoso<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório Nacional de Nanotecnologia ao Agronegócio, Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP.

<sup>2</sup>Programa de Pós Graduação em Química - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP.

<sup>3</sup>Universidade Federal do Mato Grosso – UFMT, Barra do Garças, MT.

\*kbr.teodoro@gmail.com

**Classificação:** Bionanocompósitos.

### Resumo

Este trabalho buscou a obtenção de nanofibras de celulose (NC) a partir de fibras de algodão e sua incorporação em matriz de polietileno de baixa densidade (PEBD). As nanofibras de celulose foram obtidas a partir da hidrólise ácida das fibras de algodão (HCl) e as condições reacionais foram 45°C e 75 minutos. Para aplicação das nanofibras em PEBD foi utilizado anidrido maleico como agente compatibilizante. A análise morfológica de NC foi feita por microscopia eletrônica de transmissão (MET) e mostrou a obtenção de nanoestruturas agulhadas e poucos aglomerados. Os nanocompósitos foram formulados com 1% e 3% de NC, e produzidos sob a forma de filmes planos utilizando-se técnicas de extusão. A análise morfológica dos nanocompósitos foi realizada empregando-se a técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV). Os resultados deste estudo confirmaram a incorporação e interação destes à matriz

polimérica. A concentração com melhor dispersão e menor formação de aglomerados foi a de 1% (m/m) de NC em PEBD.

**Palavras-chave:** Nanocelulose; Nanofibras de celulose; Nanocompósitos; Polietileno de baixa densidade.

## MORPHOLOGICAL STUDY OF NANOCOMPOSITE LOW DENSITY POLYETHYLENE/COTTON NANOFIBERS (LDPE/NC)

### Abstract

This research proposed the obtainment of cellulose nanofibers from cotton fibers and their application in low density polyethylene matrix (LDPE). Cellulose nanofibers were obtained from acid hydrolysis of cotton fibers (HCl) and the reaction conditions were defined as 45°C and 75 minutes. To application of nanofibers in LDPE was used maleic anhydride as coupling agente. Morphological analysis of NC was performed by transmission electron microscopy (TEM) and it showed rod-like nanostructures and with few clusters. The nanocomposites were formulated with 1% and 3% NC, and produced like flat films using extrusion techniques. Morphological analysis of nanocomposites was carried out using the technique os scanning electron microscopy (SEM). The results of this study confirmed and the interaction of nanofibers in polymeric matrix. The concentration that showed good dispersion and smaller clusters was 1% (w/w) NC in LDPE.

**Keywords:** Nanocellulose; Cellulose nanofibers; Nanocomposites; Low Density Polyethylene.

## 1 INTRODUÇÃO

O crescente interesse por materiais de fonte renovável com propriedades diferenciadas tem possibilitado a inserção de produtos e resíduos da agricultura nas mais diversas áreas de pesquisa, reduzindo os custos do produto final, além de promover um destino racionalizado a estes resíduos, agregando-lhes valor. Neste sentido, estudos tem demonstrado a possibilidade de aplicação de estruturas celulósicas em matrizes poliméricas, conferindo-lhes reforço mecânico (SIQUEIRA et al., 2010). Pesquisas têm explorado a possibilidade de extração de nanoestruturas celulósicas a partir de fibras vegetais, como o algodão (TEIXEIRA et al., 2010). O algodão é uma fonte de fibras que apresenta elevado teor de celulose (> 97%) e baixo teor de componentes não celulósicos, o que o torna uma fonte atrativa para obtenção de nanofibras celulósicas com elevada pureza e alto índice de cristalinidade.

A produção de nanocompósitos poliméricos a partir de matrizes poliolefinicas (polietilenos e polipropilenos) e estruturas celulósicas é dificultada pela grande diferença de polaridade entre ambas as fases. Por esta razão, estudos recentes buscam estratégias de compatibilização, sendo o principal agente compatibilizante utilizado o anidrido maleico. Neste sentido, este estudo buscou a obtenção de nanofibras de celulose a partir de fibras de algodão, e sua aplicação em polietileno de baixa densidade (PEBD), utilizando-se anidrido maleico como agente compatibilizante. Este esforço de pesquisa se fez no intuito de fomentar o uso de matérias primas de fontes renováveis, provenientes da agroindústria brasileira, devido a sua abundância, acessibilidade, e por ser um insumo de alta produtividade no Brasil.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Preparo das nanofibras de algodão (NC)

A extração das nanofibras de celulose ocorreu via hidrólise ácida de fibras de algodão comercial (5,0 g), empregando-se 100 mL de ácido clorídrico (HCl 1 mol.L<sup>-1</sup>), sob temperatura constante de 45°C durante 75 minutos. Em seguida, adicionou-se 500 mL de água deionizada gelada para posterior centrifugação. A suspensão aquosa resultante foi dialisada até neutralidade e ultrassonificada durante 5 minutos, e liofilizadas. O material seco (5,0 g) foi misturado a 10,0 g de anidrido maleico, sob sonificação durante 3 minutos, sob temperatura constante de 60°C. A mistura reacional foi centrifugada com sucessivas lavagens com água destilada até pH = 7. As nanofibras (NC) foram liofilizadas para posterior incorporação em polietileno de baixa densidade (PEBD).

### 2.2 Preparo dos nanocompósitos (PEBD/NC)

As nanofibras de algodão foram utilizadas para o preparo dos nanocompósitos PEBD/1NC e PEBD/3NC, com formulações de 1% e 3% em massa de nanocarga, respectivamente. Os nanocompó-

sitos foram obtidos por processamento em extrusora dupla rosca co-rotante (COPERION LTDA, SP, Brasil), com seis zonas de aquecimento: 130, 140, 145, 145, 150 e 150°C e rotação de 300 rpm. Após a obtenção dos peletes, filmes dos nanocompósitos foram obtidos em extrusora monorosca (AX Plásticos, Brasil) com matriz para filmes planos, com rotação de 100 rpm e temperaturas de 140, 160 e 170°C. Todas as formulações foram processadas sob estas mesmas condições.

### 2.3 Análise morfológica por microscopia eletrônica de transmissão (MET)

Suspensões aquosas (0,05% m/m) de nanofibras de algodão foram preparadas após sob sonificação (3 minutos) e coradas com solução 1,5% de acetato de uranila. Uma gota desta suspensão foi colocada sobre suportes ultrafinos (“grides”) de cobre (400 mesh, Ted Pella - № 01822) e deixada secar em dessecador por 24 horas. As análises foram realizadas em equipamento Tecnai™ G2 F20 no modo STEM, em campo escuro. As dimensões das nanofibras foram medidas utilizando o software Image Pró-plus, e no mínimo 50 medidas foram obtidas para diâmetro e comprimento.

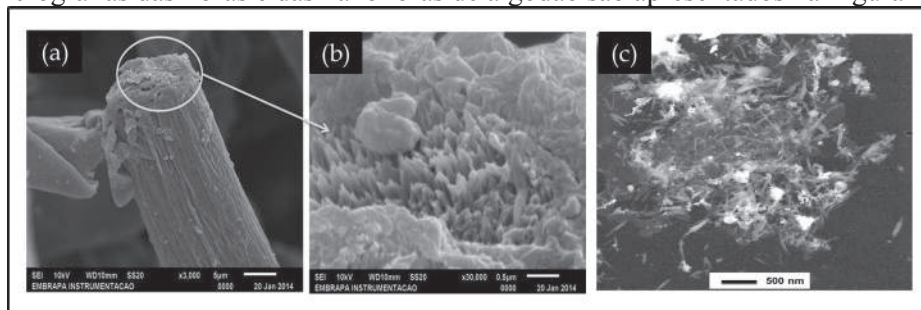
### 2.4 Análises morfológicas por microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A morfologia da fibra de algodão e da superfície de fratura criogênica dos nanocompósitos foi investigada utilizando-se um microscópio da marca JEOL (JSM-6510). Uma pequena quantidade de algodão moído foi misturada com água, sob agitação, e gotejada sobre fita de carbono dupla-face fixada ao porta-amostras, e seca em dessacador. Os filmes de PEBD foram fraturados após congelamento em nitrogênio líquido, e fixados no porta-amostras do equipamento (“stubs”) com auxílio de fita de carbono dupla-face. As amostras foram recobertas com uma fina camada de ouro (90s/40 mA).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Estudo morfológico das estruturas celulósicas e dos nanocompósitos

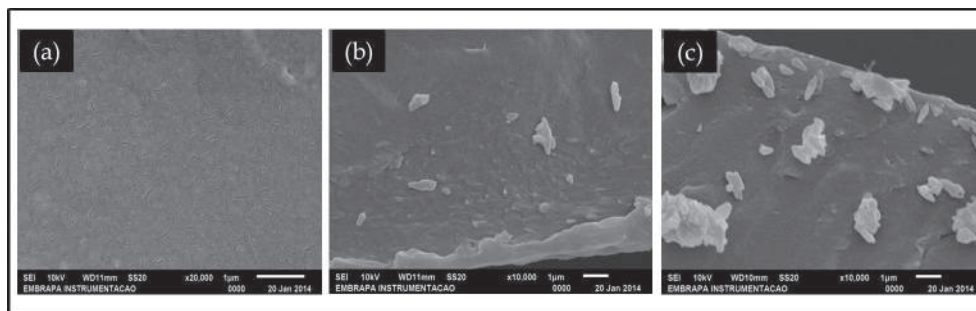
As micrografias das fibras e das nanofibras de algodão são apresentados na Figura 1.



**Figura 1.** Fibra de algodão (a). Em destaque (b) visualizam-se as microfibrilas unidas por uma matriz de lignina e hemiceluloses. Em (c) é possível observar as nanofibras celulósicas de algodão (NC).

Por meio das micrografias das fibras de algodão (Figura 1-a e 1-b) verifica-se a estrutura típica de uma fibra vegetal, composta por feixes de microfibrilas celulósicas longas e finas, com diâmetros de cerca de 60 nm. A micrografia da nanofibras de algodão (Figura 1-c) mostra a presença de estruturas com o formato acicular típico de *whiskers* (KLEMM et al. (2005)), com diâmetros médios de  $22 \pm 4$  nm e comprimentos médios de  $190 \pm 36$  nm, indicando que as condições reacionais empregadas foram capazes de remover constituintes não celulósicos e individualizar os nanocristais presentes nas fibras celulósicas. Mesmo após reação com anidrido maleico, nanofibras individualizadas puderam ser observadas, e pouco aglomerados foram encontrados.

A Figura 2 apresenta as micrografias obtidas por análise morfológica da superfície de fratura criogênica dos filmes. São apresentadas as micrografias obtidas para o PEBD puro (Figura 2-a) e para os nanocompósitos PEBD/1NC (Figura 2-b) e PEBD/3NC (Figura 2-c).



**Figura 2.** Micrografias da superfície de fratura criogênica do (a) PEBD puro, (b) PEBD/1NC e (c) PEBD/3NC

Observa-se, para o polímero puro, uma superfície lisa, na qual não encontram-se estruturas referentes às impurezas. Em contrapartida, nas superfícies de fratura criogênica dos nanocompósitos podem ser verificadas as nanofibras de algodão. Para a amostra PEBD/1NC, são encontradas estruturas com cerca de 1 µm, possivelmente recobertas pelo polímero. Para a amostra PEBD/3NC são observados pequenos aglomerados. Não foram observadas cavidades resultantes da remoção da nanocarga, indicando adesão entre os componentes.

#### 4 CONCLUSÃO

Os resultados apresentados pelos estudos morfológicos mostraram a possibilidade de obtenção de nanofibras de celulose a partir da hidrólise ácida de fibras de algodão. As nanofibras mantiveram-se individualizadas mesmo após reação com anidrido maleico. Estas nanofibras foram incorporadas ao PEBD, constituindo nanocompósitos PEBD/NC sob a forma de filmes planos a partir de extrusão. A análise morfológica dos nanocompósitos confirmou a presença de nanofibras celulósicas, sugerindo que o uso de anidrido maleico combinado à celulose possibilitou pouca aglomeração das nanofibras de algodão e interação entre as fases.

#### AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao PPGQ-UFSCar, à Embrapa Instrumentação, à Braskem, às instituições Fipai, Fapesp, CNPq, Capes.

#### REFERÊNCIAS

KLEMM, D.; HEUBLEIN, B.; FINK, H. P. & BOHN, A. "Cellulose: fascinating biopolymer and sustainable raw material". *Angewandte Chemie*, v. 44, n. 22, 3358 - 3393, 2005.

SIQUEIRA, G.; TAPIN-LINGUA, S.; PEREZ, D. da S. & DUFRESNE, AL. Morphological investigation of nanoparticles obtained from combined mechanical shearing, and enzymatic and acid hydrolysis of sisal fibers. *Cellulose*, v. 17, n. 6, 1147-1158, 2010.

TEIXEIRA, E. M.; OLIVEIRA, C. R.; CORRÊA, A. C.; PALADIN, P. & MATTOSO, L. H. C. Nanofibras de algodão obtidas sob diferentes condições de hidrólise ácida. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v. 20, n. 4, 264-268, 2010.

### ESTUDO DAS PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS DOS CLONES PC 119, PM 10, PB 291, E RRIM 600

Maycon Jhony Silva<sup>1,2</sup>, Rogério Manoel Biagi Moreno<sup>2</sup>, Erivaldo J. Scaloppi Jr.<sup>3</sup>, Paulo de Souza Gonçalves<sup>4</sup>, Luiz Henrique Capparelli Mattoso<sup>2</sup>, \*Maria Alice Martins<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP. <sup>2</sup> Embrapa Instrumentação (LNNA), São Carlos, SP. <sup>3</sup> Centro de Seringueira e Sistemas Agroflorestais – IAC, Votuporanga, SP. <sup>4</sup> Instituto Agrônomo (IAC)/Embrapa, Campinas, SP.

\*maria-alice.martins@embrapa.br

**Classificação:** Bionanocompósitos.

### Resumo

A borracha natural está presente em mais de 2500 espécies de plantas, sendo a seringueira *Hevea brasiliensis* a mais explorada comercialmente. As propriedades da borracha natural dos novos clones PM 10, PC 119 e PB 291 e do clone RRIM 600 (testemunha) foram avaliadas através: plasticidade Wallace ( $P_0$ ), viscosidade Mooney (VR), índice de retenção de plasticidade (PRI), teor de cinzas, teor de extrato acetônico e teor de nitrogênio por 24 meses. Os resultados mostraram variações de todas as propriedades entre os clones no decorrer do monitoramento.

**Palavras-chave:** Borracha Natural; Propriedades Tecnológicas; Novos Clones.

### STUDY OF TECHNOLOGICAL PROPERTIES OF THE CLONES PC 119, PM 10, PB 291, AND RRIM 600

#### Abstract

Natural rubber is present in more than 2500 species of plants, being rubber tree *Hevea brasiliensis* being the most commercially exploited. The properties of natural rubber from new clones PM 10, PC 119 and PB 291 and RRIM 600 clone (control) were assessed by: Wallace plasticity ( $P_0$ ), Mooney viscosity (RV), plasticity retention index (PRI), content of ash, content of acetone extract and nitrogen content for 24 months. The results showed all properties variations between clones in the course of monitoring.

**Keywords:** Natural Rubber; Technological properties; New Clones.

#### Publicações relacionadas

Avaliação da borracha Natural de Novos Clones de Seringueira. XV Congresso Brasileiro de Tecnologia da Borracha, 2014.

## 1 INTRODUÇÃO

A borracha natural (BN) está presente em mais de 2500 espécies de plantas, sendo a *Hevea brasiliensis* [*Hevea brasiliensis* (Willd. Adr. Ex Juss.)Muell.-Arg.], popularmente conhecida como seringueira a mais explorada comercialmente. Essa espécie é tradicionalmente cultivada em regiões equatoriais, com destaque para países como Tailândia, Indonésia e Malásia.

No Brasil, a história da produção da borracha natural mostra que fomos o principal produtor e exportador mundial até a metade do século passado, passando a importador desta matéria-prima a partir de 1951. Desta forma, a necessidade de novas variedades clonais de seringueira adaptadas a diferentes regiões nacionais constitui um ponto importante para o sucesso da heveicultura no país (GONÇALVES & MARQUES, 2008), visto que o país tem importado cerca de 60% do consumo (MORENO, 2002). Visando o aumento da qualidade da borracha e da produção nacional, a Embrapa Instrumentação em parceria com o Instituto Agrônomo (IAC) vêm desenvolvendo projetos para o melhoramento genético, obtenção e avaliação de novos cultivares de seringueira adaptados a diferentes regiões do país que apresentem alta produtividade e qualidade do látex, alto desempenho agrônomo e resistência a doenças (GONÇALVES & MARQUES, 2008). Diante deste contexto, este trabalho tem como objetivo mostrar os resultados obtidos da avaliação das propriedades tecnológicas durante os 24 meses monitoramento da plasticidade Wallace ( $P_0$ ), índice de retenção de plasticidade (PRI), teor de cinzas (%), extrato acetônico (%); 16 meses para o ensaio de viscosidade Mooney ( $V_R$ ) e 20 meses para o ensaio de teor de nitrogênio (%).

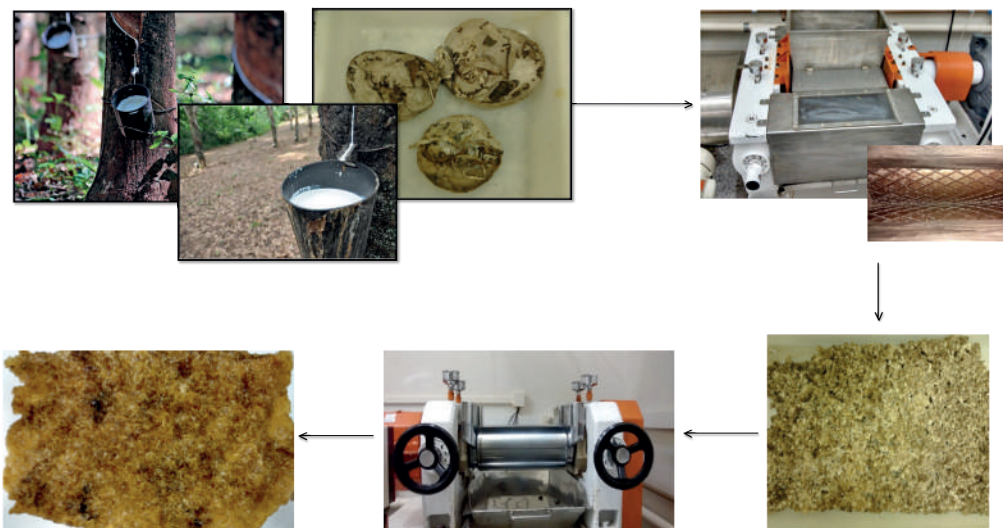
## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

As coletas foram realizadas no Centro de Seringueira e Sistemas Agroflorestais – IAC em Votuporanga/SP, nos meses de Junho de 2012 a Maio de 2014, 24 meses. No laboratório, os coágulos dos clones PM 10, PC 119, PB 291 e RRIM 600 obtidos por coagulação natural no campo foram lavados com intuito de remover o excesso de sujeiras. Em seguida, foram processados em uma calandra de cilindros raiados e levados à estufa para secagem a 60 °C por 24 horas. Após a completa secagem, os coágulos processados foram laminados em uma calandra de cilindros lisos para formação da manta, conforme segue a Figura 1.

Os resultados das propriedades tecnológicas da borracha natural dos novos clones foram analisados de acordo com a norma NBR ISO 2000 e classificados como TSR – coágulos de campo. Os ensaios



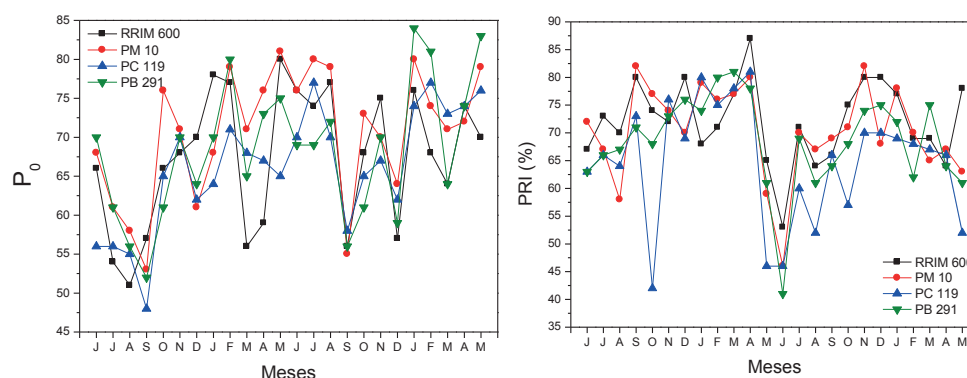
foram realizados de acordo com as normas da Associação Brasileira de Normas Técnica, como segue:  $P_0$  e PRI (%) (NBR ISO 2930); viscosidade Mooney (NBR ISSO 289-1); teor de cinzas (%) (adaptado da NBR ISO 247), teor de extrato acetônico (%) (NBR 11597) e teor de nitrogênio (NBR ISO 1656).



**Figura 1.** Esquema representando a sangria, os coágulos obtidos e seu processamento até a formação da manta.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

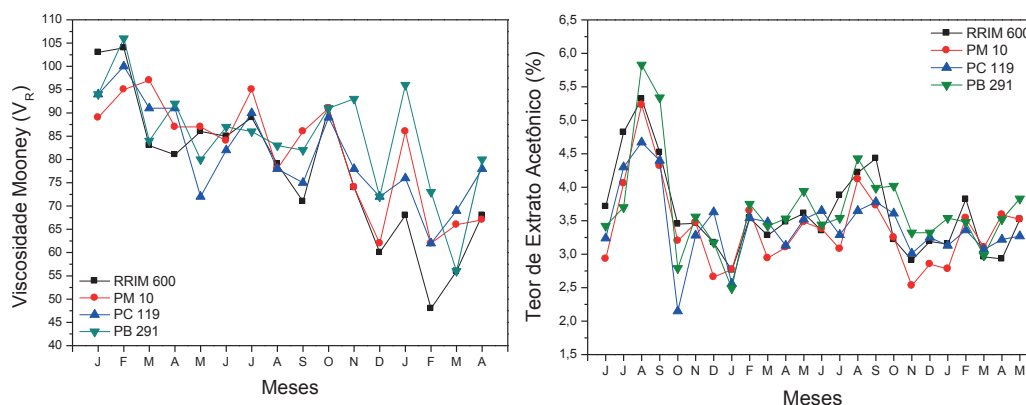
A plasticidade Wallace, Figura 2, está relacionada ao comprimento da cadeia de poliisopreno, e é considerada como uma medida do estado de degradação da borracha, dando uma visão da microestrutura do material, sendo que fatores como o processamento e condições de secagem podem influenciar no seu valor (MORENO, 2002). Como pode ser visto os valores variaram de acordo com o clone e os meses de coleta. Observou-se também que todos os clones não apresentaram um padrão definido de comportamento entre os meses, porém ficaram acima do valor estipulado pela norma (mínimo de 30), valores abaixo do estipulado são consideradas borrachas muito moles. Os valores de PRI fornecem uma estimativa da resistência à degradação termoxidativa da BN (MORENO et al., 2008). Para uma borracha ser considerada de boa qualidade, de acordo com a norma brasileira, deve apresentar PRI acima de 50%. Observa-se que os resultados médios obtidos, Figura 2, estão com os valores acima do estipulado pela norma, exceto para os clones PC 119 (mês de outubro/2012, maio e junho/2013), PM 10 (mês de junho/2013) e PB 291 (junho/2013). Os valores médios do período monitorado mostram que todos os clones ficaram com valores abaixo do clone RRIM 600 (testemunha).



**Figura 2.** Plasticidade Wallace ( $P_0$ ) e índice de retenção de plasticidade (PRI) para a borracha natural dos novos clones e do clone RRIM 600.

Dos resultados de  $V_R$  verifica-se pela Figura 3 que os clones tiveram um comportamento semelhante em função do tempo. Analisando os valores médios, observa-se que o clone PB 291 apresentou o maior valor médio no período avaliado, 85, e o clone RRIM 600 o menor, 78, com o maior coeficiente

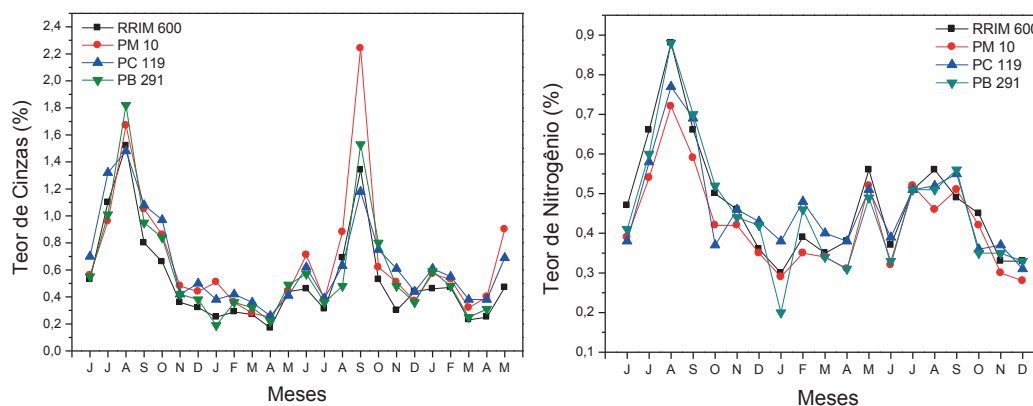
de variação. Os novos clones avaliados ficaram com valores superiores ao do clone de testemunha. Os ensaios para este parâmetro não foram realizados seguindo os meses de coleta dos coágulos, desta forma, os altos valores encontrados podem estar associados ao tempo de armazenagem do material. A BN tende com o tempo, a aumentar a quantidade de ligações cruzadas ocasionando um aumento adicional da  $V_R$ . A Figura 3 apresenta também o monitoramento do teor de extrato acetônico (%). O extrato acetônico consiste das substâncias não-borracha, das quais os lipídios são os principais componentes, aumentando para a sangria feita com estimulação e diminuindo com a idade da árvore (MORENO, 2002). Segundo a norma a porcentagem máxima para este parâmetro deve ser 3,5 %. Com base nos resultados, observou-se um aumento mais acentuado nos meses de junho a agosto e decréscimo de setembro a outubro de 2012 e depois se matem sem grandes alterações. Considerando os valores médios calculados, os clones RRIM 600 e o PB 291 ficaram acima do valor estipulado pela norma vigente.



**Figura 3.** Viscosidade Mooney e teor de extrato acetônico para a borracha natural dos novos clones e do clone RRIM 600.

O teor de cinzas (%) corresponde às substâncias inorgânicas não-decompostas na temperatura de 600 °C, na qual as substâncias de natureza orgânica são eliminadas, sendo que o excesso de cinzas, além de reduzir as propriedades dinâmicas do vulcanizado, tem grande possibilidade de provocar efeito depressivo nas propriedades de envelhecimento (MORENO, 2002). De acordo com os resultados obtidos, Figura 4, todos os clones apresentaram comportamento similar começando com aumento em junho e um decréscimo a partir do mês de agosto. Analisando os valores médios dos meses de monitoramento, observa-se que todos os clones apresentaram % cinzas dentro do valor estipulado pela norma (máximo de 0,75%).

O teor de nitrogênio (%), Figura 6, fornece uma estimativa da quantidade de proteínas presente na borracha (MORENO, 2002). Os resultados mensais mostram um comportamento similar de todos os clones no período de junho a agosto de 2012, onde ocorre um aumento do teor de nitrogênio. No mesmo período em 2013, não foi verificado este aumento. A norma estabelece 0,6 % como o valor máximo para o teor de nitrogênio de uma borracha de boa qualidade. Observou-se através dos valores médios que todos os clones estão dentro da norma e apresentarão valores abaixo do RRIM 600 (testemunha).



**Figura 4.** Teor de cinzas e de nitrogênio para a borracha natural dos novos clones e do clone RRIM 600.

## 4 CONCLUSÃO

A avaliação das propriedades tecnológicas da borracha natural dos novos clones PM 10, PC 119 e PB 291 mostrou que estes clones produzem borracha de boa qualidade com altos valores de Po e PRI. Houve variações entre clones e coletas para todas as propriedades tecnológicas avaliadas. Comparando os resultados dos novos clones com o RRIM 600 (testemunha), todos apresentaram bom desempenho. Os valores médios de todas as propriedades ficaram dentro das especificações da norma vigente, exceto para a propriedade teor de extrato acetônico (%) que os clones RRIM 600 e PB 291 ficaram acima do valor.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Projeto MP1 Rede Agronano – Embrapa, Fapesp, CNPq, Finep e Capes.

## REFERÊNCIAS

GONÇALVES, P. S.; MARQUES, J. R. B. Melhoramento genético da seringueira: passado, presente e futuro. In: ALVARENGA, A.P.; CARMO, C.A.F. Seringueira. Viçosa-MG: EPAMIG, 2008. p. 399-498.

MORENO, R. M. B, Avaliação e Monitoramento das Propriedades do Látex e da Borracha Natural de Clones de Seringueira Recomendados para Plantio no Planalto do Estado de São Paulo. 2002. 106 p. Tese de Doutorado em Ciências e Engenharia de Materiais, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos/SP, 2002.

---

## CARACTERIZAÇÃO DE NANOCOMPÓSITOS DE NANOFIBRAS DE CELULOSE E BORRACHA NATURAL

\*Suelen Zenatti<sup>1</sup>, Morsyleide de Freitas Rosa<sup>2</sup>, Rogério M. B. Moreno<sup>3</sup>, Erivaldo José Scaloppi Junior<sup>4</sup>, Paulo de Souza Gonçalves<sup>5</sup>, Luiz Henrique C. Mattoso<sup>6</sup>, Maria Alice Martins<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP. <sup>2</sup> Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE. <sup>3</sup> IAC/Embrapa Instrumentação São Carlos, SP. <sup>4</sup> Centro de Seringueira e Sistemas Agroflorestais – IAC, Votuporanga, SP. <sup>5</sup> Instituto Agronômico (IAC)/Embrapa, Campinas, SP. <sup>6</sup> Embrapa Instrumentação, LNNA, São Carlos, SP.

\*suelen\_zenatti@hotmail.com

**Classificação:** Bionanocompósitos.

### Resumo

Neste trabalho foi realizada a caracterização de nanocompósitos de borracha natural com diferentes porcentagens (1, 2, 5, 10 e 12%) de nanofibras de celulose. Os nanocompósitos obtidos foram avaliados através de ensaios de resistência à tração, sorção em água, termogravimetria e calorimetria exploratória diferencial. Os melhores resultados foram obtidos para o nanocompósito com o teor de 10% de nanofibras.

**Palavras-chave:** Nanocompósitos; Nanofibras de celulose; Borracha natural; Látex.

### CHARACTERIZATION OF THE NANOCOMPOSITES OF CELLULOSE NANOFIBERS AND NATURAL RUBBER

#### Abstract

In this study the characterization of natural rubber nanocomposites with different percentages (1, 2, 5, 10 and 12%) of cellulose nanofibers was performed. The nanocomposites were evaluated by testing tensile strength, water sorption, thermogravimetry, and differential scanning calorimetry. The best results were obtained for the nanocomposite with 10% content of nanofibers.

**Keywords:** Nanocomposites; Cellulose nanofibers; Natural rubber; Latex.

**Publicação relacionada:** Influência da adição de nanofibras de celulose em nanocompósitos com

borracha natural, VI Jornada científica – Embrapa São Carlos, 2014.

## 1 INTRODUÇÃO

A borracha natural tem sido alvo de diversos estudos para o desenvolvimento de novos materiais, devido às suas propriedades únicas e pelo fato de ser um insumo de origem renovável. Os nanocompósitos são materiais híbridos em que pelo menos um dos componentes tem dimensões nanométricas (CANEVAROLO, 2004). O objetivo deste trabalho foi estudar a influência da adição de diferentes porcentagens de nanofibras de celulose, obtidas do linter do algodão, em nanocompósitos com borracha natural. Os teores das nanofibras estudadas foram: 1, 2, 5, 10 e 12%. A coleta do látex de borracha natural foi realizada em Votuporanga/SP e as nanofibras foram fornecidas pela Embrapa Agroindústria Tropical. A caracterização dos nanocompósitos foi realizada através de ensaios de resistência à tração, sorção em água, termogravimetria (TG/DTG) e calorimetria exploratória diferencial (DSC).

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Primeiramente, obteve-se uma solução de nanofibras de celulose em água utilizando um o agitador ultrassônico de ponteira, marca Branson e modelo 450, com amplitude de 50% por 1 minuto. Em seguida essa solução foi adicionada no látex e utilizou-se o mesmo agitador com amplitude de 50% e tempo de 30 segundos.

Ensaio de resistência à tração foram realizados para avaliação do desempenho mecânico do material. Utilizou-se o equipamento de ensaio universal, marca Emic e modelo DL10000. Os ensaios de tração foram realizados segundo a norma ASTM D 412-92.

A análise TG/DTG foi feita no equipamento Q500 da TA Instruments, com razão de aquecimento de 10 °C/min, atmosfera inerte, da temperatura ambiente até 700 °C. A temperatura de transição vítrea da borracha natural foi determinada através de ensaios de DSC em um instrumento TA modelo Q100, com razão de aquecimento de 10°C/min, da temperatura de -80 °C a 100 °C.

O teor de líquido sorvido será determinado pesando os corpos de prova antes e depois de imersos em água a temperatura ambiente segundo a norma ASTM D 570-95.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos do ensaio de resistência à tração são apresentados nas Figuras 1 e 2. O módulo de elasticidade é um parâmetro mecânico que proporciona uma medida da rigidez de um material sólido. De acordo com a Figura 1, a adição de nanofibras provocou uma maior rigidez no material, a partir do teor de 5%. Nessa mesma Figura, o gráfico de deformação específica na força máxima (mm/mm) mostrou que ocorreu um decréscimo acentuado na deformação com a adição de 1% de nanofibras, e que, entre 2 e 10%, o teor de nanofibras não influenciou de forma significativa a deformação. O aumento de 10 para 12% de nanofibras levou a uma diminuição acentuada na deformação.

Na Figura 2, os gráficos de tensão na força máxima (MPa) e força máxima (N) ambos em função do teor de nanofibra na amostra, se comportaram da mesma maneira. O menor valor de tensão para romper o material foi obtido para o nanocompósito com o teor de 1% nanofibras,  $0,52 \pm 0,06$  N e o maior no nanocompósito com 10%,  $4,1 \pm 0,4$  N. O aumento no teor de 10 para 12% levou a um decréscimo desta propriedade.

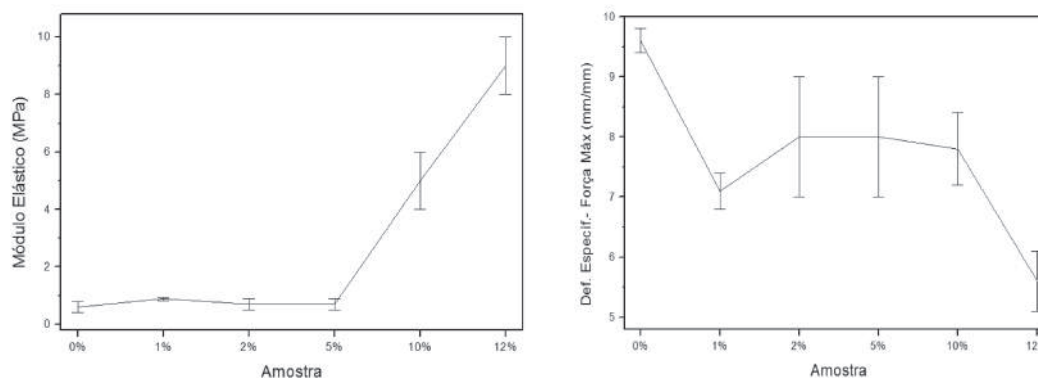
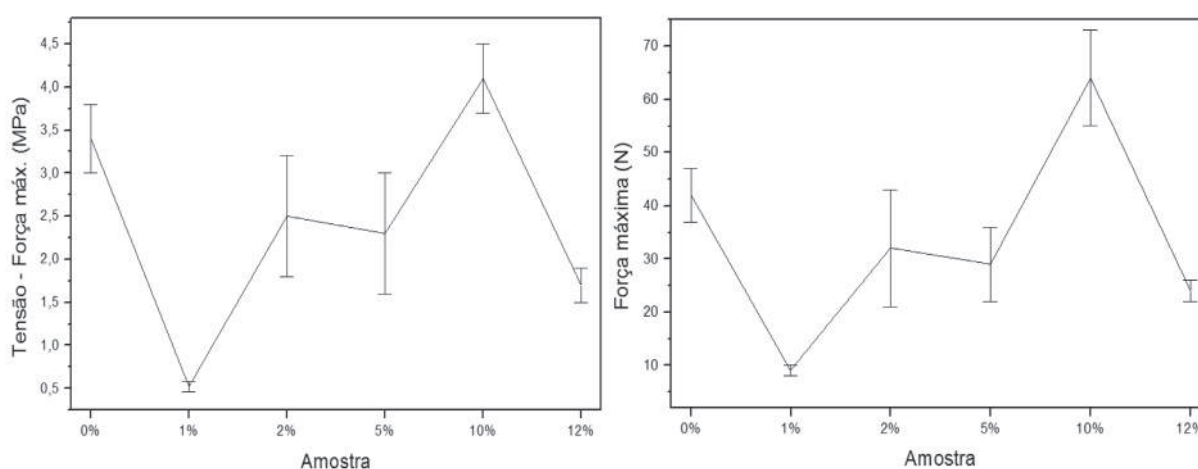


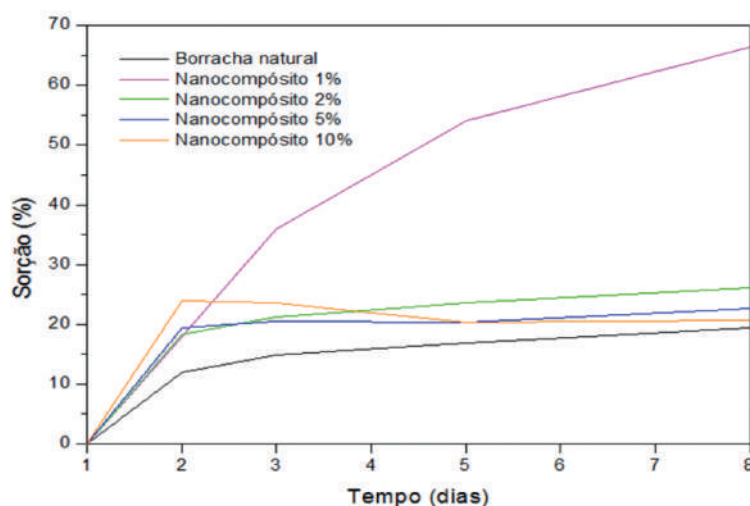
Figura 1. Valores do módulo elástico e deformação específica na força máxima dos nanocompósitos.

Como mostrado na Figura 3, o ensaio de sorção em água mostrou que à medida que o teor de nanofibras aumenta a sorção da água aumentou linearmente nos dois primeiros dias. Nos seis dias seguintes, todas as amostras ficaram praticamente estáveis, com teor de sorção de água entre 15 e 20%, com exceção do nanocompósito com 1% de nanofibras, que aumentou a porcentagem de água sorvida com o tempo. Este fato pode ter acontecido devido à formação de micro-bolhas durante a agitação para o processamento do material.

Na Figura 4, são apresentadas as curvas de TG/DTG para a nanofibra, para a borracha natural e para os nanocompósitos. As curvas de TG e DTG da borracha natural, dos nanocompósitos e da nanofibra de celulose mostraram que o processo de decomposição da borracha e dos nanocompósitos ocorreu em uma única etapa e o da nanofibra ocorreu em duas etapas. A temperatura inicial de decomposição é torno de 170 °C para nanofibra e 280 °C para a borracha natural e para os nanocompósitos. Nessa temperatura, a borracha natural apresentou uma perda de massa de cerca de 6% e com o aumento do teor de nanofibras essa perda de massa se torna maior. A esta temperatura, os nanocompósitos com 12% de nanofibras apresentaram uma perda de massa de cerca de 11%. Apesar das nanofibras apresentarem uma estabilidade térmica inferior à da borracha, verificou-se que o aumento no teor de nanofibras não levou a uma redução significativa da estabilidade térmica dos materiais obtidos.



**Figura 2.** Gráfico com os valores do ensaio de resistência à tração: (a) Tensão (força máxima, MPa) em função da amostra (b) Força máxima (N) em função da amostra.



**Figura 3.** Gráfico com valores do ensaio de sorção em água

As curvas de DSC, na Figura 5, apresentaram uma mudança na linha base que corresponde à temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) em torno de -65 °C para todas as amostras, indicando que o aumento do teor das nanofibras não influenciou na  $T_g$ .

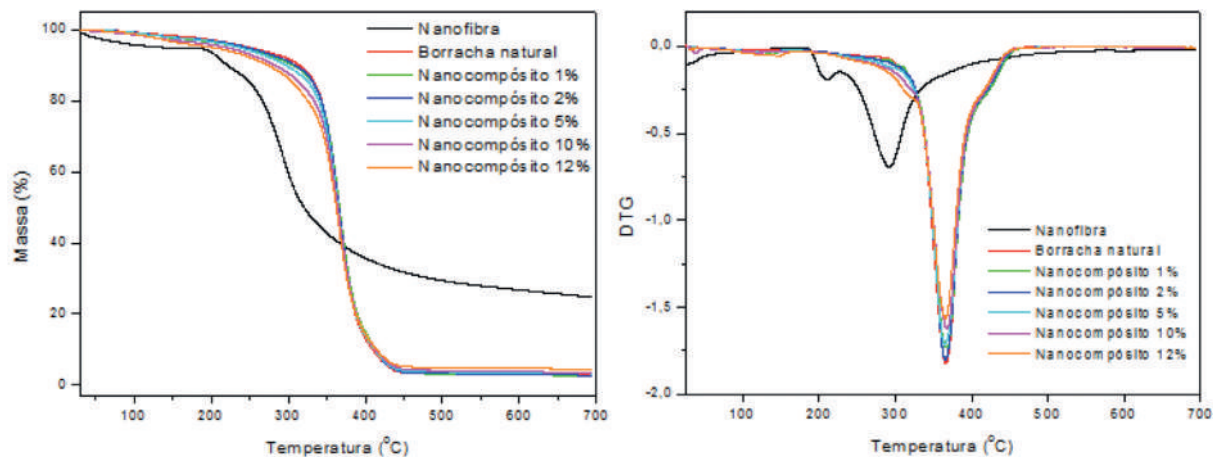


Figura 4. Curvas de TG e DTG das amostras de nanofibra, borracha natural e dos nanocompósitos.

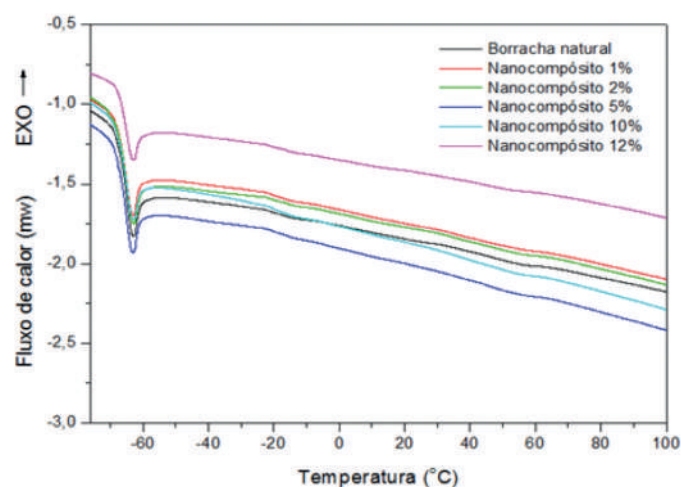


Figura 5. Curvas de DSC da borracha natural e dos nanocompósitos.

#### 4 CONCLUSÃO

O nanocompósito com os melhores resultados foi com o teor de 10% de nanofibras que apresentou um aumento de módulo e da resistência à tração sem comprometimento significativo da deformação e boas propriedades térmicas e de sorção.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq (Processo 123731/2013-5), Projeto MP1 Rede Agronano – Embrapa, Finep e Capes.

#### REFERÊNCIAS

ASTM D 412-92: Standard Test Method for Vulcanized Rubber and Thermoplastic Rubbers and Thermoplastic Elastomers – Tension

ASTM D 570-95: Standard Test Method for Water Absorption of Plastics

CANEVAROLO JR., S. V, Técnicas de Caracterização de Polímeros, Artliber Editora Ltda, São Paulo, 2004

DURÁN, N.; MATTOSO, L. H. C.; MORAIS, P. C. D. Nanotecnologia, introdução, preparação e caracterização de nanomateriais e exemplos de aplicações. São Paulo: Artliber, 2006. 13–14 p.

## ESTRUTURAS SUPRAMOLECULARES DE $\alpha$ -LACTOALBUMINA E GLICOMACROPETÍDEO: SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO

\*Renata Silva Diniz<sup>1</sup>, Jane Sélia dos Reis Coimbra<sup>2</sup>, Luiza Helena Meller da Silva<sup>1</sup>, Angélica Ribeiro da Costa<sup>2</sup>, Adenilson Abranches Monteiro<sup>2</sup>, José Antônio de Queiroz Lafetá Júnior<sup>2</sup>, Johnson Clay Pereira Santos<sup>2</sup>, Igor José Boggione Santos<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Faculdade de Engenharia de Alimentos, Instituto de Tecnologia, Universidade Federal do Pará, Belém, PA. <sup>2</sup>Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. \*renadiniz14@gmail.com

**Classificação:** Bionanocompósitos.

### Resumo

O estudo das interações proteicas tem gerado grande interesse na indústria de alimentos. Dessa forma, a compreensão sobre novas estruturas supramoleculares tem-se mostrado promissor. Este estudo teve como objetivo sintetizar e caracterizar estruturas supramoleculares formadas pelas proteínas do soro de leite  $\alpha$ -lactoalbumina e glicomacropetídeo. As estruturas supramoleculares foram produzidas variando as condições ácidas (pH 3,5 e 6,5) a 75 °C e foram caracterizadas por espectroscopia de dicroísmo circular e de fluorescência intrínseca. Espectroscopia de correlação de fótons mostrou que a distribuição do tamanho das estruturas variou de 238 a 3.545 nm. Resultados de DC e fluorescência comprovaram que houve interação entre as proteínas. Os resultados da distribuição do tamanho das partículas mostrou que as proteínas estão associadas em formas diferentes, dependendo das condições de tratamento térmico e de associação. A formação de estruturas supramoleculares oferece novas oportunidades para modificação das propriedades funcionais de alimentos.

**Palavras-chave:** Auto-associação; Aquecimento; Acidificação; Proteínas; Soro de leite.

### $\alpha$ -LACTALBUMIN AND GLYCOMACROPETIDE SUPRAMOLECULAR STRUCTURES: SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION

#### Abstract

The study of protein interactions has generated great interest in the food industry. Therefore, research on new supramolecular structures shows promise. This study aimed to synthesize and characterize supramolecular structures formed by whey proteins  $\alpha$ -lactalbumin and glycomacropetide. Supramolecular structures were produced under varying acidic conditions (pH 3.5 and 6.5) at 75 °C and were characterized by circular dichroism and intrinsic fluorescence spectroscopy. Additional photon correlation spectroscopy experiments showed that the size distribution of the structures ranged from 238 to 3,545 nm. CD and fluorescence results showed that there was interaction between the proteins. The results of the particle size distribution showed that the proteins are associated in different ways, depending on the heat treatment condition and association. The formation of supramolecular structures offers new opportunities to modify the functional properties of food.

**Keywords:** Self-assembly; Heating; Acidification; Proteins; Whey.

#### Publicações relacionadas

Manuscrito aceito - Production, characterization and foamability of  $\alpha$ -lactalbumin/glycomacropetide supramolecular structures. Journal: Food Research International. DOI information: 10.1016/j.foodres.2014.05.079.

## 1 INTRODUÇÃO

Estruturas supramoleculares são sistemas químicos estáveis e bem definidos formadas por moléculas ligadas por interações não covalentes (LEHN, 2007). Estas estruturas são materiais com novas funcionalidades e aplicações em diferentes áreas, especialmente na ciência dos alimentos. As proteínas do soro de leite são uma classe de proteínas que podem formar agregados durante o processamento. As condições utilizadas para formar estes agregados podem produzir materiais solúveis com propriedades químicas e físicas definidas, tais como a carga de superfície, hidrofobicidade, tamanho e forma. Por outro lado, estas propriedades podem afetar as propriedades macroscópicas do produto final, tais como viscosidade, emulsificação e estabilidade (RYAN et al., 2013).

Este estudo teve como objetivo investigar a formação de estruturas supramoleculares entre as proteínas do soro do leite,  $\alpha$ -lactalbumina ( $\alpha$ -Lac) e glicomacropéptido (GMP), utilizando técnicas de aquecimento e acidificação. O efeito das diferentes condições experimentais sobre as conformações das novas estruturas foi analisado por dicroísmo circular e espectroscopia de fluorescência. A distribuição de tamanho foi avaliada por espectroscopia de correlação de fótons.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Preparação das estruturas supramoleculares proteicas

Os sistemas de estruturas supramoleculares foram preparados com o objetivo de se verificar a influência do pH, tempo e temperatura (Tabela 1).

**Tabela 1.** Condições em que as estruturas supramoleculares foram formadas

Sistemas	pH	Tempo (minutos)	Temperatura (°C)
1	3,5	20	75
2	6,5	20	75
3	3,5	40	75
4	6,5	40	75

Dispersões aquosas de  $\alpha$ -Lac e GMP foram preparadas separadamente e homogeneizadas sob agitação moderada à temperatura ambiente durante 15 minutos em um agitador magnético (TE 0851, Tecnal, Brasil). Volumes exatos de cada dispersão foram misturados para se atingir a relação estequiométrica de GMP:  $\alpha$ -Lac (0,7:1). A mistura de dispersão de proteína foi mantida sob agitação suave (TE 0851, Tecnal, Brasil) por 24 horas a 4 °C (SP-500 DBO, SP Labor, Brasil).

### 2.2 Dicroísmo circular, espectroscopia de fluorescência e distribuição de tamanho de partícula

As estruturas secundárias de estruturas supramoleculares foram avaliadas por dicroísmo circular (DC). Espectros de DC foram obtidos com um espectropolarímetro JascoJ-810 (Jasco Corporation, Japão). Os espectros foram obtidos a 25 °C em comprimento de onda de 190 a 260 nm. As análises de fluorescência foram realizadas utilizando um espectrofluorímetro K2 (ISS, EUA) para avaliação das alterações conformacionais nas estruturas supramoleculares proteicas. Os espectros de fluorescência foram registados na faixa de 290 a 450 nm. O comprimento de onda de excitação foi de 280 nm, o qual pode excitar triptofano e tirosina. O tamanho das estruturas supramoleculares foi determinado por espectroscopia de correlação de fótons através do Zetasizer Nano S (Malvern Instrument, Inglaterra).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Dicroísmo circular

A Figura 1a mostra os espectros de DC das proteínas nativas  $\alpha$ -Lac e GMP e das estruturas supramoleculares proteicas. O espectro de DC da  $\alpha$ -Lac nativa é típico de proteínas ricas em  $\alpha$ -hélice devido aos seus picos negativos em cerca de 222 e 208 nm. GMP nativo, por outro lado, mostra um pico mínimo em torno de 198 nm, caracterizando assim sua estrutura secundária como um típico *random coil*. Os espectros de DC obtidos para as estruturas supramoleculares mantiveram as características gerais esperadas para estruturas ricas em  $\alpha$ -hélice, embora o pico negativo em torno de 208 nm observada para  $\alpha$ -Lac nativa foi deslocado para cerca de 205 nm, possivelmente devido à contribuição de GMP nos sistemas. Verificou-se um aumento da intensidade do sinal negativo em torno de 205-208 nm, sugerindo que novas estruturas secundárias podem ter se formado durante a associação das proteínas. Observou-se que não houve diferenças proeminentes nos espectros de DC das estruturas supramoleculares obtidas em pH 3,5. No entanto, em pH 6,5, maior tempo de exposição à temperatura de 75 °C diminuiu a elipticidade molar dos sistemas, indicando possível perda de estruturas secundárias.



### 3.2 Espectroscopia de fluorescência

Os espectros de fluorescência intrínseca das proteínas nativas  $\alpha$ -Lac e GMP e das estruturas supramoleculares são apresentados na Figura 1b. Enquanto o GMP não exibiu fluorescência intrínseca, o espectro da  $\alpha$ -Lac nativa foi caracterizado por um máximo de emissão a 338 nm. De um modo geral, em comparação com o espectro da  $\alpha$ -Lac nativa, o pico máximo de emissão de todos os sistemas analisados foi deslocado para comprimentos de onda menores (cerca de 322 nm). Além disso, foi observado um aumento na intensidade de emissão. Estes resultados indicam que o ambiente químico em torno dos cromóforos tornou-se mais apolar (JINDAL; NAEEM, 2013), sugerindo que os cromóforos permaneceram escondidos no núcleo das estruturas supramoleculares formadas. Além disso, verificou-se que os sistemas formados em pH 6,5 apresentam intensidade de fluorescência superior, sugerindo que este pH favorece a interação entre as proteínas  $\alpha$ -Lac e GMP.

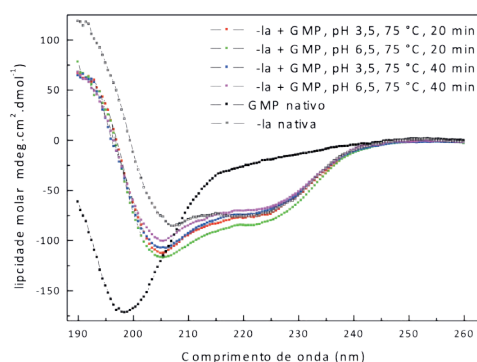


Figura 1a. Espectros de DC de  $\alpha$ -Lac nativa, GMP nativo e estruturas supramoleculares.

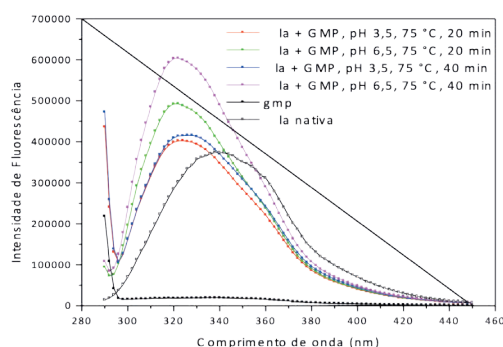


Figura 1b. Espectros de fluorescência de  $\alpha$ -Lac nativa, GMP nativo e estruturas supramoleculares.

### 3.3 Distribuição de tamanho de partícula

Os tamanhos das estruturas supramoleculares proteicas são apresentados na Tabela 2. As principais populações definidas aqui se referem àquelas com a maior porcentagem de distribuição do volume das partículas.

Tabela 2. Distribuição de tamanho de partícula das estruturas supramoleculares proteicas

	Sistema 1			Sistema 2		Sistema 3			Sistema 4		
	Pico 1	Pico 2	Pico 3	Pico 1	Pico 2	Pico 1	Pico 2	Pico 3	Pico 1	Pico 2	Pico 3
Diâmetro médio (nm)	1311	5581	205	270	60	3545	1178	439	70	238	5262
% distribuição de volume	98.9	1.0	0.1	88.6	11.4	80.6	18.8	0.7	10.8	77.3	11.9

Os sistemas 1 e 3 apresentaram populações de partículas com tamanhos maiores, 1311 e 3545 nm, respectivamente. Isso sugere que o pH 3,5 favorece a agregação das proteínas e consequente formação de agregados. Além disso, este resultado sugere que um tempo mais longo de aquecimento provoca a formação de agregados maiores. As principais populações de sistemas a pH 6,5, formadas durante 20 e 40 minutos, apresentaram tamanhos de 270 e 238 nm, respectivamente.

## 4 CONCLUSÃO

Estruturas supramoleculares podem ser formadas por aquecimento e acidificação de soluções aquosas de GMP e  $\alpha$ -Lac. A formação de estruturas supramoleculares oferece novas oportunidades para modificar as propriedades funcionais de alimentos. Técnicas de aquecimento e acidificação podem ser otimizadas para controlar as propriedades das proteínas e para melhorar o seu desempenho em diversas

aplicações. Além disso, os resultados permitiram um melhor conhecimento dos fatores que podem ajudar a prever o comportamento das associações de proteínas em sistemas complexos.

## AGRADECIMENTOS

Este estudo foi financiado pela CAPES, CNPq e FAPEMIG. Os autores agradecem ao Laboratório Nacional Brasileiro de Biociências (Laboratório de Espectroscopia e Calorimetria).

## REFERÊNCIAS

JINDAL, S.; NAEEM, A. Consequential secondary structure alterations and aggregation during prolonged casein glycation. *Journal of fluorescence*, v. 23, n. 3, p. 367–74, 2013.

LEHN, J.-M. From supramolecular chemistry towards constitutional dynamic chemistry and adaptive chemistry. *Chemical Society reviews*, v. 36, n. 2, p. 151–60, 2007.

RYAN, K. N.; ZHONG, Q.; FOEGEDING, E. A. Use of whey protein soluble aggregates for thermal stability—a hypothesis paper. *Journal of food science*, v. 78, n. 8, p. R1105–15, 2013.

---

## AVALIAÇÃO DE FILMES DE GOMA DE CAJUEIRO ELETRODEPOSITADOS EM SUPERFÍCIE DE PLATINA

Emanuela I. P.L. Chaves<sup>1</sup>, Rubênia S. Monte<sup>2</sup>, Ana Cláudia M. Mariano<sup>2</sup>, Paulo R. V. Ribeiro<sup>3</sup>,  
Celli R. Muniz<sup>3</sup>, Carlúcio R. Alves<sup>2</sup>, \*Roselayne F. Furtado<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Ceará, Departamento de Química, Fortaleza, CE. <sup>2</sup>Universidade Estadual do Ceará, Departamento de Química, Fortaleza, CE. <sup>3</sup>Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE.  
\*roselayne.furtado@embrapa.br

**Classificação:** Bionanocompósitos.

### Resumo

Filmes de goma de cajueiro (GC) tem grande potencial de uso como plataforma de imobilização de biomoléculas. Neste trabalho, avaliou-se a eletrodeposição de GC em superfície de platina preparada por três métodos diferentes: GC solvatada por água, GC dispersa em solução de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,5 M e GC modificada quimicamente com 6% de trimetafosfato de sódio (TMPS) em meio aquoso. Os filmes de GC foram caracterizados por técnicas de voltametria cíclica, microscopia eletrônica de varredura e espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier.

**Palavras-chave:** Eletrodeposição; filme; goma de cajueiro e polissacarídeo.

### EVALUATION OF ELECTRODEPOSITED CASHEW GUM FILMS IN PLATINUM SURFACE

#### Abstract

Cashew gum film (CG) has great potential for use as biomolecule immobilization platform. In this study was evaluated CG electrodeposition on platinum surface. It was prepared by three different methods: CG solvated by water, CG dispersed in a solution of 0.5 M Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and CG chemically modified with 6% sodium trimetaphosphate (TMPS). CG films were characterized by cyclic voltammetry, scanning electron microscopy and Fourier transform infrared spectroscopy.

**Keywords:** Electrodeposition; film; Cashew gum; Polysaccharide.

### Publicações relacionadas

MONTE, R. S.; MARIANO, A. C. M.; ALVES, CARLUCIO R.; FURTADO, R. F. Estudo da eletrodeposição da goma de cajueiro em superfície de platina. In: 37 Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2014, Natal. Anais do 37 Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2014.

## 1 INTRODUÇÃO

Polímeros naturais tem sido objeto de investigação por pesquisadores, devido à ampla versatilidade de aplicações. Podem ser utilizados como substitutos de polímeros sintéticos, pois apresentam várias vantagens, tais como: baixo custo, baixa toxicidade e biodegradabilidade (PAULA *et al.*, 2011). Os biopolímeros podem ser obtidos a partir de várias fontes, como por exemplo, sementes, algas, exsudados de plantas e microrganismos.

No Nordeste brasileiro, a goma do cajueiro (GC) é um coproduto da cadeia produtiva do caju (*Anacardium occidentale*) e tem recebido atenção do mundo acadêmico por ser uma alternativa potencial ao uso da goma arábica. Na sua estrutura química apresenta uma cadeia principal de galactose (72%) com ramificações de arabinose (4,6%), glucose (14%), ramnose (3,2%) e ácido glucurônico (4,7%).

A versatilidade das reações químicas possíveis com polissacarídeos tem levado vários autores a utilizarem filmes de gomas como suporte para imobilização de enzimas, pois permitem uma ligação mais estável com a enzima reduzindo as limitações de difusão e de transferência de massa (SILVA *et al.*, 2010).

Eletrodeposição de polissacarídeos é possível através de técnicas voltamétricas. Especificamente, a técnica de voltametria cíclica é eficiente na eletrodeposição de moléculas e bastante usada quando se deseja conhecer a eletroatividade de compostos, investigar reações químicas acopladas, análise de íons e estudar superfícies de eletrodos modificados (BRUSCIOTTI *et al.*, 2007).

Esse trabalho teve o objetivo de promover a eletrodeposição de GC com avaliação de três diferentes métodos de preparação do polissacarídeo: GC solvatada por água, GC dispersa em solução de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  0,5 M e GC modificada quimicamente com 6% de trimetafosfato de sódio (TMPS) em meio aquoso, visando o desenvolvimento de plataforma de imobilização de biomoléculas.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

A goma bruta foi obtida do Campo Experimental de Pacajus, CE, e conduzida ao laboratório para os procedimentos de precipitação etanólica de acordo com metodologia descrita por Torquato *et al.* (2004). Para isso, goma foi triturada, dissolvida em água, filtrada e precipitada com etanol comercial (96 °GL) à razão etanol:goma de 3:1 (m/m). O precipitado foi isolado e colocado para secar a 60 °C. Ao final, a goma foi triturada em moinho analítico de impacto.

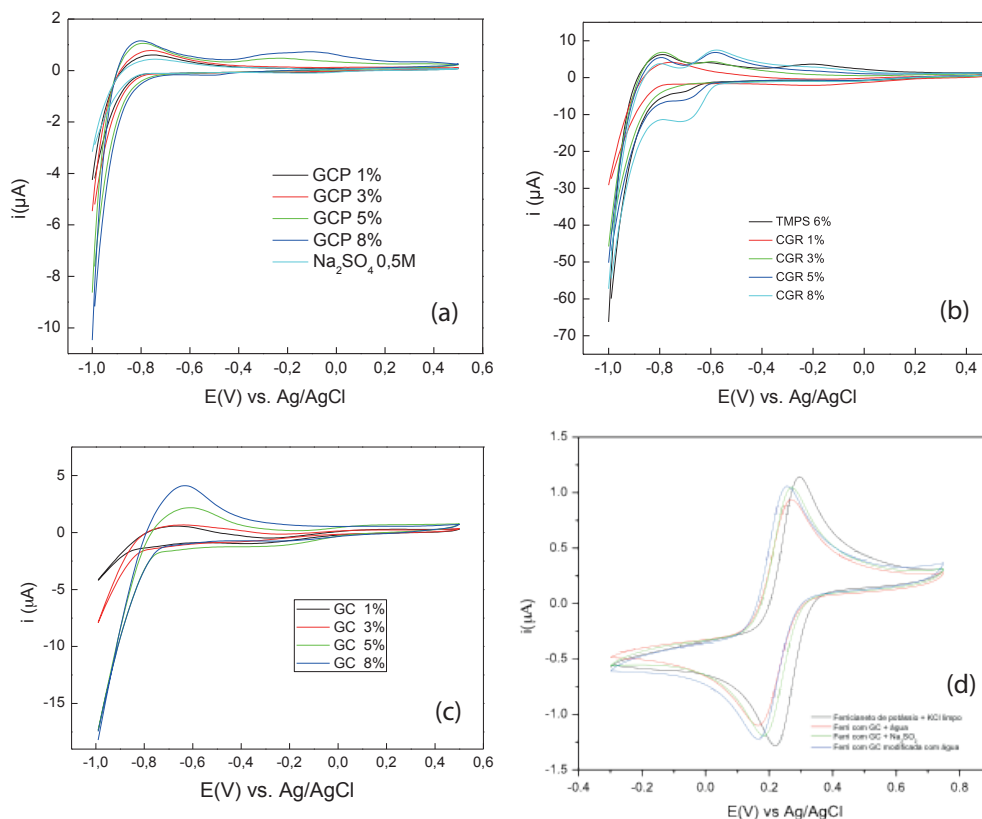
Para os experimentos de eletrodeposição, diferentes formas de preparação do polissacarídeo foram testadas. Goma de cajueiro foi dissolvida em água deionizada em diferentes concentrações (1, 3, 5 e 8% m/v) por meio da homogeneização em ultra-turrax (10.000 rpm, por 5 minutos). O segundo método de preparação da goma utilizou  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  como solvente e seguiu o procedimento citado anteriormente. O terceiro método testado foi com goma de cajueiro modificada homogeneizada em ultra-turrax (10.000 rpm, por 5 minutos). A modificação do polissacarídeo foi realizada com TMPS 6%. Para isso, foram preparadas soluções de 10% de goma de cajueiro homogeneizadas em Ultra-Turrax (IKA, T25 digital) com rotação de 20.000 RPM por 1 minuto. A solução foi alcalinizada com NaOH (2 M) até pH 12. Em seguida, adicionou-se TMPS anidro 6% sob agitação por 3 horas a 40 °C. A solução foi acidificada com HCl (2 M) até pH 7, centrifugada e lavada com acetona e álcool.

O experimento foi realizado em potenciostato/galvanostato  $\mu\text{AutolabIII/FRA2}$  utilizando célula eletroquímica com três eletrodos: trabalho de Pt (com área de  $0,015\text{cm}^2$ ), auxiliar helicoidal de Pt e referência Ag/AgCl. A caracterização dos filmes eletrodepositados foi conduzida pelas técnicas de voltametria cíclica em solução de  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  50 mM e KCl 0,1M; pela técnica de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) usando Varian 660-IR e por microscopia eletrônica de varredura (MEV) usando Zeiss 940 A. Na análise de FTIR, GC foi eletrodepositada em placa de Pt e usou-se o modo de reflectância difusa, no intervalo de frequência entre 4000 e  $200\text{ cm}^{-1}$ , purgada com nitrogênio, objetivando remover  $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}$ .

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

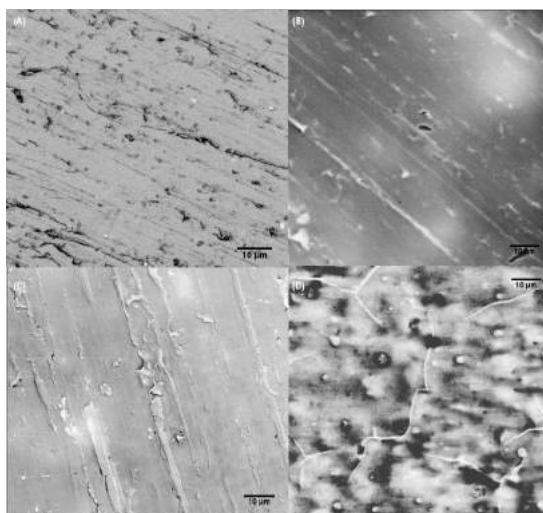
A varredura por voltametria cíclica foi iniciada em potencial de evolução de hidrogênio para os três métodos de preparação da goma. Nos três métodos avaliados de preparação da goma observou-se a eletrodeposição em potencial de pico ( $E_p$ ) = -0,80 V (Figura 1a, 1b e 1c). Em solução de GC modificada com TMPS observou-se a presença de picos de oxidação e redução em  $E_p$  de -0,6 V e -0,7 V, respectivamente. Estes picos, possivelmente, estão associados a modificação a qual a GC foi submetida anteriormente ao processo de eletrodeposição. Superfície de platina após a eletrodeposição da GC foi

modificada conforme indica a Figura 1d. O uso de  $K_3[Fe(CN)_6]$  é importante para testar a barreira cinética da transferência de carga entre a solução e a interface do eletrodo. Sendo assim, após a modificação da superfície com GC percebeu-se uma diminuição na área ativa do eletrodo.



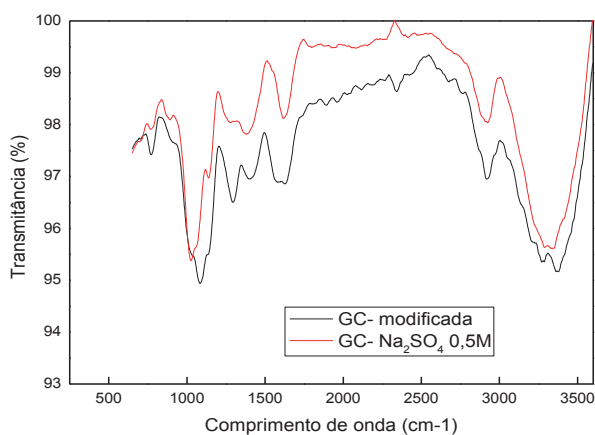
**Figura 1.** Voltamogramas cíclicos para a eletrodeposição de GC em diferentes concentrações para soluções aquosas: de  $Na_2SO_4$  0,5 M (a), modificada quimicamente com TMPS (b) e solvatada diretamente em água (c). Varreduras realizadas em solução de  $K_3[Fe(CN)_6]$  50 mM e KCl 0,1M (d). Velocidade de varredura de  $50 \text{ mV s}^{-1}$ .

Referente a caracterização morfológica dos filmes de GC eletrodepositados em superfície de platina, na Figura 2, a morfologia dos filmes obtidos pode ser observada. A morfologia dos filmes obtidos indicaram uniformidade e boa cobertura da superfície. Contudo, o filme obtido por eletrodeposição em solução de  $Na_2SO_4$  0,5M apresentou rachaduras, as quais são indesejáveis pois podem resultar no desprendimento do filme da superfície.



**Figura 2.** Imagens obtidas por MEV em Pt limpa (a), filme de GC 8% solvatada em água (b), filme de GC 8% modificada quimicamente com TMPS (c) e filme de GC 8% em solução de  $Na_2SO_4$  0,5 M (d).

Os espectros de FTIR dos filmes eletrodepositados de GC em solução de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  0,5 M e modificada com TMPS solvatada em água são apresentados na Figura 3. Para o filme de GC solubilizado em água não foi possível a obtenção do espectro, possivelmente, em razão da sua fina espessura. Os espectros obtidos foram similares para os dois métodos de preparação da goma e as bandas que se diferem são os que caracterizam a ocorrência da reticulação. A banda em  $766\text{ cm}^{-1}$  está relacionada ao fosfato cíclico ou o estiramento simétrico de P-O-P (MOUSTAFA; EL-EGILI, 1998). As fortes bandas presente nas regiões de  $1026$ ,  $1159$  e  $1291\text{ cm}^{-1}$  podem ser atribuídas ao estiramento vibracional assimétrico de P-O-P ligados ao  $[\text{P}_3\text{O}_9]^{3-}$ , ao estiramento assimétrico de  $(\text{PO}_2)^-$  e ao  $(\text{P}=\text{O})$ , respectivamente (MOUSTAFA; EL-EGILI, 1998).



**Figura 3.** Espectros de FTIR de filmes eletrodepositados de GC 8% modificada quimicamente com TMPS (a) e de GC 8% em solução de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  0,5 M (b).

#### 4 CONCLUSÃO

Os resultados demonstram a formação de filmes de goma de cajueiro sobre superfície de platina, crescidos eletroquimicamente, utilizando goma de cajueiro *in natura* e modificada quimicamente. Estudos serão realizados no intuito de avaliar a potencialidade dos filmes em aplicação prática como plataforma de imobilização de biomoléculas.

#### AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pelo suporte financeiro.

#### REFERÊNCIAS

- BRUSCIOTTI, F.; DUBY, P. Cyclic voltammetry study of arsenic in acidic solutions. *Electrochimica Acta*, v. 52, n. 24, p. 6644-6649, 2007.
- MOUSTAFA, Y. M.; EL-EGILI, K. Infrared spectra of sodium phosphate glasses. *Journal of Non-Crystalline solids*, v. 240, p. 144-153, 1998.
- PAULA H. C. B.; SOMBRA F. M.; CALVALCANTE R. F.; ABREU F. O. M. S.; PAULA R. C. M. Preparation and characterization of chitosan/cashew gum beads loaded with *Lippia sidoides* essential oil, *Materials Science and Engineering*, v. C 31, p. 173-178, 2011.
- SILVA T. M.; SANTIAGO P. O.; PURCENA L. L. A.; FERNADES K. F. Study of the cashew gum Polysaccharide for the horseradish peroxidase immobilization- Structural characteristics, stability and recovery, *Materials Science and Engineering*, v. C 30, p. 526-530, 2010.
- TORQUATO, D. S.; FERREIRA, M. L.; SÁ, G. C.; BRITO, E. S.; PINTO, G. A. S.; AZEVEDO, E. H. F. Evaluation of antimicrobial activity of cashew tree gum. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, v. 20, p. 505-507, 2004.

## CARACTERIZAÇÃO DE GOMA DE CAJUEIRO SUBMETIDA A PROCESSO DE RETICULAÇÃO

Ana Cláudia Moura Mariano<sup>1</sup>, Francisco Wanderson Moreira Ribeiro<sup>2</sup>, Luana Guabiraba Mendes<sup>3</sup>, Carlucio Roberto Alves<sup>1</sup>, \*Roselayne Ferro Furtado<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual do Ceará, Departamento de Química, Fortaleza, CE. <sup>2</sup>Universidade Federal do Ceará, Departamento de Química, Fortaleza, CE. <sup>3</sup>Universidade Estadual do Ceará, Renorbio, Fortaleza, CE. <sup>4</sup>Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE.  
\*roselayne.furtado@embrapa.br

**Classificação:** Bionanocompósitos.

### Resumo

As gomas despertam o interesse da indústria alimentícia e farmacêutica na formulação de produtos e podem ser modificadas quimicamente a fim de conferir novas propriedades desejáveis e ampliar a possibilidade de aplicações comerciais. O trimetafosfato de sódio (TMPS) é um agente reticulante efetivo para polissacarídeos e foi utilizado nas seguintes concentrações 1%, 3%, 6% e 9%. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do agente reticulante sobre as características de goma de cajueiro por análise de tamanho de partícula, grau de intumescimento, índice de viscosidade e caracterização por espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier. O polissacarídeo apresentou tendência a menor viscosidade, tamanho de partícula e intumescimento com o aumento da concentração do agente reticulante.

**Palavras-chave:** Goma de cajueiro; Trimetafosfato de sódio; Reticulação.

### CHARACTERIZATION OF CASHEW GUM SUBMITTED TO CROSSLINKING PROCESS

#### Abstract

Gums are object of interest for food and pharmaceutical industry in the formulation of novel products and can be chemically modified in order to create desirable new properties and expand the possibility of commercial applications. The sodium trimetaphosphate (TMPS) is an effective agent for crosslinking polysaccharides and it was used in the concentrations of 1%, 3%, 6% and 9%. The objective this work was to evaluate the effect of the crosslinking agent on the characteristics of cashew gum by particle size analysis, degree of swelling, viscosity and characterization by Fourier transform infrared spectroscopy. The polysaccharide showed a behaviour to lower viscosity, particle size and swelling degree with increasing crosslinker concentration.

**Keywords:** Cashew gum; Sodium trimetaphosphate; Crosslinking.

#### Publicações relacionadas

FURTADO, R. F.; RIBEIRO, F. W. M.; BASTOS, M. do S.; MARIANO, A. C. M.; MENDES, L. G.; ALVES, C. R.; COSTA, J. M. C. Modificação Química de Goma de Cajueiro: Novas Características e Potencialidades de Aplicações, Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2013. 20p.

## 1 INTRODUÇÃO

Gomas naturais são polissacarídeos obtidos a partir de exsudatos de troncos de árvores, de sementes, de algas e de fermentação microbiológica. A goma de cajueiro é um heteropolissacarídeo coletado do tronco de plantas de *Anacardium occidentale* contendo como constituinte principal galactose (61%) e ramificações laterais de arabinose (14%), ramnose (7%), glicose (8%) e ácido glicurônico (5%) (RODRIGUES et al., 1993; de PAULA et al., 1998). É um produto não tóxico que pode ser utilizado para fins comerciais a exemplo da goma arábica.

A reticulação é utilizada frequentemente para alterar as propriedades físicas e físico-químicas das gomas e conferir-lhes uma aplicação mais ampla. Agentes de reticulação mais comuns que, geralmente, podem ser aplicados em qualquer polissacarídeo, incluem a epiclorigidrina, a vinilsulfona, os disotiocianatos e vários dióxidos e diolefinas, tais como o 1,2:5,6-hexadieno e o trimetafosfato de sódio. Entre estes, o trimetafosfato de sódio (TMPS) foi relatado na literatura como agente reticulante efetivo para polissacarídeos, principalmente, amido (WOO; SEIB, 1997; KASEMSUWAN, BAILEY e JANE,

1998; MUHAMMED et al., 2000). No intuito de atender a novas aplicações da goma de cajueiro, especificamente, para fins alimentícios, uma metodologia de reticulação química utilizando concentrações de 1%, 3%, 6% e 9% de trimetafosfato de sódio foi adotada e avaliada na promoção da modificação da goma de cajueiro.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito de diferentes concentrações do agente reticulante, trimetafosfato de sódio, sobre as propriedades de tamanho de partícula, índice de viscosidade, grau de intumescimento e análise de infravermelho da goma de cajueiro submetida a processo de reticulação.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Goma de cajueiro foi purificada conforme metodologia de Torquato *et al.*, (2004). Solução de goma de cajueiro 20% foi preparada e homogeneizada utilizando ultra-turrax com rotação de 20.000 RPM por 1 minuto. A solução foi alcalinizada com hidróxido de sódio 2M até pH 12. Em seguida, adicionou-se o agente reticulante, em diferentes concentrações: 1%, 3%, 6%, 9% sob agitação por 3 horas a 40°C. Então a solução foi neutralizada com HCl 2M. O excesso de reagente foi eliminado do material reticulado por meio de centrifugação a 10.000 RPM por 10 min e de lavagens sucessivas com álcool etílico (1:1) e acetona P.A. O material foi triturado em moinho analítico e utilizado nas análises em triplicadas.

A distribuição de tamanho de partícula da goma de cajueiro modificada em meio aquoso foi realizada em uma concentração de 0,5%, utilizando um zetasizer nano series (Malvern Instruments, Reino Unido).

As medidas de viscosidade cinemática foram realizadas por um viscosímetro capilar Schott, modelo AVS. 350, capilar (52023/300).

As medidas de intumescimento do material reticulado foram avaliadas em função da água retida nas cadeias poliméricas do material reticulado. Para isso, as amostras foram imersas em água por 16h. Em seguida procedeu-se a secagem em estufa a 80°C e pesagem do material até peso constante.

Os espectros de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) foram registrados com um espectrofotômetro Shimadzu IR (modelo 8300) com varredura de 400 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ . As amostras foram analisadas em pastilha de KBr.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O processo de modificação da goma de cajueiro com TMPS conferiu novas e desejáveis mudanças na cadeia do polissacarídeo, as quais foram evidenciadas pelos resultados obtidos nas análises de distribuição de tamanho de partícula, grau de intumescimento, índice de viscosidade e análise de infravermelho.

De acordo com a tabela 1 a variação da quantidade de agente reticulante influenciou a viscosidade do reticulado. Uma tendência crescente na viscosidade foi observada quando se diminuiu a concentração do TMPS.

**Tabela 1.** Viscosidade de goma de cajueiro reticulada com diferentes concentrações de TMPS

Tratamentos	Viscosidade ( $\pm$ DP)
GC 0%	11,24 $\pm$ 0,017
GC 1%*	---
GC 3%	25,216 $\pm$ 0,517
GC 6%	16,543 $\pm$ 0,254
GC 9%	12,82 $\pm$ 0,254

\*A viscosidade de goma de cajueiro modificada com TMPS foi muito alta e não foi possível adicioná-la no capilar do viscosímetro. Em virtude desta incompatibilidade física não foi possível medir a viscosidade.

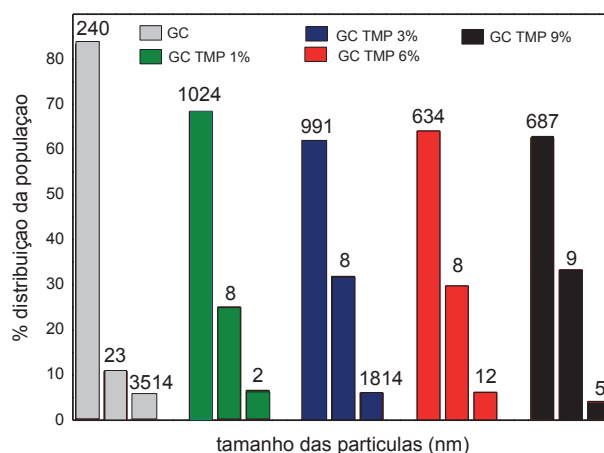
De acordo com a tabela 2 à medida que a concentração do agente reticulante diminuiu, houve um aumento na quantidade de água retida no material reticulado, evidenciado pelo estudo de intumescimento do material. Este fato está associado à reticulação da goma de cajueiro. Se as cadeias do polímero

são rígidas, o intumescimento será inibido, pois o volume de água que vai penetrar na matriz polimérica para iniciar o processo de intumescimento será menor.

**Tabela 2.** Medidas de intumescimento da goma de cajueiro reticulada com diferentes concentrações de TMPS

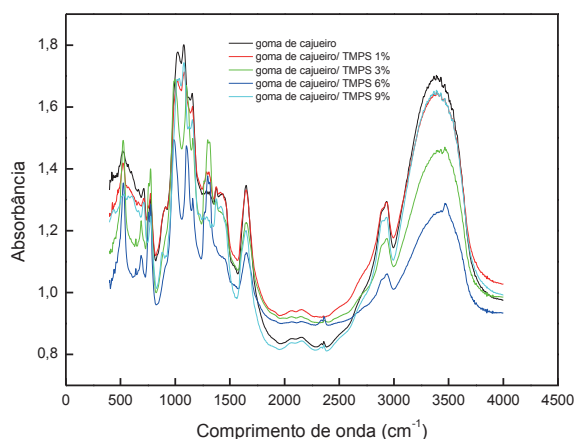
Tratamentos	EWC% ( $\pm$ DP)
GC 0%	64,71 ( $\pm$ 8,86)
GC 1%	78,46 ( $\pm$ 4,20)
GC 3%	76,30 ( $\pm$ 1,01)
GC 6%	68,62 ( $\pm$ 7,96)
GC 9%	65,84 ( $\pm$ 7,65)

A Figura 1 indica a distribuição de tamanho de partícula de goma de cajueiro modificada com diferentes concentrações do agente reticulante em meio aquoso. Verifica-se uma tendência na diminuição do tamanho das partículas com o aumento da concentração do agente reticulante. Esse fato está associado as expansões das cadeias poliméricas em meio aquoso e a característica de intumescimento. Quanto maior o grau de reticulação mais difícil à entrada de água nas cadeias do polímero.



**Figura 1.** População de partícula para cada tratamento de reticulação e do controle. Os números acima de cada barra indicam o tamanho das partículas (nm).

A figura 2 representa o espectro de infravermelho das amostras de goma de cajueiro, onde se observa na região da banda 3387  $\text{cm}^{-1}$ , o estiramento vibracional do grupo OH livres do polissacarídeo modificado. O aumento do grau de reticulação diminui a quantidade de hidroxilas livres e consequentemente diminui a largura da banda. Além disso, evidenciando o processo de reticulação, as bandas na região de 750 a 780  $\text{cm}^{-1}$  são atribuídas ao fosfato cíclico ou ao estiramento simétrico do grupo (P—O—P).



**Figura 2.** Espectro de infravermelho de goma de cajueiro reticulada com diferentes concentrações de TMPS.



#### 4 CONCLUSÃO

Considerando as diferentes concentrações do reticulante, uma reticulação mais efetiva da goma de cajueiro foi obtida a partir da concentração de 6% de trimetafosfato de sódio.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq e CAPES pelo suporte financeiro.

#### REFERÊNCIAS

KASEMSUWAN, T.; BAILE, JANE, J. Preparation of clear noodles with mixtures of tapioca and high-amylose starches. *Carbohydrate Polymers*, v. 32, n. 3-4, p.301-312, 1998.

RIBEIRO, F. W. M.; FURTADO, R. F.; BASTOS, M. do S.; KOTZEBUE, LRV.; LAURENTINO, LS. ALVES, CR. Influência da adição de diferentes concentrações de trimetafosfato de sódio na reticulação de goma arábica. In: Encontro de Iniciação Científica da Unifor, XVIII, 2012, Fortaleza. Anais do XVIII encontro de iniciação a pesquisa, 2012.

RODRIGUES, J. F., DE PAULA, R.C. M.; COSTA, S. M. Métodos de Isolamento de Gomas Naturais: Comparação Através da Goma do Cajueiro (*Anacardium occidentale* L). *Polímeros: ciência e tecnologia*, ano III, n. 1, v. p. 31-36. 1993.

WOO, K.; SEIB P. A. Crosslinking of wheat starch and hidroxypropylated wheat starch in alkaline slurry with sodium trimetaphosphate. *Carbohydrate polymers*, v. 33, n.4, 263-271, 1997.

TORQUATO, D. S.; FERREIRA, M. L.; SÁ, G. C.; BRITO, E. S.; PINTO, G. A. S.; AZEVEDO, E. H. F. Evaluation of antimicrobial activity of cashew tree gum. *World Journal of microbiology & biotechnology*, v. 20, p. 505-507, 2004.

---

## NANOFIBRAS DE CELULOSE MICROFIBRILADA DE MADEIRA DE EUCALIPTO: EXTRAÇÃO MECÂNICA E APLICAÇÃO EM FILMES DE AMIDO

**\*Thaís Ferreira da Silva<sup>1</sup>, Alessandra de Souza Fonseca<sup>2</sup>, Janyelle Severino Alves<sup>1</sup>, Gustavo Denzin Tonoli<sup>2</sup>, Kelen Cristina dos Reis<sup>2</sup>.**

<sup>1</sup>Departamento de Ciência dos Alimentos, DCA, Universidade Federal de Lavras, UFLA, MG.

<sup>2</sup>Departamento de Ciências Florestais (DCF), Universidade Federal de Lavras, UFLA, MG.

\*thais.ferret@hotmail.com

**Classificação:** Bionanocompósitos

#### Resumo

Filmes de amido de milho termoplástico acrescidos de nanofibras de eucalipto foram analisados quanto às propriedades ópticas (diferença de cor, cromaticidade e tonalidade) a fim de identificar possíveis alterações provocadas pela adição de nanofibras. Os filmes foram obtidos pelo “processo casting” e constatou-se que a presença de nanofibras de eucalipto nas concentrações de 1%, 2% e 3% em relação a massa de amido não causou significantes mudanças na coloração ou aparência dos filmes de amido e estes apresentaram-se neutros e com tonalidades próximas.

**Palavras-chave:** Nanofibrilas; Compósitos; Nanofilme; Eucalipto.

## MICROFIBRILLATED CELLULOSE NANOFIBERS FROM EUCALYPT WOOD: MECHANICAL EXTRACTION AND APPLICATION IN STARCH FILMS

### Abstract

Corn starch reinforced with eucalyptus nanofibers were analyzed for optical properties (color difference, chromaticity and hue) in order to identify possible changes caused by the addition of nanofibers. The films were obtained by “casting process” and it was found that the presence of nanofibers eucalyptus in concentrations of 1%, 2% and 3% over the mass of starch did not cause significant changes in the color or appearance of starch films and they were presented with neutral and close hue.

**Keywords:** Nanofibrils; Composites; Eucalyptus.

### Publicações relacionadas

TONOLI, G. H. D. ; Teixeira, E. M. ; CORREA, A. C. ; MARCONCINI, J. M. ; CAIXETA, L. A. ; PEREIRA-DA-SILVA, M. A. ; MATTOSO, L. H. C. . Cellulose micro/nanofibres from Eucalyptus kraft pulp: preparation and properties. *Carbohydrate Polymers*, v. 89, p. 80-88, 2012.

REIS, K. C. ; Vargas, F. P. ; PEREIRA, L. . The effect of plasticizer and cellulose nanowhisiker on the dispersion and properties of nanobiocomposites. In: 7th International Symposium on Advanced Materials and Nanostructures, 2012, Sorocaba. 7th International Symposium on Advanced Materials and Nanostructures, 2012.

## 1 INTRODUÇÃO

A indústria de alimentos tem como desafio garantir a qualidade de seus produtos, aumentar a vida útil e reduzir o custo de produção dos mesmos. A embalagem exerce um importante papel na resolução desse desafio, pois é a barreira que protege o alimento do meio externo e contra possíveis contaminantes. A embalagem no entanto não é totalmente eficaz e estudos estão sendo realizados para melhorar cada vez mais sua estrutura física, transformando-as em embalagens funcionais para proteger mais o produto.

Recentemente, tem aumentado a utilização das nanopartículas como aditivos para melhorar o desempenho e as propriedades de embalagens. Destacam-se os trabalhos usando nanofibras de celulose (MOHANTY et al., 2003). As nanofibras de celulose são materiais de baixo custo e amplamente disponíveis. Além disso, são ambientalmente “amigáveis”, facilmente recicláveis e exigem baixo consumo de energia na fabricação, tornando-se uma classe de nanomateriais atraente para a elaboração de nanocompósitos de baixo custo e de alta resistência (PODSIADLO et al., 2005).

Entre os filmes poliméricos produzidos à base de fontes naturais, destacam-se os produzidos à base de amido (FAMÁ et al., 2006; KECHICHIAN, 2007), nos últimos anos a matéria-prima predominante para a produção de polímeros biodegradáveis é o amido de milho, talvez por ser a principal fonte de amido produzido no mundo (64 %), seguido pelo de batata-doce (13 %) e pelo da mandioca (11 %) (SOUZA; DITCHFIELD; TADINI, 2010). Os filmes elaborados à base de amido são transparentes, fáceis de processar, fornecem boa barreira contra oxigênio e dióxido de carbono, são facilmente biodegradáveis e compatíveis com a maioria dos materiais; o que facilita a mistura na sua elaboração. Suas principais desvantagens são a alta permeabilidade ao vapor de água, a solubilidade em água, e a baixa resistência mecânica quando comparada aos plásticos convencionais derivados do petróleo (SOUZA; DITCHFIELD; TADINI, 2010).

Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da adição de diferentes conteúdos de nanofibras celulósicas de eucalipto em filmes poliméricos nas suas propriedades ópticas.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Obtenção de caracterização das nanofibras celulósicas

Nanofibras foram obtidas a partir da polpa branqueada comercial de Eucalipto em água utilizando-se um desfibrilador mecânico (Grindersupermasscoloider MKCA6-3, MASUKO SANGYOU Co., Ltda.) com velocidade de trabalho de 1700 rpm e corrente elétrica de 5A. A suspensão de nanofibras utilizada foi à obtida após 90 passagens pelo moinho.

## 2.2 Preparação dos filmes de amido

3 g de amido de milho natural (Amidex 30001 CornProducts®), 20% de glicerol (plastificante) e diferentes concentrações de nanofibras de eucalipto (0%, 1%, 2% e 3%) em relação à massa de amido foram misturados, agitados e aquecidos gradualmente até o ponto de gelatinização (70°C), conforme DONHOWE; FENNEMA et al. (1994). As soluções filmogênicas obtidas foram resfriadas a temperatura ambiente, vertidas (casting) em placas de Petri e mantidas em uma estufa a 30°C por dois dias para secagem e obtenção dos filmes.

## 2.3 Propriedades ópticas

As leituras foram realizadas com espectrofotômetro de cor (colorímetro Konica Minolta, CM-5), com ângulo de observação 10° e iluminante D65 para obter as coordenadas  $L^*a^*b^*$  ( $L^*$  = luminosidade, faixa de 0 (preto) a 100 (branco); parâmetro  $a^*$  = variação no eixo verde/vermelho ( $-a^*/a^*$ ) e o parâmetro  $b^*$  = variação no eixo azul/amarelo ( $-b^*/b^*$ )). As leituras foram realizadas no padrão C.I.E.  $L^*a^*b^*$ , onde os valores  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  são usados para calcular a diferença de cor, o  $C^*$  = croma (representando a intensidade da cor ou saturação) e o  $H^*$  = ângulo Hue (vermelho a 0°, amarelo a 90°, verde a 180°, e azul a 270°).

As alterações em cada parâmetro individual de cor foram calculadas de acordo com as Eq. 1 a 3 (HUNTERLAB, 1996):

$$\Delta L^* = L^* - L^*_0 \quad (1)$$

$$\Delta a^* = a^* - a^*_0 \quad (2)$$

$$\Delta b^* = b^* - b^*_0 \quad (3)$$

Onde:  $L^*_0$ ,  $a^*_0$  e  $b^*_0$  referem-se ao parâmetro inicial de cor da amostra. A diferença total de cor ( $\Delta E^*$ ) foi determinada usando a Eq.4, de acordo com HUNTERLAB (1996):

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2 + (\Delta L^*)^2} \quad (4)$$

A cromaticidade ou croma ( $C^*$ ) foi obtida pela equação:  $C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}}$ , na qual, a e b são parâmetros de  $L^*a^*b^*$ . O ângulo Hue é definido como iniciando no eixo +a e é expresso em graus, sendo que 0° corresponde a +a (vermelho), 90° corresponde a +b (amarelo), 180° corresponde a -a (verde) e 270° corresponde a -b (azul). O valor de Hue é a variável que melhor representa a evolução de coloração.

Para o cálculo de tonalidade empregou-se a fórmula do ângulo Hue ( $H^*$ ) de acordo com os valores de  $a^*$  e  $b^*$  obtidos, da seguinte forma:

- Valores de  $a^*$  e  $b^* > 0$ :  $H^* = \arctg(b^*/a^*)$
- Valores de  $a^* < 0$  e  $b^* > 0$ :  $H^* = 180^\circ + \arctg(b^*/a^*)$
- Valores de  $a^*$  e  $b^* > 0$ :  $H^* = 270^\circ + \arctg(b^*/a^*)$
- Valores de  $a^*$  e  $b^* > 0$ :  $H^* = 360^\circ + \arctg(b^*/a^*)$

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da análise de cor dos filmes utilizando o espectrofotômetro estão representados na Tabela 1.

**Tabela 1.** Valores médios dos parâmetros de cor para filmes de amido reforçados com diferentes conteúdos de nanofibras de eucalipto obtidas por processo mecânico.

	1% de nanofibras	2% de nanofibras	3% de nanofibras
Diferença total cor ( $\Delta E^*$ )	1,64	1,29	1,44
Croma ( $C^*$ )	0,44	0,2	0,17
Ângulo (Hue) ( $H^*$ )	1,41	1,15	1,22

*L* (luminosidade) 0=preto e 100=branco, *a* (-verde, + vermelho) e *b* (-azul, +amarelo), seguindo a metodologia de Ghopardeet *et al.* (1995).

Os filmes apresentaram diferença de cor variando de 1,29 à 1,64, sendo que os filmes foram avaliados quanto à diferença de cor com relação aos filmes de amido sem adição de nanofibras. Os filmes com adição de 1% de nanofibras apresentaram valores maiores (1,64) quando comparados com 3% de adição de nanofibras (1,44). A dispersão da nanofibra pode influenciar a diferença de cor com relação ao padrão (0% de adição de nanofibras – matriz de amido). Alguns autores afirmam que a nanofibra dispersa em uma matriz polimérica melhora a opacidade (transparência) dos filmes (Mohanty *et al.*, 2003; Podsiadlo *et al.*, 2005) o que pode explicar o menor valor de diferença de cor para os filmes com 2% de nanofibra.

Croma é parte da cor, na qual não há participação da luminosidade, representada no espaço bidimensional. O material é considerado transparente quando a luz incidente o atravessa com mínimo de absorção e reflexão. O oposto da transparência é a opacidade, onde o objeto absorve ou reflete toda luz nele incidente, sem que ocorra a transmissão de luz. A cor das amostras transparentes é avaliada pela transmissão da luz, fazendo a leitura da luz transmitida (Ferreira, 1991).

O croma ( $C^*$ ) define a intensidade de cor, ou seja, valores próximos a zero são indicativos de cores neutras (branco e/ou cinza) e valores ao redor de 60 indicam cores vívidas e/ou intensas (FERNANDES *et al.*, 2010). O ângulo hue representa a coloração ou tonalidade. Sendo assim, os filmes apresentaram-se neutros e com tonalidades próximas, indicando que a presença de nanofibras não modificou a aparência ou a coloração dos filmes de amido adicionados de nanofibras de eucalipto.

#### 4 CONCLUSÃO

Conclui-se que a presença de nanofibras não modificou a coloração dos filmes, constituindo um ponto positivo para sua aplicação em embalagens alimentícias. Não ocorreram mudanças significativas dos valores de luminosidade, além de apresentarem-se neutros e com tonalidades próximas.

#### AGRADECIMENTOS

UFLA, FAPEMIG, CNPq e CAPES pelo apoio financeiro.

#### REFERÊNCIAS

FAMÁ, L.; FLORES, S. K.; GERSCHENSON, L.; GOYANES, S. Physical characterization of cassava starch biofilms with special reference to dynamic mechanical properties at low temperatures. *Carbohydrate Polymers*. v. 66(1), p. 8-15, 2006.

KECHICHIAN, V. Adição de ingredientes antimicrobianos em filmes biodegradáveis à base de fécula de mandioca. 2007. 98 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

MOHANTY, A. K.; DRZAL, L. T.; MISRA, M. Nano-reinforcement of bio-based polymers-the hope and reality. *Polymeric Materials: Science and Engineering*, New Jersey, v. 88, p. 60-61, 2003.

PODSIADLO, P.; CHOI, S. Y.; SHIM, B.; LEE, J.; CUDDIHY, M.; KOTOV, N.A. molecularly engineered nanocomposites: layer-by-layer assembly of cellulose nanocrystals. *Biomacromolecules*, Washington, v. 6, n. 6, p. 2914-2918, 2005. <http://dx.doi.org/10.1021/bm050333u>.

SOUZA, A. C.; DITCHFIELD, C.; TADINI, C. C. Biodegradable films based on biopolymers for food industries. In M. L. Passos, & C. P. Ribeiro (Eds), *Innovation in Food Engineering: New techniques and products*, Boca Raton, FL: CRC Press, p.511-537, 2010.

## CARACTERIZAÇÃO LIGNOCELULÓSICA DE FIBRAS DE FOLHAS DE ABACAXIS SILVESTRES E HÍBRIDOS.

\*Raiza Maria Prado Barboza<sup>1</sup>, Alfredo Rodrigues de Sena Neto<sup>2</sup>, Fernanda Vidigal Duarte Souza<sup>3</sup>, Luis Henrique Capparelli Mattoso<sup>4</sup>, José Manoel Marconcini<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>UFSCar, São Carlos, SP. <sup>2</sup>PPGCEM-UFSCar, São Carlos, SP. <sup>3</sup>Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA. <sup>4</sup>Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos, SP.  
\*raiza\_mprado@hotmail.com

**Classificação:** Bionanocompósitos.

### Resumo

Fibras de folhas de abacaxis de doze variedades diferentes foram caracterizadas com relação à sua composição química: teores de extrativos, lignina, holocelulose, celulose e hemicelulose; foram ensaiadas sob tração. As fibras estudadas obtiveram valores de módulo elástico variando entre 37 a 86GPa e a resistência à tração entre 629 a 1309MPa; caracterizando todas as variedades de fibras estudadas aptas para utilização como reforço mecânico em compósitos poliméricos. Observou-se correlação diretamente proporcional entre o módulo elástico e o teor de celulose.

**Palavras-chave:** Caracterização lignocelulósica; Fibras vegetais; Abacaxis; Reforço em compósitos.

### LIGNOCELLULOSIC CHARACTERIZATION OF PINEAPPLES LEAF FIBER WILD AND HYBRIDS.

#### Abstract

Leaf fiber of twelve different varieties of pineapples were characterized with respect to their chemical composition: levels of extractives, lignin, holocellulose, cellulose and hemicellulose; were tested under tensile test. The fibers studied had elastic modulus values from 37 to 86GPa and the tensile strength between 629 to 1309MPa; characterized all varieties of fibers studied mechanical suitable for use as reinforcement in polymer composites. There was directly proportional correlation between the elastic modulus and the cellulose content.

**Keywords:** Lignocellulosic characterization; Vegetable fibers; Pineapples; Composites Reinforcements.

## 1 INTRODUÇÃO

Conforme trabalho de Sena et al. (2013), entre as variedades de abacaxis existem diferenças nas propriedades térmicas e mecânicas, dando opções na escolha de determinada fibra para ser utilizada como reforço em compósitos, conforme a utilização e o processamento. As fibras vegetais são constituídas, principalmente, por lignina, celulose e hemicelulose, além de ácidos graxos, açúcares livres, amido, pectina, inorgânicos, entre outros (Rowell et al. 2000). As propriedades das fibras vegetais podem ser correlacionadas com alguns parâmetros estruturais e, conforme alguns autores, o teor de celulose influencia nas propriedades mecânicas da fibra (McLaughlin e Tait, 1980; Mukherjee e Satyanarayana, 1986; Rowell et al. 1997).

Este estudo mediu propriedades mecânicas de tração, de fibras de folhas de 12 cultivares silvestres e híbridos de abacaxis, com objetivo de identificar fibras para serem utilizadas como reforço mecânico em compósitos poliméricos biodegradáveis. Caracterizou-se também os teores de extrativos, lignina, holocelulose, celulose (celulose na forma nativa) e hemicelulose. Esses resultados serviram de base para seleção direta e ou para programa de melhoramento genético com intuito da utilização da fibra da folha de abacaxi como reforço mecânico em compósitos poliméricos.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Doze acessos de fibras de folhas de abacaxis, identificados na Tabela 1 tiveram as folhas cortadas, e as fibras foram separadas mecanicamente das folhas por máquina desfibradora, com posterior secagem em estufa com circulação de ar, por 48 horas a 40°C. Além dos doze acessos, fibras das folhas do curauá foram utilizadas como referência.

Os dozes acessos tiveram suas fibras caracterizadas quanto aos seus constituintes lignocelulósi-

cos. Os extrativos foram retirados e medidas as massas após três etapas: refluxo em Soxhlet por 06 horas, em acetona; autoclavagem em água 121°C e 1,1kgf/cm<sup>2</sup> por meia hora; e por fim, 06 horas de refluxo em Soxhlet com mistura 1:1 hexano-etanol (vol/vol). A lignina insolúvel foi isolada das fibras sob hidrólise ácida com solução 72% de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (vol/vol), conforme norma TAPPI T13m-54. E a concentração da lignina solubilizada foi calculada com os valores da absorvância conforme equação  $C(g/l) = (4,53 \cdot A_{215} - A_{280}) / 300$ . O teor de holocelulose (carboidratos totais presentes: celulose e hemicelulose) foi obtido conforme norma TAPPI T19m-54, utilizando ácido acético glacial e clorito de sódio (P.A. 80%vol/vol). Para o teor da celulose foram seguidos procedimentos da norma TAPPI T19m-54. O teor de hemicelulose é obtido pela diferença entre o teor de holocelulose e celulose. Todos os procedimentos de caracterização lignocelulósica foram realizados com fibra de um curauá comercial para comparar os seus resultados com o de outros trabalhos publicados, no intuito de confirmar que todos os procedimentos empregados da metodologia estão adequados na caracterização de fibra de folhas de abacaxis diversos, já que não existem trabalhos anteriores como comparativo para os doze acessos estudados.

As fibras foram ensaiadas sob tração conforme norma ASTM D3379-75. Foi utilizada máquina de ensaios universais, EMIC DL3000, com velocidade de ensaio de 5mm\*min<sup>-1</sup>.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As variações dos valores médios para cada cultivar, de extrativos, lignina, celulose, hemicelulose e holocelulose obtidos, com os respectivos pequenos desvios padrões, caracterizam os doze acessos como distintos entre eles, pela composição química (Tabela 1). Os extrativos do curauá obtiveram o valor de 6%. A lignina, celulose e hemicelulose ficaram respectivamente em 9,73 e 12%, ficando dentro do encontrado na literatura (Satyanarayana et al. 2007), indicando que a metodologia para caracterização lignocelulósica foi eficiente. Os percentuais de extrativos variaram para os doze acessos entre 4 e 9%, superiores aos valores informados de 2,5 a 4% (Satyanarayana et al. 2007), para curauá e abacaxi comercial, respectivamente, confirmando que o método adotado para extração foi eficiente. A lignina solúvel variou de 0,5 a 1,6% e a lignina total variou de 23 a 52%. Os doze acessos estudados apesar de serem todos do gênero Ananas, apresentaram valores superiores aos citados na literatura (Satyanarayana et al. 2007, Correa 2010) (7,5 a 12%). Conforme mostrado na Tabela 1, os valores de celulose (66 a 76%), hemicelulose (7 a 16%) e holocelulose (77 a 88%) apresentaram valores iguais ou sutilmente inferiores aos apresentados por outros autores para outras variedades de Ananas (Satyanarayana et al. 2007, Correa 2010).

Os ensaios de tração das fibras apresentaram características frágeis. Os módulos elásticos variaram entre 37 e 86GPa e a resistência à tração variou de 629 a 1309MPa. Os valores de módulo elástico e resistência a tração foram superiores em relação a outros acessos de fibras de folhas de abacaxis: com valores respectivamente de 15 a 52GPa e de 212 a 691MPa (Sena Neto et al. 2013). Os valores de módulo elástico e resistência à tração apresentados pelas fibras dos doze acessos estão dentro das faixas de valores apresentados pelo curauá (Satyanarayana et al. 2007; Tomczak et al. 2007.16,18), uma fibra com utilização como reforço mecânico já consolidado (Leão et al. 2009). Por outro lado, os valores de módulo e resistência à tração foram superiores em relação a outras fibras como as de abacaxis comerciais (Satyanarayana et al. 2007). Os altos valores de módulo elástico e resistência à tração, apresentados pelas fibras ensaiadas indicam que qualquer um dos 12 acessos avaliados pode ser utilizado como reforço mecânico, quando o objetivo é aumentar o módulo elástico ou a resistência à tração de um compósito.

**Tabela 1.** Identificação das fibras de folhas de abacaxis, teores constituintes lignocelulósicos, resultados de módulo elástico (E) e resistência à tração ( $\sigma_s$ ).

Fib. <sup>a</sup>	Descrição	Ext. <sup>b</sup>	Lignina			Holocelulose			E (GPa)	$\sigma_s$ (MPa)
			Sol. <sup>c</sup>	Insol. <sup>d</sup>	Tot. <sup>e</sup> (%)	Cel. <sup>f</sup>	Hemi. <sup>g</sup>	Tot. <sup>e</sup> (%)		
1	Neoglasiovia	8	1,0%	37%	38±1	70%	7%	77±3	37±18	629±312
2	Erect x Bract PL 02	9	1,6%	31%	33±1	70%	15%	85±6	51±14	1049±382
3	Erect x Bract PL 01	7	0,9%	23%	24±6	72%	11%	83±3	59±19	1092±414

Fibra<sup>a</sup>, Extrativos<sup>b</sup>, Solúvel<sup>c</sup>, Insolúvel<sup>d</sup>, Total<sup>e</sup>, Celulose<sup>f</sup>, Hemicelulose<sup>g</sup>.

Fib. <sup>a</sup>	Descrição	Ext. <sup>b</sup>	Lignina			Holocelulose			E (GPa)	$\sigma_s$ (MPa)
			Sol. <sup>c</sup>	Insol. <sup>d</sup>	Tot. <sup>e</sup> (%)	Cel. <sup>f</sup>	Hemi. <sup>g</sup>	Tot. <sup>e</sup> (%)		
4	739 x 17-PL03	8	0,9%	36%	37±1	71%	12%	83±1	59±17	1071±444
5	750 x 128 - PL01	8	1,0%	22%	23±2	73%	12%	85±5	73±23	1231±508
6	126 x 804 - PL08	6	0,5%	33%	33±5	76%	12%	88±0	86±17	1221±348
7	526 x 804 - PL01	6	0,8%	23%	24±3	72%	15%	87±10	75±16	1100±366
8	526 x 804 PL05	6	1,0%	30%	31±1	72%	15%	87±0	76±21	1309±473
9	750 x 128 - PL02	7	1,0%	39%	40±4	66%	16%	82±2	66±19	891±387
10	Prima X Macro (716)	7	0,7%	40%	41±1	68%	14%	82±4	50±15	832±354
11	PL65	4	0,7%	51%	52±2	70%	16%	86±2	69±15	988±344
12	BGA 110 (bract)	8	0,9%	33%	33±1	67%	12%	79±10	75±25	828±317

Fibra<sup>a</sup>, Extrativos<sup>b</sup>, Solúvel<sup>c</sup>, Insolúvel<sup>d</sup>, Total<sup>e</sup>, Celulose<sup>f</sup>, Hemicelulose<sup>g</sup>.

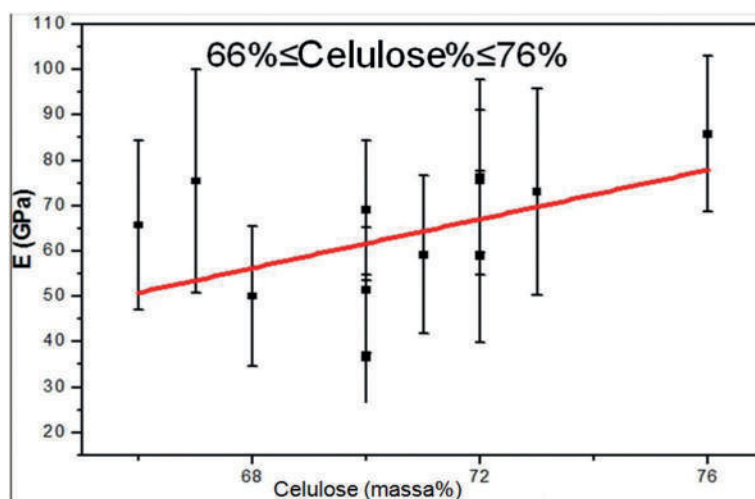


Figura 1. Módulo elástico em função do teor de celulose.

O módulo elástico apresenta tendência de incremento com o aumento do teor de celulose (Figura 1). Este comportamento já foi observado e é justificado por Mukherjee e Satyanarayana (1986); e McLaughlin e Tait (1980), ou seja, o módulo elástico e a resistência à tração possuem uma relação direta com a quantidade de celulose na fibra vegetal. Utilizando-se da equação experimental obtida na correlação do módulo elástico em função do teor de celulose ( $E = 2,7 * (\text{Celulose}\%) - 127,2$ ) para o valor de 100% de celulose, obtém-se um módulo elástico de 142,8 GPa. Este valor é próximo do valor do módulo elástico da celulose isolada, medido via microscopia de força atômica, por Iwamoto et al. (2009): entre 145,2 ( $\pm 31,3$ ) e 150,7 GPa ( $\pm 28,8$  GPa). Validando-se a correlação da dependência do módulo elástico das fibras estudadas com o teor de celulose contido nelas. Como pode ser utilizado o teor de celulose para se realizar seleção de fibras para utilização como reforço mecânico em compósito poliméricos.

#### 4 CONCLUSÃO

Os teores de extrativos variaram de 4 a 9%, a lignina total variou de 23 a 52%, a celulose de 66 a 76%, hemicelulose de 7 a 16% e holocelulose de 77 a 88%. Os módulos elásticos variaram entre 37 e 86GPa e a resistência à tração variou de 629 a 1309MPa, valores superiores aos de outras fibras vegetais. Foi observada relação direta entre os módulos elásticos e os teores de celulose das fibras, podendo a celulose ser utilizada como parâmetro para seleção de fibras vegetais.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a CNPq, CAPES, FINEP, FAPESP, PPGCEM/UFSCar e Embrapa pelo suporte financeiro.

#### REFERÊNCIAS

Correa, A.C. 2010. Preparação de nanofibras de celulose a partir de fibras de curauá para o desenvolvimento de nanocompósitos poliméricos com EVA. Tese, Universidade Federal de São Carlos.

Iwamoto, S., Kai, W., Isogai, A., & Iwata, T. (2009). Elastic modulus of single cellulose microfibrils from tunicate measured by atomic force microscopy. *Biomacromolecules*, 10(9), 2571-2576.

Leão, A.L.; Machado, I.S.; de Souza, S.F.; Soriano, L. 2009. Production of curauá (*Ananas erectifolius* L.B. Smith) fibers for industrial applications: characterization and micropropagation. *Acta Horticulturae (ISHS)* 822, 227-238

McLaughlin, E.C.; Tait, R.A. 1980. Fracture mechanism of plant fibres. *Journal of Materials Science* V 15 N 1.

Mukherjee, P.S.; Satyanarayana, K.G. 1986. Structure and properties of some vegetable fibers, Part 2: Pineapple fibre. *J. Mater. Sci.* 21, 51-56.

Rowell, R.M.; Han, J.S.; Rowell, J.S. 2000. Characterization and factors affecting fiber properties. In Frollini, E.; Leão, A.L.; Mattoso, L.H.C. (Eds.) *Natural polymers and agrofibers based composites*. São Carlos, Embrapa Instrumentação Agropecuária.

Rowell, R.M.; Young, R.A.; Rowell, J.K. 1997. *Paper and composites from agro-based resources*. Lewis Publishers, New York.

Satyanarayana, K.G., Guimarães, J.L. Wypych, F. 2007. Studies on lignocellulosic fibers of Brazil. Part I: Source, production, morphology, properties and applications, *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, Volume 38, Issue 7, Pages 1694-1709.

Sena Neto A.R.; Araujo M.A.M.; Souza, F.V.D.; Mattoso, L.H.C.; Marconcini, J.M. 2013. Characterization and comparative evaluation of thermal, structural, chemical, mechanical and morphological properties of six pineapple leaf fiber varieties for use in composites. *Industrial Crops and Products*, 43, pp529-537.

Tomczak, F.; Satyanarayana, K.G.; Sydenstricker, T.H.D. 2007. Studies on lignocellulosic fibers of Brazil: Part III – Morphology and properties of Brazilian curauá fibers. *Composites Part A*, 38, pp.2227–2236.



## EXTRATO DE ALGAROBA COMO FONTE ALTERNATIVA PARA PRODUÇÃO DE CELULOSE BACTERIANA

\*E. S. Nascimento<sup>1</sup>, H. S. L. Lima<sup>1</sup>, F. K. Andrade<sup>2</sup>, A. I. S. Brígida<sup>3</sup>, M. F. Borges<sup>2</sup>, J. P. S. Morais<sup>4</sup>, C. R. Muniz<sup>2</sup>, M. S. M. Souza Filho<sup>2</sup>, M. F. Rosa<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal do Ceará. <sup>2</sup> Embrapa Agroindústria Tropical. <sup>3</sup> Embrapa Agroindústria de Alimentos. <sup>4</sup> Embrapa Algodão.  
\*eligenessampaio@hotmail.com

**Classificação:** Bionanocompósitos.

### Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar o extrato de vagens de algaroba (*Prosopis juliflora*) como fonte alternativa de carbono para produção de celulose bacteriana (CB) através de fermentação por *Gluconacetobacter hansenii* ATCC 23769. O extrato foi caracterizado quanto a quantidade de açúcares, pH e sólidos solúveis. Com o intuito de obter um meio de cultura mais adequado, foram realizados estudos sobre a influência da concentração inicial de açúcares, do pH inicial e da suplementação do meio com extrato de levedura na produção de CB. A melhor produção foi proveniente da fermentação do extrato de algaroba diluído para uma concentração de açúcares de 30 g/L, pH inicial 4,0 e suplementado com 10 g/L de extrato de levedura. As películas obtidas do extrato com condições melhoradas foram secas e caracterizadas por, DSC, TGA, DRX, FTIR e MEV apresentando resultados típicos de celulose bacteriana quando comparados à CB produzida em meio de referência.

**Palavras-chave:** Celulose Bacteriana; Algaroba; Fermentação; Biomassa; Agronegócio.

### MESQUITE EXTRACT AS ALTERNATIVE SOURCE FOR PRODUCTION OF BACTERIAL CELLULOSE

#### Abstract

The aim of this study was to evaluate the extract of mesquite pods (*Prosopis juliflora*) as an alternative carbon source for the production of bacterial cellulose (CB) through fermentation by *Gluconacetobacter hansenii* ATCC 23769. The amount of sugars, soluble solids, and pH of the extract were characterized. The influence of the initial sugar concentration, pH, and the nitrogen supplementation with yeast extract on BC production were evaluated. The largest BC production was achieved using a mesquite medium with a sugar concentration of 30 g/L, pH 4.0, supplemented with 10 g /L of yeast extract. The pellicles from the optimized medium were dried and characterized by XRD, DSC, TGA, FTIR and SEM. The results were similar to typical bacterial cellulose films produced in the reference medium.

**Keywords:** Bacterial Cellulose; Mesquite; Fermentation; Biomass; Agribusiness.

#### Publicações relacionadas

NASCIMENTO, E. S. Extrato de Algaroba como Fonte Alternativa para Produção de Celulose Bacteriana. Dissertação de Mestrado em Engenharia Química – Universidade Federal do Ceará, 2013.

## 1 INTRODUÇÃO

O crescente interesse por materiais poliméricos biodegradáveis vem alavancando estudos que insiram fontes renováveis como matéria-prima para uma produção dentro do conceito de química verde e dentre estas fontes renováveis encontra-se a algaroba, fruto da algarobeira, planta do gênero *Prosopis*, rica em carboidratos fermentescíveis, com energia bruta comparável à do milho (STEIN *et al.*, 2005; OLIVEIRA, 2011).

Os avanços tecnológicos inserem a celulose bacteriana (CB) no campo dos biomateriais de alto potencial por ser uma forma pura de celulose secretada por bactérias pertencentes, principalmente, ao gênero *Gluconacetobacter*. Trata-se de um material com propriedades únicas, incluindo alta hidrofiliabilidade e cristalinidade, alta resistência à tensão, rede de fibras ultrafinas e a possibilidade de ser moldada em estruturas tridimensionais (3D) e nanométricas durante a sua síntese (ANDRADE *et al.*, 2010).

A espécie *G. hansenii* é gram-negativa, tolerante a condições ácidas, cresce em uma faixa de temperatura entre 15°C - 35°C e utiliza diversas fontes de carbono para produzir, de forma estática ou

agitada, celulose bacteriana que devido as suas características físicas e mecânicas possui um papel bastante promissor para aplicações em diversas áreas (CHAWLA et al., 2009; TROVATTI et al., 2011).

Nesse contexto, o presente trabalho investigou a potencialidade do uso do extrato de algaroba como fonte de nutrientes, na produção de CB utilizando a bactéria *Gluconacetobacter hansenii* ATCC 23765.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

As vagens de algaroba foram provenientes da região do Trairi, CE (TR) e Campina Grande, PB (CG). Os extratos obtidos foram caracterizados quanto ao teor de sólidos solúveis, pH e densidade. A quantificação de açúcares foi determinado por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e pelo método do ácido dinitrosalísílico (DNS) (MILLER, 1959). O nitrogênio total foi quantificado empregando-se o método micro-Kjedahl.

O inóculo foi obtido previamente utilizando a bactéria *G. hansenii* ATCC 23765 em caldo HS descrito por Hestrin e Schramm (1954) esterilizado (121°C / 15 min) e incubado a 30°C por 72 horas.

Os efeitos da concentração inicial de açúcares (2,5 a 30 g/L), do pH inicial da fermentação (4 a 8), concentração de extrato de levedura (EL) (0 a 15 g/L) como fonte de nitrogênio e do tempo de fermentação (0 a 15 dias) na produção e rendimento de CB (g/L), foram avaliados. Os meios em teste foram distribuídos adicionando 100mL em cada placa de Petri com 14,5cm de diâmetro com 3% (v/v) de inóculo e incubadas em B.O.D, (30°C / 5 dias). Após o período de incubação, o extrato fermentado foi separado para análises posteriores e as películas foram purificadas em solução de NaOH 4% (m/v) (80 °C / 30 min). Para a produção das amostras de CB controle foi utilizado o meio de referência HS (HESTRIN; SCHRAMM, 1954). Após a purificação, as películas foram lavadas em água destilada até pH neutro, secas em estufa a 100 °C por 15 min e caracterizadas por termogravimetria (TGA), calorimetria exploratória diferencial (DSC), difração de raios X (DRX) e espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR). Para as análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV) as películas foram liofilizadas.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Produção de CB utilizando extrato de algaroba

Os teores de açúcares totais dos extratos variaram de 93,7g/L (TR) a 89,8 g/L (CG), sendo a frutose o principal constituinte. Esse carboidrato compõe em torno de 38% (m/v) o extrato de algaroba do Trairi e 35% (m/v) o extrato de Campina Grande, seguido de celobiose com 33 e 32%, respectivamente, e glicose contribuindo com cerca de 28% (TR) e 31% (CG). Oliveira (2011), avaliando a composição de açúcares redutores das vagens da algaroba encontrou um total de 43,5 g/L. O teor de nitrogênio dos extratos variou de 1,1 g/L (TR) a 2,0 g/L (CG), sendo similares ao encontrado no HS (1,2 g/L), meio sintético de referência para produção de CB.

De acordo com os resultados, a concentração de açúcar de 30 g/L apresentou um maior ganho de massa de CB, com um rendimento de 7%, sendo, portanto selecionada como a melhor condição inicial de açúcar para a produção de CB a partir do extrato de algaroba. Em relação ao pH inicial da fermentação, os melhores rendimentos (15 e 11%) e a melhor produção de CB (0,8 e 0,7 g/L) foram obtidos em pH's 4,0 e 5,0 respectivamente, e não apresentaram diferença significativa. Um aumento de 75% da produção de CB foi observado quando substrato sem suplementação ( $\Delta$ CB = 0,8 g/L) é comparado ao substrato suplementado ( $\Delta$ CB = 1,2 g/L). Estudos evidenciam que a eficácia do extrato de levedura, utilizado como fonte de nitrogênio para produção de CB, é a maior dentre outros compostos já testados, como peptona e milhocina (JUNG, et al 2010; GOTTSCHALK et al 2010). O resultado para o estudo da influência do tempo no rendimento da CB obtida a partir do extrato de algaroba variou de 3,6 a 6,1%, sendo seu maior valor obtido no quinto dia de cultivo, o que se leva a acreditar que nesse tempo a bactéria metabolizou o açúcar contido no substrato favorecendo também a produção de CB visto que o maior resultado (1,4 g/L) foi obtido no quinto dia de cultivo.

Portanto, as condições de melhor produção e rendimento de CB são obtidas quando o meio a base de extrato de algaroba possui uma concentração inicial de açúcar de 30g/L, pH 4,0, suplementação com 10g/L de extrato de levedura e após 5 dias de fermentação.

### 3.2 Caracterizações

As curvas das análises de TGA e DSC apresentaram perfis característicos de CB. Nesta etapa todas as análises foram comparadas com a CB produzida no meio sintético padrão (HS). Em ambas as curvas ocorreu um primeiro evento na temperatura em torno de 100 °C, característico da perda de umidade, e um segundo evento em temperatura acima de 350°C indicando decomposição e degradação da celulose (ROMAN; WINTER, 2004). O índice de cristalinidade (IC) da CB proveniente do extrato de algaroba foi de 92%, confirmando que a estrutura da CB obtida a partir do extrato de algaroba não foi alterada no que concerne à uma das mais importantes características da CB. A técnica de FTIR permitiu verificar e confirmar a efetividade da purificação da celulose bacteriana, através de lavagens da película com NaOH 4% (m/v), uma vez que os espectros mostraram perfis característicos de CB, estando ausentes bandas referentes à nitrogênio, estruturas protéicas, ou de outros possíveis contaminantes, indicando assim a pureza das amostras. Através das análises de MEV foram observadas estruturas em rede, composta por um emaranhado de fibras tipicamente nanométricas, tanto na CB obtida a partir do extrato de algaroba em condições otimizadas quanto na CB produzida no meio sintético HS.

## 4 CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos, conclui-se que o extrato de algaroba apresenta potencial como fonte alternativa para produção de celulose bacteriana usando bactérias do gênero *Gluconacetobacter*.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq, Finep, Capes e Projeto MP1 Rede Agronano – Embrapa.

## REFERÊNCIAS

- ANDRADE, F. K.; PERTILE, R. A. N.; DOURADO, F.; GAMA, F.M. Bacterial Cellulose: Properties, Production and Applications. In: LEJEUNE A.; DEPPEZ, T. (editors). Cellulose: structure and properties, derivatives and industrial uses. Hauppauge: Nova Science Publishers, Inc. p. 427-458, 2010.
- CHAWLA, P. R.; BAJAJ, I. B.; SURVASE, S. A.; SINGHAL, R. S. Microbial cellulose: fermentative production and applications, Food Technology and Biotechnology, Zagreb, v. 47, n. 2, p. 107-124, 2009.
- GOTTSCHALK, L.M.F.; BRÍGIDA, A.I.S.; PENHA, E.M.; SILVA, J.P.L.; SOUZA, E.F.; TERZI, S.C.; VIANA, L.A.N.; OLIVEIRA, E.M.M.; Avaliação da fonte de nitrogênio na produção de celulose bacteriana pela cepa *Gluconacetobacter hansenii* ATCC 1431 em meio sintético. IXI Simp. Nacio. Biop. Agosto. 2010. Foz do Iguaçu. PR
- HESTRIN, S.; SCHRAMM, M. Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum*. Preparation of freeze-dried cells capable of polymerizing glucose to cellulose. Biochemical Journal, Londres, v. 58, n. 2, p. 345-352, 1954.
- JUNG, H. I. JEONG, J. H.; LEE, O.M.; PARK, G.T.; KIM, K.K.; PARK, H.C.; LEE, S.M.; KIM, Y.G.; SON, H.J. Production and characterization of cellulose by *Acetobacter* sp. v6 using a cost-effective molasses-corn steep liquor medium. Applied Biochemistry and Biotechnology, Berlim, v. 162, n. 2, p.486-497, 2010.
- MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Analytical Chemistry, Washington, v. 31, n. 3, p.426-428, 1959.
- OLIVEIRA, N. F. Avaliação Físico-química e funcional da algaroba *Prosopis juliflora* proveniente da mesorregião agreste do Rio Grande do Norte. Dissertação de mestrado, Univ. Fed. Rio Grande do Norte - UFRN, Fevereiro, 2011.
- ROMAN, M.; WINTER, W. T. Effect of sulfate groups from sulfuric acid hydrolysis on the thermal degradation behavior of bacterial cellulose. Biomacromolecules, Washington, v. 5, n. 5, p.1671-1677, 2004.

STEIN, R. B. D. S.; TOLEDO, R.L.A.; ALMEIDA, F.Q.; ARNAUT, A.C.; PATITUCCI, L.T.; NETO, J.S.; COSTA, V.T.M. Effects of feeding mesquite pod meal (*Prosopis juliflora* (Swartz) D.C.) for horses. Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa, v. 34, n. 4, p.1240-1247, 2005.

TROVATTI, E.; SERAFIM, L. S.; FREIRE, C. S. R.; SILVESTRE, A. J. D.; NETO, C. P. *Gluconacetobacter sacchari*: An efficient bacterial cellulose cell-factory, Carbohydrate Polymers, Amsterdam, v. 86, n. 3, p. 1417-1420, 2011.

## OBTENÇÃO DE NANOCRISTAIS DE CELULOSE BACTERIANA

Niédja Fittipaldi Vasconcelos<sup>1</sup>, José Clauber Vieira Almeida<sup>2</sup>, Lílian Chayn Alexandre<sup>3</sup>, Men de Sá Moreira de Souza Filho<sup>3</sup>, João Paulo Saraiva Morais<sup>3</sup>, \*Morsyleide de Freitas Rosa<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Ceará – UFC – Programa de Pós Graduação em Química. <sup>2</sup>Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Ceará – IFCE. <sup>3</sup> Embrapa Agroindústria Tropical – CNPAT. \*morsyleide.rosa@embrapa.br

**Classificação:** Bionanocompósitos.

### Resumo

O presente trabalho teve como objetivo obter nanocristais de celulose bacteriana (CB) por meio da hidrólise ácida. Foram investigados dois processos de hidrólise: com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e com a mistura de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e HCl. No primeiro processo, foram avaliadas concentrações de 50%, 60% e 65% (m/m) de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, com tempos de reação de 1 e 2 horas. No segundo processo, onde foi adicionado ácido clorídrico, em proporções iguais em volumes de ácidos, as concentrações de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> estudadas foram de 50%, 60% e 70% (m/m), com tempos de reação de 1 e 2 horas. Os nanocristais de celulose obtidos em cada experimento foram caracterizados por difração de raios X, potencial Zeta e análise termogravimétrica. Os resultados mostraram que os experimentos de hidrólise conduzidos com a mistura de ácidos forneceram nanocristais mais estáveis termicamente, sem alterar significativamente a estabilidade da suspensão de nanocelulose. Quanto a análise de DRX, os nanocristais obtidos através das diferentes condições de hidrólise estudadas apresentaram maior cristalinidade do que a celulose bacteriana. Os melhores resultados foram obtidos quando utilizou-se H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (50% (m/m), HCl 36,5% (m/m) durante 2 horas de reação. Nessas condições, os nanocristais de CB apresentaram a maior temperatura de degradação (296,9°C), ótima estabilidade (potencial Zeta de -40 mV), alto índice de cristalinidade (89,3%) e uma razão de aspecto de 20,1 ± 6,6 nm.

**Palavras-chave:** Celulose bacteriana; Hidrólise; Ácido sulfúrico; Ácido clorídrico; Nanocristais.

## OBTAINING BACTERIAL CELLULOSE NANOCRYSTALS: EVALUATION OF WHISKERS IN DIFFERENT ROUTES OF ACID HYDROLYSIS

### Abstract

This study aimed to obtain nanocrystals of bacterial cellulose through acid hydrolysis. Two methods of hydrolysis were investigated with H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, and a mixture of HCl and H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. In the first process, concentrations of 50%, 60% and 65% (w/w) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, with a reaction time of 1 hour was evaluated. In the second case, where hydrochloric acid was added in equal proportions by volume of acid, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrations investigated were 50%, 60% and 70% (m / m), with reaction times of 1 to 2 hours. The cellulose nanocrystals obtained in each experiment were characterized by X-ray diffraction, Zeta potential and thermal gravimetric analysis. The results showed that the hydrolysis experiments conducted with the mixture of acids providing more thermally stable nanocrystals without significantly altering the stability of the suspension nanocelulose. As for XRD analysis, the nanocrystals obtained by the different hydrolysis conditions studied showed higher crystallinity than bacterial cellulose. Among the experiments conducted, the B (50% (w / w) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 36.5% (m / m) HCl 2 hours of reaction) was defined as optimal condition. Experiment B showed the highest degradation temperature (296.9 ° C), a suspension of stable nanocrystals (-40 mV), a high crystallinity index (89.3%) and a length (L) average of 622 ± 100 nm and width (D) average of 33.7 ± 14 nm, corresponding to an aspect ratio (L / D) 20.1 ± 6.6 nm.

**Keywords:** Bacterial cellulose; Hydrolysis; Sulfuric acid; Hydrochloric acid; Nanocrystals.

## 1 INTRODUÇÃO

A celulose pode ser obtida por duas fontes: vegetal ou através de microrganismos (por exemplo, bactérias e fungos). Em ambas as fontes, a celulose apresenta a mesma composição química mas com organização estrutural diferente e, conseqüentemente, propriedades distintas. A celulose vegetal, associada a outros biopolímeros (hemicelulose e lignina), é extraída de plantas. Já a celulose sintetizada por bactérias (conhecida como celulose bacteriana - CB) é obtida praticamente pura. Devido a esse elevado grau de pureza e outras características, tais como alta porosidade, baixa densidade, elevada resistência mecânica, biocompatível, atóxica e biodegradável a celulose bacteriana vem atraindo a atenção do meio científico e tecnológico pelo fato de permitir um amplo espectro de aplicações em diversas áreas, em especial voltados para área alimentar, farmacêutica e médica.

Diante desse interesse, pesquisas estão sendo realizadas com a finalidade de obter um material mais versátil e/ou que agregue novas funcionalidades. Para isso, são utilizadas rotas de desconstrução física e/ou química das películas de CB obtendo nanoestruturas de celulose (nanofibrilas e nanocristais) que podem ser empregados na elaboração de filmes, revestimentos e nanocompósitos.

Os nanocristais de celulose ou *whiskers* podem ser obtidos por meio de hidrólise enzimática ou ácida, sendo esse último processo mais comumente empregado por demandar um menor tempo de reação. Sabe-se que as condições de hidrólise (tempo de reação, temperatura e concentração de ácido) e o tipo de ácido empregado influenciam as características físicas e morfológicas dos nanocristais. Portanto, o presente trabalho visa avaliar processos de obtenção de nanocristais de celulose bacteriana por meio da hidrólise ácida empregando diferentes tipos de ácidos fortes.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Película de celulose bacteriana

A celulose bacteriana utilizada neste estudo foi produzida pela empresa HTK Food Co., LTD, localizada na cidade de Ho Chi Minh, Vietnã, e cedida pelo Centro de Engenharia Biológica da Universidade do Minho (Braga, Portugal).

As películas foram submetidas a uma limpeza branda com NaOH 0,4% (m/v) a temperatura ambiente por 24 horas, sob agitação. Após esse tratamento o material foi lavado com água destilada até atingir pH neutro. Em seguida, as películas de CB foram cortadas em pequenos pedaços, adicionada quantidade de água suficiente para cobrir todo o material e processada em Ultra turrax por 5 min (5000 rpm). A polpa obtida foi filtrada, congelada, liofilizada e moída.

### 2.2 Obtenção de nanocristais de celulose bacteriana por hidrólise ácida

Foram realizados dois processos de hidrólise ácida, um utilizando apenas o  $H_2SO_4$  e outro a combinação de  $H_2SO_4$  e HCl.

#### 2.2.1 Hidrólise com ácido sulfúrico

No processo de hidrólise com  $H_2SO_4$  foram realizados 3 experimentos (Tabela 1), sendo um desses experimentos a reprodução das condições de hidrólise estabelecida por MOREIRA *et al.* (2009).

Para cada experimento, foram utilizados 0,6g de CB liofilizada e 60mL de solução de  $H_2SO_4$  (proporção 1:100), a 45°C (em banho de silicone), sob agitação magnética. Após a hidrólise, a suspensão de nanocristais de celulose foi diluída com água deionizada gelada, 1:15 (v:v), e centrifugada (13.000 rpm, por 15 minutos à 20°C). O material sedimentado foi ressuspense em água deionizada gelada e novamente centrifugado (procedimento repetido 3 vezes). Depois das centrifugações, a suspensão foi ultrassonicada por 3 minutos e dialisada com água deionizada, sob refrigeração e troca diária da água até pH estável e próximo a 7. A suspensão de nanocristais foi armazenada em frasco de vidro e sob refrigeração.

#### 2.2.2 Hidrólise com mistura de ácido sulfúrico e clorídrico

No processo de hidrólise com a mistura de  $H_2SO_4$  e HCl foram realizados 6 experimentos (Tabela 2). A proporção de ácidos no meio reacional foi de 1:1 v:v (mL de  $H_2SO_4$  : mL de HCl). Foram utilizados

0,6g de CB liofilizada para 30mL de solução de  $H_2SO_4$  e 30mL HCl 36,5% (m/m), mantendo-se a mesma proporção 1:100 (massa de CB liofilizada:volume de solução ácida). As condições reacionais e os procedimentos realizados após a hidrólise foram os mesmos já descritos para o primeiro processo (item 2.2.1).

As suspensões de nanocristais de celulose obtidos em cada experimento dos processos de hidrólise investigados foram avaliados quanto ao estado de agregação das partículas (potencial Zeta). Já os nanocristais foram caracterizados por TGA, DRX e MET.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 encontram-se os resultados das análises de caracterização das suspensões e dos nanocristais de celulose obtidos por hidrólise com  $H_2SO_4$ . Os experimentos 1 e 2 apresentaram valores de potencial Zeta superiores a 30 mV, indicando que a suspensão exibe boa estabilidade. A presença dessas cargas negativas se deve aos grupos sulfato ( $-SO_3H$ ) introduzidos durante o processo de hidrólise com  $H_2SO_4$  (DUFRESNE; LIN, 2014). No experimento 3\* o valor do potencial Zeta foi inferior aos outros dois, indicando menor estabilidade. A CB apresentou uma temperatura de degradação superior ao dos nanocristais. De um modo geral, a hidrólise com  $H_2SO_4$  diminui a estabilidade térmica dos nanocristais devido a presença dos grupos sulfato que atuam como catalizador da reação no processo de degradação (ROMAN; WINTER, 2004). Comparando as  $T_{onset}$  dos nanocristais, apenas o experimento 3\* mostrou uma baixa estabilidade térmica. Em relação ao índice de cristalinidade, os nanocristais obtidos através das condições 1 e 2 apresentaram valores superiores ao da CB. Já no experimento 3\* esse índice diminuiu consideravelmente. Esse fato pode ser atribuído à possível degradação da região cristalina ocasionada por condições mais severas de hidrólise.

**Tabela 1.** Potencial Zeta da suspensão de nanocristais, temperatura  $T_{onset}$  e índice de cristalinidade dos nanocristais de celulose bacteriana obtidos sob diferentes condições de hidrólise com  $H_2SO_4$ .

Ensaio	$[H_2SO_4]$ (%, m/m)	Tempo (h)	Potencial Zeta (mV)	Temperatura $T_{onset}$ (°C)	Índice de cristalinidade (%)
1	50	1	$-33,6 \pm 1,5$	220,7	90,9
2	60	1	$-53,6 \pm 0,7$	222,2	89,3
3*	65	2	$-24,7 \pm 2,1$	186,7	22,5
CB liofilizada	-----	-----	-----	334,7	78,6

\*MOREIRA *et al.* (2009)

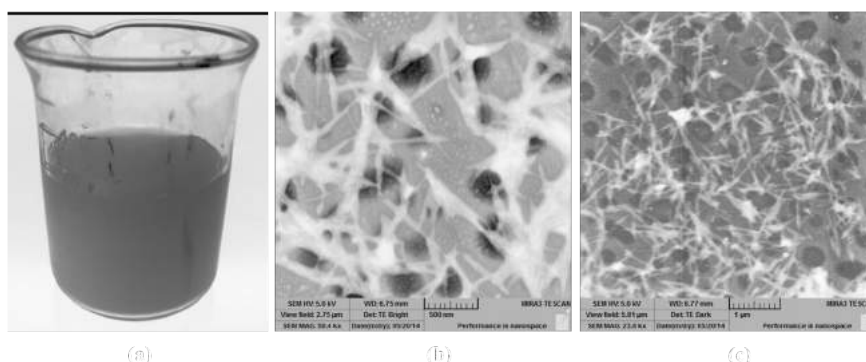
Na Tabela 2 observa-se que, em todas as condições de hidrólise realizada com a combinação de  $H_2SO_4$  e HCl, os valores de potencial Zeta, em módulo, foram superiores a 30 mV. Apesar da hidrólise com ácido clorídrico não promover reação de esterificação, todas as condições avaliadas forneceram suspensões de nanocelulose com boa estabilidade, em razão da contribuição dos grupamentos sulfato, decorrentes do uso combinado com ácido sulfúrico (DUFRESNE, 2012). Como relatado na literatura, a adição de ácido clorídrico no meio reacional melhora o comportamento térmico dos nanocristais de celulose. Isso pode ser observado quando compara-se as  $T_{onset}$  dos nanocristais obtidos pela hidrólise com  $H_2SO_4$  (Tabela 1) com os obtidos pela hidrólise com adição de ácido clorídrico (Tabela 2) (TEIXEIRA *et al.*, 2010). Em relação ao índice de cristalinidade dos nanocristais de celulose obtidos por hidrólise com a mistura de ácidos, os valores apresentados foram superiores ao da CB. Ainda, verifica-se que o aumento do tempo de reação e da concentração de  $H_2SO_4$  promoveu uma redução no índice de cristalinidade.

**Tabela 2.** Potencial Zeta, da suspensão de nanocristais, temperatura  $T_{onset}$  e índice de cristalinidade dos nanocristais de celulose bacteriana obtidos sob diferentes condições de hidrólise com a mistura  $H_2SO_4$  e HCl

Experimentos	Concentração de $H_2SO_4$ (%, m/m)	Tempo de reação (h)	Potencial Zeta (mV)	Temperatura $T_{onset}$ (°C)	Índice de cristalinidade (%)
A	50	1	$-37,7 \pm 1,1$	215,2	92,4
B	50	2	$-40,0 \pm 2,0$	296,9	89,3

Experimentos	Concentração de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (% m/m)	Tempo de reação (h)	Potencial Zeta (mV)	Temperatura onset (°C)	Índice de cristalinidade (%)
C	60	1	-43,9 ± 0,8	253,9	82,6
D	60	2	-44,3 ± 2,5	260,7	79,9
E	70	1	-35,3 ± 2,6	221,8	82,8
F	70	2	-40,1 ± 1,9	281,5	81,8

Os nanocristais de celulose bacteriana (NCCB) obtidos por hidrólise ácida utilizando 50% (m/m) de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e 36,5% (m/m) de HCl por 2 horas de reação (Experimento B) apresentaram a maior temperatura inicial de degradação (296,9°C), uma suspensão de nanocristais estável (-40 mV) e um alto índice de cristalinidade (89,3%), sendo definido como uma condição ótima de hidrólise. Os NCCB foram visualizados por MET. A Figura 1 apresenta (a) imagem da suspensão de nanocristais de celulose e (b) e (c) as micrografias dos nanocristais de celulose obtidos nessa condição.



**Figura 1.** (a) Imagem da suspensão de nanocristais de celulose bacteriana, (b) e (c) micrografias dos nanocristais por MET obtidas através da condição experimental B.

As micrografias do nanocristais de celulose bacteriana (Figura 1 - b e c) revelaram estruturas em formato de agulhas e relativamente bem dispersas. As nanoestruturas apresentaram comprimento (L) médio de  $622 \pm 100$  nm e largura (D) média de  $33,7 \pm 14$  nm, correspondendo a uma razão de aspecto (L/D) de  $20,1 \pm 6,6$  nm, valores considerados bons quando comparados com outros trabalhos (MARTÍNEZ-SANZ; LOPEZ-RUBIO; LAGARON, 2011).

#### 4 CONCLUSÃO

Foi possível obter nanocristais de celulose bacteriana pelos dois processos de hidrólise estudados, com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e com a mistura de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e HCl. Os nanocristais de CB extraídos através da mistura de ácidos apresentaram melhor estabilidade térmica, suspensão estável e alto índice de cristalinidade. Morfologicamente, os nanocristais apresentaram formato de agulhas com boa razão de aspecto ( $20,1 \pm 6,6$  nm).

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq, Embrapa, UFC, UERN e a CAPES pelo auxílio financeiro.

#### REFERÊNCIAS

DUFRESNE, A. Nanocellulose: From nature to high performance tailored materials. 1th ed. Walter de Gruyter, 2012. 460 p.

DUFRESNE, A.; LIN, N. Surface chemistry, morphological analysis and properties of cellulose nanocrystals with gradient sulfation degrees. *Nanoscale*, v. 6, p. 5384-5393, 2014.

TEIXEIRA, E. de M.; OLIVEIRA, C. R.; MATTOSO, L. H. C.; CORRÊA, A. C.; PALADIN, P. D. Nanofibras de algodão obtidas sob diferentes condições de hidrólise ácida. *Polímeros*, v. 20, n. 4, p. 264-268, 2010.

MARTÍNEZ-SANZ, M.; LOPEZ-RUBIO, A.; LAGARON, J. M. Optimization of the nanofabrication by acid hydrolysis of bacterial cellulose nanowhiskers. *Carbohydrate Polymers*, v. 85, n. 1, p. 228-236, 2011.

MOREIRA, S.; SILVA, N. B.; LIMA, J. A.; ROCHA, H. A. O.; MEDEIROS, S. R. B.; JUNIOR, C. A.; GAMA, F. M. BC nanofibras: In vitro study of genotoxicity and cell proliferation. *Toxicology Letters*, v. 189, n. 3, p. 235-241, 2009.

ROMAN, M.; WINTER, W. T. Effect of sulfate groups from sulfuric acid hydrolysis on the thermal degradation behavior of bacterial cellulose. *Biomacromolecules*, v. 5, n. 5, p. 1671-1677, 2004.

---

## PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE CELULOSE BACTERIANA OBTIDA A PARTIR DO LÍQUIDO DE SISAL

H. S. L. Lima<sup>1</sup>, E. Nascimento<sup>1</sup>, A. I. Brígida<sup>2</sup>, F. K. Andrade<sup>3</sup>, M. F. Borges<sup>3</sup>, C. R. Muniz<sup>3</sup>, L. C. Alexandre<sup>3</sup>, A. R. Cassales<sup>3</sup>, \*J. P. S. Morais<sup>4</sup>, M. F. Rosa<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Ceará. <sup>2</sup>Embrapa Agroindústria de Alimentos. <sup>3</sup>Embrapa Agroindústria Tropical. <sup>4</sup> Embrapa Algodão.  
\*joao.morais@embrapa.br

**Classificação:** Bionanocompósitos.

### Resumo

O objetivo do presente trabalho consistiu em avaliar a produção de celulose bacteriana (CB) utilizando líquido de sisal como substrato, no cultivo de *Gluconacetobacter hansenii* ATCC 23769 sob condições estáticas. Para tal, avaliou-se o efeito da concentração de açúcares, pH, suplementação do meio com fontes de nitrogênio e a relação volume /área na produção de CB. A eficiência da purificação e o grau de cristalinidade da CB obtida também foram estudados. A maior produção de CB (3,61 g/L) foi obtida após cultivo estático da bactéria durante 10 dias, utilizando o líquido de sisal suplementado com 7,5 g/L de extrato de levedura, pH 5 e com uma relação volume de meio por área de cultivo de 1,2 mL/cm<sup>2</sup>. Quanto às caracterizações térmicas (ATG e DSC), Raio-X, FTIR e MEV, a CB obtida a partir do líquido do sisal apresenta perfis semelhantes à CB obtida em meio padrão.

**Palavras-chave:** Celulose bacteriana; Líquido de sisal; *Gluconacetobacter hansenii*; Nanotecnologia, Agronegócio.

### PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF BACTERIAL CELLULOSE OBTAINED FROM SISAL JUICE

#### Abstract

The aim of this work was to evaluate bacterial cellulose (BC) production using sisal juice, an agro-industrial residue, as substrate in *Gluconacetobacter hansenii* ATCC 23769 cultivation under static conditions. The effects of sugars concentration, pH, nitrogen supplementation and the volume/area ratio were evaluated on BC production. The efficiency of BC purification process and the crystallinity index of BC were also evaluated. The higher yield of BC was obtained after 10 days of cultivation using a medium based on sisal juice with the following parameters: 15 g/L of sugars, pH 5, supplementation with 7.5 g/L of yeast extract and a volume/area ratio of 1,2 mL/cm<sup>2</sup>. The BC from sisal juice medium presented similar TGA, DSC, XRD, and FTIR properties when compared to BC from standard medium.

**Keywords:** Bacterial cellulose; Sisal juice; *Gluconacetobacter hansenii*; Nanotechnology; Agribusiness.



**Publicações relacionadas**

LIMA, H. S. L.; NASCIMENTO, E.; BRÍGIDA, A. I. S.; ANDRADE, F. K.; ROSA, M. F.; BORGES, M. F. Aproveitamento do líquido do sisal como substrato para produção de celulose bacteriana. In: XIX Simpósio Nacional de Bioprocessos. 2013.

**1 INTRODUÇÃO**

A Celulose bacteriana (CB) é um polímero natural biodegradável de fácil obtenção e grande potencial, apresentando alta resistência mecânica, alta cristalinidade, biocompatibilidade, alta porosidade e alta capacidade de absorção de água. Tais características tornam a CB um material versátil e adequado para aplicações na área biomédica, nas indústrias de papel e de alimentos e como dispositivos biotecnológicos. A CB apresenta a grande vantagem de ser naturalmente livre de lignina e hemiceluloses e pode ser facilmente obtida pelo cultivo de bactérias do gênero *Gluconacetobacter* em meio contendo açúcares e nitrogênio orgânico, apresentando-se sob a forma de uma película quando o processo fermentativo ocorre estaticamente (CHAWLA *et al.*, 2009).

No Nordeste do Brasil a produção de sisal (*Agave sisalana*) se destaca tanto pela sua importância econômica como pela quantidade de resíduos gerados em seu beneficiamento. Durante o processo de beneficiamento das fibras do sisal, que correspondem a apenas 4% da biomassa obtida, cerca de 15% de resíduos sólidos são gerados e o restante corresponde ao líquido de sisal (água e sólidos solúveis), rico em açúcares, minerais e outros compostos orgânicos. Poucos trabalhos têm sido desenvolvidos no âmbito de agregar valor a este resíduo e atualmente ele é desperdiçado no campo gerando a contaminação do solo (ANDRADE *et al.*, 2014). Nesse contexto, o objetivo do presente trabalho consiste em avaliar a produção de CB utilizando o líquido do sisal como substrato alternativo.

**2 MATERIAIS E MÉTODOS****2.1 Caracterização do líquido de sisal**

O líquido de sisal foi gerado em sistema produtivo de sisal, localizado em Pocinhos – PB/ Brasil, e fornecido pela Embrapa Algodão. O mesmo foi caracterizado quanto à sua composição de açúcares (HPLC), pH e nitrogênio total pelo método de Kjeldahl (YASUHARA *et al.*, 2001).

**2.2 Otimização da produção de CB utilizando o líquido de sisal**

Para avaliar o potencial do líquido de sisal como meio fermentativo, *G. hansenii* ATCC 23769 foi cultivada estaticamente a 30°C (B.O.D) em diferentes condições. Utilizou-se inóculo de 3% (v/v) preparado após ativação e incubação em caldo manitol. No preparo dos meios, após diluição, ajuste de pH e suplementação do líquido de sisal (quando necessário), procedeu-se à esterilização (121°C por 15 minutos). Avaliou-se o efeito inicial da concentração de açúcares (2,5 a 15 g/L), pH (3 a 8), suplementação com fontes de nitrogênio, tempo de cultivo (0 a 22 dias) e relação volume/área (0,6 a 3,6 mL/cm<sup>2</sup>) na produção de CB (g/L) e rendimento (%). A suplementação do meio com as fontes de nitrogênio foi avaliada através de um planejamento experimental 2<sup>2</sup> completo com ponto central e axial. A faixa estudada foi de 0 a 15 g/L de extrato de levedura e 0 a 10 g/L de sulfato de amônio. Em todas as etapas, após as fermentações, as películas de CB foram recolhidas e os meios fermentados analisados quanto a pH e açúcares totais (MILLER, 1959). A CB foi purificada por tratamento alcalino, por imersão das películas em NaOH 1 mol/L + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 1% (v/v) por uma hora à 80 °C. Posteriormente, foram lavadas com água destilada até pH neutro. A massa seca de CB foi determinada através de secagem e pesagem da película purificada em balança de infravermelho (170°C).

**2.3 Caracterização da CB obtida**

A película de CB obtida nas condições otimizadas (CB SISAL) e em meio padrão HS (HES-TRIN e SCHRAMM, 1954) (CB HS) foram caracterizadas por: ATG (analisador termogravimétrico Shimadzu - atmosfera de nitrogênio), DSC (DSC Q20 dpUnion - atmosfera de nitrogênio), FTIR (espectrômetro Nicolet 800 associado a uma célula MTech PAS), MEV (revestimento com platina - Zeiss DSM940A), Umidade (secagem à 170°C em balança de infravermelho), Espessura (micrômetro digital)

e DRX (difratômetro da marca Rigaku modelo DMAXB, com tubo de Cobre). O índice de cristalinidade (IC) foi estimado por deconvolução por função Gaussiana. A dimensão das nanofibras foi calculada a partir das análises de MEV.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Caracterização do líquido de sisal

O líquido de sisal apresentou as seguintes características físico-químicas: pH (4,48), 15,05 g/L de açúcares totais (82% deles constituídos por glicose, 10% de sacarose e 8% de frutose), 0,62 g/L de nitrogênio total e 3,84g/L de proteína bruta.

#### 3.2 Produção de CB utilizando o líquido de sisal

A linhagem *G. hansenii* ATCC 23769 apresentou capacidade de sintetizar CB em todo o intervalo da concentração de açúcares estudado com destaque para a concentração de 15 g/L de açúcares totais onde se obteve a maior produção (2,6 g/L). Mesmo com o aumento gradativo na produção de CB, o rendimento permaneceu estatisticamente constante (em torno de 25%) em todas as diluições testadas. A fermentação no líquido de sisal destacou-se bastante uma vez que em 2,5 g/L de açúcares totais a produção de CB (0,66 g/L) foi próxima à obtida em meio padrão HS (0,54 g/L) que é constituído por uma quantidade de açúcares 8 vezes maior. Quanto ao pH inicial da fermentação, a maior produção de CB foi observada nas condições de pH 5 e 6 (2,60 g/L), sendo o melhor rendimento em pH 5 (23,29%). Não houve produção de CB nas condições de pH 3 e 8. Quanto à suplementação do meio com fontes de nitrogênio apenas os efeitos lineares ( $\alpha=0,1$ ) foram significativos, sendo o efeito do extrato de levedura positivo e o efeito do sulfato de amônio negativo. A maior produção (3,38 g/L) foi obtida quando suplementou-se unicamente com 7,5 g/L de extrato de levedura. Nenhuma variável foi significativa para o rendimento. Quanto ao tempo de cultivo, observou-se um aumento da produção de CB com o tempo, acompanhada da redução do teor de açúcares totais, sendo a maior produção obtida no décimo dia. Quanto à relação volume/área, a maior produção (3,61 g/L) foi obtida quando a bactéria foi incubada utilizando uma relação de volume de meio por área de cultivo de 1,2 mL/cm<sup>2</sup>. Houve aumento na espessura da película de 0,08 a 2,85 mm no intervalo de 0,6 a 2,4 mL/cm<sup>2</sup>. Em 1,8 e 2,4 mL/cm<sup>2</sup> a produção por área foi estatisticamente igual ( $\approx 57$  g/m<sup>2</sup>), porém com variação da espessura de 1,95 para 2,85 mm. Tal resultado relaciona-se com diferenças na porosidade da película obtida. Os dados obtidos acima estão de acordo com a literatura onde as melhores produções de CB são obtidas em meios na faixa de 10 a 20 g/L de açúcares, pH entre 5 e 6 e suplementados com extrato de levedura ou peptona (ÇOBAN e BIYIK, 2011).

#### 3.3 Caracterização da CB obtida

As características da CB obtida no líquido de sisal foram bastante semelhantes à CB obtida no meio padrão HS (Tabela 1) e estão em acordo com a literatura (PECORARO *et al.*, 2008).

**Tabela 1.** Algumas características das películas de CB obtidas

	CB SISAL	CB HS
Índice de cristalinidade - IC (%)	93,2	91
Umidade da película (%)	97,66 ± 0,34	99,18 ± 0,06
Dimensão nas nanofibras (nm)	73,86 ± 16,20	80,39 ± 23,03
ATG - 1ª perda de massa - intervalo (°C)	0 - 100	0 - 100
ATG - 2ª perda de massa - intervalo (°C)	284 - 400	276 - 400
DTG (pico) (°C)	330	328

Na análise termogravimétrica observou-se que as películas obtidas apresentaram perfis de degradação com similares entre si. Verificou-se a existência de três etapas distintas de perda de massa e

máxima degradação 330°C (DTG), sendo portanto característico de CB. No DSC observou-se um pico endotérmico em aproximadamente 100°C referente à perda de água e um aumento do fluxo de calor em torno de 350°C sendo referente à degradação da celulose. A utilização do líquido de sisal como meio alternativo para produção de CB não comprometeu as propriedades térmicas do material resultante. A CB é um material que pode alcançar uma faixa maior de aplicações quando compara-se com a celulose vegetal uma vez que pode ser aquecida até 350°C antes de começar a se degradar. Quanto à análise de Raio-X ambas as amostras apresentaram aspecto semelhante com a presença de dois picos dominantes que permitem avaliar a presença de celulose tipo I e II. Os resultados de FTIR mostraram várias bandas relevantes típicas de CB, relacionadas com ligações OH e CH. Bandas referentes à nitrogênio, estruturas protéicas, ou possíveis contaminantes não foram encontradas, sendo indicativos de pureza das amostras de CB e a eficiência do método de purificação utilizado.

#### 4 CONCLUSÃO

O líquido do sisal é um substrato bastante promissor para a produção de CB. A condição que oferece a maior produção de CB pela bactéria *G. hansenii* ATCC 23769 é obtida através do cultivo por 10 dias sob condições estáticas utilizando meio à base de líquido de sisal contendo 15 g/L de açúcares, pH inicial 5, suplementação com 7,5 g/L de extrato de levedura e com uma relação volume de meio/área superficial de cultivo de 1,2 mL/cm<sup>2</sup>. A CB obtida do líquido de sisal apresenta propriedades semelhantes à celulose obtida em meio padrão HS quanto à capacidade de absorção de água, estabilidade térmica, pureza e dimensão das nanofibras.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq, Finep, Capes e Projeto MP1 Rede Agronano – Embrapa.

#### REFERÊNCIAS

- ANDRADE, R.; JORNELAS, J.; BRANDÃO, W. Situação atual do sisal na Bahia e suas novas possibilidades de utilização e aproveitamento. Comunicação. Disponível em: < [http://www.seagri.ba.gov.br/sites/default/files/3\\_comunicacao01v9n1.pdf](http://www.seagri.ba.gov.br/sites/default/files/3_comunicacao01v9n1.pdf)>. Acesso em: 01 jun. 2014
- CHAWLA, P. R.; BAJAJ, I. B.; SURVASE, S. A.; SINGHAL, R. S. Microbial Cellulose: Fermentative Production and Applications. *Food Technology and Biotechnology*, Zagreb, v. 47, n. 2, p. 107-124, 2009.
- ÇOBAN, E. P. L.; BIYIK, H. Effect of various carbon and nitrogen sources on cellulose synthesis by *Acetobacter lovaniensis* HBB5. *African Journal of Biotechnology*, Nairobi, v. 10, n. 27, p. 5346-5354, 2011.
- HESTRIN, S.; SCHRAMM, M. Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum*. Preparation of freeze-dried cells capable of polymerizing glucose to cellulose. *Biochemical Journal*, Londres, v. 58, n. 2, p. 345-352, 1954.
- MILLER, G. L. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Analytical Chemistry*, Washington, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.
- PECORARO, É.; MANZANI, D.; MESSADDEQ, Y.; RIBEIRO, S. J. L. Bacterial Cellulose from *Gluconacetobacter xylinus* In: BELGACEM, M. N.; GANDINI A. (Ed.) Preparation, Properties and Applications. *Monomers, Polymers and Composites from Renewable Resources*, Amsterdam, 2008. p. 372.
- YASUHARA, T.; NOKIHARA, K. High-throughput analysis of total nitrogen content that replaces the classic Kjeldahl method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Washington, v. 49, n.10, p. 4581-4583, 2001.

## NOVA ABORDAGEM PARA OBTENÇÃO DE NANOWHISKERS DE CELULOSE DA FIBRA DE COCO

J. S. ALMEIDA<sup>1</sup>, D. M. NASCIMENTO<sup>2</sup>, A. F. dias<sup>3</sup>, M. C. B. FIGUEIRÊDO<sup>4</sup>, M. S. M. SOUZA FILHO<sup>5</sup>, \*M. F. ROSA<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual do Ceará (UECE). <sup>2</sup> Universidade Federal do Ceará (UFC). <sup>3</sup> Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE). <sup>4</sup> Embrapa Agroindústria Tropical. <sup>5</sup> Embrapa Algodão.

\*morsyleide.rosa@embrapa.br

**Classificação:** Bionanocompósitos.

### Resumo

A casca de coco verde, resíduo do consumo da água de coco, apresenta baixo custo e alta disponibilidade, principalmente na região Nordeste. Seu aproveitamento pode contribuir para a redução dos resíduos sólidos urbanos e para o desenvolvimento de uma plataforma de produtos de alto valor agregado. O presente trabalho buscou estabelecer um novo processo de obtenção de nanowhiskers de celulose da fibra da casca de coco verde, de forma a melhorar o rendimento e as características das nanoestruturas. A fibra foi submetida a etapas de pré-tratamento, objetivando reduzir o teor de componentes não celulósicos, por meio de polpação acetosolv combinada com um branqueamento com peróxido de hidrogênio. Os nanowhiskers foram extraídos por hidrólise ácida com ácido sulfúrico. As amostras foram analisadas por caracterizações químicas, microscopia eletrônica e difratograma de raio-x. O processo foi considerado eficiente, pois foi possível recuperar lignina e obter uma suspensão estável e branca de nanowhiskers de celulose, livre de lignina, com elevada razão de aspecto e alto índice de cristalinidade.

**Palavras-chave:** Nanowhiskers; Polpação acetosolv; Fibra de coco; Celulose

### PROCESS OPTIMIZATION OF PRODUCTION NANOWHISKERS FROM COCONUT FIBER

#### Abstract

Coconut fiber, a residue of consumption of coconut water, has a low cost and high availability particularly in the Northeast region of the country. Its use can contribute to the reduction of solid waste and the development of a product platform high added value. This study aimed to establish a new process for extracting cellulose nanowhiskers from the coconut husk fiber. The fiber was subjected to pre-treatment step aimed at reducing the content of non-cellulosic components, by pulping acetosolv combined with a bleaching with hydrogen peroxide. The nanowhiskers were extracted by acid hydrolysis with sulfuric acid for removal of the amorphous cellulose and cellulose separation of the crystals. The samples were analyzed for chemical characterizations, electron microscopy and x-ray diffraction. The process was efficient as it was possible to recover lignin and to obtain a stable and white suspension of cellulose nanowhiskers, lignin-free, with high aspect ratio and high crystallinity index

**Keywords:** Nanowhiskers; acetosolv; Coconut fiber; Cellulose

## 1 INTRODUÇÃO

Nanoestruturas de celulose têm atraído a atenção de diversos institutos de pesquisa, Governos e empresas devido ao seu alto potencial de aplicação em materiais avançados e de alto valor agregado (REBOUILLAT; PLA, 2013). A celulose é o biopolímero mais abundante da terra e sua produção anual é de aproximadamente  $1,5 \times 10^{12}$  ton (KLEMM; SCHUMANN, 2009). Os nanowhiskers de celulose (NWC) são produtos via hidrólise ácida de fibras lignocelulósicas. Podem substituir os nanotubos de carbono como agentes de reforço por causa de seu custo relativamente baixo de produção, fácil obtenção em comparação aos nanotubos, baixa densidade (cerca de  $1,566 \text{ g/cm}^3$ ), natureza não abrasiva, biocompatibilidade e biodegradabilidade (POSTEK et al., 2011).

De acordo com Rosa et al. (2010), a fibra de coco verde é uma matéria-prima promissora para a extração dos NWC, pois é uma matéria abundante, de baixo custo e há uma alta produção nas regiões tropicais. Considerando que quanto maior o teor de lignina na fibra, menor a acessibilidade da celulose na etapa de extração dos NWC, o presente trabalho aplicou uma nova abordagem, visando remover a lignina da fibra de coco, aumentar a exposição da celulose ao subsequente ataque ácido e obter NWC,

por meio de tratamentos químicos de baixo impacto ambiental, baixo custo e com o uso de reagentes facilmente recuperáveis.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

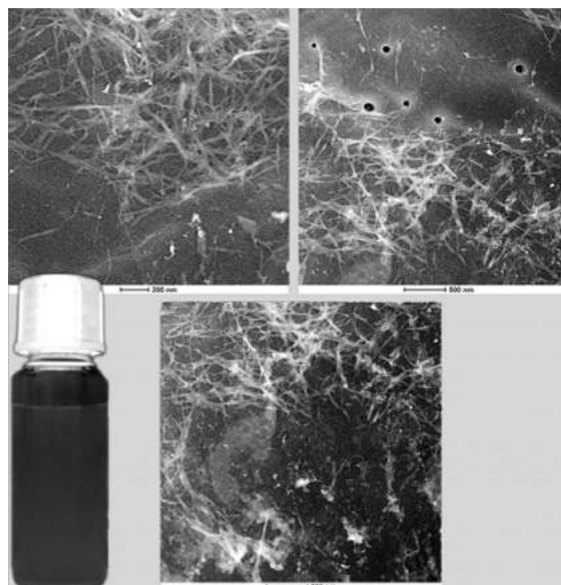
A fibra da casca de coco verde (FCC) foi submetida a polpação acetosolv em uma relação biomassa/solvente na proporção 1/10 (m/v), com ácido acético 93 % catalisada com 0,3 % de ácido clorídrico, durante 3 h a 110°C. Após o término da reação, a fração sólida foi separada da fração líquida através de filtração a vácuo. A polpa acetosolve (PA) foi lavada com ácido acético à 80°C, para evitar a recondensação da lignina, e o licor negro (LN) foi armazenado para futura recuperação da lignina (LR) (MORANDIM-GIANNETTI et al., 2012). O LN foi concentrado em um rotaevaporador, para recuperação do ácido acético. O LN concentrado foi diluído em 10 vezes o seu volume de água destilada aquecida a 80°C, para a recuperação da Lignina (LR) após filtração. A PA foi branqueada duas vezes com peróxido de hidrogênio 30% e hidróxido de sódio 4%, à 50°C, numa proporção 1:20 (Fibra:solução, m/v). A FB foi hidrolisada, em solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 30% v/v (43,6% m/m), durante 6h à 60°C, numa proporção 1:8,75 (m/v, fibra/solução) (WANG; CAO; ZHANG, 2006). A reação foi terminada com adição de água deionizada na proporção 1:10 (v/v, ácido/água). A suspensão foi centrifugada durante 3 ciclos de 13.000 rpm, 4°C e 15 min. Entre cada centrifugação a suspensão foi ultrassonicada, durante 5 min a 450 W de energia. Em seguida a suspensão coloidal de NWC foi dialisada em água destilada. Ao final da diálise a suspensão foi ultrassonicada mais uma vez, evitando a formação de aglomerados. Amostras de FCC, PA e FB passaram por análise de lignina klason de acordo com TAPPI T 222 om-22 (2000) e holocelulose e alfacelulose, de acordo com Yokoyama, Kadla e Chang (2002) e TAPPI T 203cm-99 (2009), respectivamente. Os NWC foram analisados através de Microscopia Eletrônica de Transmissão. Para avaliar a cristalinidade, foram conduzidas análises de difratograma de raio-x em um difratômetro Xpert Pro modelo MPD, nas amostras de FCC, PA, FB e NWC seca, em um tubo de cobalto nas condições de 40 kV e 40 mA, na escala de 3° a 50° em 2θ. O índice de cristalinidade (IC) foi calculado pela razão entre a área integrada de todos os picos de estruturas cristalinas pela integral da área total e o tamanho do cristal perpendicular ao plano de rede 002 foi estimado pela equação de Scherrer (GARVEY; PARKER; SIMON, 2005).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A fibra bruta apresentou 35% de α-celulose e 36% de lignina klason, valores similares aos obtidos por Muensri (2011). O processo organosolv reduziu o teor de lignina da fibra de 36% para 24%, sendo complementado pela etapa de branqueamento.

Foi possível obter suspensões estáveis de NWC (Fig.1), de coloração branca e dimensões médias de 172 ± 88 nm de comprimento (L) e 8 ± 3 nm de largura (D), o que reproduziu uma razão de aspecto (L/D) de 22 ± 8. Esse valor está dentro do intervalo encontrado para outras fibras vegetais: fibra de algodão (8-10), (TEIXEIRA et al., 2010) e línter de algodão (19) (MORAIS et al., 2013). Esse aumento de dimensões observado em Rosa et al (2010) pode estar correlacionado a uma possível recristalização de regiões amorfas próximas à região cristalina. Apesar dos valores serem inferiores aos obtidos por estes autores (L/D = 39 ± 14), o processo aplicado não utilizou reagentes clorados nem altas concentrações de ácido sulfúrico (43.6%, m/m versus 64%, m/m).

Outro aspecto positivo da nova abordagem foi a boa característica de cor observada em contraste com o trabalho anterior, onde a suspensão de NWC apresentou coloração marrom escura, em razão, possivelmente, da quantidade de lignina remanescente dos pré-tratamentos aplicados. Além disso, o alto índice de cristalinidade (82%), para NWC do presente trabalho, foi superior aos obtidos por Fahma (2011) (57%) e por Rosa et al (2010) (66%), para o mesmo tipo de fibra. Essas características reforçam o potencial de aplicação desses NWC, obtidos utilizando a polpação acetosolv como pré-tratamento, em nanocompósitos.



**Figura 1.** Micrografias e foto da suspensão de CNW de fibra de coco (NASCIMENTO et al., 2014).

#### 4 CONCLUSÃO

Foi possível obter uma solução de nanowhiskers de celulose de coloração branca, livre de lignina, com elevada razão de aspecto e índice de cristalinidade, a partir da fibra de coco. A combinação da polpação acetosolv com o branqueamento com peróxido alcalino foi eficiente não somente para a purificação da celulose, mas também para a obtenção de lignina que foi confirmada por FTIR, e reaproveitamento de parte de reagentes usados. Essa abordagem apresenta um ganho importante em relação a trabalhos anteriores com a fibra de coco, já que contribuiu para reduzir o impacto ambiental, com um melhor aproveitamento dos componentes da fibra (lignina) e com nanowhiskers com propriedades superiores.

#### AGRADECIMENTOS

Agradecimentos à Embrapa e ao CNPQ pelo financiamento da pesquisa, à Universidade Estadual do Ceará, ao Laboratório de Raio-x da Universidade Federal do Ceará, ao Labomar e à Universidade Federal de São Carlos.

#### REFERÊNCIAS

- FAHMA, F.; IWAMOTO, S.; HORI, N.; IWATA, T.; TAKEMURA, A. Effect of pre-acid-hydrolysis treatment on morphology and properties of cellulose nanowhiskers from coconut husk. *Cellulose*, Berlin, v. 18, n. 2, p. 443–450, 2011.
- GARVEY, C. J.; PARKER, I. H.; SIMON, G. P. On the interpretation of X-ray diffraction powder patterns in terms of the nanostructure of cellulose I fibres. *Macromolecular Chemistry and Physics*, Nova York, v. 206, n. 15, p. 1568–1575, 2005.
- KLEMM, D.; SCHUMANN, D. Nanocellulose materials—Different cellulose, different functionality. *Macromolecular symposia*, Nova York, v. 280, n. 1, p. 60–71, 2009.
- MORAIS, J. P. S.; ROSA, M. F.; SOUZA FILHO, M. S. M.; NASCIMENTO, L. D.; NASCIMENTO, D. M.; CASSALES, A. R. Extraction and characterization of nanocellulose structures from raw cotton linter. *Carbohydrate polymers*, Amsterdam, v. 91, n. 1, p. 229–35, 2013.
- TEIXEIRA, E. M.; CORRÊA, A.C.; MANZOLI, A.; LEITE, F. L.; OLIVEIRA, C. R.; MATTOSO, L. H. C. Cellulose nanofibers from white and naturally colored cotton fibers. *Cellulose*, Berlin, v. 17, n. 3, p. 595–606, 2010.

- MORANDIM-GIANNETTI, A. A.; AGNELLI, J. A. M.; LANÇAS, B. Z.; MAGNABOSCO, R.; CASARIN, S. A.; BETTINI, S. H. P. Lignin as additive in polypropylene/coir composites: Thermal, mechanical and morphological properties. *Carbohydrate Polymers*, Amsterdam, v. 87, n. 4, p. 2563–2568, 2012.
- MUENSRI, P.; KUNANOPPARAT, T.; MENUT, P.; SIRIWATTANAYOTIN, S. Effect of lignin removal on the properties of coconut coir fiber/wheat gluten biocomposite. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, Amsterdam, v. 42, n. 2, p. 173–179, 2011.
- NASCIMENTO, D. M.; ALMEIDA, J. S.; DIAS, A. F.; FIGUEIRÊDO, M. C. B.; MORAIS, J. P. S.; FEITOSA, J. P. A.; ROSA, M. F. A novel green approach for the preparation of cellulose nanowhiskers from white coir. *Carbohydrate Polymers*, Amsterdam, v. 110, p. 456–463, 2014.
- POSTEK, M. T.; VLADÁR, A.; DAGATA, J.; FARKAS, N.; MING, B.; WAGNER, R.; RAMAN, A.; MOON, R. J.; SABO, R.; WEGNER, T. H.; BEECHER, J. Development of the metrology and imaging of cellulose nanocrystals. *Measurement Science and Technology*, Bristol, v. 22, n. 2, p. 024005, 2011.
- REBOUILLAT, S.; PLA, F. State of the Art Manufacturing and Engineering of Nanocellulose: A Review of Available Data and Industrial Applications. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, Irvine, v. 04, n. 2, p. 165–188, 2013.
- ROSA, M. F.; MEDEIROS, E. S.; MALMONGE, J. A.; GREGORSKI, K. S.; WOOD, D. F.; MATTO-SO, L. H. C.; GLENN, G.; ORTS, W. J.; IMAM, S. H. Cellulose nanowhiskers from coconut husk fibers: Effect of preparation conditions on their thermal and morphological behavior. *Carbohydrate Polymers*, Amsterdam, v. 81, n. 1, p. 83–92, 2010.
- WANG, Y.; CAO, X.; ZHANG, L. Effects of cellulose whiskers on properties of soy protein thermoplastics. *Macromolecular Bioscience*, Nova York, v. 6, n. 7, p. 524–31, 2006.
- YOKOYAMA, T.; KADLA, J. F.; CHANG, H. Microanalytical Method for the Characterization of Fiber Components and Morphology of Woody Plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Washington, v. 50, n. 5, p. 1040–1044, 2002.

---

## CARACTERIZAÇÃO DA NANOCELULOSE DA FIBRA DE COCO OBTIDA POR DIFERENTES MÉTODOS

Jessica S. Almeida<sup>1</sup>, Amanda F. Dias<sup>2</sup>, Diego M. Nascimento<sup>3</sup>, Maria C. Brito de Figueiredo<sup>4</sup>,  
Celli R. Muniz<sup>4</sup>, Men de Sá Moreira de Souza Filho<sup>4</sup>, \*Morsyleide F. Rosa<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, CE. <sup>2</sup>Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, Maracanaú, CE. <sup>3</sup>Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE. <sup>4</sup>Embrapa Agroindústria Tropical.

\*morsyleide.rosa@embrapa.br

**Classificação:** Bionanocompósitos.

### Resumo

Neste trabalho foram desenvolvidas novas estratégias de obtenção de nanoestruturas de celulose a partir da fibra de coco. A fibra de coco foi submetida a etapas de remoção da lignina (polpação acetosolv e branqueamento totalmente livre de cloro elementar), recuperação da lignina (coproduto) e extração da nanocelulose (hidrólise com ácido sulfúrico, hidrólise oxidativa com persulfato de amônio e desintregração com ultrassom de alta intensidade). A nanocelulose obtida via ultrassom de alta intensidade apresentou melhor rendimento, maior estabilidade térmica e índice de cristalinidade semelhante aos métodos de extração química.

**Palavras-chave:** Nanoestruturas de celulose; Fibra de coco; Rendimento; Estabilidade térmica; índice de cristalinidade.

## NANOCELULOSE CHARACTERIZATION OF COCONUT FIBER OBTAINED BY DIFFERENT METHODS.

### Abstract

In this work new strategies for obtaining cellulose nanostructures were developed from coir. Coir underwent removal steps of lignin (acetosolv pulping and bleaching totally free of elemental chlorine), recovery of lignin (coproduct) and extraction nanocelulose (sulfuric acid hydrolysis, oxidative hydrolysis with ammonium persulfate and desintregação with ultrasound high intensity). The nanocelulose obtained via high intensity ultrasound showed better performance, greater thermal stability and index similar to the methods of chemical extraction crystallinity.

**Keywords:** cellulose nanostructures; Coconut fiber; yield; Thermal stability; crystallinity index..

## 1 INTRODUÇÃO

A nanocelulose é um material, obtido de fontes renováveis, com uma gama de aplicações em diferentes áreas. Além disso, em contraste aos nanotubos de carbono, que ainda geram discussões no meio acadêmico devido ao seus efeitos na saúde humana e ao meio ambiente (LIU *et al.*, 2013), a nanocelulose não causa tais preocupações (HUA *et al.*, 2014; KLEMM *et al.*, 2011). A nanocelulose pode ser obtida da madeira, fibras (não madeira), algas, tunicados, algodão, celulose bacteriana e também de resíduos da agroindústria (ISOGAI, 2013). Dentre estas se destacam os resíduos agroindustriais, como as fibras de coco (ROSA *et al.*, 2010). O objetivo deste trabalho foi propor uma nova estratégia para a obtenção da nanocelulose da fibra de coco contemplando a ausência do uso de substâncias formadoras de cloro elementar, aproveitamento da lignina e potencial de produção de metano dos efluentes (como coprodutos) e o desempenho ambiental da nanocelulose obtida por diferentes métodos.

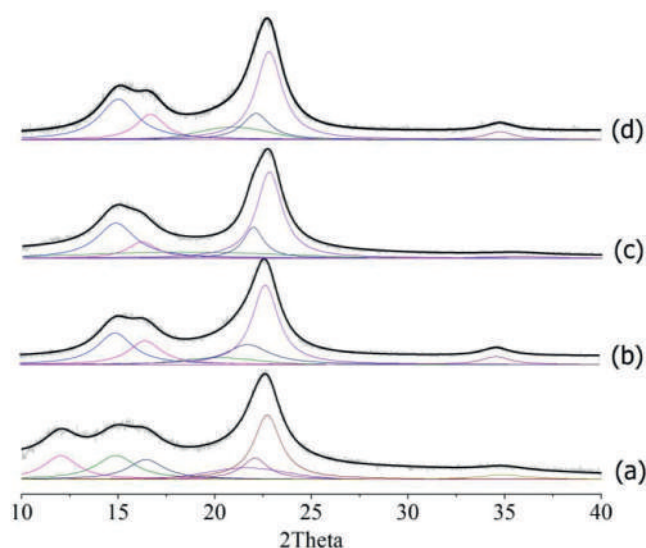
## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

As fibras de coco foram submetidas a um ajuste granulométrico em moinho de facas tipo willye (FORTINOX – STAR FT 80) com peneira de 1,0 mm. Em seguida submetida ao processo de polpação organosolv acetosolv (ou polpação acetosolv), com uma solução contendo 93% (m/m) de ácido acético e 0,3% (m/m) de ácido clorídrico (HCl) (solução acetosolv) na proporção de 1:20 (m/v) e mantida sob refluxo durante 3 horas. Ao término da reação, a fração sólida, denominada polpa acetosolv, foi filtrada com uma nova porção da solução a 80°C, lavada com água destilada até pH neutro e seca em estufa com circulação de ar a 50 °C até peso constante. A fração líquida, denominada como licor negro, foi armazenada para concentração e precipitação da lignina. A polpa acetosolv foi branqueada com peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 5% (m/m) e hidróxido de sódio (NaOH) 4% (m/v) durante 90 minutos a 50°C sob agitação constante. Esta etapa foi repetida mais uma vez. Em seguida a polpa foi adicionada à solução de hidróxido de potássio (KOH) 6% (m/v) a 90°C durante 2 horas. Ao término da reação, a fração sólida, denominada como polpa de celulose, foi filtrada e seca em estufa com circulação de ar a 50 °C até peso constante. A fibra de coco foi submetida a quatro métodos de extração de nanocelulose. I. A polpa de celulose foi submetida a hidrólise ácida com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 43,2% (m/m) a 60°C, sob agitação por 6 horas. O ácido sulfúrico foi removido por centrifugação e diálise. II. A polpa de celulose foi submetida a hidrólise ácida com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 60% (m/m) a 45°C, sob agitação por 45 minutos. O ácido sulfúrico foi removido por centrifugação e diálise. III. A polpa acetosolv foi submetida a reação com persulfato de amônio 1 mol L<sup>-1</sup> a 60°C, sob agitação por 16 horas. O persulfato de amônio foi removido por centrifugação. IV. A polpa de celulose foi submetida a desintregação via ultrassom de alta intensidade (UIP1500hd da Hielscher) com frequência de 20 kHz e equipado com uma sonda de titânio de 2,5 cm de diâmetro. A ultrassonicação foi realizada em reator encamisado de aço inoxidável com recirculação de água resfriada por 20 minutos com uma potência de 1200 W. A suspensão foi concentrada por centrifugação.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os rendimentos dos nanocristais para os métodos I, II, III e IV foram de aproximadamente 60%, 33%, 21% e 88%, respectivamente. A figura 1 apresenta os espectros de difração de raios X das nanoestruturas de celulose obtidas por esses métodos.

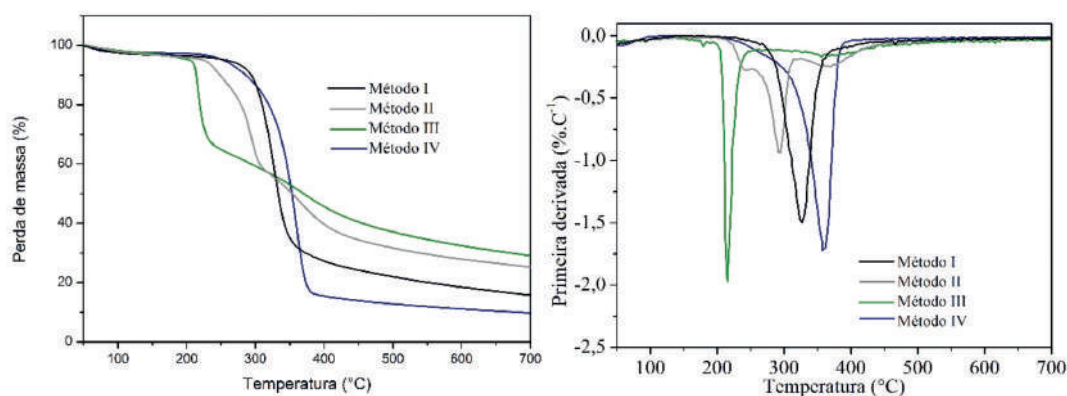




**Figura 1.** Difratomogramas para as nanoestruturas de celulose obtidas pelo (a) método I, (b) método II, (c) método III e (d) método IV.

A nanocelulose II apresentou o maior índice de cristalinidade (93,66%), como esperado. Processos com ácido sulfúrico concentrado geram nanocristais de alto índice de cristalinidade (MARIANO; EL KISSI; DUFRESNE, 2014). A nanocelulose I apresentaram um pico em  $12,5^\circ$ , indicando que durante a hidrólise parte da celulose foi convertida em Celulose II. A nanocelulose III apresentou um maior IC do que a PA, indicando que os componentes não celulósicos presentes na polpa foram removidos e que nanocristais isentos de impurezas (lignina) foram extraídos sem a necessidade do processo de branqueamento. O aumento do IC da nanocelulose IV confirma que parte da celulose amorfa da celulose foi removida após o processo de ultrassom de alta intensidade. Este resultado está de acordo com o relatado na literatura, uma vez que o efeito da cavitação produzido pelo ultrassom tende a fragmentar preferencialmente a fração amorfa da celulose (LI; YUE; LIU, 2012).

A figura 2 apresenta as curvas de TGA/dTG das nanoestruturas em atmosfera inerte. A maior estabilidade térmica da nanocelulose IV foi atribuída a ausência de grupos sulfatos em combinação com um alto índice de cristalinidade. Este comportamento é justificado pelo fato das reações de degradação térmica iniciarem nos domínios amorfos da celulose (CIOLACU; CIOLACU; POPA, 2011).



**Figura 2.** Curvas de TGA/dTG para as nanoestruturas de celulose obtidas pelo (a) método I, (b) método II, (c) método III e (d) método IV.

#### 4 CONCLUSÃO

Foi possível obter nanoestruturas de celulose por quatro métodos distintos com propriedades superiores ao obtido em outros trabalhos com a fibra de coco relatado na literatura. Foi observado um aumento no rendimento da nanocelulose obtida via ultrassom de alta intensidade, aumento na estabilidade térmica devido a ausência de grupos sulfatos na celulose e um índice de cristalinidade próximo ao obtido pelo método de hidrólise química. Os resultados mostram que o tipo de método de extração

pode afetar as propriedades da nanocelulose e que o aproveitamento integral dos componentes da fibra de coco contribuem para o desenvolvimento de uma biorrefinaria nanotecnológica para fibras ricas em lignina e celulose.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq, CAPES, UFC e EMBRAPA.

## REFERÊNCIAS

CIOLACU, D.; CIOLACU, F.; POPA, V. I. Amorphous Cellulose – Structure and Characterization. *Cellulose Chemistry and Technology*, Iași, v. 45, n. 1-2, p. 13–21, 2011.

HUA, K.; CARLSSON, D. O.; ÅLANDER, E.; LINDSTRÖM, T.; STRØMME, M.; MIHRANYAN, A.; FERRAZ, N. Translational study between structure and biological response of nanocellulose from wood and green algae. *RSC Advances*, Londres, v. 4, n. 6, p. 2892–2903, 2014.

ISOGLAI, A. Wood nanocelluloses: fundamentals and applications as new bio-based nanomaterials. *Journal of Wood Science*, Berlim, v. 59, n. 6, p. 449–459, 2013.

KLEMM, D.; KRAMER, F.; MORITZ, S.; LINDSTRÖM, T.; ANKERFORS, M.; GRAY, D.; DORRIS, A. Nanocelluloses: a new family of nature-based materials. *Angewandte Chemie International Edition*, Nova York, v. 50, n. 24, p. 5438–5466, 2011.

LI, W.; YUE, J.; LIU, S. Preparation of nanocrystalline cellulose via ultrasound and its reinforcement capability for poly(vinyl alcohol) composites. *Ultrasonics Sonochemistry*, Amsterdam, v. 19, n. 3, p. 479–485, 2012.

LIU, Y.; ZHAO, Y.; SUN, B.; CHEN, C. Understanding the toxicity of carbon nanotubes. *Accounts of Chemical Research*, Washington, v. 46, n. 3, p. 702–713, 2013.

MARIANO, M.; EL KISSI, N.; DUFRESNE, A. Cellulose nanocrystals and related nanocomposites: Review of some properties and challenges. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, Nova York, v. 52, n. 12, p. 791–806, 2014.

ROSA, M. F.; MEDEIROS, E. S.; MALMONGE, J. A.; GREGORSKI, K. S.; WOOD, D. F.; MATTO-SO, L. H. C.; GLENN, G.; ORTS, W. J.; IMAM, S. H. Cellulose nanowhiskers from coconut husk fibers: Effect of preparation conditions on their thermal and morphological behavior. *Carbohydrate Polymers*, Amsterdam, v. 81, n. 1, p. 83–92, 2010.

---

## AVALIAÇÃO DA ECO-EFICIÊNCIA DO SISTEMA DE BIORREFINARIA DA FIBRA DA CASCA DO COCO VERDE

**Amanda F. Dias<sup>1</sup>, Jessica S. Almeida<sup>2</sup>, Diego M. Nascimento<sup>3</sup>, Maria C. Brito de Figueiredo<sup>4</sup>, Morsyleide F. Rosa<sup>5</sup>.**

<sup>1</sup>Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, Maracanaú, CE. <sup>2</sup>Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, CE. <sup>3</sup>Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE. <sup>4,5</sup>Embrapa Agroindústria Tropical.

\*fdiasamanda@gmail.com

**Classificação:** Bionanocompósitos.

### Resumo

O conceito de biorrefinaria é definido como o processo industrial que gera produtos químicos, energia e combustível a partir da utilização da biomassa. Esse trabalho avalia a eco-eficiência do sistema de bior-

refinaria que utiliza a fibra da casca do coco verde como matéria-prima para obtenção de lignina e nanocelulose (NC). A metodologia empregada para avaliação dos impactos ambientais foi a Avaliação do Ciclo de Vida (ACV) seguindo as normas ISO 14040 e 14044. As categorias de impacto (CI) abordadas foram: mudança climática (MC), acidificação do solo (AS), toxicidade humana (TH), depleção hídrica (DH) e eutrofização de águas doces (EAD) e marinha (EAM) avaliadas pelo método Recipe. Os dados foram levantados em função do processamento de 1 kg de casca de coco verde para a produção de 0,55 g de NC e 0,79 g de Lignina. Observa-se que no processo unitário de remoção da lignina ocorre uma considerável perda de massa, aumentando a emissão de material dissolvido no efluente. Deste modo, o processo responde pelos maiores impactos ambientais nas categorias MC, EAD, AS, TH, DH. A diálise é o processo que mais contribui para a depleção hídrica devido ao consumo de água para redução do pH da suspensão coloidal de nanocristais.

**Palavras-chave:** Avaliação do Ciclo de Vida; Biorrefinaria; Fibra do coco verde;

## EVALUATION OF ECO-EFFICIENCY SYSTEM BIOREFINERY FIBER PEELING GREEN COCONUT

### Abstract

The biorefinery concept is defined as the industrial process that generates chemicals, energy and fuel from biomass use. This study evaluates the eco-efficient biorefinery using the fiber of coconut shell as a raw material for the production of lignin and nanocelulose (NC) system. The methodology for assessing the environmental impacts was the Life Cycle Assessment (LCA) according to ISO 14040 and 14044. The impact categories (CI) were addressed: Climate change (MC), soil acidification (AS) human toxicity (TH), water depletion (DH) and freshwaters (EAD) and marine (EAM) method eutrophication Recipe evaluated by considering the CI at an intermediate level (midpoint). The data were collected according to the processing of 1 kg of coconut husk to produce 0.55 g of CN and 0.79 g of lignin. It is noted that the unit of lignin removal process occurs a considerable weight loss, increasing the emission of dissolved material in the effluent. Thus, the process responds by major environmental impacts in the categories MC, DL, AS, TH, DH. Dialysis is the process that contributes to water depletion due to consumption of water to reduce the pH of the colloidal suspension of nanocrystals.

**Keywords:** Life Cycle Assessment; Biorefinery; Coconut fiber;

## 1 INTRODUÇÃO

O Brasil é responsável por mais de 80% da produção de coco verde da América do Sul. Mundialmente, é o quarto maior produtor de coco, ficando atrás somente da Indonésia, Filipinas e Índia (FAO, 2011).

Conforme dados do IBGE – Produção Agrícola Municipal de 2012, o Estado do Ceará figura entre os quatro maiores produtores de coco do País, sendo responsável por 14% da produção nacional, ficando somente atrás do Estado da Bahia, maior produtor nacional de coco com 27% de produção. O crescimento significativo do agronegócio do coco verde foi responsável por uma maior geração de resíduo sólido constituído de cascas na atividade agroindustrial. Desta maneira, surgem alternativas para redução dos problemas ambientais provenientes dos resíduos agroindustriais, destacando-se o conceito de biorrefinaria, que propõe o uso de fontes renováveis na produção de energia, combustível e produtos químicos, agregando valor as suas cadeias produtivas e reduzindo seus impactos ambientais (VAZ, 2011).

O objetivo deste trabalho é avaliar a eco-eficiência do sistema de biorrefinaria proposto por Nascimento *et al.* (2014) que utiliza a fibra de coco verde como matéria-prima para extração de lignina e nanocelulose.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

A metodologia empregada para avaliação dos impactos ambientais foi a Avaliação do Ciclo de Vida (ACV) de acordo com as normas ISO 14040 e 14044. A fronteira do sistema contemplou o escopo do “berço ao portão”, abrangendo as cadeias de produção dos insumos necessários ao sistema de biorrefinaria. O sistema em estudo consistiu dos seguintes processos unitários: moagem da fibra, remoção da lignina, recuperação da lignina (concentração da lignina, filtragem da lignina), branqueamento da celulose, hidrólise ácida da celulose e diálise (Nascimento *et al.* 2014).

As categorias de impacto abordadas no estudo são: mudança climática, eutrofização de águas

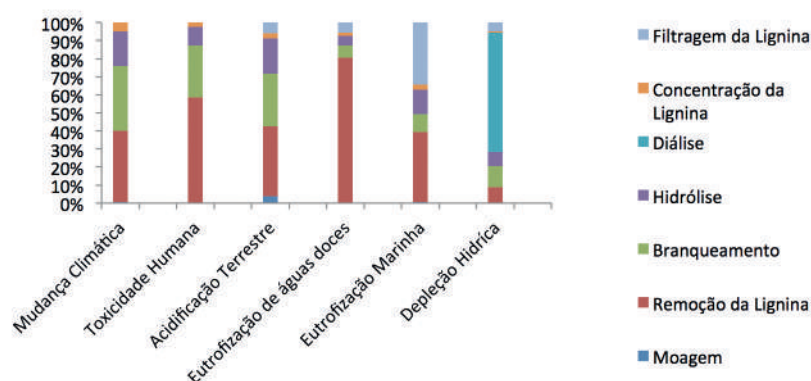
doces, acidificação do solo, toxicidade humana, depleção hídrica e eutrofização de águas doces e marinha. O método de avaliação usado é o Recipe (GOEDKOOOP *et al.*, 2009).

Os dados de entradas e saídas dos processos unitários foram levantados em função do processamento de 1 kg de casca de coco verde para a produção de 0,55g de NCC e 0,79g de lignina.

Os dados referentes a entradas e saídas dos processos unitários: água, energia, reagentes e carga de nutrientes presentes em efluentes líquidos foram levantados no Laboratório de Tecnologia da Biomassa na Embrapa Agroindústria Tropical. Os parâmetros analisados nos efluentes líquidos foram os seguintes: Demanda química de oxigênio (DQO), demanda biológica de oxigênios (DBO), nitrogênio keldjahl (NTK), nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ), fósforo total (FT), fenol, furfural e hidroximetilfurfural (HMF) (APHA, 2006; GOUVEIA 2009).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A seguir, os dados referentes da análise da eco-eficiência do sistema de biorrefinaria de FCV são apresentados.



**Figura 1.** Impacto de cada processo unitário que compõe o sistema de Biorrefinaria de FCV.

A partir da figura 1, foi possível observar que o processo unitário remoção da lignina é responsável pela maior carga ambiental nas seguintes categorias: Mudança Climática, Toxicidade humana, Acidificação Terrestre, Eutrofização marinha e Eutrofização de águas doces. Esse resultado é atribuído à ocorrência de uma considerável perda de massa da fibra, aumentado à emissão de material dissolvido no efluente e no licor negro. Para a categoria Depleção hídrica, o subprocesso diálise devido ao seu elevado consumo de água no sistema, é o maior contribuinte para o impacto ambiental na referida categoria. Esse alto consumo é justificado devido a etapa em que a solução de nanocristais é colocada em membranas semipermeáveis e imersa num elevado volume de água com a finalidade de remoção de suas impurezas e neutralização de pH.

A moagem caracteriza-se como o processo que menos contribui para as categorias de impactos, chegando a valores abaixo de 10%.

### 4 CONCLUSÃO

Conclui-se que os processos unitários remoção da lignina e diálise, são determinantes para os maiores impactos ambientais do sistema de biorrefinaria. Os parâmetros considerados foram o consumo de água e emissão de nutrientes em efluentes líquidos.

Para redução da carga ambiental do processo de remoção de lignina, recomenda-se a investigação do tratamento anaeróbio desse efluente com geração de metano que pode ser utilizado como fonte de energia para o próprio sistema. Métodos de obtenção de nanocelulose em que não é preciso o uso da diálise através da utilização de ultrassom de alta intensidade e homogeneização de alta pressão, otimizariam o processo, reduzindo consideravelmente os impactos ambientais na categoria depleção hídrica.

Para um melhor desempenho ambiental do sistema em estudo sugere-se a investigação de outros cenários para o sistema de biorrefinaria buscando rotas tecnológicas alternativas de pre-tratamento das fibras para o sistema em estudo.

## AGRADECIMENTOS

CNPq, Capes e Embrapa.

## REFERÊNCIAS

FAO 2011. Disponível em: [www.faostat.org.br](http://www.faostat.org.br) Acesso em: 15 janeiro 2014.

GOEDKOOOP, M.; SPRIENSMA, R. The eco-indicator 99: a damage oriented method for life cycle impact assessment – Methodology Report. Netherlands: Pré Consultants, 2001. 132p. Disponível em: <<http://www.pre.n1>>. Acesso em: maio 2014.

IBGE- Produção Agrícola Municipal 2012. Disponível em: [www.sidra.ibge.gov.br/bda/pesquisa](http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/pesquisa). Acessado em março de 2014.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION (ISO). ISO 14040: environmental management - Life cycle assessment - Principles and framework. Genebra: ISO: 2006a.

ISO 14044: environmental management - Life cycle assessment - Requirements and guidelines. Genebra: ISO: 2006b.

---

## CARACTERIZAÇÃO DE COLMOS DE *GUADUA WEBERBAUERI* PILGER

José Rubens Angelloto<sup>1</sup>, João Paulo Saraiva Morais<sup>2</sup>, Celli Rodrigues Muniz<sup>3</sup>, Lilian Chayn Alexandre<sup>3</sup>, Ana Ribeiro Cassales<sup>3</sup>, André Luís Sousa Pereira<sup>3</sup>, Elias Melo de Miranda<sup>4</sup>, Andrea Raposo<sup>4</sup>, Morsyleide de Freitas Rosa<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Ceará. <sup>2</sup>Embrapa Algodão. <sup>3</sup>Embrapa Agroindústria Tropical. <sup>4</sup>Embrapa Acre.

\*[morsyleide.rosa@embrapa.br](mailto:morsyleide.rosa@embrapa.br)

**Classificação:** Bionanocompósitos.

### Resumo

A taboca *Guadua weberbaueri* Pilger é uma espécie de bambu tropical que ocorre na Amazônia. Para que seja possível agregar valor a essa biomassa, inicialmente é importante conhecer as propriedades lignocelulósicas da mesma. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi caracterizar amostras de colmo do bambu quanto aos teores de macromoléculas, FTIR e MEV. Foram encontrados teores de celulose similares de lignina relativamente baixos a outros bambus. As diferentes porções do colmo são similares entre si quanto aos macrocomponentes, com fibras expostas e de fácil acesso a reagentes para polpação. Assim, a taboca aparece como uma fonte adequada para extração de macromoléculas.

**Palavras-chave:** Bambu; Taboca; Amazônia; Polpação.

### EXTRACTION AND CHARACTERISATION OF CELLULOSE NANOCRYSTALS FROM *GUADUA WEBERBAUERI* PILGER

#### Abstract

The taboca *Guadua weberbaueri* Pilger is a kind of tropical bamboo that grows in Amazon. Aiming to add value to this biomass, it's need to previously know the lignocellulosic properties of the same. So, the objective of this work was to characterise samples of bamboo culm by macromolecules content, FTIR, and SEM. It was found similar cellulose content and relatively low lignin content in comparison to other bamboo materials. The different fractions of the culm are similar among them in relation to the macro-component contents, with exposed and pulping reagent easily accessible fibres. So, the taboca looks like an adequate source for macromolecules extraction.

**Keywords:** Bamboo; Taboca; Amazon.

## 1 INTRODUÇÃO

O bambu pertence à família das Poaceae, subfamília Bambusoideae com aproximadamente 75 gêneros e mais de 1.250 espécies (LONDOÑO et al, 2002). São plantas de crescimento rápido, de fácil manejo e de fácil exploração industrial, cujas representantes tropicais têm seus colmos agrupados em moitas ou touceiras, podendo alcançar uma produção de biomassa por hectare de 6 a 7 vezes maior do que as madeiras de coníferas (AZZINI et al.,1987; ASHAARI, 2010).

Para se melhor utilizar uma biomassa lignocelulósica, é fundamental conhecer sua composição lignocelulósica, a fim de se explorar melhor suas potencialidades. Desta forma, o presente trabalho consistiu na análise química e física do bambu da espécie *Guadua weberbaueri* Pilger, em diferentes segmentos de caule, para determinar a melhor forma de aproveitamento dessa biomassa.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Material vegetal

As tabocas foram fornecidas pela Embrapa Acre, nas frações basal, mediana e apical, e cortadas manualmente em cavacos de aproximadamente 80 x 20 x 2 mm, moídas em moinho de facas tipo Wiley e fracionadas em máquina de peneiras vibratórias, selecionando-se a fração de 60 mesh para uso (Figura 1).



**Figura 1.** Vista longitudinal (esquerda) e transversal (centro) de tabocas de *G. weberbaueri* e o pó após moagem (direita)

### 2.2 Caracterização lignocelulósica

Os teores de umidade, cinzas, extrativos, ligninas, hemicelulose e alfacelulose foram medidos na fibra moída, segundo as metodologias da TAPPI (1993, 2000, 2002a, 2002b, 2009) e de Yokoyama et al. (2002). A medidas foram feitas em triplicata e analisadas por análise de variância e teste de Tukey a 5% de significância, pelo programa Sisvar<sup>®</sup>. Os resultados são apresentados em base úmida.

### 2.3 Espectroscopia de infravermelho médio com transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros vibracionais foram obtidos em um espectrofotômetro Agilent, modelo Cary 660, na faixa de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ , com resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$  e 25 varreduras, utilizando-se pastilhas de brometo de potássio (KBr) na proporção de 1:50 (m/m) de amostra:KBr.

### 2.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura foi utilizada para observar a microestrutura e morfologia das superfícies do bambu, em microscópio eletrônico de varredura (MEV) marca HITACHI, modelo TM3000, magnificação 15-30000 x (zoom digital: 2, 4x) tensão aceleração 5 kv (modo de observação de superfície) e 15 kv (modo normal, modo de análise e alto contraste).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Caracterização lignocelulósica

Pelos dados obtidos (Tabela 1), verifica-se que há uma variação intrínseca entre as frações do colmo. A parte mais basal apresentou maiores teores de cinzas alfacelulose. A porção apical apresentou

um maior teor de umidade e a porção mediana, maior teor de extrativos. Essas duas frações tiveram teores de holocelulose e hemicelulose maiores que a fração basal. Todas as frações apresentaram teores de alfacelulose relativamente elevado, na faixa encontrada para bambus de clima temperado, entre 40-50% em torno de 50%. O valor de lignina encontra-se relativamente abaixo do de outras espécies de bambu, oscilando entre 15% e 30% (LI et al., 2007).

**Tabela 1.** Caracterização lignocelulósica das fibras do colmo de taboca/bambu *Guadua weberbaueri* Pilger a diferentes alturas de corte

Porção	Componente lignocelulósico			
	Umidade	Cinzas	Extrativos	Lignina
Basal	6,02 ± 0,006 b	8,86 ± 0,065 a	11,04 ± 0,170 c	22,00 ± 0,47
Mediana	6,05 ± 0,035 b	6,89 ± 0,054 b	12,86 ± 0,017 a	21,54 ± 0,65
Apical	6,30 ± 0,097 a	6,85 ± 0,180 b	12,50 ± 0,140 b	21,48 ± 0,82

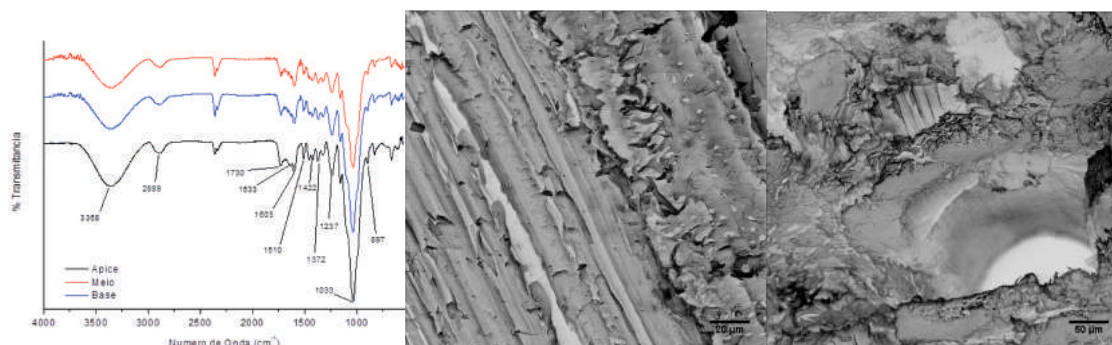
  

Porção	Componente lignocelulósico		
	Holocelulose	Alfacelulose	Hemicelulose
Basal	72,54 ± 0,98 b	50,90 ± 0,51 a	21,63 ± 0,51 b
Mediana	78,37 ± 0,98 a	49,70 ± 0,85 b	27,00 ± 0,85 a
Apical	77,05 ± 1,01 a	48,32 ± 0,91 b	28,72 ± 0,91 a

Médias seguidas por letras diferentes na vertical diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

### 3.2 FTIR

A partir do espectro da Figura 2 é possível observar bandas muito semelhantes entre as três frações analisadas. Observa-se um pico a 1.730 cm<sup>-1</sup>, referente ao grupo acetil e carboxílicos, provavelmente das xilanas. Teores de lignina, hemicelulose e de extrativos é comprovada através do aparecimento das bandas de 1633 cm<sup>-1</sup>, que representa vibrações no esqueleto aromático mais estiramento C=O. A banda a 1.252 cm<sup>-1</sup>, indica presença de polioses, representada pela deformação axial assimétrica de =C–O–C–. A banda a 1.376 cm<sup>-1</sup> evidencia picos característicos de polissacarídeo de baixa massa molecular. As bandas em 1.510 e 1.422 cm<sup>-1</sup>, encontram-se relacionadas a vibração dos grupos aromáticos de lignina (SOCRATES, 2004).



**Figura 2.** Espectro de FTIR (esquerda) e micrografias do corte longitudinal (centro) e do corte transversal (direita) do colmo de *G. weberbaueri*.

### 3.3 MEV

As micrografias de MEV (Figura 2) mostram a presença de fibras de carboidratos, mas também bastante material amorfo. Provavelmente esse material é majoritariamente representado por extrativos.

A organização bem estruturada do material mostra que as fibras resistiram a tratamentos convencionais de secagem, mantendo a arquitetura interna de vasos e microvasos, o que pode auxiliar no posterior processamento a úmido da biomassa, facilitando o acesso de reagentes como peróxidos e ácido sulfúrico ao conteúdo lignocelulósico.

#### 4 CONCLUSÃO

Com base nesses resultados, mostra-se que há diferença entre os teores lignocelulósicos das frações do colmo de taboca *G. weberbaueri*. Dependendo da aplicação a ser desenvolvida, essa diferença não é industrialmente significativa.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq e Embrapa pelo apoio financeiro.

#### REFERÊNCIAS

ASHAARI, Z.; SALIM, S.; HALIS, R.; YUSOF, M.N.M.; SAHRI, M.H. Characteristics of pulp produced from refiner mechanical pulping of tropical bamboo (*Gigantochloa scortechinii*). *Pertanika Journal of Tropical Agriculture Science*, Pertanika, v. 33, n. 2, p. 251-258, 2010.

AZZINI, A.; ARRUDA, M.C.Q.; CIARAMELLO, D.; SALGADO, A.L.; TOMAZELLO FILHO, M. Produção conjunta de fibras celulósicas e etanol a partir do bambu. *Bragantia*, Campinas, v. 46, n. 1, p.17-25, 1987.

LI, X.; SHUPE, B.; PETER, T.F.; HSE, G.F.; EBERHARDT, T. L. Chemical changes with maturation of the bamboo species *Phyllostachys pubescens*. *Journal of Tropical Forest Science*, Kuala Lumpur, v. 19, n. 1, p. 6-12, 2007.

LONDOÑO, X.; CAMAYO, G.C.; RIAÑO, N.M.; LÓPEZ, Y. Characterization of the anatomy of *Guadua angustifolia* (Poaceae: Bambusoideae) culms. *The Journal of the American Bamboo Society*, Albany, v.16, n.1, p.18-31, 2002.

SOCRATES, G. Infrared and Raman characteristic group frequencies: tables and charts, 3rd ed, West Sussex: John Wiley & Sons, 2001. 347 p.

TAPPI. 1993. T 413 om-93. Ash in wood, pulp, paper and paperboard: Combustion at 900 °C.

TAPPI. 2000. T 222 om-02. Acid-insoluble lignin in wood and pulp.

TAPPI. 2002a. T 211 om-02. Ash in wood, pulp, paper and paperboard: Combustion at 525 °C.

TAPPI. 2002b. T 421 om-02. Moisture in pulp, paper and paperboard.

TAPPI. 2009. T 203 cm-99. Alpha-, beta- and gamma-cellulose in pulp.

YOKOYAMA, T.; KADLA, J. F.; CHANG, H.-M. Microanalytical method for the characterization of fiber components and morphology of woody plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Washington, v. 50, n. 5, p. 1040–1044, 2002.



## EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOCRISTAIS DE CELULOSE DE *GUADUA WEBERBAUERI* PILGER

Rayane Rodrigues de Sousa<sup>1</sup>, Diego Magalhães do Nascimento<sup>1</sup>, Niédja Fittipaldi Vasconelos<sup>1</sup>,  
João Paulo Saraiva Morais<sup>2</sup>, Lílían Chayn Alexandre<sup>3</sup>, Ana Ribeiro Cassales<sup>3</sup>, Elias Melo de  
Miranda<sup>4</sup>, Andrea Raposo<sup>4</sup>, \*Morsyleide de Freitas Rosa<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Ceará. <sup>2</sup>Embrapa Algodão. <sup>3</sup>Embrapa Agroindústria Tropical. <sup>4</sup>Embrapa Acre  
\*morsyleide.rosa@embrapa.br

**Classificação:** Bionanocompósitos.

### Resumo

A taboca *Guadua weberbaueri* Pilger é uma espécie de bambu tropical que ocorre na Amazônia. Visando agregar valor a essa biomassa, o objetivo deste trabalho foi extrair e caracterizar nanocristais de celulose do colmo dessa planta. O colmo foi cortado em cavacos, os quais foram moídos. Com essa fibra procedeu-se à polpação por autohidrólise, acetosolv e branqueamento livre de cloro. A polpa branqueada foi hidrolisada com ácido sulfúrico e a suspensão de nanocristais foi caracterizada por FTIR, DRX, TG/dTG e tamanho de partícula por espalhamento dinâmico de luz e potencial zeta. Foi possível obter nanocristais de celulose, com elevada cristalinidade, sendo possível, pois, utilizar essa biomassa como fonte de celulose para obtenção desse insumo nanoestruturado.

**Palavras-chave:** Bambu; Taboca; Amazônia.

### EXTRACTION AND CHARACTERISATION OF CELLULOSE NANOCRYSTALS FROM *GUADUA WEBERBAUERI* PILGER

#### Abstract

The taboca *Guadua weberbaueri* Pilger is a kind of tropical bamboo that grows in Amazon. Aiming to add value to this biomass, the objective of this work was extract and characterise cellulose nanocrystals from the plant culm. The culm was sawn in woodchips, which were milled. The fibre was pulped by autohydrolysis, acetosolv, and chlorine-free bleaching. The bleached pulp was hydrolysed with sulfuric acid and the nanocrystals suspension was characterised by FTIR, DRX, TG/dTG, and dynamic light scattering and zeta potential. It was possible to obtain cellulose nanocrystals, with high crystallinity. Thus, it is possible to use this biomass as a source for this nanostructured material.

**Keywords:** Bamboo; Taboca; Amazon.

## 1 INTRODUÇÃO

O bambu pertence à família das Gramineae ou Poaceae, subfamília Bambusoideae, tribos herbáceas (Olyreae) e lenhosas (Bambuseae), possui mais de 1.100 espécies de bambu, divididas em cerca de 90 gêneros (PEREIRA; BERALDO, 2007).

Morfologicamente, o bambu apresenta-se na forma de touceiras, os colmos estão agrupados formando moitas, ou alastrantes, os colmos nascem isoladamente. Os bambus classificados como touceira são encontrados nas regiões tropicais, e os alastrantes nas regiões clima temperado. Nenhum outro recurso natural possui mais versatilidade, leveza, flexibilidade, resistência, dureza, adaptabilidade climática e crescimento rápido.

Na porção oeste da Amazônia, ocorrem largas florestas dominadas por bambus, regionalmente conhecidas como tabocas, com predomínio da espécie *Guadua weberbaueri* Pilger (MCMICHAEL et al., 2013).

Visando agregar valor à biomassa lignocelulósica do bambu *Guadua weberbaueri* Pilger, o objetivo deste trabalho foi extrair e caracterizar nanocristais do colmo dessa taboca.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Material vegetal

As tabocas foram fornecidas pela Embrapa Acre e cortadas manualmente em cavacos de apro-

ximadamente 80 x 20 x 2 mm, moídas em moinho de facas tipo Wiley e fracionadas em máquina de peneiras vibratórias, selecionando-se a fração de 60 mesh para uso.

## 2.2 Polpação

As fibras foram autohidrolisadas com água deionizada, 1:10 (m/v), em reator hidrotermal a 170 °C durante 100 minutos. Ao término da reação, o material foi filtrado e a fibra lavada com água destilada até a neutralidade (MA et al., 2013). A seguir, a fibra foi submetida a tratamento acetosolv, sob refluxo a 110 °C com ácido acético 93% (m/m) e ácido clorídrico 0,3% (m/m) com uma relação massa/solvente de 1:10 (m/v), sob agitação por 60 minutos. Após esse período, procedeu-se com a filtração, e o material retido foi lavado com ácido acético (80 °C). Em seguida, a fibra foi lavada com água destilada até pH 7 (BENAR, 1992). As fibras foram branqueadas com solução de NaOH 4% (m/v) a 55 °C na proporção 1:8 (m/v). Decorridos 5 minutos, a solução de peróxido de hidrogênio 5% (m/m) foi acrescentada à mistura e o sistema permaneceu sob vigorosa agitação a 50 °C por 90 minutos. Em seguida, a polpa celulósica foi filtrada e lavada com água destilada até a neutralidade.

## 2.3 Hidrólise ácida

A hidrólise consistiu na adição da fibra, com uma relação 1:8 (biomassa/ácido), a uma solução de ácido sulfúrico 60% (m/m) a 45 °C, sob agitação por 90 minutos. (CHEN et. al, 2013), sendo interrompida com adição de água deionizada gelada numa proporção 1:15 (fibra/água). O produto reacional foi centrifugado a 13.000 rpm durante 15 minutos a 20 °C. O sobrenadante foi descartado, e o material decantado foi ressuspenso em água deionizada gelada e ultrassonicado a 60 W de potência por 2 minutos em ultrassom de ponteira. O procedimento pós-hidrólise foi executado três vezes antes da diálise contra água destilada.

## 2.4 Caracterização dos nanocristais

### 2.4.1 FTIR

Os nanocristais de celulose foram caracterizados por espectroscopia na região do infravermelho médio, na faixa de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ , utilizando pastilhas de brometo de potássio (KBr).

### 2.4.2 Índice de cristalinidade

O índice de cristalinidade ( $I_c$ ) foi estimado por meio de difração de raios X, com uma tensão de 50 kV e 50 mA de corrente, em tubo de cobre (Cu), variando-se o ângulo  $2\theta$  de 5 a 50°. O cálculo do  $I_c$  foi feito conforme Segal e colaboradores (1959).

### 2.4.3 Análise termogravimétrica (TG/dTG)

A análise termogravimétrica foi realizada uma taxa de aquecimento de 10 °C/min, de 25 a 800 °C, em atmosfera de ar sintético, com vazão de 50 mL/min.

### 2.4.4 Análise de tamanho de partícula por espalhamento dinâmico de luz (DLS) e potencial zeta

Uma amostra da suspensão de nanocristais foi diluída com água deionizada na proporção de 1:100 (v/v) e analisada em equipamento Malvern 3000 Zetasizer NanoZS.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 FTIR

A partir do espectro da Figura 1a é possível observar as bandas características da nanocelulose. Frequências na região de 3400  $\text{cm}^{-1}$  são características de estiramento O-H presentes tanto em água quanto em álcool das unidades de glicose. Os estiramentos em 2900  $\text{cm}^{-1}$  são referentes às ligações C-H

de hidrocarbonetos saturados. As frequências de absorção na região de  $1639\text{ cm}^{-1}$  podem ser atribuídas à deformação O-H de água adsorvida, devido à presença de umidade. Não se verifica um pico por volta de  $1500\text{ cm}^{-1}$ , evidenciando-se ausência de vibração da ligação C=C de aromáticos (ROSA et al., 2010), ou seja, não há evidência de lignina remanescente. Picos intensos entre  $1350$  e  $1175\text{ cm}^{-1}$  e picos fracos entre  $600$  e  $400\text{ cm}^{-1}$  evidenciam a presença de  $\text{SO}_2$ , indicando a sulfonação da celulose (SOCRATES, 2004).

### 3.2 Índice de cristalinidade

O índice de cristalinidade calculado com base no difratograma (Figura 1b) foi de 79%. Comparando-se com outros cristais, como por exemplo o coco (ROSA et al., 2010), que apresentou cristais com cristalinidade de aproximadamente 65%, verifica-se que esses cristais possuem uma relativamente alta cristalinidade.

### 3.3 TG/dTG

A partir do termograma (Figura 1c) é possível observar que a temperatura de decomposição máxima do primeiro evento de decomposição ocorre a  $154\text{ °C}$ . Esse valor é uma consequência da adição de grupos sulfatos à celulose, cuja carga superficial promove instabilidade na molécula (ROSA et al., 2010).

### 3.4 Tamanho de partícula e potencial zeta

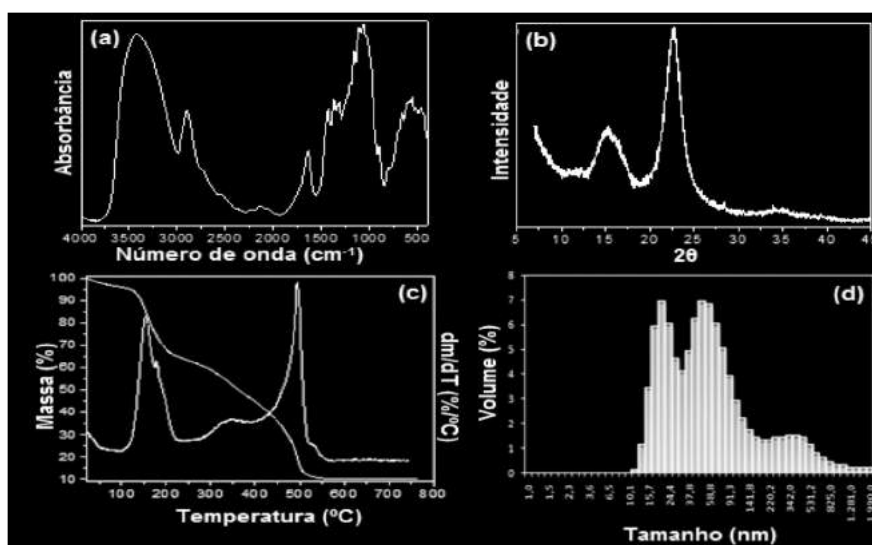
A análise do tamanho de partícula (Figura 1d) demonstra que aproximadamente 80,8% das partículas em suspensão apresentam pelo menos uma dimensão em escala nano, ou seja, menor que  $100\text{ nm}$ . As nanopartículas apresentaram um potencial zeta bastante elevado, de  $-54,2 \pm 1,3\text{ mV}$ . Como esse valor é em módulo superior a  $25\text{ mV}$ , a suspensão de nanopartículas pode ser considerada estável, sem tendência a flocular (MIRHOSSEINI et al., 2008). Essa carga superficial negativa é devida à incorporação de grupos sulfato às hidroxilas da celulose.

## 4 CONCLUSÃO

Com base nesses resultados, mostra-se que foi possível extrair nanocristais de celulose a partir de colmos de taboca *G. weberbaueri*.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Laboratório de Raios-X da UFC pelos difratogramas, ao CNPq e Embrapa pelo apoio financeiro.



**Figura 1.** Espectro de FTIR (a), difratograma de raios-X (b), termograma (c) e distribuição de tamanho de partícula (d) de nanocristais de celulose extraídos de colmo de *G. weberbaueri*.

## REFERÊNCIAS

- BENNAR, P. Polpação Acetosolv de Bagaço de Cana e madeira de Eucalipto. 1992. 71p. Dissertação (Mestrado em Química Inorgânica) – Universidade Estadual de Campinas, Unicamp, Campinas, 1992.
- CHEN, F.; HONG, B.; GUO, X.; XUE, G. X. Pretreatment of bamboo powder for cellulose nanocrystalline by sulfuric acid hydrolysis. *Advanced Materials Research*, Pfaffikon, v. 785-786, p.346-353, 2013.
- MA, X. J.; CAO, S. L.; LIN, L.; LUO, X. L.; HU, H. C.; CHEN, L. H.; HUANG, L. L. Hydrothermal pretreatment of bamboo and cellulose degradation. *Bioresource Technology*, Amsterdam, v. 148, p. 408-413, 2013.
- MCMICHAEL, C.H.; BUSH, M.B.; SILMAN, M.R.; PIPERNO, D.R.; RACZKA, M.; LOBATO, L.C.; ZIMMERMAN, M.; HAGEN, S.; PALACE, M. Historical fire and bamboo dynamics in western Amazonia. *Journal of Biogeography*, Hoboken, v. 40, p. 299-309, 2013.
- MIRHOSSEINI, H.; TAN, C. P.; HAMID, N. S. A.; YUSOF, S. Effect of Arabic gum, xanthan gum and orange oil contents on  $\zeta$ -potential, conductivity, stability, size index and pH of orange beverage emulsion. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, Amsterdam, v. 315, n.1-3, p. 47-56, 2008.
- PEREIRA, M. A. R.; BERALDO, A. L. *Bambu de corpo e alma*. Bauru: Editora Canal 6, 2007, 240 p.
- ROSA, M.F.; MEDEIROS, E.S.; MALMONGE, J.A.; GREGORSKI, K.S.; WOOD, D.F.; MATTOSO, L.H.C.; GLENN, G.; ORTS, W.J.; IMAM, S.H. Cellulose nanowhiskers from coconut husk fibers: Effect of preparation conditions on their thermal and morphological behavior. *Carbohydrate Polymers*, Amsterdam, v. 81, n. 1, p. 83-92, 2010.
- Segal, L.; Creely, J. J.; Martin, A. E.; Conrad, C. M. An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using the X-ray diffractometer. *Textile Research Journal*, Thousand Oaks, v. 29, n. 10, p. 786-794, 1959.
- SOCRATES, G. *Infrared and raman characteristic group frequencies – tables and charts*. 3<sup>rd</sup> Ed. West Sussex: John Wiley & Sons Ltd., 2004, 347p.

---

## ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE LIGNINA ACETOSOLV DE FIBRA DA PRENSAGEM DO DENDÊ

Jéssica Miranda Abreu<sup>1</sup>, Nágila Freitas Souza<sup>1</sup>, João Paulo Saraiva Morais<sup>2</sup>, Celli Rodrigues Muniz<sup>3</sup>, Lílian Chayn Alexandre<sup>3</sup>, Men de Sá Moreira de Souza Filho<sup>3</sup>, \*Morsyleide de Freitas Rosa<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Ceará. <sup>2</sup>Embrapa Algodão. <sup>3</sup>Embrapa Agroindústria Tropical.  
\*morsyleide.rosa@embrapa.br

**Classificação:** Bionanocompósitos.

### Resumo

A lignina é extensivamente produzida como subproduto nos processos de deslignificação para a produção de pasta de papel e de bioetanol. A fim de utilizar novas fontes para a extração da lignina e conhecer suas propriedades, o objetivo deste trabalho foi utilizar o mesocarpo do dendê como biomassa lignocelulósica e a técnica de extração com ácido acético (acetosolv) para a obtenção de lignina. Fibras da prensagem do mesocarpo do dendê foram polpadas pelo processo acetosolv e a lignina resultante foi recuperada, sendo analisada quanto ao teores de umidade, lignina solúvel, insolúvel; FTIR; TG e MEV. Verificou-se que a lignina assim obtida possui uma elevada pureza, apesar de ainda haver alguns carboidratos residuais na mesma.

**Palavras-chave:** *Elaeais guineensis*; Organosolv; Amazônia; Óleo de palma.

## ISOLATION AND CHARACTERISATION ACETOSOLV LIGNIN FROM PALM OIL PRESSED FIBRE

### Abstract

Lignin is extensively produced as a byproduct in the delignification processes for paper and bioethanol making. The objective of this work was use the palm oil mesocarp fibre as a lignocellulosic biomass and the acetosolv (acetic acid pulping) process to extract lignin, aiming the enablement of new sources for lignin production. The fibres of palm oil mesocarp pressing were acetosolv pulped and the lignin was recovery. It was analysed by moisture, soluble and insoluble lignin contents, FTIR, TG, and SEM. The yielded lignin has a high purity, instead of it still presents some residual carbohydrates on it.

**Keywords:** *Elaeais guineensis*; Organosolv; Amazon; Palm oil.

## 1 INTRODUÇÃO

Tradicionalmente utilizada como combustível em caldeiras de alguns processos industriais, a lignina é extensivamente produzida como subproduto nos processos de deslignificação para a produção de pasta de papel e de bioetanol (SAHOO et al., 2011). Para que cada lignina possa ser aplicada a uma finalidade industrial de forma adequada, é preciso que suas propriedades físicas e químicas sejam conhecidas e estudadas. Essas são alteradas de acordo com a natureza da biomassa de origem, uma vez que, dependendo da espécie vegetal, tanto o teor de lignina encontrado quanto a distribuição das suas subunidades podem variar. Outros fatores que também influenciam na natureza da lignina são os processos de extração e os pós-tratamentos (STEWART, 2008). A fim de utilizar novas fontes para a extração da lignina e conhecer suas propriedades, o objetivo deste trabalho foi utilizar o mesocarpo do dendê como biomassa lignocelulósica e a técnica de extração com ácido acético (acetosolv) para a obtenção de lignina.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Material vegetal

Fibras da prensagem do mesocarpo do dendê foram cedidas pela Embrapa Amazônia Oriental, provenientes de usinas do município de Tailândia, Pará.

### 2.2 Polpação acetosolv

Cerca de 10,0 g de fibras moídas da prensagem do mesocarpo do dendê foram misturadas com 96,0 mL de solução acetosolv e o sistema ficou em refluxo, à pressão atmosférica e à temperatura de 115°C, por 3 h. A polpa resultante foi filtrada em papel de filtro (diâmetro de poros de 28 µm), obtendo-se as fibras celulósicas e o licor negro ácido contendo a lignina.

### 2.3 Precipitação da lignina

O licor negro obtido do processo de deslignificação foi evaporadoconcentrado, utilizando-se um evaporador rotativo. A lignina resultante foi precipitada em água destilada a quente (80°C), para minimizar a precipitação de carboidratos. A mistura foi deixada em repouso por 24 h sem aquecimento, filtrada a vácuo em funil de Büchner e papel de filtro (diâmetro de poros 8 µm) e lavada com água destilada até pH próximo de 7,0. O material foi seco em estufa a 45 °C durante 24 h, e armazenado em dessecador a vácuo até a realização dos ensaios de caracterização.

### 2.4 Caracterização da lignina

#### 2.4.1 Teores de umidade, lignina insolúvel e lignina solúvel

Os teores de umidade, lignina insolúvel e lignina solúvel foram medidos segundo as metodologias da TAPPI (1993, 2000) em triplicata.

### 2.4.2 Espectroscopia no Infravermelho (FTIR) e Análise termogravimétrica (TG/dTG)

Os espectros vibracionais na região do infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) foram obtidos em um espectrofotômetro Agilent, modelo Cary 660, na faixa de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ , com resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$  e 25 varreduras, utilizando-se pastilhas de brometo de potássio (KBr) na proporção de 1:50 (m/m) de amostra:KBr. Para a análise de TGA, realizou-se uma varredura de 30 a 900  $^{\circ}\text{C}$ , numa taxa de aquecimento de 10  $^{\circ}\text{C min}^{-1}$  e vazão de gás nitrogênio de 40,0  $\text{mL min}^{-1}$ , utilizando-se um equipamento da marca PerkinElmer, modelo STA 6000 Simultaneous Thermal Analyzer.

### 2.4.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Para essa análise, as amostras foram submetidas à secagem em aparelho de secagem ao ponto crítico (EMS, modelo 850), montadas em stubs, metalizadas com platina (camada com 60 nm de espessura) em evaporadora EMS e fotografadas em Microscópio Eletrônico de Varredura Zeiss DSM 940A, sob uma voltagem de aceleração de 15 kV.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Teores de umidade, cinzas e lignina insolúvel

A composição da amostra de lignina recuperada está na Tabela 1. Verifica-se uma pureza maior que 90% de lignina. Esses resultados concordam com os encontrados na literatura para amostras de lignina obtidas a partir de outras fontes de biomassa e através de outros processos de extração, as quais apresentam um elevado teor de lignina insolúvel e um baixo teor de lignina solúvel (WANGA; CHEN, 2013).

**Tabela 1.** Caracterização lignocelulósica das fibras do colmo de taboca/bambu *Guadua weberbaueri* Pilger a diferentes alturas de corte

	Componente		
	Umidade	Lignina insolúvel	Lignina solúvel
Lignina acetosolv	4,70 $\pm$ 0,37	91,28 $\pm$ 0,50	2,45 $\pm$ 0,14

Médias  $\pm$  erro padrão

### 3.2 FTIR e TG/dTG

Na análise da lignina (Figura 1), foram encontradas bandas de absorção características para a lignina (TOLEDANO et al., 2010). Observou-se uma banda larga relacionada ao estiramento O-H das unidades alifáticas e fenólicas da lignina entre 3600 e 3200  $\text{cm}^{-1}$ . Na região de 2930–2850  $\text{cm}^{-1}$  ocorrem estiramentos simétricos e assimétricos C-H correspondentes aos grupamentos metila e metileno e à metoxila ligada ao anel aromático. Em torno de 1710  $\text{cm}^{-1}$ , observa-se o estiramento C=O de carboxila conjugada (TOLEDANO et al., 2010). Bandas esqueléticas de anel aromático são mostradas em 1607, 1513, 1462 e 1426  $\text{cm}^{-1}$ . Em 1269  $\text{cm}^{-1}$  e em 1230  $\text{cm}^{-1}$  ocorrem vibrações de anel guaiacila (G) com estiramentos C-O para a amostra (TOLEDANO et al., 2010). As bandas em torno de 1165  $\text{cm}^{-1}$  e em 1033  $\text{cm}^{-1}$  podem ser atribuídas à hemicelulose contaminante (SHE et al., 2010). Complexos lignina-carboidrato, formados entre a cadeia de lignina e a hemicelulose, são abundantes em certos materiais lignocelulósicos, podendo permanecer como contaminantes após processos de extração e purificação (HU et al., 2012).

No termograma da amostra de lignina (Figura 1) são observados três eventos principais de perda de massa, em torno de 66, 251 e 358  $^{\circ}\text{C}$ , respectivamente. O primeiro deles pode ser atribuído à perda de água adsorvida e o segundo à degradação de hemicelulose contaminante presente na amostra. O terceiro evento de perda de massa refere-se à fragmentação da complexa estrutura da lignina, devido à clivagem das ligações entre as unidades do polímero, principalmente as ligações  $\alpha$ -aril éter e  $\beta$ -aril éter, liberando monômeros fenólicos na fase vapor. A partir de 500  $^{\circ}\text{C}$ , aproximadamente, a lignina apresenta uma perda de massa gradual relacionada à degradação e/ou à condensação de anéis aromáticos sob a atmosfera inerte, gerando um resíduo de 30% (HUSSIN et al., 2013).

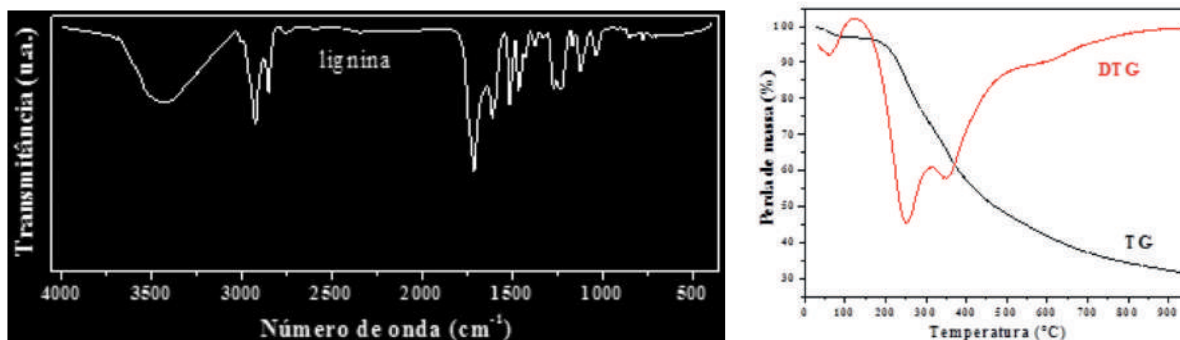


Figura 1. Espectro de FTIR (esquerda) e termograma (direita) da lignina acetosolv precipitada oriunda de fibras da prensagem do mesocarpo do dendê.

### 3.3 MEV

A partir das micrografias obtidas para a amostra de lignina (Figura 2), observou-se uma superfície irregular e compacta, com ausência de poros. Foram também observadas fibras, provavelmente relacionadas à contaminação por resíduos de hemicelulose, devido ao processo de obtenção da lignina através da polpação da biomassa do dendê.

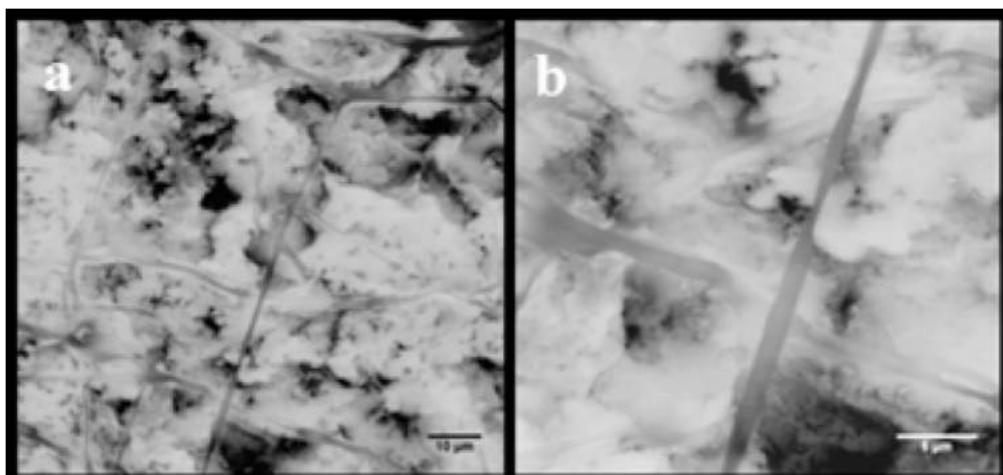


Figura 2. Micrografias da lignina acetosolv precipitada oriunda de fibras da prensagem do mesocarpo do dendê.

## 4 CONCLUSÃO

Com base nesses resultados, a lignina acetosolv da fibra da prensagem do dendê é um material com potencial para a produção de insumos que possam ser usados para a obtenção de nanoestruturas.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Embrapa Amazônia Oriental, ao CNPq (Processo Morsyleide) e Embrapa (código Macro1) pelo apoio financeiro.

## REFERÊNCIAS

SAHOO, S.; SEYDIBEYOĞLU, M.Ö.; MOHANTY, A.K.; MISRA, M. Characterization of industrial lignins for their utilization in future value added applications. *Biomass and Bioenergy*, Amsterdam, v. 35, n. 10, p. 4230-4237, 2011.

STEWART, D. Lignin as a base material for materials applications: Chemistry, application and economics. *Industrial Crops and Products*, Amsterdam, v. 27, n. 2, p. 202-207, 2008.

TAPPI. 1993. T 413 om-93. Ash in wood, pulp, paper and paperboard: Combustion at 900 °C.

TAPPI. 2000. T 222 om-02. Acid-insoluble lignin in wood and pulp.

WANG, G.; CHEN, H. Fractionation and characterization of lignin from steam-exploded corn stalk by sequential dissolution in ethanol–water solvent. *Separation and Purification Technology*, Amsterdam, v. 120, p. 402-409, 2013.

TOLEDANO, A.; GARCÍA, A.; MONDRAGON, I.; LABIDI, J. Lignin separation and fractionation by ultrafiltration. *Separation and Purification Technology*, Amsterdam, v. 71, n. 1, p. 38-43, 2010.

SHE, D.; XU, F.; GENG, Z.C.; SUN, R.C.; JONES, G.L.; BAIRD, M.S. Physicochemical characterization of extracted lignin from sweet sorghum stem. *Industrial Crops and Products*, Amsterdam, v. 33, n. 1, p. 21-18, 2010.

HU, G.; CATETO, C.; PU, Y.; SAMUEL, R.; RAGAUSKAS, A.J. Structural characterization of switchgrass lignin after ethanol organosolv treatment. *Energy Fuels*, Washington, v. 26, n. 1, p. 740-745, 2012.

HUSSIN, M.H.; RAHIM, A.A.; IBRAHIM, M.N.M.; BROSSE, N. Physicochemical characterization of alkaline and ethanol organosolv lignins from oil palm (*Elaeis guineensis*) fronds as phenol substitutes for green material applications. *Industrial Crops and Products*, Amsterdam, v. 49, p. 23-32, 2013.

---

## EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOESTRUTURAS DE FONTES RENOVÁVEIS

João Paulo Saraiva Morais<sup>1</sup>, Men de Sá Moreira de Souza Filho<sup>2</sup>, Lilian Chayn Alexandre<sup>2</sup>, Ana Ribeiro Cassales<sup>2</sup>, \*Morsyleide de Freitas Rosa<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Algodão. <sup>2</sup>Embrapa Agroindústria Tropical.  
\*morsyleide.rosa@embrapa.br

**Classificação:** Bionanocompósitos.

### Resumo

Diferentes fontes vegetais e tratamentos de extração de nanoestruturas podem levar a nanocristais com diversas propriedades. Desta forma, o objetivo deste resumo é consolidar parte das informações geradas no Plano de Ação “Extração e caracterização de nanoestruturas de fontes renováveis”, do Projeto Componente “Bionanocompósitos”, do Macroprograma 1 “Nanotecnologia aplicada ao agronegócio”. As diferentes biomassas empregadas são resumidas a seguir, mostrando o efeito da fonte e de variações nos parâmetros de extração nas propriedades finais das nanoestruturas. Em linhas gerais, todos os cristais são adequados para a produção de nanocompósitos, e a variação entre eles fornece variação para que a Engenharia de Materiais desenvolva diferentes compósitos, de acordo com as necessidades, e também auxilia a agregar valor a essas biomassas de importância para o agronegócio brasileiro.

**Palavras-chave:** Agronegócio; nanowhiskers; otimização; bioprodutos; modelagem.

### EXTRACTION AND CHARACTERISATION OF NANOSTRUCTURES FROM RENEWABLE SOURCES

#### Abstract

Different plant sources and extraction treatments of nanostructures may yield to nanocrystals with different properties. So, the aim of this abstract is to assemble some generated information of the Action Plan “Extraction and characterisation of nanostructures from renewable sources” from the Component Project “Bionanocomposites” from the Macroprogram 1 “Nanotechnology applied to agribusiness”. The several analysed biomasses are summarized as follow, showing the effect of the source and of the variation in the extraction parameters. In general lines, all the crystals are suitable to nanocomposite production, and the variation among them gives to the Material Engineer freedom to develop different biobased products, as different needs, and this use aids in the adding-value to important biomasses from Brazilian agribusiness.



**Keywords:** Agribusiness; nanowhiskers; optimisation; bioproducts; modelling.

**Publicações relacionadas:**

<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.08.010>

<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.04.053>

<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.05.090>

## 1 INTRODUÇÃO

A celulose é o polímero mais abundante nas plantas (DUFRESNE, 2012). Desta forma, ela consiste em uma importante fonte renovável de nanoestruturas. Entre essas nanoestruturas, merecem destaque os nanocristais de celulose, que possuem uma estrutura agulhada, com versatilidade para serem aplicados em diferentes campos como, por exemplo, no reforço de compósitos. Sabe-se que diferentes fontes de celulose e diferentes condições de extração resultam em diferentes tipos de nanocristais. Desta forma, o objetivo deste trabalho é apresentar e resumir as ações efetuadas no Plano de Ação “Extração e caracterização de nanoestruturas de fontes renováveis”, do Projeto Componente “Bionanocompósitos”, do Macroprograma 1 “Nanotecnologia aplicada ao agronegócio”.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Material vegetal

Diferentes biomassas lignocelulósicas foram empregadas como fonte de nanocristais, a exemplo de línter de algodão, fornecido pela Embrapa Algodão, fibra da prensagem do mesocarpo do dendê, fornecida pela Embrapa Amazônia Oriental, fibra de taboca, fornecida pela Embrapa Acre, e fibras de coco verde, cápsula de algaroba e pseudocaule de bananeira, obtidas pela Embrapa Agroindústria Tropical.

### 2.2 Pré-tratamentos

As fibras foram submetidas a diferentes pré-tratamentos. Por exemplo, no caso da fibra de coco e dendê, foi executada uma polpação acetosolv com ácido acético antes do branqueamento; fibras de pseudocaule de bananeira foram simplesmente branqueadas, sem um tratamento prévio para remoção de lignina; fibras de línter de algodão foram diretamente submetidas a hidrólise ácida, sem nenhum pré-tratamento.

### 2.3 Hidrólise ácida

A hidrólise consistiu na adição das fibras a ácido sulfúrico concentrado, variando-se parâmetros como tempo, relação massa de fibra/volume de ácido, concentração massa/massa do ácido e temperatura de reação. Esses diferentes parâmetros podem influenciar no grau de sulfatação dos nanocristais, afetando diretamente o potencial zeta, e o grau no qual a celulose amorfa é degradada, resultando em nanocristais com diferentes razões de aspecto L/d, calculada pela razão entre o comprimento (L) pelo diâmetro (d) dos cristais, e índice de cristalinidade

### 2.4 Caracterização dos nanocristais

Os nanocristais foram submetidos a várias caracterizações para verificar o efeito da fonte celulósica e do tratamento efetuado sobre as propriedades dos nanocristais obtidos. Dentre essas caracterizações, foram realizadas avaliações do potencial zeta, difração de raios X para determinação do índice de cristalinidade (SEGAL et al., 1959) e análise morfológica por MET ou MEV-FEG para determinação da dimensão dos cristais (MORAIS et al., 2013).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os diversos parâmetros avaliados das várias biomassas estão presentes na tabela 1. Observa-se que há grandes diferenças entre os materiais, como na razão de aspecto L/d. Essa razão varia de 19 a 35 (MORAIS et al., 2013; NASCIMENTO et al., 2014; PEREIRA et al., 2014), ou seja, há uma grande variação de tamanho entre os cristais, que pode ser explorada para engenheirar diferentes compósitos, de acordo com a necessidade dos mesmos.

O índice de cristalinidade, em geral, é acima de 70%, o que mostra que todos os diferentes materiais possuem potencial para reforço. O módulo do potencial zeta dos cristais é, comumente, acima de 25 mV, o que indica a estabilidade dos mesmos (MIRHOSSEINI et al., 2008).

**Tabela 1.** Características de diferentes nanocristais de celulose obtidos de diferentes fontes vegetais.

Biomassa	Parâmetros						
	Tempo (min)	Relação Fibra/ácido	Concentração de ácido (% m/m)	Temperatura (°C)	Ic (%)	Potencial zeta (mV)	Razão L/d
Línter	60	1:20	60,0	45,0	90,4	-45,3	19
Coco verde	360	1:8,75	43,6	60,0	82,0	-33,0	22
Dendê	150	1:20	60,0	45,0	70,9	-26,1	35
Dendê acetosolv	100	1:20	75,1	35,0	66,7	-27,0	27,1
Dendê acetosolv	40	1:20	48,9	55,0	62,9	-33,9	30,3
Dendê acetosolv	100	1:20	75,1	55,0	63,1	-40,2	20,8
Dendê acetosolv	20	1:20	62,0	45,0	70,7	-40,1	25,1
Dendê acetosolv	70	1:20	62,0	62,0	60,3	-37,8	15,8
Pseudocaule de bananeira	70	1:12,5	64,0	45,0	-	-26,1	21
Vagem de algaroba	60	1:20	60,0	50,0	72,0	-30,3	-
Cápsula de algaroba	60	1:20	60,0	50,0	89,0	-35,0	31
Taboca	90	1:8	60,0	45,0	79,0	-50,0	-

*Ic = índice de cristalinidade; Razão L/d = Razão de aspecto; - = dado não disponível*

### 4 CONCLUSÃO

Com base nesses resultados, verifica-se a ampla gama de cristais que podem ser obtidos de diferentes fontes lignocelulósicas. O uso desses insumos para o preparo de compósitos com diferentes aplicações é uma oportunidade para a Engenharia de Materiais e contribui para a agregação de valor a biomassas de importância para o agronegócio brasileiro.

### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Laboratório de Raios-X da UFC pelos difratogramas, ao CETENE e ao Laboratório de Microscopia de Varredura da UERN pelas micrografias usadas para o cálculo da razão de aspecto e ao CNPq e Embrapa pelo apoio financeiro.

## REFERÊNCIAS

- DUFRESNE, A. Nanocellulose: From nature to high performance tailored materials. Berlin: Walter De Gruyter Incorporated, 2012. 460 p.
- MIRHOSSEINI, H.; TAN, C.P.; HAMID, N.S.A.; YUSOF, S. Effect of Arabic gum, xanthan gum and orange oil contents on zeta-potential, conductivity, stability, size index and pH of orange beverage emulsion. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, Amsterdam, v.315, p. 47–56, 2008.
- MORAIS, J.P.S.; ROSA, M.F.; SOUZA FILHO, M.S.M.; NASCIMENTO, L.D.; NASCIMENTO, D.M.; CASSALES, A.R. Extraction and characterization of nanocellulose structures from raw cotton linter. *Carbohydrate Polymers*, Amsterdam, v. 91, p. 229-235, 2014.
- NASCIMENTO, D.M.; ALMEIDA, J.S.; DIAS, A.F.; FIGUEIRÊDO, M.C.B.; MORAIS, J.P.S.; FEITOSA, J.P.A.; ROSA, M.F. A novel green approach for the preparation of cellulose nanowhiskers from white coir. *Carbohydrate Polymers*, Amsterdam, v. 110, p. 456-463, 2014.
- PEREIRA, A.L.; NASCIMENTO, D.M.; SOUZA FILHO, M.S.M.; MORAIS, J.P.S.; VASCONCELOS, N.F.; FEITOSA, J.P.A.; BRÍGIDA, A.I.S.; ROSA, M.F. Improvement of polyvinyl alcohol properties by adding nanocrystalline cellulose isolated from banana pseudostems. *Carbohydrate Polymers*, Amsterdam, v. 112, p. 165-172, 2014.
- SEGAL, L.; CREELY, J.J.; MARTIN JR., A.E.; CONRAD, C.M. An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using X-ray diffractometer. *Textile Research Journal*, Clarksville, v. 29, n.10, p. 786–794, 1959.

---

## APROVEITAMENTO DOS RESÍDUOS DA MANGA *TOMMY ATKINS* PARA O DESENVOLVIMENTO DE BIOPLÁSTICO

Cordeiro, E. M. S.<sup>1</sup>, Nobre, P. A.<sup>2</sup>, Mattos, A. L. A.<sup>3</sup>, \*Souza Filho, M. S. M.<sup>3</sup>, Moraes, J. P. S.<sup>3</sup>, Rosa, M. F.<sup>3</sup>, Ito, E. N.<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Norte. <sup>2</sup>Universidade Federal do Ceará. <sup>3</sup>Embrapa Agroindústria Tropical.  
\*men.souza@embrapa.br

**Classificação:** Bionanocompósitos.

### Resumo

O objetivo deste trabalho foi utilizar sementes de manga como fonte de amido, fibras e *nanowhiskers* de celulose para obtenção de materiais poliméricos. O amido extraído das amêndoas das sementes apresentou elevado grau de pureza. Os resultados obtidos para as fibras e *nanowhiskers* de celulose extraídos do tegumento fibroso da semente comprovou a eficácia do tratamento químico realizado. Os resultados para os materiais poliméricos mostraram que o TPS apresentou melhores propriedades mecânicas em relação aos biocompósitos e bionanocompósitos.

**Palavras-chave:** Amido termoplástico; Semente de manga; Materiais biodegradáveis.

### UTILIZATION OF WASTE MANGO *TOMMY ATKINS* FOR DEVELOPING BIOPLASTIC

#### Abstract

The aim of this study was to use mango seeds as a source of starch, fiber and cellulose *nanowhiskers* to obtain polymeric materials. The starch extracted from the kernels of the seeds showed high degree of purity. The results obtained for fibers and cellulose *nanowhiskers* from the seed coat fibrous proven efficacy of the chemical treatment. The results for polymeric materials showed that the TPS starch sleeve revealed better results compared to bionanocompósitos and biocomposites.

**Keywords:** Thermoplastic starch; Mango seed; Biodegradable materials.

**Publicações relacionadas**

CORDEIRO E.M.S. *et al.* Aproveitamento dos resíduos agroindustriais da manga na obtenção de compósitos e nanocompósitos processados via extrusão In: 12º Congresso Brasileiro de Polímeros, 2013.

CORDEIRO E.M.S. *et al.* Polymer biocomposites and nanobiocomposites obtained from mango seed. Macromolecular Symposia, 2014. *In Press*

**1 INTRODUÇÃO**

O consumo dos polímeros sintéticos é crescente no decorrer dos anos e, de acordo com a Associação Brasileira da Indústria do Plástico, em 2011 o consumo brasileiro atingiu uma quantidade expressiva de  $6,89 \times 10^6$  ton (ABIPLAST, 2011). Os resíduos poliméricos são fontes de poluição que causam inúmeros problemas ambientais e também representam um grande desafio para o gerenciamento do lixo em grandes cidades (FERREIRA; FONSECA; SARON, 2011). O estudo para o uso do amido termoplástico com o propósito de reduzir o consumo de plástico de origem petroquímica vem ganhando força e recebendo considerável atenção no cenário dos recursos renováveis. Embora o amido termoplástico apresente desvantagens como reduzidas propriedades mecânicas, o reforço com fibras ou *nanowhiskers* de celulose pode ser uma boa solução para obtenção, respectivamente, de compósitos ou nanocompósitos biodegradáveis com melhores propriedades mecânicas. Este trabalho apresenta como objetivo utilizar sementes de manga *Tommy Atkins* como fonte de amido para obtenção de biopolímeros e, também, como fonte de fibras e *nanowhiskers* de celulose, utilizados como cargas reforçantes nos micro e nanobiocompósito poliméricos.

**2 MATERIAIS E MÉTODOS****2.1 Extração e caracterização de amido, fibras e *nanowhiskers* de celulose**

As fibras e os *nanowhiskers* de celulose foram extraídos do tegumento fibroso e o amido das amêndoas, ambos provindos de sementes de manga *Tommy Atkins*. O amido foi obtido segundo procedimento descrito por Singh, Sandhu, Kaur *et al.* (2004) com modificações (Figura 1). As fibras foram submetidas a dois tipos de tratamentos químicos: mercerização e branqueamento. Para obtenção de *nanowhiskers* de celulose foi adotada a metodologia descrita por Orts *et al.* (2005) com adaptações (Figura 1). O amido obtido foi avaliado quimicamente quanto ao teor de lipídios, proteínas, amido total (IAL, 2004) e quanto ao conteúdo de amilose (ISO 6647, 1987). As fibras brutas e tratadas foram caracterizadas quimicamente segundo metodologia descrita por Moraes e colaboradores (2010). A microscopia eletrônica de varredura do amido, fibras brutas e tratadas foi realizada em microscópio HITACHI TM 3000. Foi realizada análise de difração de raios-X das amostras de amido, fibras e *nanowhiskers* de celulose com o uso de difratômetro RIGAKU sob radiação de  $\text{CuK}\alpha$ , a 40 kV e 40 mA, velocidade de  $1^\circ (2\theta) \cdot \text{min}^{-1}$  e intervalo de ângulos  $2\theta$  de  $5$  a  $40^\circ$ . O método de Segal (1959) foi usado para calcular a cristalinidade das fibras e *nanowhiskers* de celulose. O amido, fibras brutas, tratadas e *nanowhiskers* de celulose foram avaliados por termogravimetria, utilizando-se o equipamento Perkin Elmer STA 6000, razão de aquecimento de  $10^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$  de  $25$  a  $700^\circ\text{C}$  sob atmosfera de nitrogênio com vazão de  $30 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ . A morfologia dos *nanowhiskers* de celulose foi analisada em microscópio de transmissão (TECNAI TMG2 F20).

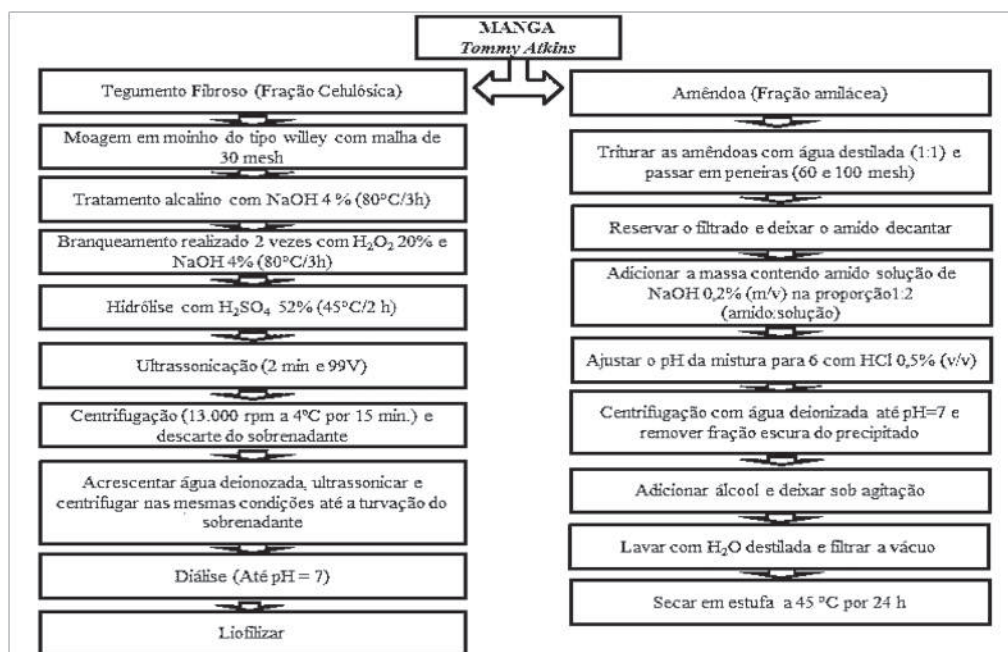


Figura 1. Fluxograma de obtenção de amido e *nanowhiskers* de celulose.

## 2.2 Preparação e caracterização de biocompósitos e bionanocompósitos

Inicialmente foi preparada uma pré-mistura nas seguintes proporções em massa: 62,5% de amido; 28,1% de glicerol e 9,4% de água. Para obtenção do amido termoplástico (TPS) a pré-mistura foi processada em um extrusora dupla rosca co-rotante AX Plásticos AX - DR (L/D = 40), com perfil de temperatura de 70/80/105/110/110/100/100/110/120 °C, da zona de alimentação a matriz e velocidade de rotação de rosca de 180 rpm. O TPS, biocompósito TPS/fibras branqueadas (100/6 em % em massa, AM6FB) e bionanocompósito TPS/*nanowhiskers* de celulose (100/1 em % em massa, AM1NC) foram processados em extrusora monorosca AX Plásticos (D=16 mm e L/D=26), com perfil de temperatura de 100/110/100 °C e velocidade de rotação de rosca de 40 rpm. Para análise de MEV, as amostras foram fraturadas em N<sub>2</sub> líquido, dispostas em *stubs*, recobertas com platina e analisadas no equipamento Philips XL-30, em uma voltagem de aceleração entre 5 e 20 kV. Os ensaios mecânicos dos materiais foram realizados em máquina universal EMIC DL-3000 com corpos de prova do tipo V conforme norma ASTM D638-05, velocidade de 1 mm/min e célula de carga de 30 kN.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Amido, fibras e *nanowhiskers* de celulose

O amido obtido apresentou um rendimento de 32 % (em massa seca). O teor de lipídios, proteínas, amido total e amilose encontrado foi de 0,05%, 1,14%, 73%, 27%, respectivamente. Estes valores atendem às exigências da legislação brasileira (BRASIL, 1978). Os valores médios dos parâmetros químicos das fibras brutas, mercerizadas e branqueadas são apresentados na Tabela 1. Observa-se que os teores de extrativos, lignina e hemicelulose foram reduzidos após os tratamentos químicos de mercerização e branqueamento

Tabela 1. Composição química de fibras brutas e tratadas

Parâmetros	Fibras brutas	Fibras mercerizadas	Fibras branqueadas
Extrativos	14,5	7,3	1,2
Lignina insolúvel	21,1	17,0	7,6

Parâmetros	Fibras brutas	Fibras mercerizadas	Fibras branqueadas
Hemicelulose	28,6	15,7	8,8
Alfacelulose	41,5	45,8	63,8

Observa-se pela fotografia de MEV que os grânulos de amido apresentaram formas ovais e diâmetros médios de 9,3  $\mu\text{m}$ , classificando-se como pequenos (Figura 2A). Observa-se que a fibra bruta apresenta uma superfície bastante empacotada (Figura 2B), em razão da lignina e das hemiceluloses que as envolvem, além de sujidades. Como já mencionado, os tratamentos químicos subsequentes removeram parcialmente esses conteúdos (Figuras 2C e 2D), promovendo uma desagregação das fibras e consequente exposição da celulose, que facilita o ataque ácido.

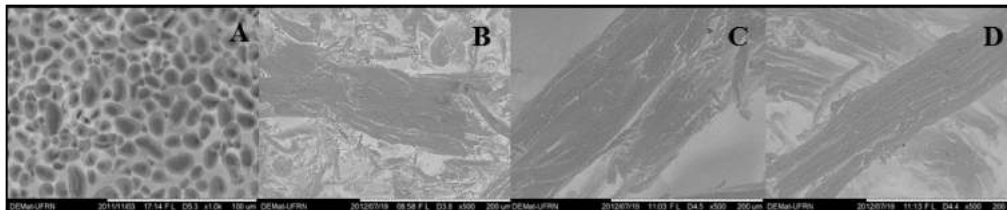
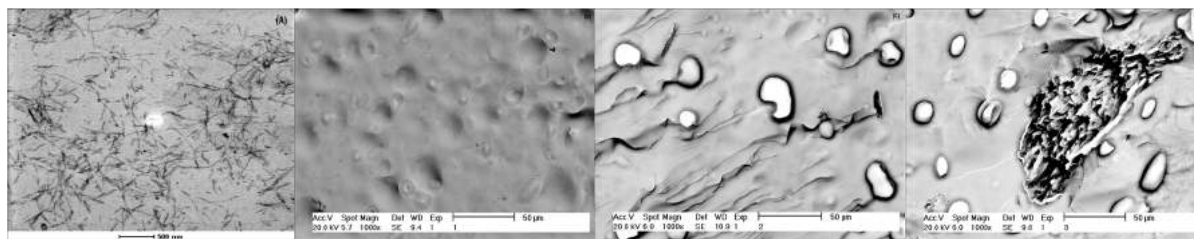


Figura 2. Imagens de MEV do amido (A), fibras brutas (B), mercerizadas (C) e branqueadas (D).

A análise de DRX do amido revelou picos mais intensos nos ângulos  $2\theta = 11,62^\circ, 15,12^\circ, 17,14^\circ$  e  $23,1^\circ$  conferindo padrões de cristalinidade próximos ao tipo A, característicos dos cereais, que ocorre quando a organização das duplas hélices das macromoléculas de amilopectina está na forma monoclinica (OATES, 1997). Foi determinado pela análise de DRX das fibras e *nanowhiskers* de celulose que os picos de difração em torno de  $2\theta = 22^\circ$  tornaram-se mais estreitos e acentuados após os tratamentos químicos, indicando um aumento considerável da cristalinidade devido à remoção dos componentes amorfos. Os índices de cristalinidade encontrados para as fibras brutas, mercerizadas, branqueadas e *nanowhiskers* de celulose foram de 29, 50, 70 e 58%, respectivamente. Foi possível identificar por meio da análise de TGA do amido dois eventos térmicos (Figura 3A). O primeiro ocorreu entre  $44,2-92,3^\circ\text{C}$  com uma perda de massa de 11% foi atribuído à evaporação de voláteis (majoritariamente a água absorvida). O segundo evento relacionado à etapa de degradação térmica dos constituintes majoritários do amido, e minoritários como proteínas e lipídios, apresentou temperatura de início de degradação ( $T_{\text{onset}}$ ) de  $295^\circ\text{C}$ . A análise termogravimétrica de fibras e *nanowhiskers* de celulose revelou dois estágios de decomposição. O primeiro, a aproximadamente  $67, 68$  e  $53^\circ\text{C}$ , respectivamente, para fibra bruta, fibra branqueada e *nanowhiskers* de celulose, foi associado à perda de elementos de baixa massa molar. A  $T_{\text{onset}}$  foi de aproximadamente  $280^\circ\text{C}$  para todas as amostras e refere-se, principalmente, à decomposição de hemicelulose e celulose e início da degradação de lignina. Foi possível observar a existência de *nanowhiskers* de celulose na imagem obtida por MET com comprimento médio (L) de  $285\pm 116$  nm e diâmetro médio (D) de  $28\pm 9$  nm, resultando numa razão de aspecto (L/D) de  $11\pm 7$  (Figura 3a).

### 3.2 TPS, biocompósito e bionanocompósito

Na imagem de MEV o TPS apresenta uma estrutura compacta e grânulos de amido que não foram totalmente fundidos no processo de extrusão (Figura 3b). Observa-se em AM1NC, grânulos de amido e poros (Figura 3c). Enquanto que em AM6FB visualiza-se poros e aglomerados de fibras, que podem atuar como concentrador de tensão, facilitando a ruptura do material nessas regiões quando traçado (Figura 3d). Percebe-se também que as fibras estão fracamente aderidas a matriz de TPS devido à presença de vazios na interface fibras-matriz. Quanto às propriedades mecânicas, o TPS apresentou melhor resultado de resistência à tração (2,77 MPa) comparado a AM6FB (2 MPa) e AM1NC (2,37 MPa) que pode estar associado à aglomeração de fibras e dos *nanowhiskers* de celulose nesses materiais. O TPS apresenta módulo de elasticidade mais elevado (46,2 MPa) que AM1NC (42,8 MPa), e menor em comparação a AM6FB (50 MPa), este fato pode ser explicado em virtude da natureza rígida das fibras que reduz a ductibilidade do compósito (ROSA *et al.* 2009). O fato de o TPS puro apresentar maior alongamento (29%) que AM6FB (17%) e AM1NC (23%) pode estar associado aos entrecruzamentos do amido com o plastificante que confere maior plasticidade a estas matrizes.



**Figura 3.** Imagens de MET dos *nanowhiskers* de celulose (a). Imagens de MEV do TPS (b), AM1NC (c) e AM6FB (d).

#### 4 CONCLUSÃO

Os resíduos da manga apresentaram potencial para a obtenção de produtos biodegradáveis (amido, TPS e compósitos). Entretanto, o TPS apresentou melhores resultados que seus respectivos (nano) compósitos.

#### REFERÊNCIAS

- ABIPLAST. Associação Brasileira da Indústria do Plástico. Perfil 2011: Indústria Brasileira de transformação do material plástico. São Paulo, 2011. Disponível em: <[www.abiplast.org.br](http://www.abiplast.org.br)>. Acesso em: 20 de abril de 2013.
- FERREIRA, C. T.; FONSECA, J. B. F.; SARON, C. Reciclagem de Rejeitos de Poli (tereftalato de etileno) (PET) e de Poliamida (PA) por meio de Extrusão Reativa para a Preparação de Blendas. *Polímeros*, São Carlos, v. 21, n. 2, p. 118-122, 2011.
- SINGH, N.; SANDHU, K.S.; KAUR, M. Characterization of starches separated from Indian chickpea (*Cicer arietinum L.*) cultivars. *Journal of Food Engineering*, Amsterdam, v.63, n. 4, p. 441- 449, 2004.
- ORTS, W. J.; SHEY, J.; IMAM, S. H.; GLENN, G. M.; GUTTMAN, M. E.; REVOL, J. F. Application of cellulose microfibrils in polymer nanocomposites. *Journal of Polymers and the Environment*, Berlim, v. 13, n. 4, p. 301-306, 2005.
- IAL. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos Físico-Químicos para análise de Alimentos: normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. São Paulo; 2004.
- International Organization for Standardization. Norme internationale: Riz – Détermination de la teneur em amylose. (ISO 6647). 1987. 5p.
- SEGAL L.; CREELY J. J.; MARTIN JR A. E.; CONRAD C. M. An Empirical Method for Estimating the Degree of Crystallinity of Native Cellulose using X-ray Diffractometer. *Textile Research Journal*, Thousand Oaks, v. 29, n. 10, p. 786-794, 1959.
- BRASIL. Decreto nº 12.486, de 20 de outubro de 1978. Normas técnicas especiais relativas a alimentos e bebidas. *Diário Oficial do Estado de São Paulo*, São Paulo, 1978, 20 f.
- OATES, C. G. Towards and understanding of starch granule structure and hydrolysis. *Trends in Food Science and Technology*, Amsterdam, v. 8, n. 11, p. 375-382, 1997.
- ROSA, M.F.; CHIOU B.; MEDEIROS, E. S.; WOOD D.F.; WILLIAMS T. G.; MATTOSO, L. H.C.; ORTS, W. J.; IMAM, S. H. Effect of fiber treatments on tensile and thermal properties of starch/ethylene vinyl alcohol copolymers/coir biocomposites. *Bioresource Technology*, Amsterdam, v. 100, n. 21, p. 5196-5202, 2009.
- MORAIS, J. P.S.; ROSA, M. F.; MARCOCINI, J. M. Procedimentos para Análise Lignocelulósica, 2010. 54 p. (Embrapa Algodão. Documentos, 236). Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/900898/1/DOC11003.pdf>>. Acesso em: 25 nov. 2011.

# MELHORIA DAS PROPRIEDADES MECÂNICAS E DE BARREIRA DE FILMES DE POLI (ÁLCOOL VINÍLICO) PELA ADIÇÃO DE NANOCELULOSE OBTIDA DE PSEUDOCAULE DE BANANEIRA

André Luís Sousa Pereira<sup>1</sup>, Judith Pessoa de Andrade Feitosa<sup>1</sup>, Lílían Chayn Alexandre<sup>2</sup>, Men de Sá Moreira de Souza Filho<sup>2</sup>, João Paulo Saraiva Morais<sup>3</sup>, \*Morsyleide de Freitas Rosa<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE.

<sup>2</sup>Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE. <sup>3</sup>Embrapa Algodão.

\*morsyleide.rosa@embrapa.br

**Classificação:** Bionanocompósitos.

## Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da nanocelulose, obtida de pseudocaule de bananeira, (0%, 1%, 3% e 5% m/m) nas propriedades mecânicas e permeabilidade de filmes nanocompósitos à base de PVOH. A adição de baixas concentrações de nanocelulose melhorou as propriedades mecânicas e de barreira do filme de PVOH, indicando potencial para utilização no desenvolvimento de novos produtos.

**Palavras-chave:** *Musa* sp.; Agronegócio; Restos culturais; Coprodutos; Plásticos biodegradáveis.

## IMPROVEMENT OF MECHANICAL AND BARRIER PROPERTIES OF POLY(VINYL ALCOHOL) FILMS BY ADDING NANOCELULOSE OBTAINED FROM BANANA PSEUDOSTEM

### Abstract

The objective of this study was to evaluate the effect of nanocellulose, obtained from banana pseudostem, (0%, 1%, 3% and 5% w/w) on mechanical properties and permeability of nanocomposites films based on PVA. The addition of low concentrations of nanocellulose improved mechanical and barrier properties of the PVOH film, indicating promising potential for use in developing new products.

**Keywords:** *Musa* sp.; Agribusiness; Crop residues; Coproducts; Biodegradable plastics.

### Publicações relacionadas:

PEREIRA, A.L.S.; FEITOSA, J.P.A.; ALEXANDRE, L.C.; SOUZA FILHO, M.M.; ROSA, M.F.; MORAIS, J.P.S. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON NATURAL FIBRES, 1., 2013, Guimarães. **Anais eletrônicos...** Guimarães: Uminho, 2013.

PEREIRA, A.L.S.; NASCIMENTO, D.M.; SOUZA FILHO, M.S.M.; MORAIS, J.P.S.; VASCONCELOS, N.F.; FEITOSA, J.P.A.; BRÍGIDA, A.I.S.; ROSA, M.F. Improvement of polyvinyl alcohol properties by adding nanocrystalline cellulose isolated from banana pseudostems. *Carbohydrate Polymers*, Amsterdam, v. 112, p. 165-172, 2014.

## 1 INTRODUÇÃO

Vários problemas ambientais são causados pelo descarte de polímeros derivados do petróleo. Nesse contexto, o uso de filmes baseados em materiais de origem biológica pode auxiliar na redução desses impactos, devido a sua maior biodegradabilidade (HENRIQUE et al., 2008; MARTINS et al., 2006). O poli (álcool vinílico) (PVOH) é um polímero solúvel em água e facilmente biodegradável, que pode ser reforçado com *fillers* polares, como nanocristais de celulose, que melhoram as propriedades mecânicas do compósito, como o módulo de Young (ROOHANI et al., 2008).

O objetivo deste trabalho foi avaliar algumas propriedades mecânicas e a permeabilidade a vapor de água de filmes de PVOH e seus compósitos incorporados de nanocelulose de pseudocaule de bananeira.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Os nanocristais de celulose foram obtidos por hidrólise ácida (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 62% m/m, 70 min, 45 °C) do pseudocaule de bananeira (variedade Pacovan), conforme descrito por Orts et al. (2005), com pequenas modificações. A amostra de álcool polivinílico foi gentilmente cedida pela Clariant, com uma



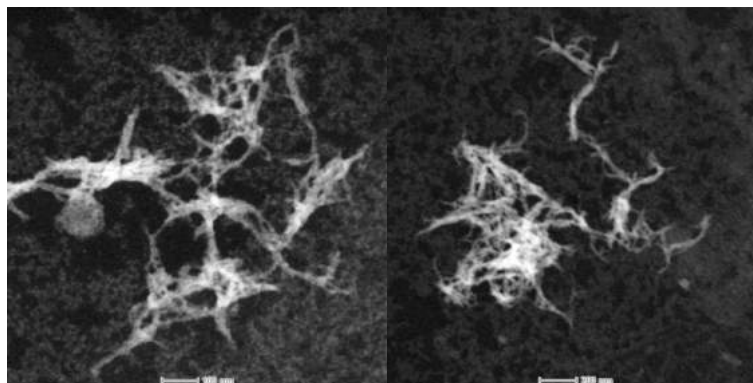
massa molar de 205 kg/mol e 87,7% de hidrólise. As soluções de PVOH foram preparadas de modo que a concentração final fosse de 6% (m/m).

Os nanocompósitos foram preparados com a adição de várias concentrações (m/m) de cristais de nanocelulose à matriz de PVOH: 1% (PVOH1), 3% (PVOH3) e 5% (PVOH5), enquanto a solução sem cristais foi nomeada PVOH0.

Os filmes foram formados por *casting* sobre uma placa de vidro, na dimensão de 30 cm x 30 cm e ajustados para uma espessura de 1 mm. Os filmes secaram por 24 horas a 25 °C e umidade relativa do ar de 74%. Os filmes foram cortados no formato do molde indicado pela norma ASTM D 882-00, e foi realizado um ensaio mecânico, avaliando-se a tensão de ruptura, alongação na ruptura, módulo elástico. Foi também avaliada a influência da incorporação da nanocelulose na permeabilidade a vapor de água dos filmes.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A suspensão de nanocelulose apresentou aspecto gelatinoso típico e coloração castanha. A Figura 1 apresenta micrografias da suspensão de nanocelulose, obtidas por TEM. As nanoestruturas apresentaram comprimento (L) de  $135,0 \pm 12$  nm, diâmetro (d) de  $7,2 \pm 1,9$  nm e razão de aspecto (L/d) de  $21,2 \pm 2,8$ .



**Figura 1.** Fotomicrografias de suspensão de nanocelulose extraída do pseudocaule da bananeira.

Os resultados dos ensaios de caracterização mecânica são mostrados na Tabela 1. A adição de pequena quantidade de nanocristais de celulose (1%) reforçou os filmes de PVA, a maior tensão de ruptura, quase duas vezes maior que o filme sem reforço, conforme pode ser visto pelos incrementos dos parâmetros mecânicos. Os tratamentos com as maiores concentrações de nanocelulose (3% e 5%) apresentaram valores próximos ao tratamento controle, possivelmente pela aglomeração dos nanowhiskers.

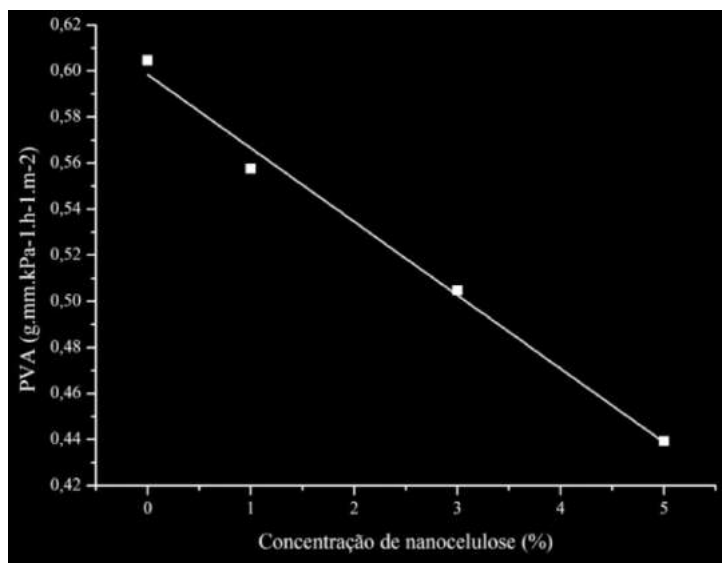
**Tabela 1.** Resultados dos ensaios mecânicos.

	s (MPa)	e (%)	E (Mpa)
PVOH0	38.5_3.6	61.0_19.3	2522_437
PVOH1	42.1_1.2	96.1_7.6	2570_146
PVOH3	46.0_2.7	74.3_17.2	2940_218
PVOH5	35.4_0.5	83.0_12.5	2586_74

*Tensão máxima (s), Alongação na ruptura (e), Módulo de Young (E).*

A Figura 2 apresenta os resultados obtidos para a permeabilidade ao vapor de água dos filmes e seus compósitos. Observa-se que a adição de nanocelulose ao filme de PVOH aumentou a barreira ao vapor de água dos filmes, por aumentar o caminho necessário para que as moléculas de água passem através do filme, ocupando os espaços entre as moléculas da matriz polimérica (AZEREDO et al., 2012). Esses resultados podem ser uma consequência da efetiva interação entre os grupos hidroxila da matriz polimérica de PVOH com as hidroxilas dos nanocristais de celulose produzidos a partir da fibra de pseudocaule de bananeira.

Chen et al. (2012) também observaram uma diminuição da permeabilidade com aumento da concentração de nanocelulose em filmes de PVOH, embora tenham utilizado nanocelulose de línter e de casca de batata e obtido valores semelhantes.



**Figura 2.** Influência da concentração de nanocelulose na permeabilidade ao vapor de água de filmes de PVOH e seus nanocompósitos.

#### 4 CONCLUSÃO

Nanocristais de celulose obtidos a partir da hidrólise ácida de fibras do pseudocaule da bananeira mostraram-se adequados para reforçar e melhorar propriedades de barreira de filmes de poli (álcool vinílico).

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq, Finep, Capes e Projeto MP1 Rede Agronano – Embrapa.

Também agradecem à Clariant, pelo fornecimento e caracterização do PVA, e a Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães, pelos METs.

#### REFERÊNCIAS

AZEREDO, H.M.C.; MIRANDA, K.W.E.; ROSA, M.F.; NASCIMENTO, D.M.; DE MOURA, M. R. Edible films from alginate-acerola puree reinforced with cellulose whiskers. *LWT - Food Science and Technology*, Amsterdam, v.46, n.1, p. 294-297, 2012.

CHEN, D.; LAWTON, D.; THOMPSON, D.R.; LIU, Q. Biocomposites reinforced with cellulose nanocrystals derived from potato peel waste. *Carbohydrate Polymers*, Amsterdam, v. 90, n. 1, p. 709-716, 2012.

HENRIQUE, C.M.; CEREDA, M.P.; SARMENTO, S.B.S. Características físicas de filmes biodegradáveis produzidos a partir de amidos modificados de mandioca. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v.28, n.1, p.231-240, 2008

ROOHANI, M.; HABIBI, Y.; BELGACEM, N.M.; EBRAHIM, G.; KARIMI, A.N.; DUFRESNE, A. Cellulose whiskers reinforced polyvinyl alcohol copolymers nanocomposites. *European Polymer Journal*, Amsterdam, v.44, n. 8, p. 2489-2498, 2008.

ORTS, W.J.; SHEY, J.; IMAM, S.H.; GLENN, G.M.; GUTTMAN, M.E.; REVOL, J.F. Application of cellulose microfibrils in polymer nanocomposites. *Journal of Polymers and the Environment*, Berlin, v.13, n.4, p. 301-306, 2005.

## NANOCELULOSE DE LÍNTER DE ALGODÃO: ANÁLISE DO RESÍDUO DO PROCESSO

André Luís Sousa Pereira<sup>1</sup>, José Clauber Almeida<sup>2</sup>, Men de Sá Moreira de Souza Filho<sup>3</sup>, João Paulo Saraiva Morais<sup>4</sup>, Ana Ribeiro Cassales<sup>3</sup>, \*Morsyleide de Freitas Rosa<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE.

<sup>2</sup>Departamento da Área de Química e Meio Ambiente, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, IFCE <sup>3</sup>Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza. <sup>4</sup>Embrapa Algodão, Campina Grande.

\*morsyleide.rosa@embrapa.br

**Classificação:** Bionanocompósitos.

### Resumo

Esse trabalho objetivou analisar o efeito das impurezas presentes no línter de algodão no processo de obtenção de nanocelulose, e estudar a possibilidade de fracionar a nanocelulose obtida. Foram analisados o índice de cristalinidade, o tamanho de partícula e o potencial Zeta. As quatro frações obtidas exibiram valores absolutos de potencial zeta acima de 25 mV, o que significa que as suspensões foram consideradas estáveis. Contudo, a presença das impurezas comprometeu o aspecto visual do produto final. Além disso, o rendimento foi considerado baixo, não justificando essa abordagem. Portanto, um pré-tratamento para a remoção das impurezas ainda é considerada a alternativa mais indicada para melhoria do rendimento no processo e da qualidade do produto final.

**Palavras-chave:** Línter, Resíduo, Frações, Nanocelulose.

### NANOCELULOSE FROM COTTON LINTER: EVALUATION OF WASTE PROCESS

#### Abstract

This study aimed to analyze the effect of impurities in the cotton linter in obtaining nanocelulose process, and study the possibility of fractionating the nanocelulose obtained. The crystallinity index, the particle size and zeta potential were analyzed. The four fractions obtained showed absolute values of zeta potential above 25 mV, which means that the suspensions were considered stable. However, the presence of impurities compromises the visual appearance of the final product. Moreover, the yield was found to be low and do not justify this approach. Therefore, a pretreatment for removal of impurities is still considered the most suitable alternative for improving the process efficiency and final product quality.

**Keywords:** Linter; Dirt; Fraction; Nanocellulose.

#### Publicações relacionadas:

ALMEIDA, J.C.V.; PEREIRA, A.L.S.; SOUZA FILHO, M.M.; ROSA, M.F. Caracterização de nanocristais de celulose obtidos do línter de algodão: Tamanho de partícula e potencial zeta. In: VIII Congresso Norte Nordeste de Pesquisa e Inovação da Rede Federal de Educação Profissional, Científica e Tecnológica, 11., 2013, Salvador..

## 1 INTRODUÇÃO

Uma das dificuldades do processo de obtenção de nanocelulose de línter é a separação de resíduos e sujeira provenientes da colheita, como restos de galhos e folhas, entre outros. A remoção dessas impurezas é fundamental para obtenção de um produto de qualidade; entretanto, isto pode elevar o custo do processo, inviabilizando seu escalonamento. O objetivo do presente trabalho foi analisar o efeito dessas impurezas no processo de obtenção de nanocelulose de línter de algodão sem pré-tratamento, e estudar a possibilidade de fracionar e de selecionar a nanocelulose obtida.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

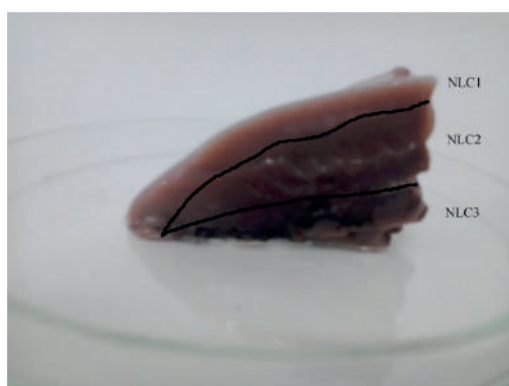
Amostras de línter bruto foram obtidas no município Luis Eduardo Magalhães, Estado da Bahia. O reagente H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 98% (w/w), de grau analítico, foi fornecido pela Vetec Química Fina Ltda (Duque de Caxias, RJ, Brasil) e foi utilizado como recebido, sem purificação adicional.

O línter foi hidrolisado sem nenhum pré-tratamento. O método de hidrólise ácida (Morais et al., 2013; Orts et al., 2005) foi aplicado, com pequenas adaptações. A suspensão de nanocristais foi centrifugada durante 15 min a 13.000 rpm, a 4°C. O precipitado foi ressuspensão em água destilada e passou por tratamento ultrassônico, por 2 min a 60 W, para desagregação dos nanocristais de celulose e centrifugado novamente. O produto de fundo foi separado em três camadas distintas, denominadas camada 1 (NLC1), camada 2 (NLC2) e camada 3 (NLC3). A camada 3 foi ressuspensa em água destilada e centrifugada, gerando um sobrenadante turvo (NLC3S), e o produto de fundo (NLC3P), separado da sujeira. Todas as amostras foram dialisadas com água da torneira até se atingir um valor de pH entre 6 e 7.

As amostras foram analisadas por tamanho de partícula por espalhamento de luz, potencial zeta e difração de raios-x.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O efeito da sujeira no processo de obtenção de nanocelulose de línter é evidenciado ao longo das camadas geradas pela centrifugação (Figura 1), o que permite uma separação qualitativa para análise. A nanocelulose encontrada na literatura (Morais et al., 2013) possui aparência de gel branco, mas a nanocelulose obtida possui cor marrom que escurece na direção do produto de fundo.



**Figura 1.** Produto da centrifugação do processo de obtenção de nanolínter.

Os valores dos índices de cristalinidade ( $I_{CR}$ ), potencial zeta, distribuição de tamanho de partícula e rendimento são apresentados na Tabela 1. As amostras, exceto a NLC1, apresentam  $I_{CR}$  próximo aos valores encontrados na literatura (Morais et al., 2013; Zhou et al., 2012). O menor valor observado para NLC1 pode estar correlacionado a um conteúdo maior de substâncias amorfas não degradadas pela hidrólise. O maior valor para NLC3S pode estar correlacionado ao processo adicional de lavagem, onde o ultrassom pode ter contribuído para a liberação do conteúdo amorfo.

Os valores de potencial zeta indicam estabilidade da suspensão para todas as frações obtidas (Morais et al., 2013; Zhou et al., 2012). Analisando o valor do potencial zeta é possível separar as amostras em dois grupos: NLC1 e NLC3S, e NLC2 e NLC3P. Sabe-se que quanto menor o tamanho dos nanocristais, maior a tendência de formar aglomerados cristalinos (Ioelovich, 2008). Isto se reflete no potencial zeta: quanto mais próximo de  $\pm 25$  mV, menos estável a suspensão e maior a tendência de floculação (Morais et al., 2013; Zhou et al., 2012). As amostras NLC1 e NLC3S, justamente a camada superior e a suspensão, possuem os menores tamanhos de partículas, enquanto as amostras NLC2 e NLC3P possuem tamanhos maiores, e não detectáveis pelo equipamento. Nota-se também que os valores do potencial zeta nas amostras NLC3S e NLC3P são menores que seus pares correspondentes, NLC1 e NLC2, indicando tendência maior à aglomeração.

A distribuição do tamanho de partículas (Tabela 1) resultou em três grupos: partículas com faixa de tamanho menor que 100 nm, partículas com faixa de tamanho entre 100 e 1000 nm, e partículas com faixa de tamanho maior que 1000 nm.

A maior parte da nanocelulose possui as características da amostra NLC2. A sujeira contribui com 39%, onde cerca de 7% é de nanocelulose recuperada. A suspensão, NLC3S, muito diluída tem contribuição de cerca de 1%. Desse modo, seriam necessárias várias centrifugações para recuperação da nanocelulose restante, o que elevaria o custo do processo. A remoção da sujeira seria o ideal, já que parte da nanocelulose fica aderida. Para controle do tamanho dos nanocristais também seria interessante uma seleção granulométrica da amostra, evitando partículas maiores que seriam parcialmente hidrolisadas e não detectadas pelo espalhamento de luz.

**Tabela 1.** Valores do Potencial Zeta, do tamanho de partículas e do rendimento do processo de obtenção de nanocelulose de línter por camada.

Amostras	I <sub>CR</sub> (%)	Potencial Zeta (mV)	Tamanho médio de partículas (nm) (Percentual na amostra, %)			Rendimento (%)
			<100 nm	100 – 1000 nm	> 1000 nm	
NLC1	77.0	-36.1	83.1 (5.5)	297.9 (86.9)	3743.4 (7.7)	3.3
NLC2	87.9	-50.0	89.7 (7.2)	319.5 (92.2)	–	29.4
NLC3S	90.5	-34.9	69.4 (7.1)	310.3 (89.9)	2459.6 (3.0)	1.2
NLC3P	84.4	-46.1	–	250.7 (100)	–	6.2

#### 4 CONCLUSÃO

Da hidrólise do línter sem qualquer pré-tratamento foram obtidas 3 frações separadas inicialmente pela tonalidade causada pela sujeira presente na matéria-prima: NLC1, NLC2 e NLC3, que foi separada dessas impurezas do processamento, originando as frações NLC3S e NLC3P. Todas as frações exibiram valores absolutos de potencial zeta acima de 25 mV, o que as classifica como soluções estáveis. Entretanto, o aspecto cor foi comprometido. Cerca de 30% da nanocelulose obtida possui as características da amostra NLC2: potencial zeta de -50 mV e mais de 90% das partículas com tamanhos na faixa de 320 nm, além de apresentar índice de cristalinidade em torno de 90%. O rendimento das demais frações (NLC1, NLC3S e NLC3P) foi muito baixo, não justificando essa abordagem. Assim, um pré-tratamento para a remoção das impurezas seria uma alternativa mais viável para melhoria do rendimento no processo e da qualidade do produto final.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq, Finep, Capes e Projeto MP1 Rede Agronano – Embrapa.

#### REFERÊNCIAS

- IOELOVICH, M. Cellulose as a nanostructured polymer: a short review. *BioResources*, Raleigh, v. 3, n.4, p. 1403-1418, 2008.
- MORAIS, J.P.S., ROSA, M.F., DE SOUZA FILHO, M.S.M., NASCIMENTO, L.D., DO NASCIMENTO, D.M., CASSALES, A. R. Extraction and characterization of nanocelulose structures from raw cotton linter. *Carbohydrate Polymers*, Amsterdam, v.91, p.229–235, 2013.
- ORTS, W.J.; SHEY, J.; IMAM, S.H.; GLENN, G.M.; GUTTMAN, M.E.; REVOL, J.F. Application of cellulose microfibrils in polymer nanocomposites. *Journal of Polymers and Environment*, Berlim, v. 13, n. 4, p. 301-306, 2005.
- SCZOSTAK, A. Cotton linters: An alternative cellulosic raw material. *Macromolecular Symposia*, Nova York, v.280, n.1, p.45–53, jun. 2009.
- VIEIRA, R. M., BELTRÃO, N. E. M., LIMA, R. L. S., & LEÃO, A. B. Produção de sementes do algodoeiro. In N. E. M. Beltrão & D. M. P. Azevedo (Eds.), *O agronegócio do algodão no Brasil* (p. 509–533). Brasília: Embrapa, 2008.
- ZHOU, Y. M.; FU, S.Y.; ZHENG, L.M.; ZHAN, H.Y. Effect of nanocelulose isolation techniques on the formation of reinforced poly(vinyl alcohol) nanocomposite films. *eXPRESS Polymer Letters*, Budapest, v. 6, n. 10, p. 794-804, 2012.

## COMPÓSITOS POLIMERICOS REFORÇADOS COM FIBRAS DE ABACAXI HÍBRIDO EM UMA MATRIZ DE POLI (ÁCIDO LÁCTICO).

\*Pedro Ivo Cunha Claro<sup>1</sup>, Alfredo Rodrigues de Sena Neto<sup>1</sup>, Luiz Henrique Capparelli Mattoso<sup>3</sup>, José Manoel Marconcini<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de São Carlos, SP.

<sup>2</sup>Embrapa Instrumentação, Laboratório Nacional de Nanotecnologia para Agronegócios, São Carlos, SP.

\*pedrocunhaclaro@ymail.com

**Classificação:** Bionanocompósitos.

### Resumo

Este trabalho tem como objetivo o estudo da fibra BAG 750 x 128 - PL01, nomeada de “Potyra”, como reforço mecânico em compósitos. Inicialmente as fibras foram moídas e tratadas em solução aquosa de hidróxido de sódio (NaOH). As fibras devidamente tratadas foram incorporadas ao PLA, obtendo-se um concentrado de fibras (“master batch”) na proporção 1:1 (m/m). Este concentrado foi extrudado, com mais PLA, para obtenção de compósitos com proporções de 0, 5, 10, 15, 20, 30 e 40% em massa de fibra em relação à matriz e depois estas proporções foram injetadas. Chegou-se à conclusão que houve um aumento na resistência à tração, com valor de 58,8 MPa no PLA puro, atingindo até 69,6 MPa para o compósito com máxima concentração. A resistência ao impacto com entalhe obteve ganhos médios de até 66 % em relação à matriz pura de PLA e deflexão foi de 50 °C de temperatura para o PLA puro chegando a 57 °C no compósito com 40 % em massa de fibra. Diante desses resultados a fibra “Potyra” é um excelente candidato como reforço em uma matriz de poli (ácido láctico).

**Palavras-chave:** Fibras vegetais; Compósitos poliméricos biodegradáveis; Abacaxi.

### PINEAPPLE HYBRID FIBER REINFORCED POLYMER COMPOSITES IN A MATRIX OF POLY (LACTIC ACID).

#### Abstract

This work aims to study the fiber BAG 750 x 128 - PL01, named “Potyra” as mechanical reinforcement in composites. Initially, these were ground and treated in an aqueous solution of sodium hydroxide (NaOH). The properly treated fibers were incorporated into PLA, obtaining a concentrate of fibers (“masterbatch”) in the ratio 1:1 (w / w). This concentrate was extruded over PLA for obtaining composite with proportions of 0, 5, 10, 15, 20, 30 and 40% by weight relative to the fiber array and then these ratios were injected. Came to the conclusion that there was an increase in tensile strength, with value of 58.8 MPa in pure PLA, reaching up to 69.6 MPa for the composite with maximum concentration. The notched impact resistance obtained average gains of up to 66% compared to pure PLA matrix and deflection was 50 °C temperature for pure PLA reaching 57 ° C in the composite with 40 wt% fiber. With these results, the fiber “Potyra” is an excellent candidate as reinforcement in a matrix of poly (lactic acid).

**Keywords:** Vegetable fibers; Biodegradable polymer composites, Pineapple.

## 1 INTRODUÇÃO

Muito se tem dito sobre questões ambientais, com polímeros e compósitos biodegradáveis.

Por este motivo, matérias primas, tais como fibras vegetais para utilização como reforço mecânico em compósitos poliméricos biodegradáveis, podem ser consideradas alternativas interessantes, seguras e ambientalmente corretas para o desenvolvimento de novos materiais (Leão e al., 2000).

O abacaxi comercial (*Ananas comosus* var. *comosus*) apresenta muitos estudos quanto à sua utilização como reforço mecânico em compósitos poliméricos (Joshi e al., 2003) e o curauá, (*Ananas comosus* var. *erectifolius*) possui a sua utilização como reforço mecânico já consolidada (Leão e al., 2000).

Existem espécies que ainda não foram estudadas quanto à sua utilização como reforço mecânico, como o caso da fibra BAG 750 x 128 - PL01, oriundo de um abacaxizeiro nomeado de “Potyra”, desenvolvida pela unidade Embrapa Mandioca e Fruticultura situada em Cruz das Almas – BA.

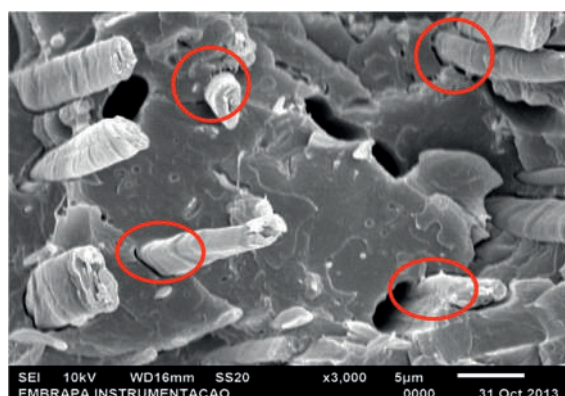
O estudo se ateve na utilização dessa fibra como reforço mecânico em uma matriz biodegradável de poli (ácido láctico) (PLA).

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Inicialmente as fibras de Potyra foram moídas e tratadas em solução aquosa de hidróxido de sódio (NaOH) em concentração de 1% (m/v), à 70 °C de temperatura por uma hora sob agitação mecânica. Posteriormente foram neutralizadas com água corrente e secas em estufa a 50 °C. As fibras devidamente tratadas foram incorporadas ao PLA, obtendo-se um concentrado de fibras (“master batch”) na proporção 1:1 (m/m), em um misturador de câmara interna reômetro de torque Haake. Após resfriamento a temperatura ambiente, este concentrado foi granulado e adicionado à extrusora de rosca dupla Baker Perkins MP-19TC com mais PLA para obtenção de compósitos com proporções finais de 0, 5, 10, 15, 20, 30 e 40% em massa de fibra em relação à matriz. Todas as devidas proporções finais foram injetadas em uma injetora Arburg na obtenção de corpos de prova para ensaios de tração, impacto e temperatura de distorção térmica (HDT).

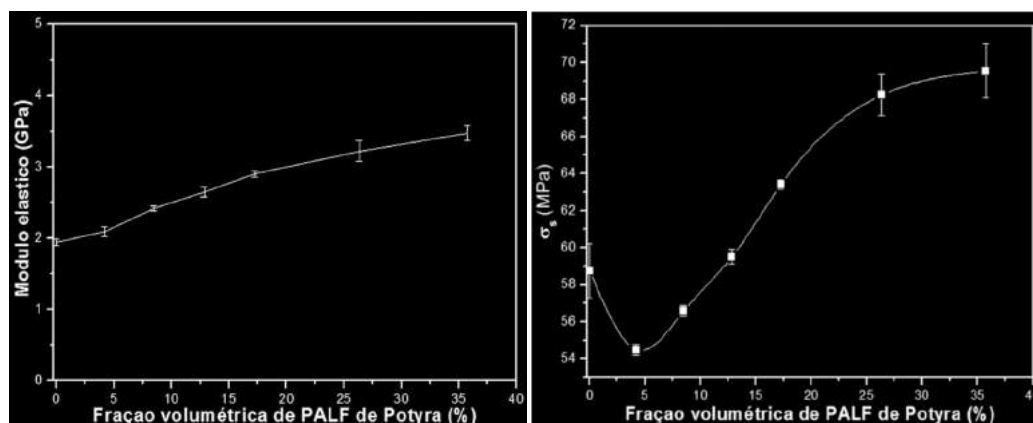
## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os planos observados na microscopia eletrônica de varredura (MEV) apresentaram superfícies lisas, sem vazios ou contaminantes. Foi observada uma relação inversa com o aumento da fração de fibra de Potyra, conforma-se aumentou a quantidade de fibra, reduzindo-se a quantidade dimensional dos aglomerados. Entre a matriz e a fibra observou-se uma descontinuidade, com *pull-out* e ancoramentos. Entretanto ao se aproximar a região de interface da fibra e a matriz, são observados filamentos e massas poliméricas unidas às fibras, formando pontos de ancoramento, indicando que há interação entre o PLA e a Potyra (Fig. 1).



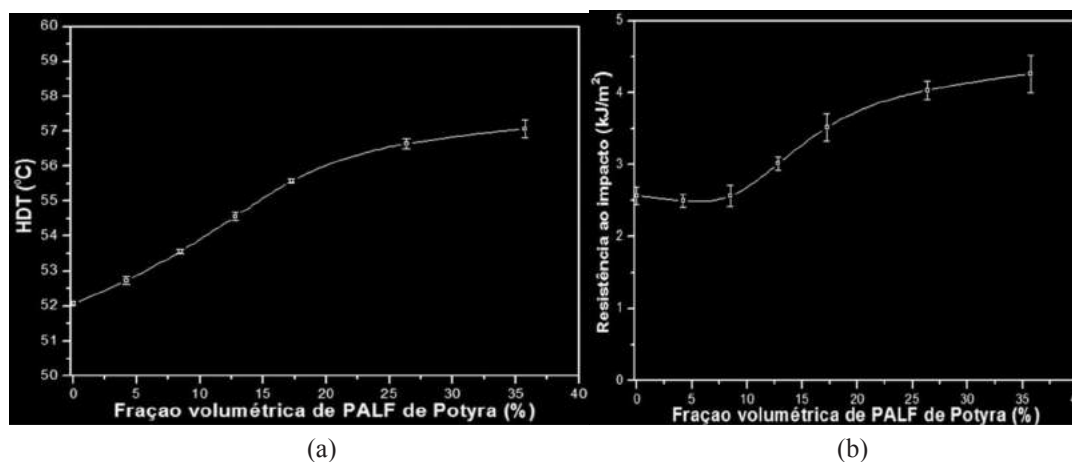
**Figura 1.** Fotomicrografia de compósito destacando pontos de adesão entre PLA e PALF de Potyra tratada com NaOH.

As propriedades de módulo elástico e resistência a tração apresentaram incrementos com o aumento da fração de fibras de Potyra. O módulo elástico do PLA puro apresentou valor de grandeza de 1,9 GPa chegando a 3,5 GPa no compósito com máxima fração de Potyra. A resistência à tração iniciou-se com grandeza de 58,8 MPa no polímero puro, atingindo até 69,6 MPa para o compósito com 40% em massa de fibra (Fig. 2).



**Figura 2.** (a) Módulo elástico sob tração do PLA e compósitos (b) Resistência à tração do PLA e compósitos.

A temperatura de distorção térmica (HDT) teve um aumento de 5°C, 10% em relação à temperatura de distorção da matriz, atingindo o limite de 57,1(±0,3)°C. A resistência ao impacto com entalhe Isod apresentou também um aumento com a adição da fibra, com ganho máximo de até 66 % em relação à matriz pura de PLA, mostrando que a Potyra atuou como efetivamente como reforço (Fig. 3).



**Figura 3.** (a) Valores da temperatura de distorção térmica para formulações estudadas (b) Resistência ao impacto em função da fração de PALF Potyra adicionada ao PLA.

#### 4 CONCLUSÃO

Na microscopia eletrônica foram visualizados *pull-out* das fibras, mas também foram observados pontos de contato entre matriz-fibra, proporcionando a transferência de carga entre ambas, e confirmando o efeito do tratamento e metodologia empregado a fibra com hidróxido de sódio. Juntamente com os incrementos nos valores de módulo elástico (84%), resistência à tração (18%), resistência ao impacto com entalhe isod (73%) e temperatura de distorção térmica (10%), confirmou que a fibra da folha de abacaxi de Potyra atua como reforço mecânico.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a CNPq, CAPES, FINEP, FAPESP, PPGCEM/UFSCar e Embrapa pelo suporte financeiro.

#### REFERÊNCIAS

- CALLISTER Jr, W.D. Materials science and engineering: an introduction. John Wiley & Sons, 2007.
- CORREA, A. C. Preparação de nanofibras de celulose a partir de fibras de curauá para o desenvolvimento de nanocompósitos poliméricos com EVA. Tese, UFSCar, São Carlos. 2010.
- JOSHI, S.V.; DRZAL, L.T.; MOHANTY, A.K.; ARORA, S. 2004. Are natural fiber composites environmentally superior to glass fiber reinforced composites? Composites Part A: Applied Science and Manufacturing, 35, pp. 371-376. DOI: 10.1016/j.compositesa.2003.09.016.
- LEÃO, A.L.; CARASCHI, J.C.; TAN, I.H. 2000. Curaua fiber- A tropical natural fiber from Amazon - potential and applications in composites. In: Frollini, E.; Leão, A.L.; Mattoso, L.H.C. (Eds.) Natural polymers and agrofibers composites, Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos. ISBN: 85-86463-06-X
- LEÃO, A.L.; MACHADO, I.S.; DE SOUZA, S.F.; SORIANO, L. Production of curauá (*Ananas erectifolius* L.B. Smith) fibers for industrial applications: characterization and micropropagation. In: Acta Horticulturae 822, 2009, p.227-238. Disponível :[http://www.actahort.org/books/822/822\\_28.htm](http://www.actahort.org/books/822/822_28.htm).



MUKHERJEE, P.S.; SATYANARAYANA, K.G. Structure and properties of some vegetable fibers, Part 2: Pineapple fibre. *Journal of Materials Science*, v. 21, p. 51-56, 1986.

ENGELBERG, I.; KOHN, J. Physico-mechanical properties of degradable polymers used in medical applications: a comparative study. *Biomaterials*, v. 12, n. 3, p. 292-304, 1991. ISSN 0142-9612

SENA NETO, A.R.; ARAUJO, M.A.M.; SOUZA, F.V.D.; MATTOSO, L.H.C.; MARCONCINI, J.M. Characterization and comparative evaluation of thermal, structural, chemical, mechanical and morphological properties of six pineapple leaf fiber varieties for use in composites. *Industrial Crops and Products*, v. 43, p. 529-537, 2013.

---

## AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA FIBRA DE SURUCUCUMIRÁ

Jessica Romanatto<sup>1,2</sup>, José Manoel Marconcini<sup>2</sup>, Alessandra de Almeida Lucas<sup>1</sup>, Antenor Pereira Barbosa<sup>4</sup>, Luiz Henrique Capparelli Mattoso<sup>2</sup>, \*Maria Alice Martins<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP. <sup>2</sup> Embrapa Instrumentação, LNNA, São Carlos, SP. <sup>4</sup> Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Manaus, AM.

\*maria-alice.martins@embrapa.br

**Classificação:** Bionanocompósitos.

### Resumo

Novas aplicações para os resíduos de natureza lignocelulósica têm sido de grande interesse atualmente. Neste trabalho são apresentados os resultados da determinação da composição química e da caracterização através de ensaios de difratometria de raios X (DRX) da fibra de Surucucumirá (*Spathelia excelsa*) e a avaliação da viabilidade de aplicação dessas fibras em materiais compósitos. A fibra apresentou estrutura química característica de material lignocelulósico, e alto índice de cristalinidade, 69%. Os resultados até agora obtidos demonstram sua viabilidade para aplicação na confecção de materiais compósitos.

**Palavras-chave:** Fibra natural; Surucucumirá; composição química.

### EVALUATION OF CHEMICAL COMPOSITION OF THE SURUCUCUMIRÁ FIBER

#### Abstract

New applications for the use of lignocellulosic waste have been of great interest currently. The aim of this work was to present the results of chemical composition and by testing X-ray diffraction (XRD) of Surucucumirá (*Spathelia excelsa*) fibers for assessing the feasibility of composite materials. The fibers showed characteristic chemical structure of lignocellulosic material, and high crystallinity index, 69%. The results have shown that these fibers can be used in the manufacture of composite materials.

**Keywords:** Natural fiber; Surucucumirá; Chemical composition.

## 1 INTRODUÇÃO

Devido à crescente demanda da indústria por matéria-prima e, conseqüentemente, o aumento do preço, os resíduos de natureza lignocelulósica como os produzidos na indústria madeireira e nas atividades agrícolas vêm despertando grande interesse. O aproveitamento dos resíduos gerados na região amazônica, por exemplo, tem sido um dos problemas abordados, principalmente com relação ao grave problema ambiental gerado, uma vez que nas indústrias madeireiras de Manaus, por exemplo, o resíduo representa 60% de matéria prima (Sales-Campos et al., 2010). Dentro deste contexto, pesquisadores brasileiros vêm estudando formas sustentáveis de explorar o potencial de fibras vegetais provenientes da Amazônia. Esta é uma das propostas do projeto Fênix Amazônico, coordenado pelo pesquisador Antônio Donato Nobre, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, que tem como objetivo a construção de um ecossistema de empreendimentos sustentáveis na Amazônia. Parte do projeto, que é desenvolvido em parceria com o DEMa/UFSCar e a Embrapa Instrumentação, estuda a viabilidade da utilização de fibras como as da Surucucumirá em novos materiais (Marinelli et al., 2008).

Surucucumirá (*Spathelia excelsa* (Krause) Cowan & Brizicky) – (sin. *Sonheyia excelsa* K.) é uma árvore de casca clara, de 10 a 20 metros de altura e 20 centímetros de diâmetro. É encontrada na Amazônia central, Manaus, Rondônia e Mato Grosso. É notável por seu hábito característico, lembra uma palmeira e forma populações densas e numerosas. É encontrada com flores de dezembro a março e com frutos de janeiro a maio. Planta monocárpica, perde as folhas no final da floração e morre após dispersão das sâmaras (raramente é encontrada florescendo). Neste trabalho, são apresentados os resultados da determinação da composição química e da caracterização através ensaios de difratometria de raios X (DRX) das fibras de Surucucumirá.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

As fibras de Surucucumirá foram fornecidas pelo INPA

As amostras da fibra foram previamente moídas em moinho de facas da marca Solab.

Para a remoção dos extrativos, foi feita a extração sólido-líquido com extrator tipo Soxhlet com acetona e também com água como solventes de acordo com a norma NREL/TP 510-42618.

A determinação do teor de umidade utilizando balança de determinação de umidade.

O teor de cinzas foi realizado de acordo com a norma NREL/TP 510-42618.

Para a determinação do teor de lignina insolúvel (TIL) e do teor de holocelulose (TH), que a soma da hemicelulose +  $\alpha$ -celulose, utilizou-se a fibra livre de extrativos, estes ensaios foram realizados de acordo com a norma ASTM E 1721-01 e ASTM E 1758-01, respectivamente.

A determinação da porcentagem de alfa-celulose (TC) e hemicelulose (THE) foi feita a partir da massa de holocelulose.

Os difratogramas de raios X foram obtidos em difratômetro Shimadzu, XRD-6000, operando com 30kV, 30mA. Os ensaios foram realizados a temperatura ambiente (25 °C), com ângulos de varredura,  $2\theta$ , entre 5 e 40° (0,5°.min<sup>-1</sup>). O índice de cristalinidade (Ic) das fibras moídas foi obtido através do método de Segal, 1959, comumente utilizado para fibras vegetais (Thygesen *et al.*, 2005; Morán *et al.*, 2008), através da equação:  $I_c = (1 - I_2/I_1) \times 100$ , onde,  $I_1$  é a intensidade do máximo de difração, relacionada à parte cristalina, e  $I_2$  é a intensidade do mínimo de difração, relacionada à parte amorfa.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados para a composição química das fibras de Surucucumirá são apresentados na Tabela 1. Observa-se que a fibra possui alto teor de celulose, cerca de 56%, e lignina, 27%. O conteúdo de extrativos em acetona e água e de aproximadamente, 2% e 1% respectivamente. Os teores de umidade e cinzas estão dentro do relatado na literatura para outras fibras naturais, indicando que a fibra de Surucucumirá apresenta composição química adequada para utilização em materiais compósitos.

**Tabela 2.** Composição química da fibra de Surucucumirá

Componente	Porcentagem
Holocelulose	82,98 ± 0,001
Alfa-celulose	55,79 ± 0,001
Hemicelulose	27,19 ± 0,001
Lignina insolúvel	26,63 ± 0,03
Extrativos em acetona	2,33 ± 0,069
Extrativos em água	1,00 ± 0,001
Umidade	8,60 ± 0,16
Cinzas	0,40 ± 0,001

Os difratogramas de raios X das fibras de Surucucumirá, Figura 1, mostraram que os principais picos referentes aos planos cristalográficos nos ângulos de Bragg ( $2\theta$ ) = 16°, 22,6° e 34,4°. A reflexão de maior intensidade para as mesmas ocorre no plano cristalográfico (002). Este corresponde aos planos de rede dos anéis glicosídicos os quais são mais densos no polimorfo tipo I da celulose (Hu & Hsieh,

1996), que é a única estrutura de celulose com ocorrência natural. Materiais de natureza lignocelulósica têm suas propriedades mecânicas influenciadas pelo seu índice de cristalinidade (Ic) (Sao et al. , 1994). Dessa forma, existe uma relação direta entre tais propriedades e o teor de celulose do material, pois dentre os constituintes desses materiais, celulose é a única estrutura que cristaliza. O índice de cristalinidade obtido para as fibras de Surucucumirá foi de 69% concordando com os resultados de teor de celulose determinado e indicando que esta fibra pode ser usada como reforço em materiais compósitos pois apresentará boas propriedades mecânicas.

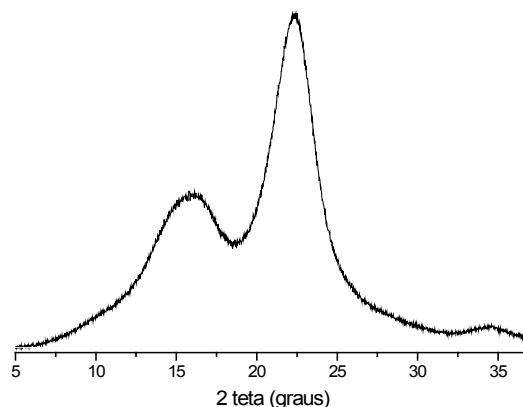


Figura 1. Difratograma de raios X das fibras de Surucucumirá

#### 4 CONCLUSÃO

A fibra de Surucucumirá apresentou estrutura química característica de material lignocelulósico, e alto índice de cristalinidade, 69%. Os resultados até agora obtidos demonstram sua viabilidade para aplicação na confecção de materiais compósitos.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Projeto MP1 Rede Agronano – Embrapa, CNPq, Finep e Capes.

#### REFERÊNCIAS

- HU, X.; HSIEH, Y. Crystalline structure of developing cotton fibers. *Journal of Polymer Science: Part B: Polymer Physics*, vol. 34, n. 8, pp. 1451-1459, 1996.
- MARINELLI, A. L.; MONTEIRO, M. R.; AMBRÓSIO, J. D.; BRANCIFORT, M. C.; KOBAYASHI, M.; NOBRE, A. D. Desenvolvimento de compósitos poliméricos com fibras vegetais naturais da biodiversidade: uma contribuição para a sustentabilidade Amazônica. *Polímeros*, v. 18, n. 2, p. 92-99, 2008.
- MORÁN, J. I.; ALVAREZ, V. A.; CYRAS, V. P.; VÁZQUEZ, A. Extraction of cellulose and preparation of nanocellulose from sisal fibers, *Cellulose*, v. 15, p. 149-159, 2008.
- SALES-CAMPOS, C., MINHONI, M. T. A., ANDRADE, M. C. N. Produtividade de *Pleurotus ostreatus* em resíduos da Amazônia. *Interciencia*, v. 35, n. 3, p. 198-201, 2010.
- SAO, K. P.; SAMANTARAY, B. K.; BHATTACHERJEE, S. X-ray study of crystallinity and disorder in ramie fiber. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 52, p. 1687-1694, 1994.
- SEGAL, L.; CREEELY, J. J.; MARTIN, A. E.; CONRAD, C. M. An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using the X-ray diffractometer. *Textile Research Journal*, v. 29, p. 786-794, 1959.
- THYGESEN, A.; ODDERSHEDE, J.; LILHOLT, H.; THOMSEN, A. B.; STAHL, K. On the determination of crystallinity and cellulose content in plant fibres. *Cellulose*, v. 12, p. 563-576, 2005.

## CRESCIMENTO DO FILME POLIPIRROL/GOMA DE CAJUEIRO SOBRE SUPERFÍCIE DE OURO

Rubênia S. Monte<sup>1</sup>, Roselayne F. Furtado<sup>2</sup>, Emanuela I. P. L. Chaves<sup>2</sup>, \*Carlucio R. Alves<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, CE. <sup>2</sup>Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE.

\*alvescr@pq.cnpq.br.

**Classificação:** Bionanocompósitos.

### Resumo

A goma do cajueiro é um polieletrólito hidrofílico, biocompatível e biodegradável, o que a torna uma opção interessante para sínteses de biomateriais. A combinação de polipirrol e polieletrólito natural resulta em um compósito condutor. No presente trabalho fez uso da goma do cajueiro como polieletrólito na síntese do filme de polipirrol/goma de cajueiro sobre superfície de ouro em meio aquoso, com o uso de técnica eletroquímica. Os filmes obtidos foram caracterizados eletroquimicamente por meio da transferência de carga, com  $\text{LiClO}_4$ , e morfologicamente, com o uso de microscopia eletrônica de varredura. A goma de cajueiro mostrou ser um polieletrólito eficiente na formação do filme, mantendo as características eletroquímicas.

**Palavras-chave:** Compósito; Polipirrol; Goma de cajueiro; Voltametria cíclica; Eletrodeposição.

### GROWTH OF POLYPYRROLE/CASHEW GUM FILM ON GOLD SURFACE

#### Abstract

The cashew gum is a hydrophilic, biocompatible and biodegradable polyelectrolyte, which represents an interesting option for the synthesis of biomaterials. The combination of polypyrrole and natural polyelectrolyte results in a conductive composite. In the present study was obtained a polypyrrole/cashew gum film on the gold surface using cashew gum as polyelectrolyte in aqueous medium from electrochemical technique. The films were characterized electrochemically by charge transfer with  $\text{LiClO}_4$ , and morphologically using scanning electron microscopy. The cashew gum was an efficient polyelectrolyte in the film formation maintaining the electrochemical characteristics.

**Keywords:** Composite; Polypyrrole; Cashew gum; Cyclic voltammetry; Electrodeposition.

#### Publicações relacionadas

MONTE, R. S.; KOTZEBUE, L. V.; ALEXANDRE, D. L.; FURTADO, R. F.; ALVES, C. R. Morphological and electrochemical characteristics of electrosynthesized PPy/CD composite. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 25, p. 597-601, 2014.

## 1 INTRODUÇÃO

A síntese de novos materiais tem motivado o desenvolvimento de estudos com utilização de matérias-primas renováveis, influenciando na diminuição do uso de reagentes químicos. A busca por biomateriais que apresentem melhor desempenho a menor custo é um desafio de muitos pesquisadores.

Nessa perspectiva, tem-se buscado modificar quimicamente eletrodos, por meio da formação de filmes poliméricos, possibilitando inúmeras aplicações em nanotecnologia.

A associação de polissacarídeos, conhecidos como polímeros naturais com polímeros convencionais é investigada na busca por materiais que apresentem suas propriedades originais reforçadas ou mesmo fornecer novas funcionalidades, que influenciam suas características físicas, químicas, mecânicas e reológicas (LIU et. al., 2008).

As gomas são polissacarídeos solúveis em água que formam soluções viscosas a baixas concentrações. A Goma do Cajueiro (GC) obtida do exsudato da espécie *Anacardium occidentale* L. é um heteropolissacarídeo ácido ramificado, composto de uma cadeia principal de galactose (72%), arabinose (4,6%), glucose (14%), ramnose (3,2%) e ácido glurônico (4,7%). Possui ainda três tipos de unidades galactano no interior do núcleo, ligado por C-1 e C-3; C-1 e C-6 e C-1, C-3 e C-6. A glucose está presente como uma cadeia lateral, até cinco unidades de comprimento (SILVA et. al., 2006).

O fácil processo de exsudação desta goma, hidrofiliabilidade, biocompatibilidade e biodegradabilidade, são características importantes que evidenciam sua capacidade tecnológica e a possibilidade de

produção comercial, sobretudo para o Brasil, responsável pela quarta maior produção de amêndoas no cenário internacional (PAULA PESSOA; BANDEIRA, 1993; OLIVEIRA, 2008; CARNEIRO-DA-CUNHA et.al., 2009). Essas características favorecem o uso da GC na preparação de biomateriais.

O polipirrol (PPy) possui em sua estrutura ligações duplas conjugadas, o que permite um fluxo de elétrons em sua cadeia, sendo, portanto um polímero orgânico condutor. As propriedades do filme polimérico dependem do método e das condições de síntese. Geralmente, a combinação de polipirrol/polieletrólito origina um compósito condutor que mantém as propriedades eletroquímicas do polímero, reforçando outras propriedades como a resistência do material (ALVES et.al, 2001).

No presente trabalho, objetivou-se eletrossintetizar compósito condutor de polipirrol/goma de cajueiro, em meio aquoso, juntamente com a sua caracterização eletroquímica e morfológica.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

O polissacarídeo de exsudato, utilizado neste trabalho foi obtido de árvores da *Anacardium occidentale* (cajueiro) fornecida pela EMBRAPA, Campus Experimental de Pacajus, Ceará. A goma foi purificada no Laboratório de Embalagem da Embrapa Agroindústria Tropical. O pirrol (Aldrich chemicals) foi estocado à baixa temperatura e protegido da luz. A água usada no preparo das soluções era procedente do sistema Milli-Q da Millipore. Fez-se estudos para diferentes concentrações de pirrol e goma de cajueiro para o processo de eletrodeposição de PPy/GC.

Utilizou-se um sistema eletroquímico constituído de célula de vidro de compartimento único, contendo três eletrodos, o de trabalho de disco de ouro ( $1,77 = \text{mm}^2$ ), o auxiliar de platina ( $3 = \text{mm}^2$ ) e o eletrodo de referência de Ag/AgCl. Os eletrodos de trabalho e auxiliar, antes de cada experimento, foram previamente submetidos a limpeza mecânica com alumina  $0,3 \mu\text{m}$  durante 5 minutos, posteriormente colocados no banho ultrassônico durante 10 minutos em etanol, em seguida limpos eletroquimicamente com varreduras de potenciais com evoluções de  $\text{O}_2$  e  $\text{H}_2$  em meio de  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  e lavados exaustivamente com água destilada.

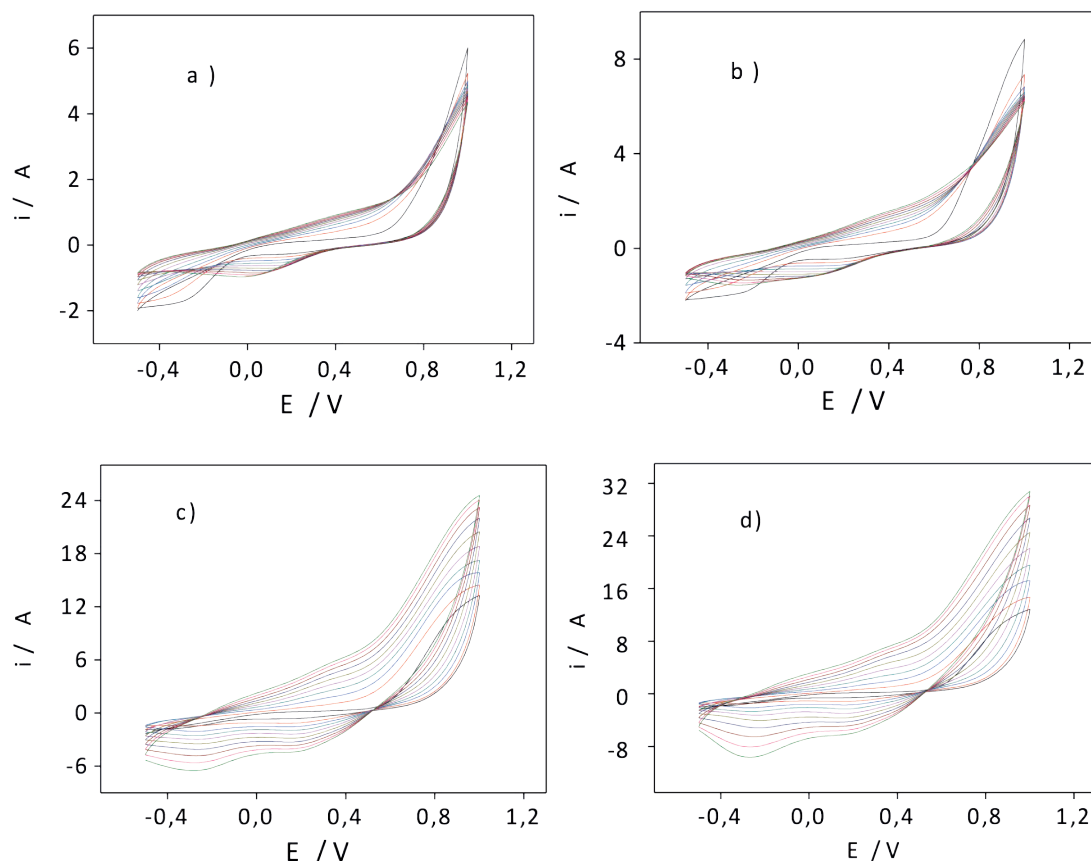
As medidas eletroquímicas foram realizadas com um Potenciostato/Galvanostato Autolab PGS-TAT12 controlado por um computador com o Software GPES 4.9 para envio e aquisição de dados. As imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos filmes foram obtidas com Zeiss 940 A (Zeiss Company, Alemanha), com ampliação de 500X. A técnica empregada para a eletrossíntese dos filmes foi à técnica potenciodinâmica de voltametria cíclica com janela de potencial de  $-0,5$  a  $1,0 \text{ V}$  (vs Ag/AgCl), e velocidade de varredura de  $50 \text{ mV s}^{-1}$ . A avaliação da transferência de carga do polímero foi realizada com eletrólito  $\text{LiClO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , com janela de potencial de  $-0,3$  a  $0,5 \text{ V}$  (vs Ag/AgCl).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

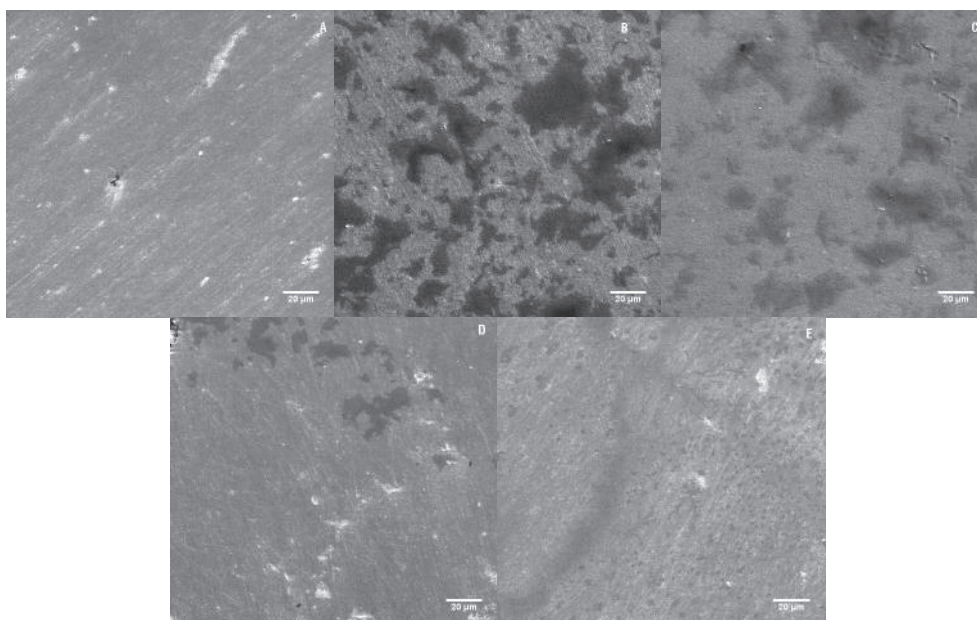
A eletrodeposição potenciodinâmica dos filmes se deu com a variação das concentrações de Py e GC. O crescimento e a transferência de carga dos filmes foram anteriormente estudados e analisados, portanto, foi escolhido para este trabalho relatar os resultados referentes a  $0,05$ ;  $0,1$ ;  $0,3$  e  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  de pirrol e 20% de goma de cajueiro (Figura 1).

Na Figura 1, observa-se o aumento de corrente, devido a formação do filme PPy/GC com a oxidação do monômero, um loop nucleação e crescimento foi observado incorporando a goma de cajueiro no filme. Foi verificado em cada ciclo o potencial de oxidação foi deslocado na direção mais positiva, provavelmente, devido ao sobrepotencial da deposição de novas camadas do polímero. Resultados semelhantes foram observados no trabalho para o crescimento de Polipirrol/Cardanol (Monte et.al., 2014). Nota-se que o aumento da concentração de PPy (Figura 1a-d), eleva o potencial para picos ainda mais anódicos, havendo maior formação de PPy/GC.

Um estudo qualitativo com a análise morfológica do eletrodo de ouro antes (Figura 2a) e após o crescimento de PPy/GC (Figura 2b-e) comprovou que houve a deposição do filme, e com o aumento da concentração de Py observou-se um maior recobrimento da superfície eletródica.



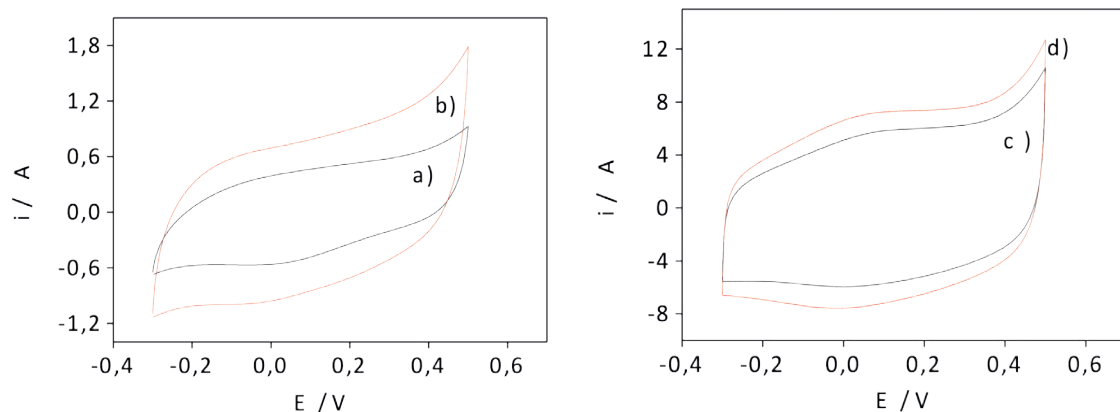
**Figura 1.** PPy/GC crescido em superfície de ouro com concentrações de GC 20% e (a) [Py] = 0,05 M, (b) [Py] = 0,1 M, (c) [Py] = 0,3 M, (d) 0,5 [Py] = 0,1 M, em meio aquoso.



**Figura 2.** Micrografias obtidas por MEV, ampliação de 500 X. (a) Superfície de ouro e formação do composto com GC 20%: (b) [Py] = 0,05 M, (c) [Py] = 0,1 M, (d) [Py] = 0,3 M e (e) [Py] = 0,5 M.

A transferência de carga do polímero PPy/GC, crescido por voltametria cíclica sobre superfície de ouro, é observada na Figura 3. Os filmes de PPy 0,05 M e PPy 0,1 M (Figura 3a-b), apresentaram menor capacidade de armazenamento de carga, em comparação com PPy 0,3 e PPy 0,5 (Figura 3b-c). Higgins et al (2008) sugeriram que, neste caso, deve-se evitar potenciais mais negativos para evitar a expulsão irreversível das moléculas do polieletrólito do polímero condutor, levando à redução da eletro-

atividade do filme. É também possível que a ligeira sobre-oxidação de PPy possa ocorrer na varredura positiva, resultando na redução da conjugação e provocando a diminuição da condutividade elétrica. Em comparação com semelhante resultados para compósito de PPy (MONTE et al, 2014), o filme de PPy/GC apresentou boa estabilidade eletroquímica e menor armazenamento de cargas, no entanto, vale resaltar que esse compósito foi crescido em meio aquoso, e ainda demonstrou melhores propriedades mecânicas e menor suscetibilidade à degradação.



**Figura 3.** Transferência de carga em presença de  $[\text{LiClO}_4] = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$  para filmes crescidos com GC 20%: (a)  $[\text{Py}] = 0,05 \text{ M}$ , (b)  $[\text{Py}] = 0,1 \text{ M}$ , (c)  $[\text{Py}] = 0,3 \text{ M}$  e (d)  $[\text{Py}] = 0,5 \text{ M}$ .

#### 4 CONCLUSÃO

A goma do cajueiro é um eficiente polieletrólito na formação do filme Polipirrol/Goma de cajueiro, sobre a superfície de ouro, mantendo as características eletroquímicas do polipirrol. O compósito de PPy/GC é promissor pois apresentou boas propriedades eletroquímica e estabilidade.

#### AGRADECIMENTOS

Agradecimento a Dra. Celi Muniz pelas imagens de microscopia eletrônica de varredura, ao CNPq, FINEP, FUNCAP e CAPES, pelos auxílios financeiros.

#### REFERÊNCIAS

- ALVES, C. R.; HERRASTI, P.; OCON, P.; AVACA, L. A.; OTERO, T. F. Electrodeposition of polypyrrole/carboxymethyl cellulose on platinum and indium tin oxide. *Polymer Journal*, v. 33, n. 3, p. 255-262, 2001.
- CARNEIRO-DA-CUNHA, M. G.; CERQUEIRA, M. A.; SOUZA, B. W. S.; SOUZA, M. P.; TEIXEIRA, J. A.; VICENTE, A. A. Physical properties of edible coatings and films made with a polysaccharide from *Anacardium occidentale* L. *Journal of Food Engineering* v. 95, p. 379-385, 2009.
- HIGGINS, T. M.; MOULTON, S. E.; GILMORE, K. J.; WALLACE, G. G.; PANHUIS, M. Gellan gum doped polypyrrole neural prosthetic electrode coatings. *Soft Matter*, v. 7, n. 10, p.4690-4695, 2011.
- LIU, Z.; JIAO, Y.; WANG, Y. Polysaccharides-based nanoparticles as drug delivery systems. *Advanced Drug Delivery*, v. 60, p.1650-1662, 2008.
- MONTE, R. S.; KOTZEBUE, L. R. V.; ALEXANDRE, D. L.; FURTADO, R. F.; SANTOS, J. A. C.; DANTAS, J. D. P.; ALVES, C. R. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 25, n. 3, p.597-601, 2014.
- OLIVEIRA, M. A. Avaliação da influência de adjuvantes de secagem sobre as propriedades de suco de caju atomizado. 2008. 63f. Dissertação (Mestrado em tecnologia de alimentos)- Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

PAULA PESSOA, P. F. A.; BANDEIRA, C. T. Goma do cajueiro: nova alternativa de renda para a cajucultura nordestina. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical (Embrapa Agroindústria Tropical). Comunicado Técnico, Caju Informativo, v. 1, n. 1, 1993.

SILVA, D. A.; FEITOSA, J. P. A.; MACIEL, J. S.; PAULA, H. C. B.; DE PAULA, R. C. M. Characterization of crosslinked cashew gum derivatives. Carbohydrate Polymers, v. 66, p. 16-26, 2006.

---

## ESTUDO DA DISPERSÃO DE NANOTUBOS DE CARBONO EM MATRIZ POLIMÉRICA BIODEGRADÁVEL DE POLI (ÁCIDO LÁTICO) – PLA.

Wagner M. Pachekoski<sup>1</sup>, Alfredo Sena<sup>2</sup>, Daniela Becker<sup>3</sup>, \*José M. Marconcini<sup>4</sup>, Luiz H.C. Mattoso<sup>5</sup>.

<sup>1</sup> Embrapa Instrumentação Agropecuária CNPDIA. <sup>2</sup>Embrapa Instrumentação, CNPDIA. <sup>3</sup>UDESC, Campus Joinville, SC. <sup>4</sup>Embrapa Instrumentação, CNPDIA. <sup>5</sup>Embrapa Instrumentação, CNPDIA. \*jose.marconcini@embrapa.br

**Classificação:** Bionanocompósitos.

### Resumo

Uma eficiente dispersão dos nanotubos determina de maneira decisiva as propriedades do nanocompósito. A fim de estudar tal efeito, foi realizada a incorporação de nanotubos de carbono em matriz de poli(ácido lático) através do processo de extrusão em rosca cisalhante, verificando-se através de MET a necessidade de uma melhor dispersão dos nanotubos. A fim de tentar reduzir a mobilidade dos nanotubos e aprimorar a sua dispersão, foram testadas em reômetro Haake diferentes composições de um extensor de cadeia para a matriz polimérica, a fim de otimizar a sua quantidade. Resultados de DSC sugerem modificações estruturais na mistura de nanotubos de carbono e poli(ácido lático) quando o extensor de cadeia está presente.

**Palavras-chave:** Nanocompósitos; Nanotubos de carbono; Poli(ácido lático); Extensores de cadeia.

### STUDY OF CARBON NANOTUBES DISPERSION IN POLY (LACTIC ACID) BIODEGRADABLE POLYMERIC MATRIX

#### Abstract

An efficient dispersion of the nanotubes influences decisively on the properties of the nanocomposite. To study this effect, the incorporation of CNTs was carried on a matrix of poly (lactic acid) via shear screw extrusion process. Through MET, it was verified the need of better dispersion of the nanotubes. In order to try to reduce the mobility of nanotubes and enhance its dispersion, different compositions of a chain extender for the polymer matrix were tested in a Haake in order to optimize its quantity. DSC results suggest a good dispersion of carbon nanotubes in the matrix of poly (lactic acid) when the chain extender is present.

**Keywords:** Nanocomposites; carbono nanotubes; poly(lactic acid); Chain Extender.

#### Publicações relacionadas:

WAGNER M. PACHEKOSKI, ALFREDO DE SENA, JOSÉ MANOEL MARCONCINI, LUIZ H. C. MATTOSO, MURILO GARCIA, MARINDIA DECOL, DANIELA BECKER. “Influência da adição do extensor de cadeia nas propriedades do nanocompósito de PLA/nanotubos de carbono”. 21º CBCIMAT, novembro 2014, Cuiabá, MT.

## 1 INTRODUÇÃO

Diversos autores estudaram nanocompósitos constituídos de uma fase reforçante de nanotubos de carbono e uma matriz polimérica biodegradável, visando aprimorar as propriedades destes materiais (BERTHOLDI, 2013), (XU, 2010), (MITTAL, 2011). Aplicações como a embalagem de alimentos e filmes de cobertura agrícola, com propriedades mecânicas, térmicas e de barreira a gases aprimoradas são possíveis graças a este tipo de tecnologia (FREWER, 2011), (SOZER, 2009).



No entanto, o potencial dos nanocompósitos com matrizes poliméricas não foi ainda plenamente explorado: as propriedades obtidas são muito inferiores as estimadas teoricamente. Entre os principais fatores que contribuem para a falha na transferência de propriedades estaria má dispersão dos nanocompósitos na matriz, necessitando-se de meios de dispersão efetivos no processo (VELASCO-SANTOS,2005).

Desta maneira, este trabalho tem por objetivo estudar a dispersão de nanotubos de carbono na matriz polimérica biodegradável de poli(ácido láctico), a fim de entender o seu comportamento e melhorar o seu processo dispersivo. Estima-se que, aprimorando a dispersão de nanotubos de carbono, melhores propriedades mecânicas, térmicas e elétricas serão conseguidas para este nanocompósito.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Materiais

Foram utilizados neste trabalho, nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWNTC) fornecidos pela Chengdu Organic Chemicals, grade TNIM4, com pureza acima de 90% e razão de aspecto máximo de 3000. Foi utilizado neste trabalho o poli(ácido láctico) tipo 2002D (grade de extrusão) da Natureworks.

Como extensor de cadeia para o PLA (EXT) foi utilizado o aditivo CESA EXTEND da empresa Clariant.

Foram utilizados para este trabalho misturas de relação massa/massa (m/m) de PLA/EXT, PLA/MWNTC e PLA/EXT/MWNTC.

### 2.2 Processamento em extrusora

Uma mistura de PLA/MWNTC (99/1) foi processada em extrusora dupla rosca corotante Cooperion ZSK 18, com L/D = 40. As condições de processamento são apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Condições de processamento em extrusora

Rotação (RPM)	Temperatura (°C)						
	Funil	Z1	Z2	Z3	Z4	Z5	Z6
120	160	165	170	170	175	175	180

### 2.3 Caracterizações dos materiais

As propriedades reológicas foram avaliadas em um reômetro de torque da marca Haake, a 200°C e 50 rpm, com um tempo de ensaio de 10 minutos.

As propriedades térmicas dos compósitos de nanotubos de carbono na matriz de PLA foram investigadas por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), com um primeiro ciclo de aquecimento partindo de 25°C até 230°C, com uma taxa de aquecimento de 10 °C/min; e um segundo ciclo partindo de -50 °C a 230 °C, com uma taxa de aquecimento de 10 °C/min. Em ambos os ciclos de resfriamento, a taxa foi a mais rápida possível (80 °C/min). Todas as análises térmicas foram realizadas em atmosfera de nitrogênio (N<sub>2</sub>).

Análises de microscopia eletrônica de transmissão (MET) foram realizadas em equipamento JEOL JEM210, utilizando-se energia do feixe de 200 keV. A amostra foi obtida utilizando um crio-ultramicrotômo, num equipamento RMC, sendo utilizado faca de diamante, com temperatura da amostra de -80°C e temperatura da faca de -60°C, e espessura nominal da amostra de 30nm.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Processamento em extrusora

A partir dos resultados de Microscopia Eletrônica de Transmissão, apresentados na Figura1, é possível verificar que existem regiões de boa dispersão dos nanotubos de carbono (Foto 1a). Porém, o

cisalhamento resultante da extrusão não é suficiente para dispersar totalmente os nanotubos, pois são verificadas também regiões onde os nanotubos estão menos dispersos (Figura 1b) ou onde se encontram totalmente aglomerados (1c). Ko e colaboradores (2003) demonstram em seu trabalho que estes aglomerados ou “clusters” micrométricos são responsáveis por significativa redução nas propriedades de nanocompósitos baseados em nanotubos de carbono.

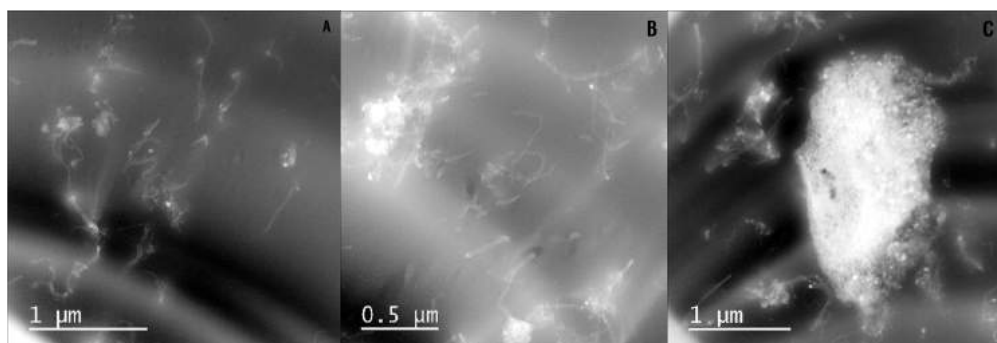


Figura 1. Micrografias de MET para misturas de nanotubos de carbono e PLA.

### 3.2 Reometria de torque

A Figura 2 apresenta os resultados da reometria de torque para o PLA e misturas de PLA com diferentes quantidades de extensor de cadeia. É possível verificar através da mesma que, a mistura com de PLA com 3% de extensor de cadeia apresenta maiores valores de torque em relação aos demais materiais. Como este aumento no torque está diretamente associado ao aumento da viscosidade o mesmo serve também como parâmetro para medir a eficiência de ação do aditivo. Desta maneira, estima-se que a mistura de PLA com 3% de extensor de cadeia será a de maior eficiência na redução de mobilidade dos nanotubos de carbono dispersos na matriz de poli(ácido láctico), impedindo a sua aglomeração.

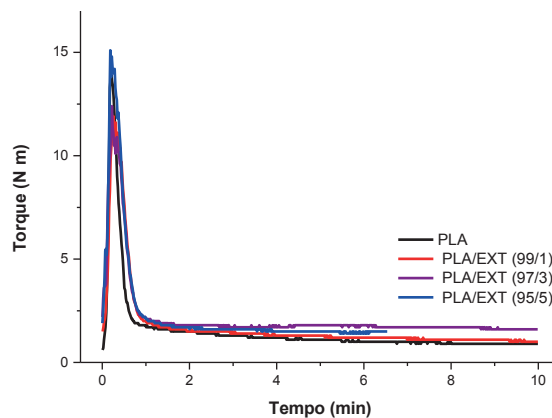
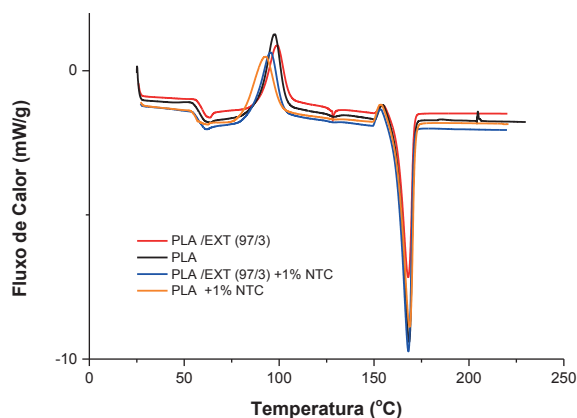


Figura 2. Reometria de torque para o PLA e misturas de PLA com extensor de cadeia.

### 3.3 Calorimetria Exploratória Diferencial

A Figura 3 apresenta os resultados de Calorimetria Exploratória Diferencial para o PLA e diferentes misturas com nanotubos de carbono e o extensor de cadeia. Observa-se que a temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) não se modifica com a adição de nanotubos de carbono e /ou extensores de cadeia, ocorrendo em torno de  $57^\circ\text{C}$ . Verifica-se ainda que a temperatura de cristalização do PLA ( $98^\circ\text{C}$ ) é reduzida na presença de MWNTC para  $92^\circ\text{C}$ , sugerindo uma atividade de nucleação localizada nos aglomerados de nanotubos. Esta atividade de nucleação é amenizada na mistura de PLA, nanotubos de cadeia e extensor de cadeia, sugerindo que os aglomerados responsáveis pelo efeito cristalizante podem estar presentes em menor quantidade. O ponto de fusão ocorre a  $168^\circ\text{C}$  para todas as misturas, porém a entalpia de fusão é maior na mistura de PLA, nanotubos de carbono e extensor de cadeia sugerindo modificações estruturais em relação ao PLA puro e misturas de PLA/MWNTC ou PLA/EXT.



**Figura 3.** Medidas de DSC para misturas de PLA, extensor de cadeia (EXT) e nanotubo de carbono (MWNTC).

#### 4 CONCLUSÃO

O cisalhamento resultante do processamento em extrusora do nanocompósito PLA com 1% de de nanotubos de carbono e poli(ácido lático) não é suficiente para dispersar totalmente os nanotubos de carbono, ocorrendo a presença de “clusters” micrométricos.

A mistura de PLA com 3% de de extensor de cadeia apresentou na reometria de torque os resultados mais promissores para a melhoria da dispersão de nanotubos de carbono na matriz de PLA.

Os resultados de DSC sugerem mudanças estruturais nas mistura de PLA, extensor de cadeia e nanotubo de carbono em relação ao PLA puro e mistura de PLA somente com nanotubos de carbono.

Novas investigações darão continuidade ao trabalho, avaliando a efetividade da dispersão da mistura de PLA / MWNTC /EXT em extrusora através da Microscopia Eletrônica de Transmissão e da avaliação de propriedades mecânicas, elétricas e térmicas.

#### AGRADECIMENTOS

Os pesquisadores agradecem a Capes pelo financiamento e disponibilização da bolsa de pós-doutorado ao autor Wagner Maurício Pachekoski, referente ao projeto 0095095 intitulado “Avaliação e impactos da nanotecnologia no agronegócio”.

#### REFERÊNCIAS

- BERTHOLDI, J. “Nanocompósitos de PLLA com nanotubos de carbono: propriedades mecânicas, tribológicas e térmicas. Dissertação de mestrado, UDESC, 2013.
- .FREWER, L.J; NORDE, W.; FISCHER, A.R.H; KAMPERS, F.W.H. Nanotechnology in the agri-food sector. Wiley & Sons, 2011, 200p.
- KO, F.; GOGOTSI, Y.; ALI, A.; NAGUIB, N.; YE, H.; YANG, G .Advanced Materials, 15,14, 2003; p.1161 – 1165.
- MITTAL, V. Nanocomposites with biodegradable polymers: synthesis, properties and future perspectives.Oxford Scholarship Online, 2011.
- SOSER, N.; KOKINI, J.L.; Nanotechnology and its applications in the food sector, Trends in Biotechnology, 27, 2, 2009, p. 82-89.
- VELASCO-SANTOS, C.; MARTINEZ-HERNANDEZ, A.L.; CASTANO, V.M. Composite Interfaces, 11, 8-9, 2005, p.567–586.
- XU, J. Z.; CHEN, T.; YANG, C.-LU; ET AL. Isothermal Crystallization of Poly ( L - lactide ) Induced by Graphene Nanosheets and Carbon Nanotubes : A Comparative Study. Macromolecules , p. 5000-5008, 2010.

## NANOFIBRAS DE CELULOSE MICROFIBRILADA DE MADEIRA DE EUCALIPTO: APLICAÇÃO EM FILMES DE QUITOSANA

\*Nathane Silva Resende<sup>1</sup>, Eduardo Valério de Barros Vilas Boas<sup>1</sup>, Gustavo Henrique Denzin Tonoli<sup>2</sup>, Kelen Cristina dos Reis<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Departamento de Ciência dos Alimentos, DCA, <sup>2</sup> Departamento de Ciências Florestais (DCF) Universidade Federal de Lavras, UFLA, MG.  
\*nathane.resende@hotmail.com

**Classificação:** Bionanocompósitos.

### Resumo

O interesse dos pesquisadores pela elaboração de filmes de quitosana vem crescendo de forma exponencial no meio científico, graças as suas excelentes propriedades de barreira e mecânica. Da mesma forma o aumento do estudo da incorporação de bionanocompósitos a esses filmes ocorre de forma vertiginosa. Os filmes de quitosana acrescidos de nanofibras de eucalipto foram analisados quanto à cor e à espessura, a fim de avaliar possíveis interferências a adição de nanofibras. Os filmes foram obtidos pelo “processo casting” e constatou-se que a presença de nanofibras não a prejudicou a transparência dos filmes e a espessura dos filmes.

**Palavras-chave:** Quitosana; Nanofibras; Celulose; Eucalipto.

### MICROFIBRILLATED CELLULOSE NANOFIBERS FROM EUCALYPT WOOD: APPLICATION IN QUITOSAN FILMS

#### Abstract

The interest of researchers for the preparation of chitosan films has grown exponentially in the scientific environment, thanks to its excellent barrier properties and mechanical. Similarly the increase in bionanocomposites study the incorporation of these films is steeply. Films of chitosan nanofibers plus eucalyptus were analyzed for color and thickness in order to evaluate possible interference the addition of nanofibers. The films were obtained by “casting process” and it was found that the presence of nanofibers not hindered transparency of the films and the thickness of the films.

**Keywords:** Chitosan; Nanofibers; Cellulose; Eucalyptus.

## 1 INTRODUÇÃO

O interesse por bionanocompósito na área de alimentos vem crescendo consideravelmente nas últimas décadas. O uso de biomateriais pode ser explicado tanto por aspectos ambientais e exigências dos consumidores ou pela necessidade de se criar fontes alternativas que forneçam valor agregado à matéria-prima final. Os biopolímeros, como alternativa, vêm trazendo não só bons resultados do ponto de vista científico, como vêm atendendo a diversas demandas do mercado atual (WU et al., 2012).

A mistura física de dois ou mais polímeros sem que haja reação química entre os componentes é chamada de blenda polimérica (CANEVAROLO, 2002). Vários estudos com blendas são realizados com o objetivo de melhorar as propriedades físicas dos materiais poliméricos. Outras aplicações têm efeitos indiretos, uma vez que melhoram o desempenho dos materiais (especialmente as propriedades mecânicas e de barreira), aumentando o grau de proteção conferido pelo sistema de embalagem. É o caso das aplicações que envolvem materiais de reforço nanométricos, especialmente indicados para melhorar o desempenho físico-mecânico de filmes biodegradáveis e/ou comestíveis, contribuindo para a utilização de materiais de embalagem ambientalmente corretos (AZEREDO et al., 2012).

É desejável que os filmes e coberturas comestíveis apresentem propriedades sensoriais neutras, ou seja, não modifiquem o odor e sabor do alimento que revestem e sejam transparentes promovendo melhorias na aparência da superfície conferindo-lhe mais brilho e redução da viscosidade sem, no entanto modificar suas propriedades (GARCIA; MARTINO; ZARITZKY, 1998).

Portanto, o objetivo deste trabalho foi estudar o efeito da adição de diferentes conteúdos de nanofibras celulósicas de eucalipto em filmes com diferentes concentrações de quitosana avaliando a cor e a espessura do filme.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Preparação dos filmes poliméricos

Para elaboração dos filmes de quitosana foi utilizada a matéria prima da empresa Polymar Ind. Com. Importação e Exportação LTDA. O preparo dos filmes foi realizado pela dispersão de 1g e 2g de quitosana em 100 ml de ácido acético 1%(v/v). A solução foi mantida em agitação constante durante 24 horas. Posteriormente 10 ml de cada concentração (1% e 2% de quitosana) foram colocadas uniformemente em placas de Petri (casting) para secagem em temperatura ambiente durante 16 horas.

Com os filmes de quitosana já prontos adicionou-se as nanofibras obtidas por um desfibrilador mecânico (Grinder supermasscoloider MKCA6-3, MASUKO SANGYOU Co., Ltda.) com velocidade de trabalho de 1700 rpm e corrente elétrica de 5A. A suspensão de nanofibras em aspecto gelatinoso foi obtida após 90 passagens pelo moinho, coletadas e armazenadas em ambiente resfriado. Com a ajuda de um ultrassom foram incorporados 3% e 5% de nanofibra aos filmes de 1% e 2% de quitosana durante 1 hora, em seguida foram as soluções filmogênicas foram vertidas com o mesmo volume anterior (casting) em placas de Petri e mantidas a temperatura ambiente por 16 horas para secagem.

### 2.2 Propriedade óptica dos filmes poliméricos: espectroscopia de cor

Os filmes foram submetidos à análise de cor, as quais foram realizadas no espectrofotômetro de cor (Konica Minolta, CM-5), com ângulo de observação 10° e iluminante D65 para obter as coordenadas  $L^*a^*b$  ( $L^*$  = luminosidade, faixa de 0 (preto) a 100 (branco); parâmetro  $a^*$  = variação no eixo verde/vermelho ( $-a^*/a^*$ ) e o parâmetro  $b^*$  = variação no eixo azul/amarelo ( $-b^*/b^*$ )).

### 2.3 Espessura(mm)

A espessura das amostras foi medida com o auxílio de um micrômetro de mão (MITUTOYO 102-217) com divisões de 0,01 mm. A medida de espessura utilizada foi uma média de 6 medidas tomadas aleatoriamente em vários pontos do filmes.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Uma das características mais importante na escolha de um filme é que o mesmo seja o mais incolor possível, permitindo assim, maior visualização do alimento revestido. Daí a relevância em analisar os dados de cor obtidos nessas formulações. Os dados coletados e resultados obtidos por meio da análise de cor utilizando o espectrofotômetro estão representados na Tabela 1.

**Tabela 1.** Valores médios dos parâmetros de cor para filmes com 1% e 2% de quitosana reforçados com diferentes conteúdos de nanofibras

Concentração de Quitosana	0% de nanofibra			3% de nanofibra			5% de nanofibra		
	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$L^*$	$a^*$	$b^*$
1%	84,60 <sup>a</sup>	0,46 <sup>a</sup>	5,05 <sup>a</sup>	84,87 <sup>a</sup>	0,47 <sup>a</sup>	4,86 <sup>a</sup>	84,86 <sup>a</sup>	0,40 <sup>a</sup>	5,40 <sup>a</sup>
2%	86,08 <sup>b</sup>	0,52 <sup>a</sup>	5,77 <sup>a</sup>	86,07 <sup>b</sup>	0,58 <sup>a</sup>	5,91 <sup>a</sup>	85,48 <sup>b</sup>	0,51 <sup>a</sup>	5,45 <sup>a</sup>

*L (luminosidade) 0=preto e 100=branco, a (-verde, + vermelho) e b (-azul, +amarelo), seguindo a metodologia de Ghoparde et al. (1995). Os números seguidos da mesma letra em uma mesma coluna não diferem-se estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.*

Os filmes apresentaram valores médios de  $L^*a^*b$  que indicam relativamente uma alta luminosidade nos filmes elaborados. Pelo teste de média aplicado aos dados percebe-se que a concentração de quitosana é a maior influenciador da coloração (diminuição de  $L^*$ ), ou seja, filmes com maior concentração de quitosana apresentam coloração mais escura. Já a adição de nanofibra parece não ter interferido significativamente na coloração dos filmes. Os demais parâmetros de cor,  $a^*$  e o  $b^*$ , não sofreram modificações significativas ao aumento de nenhum dos dois componentes do filme.

Outro quesito importante para determinar a qualidade de um filme é a sua espessura. Vários autores encontram resposta positiva ao aumento do filme, porém é importante salientar que filmes espessos

são facilmente detectados pelo paladar humano. Os dados observados nesse estudo estão contidos na Tabela 2.

Espessura dos filmes com 1% e 2% de quitosana acrescidos de diferentes concentrações de nanofibra.

**Tabela 2.** Valores médios da espessura para filmes com 1% e 2% de quitosana reforçados com diferentes conteúdos de nanofibras

Concentração de Quitosana	0% de nanofibra	3% de nanofibra	5% de nanofibra
1%	0,042 <sup>a</sup>	0,061 <sup>b</sup>	0,067 <sup>b</sup>
2%	0,04 <sup>a</sup>	0,061 <sup>b</sup>	0,065 <sup>b</sup>

*Os números seguidos da mesma letra em uma mesma linha não diferem-se estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.*

O resultado encontrado nesse trabalho vai de encontro com outros relatados na literatura. Sabe-se que a principal utilização das nanofibras em revestimentos comestíveis se dá pela sua capacidade de melhorar as propriedades mecânicas no filme. Nota-se que a adição de nanofibras interfere diretamente no valor do atributo analisado.

O aumento da espessura pode ser explicado por um efeito descrito por HELBERT et al. (1996), no qual além da geometria e da rigidez da nanofibra, há também a formação de uma rede de nanofibras na matriz polimérica, ligadas entre si provavelmente por pontes de hidrogênio.

Além dos efeitos das nanofibras por si só, a interface que circunda cada nano estrutura afeta também as propriedades do material, já que é uma região de possibilidade de contato e adesão com a matriz (QIAO; BRINSON, 2009). Para um mesmo teor de nanopartículas, uma redução nas dimensões de cada partícula aumenta seu número e sua área superficial específica, favorecendo assim o efeito de reforço e a espessura do filme (JORDAN et al., 2005).

#### 4 CONCLUSÃO

Conclui-se que a presença de nanofibras não modificou o aspecto visual dos filmes no que diz respeito a sua coloração, já a espessura dos filmes foi diretamente influenciada pela sua adição. A quitosana por sua vez demonstrou alterar apenas a cor do filme, mantendo a espessura mesmo na maior concentração. Ambos os filmes apresentaram-se como excelentes alternativas para revestimento em alimentos. Outros testes deverão ser realizados a fim de garantir as propriedades e a aplicabilidade dos filmes analisados.

#### AGRADECIMENTOS

UFLA, FAPEMIG, CNPq e CAPES pelo apoio financeiro.

#### REFERÊNCIAS

- CANEVAROLO JR, S. V. Ciência dos polímeros. São Carlos; Artliber Editora, p. 15, 16 - 153, 2002.
- GARCÍA, M, A; MARTINO, M, N; ZARITZKY, N, E. Starch-Based Coatings: Effect on Refrigerated Strawberry (*Fragaria ananassa*) Quality. Journal of Science and Food Agricultural, v. 76, p. 411-420, 1998.
- HELBERT, W.; CAVAILLÉ, C. Y.; DUFRESNE, A. Thermoplastic nanocomposites filled with wheat straw cellulose whiskers. Part I: processing and mechanical behavior. Polymer Composites, Brookfield, v. 17, n. 4, p. 604-611, 1996.
- JORDAN, J.; JACOB, K. I.; TANNENBAUM, R.; SHARAF, M. A.; JASIUK, I. Experimental trends in polymer nanocomposites: a review. Materials Science & Engineering A, Lausanne, v. 393, n. 1-2, p. 1-11, 2005.

QIAO, R.; BRINSON, L. C. Simulation of interphase percolation and gradients in polymer nanocomposites. *Composites Science and Technology*, Barking, v. 69, n. 3-4, p. 491-499, 2009.

WU, Y.; WELLER, C. L.; HAMOUZ, F.; CUPPET, S. L.; SCHNEPF, M. Development

ZUNINO, S. J.; PARELMAN, M. A.; FREYTAG, T. L.; STEPHENSEN, C. B.; KELLEY, D. S.; MACKKEY, B. E.; WOODHOUSE, L. R.; BONNEL, E. L. Effect of dietary strawberry powder on blood lipids and inflammatory markers in obese human subjects. *British Journal of Nutrition*. v. 108, p. 900-909, 2012.

---

## BRANQUEAMENTO DE RÁQUIS E CASCAS DE MACAÚBA (*ACROCOMIA ACULEATA* (JACQ.) LODD. EX MART) VISANDO A OBTENÇÃO DE CELULOSE

\*Fábio Galvani, Grazielly Munhões Sorrilha, Vitor Brait Carmona, José Manoel Marconcini,  
Simone Palma Favaro

<sup>1</sup>Embrapa Pantanal. <sup>2</sup>Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. <sup>3</sup>Embrapa Instrumentação.

<sup>4</sup>Embrapa Agroenergia.

\*fabio.galvani@embrapa.br

**Classificação:** Bionanocompósitos.

### Resumo

Os efeitos do branqueamento do ráquis e de cascas de macaúba para a obtenção de celulose foram avaliados neste trabalho. Foi utilizada uma solução de peróxido alcalino com 15% de concentração de peróxido de hidrogênio para o processo de branqueamento. A celulose obtida foi caracterizada por TG, e MEV. As amostras branqueadas apresentaram estabilidade térmica 25% maior e maior exposição das microfibrilas devido à eficiência dos processos na retirada de hemicelulose e lignina.

**Palavras-chave:** Fibras naturais, celulose, caracterização estrutural, macaúba.

### Abstract

The effects of bleaching rachis and shells macaúba for obtaining cellulose were investigated in this study. A solution of alkaline peroxide at 15% concentration of hydrogen peroxide to the bleaching process was used. The cellulose obtained was characterized by TG, and SEM. The samples material exhibited 25% greater thermal stability and increased exposure of microfibrils due to the efficiency of processes in the removal of hemicellulose and lignin.

**Keywords:** Natural fibers; Cellulose; Structural characterization; Macaúba.

### Publicações relacionada

CARMONA, V.B.; GALVANI, F.; MARCONCINI, J.M.; MATTOSO, L.H.C. Branqueamento de folhas de gravata (*Brómelia balansae*): Obtenção e caracterização de celulose. In: WORKSHOP DA REDE DE NANOTECNOLOGIA APLICADA AO AGRONEGÓCIO, 6., 2012, Fortaleza. Anais... São Carlos: Embrapa Instrumentação; Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2012. p. 225-227.

## 1 INTRODUÇÃO

O Brasil apresenta abundância de matérias-primas vegetais com potencial para originar produtos de valor agregado. Esses materiais e seus resíduos agroindustriais são uma excelente fonte de materiais lignocelulósicos. (Souza et al., 2010). A macaúba ou bocaiuva (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd.) é uma palmeira nativa muito abundante no Pantanal de Mato Grosso do Sul, tem despertado interesse socioeconômico por sua alta produtividade em óleo além de inúmeros outros produtos primários e potencialmente obtidos em biorrefinarias (NUNES, 2013; PINTO, 2004). Tem se verificado que durante o processamento dos frutos da macaúba são gerados diferentes resíduos, dentre eles o ráquis, após a retirada dos frutos do cacho e a casca, após o despulpamento mecânico (Almeida et al., 2012).

O uso de peróxidos alcalinos tem se mostrado eficaz na retirada de materiais não celulósicos de fibras vegetais como graxas, hemicelulose, além deste tipo de processo de branqueamento ser totalmente livre de cloro (Carmona et al., 2012). Neste sentido, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito do branqueamento alcalino com peróxido de hidrogênio visando a obtenção e a caracterização de celulose em diversos subprodutos da macaúba (ráquis, e cascas) oriundos de diversas etapas do processamento de extração de óleo da polpa.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados ráquis, cascas de macaúba, hidróxido de sódio (NaOH) e peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$  30 volumes). Após as retiradas dos frutos de macaúba, o ráquis foi moído em triturador forrageiro modelo TRF 70 e a casca foi obtida a partir dos frutos secos despulpados mecanicamente utilizando um protótipo com capacidade para 10 kg de fruto/batelada. Cada parte da planta (ráquis e casca) foi marcerizada com solução 10% NaOH sob agitação mecânica. O produto obtido foi filtrado em peneiras de 56 mm, neutralizado seu pH e posteriormente foi submetido a um branqueamento utilizando solução de peróxido alcalino (10% NaOH m/v e 15%  $H_2O_2$  v/v) por 1 h a 50°C. O rendimento em massa do tratamento foi calculado com base na diferença de massa obtida das fibras branqueadas após secagem em estufa por 24 h a 80°C. Após o branqueamento as diversas partes da macaúba foram caracterizadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e análise termogravimétrica (TG). As fotomicrografias de MEV foram obtidas em um microscópio JEOL modelo JSM-6510 a 2,5 kV para avaliação da morfologia dos materiais submetidos ao branqueamento. As TG foram realizadas em um equipamento TGA Q500 (TA Instrument) a 10°C/min em atmosfera de ar sintético buscando conhecer as propriedades térmicas dos materiais em estudo.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os branqueamentos de cada parte da macaúba apresentaram diferentes rendimentos de fibras branqueadas. Foi observado um rendimento de 50,1% para casca e 60,3% para o ráquis. A diferença nestes resultados podem estar relacionados devido as diferenças nas concentração de celulose, hemicelulose e lignina que cada material apresenta. No trabalho realizado por Carmona et al., 2012, foi avaliado dois branqueamentos com peróxido alcalino com concentrações de  $H_2O_2$  de 6% e 12% em folhas de gravatá, sendo obtido rendimentos de 21% e 20%, respectivamente. As imagens dos materiais antes e após o branqueamento encontram-se nas Figuras 1 e 2.



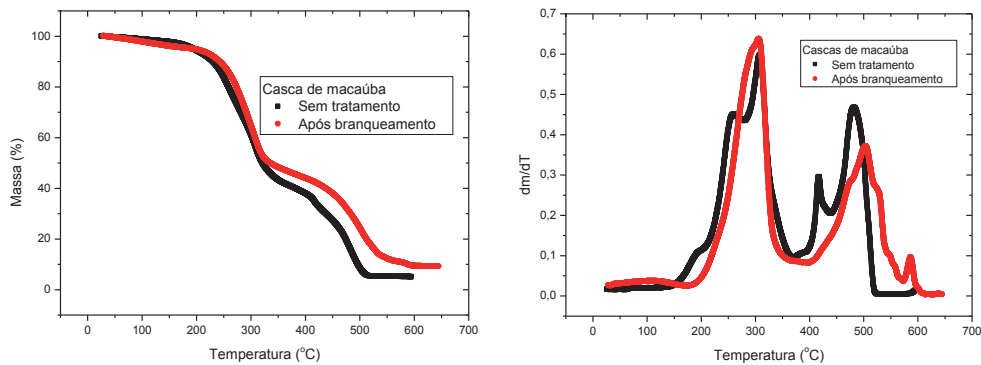
Figura 1. Amostras de ráquis antes (A) e após (B) o branqueamento.



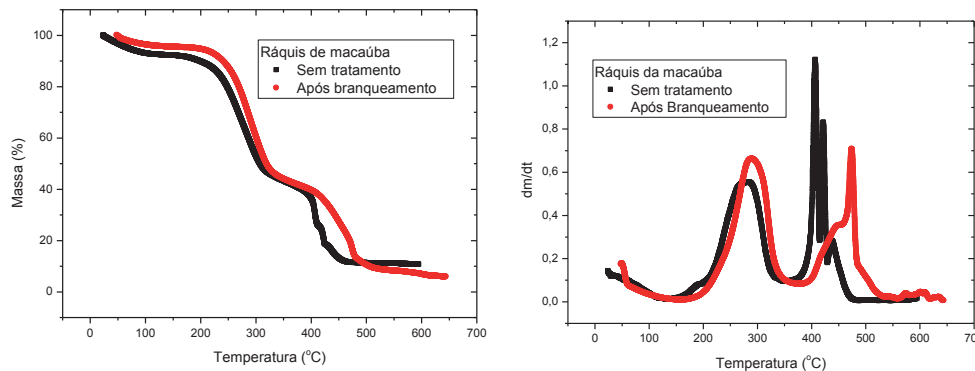
Figura 2. Amostras de cascas antes (A) e após (B) o branqueamento.



As curvas de TG/DTG das cascas e ráquis da macaúba antes e após o branqueamento estão representadas nas Figuras 3 e 4.



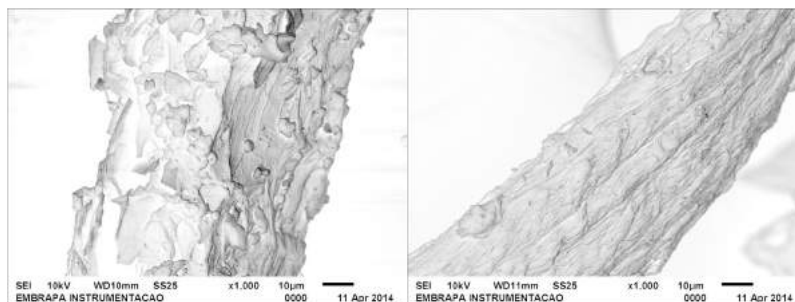
**Figura 3.** Curvas de TG/DTG das cascas de macaúba antes e após branqueamento.



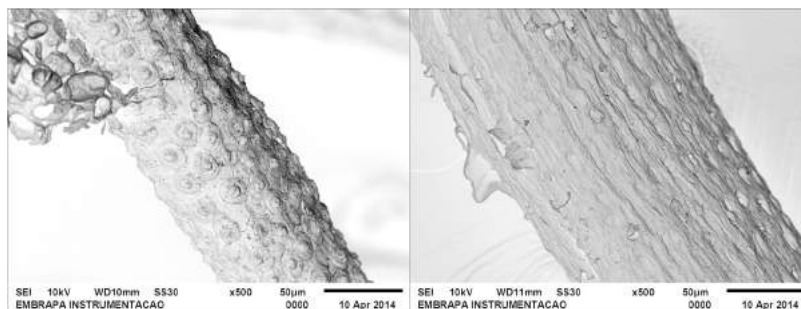
**Figura 4.** Curvas de TG/DTG do ráquis de macaúba antes e após branqueamento.

A estabilidade térmica dos materiais está relacionada com a temperatura em que os materiais começam a sofrer degradação (Lesley et al, 1993). Através das análises termogravimétricas TG foi observado que o branqueamento dos materiais promoveu um aumento da resistência da fibra, fato este observado pela menor perda de massa com o acréscimo da temperatura. Também pode-se verificar um aumento da estabilidade térmica das amostras branqueadas (~250°C) em comparação com as amostras sem tratamento (~200°C) com o aumento da temperatura. As diferenças observadas podem ser explicadas pela retirada de hemicelulose e lignina das amostras promovendo aumento da estabilidade térmica. Os picos evidenciados nas curvas DTG das amostras podem ser associados, respectivamente, à degradação em três etapas de hemicelulose, celulose e lignina. Foi observado o desaparecimento de um pico em temperaturas abaixo de 200°C para o ráquis e abaixo de 250°C relacionado a depolimerização da hemicelulose para as cascas de macaúba. Também se observa a intensificação do pico próximo de 300°C para ambas amostras branqueadas relacionado à decomposição da celulose e uma atenuação dos picos das amostras próximas de 500°C relacionado a decomposição da lignina (Carmona et al, 2012; Souza et al., 2010).

As Figuras 5 e 6 apresentam as fotomicrografias de MEV das cascas e do ráquis respectivamente.



**Figura 5.** Fotomicrografias de MEV das cascas de macaúba antes (A) e após branqueamento (B).



**Figura 6.** Fotomicrografias de MEV do ráquis de macaúba antes (A) e após branqueamento (B).

Pode se verificar que os tratamentos apresentados foram efetivos na desfibrilação das fibras das amostras e na retirada de substâncias como lignina e hemicelulose dos materiais, havendo uma diminuição das dimensões das mesmas e expondo a superfície das microfibrilas.

#### 4 CONCLUSÃO

Foram utilizadas ráquis e cascas de macaúba como matéria prima visando a obtenção de celulose por um processo de branqueamento com peróxido alcalino. O tratamento foi eficiente na remoção de hemicelulose e lignina, originando microfibrilas com diâmetro na faixa de 10µm e 50µm. Em outra etapa da pesquisa, caracterizações com a difração de raios-X poderão auxiliar na verificação dos materiais estudados como potenciais matérias primas para obtenção de nanocelulose.

#### AGRADECIMENTOS

CNPq e EMBRAPA.

#### REFERÊNCIAS

ALMEIDA, M.A.; FAVARO, S.P.; GALVANI, F. Efeito da umidade nos teores de fibras alimentares em polpa de baciauva processada mecanicamente. In: Encontro de Iniciação Científica da Embrapa Pantanal e Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, VI., 2012. Corumbá. Resumos... Corumbá: Embrapa Pantanal, 2012, p. 15. (Embrapa Pantanal. Documentos, 121). Disponível em: <<http://www.cpap.embrapa.br/publicacoes/online/DOC121.pdf>>. Acesso em: 03 out. 2013.

CARMONA, V.B.; GALVANI, F.; MARCONCINI, J.M.; MATTOSO, L.H.C. Branqueamento de folhas de gravata (*Brómelia balansae*): Obtenção e caracterização de celulose. In: WORKSHOP DA REDE DE NANOTECNOLOGIA APLICADA AO AGRONEGÓCIO, 6., 2012, Fortaleza. Anais... São Carlos: Embrapa Instrumentação; Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2012. p. 225-227.

NUNES, A.A. Óleo da polpa da macaúba (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd.) com alta qualidade: Processo de refino e Termoestabilidade. 2013, 126p. Dissertação (Mestrado em biotecnologia) – Universidade Católica Dom Bosco, UCDB, Campo Grande, 2013

PINTO, G.B.S. Subsídios à geração de proposta de desenvolvimento para a região de Joselândia (Barão de Melgaço/MT): estudo etnobotânico. 2004, 144p. Monografia (Graduação Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Paraná, UFPR, Curitiba, 2004.

SOUZA, N. F.; SOUZA FILHO, M. de S. M. de; ROSA, M. de F.; MORAIS, J. P. S.; NASCIMENTO, D. M. do; NORÕES, A. K. M. Caracterização das fibras da prensagem do mesocarpo do dendê para posterior utilização em nanomateriais. In: CONGRESSO NORTE-NORDESTE DE PESQUISA E INOVAÇÃO, 5., 2010, Maceió. Anais... Maceió: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia, 2010.

## PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOESTRUTURAS PROTEICAS FORMADAS POR $\alpha$ -LACTOALBUMINA E LISOZIMA

Adenilson Abranches Monteiro<sup>1</sup>, Jane Sélia dos Reis Coimbra<sup>1</sup>, \*Angélica Ribeiro da Costa<sup>1</sup>,  
Renata Silva Diniz<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. <sup>2</sup>Faculdade de Engenharia de Alimentos, Instituto de Tecnologia, Universidade Federal do Pará, Belém-PA.

\*costa.angelicaribeiro@gmail.com

**Classificação:** Bionanocompósitos.

### Resumo

Nanoestruturas proteicas são ideais para a encapsulação de compostos, pois apresentam propriedades de resposta ao pH e oferece sítios reversíveis para ligação e liberação de compostos. Este trabalho teve como objetivo produzir e caracterizar nanoestruturas formadas pelas proteínas  $\alpha$ -lactoalbumina e lisozima. As nanoestruturas foram produzidas em pH 3 e 11, sob as temperaturas 25 e 75 °C. A caracterização das estruturas secundárias e terciárias das nanoestruturas foi realizada por espectroscopia de dicroísmo circular e de fluorescência intrínseca, respectivamente. Além disso, o tamanho de partícula foi medido por espectroscopia de correlação de fótons. Resultados de dicroísmo circular e fluorescência comprovaram que houve interação entre as proteínas. A otimização das condições de produção das nanoestruturas pode levar à formação de partículas com diversas aplicações, como aumento da viscosidade em alimentos; formação de géis transparentes; formulação de ingredientes para encapsulação de fármacos, vitaminas e compostos bioativos.

**Palavras-chave:** Auto associação; Dicroísmo Circular; Fluorescência.

### PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF PROTEIN NANOSTRUCTURES FORMED BY $\alpha$ -LACTALBUMIN AND LYSOZYME

#### Abstract

Protein nanostructures are ideal for encapsulating compounds since they have the pH response properties and provides reversible sites for binding and release of the compounds. This study aimed to produce and characterize nanostructures formed by proteins  $\alpha$ -lactalbumin and lysozyme. The nanostructures were produced at pH 3 and 11 at 25 and 75 °C. The characterization of the secondary and tertiary structure of the nanostructures was performed by circular dichroism spectroscopy and intrinsic fluorescence, respectively. In addition, the particle size was measured by photon correlation spectroscopy. Circular dichroism and fluorescence results showed that there was interaction between the proteins. The optimization of the production conditions of nanostructures can lead to the formation of particles with various applications such as viscosity increase in food; forming transparent gels; formulating ingredients for encapsulation of drugs, vitamins and bioactive compounds.

Keywords: Self-assembly; Circular dichroism; Fluorescence.

## 1 INTRODUÇÃO

Nanopartículas proteicas podem ser utilizados como transportadores biodegradáveis eficientes. Os sistemas à base de proteínas são bastante promissores, uma vez que são biodegradáveis e não anti-gênicos, relativamente fáceis de serem preparados e sua distribuição de tamanho pode ser facilmente monitorada (RAHIMNEJAD, MOKHTARIAN e GHASEMI, 2009). Nanopartículas proteicas podem ser formadas através de auto associação molecular, que é um processo no qual as moléculas formam agregados ordenados espontaneamente, através de ligações não-covalentes (HU, YU e YAO, 2007).

Em sistemas alimentícios, a auto associação proteica é geralmente induzida por aquecimento e, ou modificação de pH. A nova estrutura formada irá definir o possível uso da proteína: substituto de gordura, estabilizador de espuma, gelificante, agente espessante, agente encapsulador, dentre outros (ERABIT, FLICK e ALVAREZ, 2014).

Este trabalho objetivou investigar o potencial de interação entre as proteínas  $\alpha$ -lactoalbumina ( $\alpha$ -la) e lisozima em diferentes condições de pH, temperatura e tempo de aquecimento. O efeito das condições de processamento na conformação das nanoestruturas foi avaliado por dicroísmo circular e espectroscopia de fluorescência, e a distribuição de tamanho foi avaliada por espectroscopia de correlação de fótons.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Preparação das nanoestruturas proteicas

Foram preparadas soluções aquosas de  $\alpha$ -La e de lisozima na concentração de  $2 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$  separadamente. Essas soluções ficaram sob agitação moderada à temperatura ambiente por 15 minutos em agitador magnético (IKA® R-10, Alemanha). Em seguida, volumes determinados de cada solução foram misturados para que atingissem a razão molar estequiométrica de 1:0,54 (lisozima: $\alpha$ -la). A mistura das soluções de proteínas foi então mantida sob agitação por 24 horas a  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  em B.O.D. (SP-500 B.O.D., SP Labor, Brasil). Posteriormente, os diferentes valores de pH foram ajustados (HI 2221, Hanna, USA) com HCl  $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  e NaOH  $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  e, então, os sistemas formados foram submetidos aos respectivos tratamentos térmicos. Após o tratamento térmico, os sistemas foram colocados em banho de gelo.

### 2.2 Distribuição de tamanho de partícula, dicróismo circular e espectroscopia de fluorescência

O tamanho médio das partículas proteicas foi avaliado por espectroscopia de correlação de fótons utilizando um Zetasizer Nano ZS (Malvern Instrument, Reino Unido). As amostras foram analisadas em cubeta retangular de poliestireno. A intensidade espalhada foi medida sob um ângulo de detecção de  $173^\circ$  em relação à fonte.

A estrutura secundária das estruturas proteicas de  $\alpha$ -la e lisozima formadas foi avaliada por dicróismo circular (DC). Espectros de DC foram obtidos com um espectropolarímetro Jasco J-810 (Jasco Corporation, Japão). Os espectros foram obtidos usando uma cubeta de quartzo de 1 mm (Hellma Analytics, Alemanha) e em uma faixa de comprimento de onda de 190-260 nm.

Com o objetivo de se avaliar mudanças conformacionais das nanoestruturas proteicas formadas, realizou-se análise de fluorimetria utilizando-se um espectrofluorímetro K2 (ISS, EUA). As amostras foram analisadas em cubeta de quartzo 10 mm (Hellma Analytics, Alemanha) e os espectros de fluorescência foram registrados na região de 290 a 450 nm, com comprimento de onda de excitação em 290 nm. Todas as análises foram realizadas a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ .

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Distribuição de tamanho de partícula

A Tabela 1 apresenta as condições de pH, temperatura e tempo de aquecimento utilizadas para formação das nanoestruturas de  $\alpha$ -la e lisozima, além dos resultados dos tamanhos de partículas.

**Tabela 1.** Distribuição do tamanho das nanoestruturas proteicas formadas

Ensaio	pH	Temperatura ( $^\circ\text{C}$ )	Tempo de aquecimento (min.)	Tamanho (nm)
1	3	25	25	$350,6 \pm 67,0$
2	3	75	25	$402 \pm 63,7$
3	11	25	25	$351,1 \pm 20,2$
4	11	75	25	$75,15 \pm 1,4$

Verificou-se que para as nanoestruturas formadas com o pH 3, o aumento de temperatura originou partículas maiores. Por outro lado, para o pH 11 o aquecimento provocou diminuição do tamanho das nanoestruturas.

Para as nanoestruturas proteicas formadas sob  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ , a diferença de pH não causou diferenças no tamanho de partículas. Porém, para a temperatura de  $75 \text{ }^\circ\text{C}$ , o aumento de pH provocou grande diminuição no tamanho. Phan-Xuan et al. (2011) também verificaram que a elevação do pH favoreceu a diminuição de tamanho de partículas de microgel de  $\beta$ -lactoglobulina.

### 3.2 Dicroísmo circular

A Figura 1 mostra os espectros de DC das proteínas  $\alpha$ -la e lisozima nativas e das nanoestruturas proteicas. Os espectros da  $\alpha$ -la e lisozima nativas são típicos de estruturas secundárias  $\alpha$ -hélice com picos negativos em aproximadamente em 222 nm e 208 nm, embora a  $\alpha$ -la tenha apresentado picos com maior intensidade.

Os espectros de DC mostram que houve interação entre as proteínas e formação de novas estruturas. As nanoestruturas formadas em pH 11 sob aquecimento de 75 °C apresentaram espectros sem picos definidos, indicando que o tratamento térmico levou à perda de estruturas secundárias regulares. Os espectros das demais nanoestruturas apresentaram os picos similares à  $\alpha$ -la e lisozima nativas, sugerindo a existência de estruturas secundárias do tipo  $\alpha$ -hélice. Porém as nanoestruturas formadas em pH 3 apresentaram picos com maior intensidade negativa que as proteínas nativas, sugerindo que novas estruturas secundárias foram formadas durante a associação das proteínas.

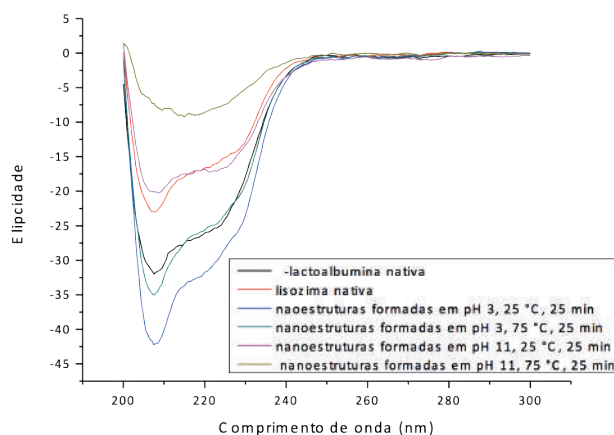


Figura 1. Espectros de DC das proteínas  $\alpha$ -la e lisozima nativas e das nanoestruturas proteicas.

### 3.3 Espectroscopia de fluorescência

A Figura 2 mostra os espectros de fluorescência das nanoestruturas proteicas. Verificou-se que as nanoestruturas formadas em pH 11, a 25 °C, por 15 minutos apresentaram espectro com maior intensidade de fluorescência, indicando que estas estruturas apresentam um ambiente mais apolar para o cromóforo triptofano. Além disso, observou-se que entre as nanoestruturas produzidas em pH 3, aquelas formadas sob temperatura de 25 °C apresentaram maior intensidade de fluorescência do que as formadas a 75 °C. Isso sugere que em pH mais ácido, a associação das proteínas em uma temperatura mais amena origina um ambiente mais apolar para o triptofano.

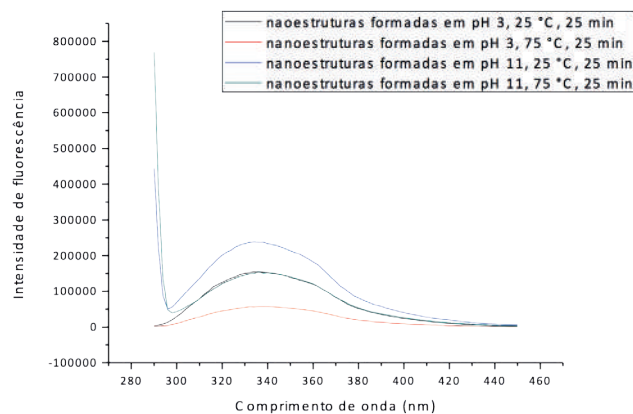


Figura 2. Espectros de fluorescência das nanoestruturas proteicas.

## 4 CONCLUSÃO

Os resultados mostraram que o tamanho das nanoestruturas proteicas pode ser monitorado através do controle de pH e da temperatura, por meio de um processo natural e não tóxico. Essas proteínas podem ser ingredientes funcionais úteis em processamento de alimentos ou para aplicações em embalagens ativas. Em pH elevado pode ser usado para evitar crescimento de fungos e em pH menor pode ser usado para evitar o crescimento de bactérias. A variação de pH, de temperatura e de tempo de aquecimento, em condições específicas, podem ser moduladas na preparação de partículas com características específicas para atender a diversas aplicações.

## AGRADECIMENTOS

Este estudo foi financiado pela CAPES, CNPq e FAPEMIG. Os autores agradecem ao Laboratório Nacional Brasileiro de Biociências (Laboratório de Espectroscopia e Calorimetria).

## REFERÊNCIAS

- ERABIT, N.; FLICK, D.; ALVAREZ, G. Formation of  $\beta$ -lactoglobulin aggregates during thermomechanical treatments under controlled shear and temperature conditions. *Journal of Food Engineering*, v. 120, p. 57–68, 2014.
- HU, J.; YU, S.; YAO, P. Stable amphoteric nanogels made of ovalbumin and ovotransferrin via self-assembly. *Langmuir*, v. 23, p. 6358-6364, 2007.
- PHAN-XUAN, T.; DURAND, D.; NICOLAI, T.; DONATO, L.; SCHMITT, C.; BOVETTO, L. On the crucial importance of the pH for the formation and self-stabilization of protein microgels and strands. *Langmuir*, v. 27, 15092–1510, 2011.
- RAHIMNEJAD, M.; MOKHTARIAN, N.; GHASEMI, M. Production of protein nanoparticles for food and drug delivery system. *African Journal of Biotechnology*, v. 8, p. 4738-4743, 2009.

---

## DETERMINAÇÃO DE GRUPOS FUNCIONAIS E SÍTIOS ÁCIDOS DO POLIHIDROXIBUTIRATO (PHB) E DE COMPÓSITOS PHB/CASCA DE CAFÉ

**\*Ana Carolina Cortez Lemos, Kelen Cristina dos Reis, Joaquim Paulo da Silva, Teodorico de Castro Ramalho**

Universidade Federal de Lavras - UFLA.  
\*carollavras@yahoo.com.br

**Classificação:** Bionanocompósitos.

### Resumo

A caracterização da superfície do PHB e de composto de PHB/casca de café por titulação simples e a determinação de sítios ativos, bem como o estudo da composição química através da análise elementar CHNS e avaliação dos grupos funcionais por espectroscopia vibracional de infravermelho foram investigados neste trabalho com o objetivo de estudar tais materiais quanto às propriedades de troca catiônica e que pode ter diversas aplicações industriais e ambientais. A presença de grupamentos ácidos, confirmada pelo teste de determinação dos sítios ácidos, combinada à presença de grupamentos amina, de caráter básico, sugeridos pelos espectros na região do infravermelho apontam uma estrutura capaz de realizar tanto protonações de íons hidrônio pelos grupamentos amina em valores de pH ácidos, gerando uma carga superficial positiva na superfície da estrutura polimérica. A presença de cascas de café como composto, que, conforme reportado em literatura, revela-se um material de natureza ácida devido, predominantemente, à presença de uma série de ácidos carboxílicos e compostos fenólicos de natureza ácida.

A concentração de nitrogênio é bem mais acentuada na amostra de compósito PHB/casca de café.

**Palavras-chave:** Biopolímero, Resíduos agrícolas, Grupos funcionais.

## DETERMINATION OF FUNCTIONAL GROUPS AND SITES OF FATTY POLYHYDROXY-BUTYRATE PHB AND PHB COMPOSITES

### Abstract

The surface characterization of composite PHB and PHB / coffee husk by simple titration and determination of active sites as well as the study of the chemical composition by CHNS elemental analysis and evaluation of the functional groups by infrared vibrational spectroscopy were investigated in this work with the aim of studying materials such as the cation exchange properties and can have many industrial and environmental applications. The presence of acidic groups, confirmed by testing for the determination of acid sites, combined with the presence of amine groups of basic character, suggested by the spectra in the infrared region indicate a structure capable of performing both proto hydronium ions for the amine groups in values acid pH, generating a positive surface charge on the surface of the polymeric structure. The presence of such composite shells of coffee, which, as reported in literature, shows a material acidic in nature, due primarily to the presence of a series of carboxylic acids and phenolic acid compounds. The nitrogen concentration is much more pronounced in the sample of composite PHB / coffee hulls.

**Keywords:** Biopolymer, agricultural wastes, functional groups.

## 1 INTRODUÇÃO

Na última década, a investigação com ênfase no uso de resíduos celulósico como material de enchimento tem crescido rapidamente. A elevada disponibilidade de fibras lignocelulósicas, somada à necessidade de uma fonte renovável para a produção de polímeros, abre uma grande oportunidade para avanços tecnológicos que agreguem valor aos produtos da agroindústria. A agroindústria gera inúmeras fontes de biomassa que não são adequadamente aproveitadas e acabam se tornando rejeitos industriais. Isso ocorre devido ao aumento da produção agrícola como reflexo do desenvolvimento do país proporcionando um acréscimo na geração destes resíduos agroindustriais. No Brasil isso ocorre devido a três culturas tradicionais: café, milho e arroz.

Resíduos agrícolas, tais como fibras de casca de coco (ROSA et al., 2010), bagaço de mandioca (PASQUINI et al., 2010), ráquis de bananeira (ZULUAGA et al., 2009), amora casca (LI et al., 2009a, b), vagens de soja (WANG e SAIN, 2007), de trigo, palha e casca de soja (ALEMDAR & SAIN, 2008a), e talos de milho (REDDY & YANG, 2005) são estudadas como um recurso na produção de fibras de celulose cristalina (JOHAR et al., 2012).

A cafeicultura dá origem a um volume elevado de resíduos, principalmente a casca de café, cuja utilização tem sido objeto de estudos (VEGRO et al., 1994). A polpa, mucilagem, pergaminho e casca são resíduos oriundos de formas distintas do beneficiamento do café após a colheita. No Brasil, a forma mais comum de processamento do café é por via seca, na qual o fruto é seco na sua forma integral, resultando em resíduos formados por casca e pergaminho, fornecendo rendimento de 50% do peso colhido. Segundo CAIELLI (1984), de forma geral, a grande maioria das pesquisas realizadas com resíduos do café utilizada como matéria prima a polpa. Desta forma, pouca atenção é dada para a casca ou pergaminho. No entanto, as composições da casca e da polpa são semelhantes.

Na busca pela sustentabilidade, várias pesquisas e trabalhos na área de materiais poliméricos e compósitos aplicados a agroindústria foram, e estão sendo, realizados para garantir a preservação ambiental e, dentre as pesquisas nesta área, as que buscam a aplicação de recursos naturais na preparação dos materiais vêm crescendo, podendo-se destacar o uso de polímeros biodegradáveis ou biopolímeros reforçados com fibras de celulose.

Dentre estes vários materiais, o PHB vem se destacando. O PHB é um termoplástico biodegradável sintetizado por fermentação submersa a partir de matérias-primas renováveis. Mas este processo de produção ainda é bastante oneroso. Como forma de reduzir o custo de produção e melhorar as propriedades mecânicas do PHB vem sendo desenvolvidas pesquisas com a incorporação de fibras naturais em matrizes deste biopolímero. O objetivo deste trabalho foi investigar as propriedades de troca catiônica de compósitos obtidos a partir de PHB e casca de café visando diversas aplicações industriais e ambientais.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Materiais

Casca de café foi previamente seca em estufa a 80 °C durante 24 h e moída (650 TecnalTE Brasil). O tamanho das partículas da casca de café (CH) utilizadas foram 80 mesh e sem qualquer tratamento posterior. PHB (Biocycle ®) foi obtido a partir de PHB Industrial S / A, Brasil. Este polímero é produzido a partir de cana de açúcar por microrganismos do *Alcaligenes* sp. espécies. O PHB apresenta densidade de 1,2 g / ml e um índice de fluidez de 10,8 g/10 min. As propriedades típicas do PHB utilizados são: resistência à tração of 36 MPa e ponto de fusão 165-170 °C.

### 2.2 A produção de compósitos

Compósitos com 20% (em massa) de casca de café (PHB + CH) foram produzidos por extrusão. As misturas foram extrudadas com um co-rotatório extrusora dupla-rosca (Imac modelo RDC 30:40 IF). Após composição, as composições foram peletizados em um granulador Jethro. O PHB puro e do compósito PHB + CH foram então processados em uma injetora Arburg Allrounder ® 270V 300-120.

### 2.3 Espectroscopia Vibracional de Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Para determinação dos grupos funcionais presentes, as amostras foram submetidas a espectroscopia vibracional na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), com faixa de varredura compreendida entre 4000 e 400  $\text{cm}^{-1}$ , através do equipamento BRUKER, série Vertex 70V.

### 2.4 CHNS e Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios X

Com o intuito de se obter informações sobre a composição química dos constituintes dos polímeros, foram utilizadas as técnicas de análise CHNS Analyser Organic Elemental, Flash da Thermo Scientific 2000 e Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios-X, utilizando-se um equipamento de modelo Quantax X Flash 5010 Bruker.

### 2.5 Determinação dos Sítios Ácidos

Para a determinação dos sítios ácidos 0,1 g de cada um dos dois materiais poliméricos foram colocados em um erlenmeyer em contato com 20 mL de solução de hidróxido de sódio 0,1 mol  $\text{L}^{-1}$ . O sistema foi agitado em uma mesa agitadora tipo “Shaker” (Nova Ética, modelo 109) pelo período de 3 horas e, submetido à titulação com ácido clorídrico HCl, 0,1 mol  $\text{L}^{-1}$ .

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos para a análise de CHNS estão evidenciados na tabela 1 abaixo:

**Tabela 1.** Teores percentuais de carbono, hidrogênio, nitrogênio e enxofre para as amostras de polímeros PHB e PHB Compósito.

Constituinte	PHB	PHB Compósito
	%	%
Carbono	55,03	53,66
Hidrogênio	6,85	6,48
Nitrogênio	1,68	2,20
Enxofre	0,00	0,00

A análise dos resultados da tabela 1 permite verificar, conforme esperado, que ambos os polímeros apresentam altos valores percentuais de carbono e hidrogênio, resultado esse típico para essa classe de material (Freeman, 1985).



Paralelo a isso, é possível observar a presença de nitrogênio para as duas amostras, sendo sua concentração bem mais acentuada na amostra de PHB compósito, o que leva à hipótese da existência de nitrogênio não somente nos monômeros como também devido à sua presença na estrutura da casca de café (Moreira et al., 2000).

Pereira et al. (1997) relatam grande diversidade de diferentes compostos e íons presentes no café.

Segundo Moreira et al. (2000), a casca de café, empregada na produção do PHB compósito, gera a presença de átomos como cloro, advindos, em grande parte dos cloroplastos da planta e também a presença de íons como ferro, potássio, sódio e silício identificados na análise. Com o objetivo de se verificar a acidez dos materiais em estudo, foram realizadas titulações e os resultados indicam maior acidez para os compósitos de PHB em relação ao PHB puro.

A fim de verificar os grupos funcionais presentes na estrutura dos materiais poliméricos para o PHB e para o PHB compósito, análises por espectroscopia vibracional na região do Infravermelho foram realizadas. A análise dos espectros permite verificar que ocorre considerável semelhança entre os dois compostos no que se refere a identidade química dos grupos funcionais presentes em suas estruturas.

No entanto, é possível inferir, pela diferença na intensidade entre os picos de absorção, que tais grupos funcionais existem em maior número no polímero PHB Compósito. Segundo Silverstein et al. (2010), a banda apresentada em ambos os espectros em torno de  $2400\text{ cm}^{-1}$  pode ser atribuída à deformação de  $\text{CO}_2$ , não sendo atribuída, diretamente à amostra.

Outra banda, observada na região de  $700\text{ cm}^{-1}$ , reitera a presença dos grupos carbônicos de hidrocarbonetos nos polímeros, uma vez que a mesma pode estar associada a deformações angulares assimétricas no plano de grupos  $\text{CH}_2$  (Silverstein et al., 2010). A ausência dessa banda com grande intensidade no primeiro espectro permite verificar que a presença de compostos carbônicos nas amostras de PHB Compósitos se dá de forma mais acentuada, podendo vir, inclusive, não somente dos grupos carbônicos do esqueleto polimérico como também de grupos celulósicos da casca de café.

Ainda segundo Silverstein et al. (2010), as bandas observadas em torno de  $3500\text{ cm}^{-1}$ , podem se relacionar aos estiramentos de grupamentos N—H, geralmente de amina. Ao se relacionar as duas últimas caracterizações descritas surge uma observação importante. A presença de grupamentos ácidos, confirmada pelo teste de determinação dos sítios ácidos, combinada à presença de grupamentos amina, de caráter básico, sugeridos pelos espectros na região do infravermelho apontam uma estrutura capaz de realizar tanto protonações pelos grupamentos amina em valores de pH ácidos, gerando uma carga superficial positiva na superfície da estrutura polimérica, quanto desprotonação em valores de pH básicos, gerando uma carga superficial negativa na estrutura polimérica. (ALKAN et al., 2008).

#### 4 CONCLUSÃO

A presença de grupamentos ácidos, confirmada pelo teste de determinação dos sítios ácidos, combinada à presença de grupamentos amina, de caráter básico, sugeridos pelos espectros na região do infravermelho apontam uma estrutura capaz de realizar tanto protonações pelos grupamentos amina em valores de pH ácidos, gerando uma carga superficial positiva na superfície da estrutura polimérica. A presença de cascas de café como compósito, que, conforme reportado em literatura, revela-se um material de natureza ácida devido, predominantemente, à presença de uma série de ácidos carboxílicos e compostos fenólicos de natureza ácida.

A concentração de nitrogênio é bem mais acentuada na amostra de compósito PHB/casca de café. Com relação a porcentagem de constituição dos elementos presentes nas amostras, percebe-se que o oxigênio é indiscutivelmente preponderante, sugerindo a presença de muitos grupos oxigenados.

#### AGRADECIMENTOS

UEPAM/UFLA, FAPEMIG, CNPq e CAPES

#### REFERÊNCIAS

Alemdar, A., Sain, M., 2008. Isolation And characterization of nanofibers from agricultural residues—Wheat straw and soy hulls. *Bioresour. Technol.* 99, 1664–1671

ALKAN, M.; DOGAN, M.; TURHAN, Y.; DEMIRBAS, O.; TURAN, P. Adsorption kinetics and mechanism of maxilon blue 5G dye on sepiolite from aqueous solutions. *Chemical Engineering Journal*, v. 139, p. 213–223, 2008.

CAIELLI, E.L. Uso da casca de palha de café na alimentação de ruminantes. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, MG, v. 10, n. 119, p. 36-38, nov. 1984.

FREEMAN, W. J. , Characterization of polymers. Encyclopedia of Polymer Science and Engineering. vol. 3. John Wiley & Sons, Nova York, 1985.

JOHAR, N.; AHMAD, I.; DUFRESNE, A. Extraction, preparation and characterization of cellulose fibres and nanocrystals from rice husk. Industrial Crops and Products, v. 37, p. 93–99, 2012

LI, K. et al. Analysis of the chemical composition and morphological structure of Banana pseudostem. Bioresources, Oxford, v. 5, n. 2, p. 576-585, Feb. 2009

MOREIRA, R. F. A.; TRUGO, L. C.; DE MARIA, C. A. B. Componentes voláteis do café torrado. Parte II. Compostos alifáticos, alicíclicos e aromáticos. Química Nova, 23, 2000.

PEREIRA, R. G. F. A., VILELA, E. R.; Efeito da inclusão de grãos defeituosos na composição química e qualidade do café ( Coffea arábica L.) “estritamente mole”. Universidade Federal de Lavras, Departamento de Ciência dos Alimentos, 1997.

PASQUINI, D., TEIXEIRA, E. M., CURVELO, A. A. S., et al., 2010, “Extraction of cellulose whiskers from cassava bagasse and their applications as reinforcing agent in natural rubber”, Industrial Crops and Products, v. 32, pp. 486-490.

ROSA, M. F.; MEDEIROS, E. S.; MALMONGE, J. A.; GREGORSKI, K. S.; WOOD, D. F.; MATTO-SO, L. H.C.; GLENN, G.; ORTS, W. J.; IMAM, S. H. Cellulose nanowhiskers from coconut husk fibers: Effect of preparation conditions on their thermal and morphological behavior. Carbohydrate Polymers, 2010, doi:10.1016/j.carbpol.2010.01 - 059

REDDY, N., YANG, Y. Biofibers from agricultural byproducts for industrial applications. Trends in Biotechnology, v. 23, n. 1, p. 22-27, 2005.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos. 7ª Edição, LTC, Rio de Janeiro, 2010.

VEGRO, C.L.R; CARVALHO, F.C. Disponibilidade e utilização de resíduos no processamento agro-industrial do café. Informações Econômicas, São Paulo, v.24, n.1, p.9-16, jan.1994.

Wang, B., Sain, M., 2007. Isolation of Nanofibers from soybean Source and their reinforcing capability on synthetic polymers. Compos. Sci. Technol. 67, 2521–2527

ZULUAGA, R.; PUTAUX, J.L.; CRUZ, J.; VÉLEZ, J.; MONDRAGON, I.; GAÑÁN, P. Cellulose microfibrils from banana rachis: Effect of alkaline treatments on structural and morphological features. Carbohydrate Polymers, v. 76, p. 51–59, 2009

---

## **EFEITOS ESTRUTURAIS, DE CONFORMAÇÃO E ORIENTACIONAIS NA INTERAÇÃO DE QUITOSANA E MODELOS DE MEMBRANA CELULAR**

**\*A. Pavinatto<sup>1</sup>, A. L. Souza<sup>2</sup>, J.A.M. Delezuk<sup>2</sup>, F. J. Pavinatto<sup>2</sup>, S. P. Campana-Filho<sup>1</sup>, O. N. Oliveira Jr.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Universidade de São Paulo, Instituto de Química de São Carlos, SP. <sup>2</sup> Universidade de São Paulo, Instituto de Física de São Carlos, SP.

\*adrianapavinatto@yahoo.com.br

**Classificação:** Bionanocompósitos.

### Resumo

Quitosana é um polissacarídeo natural largamente utilizado em aplicações biológicas, farmacêuticas e tecnológicas. Em aplicações internas ao corpo humano ou como agente bactericida, certamente interage com membranas celulares, sendo a sua forma de ação ainda pouco conhecida. Nesse contexto, grandes esforços vêm sendo feitos para elucidar a sua forma de ação frente a modelos de membrana celular mimetizados por filmes de Langmuir de fosfolípidios. Diferentes amostras de quitosana e derivados foram utilizadas visando detalhar os efeitos da massa molecular, ligações hidrogênio, interações hidrofóbicas e eletrostáticas, na interação. Ainda, estudos de conformação e orientação do polímero quando interage com as monocamadas lipídicas foram realizados. Os filmes de Langmuir foram caracterizados principalmente por isotermas de pressão de superfície, além das espectroscopias de reflexão-absorção na região do infravermelho com modulação da polarização (PM-IRRAS) e de geração de soma de frequência (SFG). Os resultados mostram que as principais forças intermoleculares existentes na interação são eletrostáticas e hidrofóbicas e que ligações hidrogênio não são essenciais. Além disso, quitosanas com baixas massas moleculares demonstraram maior efeito, sugerindo que a conformação e orientação das cadeias poliméricas da quitosana, adotadas quando interagem com as monocamadas lipídicas, influenciam sua ação.

**Palavras-chave:** Quitosana; Filmes de Langmuir; Fosfolípidios; Interação.

### STRUCTURAL, CONFORMATIONAL AND ORIENTATIONAL EFFECTS ON THE CHITOSAN INTERACTION WITH CELL MEMBRANE MODELS

#### Abstract

Chitosan is a natural polysaccharide widely used in biological, pharmaceutical and technological applications. In applications internal to the human body or as bactericidal certainly interacts with cell membranes, and its mode of action is still unknown. In this context, great efforts have been made to elucidate its mode of action against cell membrane models mimicking by phospholipid Langmuir films. Different samples of chitosan and derivatives were used aiming detailing the effects of molecular weight, hydrogen bonding, hydrophobic and electrostatic interactions in the interaction. Also, studies of the conformation and orientation of the polymer when it interacts with the lipid monolayers were performed. The Langmuir isotherms were characterized primarily by the surface pressure isotherms in addition to the polarization-modulated infrared reflection absorption (PM-IRRAS) and sum-frequency generation (SFG). The results show that the main intermolecular forces existing in the interaction are the electrostatic and hydrophobic and hydrogen bonds are not essential. Additionally, chitosans with low molecular weight showed a greater effect, suggesting that the conformation and orientation of the polymer chains of chitosan adopted when interacting with lipid monolayers influence its action.

**Keywords:** Chitosan; Langmuir films; Phospholipids; Interaction.

#### Publicações relacionadas:

<sup>1</sup>PAVINATTO, A. *et. al.* Electrostatic interactions are not sufficient to account for chitosan bioactivity. *ACS Applied Materials & Interfaces*, v. 2, n. 1, p. 246-251, 2010.

<sup>2</sup>PAVINATTO, A. *et. al.* Low molecular-weight chitosans are stronger biomembrane model perturbants. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 104, p. 48-53, 2013.

<sup>3</sup>PAVINATTO, A. *et. al.* Interaction of O-acylated chitosans with biomembrane models: Probing the effects from hydrophobic interactions and hydrogen bonding. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 114, p. 53-59, 2014.

## 1 INTRODUÇÃO

Quitosana é um biopolímero com aplicações em diversas áreas, sendo destacada sua ação como agente antimicrobiano, o uso na entrega controlada de drogas, na transfecção, na redução no colesterol e peso, e na engenharia de tecidos (ROBERTS, George, 1992). Em aplicações internas ao corpo humano, ou como agente bactericida, a quitosana certamente interage com membranas celulares, e, é suposto, sua ação frente às membranas pode governar a atividade. O mecanismo de interação da quitosana com as membranas celulares, entretanto, não é completamente conhecido. Nesse contexto, estudos em nível molecular com

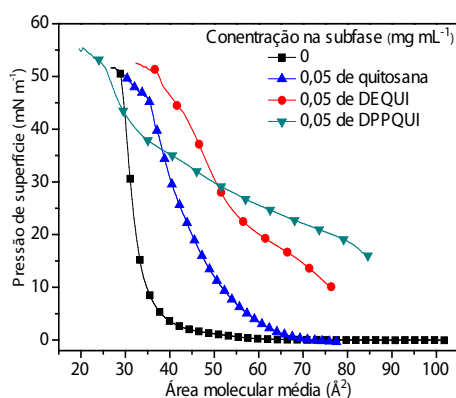
quitosana em membranas celulares são importantes para detalhar seu mecanismo de ação e, conseqüentemente, aplicações. Devido à grande dificuldade de realizar experimentos *in vivo* com membranas celulares, recorre-se a modelos. Embora o uso desses modelos seja de grande ajuda no entendimento da ação de quitosanas em nível molecular, poucos trabalhos são encontrados na literatura nesse sentido. Nos últimos anos, grandes esforços foram feitos no Grupo de Polímeros Bernhard Gross/IFSC-USP na investigação da ação/interação de quitosana com modelos de membrana (PAVINATTO, Felipe J. *et al.*, 2007, CASELI, Luciano *et al.*, 2008). Modelos de membrana celular simplificados foram mimetizados através da confecção de filmes de Langmuir e Langmuir-Blodgett (LB) de fosfolipídios ou um pouco mais complexos com a inserção de outros componentes da membrana celular, como colesterol e proteínas. Neste trabalho, em particular, é apresentado detalhes na interação entre quitosana com filmes de Langmuir de fosfolipídios, sendo que, os objetivos principais foram investigar a influência das forças intermoleculares atuantes na interação, bem como a orientação e conformação do polímero quando adsorve nas monocamadas fosfolipídicas.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Os fosfolipídios utilizados na formação dos filmes de Langmuir (modelos de membrana) foram dipalmitoil fosfatidil colina (DPPC), dipalmitoil fosfatidil glicerol (DPPG) ou ácido dimiristoil fosfatídico (DMPA), obtidos comercialmente (Sigma Chemical Co) e usados sem purificação adicional. Os filmes foram produzidos em cuba de Langmuir mini KSV (KSV Instruments) em sala limpa classe 10.000 a  $20 \pm 1^\circ\text{C}$ . A cuba mini KSV é equipada com sensor de pressão de superfície (Wilhelmy). Um volume de 30  $\mu\text{L}$  de solução  $0,80 \text{ mg mL}^{-1}$  de fosfolipídios (DPPC, DPPG ou DMPA) em clorofórmio, grau espectroscópico (pureza  $\geq 99,9\%$ ), foi espalhado em subfase tampão Theorell-Stenhagen, pH 3,0, e as monocamadas comprimidas sob velocidade constante de  $10 \text{ mm min}^{-1}$ . Soluções de quitosana e derivados foram utilizadas como subfase, em concentrações variando de  $0,0025$  a  $0,30 \text{ mg mL}^{-1}$ . Quitosanas com alta e baixa massa molecular, além das unidades repetitivas de quitosana, a saber, N-acetilglucosamina (GlcNAc) e glucosamina (GlcN) adquiridas da Sigma/Aldrich foram utilizadas para análise dos efeitos da massa molecular. Análises de PM-IRRAS e SFG foram feitas apenas para a concentração de  $0,2 \text{ mg mL}^{-1}$ , sob monocamadas de DPPG.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

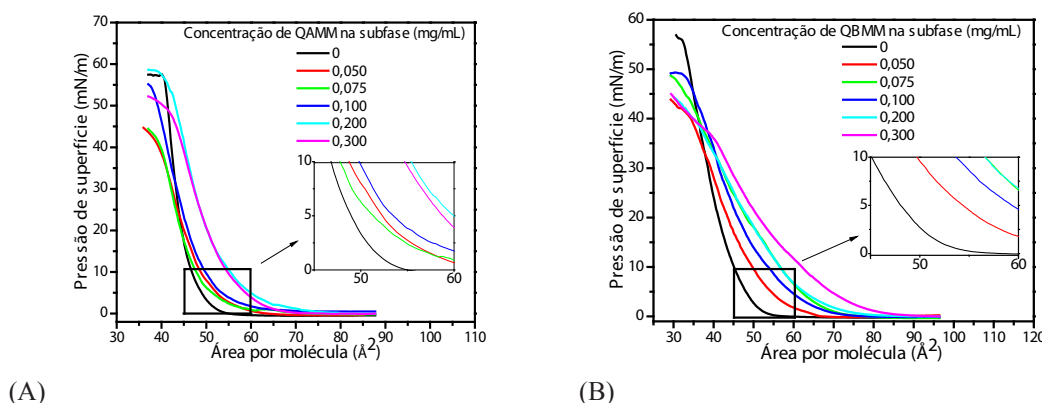
Os resultados foram analisados através da comparação dos efeitos nas isotermas de pressão de superfície para diferentes amostras de quitosana/derivados. Os efeitos em monocamadas de DPPC, DPPG e DMPA são de expansão, sendo o aumento da expansão proporcional ao aumento da concentração de quitosana ou derivado na subfase. Interações eletrostáticas entre o grupamento amino protonado da quitosana (solução pH 3,0) e o grupamento fosfato, negativamente carregado de DMPA, são evidentes. Porém, experimentos em condições idênticas aos com quitosana, utilizando o polieletrólito cloridrato de polialilamina (PAH) que possui o mesmo grupamento amino passível de protonação, demonstrou pouco efeito frente aos modelos de membrana, em discordância ao observado para quitosana. Tal comportamento sugere que interações eletrostáticas não são as únicas forças existentes na interação. A importância das forças hidrofóbicas e não relevância das ligações hidrogênio foi comprovada através da comparação dos efeitos causado por quitosana e dois derivados *O'*, *O* - acilados de quitosana, como mostrado na Figura 1.



**Figura 1.** Isotermas de pressão de superfície para DMPA puro em subfase tampão TS (pH 3,0) contendo quitosana, O',O'- dietil-quitosana (DEQUI) e O',O'- dipropionil-quitosana (DPPQUI) na concentração de  $0,05 \text{ mg mL}^{-1}$ .

A maior expansão das monocamadas de DMPA provocada por DPPQUI e DEQUI (mais hidrofóbicos), demonstra a predominância das interações hidrofóbicas. Tal comportamento foi corroborado por espectros PM-IRRAS na região de vibração C-H. Ainda, foi mostrado através das isotermas, que as contribuições das ligações hidrogênio dos grupos hidroxila são de menor importância, uma vez que os grupos hidroxilas da quitosana estão blindados pelos grupos etanoil e propanoil, inseridos via reação de *O*-acilação.

Os maiores efeitos, sob monocamadas de DMPA, foram causados por quitosana de baixa massa molecular (QBMM –  $M_w = 88.000$  g/mol), do que de alta massa molecular (QAMM –  $M_w = 723.000$  g/mol), como mostrado na Figura 2. Efeitos mínimos foram provocados pelas unidades repetitivas de quitosana sob as monocamadas de DMPA. Tal comportamento é devido, provavelmente, a maior acessibilidade das cadeias menores as monocamadas lipídicas e da conformação que estas dotam em solução e quando adsorvem na monocamada.



**Figura 2.** Isotermas de pressão de superfície para DMPA puro em subfase tampão TS (pH 3,0) contendo quitosana com alta (A) e baixa (B) massa molecular.

Experimentos de SFG e PM-IRRAS indicam que QBMM provoca maior desordenamento das cadeias alifáticas de DPPG do que QAMM, além de causar reorientação de grupos químicos.

#### 4 CONCLUSÃO

Através do resultados foi mostrado que as forças intermoleculares existentes entre quitosana e modelos de membrana celular são primordialmente eletrostáticas e hidrofóbicas, sendo que, ligações hidrogênio providas das hidroxilas não são essenciais na interação. Quitosana com baixa massa molecular afeta mais fortemente os modelos de membrana celular e devem ser mais eficazes em aplicações onde o contato com membranas celulares reais exista.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Capes, CNPq e a FAPESP – processo: 2010/07178-1, pelo apoio financeiro.

#### REFERÊNCIAS

CASELI, L.; PAVINATTO, F. J.; NOBRE, T. M.; ZANIQUELLI, M. E. D.; VIITALA, T.; OLIVEIRA JUNIOR, O. N. Chitosan as a removing agent of beta-lactoglobulin from membrane models. *Langmuir*, v. 24, n. 8, p. 4150-4156, 2008.

PAVINATTO, F. J.; PAVINATTO, A.; CASELI, L.; SANTOS JUNIOR, D. S.; NOBRE, T. M.; ZANIQUELLI, M. E. D.; OLIVEIRA JUNIOR, O. N. Interaction of chitosan with cell membrane models at the air-water interface. *Biomacromolecules*, v. 8, n. 5, p. 1633-1640, 2007.

ROBERTS, G. A. F. *Chitin chemistry*. London: McMillan, 1992. 350 p.

## **Capítulo 4**

# **NOVOS MATERIAIS E PROCESSOS EM NANOTECNOLOGIA E SUAS APLICAÇÕES NO AGRONEGÓCIO**



## DOPAGEM DE ZNO COM N (ZnO:N) E APLICAÇÃO EM PROCESSOS FOTOCATALÍTICOS

Ivan Mouritys Pereira Silva<sup>1</sup>, \*Gabriela Byzynski Soares<sup>2</sup>, Caue Ribeiro de Oliveira<sup>3</sup>, Elson Longo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade de São Paulo, São Carlos, SP. <sup>2</sup>Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP.

<sup>3</sup>Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP.

\*gabi.byzynski@gmail.com

**Classificação:** Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio.

### Resumo

O presente trabalho teve como objetivo sintetizar nanopartículas de ZnO e ZnO:N através do método dos precursores poliméricos utilizando ureia como fonte de nitrogênio, além de caracterizar os nanocompósitos e avaliar a sua atividade fotocatalítica nas regiões do UVC e visível. Os resultados de DRX das amostras juntamente com o deslocamento do comprimento de onda de absorção máxima observado na DRS é um indicativo de que o nitrogênio foi incorporado na rede cristalina do ZnO. Notou-se que a energia de *band-gap* não alterou significativamente entre as amostras, exceto pelas amostras AM2 e AM7. Na análise da atividade fotocatalítica, as amostras AM7 e AM8 foram as que apresentaram as maiores constantes de degradação do corante no UVC, mostrando também boa degradação no visível, tendo assim maior potencial de aplicação em pesquisas de campo e aplicações sob luz solar.

**Palavras-chave:** ZnO; ZnO:N; Fotocatálise.

### DOPING OF ZnO WITH N AND PHOTOCATALYTIC APPLICATIONS

#### Abstract

The main goal of this paper is the synthesis of ZnO and ZnO:N by polymeric precursors method using urea as N source, in addition the nanoparticles characterization and its photocatalytic activity in UV and visible region has been done. DRX results with the change in maximum wavelength absorption observed by DRS of the nanoparticles are indicative that N was incorporated in ZnO lattice. It was observed that band gap energy do not suffer any significant modification for almost all samples, except for AM 2 and AM7. In photocatalytic activity evaluation, samples AM7 and AM8 presented higher degradation rate of dye in UVC radiation and also present visible degradation rate higher than the other sample, showing better fieldwork and solar irradiation applicability.

**Keywords:** ZnO; ZnO:N, Photocatalysis.

**Publicações relacionadas:** VI Jornada Científica Embrapa Instrumentação 2014.

## 1 INTRODUÇÃO

ZnO é um importante óxido semicondutor do tipo n com um bandgap de 3.37 eV e uma energia de excitação de ligação de 60 meV, sendo essas características importantes para permitir-lhe emissão na região ultravioleta. Assim, torna-se um material promissor na fabricação de dispositivos fotoeletrônicos operando na região entre o azul e o ultravioleta [1]), além de materiais para conservação de energia, painéis fotoelétricos e eletrodos para células solares [2].

Para aumentar a atividade fotocatalítica e expandir o comprimento de onda de excitação do semicondutor, o processo de dopagem é utilizado. Dopantes não metálicos, como N, C, S podem ser utilizados com resultados apreciáveis. Assim, o objetivo desse trabalho é o desenvolvimento de um método simples, rápido e fácil de síntese de ZnO:N. A caracterização das nanopartículas resultantes também foi realizada por difração de raio-X, determinação da área superficial por BET e espectroscopia de reflectância difusa UV-vis. Os resultados obtidos ajudaram a compreensão do processo de dopagem na atividade fotocatalítica do ZnO:N, a qual foi realizada sob irradiação UV e visível.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Síntese das nanopartículas de ZnO e dopagem do material com nitrogênio

As amostras foram sintetizadas pelo método dos precursores poliméricos. A resina de ZnO foi obtida pela dissolução de nitrato de zinco hexahidratado numa solução aquosa de ácido cítrico monohi-



tratado numa razão molar de 1 : 1. Adicionou-se aproximadamente 2 g da resina num cadinho, levando-o para calcinar a 650 °C por 4 horas. Para o procedimento de dopagem do material, dissolveu-se ureia em diversas proporções em 20 mL da resina de ZnO antes de calcinar as amostras. Ao total, a concentração de N variou produzindo oito amostras diferentes, denominadas de acordo com o seu conteúdo de N: 0,0% de N = AM1; 0,1% de N = AM2; 0,5% de N = AM3; 1,0% de N = AM4; 2,0% de N = AM5; 3,0% de N = AM6; 4,0% de N = AM7 e 5,0% de N = AM8. Após a adição de ureia, realizou-se o tratamento térmico a 650 °C por 4 horas.

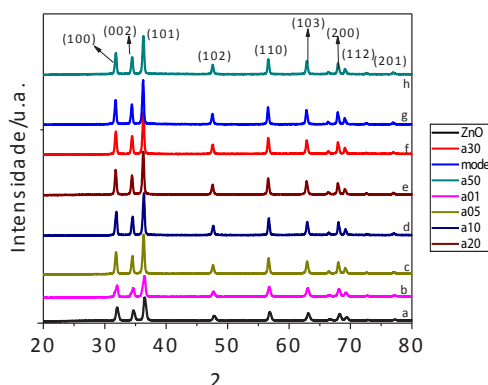
A caracterização das nanopartículas dopadas e não dopada sintetizadas foi feita em diversas análises. Para avaliar a estrutura cristalina e tamanho do cristalito foi utilizado dispersão de raios X (DRX). Os difratogramas foram obtidos com ânodo de Cu ( $\lambda_{\text{Cu-K}\alpha}$ , = 0.154 nm), no intervalo de  $2\theta = 25\text{--}75^\circ$  a  $2^\circ \text{min}^{-1}$ . Para determinar a composição química das amostras, morfologia da superfície e também para examinar a concentração do dopante foi efetuada análises de EDX integrado com MEV. A área superficial das nanopartículas sintetizadas foi medida através da adsorção de nitrogênio pela equação de Brunauer-Emmett-Teller (BET). Com intuito de determinar a energia de band-gap para as amostras, foram executadas medidas de refletância difusa no UV-Vis. A energia de band-gap foi calculada através da equação de Tauc.

A fotodegradação da Rodamina B foi analisada sob influência de radiação UVC e visível. Foi adicionado 1 mg de cada amostra em béqueres contendo 20 mL de uma solução aquosa de 2,6 mg L<sup>-1</sup> de Rodamina. Conduziu-se então a fotodegradação num reator a 18 °C, iluminado por seis lâmpadas emissoras de radiação UVC e submetendo as amostras a agitação magnética constante. A análise sob irradiação visível foi realizada separadamente, utilizando-se seis lâmpadas fluorescentes emissoras de radiação visível. A reação foi monitorada através de espectroscopia UV-Vis em diferentes tempos de exposição.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Difração de Raio-X (DRX)

Os difratogramas das nanopartículas de ZnO e ZnO:N são mostrados na Figura 1. Todas as nanopartículas apresentam a estrutura cristalina hexagonal característica do ZnO (wurtzita), exibindo alta cristalinidade. A incorporação de nitrogênio na estrutura cristalina do ZnO, aparentemente, não causa mudanças na estrutura básica do ZnO. Nota-se também que conforme ocorre o aumento do nível de dopagem, há um pequeno deslocamento no pico referente ao plano (101). Estas mudanças são caracterizadas da substituição do nitrogênio pelo por O<sup>2-</sup> e mudanças no grau de formação do material, respectivamente. O tamanho do cristalito (d) foi calculado através da equação de Scherrer, em três picos dos difratogramas de raio-X para cada amostra e os resultados são mostrados na Tabela 1. Um aumento de d é evidente com o aumento da porcentagem de dopagem de N, indicando uma expansão na rede cristalina. A área superficial das nanopartículas não apresentam correlação linear com a dopagem, sendo relativamente baixa para todas as amostras.



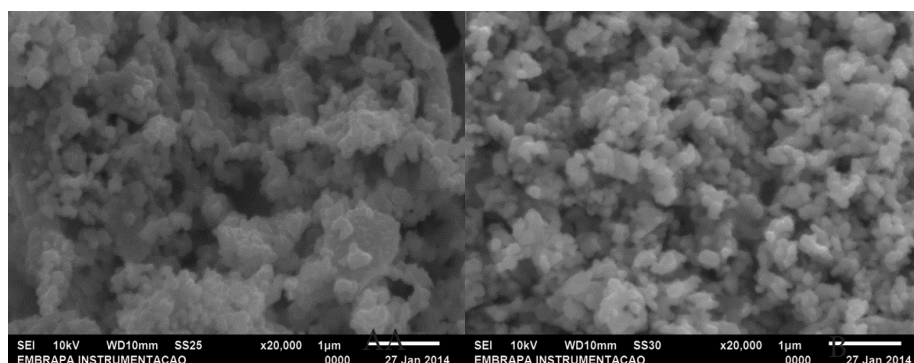
**Figura 1.** Difratogramas de raio-X das amostras de ZnO e ZnO:N. a) AM1, b) AM2, c) AM3, d) AM4, e) AM5, f) AM6, g) AM7, h) AM8.

**Tabela 1.** Tamanho do cristalito para as amostras de ZnO dopadas e não dopada

Amostras	2 $\theta$ (100)	d (nm)	Área superficial (m <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	Band Gap Energy (eV)
AM1	32,02	24	0,0013	3,21
AM2	32,02	24	0,3068	3,19
AM3	31,84	42	0,2734	3,34
AM4	31,89	40	0,1164	3,23
AM5	31,79	46	0,1828	3,23
AM6	31,80	46	2,5825	3,23
AM7	31,77	50	0,7343	3,20
AM8	31,82	45	3,5179	3,23

### 3.2 Microscopia Eletrônica de Varreduta (MEV)

Para caracterizar a morfologia da superfície das partículas sintetizadas foram feitas análises de MEV das amostras, assim como representado na Figura 2. As imagens são correspondentes ao ZnO não dopado (AM1) e ao ZnO:N dopado com 5% de nitrogênio (AM8). As imagens para as outras amostras não estão representadas, pois elas possuem características similares ao que está descrito pelas amostras AM1 e AM8. As imagens da MEV confirmam a característica de aglomerados com a formação de partículas grandes nas amostras, contribuindo assim para a diminuição dos valores de área superficial (Tabela 1).

**Figura 2.** Imagens da MEV. A corresponde a AM1 e B corresponde a AM8.

### 3.3 Espectroscopia de Reflectância Difusa no UV-Vis

A Figura 3A apresenta os espectros de reflectância difusa no UV-Vis para as amostras de ZnO e ZnO:N. Pode-se notar que a única amostra que possui um comportamento diferente das demais é a AM7. Conforme o nível de dopagem aumenta, há um deslocamento para valores maiores de comprimento de onda de absorção máxima atingindo assim a região do visível. Esse deslocamento do comprimento de onda de absorção máxima está relacionado com a incorporação do nitrogênio na rede cristalina do ZnO. O valor de *band-gap* para as amostras foram calculados a partir do modelo de *Tauc* assim como mostra a Figura 3B. Como apresentado na Tabela 1, pode-se notar que os valores de *band-gap* não alteram significativamente entre as amostras, exceto pela AM2 e AM7, pois variações de 0,01 eV podem estar associadas com erros experimentais.

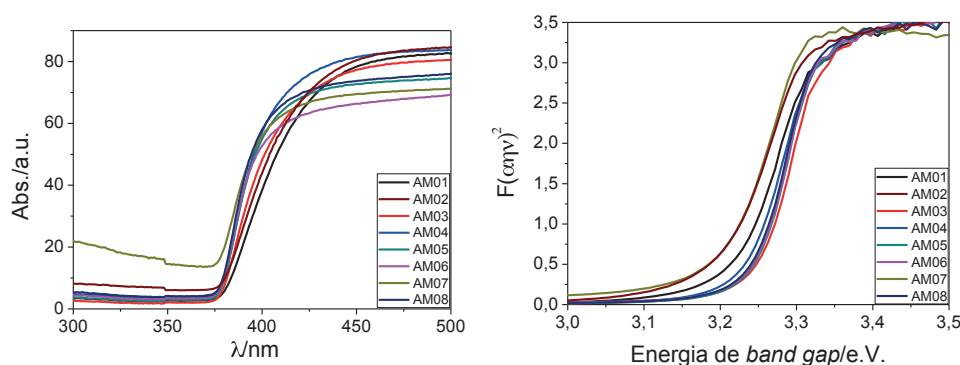


Figura 3. A) Espectros de reflectância difusa no UV-Vis. para as amostras de ZnO e ZnO:N sintetizadas. B) Modelo de Tauc.

### 3.4 Atividade fotocatalítica na região do UVC e Visível

Na avaliação da atividade fotocatalítica das nanopartículas, sob irradiação UVC assim como mostra a Figura 4A, foi observado que, de maneira geral, todas as amostras apresentam atividade fotocatalítica elevada, até mesmo para as amostras dopadas, sendo que as amostras mais ativas, na região do UVC, são as amostras AM7 e AM8, degradando mais do que 70% da concentração inicial após 120 minutos. Sob irradiação visível, a atividade fotocatalítica das amostras é menor quando comparada com a radiação UVC, apesar das amostras dopadas apresentarem uma atividade maior do que a amostra não dopada ZnO. A cinética de degradação do corante foi avaliada como sendo de primeira ordem em relação a concentração do corante.

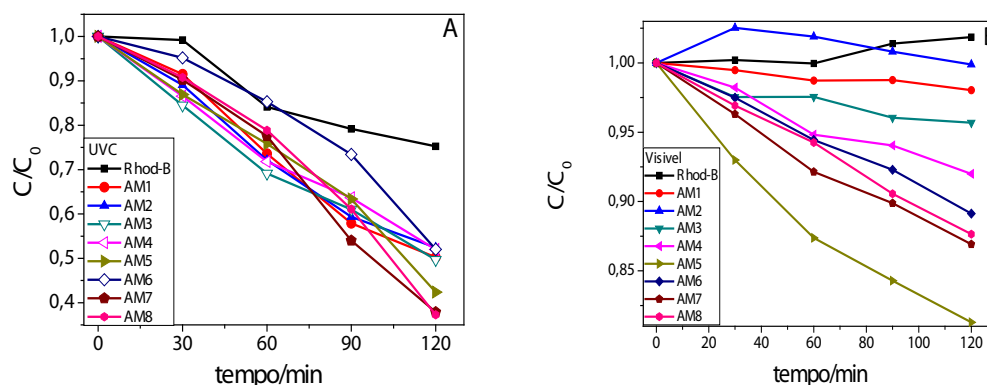


Figura 4. Perfil de fotodegradação da Rod-B Rod-B com as nanopartículas em diferentes tipos de radiação. A) UVC e B) Visível.

## 4 CONCLUSÃO

Pode-se concluir que o método desenvolvido é adequado para a síntese de nanopartículas de ZnO dopadas com N. Os resultados dos valores de band-gap avaliam a influência da incorporação do N na rede cristalina do ZnO, diminuindo em uma proporção adequada de N, a energia de ativação para a excitação eletrônica do ZnO e conseqüente atividade fotocatalítica na região do visível. A dopagem de N não inibiu a atividade fotocatalítica na região do UV, porém pode ter expandido a rede cristalina do ZnO.

## AGRADECIMENTOS

CNPq (Processo 500589/2013-5), Capes, Finep e Embrapa Instrumentação.

## REFERÊNCIAS

- [1] PRAKASH, T.; JAYAPRAKASH, R.; ESPRO, C.; NERI, G.; KUMAR, E.R. Effect of Sn doping on microstructural and optical properties of ZnO nanoparticles synthesized by microwave irradiation method. *J. Mater. Sci.*, 49, 1776-1784, 2014.
- [2] LI, C.; LI, J.; LI, S.S.; XIA, J.B.; WEI, S.H. Selection rule of preferred doping site for n-type oxides. *Applied Physics Letters*, 100, 262109, 2012: doi: 10.1063/1.4731766.

---

## ELETRODOS DE $\text{SrTiO}_3$ ATRAVÉS DE MÉTODO MODIFICADO DE PRECURSORES POLIMÉRICOS

\*Marina Raschetti<sup>1</sup>, Gabriela Byzinski Soares<sup>2</sup>, Caue Ribeiro de Oliveira<sup>3</sup>, Elson Longo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Engenharia de Materiais, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP. <sup>2</sup> Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP. <sup>3</sup> Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP.  
\*marina.raschetti@gmail.com

**Classificação:** Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio.

### Resumo

As propriedades ópticas e a estabilidade físico-química da perovskita  $\text{SrTiO}_3$  a tornam um semicondutor particularmente interessante nas aplicações de fotocatalise, tal como células solares ou degradação fotocatalítica de produtos orgânicos. Nesse trabalho foram sintetizadas nanopartículas de titanato de estrôncio,  $\text{SrTiO}_3$ , a partir da modificação do método de precursores poliméricos, assim como eletrodos de filmes finos de  $\text{SrTiO}_3$  por *spin-coating*. Análises de difração de raios-X e espectroscopia de refletância difusa nas nanopartículas confirmaram a estrutura cristalina do  $\text{SrTiO}_3$  e foi obtido o valor de *band-gap* de 3,28 eV. Imagens em microscopia eletrônica de varredura demonstraram uma boa afinidade dos filmes com o substrato e possibilitou a obtenção da espessura dos filmes depositados. Os parâmetros de deposição foram otimizados por medidas eletroanalíticas, as quais demonstraram também o processo eletroquímico quase-reversível dos eletrodos em solução de  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ .

**Palavras-chave:** Semicondutor,  $\text{SrTiO}_3$ , Eletroanalítica, Fotocatálise.

### $\text{SrTiO}_3$ ELECTRODES FROM A NEW METHOD OF POLYMERIC PRECURSORS

#### Abstract

The optical properties and physicochemical stability of  $\text{SrTiO}_3$  perovskite allow this semiconductor particularly interesting in photocatalysis applications, such as solar cells and photocatalytic degradation of organic components. In this work,  $\text{SrTiO}_3$  nanoparticles were synthesized, from a modified method of polymeric precursors, and  $\text{SrTiO}_3$  thin film electrodes were elaborated by spin-coating. X-ray diffraction and diffuse reflectance spectroscopy of the nanoparticles confirmed the  $\text{SrTiO}_3$  lattice and a band-gap value of 3.28 eV was obtained. Scanning electron microscopy showed a good affinity between the thin films and their substrate, and the thin film thickness was obtained. The deposition parameters were optimized by electroanalytical measurements, which showed further the quasi-reversible electrochemical behaviour of  $\text{SrTiO}_3$  electrodes in a  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  solution.

**Keywords:** Semiconductor;  $\text{SrTiO}_3$ ; Electroanalysis, Photocatalysis.

**Publicações relacionadas:** VI Jornada Científicas 2014 Embrapa Instrumentação.

## 1 INTRODUÇÃO

O princípio da fotocatalise reside na transferência eletrônica provocada por absorção de um fóton de energia maior ou semelhante ao valor de *band-gap* do semicondutor, resultando em produção de radicais hidroxilas e superóxidos, os quais serão responsáveis pela catálise da reação. Para aumentar a atividade fotocatalítica e expandir o comprimento de onda de excitação do semicondutor, o processo de dopagem é utilizado. Assim, dopantes não metálicos, como N, C, S podem ser utilizados com resultados

apreciáveis. O  $\text{SrTiO}_3$  é um dos óxidos mais estudados entre os óxidos perovskita ( $\text{ABO}_3$ ) devido as suas propriedades físicas e químicas, como sua excelente estabilidade térmica, resistência a fotocorrosão e boa estabilidade estrutural para processos de dopagem [1]. Do ponto de vista eletrônico, o titanato de estrôncio estequiométrico é considerado um isolante com uma energia de *band-gap* de 3,23 eV ( $T=0$  K) [2].

Análises eletroquímicas, como voltametrias cíclicas e espectroscopia de impedância, são muito úteis para o estudo e entendimento do comportamento dos semicondutores, com e sem iluminação. Além dessas técnicas possibilitarem o melhor entendimento do comportamento desses materiais, também é possível determinar a velocidade de transferência eletrônica, com auxílio de alguns modelos teóricos. Para a realização de estudos eletroquímicos é necessário a imobilização das nanopartículas de semicondutores em eletrodos de filmes finos ou eletrodos sólidos. No primeiro caso, a deposição do filme em um substrato (ITO) é uma etapa crucial para obtenção dos resultados. Assim, o objetivo central deste trabalho consiste na avaliação do impacto da dopagem de  $\text{SrTiO}_3$  no comportamento eletroquímico de eletrodos constituídos de filmes finos. As nanopartículas  $\text{SrTiO}_3$  foram sintetizadas por um método modificado baseado nos precursores poliméricos, sendo utilizado um polímero de baixa massa molecular como agente polimerizante ao invés de etilenoglicol, facilitando a deposição dos filmes. Foram realizadas análises de difração de raio-X e espectroscopia de reflectância difusa nas nanopartículas, para confirmar a síntese de  $\text{SrTiO}_3$ . A microscopia eletrônica de varredura foi utilizada para avaliar a espessura e homogeneidade dos filmes finos. A quantidade de camadas depositadas assim como a área dos filmes finos depositados foram avaliadas por voltametria cíclica. A reversibilidade da reação redox e o coeficiente difusional da reação redox também foram determinados para os filmes de  $\text{SrTiO}_3$ .

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

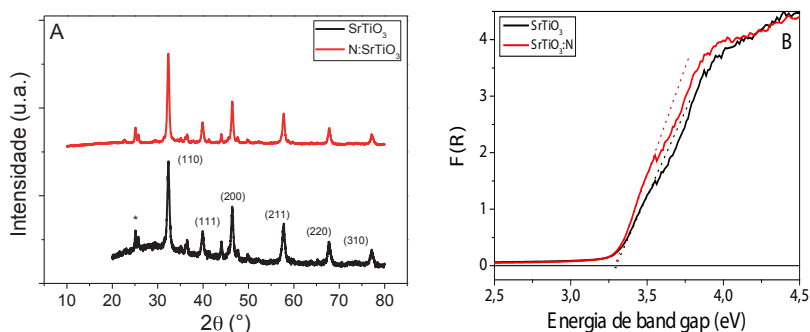
A resina de  $\text{SrTiO}_3$  foi preparada utilizando o método modificado dos precursores poliméricos, segundo Soares et al. 2011 [4]. Resumidamente, solução de isopropóxido de titânio foi adicionada a uma solução de ácido cítrico (razão molar 1:3). Em outro béquer, uma solução de carbonato de estrôncio foi adicionada a uma solução de ácido cítrico (razão molar 1:1,5). A razão molar entre Ti:Sr foi designada como 1:1. As duas soluções foram homogeneizadas à 90 °C. À essa solução homogeneizada foi realizada a adição de uma solução de PVA hidratada (razão molar ácido cítrico:PVA de 1:1). Após, o ajuste da viscosidade da solução resultante, a deposição foi realizada por *spin-coating* (uma rotação de 500 rpm por 30s seguida de 3500 rpm por 30s) em substratos de ITO, em diferentes números de camadas e diferentes áreas. A calcinação foi feita em três rampas de temperatura para permitir a evaporação de água e solventes: 2 horas a 100°C, 2 horas a 150°C e 6 horas a 650°C. Uma resina de  $\text{SrTiO}_3$  dopado com 2% de nitrogênio foi realizada, adicionando ureia à resina inicial.

Caraterizações como difração de raios-X (DRX) e espectroscopia de reflectância difusa (DRS) foram efetuadas nas nanopartículas de  $\text{SrTiO}_3$ . A superfície e espessura dos eletrodos foi investigada por microscopia eletrônica de varredura (MEV). O comportamento eletroquímico foi avaliado por voltametria cíclica.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Caraterização das nanopartículas

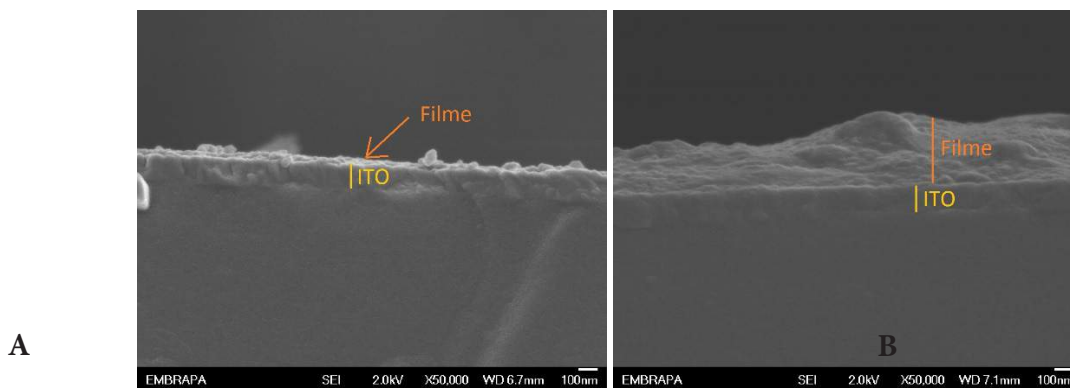
Os difratogramas de raios-X das nanopartículas, apresentado na figura 1A evidencia a estrutura cúbica da perovskita, referente ao  $\text{SrTiO}_3$ . As nanopartículas de  $\text{SrTiO}_3$ :N não apresentam diferença estrutural, considerando que os mesmos picos de difração do que  $\text{SrTiO}_3$  são evidenciados, porém a cristalinidade das nanopartículas dopadas por ter aumentado em comparação ao  $\text{SrTiO}_3$  puro. A espectroscopia de reflectância difusa (figura 1B) foi utilizada para determinação dos valores de *band-gap*, através da utilização da equação de Tauc [5], resultando em um valor de *band-gap* de 3,28 eV, próximo ao da literatura, para  $\text{SrTiO}_3$  (3,23 eV) [5]. O  $\text{SrTiO}_3$ :N não apresentou significativa mudança no valor de *band-gap* comparado ao material não dopado (3,27 eV).



**Figura 1.** Difratoograma de raios-X (A) e equação de Tauc para determinação de *band-gap* (B) das nanopartículas de  $\text{SrTiO}_3$  e  $\text{SrTiO}_3\text{:N}$ .

### 3.2 Microscopia de varredura dos filmes

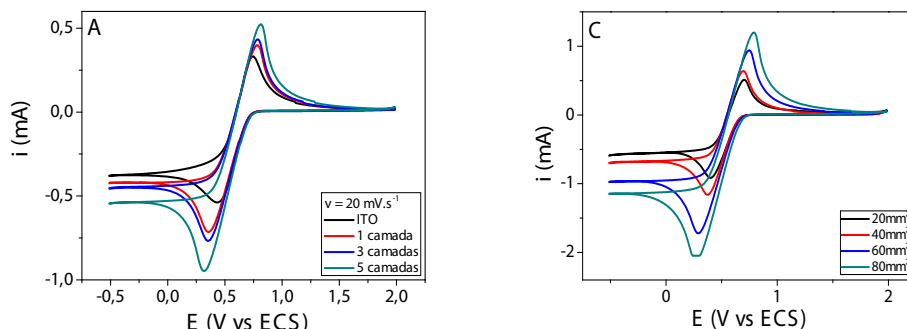
Nas imagens de microscopia eletrônica de varredura de alta resolução (MEV-FEG) (figura 2) dos eletrodos de filmes finos é possível observar o substrato ITO e em sua superfície o filme depositado (5 camadas depositadas). A espessura do filme depositado foi observada após fratura de um eletrodo. É evidente que a espessura do filme não apresenta-se homogênea, sendo possível afirmar que o método de deposição (*spin-coating*) pode influenciar no centro do filme (menos espesso) e bordas do ITO (mais espesso), devido a força centrífuga causada pela rotação no método de deposição. Além de apresentar micro-fraturas e heterogeneidades na superfície, esse formato do filme fino não dificultou obter resultados da caracterização eletroanalítica, ou seja, não foi alterada a estrutura condutora do filme, suficiente para a circulação de corrente. Portanto, os resultados permitiram concluir que houve uma boa afinidade entre a solução de  $\text{SrTiO}_3$  e o substrato ITO e que a eficiência do método de deposição por *spin-coating* é adequada para obtenção de filmes finos. A espessura estimada para os filmes finos pode variar de entre 20 e 300 nm (figura 2).



**Figura 2.** Imagens MEV-FEG da espessura de um eletrodo fraturado de  $\text{SrTiO}_3$  sobre substrato de ITO, no centro de deposição (A) e na borda (B).

### 3.3 Caracterização eletroanalítica

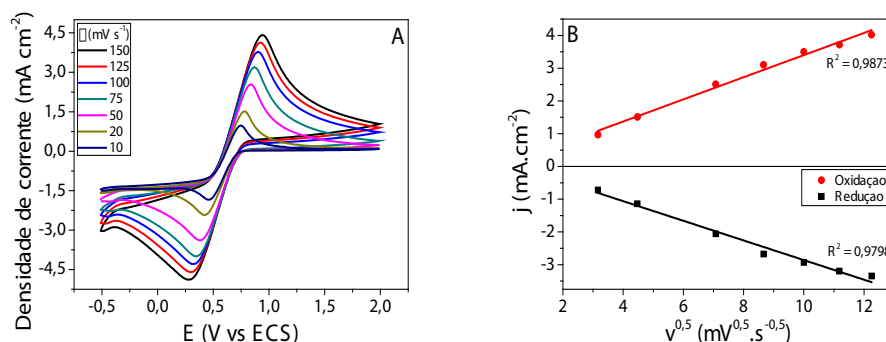
Os parâmetros de deposição dos filmes foram avaliados pelas respostas eletroanalíticas dos eletrodos através da voltametria cíclica, dentre os quais uma superposição de 5 camadas de resina  $\text{SrTiO}_3$  foi escolhida por apresentar um resultado de corrente maior (figura 3A). A área de deposição (de 20 até 60  $\text{mm}^2$ ) também foi variada simultaneamente para melhorar a reprodutibilidade e facilitar as comparações (figura 3B). Uma velocidade de varredura relativamente baixa (20  $\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$ ) foi demonstrada necessária para obter o equilíbrio da reação redox e conseqüentemente apresentar resultados mais confiáveis para avaliação da influência dos parâmetros de deposição dos filmes na resposta eletroanalítica.



**Figura 3.** Voltametrias cíclicas de um eletrodo de  $\text{SrTiO}_3$ , com um contra-eletrodo de Pt, em  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  (Merck) ( $0.05 \text{ mol.L}^{-1}$ ), o eletrodo de  $\text{SrTiO}_3$  tendo diferentes números de camadas (A) ou áreas diferentes (B).

A variação da velocidade de varredura da voltametria cíclica entre  $10$  e  $150 \text{ mV.s}^{-1}$  foi realizada para determinação do processo redox característico do eletrodo de  $\text{SrTiO}_3$  na interface eletrodo/solução. A Figura 4 é apresentada como a relação entre a densidade de corrente ( $i/\text{A}$ ) e potencial aplicado. Apesar da intensidade de corrente ser diferente entre os picos de oxidação e redução, o processo apresenta uma característica quase-reversível confirmada pela equação de Randles-Sevcik (demostrada na figura 4B). Segundo esta relação, no caso de um processo reversível, a densidade de corrente,  $j$ , é linearmente relacionada à raiz quadrada da velocidade,  $v^{0.5}$ , podendo ser obtido  $D$  o coeficiente de difusão ( $\text{cm}^2.\text{s}^{-1}$ ) [6].

Na variação de potencial aplicado, o par redox apresenta um aumento linear em relação a velocidade de varredura ( $v^{0.5}$ ) na voltametria cíclica, confirmado pelo valor de  $R^2$ . A proximidade de  $R^2$  do valor de 1 é um indicativo que o sistema pode ser classificado com um processo quase-reversível. Considerando o valor de elétrons transferidos na reação redox igual a 1, o valor de  $D$  obtido confirma a característica da reação redox como quase-reversível ( $D_{\text{ox}} 6,34.10^{-7} \text{ cm}^2.\text{s}^{-1}$  e  $D_{\text{red}} 5,00.10^{-7} \text{ cm}^2.\text{s}^{-1}$ ). A diferença entre os valores confirma que a transferência de massa no sistema eletroquímico sofre uma maior influência da migração do que da difusão das moléculas carregadas. Outras análises eletroquímicas para a finalização da caracterização do eletrodo estão em andamento.



**Figura 4.** A) Voltametrias cíclicas de um eletrodo de  $\text{SrTiO}_3$  de  $40 \text{ mm}^2$  e 5 camadas, com um contra-eletrodo de Pt, em  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  (Merck) ( $0.05 \text{ mol.L}^{-1}$ ), em diferentes velocidades de varredura. B) Relação linear entre a densidade de corrente dos picos de oxidação e redução e a raiz quadrada da velocidade de varredura.

#### 4 CONCLUSÃO

A síntese de  $\text{SrTiO}_3$  pelo método modificado dos precursores poliméricos, utilizando-se o PVA como agente polimerizante, resultou na formação da estrutura cristalina esperada,  $\text{SrTiO}_3$ . O valor de *band-gap* das nanopartículas de  $\text{SrTiO}_3$  obtido foi de  $3.28 \text{ eV}$ . A dopagem com nitrogênio não modificou significativamente o valor de *band-gap* ( $3.27 \text{ eV}$ ). Foi avaliada a boa afinidade da resina de  $\text{SrTiO}_3$  com o substrato ITO, resultando da deposição por *spin-coating*. A otimização dos parâmetros de deposição permitiu uma boa distribuição na superfície, porém a espessura dos filmes apresentou-se variável ao longo do eletrodo. O processo característico do eletrodo de  $\text{SrTiO}_3$  na interface eletrodo/solução apresentou um comportamento quase-reversível.

**AGRADECIMENTOS**

CNPq (Processo 500589/2013-5), Capes, Finep, Embrapa Instrumentação.

**REFERÊNCIAS**

- [1] T. Puangpetch, T. Sreethawong, S. Yoshikawa, et S. Chavadej, « Synthesis and photocatalytic activity in methyl orange degradation of mesoporous-assembled SrTiO<sub>3</sub> nanocrystals prepared by sol-gel method with the aid of structure-directing surfactant », *J. Mol. Catal. Chem.*, vol. 287, no 1-2, p. 70-79, mai 2008.
- [2] G. Xiao, X. Dong, K. Huang, et F. Chen, « Synthesis and characterizations of A-site deficient perovskite Sr<sub>0.9</sub>Ti<sub>0.8-x</sub>GaxNb<sub>0.2</sub>O<sub>3</sub> », *Mater. Res. Bull.*, vol. 46, no 1, p. 57-61, janv. 2011.
- [3] Y. Y. Mi, S. J. Wang, J. W. Chai, J. S. Pan, C. H. A. Huan, Y.-P. Feng, et C. K. Ong, « Effect of nitrogen doping on optical properties and electronic structures of SrTiO<sub>3</sub> films », *Appl. Phys. Lett.*, vol. 89, no 23, p. 231922-231922-3, décembre 2006.
- [4] Soares, G. B.; Bravin B.; Vaz, C.M.P.; Ribeiro, C. Facile synthesis of N-doped TiO<sub>2</sub> nanoparticle by a modified polymeric precursor method and its photocatalytic properties, *Applied Catalysis B.*, 106, 287-294, 2011.
- [5] Y. Liu, L. Xie, Y. Li, R. Yang, J. Qu, Y. Li, et X. Li, « Synthesis and high photocatalytic hydrogen production of SrTiO<sub>3</sub> nanoparticles from water splitting under UV irradiation », *J. Power Sources*, vol. 183, no 2, p. 701-707, sept. 2008.
- [6] Klaytae, T.; Panthong, P.; Thountom, S. Preparation of nanocrystalline SrTiO<sub>3</sub> powder by sol-gel combustion method, *Ceram. Int.*, 39, S405-S408, 2013.

---

**ESTUDO DA INTERAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA COM ANTIBIÓTICOS POR TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS E DA AÇÃO ANTIBACTERIANA *IN VITRO* DESTES MATERIAIS**

**Aline Luciano Filgueiras<sup>1</sup>, Diego Paschoal<sup>1</sup>, Mariana Lopes<sup>2</sup>, Marina Barros Campos<sup>2</sup>, Cláudio Galuppo Diniz<sup>2</sup>, Hélio Ferreira dos Santos<sup>1</sup>, \*Antonio Carlos Sant'Ana<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Univ. Federal de Juiz de Fora, Inst. Ciências Exatas, Depto. de Química, Juiz de Fora, MG.

<sup>2</sup> Univ. Fed. de Juiz de Fora, Inst. Ciências Biológicas, Depto. Imunologia, Juiz de Fora, MG.

\*antonio.sant@ufjf.edu.br

**Classificação:** Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio.

**Resumo**

Neste trabalho, foi realizado o estudo da interação dos antibióticos levofloxacina (LV) e tetraciclina (TC) sobre a superfície de nanopartículas de prata (AgNPs) com o objetivo de verificar efeitos sinérgicos ou aditivos na ação antibacteriana *in vitro*. A adsorção destes compostos sobre a superfície metálica foi estudada pelas técnicas espectroscópicas de ressonância do plasmon de superfície localizado (LSPR) e espalhamento Raman intensificado por superfície (SERS). Os testes biológicos mostraram que a associação das AgNPs e dos antibióticos TC e LV promoveram a intensificação do efeito antibacteriano de forma sinérgica. Os espectros SERS da TC e LV mostraram que estes antibióticos adsorvem fortemente sobre a superfície das AgNPs.

**Palavras-chave:** Nanopartículas de prata; antibiótico; sinergia;

**STUDY OF THE INTERACTION OF SILVER NANOPARTICLES WITH ANTIBIOTICS BY SPECTROSCOPIC TECHNIQUES AND THE ANTIBACTERIAL *IN VITRO* ACTION OF THESE MATERIALS**



**Abstract**

In this work the interaction of the antibiotics levofloxacin (LV) and tetracycline (TC) on the surface of silver nanoparticles (AgNPs) were investigated for verifying synergic or additive effect on antibacterial *in vitro* action. The adsorption of these compounds on the metallic surface was studied through both Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS) and Localized Surface Plasmon Resonance (LSPR) spectroscopies. The biological tests, the associations of the AgNPs and the antibiotics TC and LV promotes the antibacterial effect in a synergic mechanism. The SERS spectra of TC and LV showed that these antibiotics adsorb strongly on AgNPs surfaces.

**Keywords:** Silver nanoparticles; antibiotic; synergy;

**Publicações relacionadas:**

a) Pedido de patente: Número do registro: BR1020120273357, data de depósito: 25/10/2012, título: “Composição envolvendo nanopartículas de prata, quitosana e antibióticos com potencial antibacteriano combinado”, Instituição de registro: INPI.

## 1 INTRODUÇÃO

O crescimento da resistência bacteriana a vários antibióticos e a dificuldade em produzir novos compostos antibacterianos torna relevante a busca por estratégias para a solução deste problema. [1] Nanopartículas de prata (AgNPs) são conhecidas por suas propriedades antibacterianas e possuem menor propensão ao desenvolvimento de resistência. [2] Nesse sentido, várias pesquisas estão direcionadas ao uso de AgNPs associadas a antibióticos como alternativa para o tratamento de infecções multiresistentes. [3] Neste trabalho, foi realizado o estudo da ação antibacteriana *in vitro* dos antibióticos LV e TC com AgNPs estabilizadas com quitosana, com o objetivo de verificar interações sinérgicas ou aditivas da mistura, e também o estudo da adsorção da LV e TC pelas espectroscopias de ressonância do plasmon de superfície localizado (LSPR) e espalhamento Raman intensificado por superfície (SERS).

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Síntese das AgNPs

As AgNPs foram obtidas pela redução de 50mL de  $\text{AgNO}_3$   $2,1 \cdot 10^{-3} \text{mol.L}^{-1}$  por 1,0mL de citrato de sódio  $1,6 \cdot 10^{-1} \text{mol.L}^{-1}$  e gotejamento de 0,5mL  $\text{NaBH}_4$   $2 \cdot 10^{-2} \text{mol.L}^{-1}$  à temperatura ambiente. A esta solução foi adicionado 5mL de uma solução de quitosana  $2 \text{g.L}^{-1}$ .

### 2.2 Método de Checkerboard

Para este método foram escolhidas duas bactérias Gram negativas (*E. coli* ATCC 35218 e *K. pneumoniae* ATCC 700603) e duas bactérias Gram positivas (*S. aureus* ATCC 29213 e *E. faecalis* 51299). Os antibióticos LV, BP e TC e as combinações antibiótico + AgNPs foram adicionados em concentrações crescentes em placas de microtitulação. Após a montagem das placas, estas foram incubadas em estufa bacteriológica por 24h. Após a incubação, o crescimento bacteriano foi analisado através da turvação do meio e da utilização de marcadores químicos não enzimáticos, TTC e rezasurina. A classificação do efeito em aditivo ou sinérgico foi feita considerando-se como sinérgicas as interações Concentração Inibitória Fracionária (CIF) menores ou iguais a 0,5 e aditivas as interações com CIF entre 0,5 e 1.

Para o uso do método Checkerboard, foram realizados previamente os estudos da concentração inibitória mínima das suspensões das AgNPs sozinhas, dos antibióticos e das diferentes combinações de AgNPs e antibióticos.

### 2.3 Espectroscopia LSPR.

Os espectros LSPR dos adsorbatos e das suspensões aquosas das AgNPs foram obtidos no espectrofotômetro da Shimadzu, modelo 1800, utilizando cubeta de quartzo com caminho ótico de 0,1 cm. As concentrações dos antibióticos e da prata foram as mesmas utilizadas nos experimentos SERS.

## 2.4 Espectroscopia Raman e SERS

Os espectros Raman e SERS dos antibióticos foram obtidos num espectrômetro Raman da Bruker, modelo RFS-100, radiação excitante em  $\lambda_0=1064\text{nm}$  e detector de germânio resfriado com nitrogênio líquido. Os espectros Raman da TC e LV foram obtidos no estado sólido utilizando 30mW de potência e acumulação de 100 scans. Os espectros SERS da TC e LV foram obtidos na suspensão aquosa das AgNPs utilizando a concentração final de  $1.10^{-3}\text{mol.L}^{-1}$ , com potência do laser de 500 mW e acumulação de 200 scans.

A atribuição vibracional da TC e da LV, que permitiu inferir quais eram os sítios de interação desses antibióticos com as superfícies das AgNPs, foram realizadas a partir do cálculo do espectro teórico do complexo  $\text{Ag}^0$ -antibiótico, utilizando teoria de densidade funcional (DFT).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Método de Checkerboard

A Tabela 1 mostra os resultados de CIF obtidos pelo método de checkerboard. A combinação das AgNPs e os antibióticos TC e LV mostraram um efeito sinérgico frente a bactéria Gram – negativa *E. coli* e a bactéria Gram – positiva *E. faecalis*.

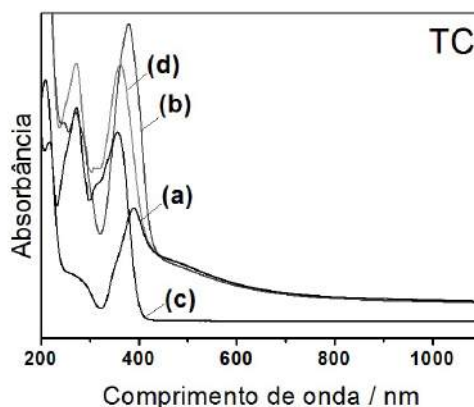
**Tabela 1.** CIF da combinação de antibióticos com AgNP pelo método checkerboard

<i>E. coli</i> ATCC 35218			
Antibiótico	CIF na combinação AgNPs/antibiótico	CIF	Classificação
Levofloxacina	0,06/0,48	0,961	Sinérgico
Tetraciclina	0,06/0,48	0,121	Sinérgico
<i>E. faecalis</i> ATCC 51299			
Antibiótico	CIF na combinação AgNPs/antibiótico	CIF index	Classificação
Levofloxacina	0,06/0,48	0,480	Sinérgico
Tetraciclina	0,06/0,48	0,120	Sinérgico

### 3.2 Espectroscopia LSPR

Figura 1 apresenta os espectros LSPR das suspensões aquosas de AgNPs na ausência e na presença do antibiótico TC, e o espectro de absorção da TC em solução aquosa.

O espectro LSPR das AgNPs mostra um máximo de absorção em 390nm, característico de AgNPs de tamanho médio de *ca.* 5-20nm, e um ombro largo que se estende do visível ao infravermelho próximo, característico de partículas com uma larga distribuição de tamanhos. A presença do antibiótico TC na suspensão das AgNPs provoca um deslocamento do máximo de absorção para maiores comprimentos de onda. Este efeito é indicativo da adsorção do antibiótico na superfície das AgNPs. As propriedades ópticas deste sistema são adequadas para a condição de ressonância da banda LSPR com a radiação excitante  $\lambda_0=1064\text{ nm}$  utilizada nos experimentos SERS. Um comportamento semelhante foi observado para o antibiótico LV.

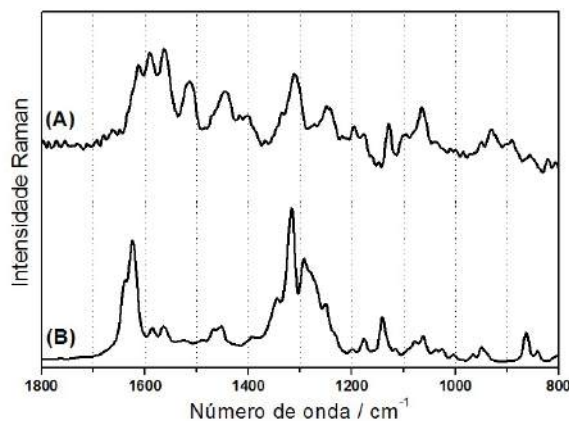


**Figura 1.** Espectro LSPR da suspensão aquosa das AgNPs (a). Espectro LSPR da suspensão das AgNPs na presença do antibiótico TC  $1.10^{-3}$  mol.L $^{-1}$  (b). Espectro de absorção da solução aquosa de TC  $1.10^{-3}$  mol.L $^{-1}$  (c). Soma dos espectros (a) e (c) são apresentados em (d).

### 3.3 Espectroscopia SERS

Figura 2 mostra os espectros Raman e SERS da TC. As diferenças observadas nos espectros Raman e SERS da TC apresentados na Figura 2 são atribuídas a forte interação da TC sobre a superfície metálica. Através da atribuição vibracional pode-se inferir que a adsorção da TC sobre as AgNPs ocorreu através das carbonilas da molécula.

Os espectros Raman e SERS da LV mostraram diferenças que são atribuídas a forte interação da LV sobre a superfície das AgNPs. Os espectros Raman e SERS da BP não mostraram diferenças significativas nas intensidades relativas das bandas Raman e SERS e isto foi atribuído a uma adsorção fraca da BP sobre a superfície das AgNPs. A partir desses resultados foi possível correlacionar o efeito obtido nos experimentos biológicos e o efeito da adsorção obtido nos experimentos SERS. É conhecido da literatura os sítios que são responsáveis pela ação antibiótica da TC, BP e LV. Os efeitos de sinergia observados tanto para a LV, quanto para a TC são devidos ao fato de que estas moléculas adsorvem sobre as AgNPs por um sítio que não é o sítio de ação antibiótica.



**Figura 2.** Espectro SERS da TC  $1,0.10^{-3}$  mol.L $^{-1}$  na suspensão aquosa da AgNPs ( $\lambda_0=1064$ nm) (A); Espectro Raman da TC no estado sólido ( $\lambda_0=1064$ nm);

## 4 CONCLUSÕES

A combinação das AgNps e os antibióticos TC e LV mostraram um efeito sinérgico frente à bactéria Gram – negativa *E. coli* e à bactéria Gram – positiva *E. faecalis*.

Os espectros Raman e SERS da TC mostraram que esta molécula adsorve fortemente sobre a superfície das AgNPs. Resultado similar foi obtido para a LV.

Os efeitos de sinergia observados tanto para a LV, quanto para a TC são devidos ao fato de que estas moléculas adsorvem sobre as AgNPs por um sítio que não é o sítio de ação antibiótica, e dessa

forma ocorrem a soma dos efeitos antibiótico e de interação do antibiótico com as AgNPs. Há um efeito adicional da quitosana que também foi testada isolada.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a FAPEMIG (CEX –APQ-00061/09), UFJF, CNPq e a CAPES pelo suporte financeiro e apoio as pesquisas.

## REFERÊNCIAS

1. FERNÁNDEZ-DELGADO, M. AND P. SUÁREZ, Multiple antibiotic resistances of enteric bacteria isolated from recreational coastal waters and oysters of the Caribbean Sea. *Annals of Microbiology*, v. 59, n. 3, p. 409-414, 2009.
2. MORONES, J.R.; ELECHIGUERRA, J.L.; CAMACHO, A.; HOLT, K.; KOURI, J.B.; RAMIREZ, J.T.; YACAMAN, M.J.; The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology*, v. 16, n. 10, p. 2346, 2005.
3. SHAHVERDI, A.R.; FAKHIMI, A.; SHAHVERDI, H.R.; MINAIAN, S.; Synthesis and effect of silver nanoparticles on the antibacterial activity of different antibiotics against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Nanomedicine : nanotechnology, biology, and medicine*, v. 3, n. 2, p. 168-171, 2007.

---

## AVALIAÇÃO DE DIFERENTES RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS PARA A PRODUÇÃO DA CELULOSE BACTERIANA POR *GLUCONACETOBACTER HANSENI*

\*L.M.F. GOTTSCHALK, I.R. BARBOSA, E.F. SOUZA, A.I.S. BRIGIDA, E.M. PENHA, E.M.M. OLIVEIRA

Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ.

\*leda.fortes@embrapa.br

**Classificação:** Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio.

### Resumo

A celulose sintetizada por microrganismos, conhecida como celulose bacteriana (CB), é um biopolímero obtido a partir da fermentação de meios de cultura ricos em sacarídeos. O presente trabalho teve por objetivo avaliar diferentes resíduos agroindustriais brutos e suplementados na produção da CB por *G. hansenii* ATCC 23769. Inicialmente, foram avaliadas diferentes fontes de nitrogênio (extrato de levedura, milhocina, peptona, sulfato de amônio, nitrato de sódio e ureia) adicionadas ao meio sintético, mantendo uma mesma relação C/N de 15,5. Posteriormente, os resíduos agroindustriais POME (palm oil mill effluent) e suco de sisal foram avaliados isoladamente e em conjunto com a fonte de nitrogênio selecionada. Os experimentos foram conduzidos por 7 dias em fermentação estática a 30 °C e o pH inicial foi ajustado em 5,0. Os resultados obtidos mostraram que a melhor fonte orgânica para a produção da CB foi o extrato de levedura (0,405 g/L) seguido da milhocina (0,148 g/L). O suco de sisal apresentou melhores resultados quando comparado com o POME, com uma produção de 0,88 g/L com o sisal puro e de 2,13 g/L com o sisal suplementado com extrato de levedura.

**Palavras-chave:** Celulose; *Gluconacetobacter*; Resíduos

### EVALUATION OF DIFFERENT AGROINDUSTRIAL WASTE FOR THE PRODUCTION OF BACTERIAL CELLULOSE BY *GLUCONACETOBACTER HANSENI*

#### Abstract

The cellulose produced by microorganisms, known as bacterial cellulose (BC) is a biopolymer derived from the fermentation of saccharides means of rich culture. This study aimed to evaluate different industrial residues and production of CB supplemented by *G. hansenii* ATCC 23769. Initially, different nitrogen sources were evaluated (yeast extract, corn steep liquor, peptone, ammonium sulfate, sodium

nitrate and urea) and added to synthetic medium, maintaining the same C/N ratio of 15.5. Subsequently, the organic residues POME (palm oil mill effluent) and sisal juice were evaluated alone and in conjunction with the nitrogen source selected. The experiments were conducted for 7 days in static 30°C and the initial fermentation pH was adjusted at 5.0. The results showed that the best organic source for the production of CB was yeast extract (0,405 g/L) followed by corn step liquor (0,148 g/L). The sisal juice had better results when compared with POME, with a production of 0.88 g/L with pure sisal and 2.13 g/L with sisal supplemented with yeast extract.

**Keywords:** Cellulose; *Gluconacetobacter*; Waste

## 1 INTRODUÇÃO

A celulose sintetizada por microrganismos, conhecida como celulose bacteriana (CB), é um biopolímero obtido a partir da fermentação de meios de cultura ricos em sacarídeos. O fato de ser quimicamente pura a distingue favoravelmente da celulose obtida a partir da biomassa vegetal, associada geralmente à lignina e à hemicelulose (Keshk et al, 2006). Além dessa característica, a CB vem atraindo a atenção do meio científico e tecnológico pelo fato de não promover reações tóxicas ou imunológicas quando inseridas ou em contato com tecidos vivos, apresentar alta porosidade, elevado grau de polimerização, baixa densidade e alta capacidade de absorção e retenção de água. Devido às suas características e peculiaridades, a CB pode ser aplicada na indústria alimentícia como espessante; na medicina, como substituto temporário da pele humana e no desenvolvimento de novos materiais poliméricos (Ross et al., 1991). O primeiro uso da celulose bacteriana na indústria de alimentos foi na produção de nata de coco nas Filipinas, tornando-se uma iguaria popular. Sua textura gelificante e completa indigestibilidade no trato intestinal humano a torna atrativa para uso em alimentos. Em 1992, foi introduzida em bebidas dietéticas no Japão. É também consumida como Kombucha para tratamento de saúde (Chawla et al, 2009).

A biossíntese da CB está diretamente relacionada à capacidade de sobrevivência do microrganismo em condições não muito favoráveis. Ela o protege contra desidratação, serve de barreira, atua como fonte de carbono e energia e permite ao microrganismo permanecer em uma interface ar/líquido para obter oxigênio com maior facilidade para seu crescimento. (Berwanger et al, 2005; Donini et al, 2010). A espécie *Gluconacetobacter hansenii* identificada como uma espécie estritamente aeróbica, gram-negativa, tem sido considerada um organismo modelo para o estudo da síntese de celulose (Lyer et al., 2010). Dependendo da forma do processo (estático ou agitado), existe uma variação nas propriedades da celulose obtida (Galas et al., 1999). Nas condições de cultura estacionária, uma membrana espessa e gelatinosa de CB é acumulada na superfície de um meio de cultura, ao passo que em condições de cultura agitada, a celulose pode ser produzida na forma de uma suspensão fibrosa, pellets ou esferas (Krystynowicz et al., 2002).

Embora a celulose bacteriana esteja entre os biopolímeros de maior interesse, aspectos como o tipo de substrato e condições de cultivo podem também influenciar o curso da biossíntese e consequentemente as propriedades do biopolímero obtido (Klemm et al., 2009). Desde a descoberta da produção da celulose bacteriana, o meio sintético mais utilizado, meio HS (Hestrin e Schramm, 1954), possui glicose como fonte de carbono e extrato de levedura e peptona como fontes de nitrogênio.

Contudo, o custo de produção deste biopolímero ainda é caro comparado ao da celulose vegetal (El-Saied et al, 2008). A fonte de carbono mais utilizada para a produção de CB é a glicose, no entanto, bactérias do gênero *Gluconacetobacter* são capazes de utilizar substratos com diferentes mono ou dissacarídeos, alcoóis ou ácidos dicarboxílicos (Carreira et al, 2010). Por isso há grande interesse no uso de substratos alternativos de baixo custo como os resíduos agroindustriais (Berwanger et al, 2005).

A importância do desenvolvimento de tecnologias que revertam as fontes renováveis em matérias-primas para a elaboração de novos materiais vem aumentando cada vez mais, visto que além da ampliação do mercado, pela disponibilização e valorização destes, o desenvolvimento de novos usos de produtos agropecuários e de tecnologias que revertam o conceito de resíduo para de matéria-prima é imprescindível, a fim de otimizar a eficiência do agronegócio reduzindo, também, o impacto ambiental causado pelo descarte inadequado de resíduos agroindustriais (Rosa et al, 2011).

O POME é um resíduo rico em carbono obtido durante a produção do óleo de palma. Este é um líquido espesso e acastanhado que contém alto teor de sólidos, óleos e graxas, DQO e DBO (Rupani et al 2010). Na produção de artesanatos com fibras de sisal há o descarte do suco de sisal, material rico em açúcar. A planta do sisal é de origem mexicana, porém o Brasil é o principal produtor dessa fibra, cuja cadeia produtiva gera 80 milhões de divisas e meio milhão de empregos (Lima et al, 2013). Ambos

os resíduos apresentam possíveis aplicabilidades na produção de celulose bacteriana como substrato para bactérias do gênero *Gluconacetobacter*. O presente trabalho teve como objetivo avaliar estes dois resíduos na produção da celulose pela cepa *G. hansenii* ATCC 23769.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Produção da celulose

A cepa *G. hansenii* ATCC 23769, foi mantida em ágar manitol sob refrigeração. O pré-inóculo foi preparado com caldo manitol e incubado a 28°C por 48-72 horas. O inóculo de 5% (v/v) da suspensão de células de *G. hansenii* foi adicionado ao meio sintético HS (20 g/L de glicose, 1,15 g/L de ácido cítrico e 2,7 de fosfato de sódio) com as diferentes fontes de nitrogênio (extrato de levedura, milhocina, peptona, sulfato de amônio, nitrato de sódio e ureia) mantendo uma relação C/N fixa de 15,5. A fermentação foi realizada em Erlenmeyer de 250 mL contendo 50 mL de meio, com pH inicial ajustado em 6,0, a 28°C por 7 dias. Posteriormente a eficácia do POME e do sisal foi avaliada em diferentes concentrações (puro e 2%) com ou sem extrato de levedura e milhocina na concentração de 0,75%.

### 2.2 Purificação da celulose bacteriana

As películas obtidas na superfície dos meios de cultivos foram purificadas por imersão com solução aquosa de dodecil sulfato de sódio (SDS) a 2% por 2 horas (em 3 lavagens) para remoção dos resíduos de célula bacteriana. Em seguida, aquecidas numa solução aquosa de NaOH 1M a 80°C por 30min, e então lavadas com água deionizada várias vezes. Por fim, as películas foram lavadas para remoção do álcali residual e secas em estufa a 65-70°C até peso constante.

### 2.3 Determinação do açúcar redutor

A concentração de açúcares redutores foi determinada pelo método do DNS (Miller, 1959), utilizando glicose como padrão.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Avaliação de diferentes fontes de nitrogênio em meio sintético HS

Os resultados de produção de celulose, açúcares redutores final e consumido e o pH final com as diferentes fontes de nitrogênio (extrato de levedura, milhocina, peptona, sulfato de amônio, nitrato de sódio e ureia) estão apresentados na Tabela 1. A concentração de açúcar redutor inicial era de 20 g/L em todos os meios. Quando as fontes de nitrogênio foram avaliadas isoladamente, o YE resultou numa maior produção da celulose bacteriana (0,405 g/L) seguido da milhocina (0,148 g/L). As fontes de fácil assimilação como a peptona, o sulfato de amônio, o nitrato de sódio e a ureia quando utilizadas como única fonte de nitrogênio, não apresentaram nem produção de celulose, nem consumo de glicose e também nenhuma alteração de pH indicando que apesar da presença de glicose, a *Gluconacetobacter* não foi capaz de crescer nestas fontes.

**Tabela 1.** Produção de celulose, açúcar redutor e pH com diferentes fontes de nitrogênio em meio sintético modificado HS

Fonte de nitrogênio	Celulose (g/L)	Açúcar redutor final (g/L)	Açúcar redutor consumido (g/L)	pH
Extrato de levedura	0,405 ± 0,32	2,65	17,35	4,71
Milhocina	0,148 ± 0,24	4,18	15,82	3,33
Peptona	0	19,94	0,06	5,88
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0	20,38	0	5,80

Fonte de nitrogênio	Celulose (g/L)	Açúcar redutor final (g/L)	Açúcar redutor consumido (g/L)	pH
NaNO <sub>3</sub>	0	20,18	0	5,90
Ureia	0	20,13	0	5,92

### 3.2 Avaliação dos resíduos agroindustriais para a produção de CB

Os resultados de produção de celulose, açúcares redutores final e consumido e o pH final com os diferentes resíduos agroindustriais suplementados ou não com extrato de levedura e milhocina estão apresentados na Tabela 2.

A fonte de nitrogênio e de carbono utilizadas que proporcionaram maior produção de celulose bacteriana foi o suco de sisal suplementado com extrato de levedura ( $2,133 \pm 0,52$  g/L), seguido do suco de sisal suplementado com milhocina ( $1,650 \pm 0,36$ ). Quanto ao uso do POME como fonte de carbono, observou-se uma baixa produção de celulose bacteriana em todos os meios, com maior produção para o POME puro ( $0,413 \pm 0,19$ g/L), não havendo grande diferença entre o uso de extrato de levedura e milhocina.

**Tabela 2.** Produção de celulose, açúcar redutor e pH com diferentes resíduos agroindustriais

Meio utilizado	Celulose (g/L)	Açúcar redutor final (g/L)	Açúcar redutor consumido (g/L)	pH
Sisal puro	0,879 ± 0,23	13.88	12.38	6.21
Sisal + EL	<b>2,133</b> ± 0,52	12.25	17.94	6.82
Sisal + milhocina	1,650 ± 0,36	13.01	15.69	6.68
POME puro	<b>0,413</b> ± 0,19	8.46	8.04	5.77
POME + EL	0,359 ± 0,13	8.4	7.93	5.83
POME + milhocina	0,336 ± 0,18	7.21	9.21	6.37

No suco de sisal a concentração inicial de açúcar redutor era de aproximadamente 25 g/L e pode-se observar que mesmo após 7 dias de fermentação, a bactéria só tinha consumido metade do açúcar inicialmente presente. O caso do POME que possuía uma concentração inicial de açúcar redutor de aproximadamente 16 g/L e também foi observado o mesmo comportamento. Em relação ao pH, pode-se observar um aumento quando o suco de sisal foi utilizado, comportamento diferente de quando a glicose (meio sintético HS) é utilizada, onde se observa uma diminuição do pH. Já com o POME, substrato bastante heterogêneo, a bactéria não cresceu muito e a membrana foi produzida em menor quantidade e apresentou-se bem mais frágil do que a membrana produzida com sisal. Desta forma, não foi observada alteração significativa no pH do meio fermentado.

## 4 CONCLUSÃO

A melhor fonte de nitrogênio foi o extrato de levedura e os resíduos agroindustriais utilizados demonstraram possibilidade de uso como substrato para produção de celulose bacteriana. No caso do sisal, a produção de CB pode ser incrementada quando uma fonte de nitrogênio orgânica, em especial o extrato de levedura, foi adicionada ao meio fermentativo. Em relação ao POME não foi observado nenhum aumento na produção da CB com adição de outras fontes de nitrogênio.

## REFERÊNCIAS

BERWANGER, A.L.S. Produção e caracterização de biopolímero sintetizado por *Sphingomonas capsulata*. 2005. 96 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Rio Grande do Sul.

- CARREIRA, P.M.C. Produção de celulose bacteriana a partir de resíduos industriais. 2010. 72 p. Tese (Mestrado em Materias Derivados de Recursos Renováveis) – Universidade de Aveiro, Aveiro.
- CHAWLA, P.R.; BAJAJ, I.B.; SURVASE, S.A.; SINGHAL, R.S. Microbial cellulose: fermentative production and applications. *Food Technology Biotechnology*, v. 47, n. 2, p. 107-124, 2009.
- DONINI, Í.A.N.; DE SALVI, D.T.B.; FUKUMOTO, F.K.; LUSTRI, W.R.; BARUD, H.S.; MARCHETTO, R.; MESSADDEQ, Y.; RIBEIRO, S.J.L. Biossíntese e recentes avanços na produção de celulose bacteriana. *Eclética Química*, v. 35, n. 4, p. 165-178, 2010.
- EL-SAIED, H.; EL-DIWANY, A.; BASTA, A. H.; ATWA, N. A.; EL-GHWAS, D. E. Production and characterization of economical bacterial cellulose. *BioResources*, v.3, n.4, p. 1196-1217, 2008.
- GALAS, E.; KRYSZYNOWICZ, A.; TARABASZ-SZYMANSKA, L.; PANKIEWICZ, T.; RZYSKA, M. Optimization of the production of bacterial cellulose using multivariable linear regression analysis. *Acta Biotechnol*, v. 19, p. 251-260, 1999.
- KESHK, S. M. A. S.; RAZEK, T. M. A.; SAMESHIMA, K. Bacterial cellulose production from beet molasses. *African Journal of Biotechnology*, v. 5, n. 17, p. 1519-1523, 2006.
- KLEMM, D.; SCHUMANN, D.; KRAMER, F.; HESSLER, N.; KOTH, D.; SULTANOVA, B. Nano-cellulose Materials - Different Cellulose, Different Functionality. *Macromolecular Symposia*, v. 280, p. 60-71, 2009.
- KRYSZYNOWICZ, A.; CZAJA, W.; WIKTOROWSKA-JEZIERSKA, A.; M GONC ALVES-MIS KIEWICZ, M TURKIEWICZ AND S BIELECKI. Factors affecting the yield and properties of bacterial cellulose. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, v. 29, p. 189-195, 2002.
- LIMA, H. S. L; NASCIMENTO, E.; BRÍGIDA, A. I.; ANDRADE, F. K.; ROSA, M. F.; BORGES, M. F. Produção de celulose bacteriana utilizando suco de sisal como substrato. In: VII Workshop de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio. 2013.
- LYER, P.R.; GEIB, S.M.; CATCHMARK, J.; KAO, T.; TIEN, M. Genome sequence of a cellulose-producing bacterium, *Gluconacetobacter hansenii* ATCC 23769. *J. of Bacteriol.*, v. 192(16), p. 4256-4257, 2010.
- MILLER G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugars. *Anal. Chem.*, v. 31, p. 426-428, 1959.
- ROSA, M. F.; SOUZA FILHO, M. S. M.; FIGUEIREDO, M. C. B.; MORAIS, J. P. S.; SANTAELLA, S.T.; LEITÃO, R.C. Valorização de resíduos da agroindústria. In: II Simpósio Internacional sobre gerenciamento de resíduos agropecuários e agroindustriais, 2011, Foz do Iguaçu. Anais. Foz do Iguaçu: Sbera, 2011, p. 98-105.
- ROSS, P.; MAYER, R.; BENZIMAN, M. Cellulose biosynthesis and function in bacteria. *Microbiol Rev*, v. 55, n. 1, p. 35-58, 1991.
- RUPANI, P. F.; SINGH, R. P.; IBRAHIM, M. H.; ESA, N. Review of Current Palm Oil Mill Effluent (POME) Treatment Methods: Vermicomposting as a Sustainable Practice. *World Applied Sciences Journal*, v. 11, n. 1, p. 70-81, 2010.



# ESTUDO DA LIBERAÇÃO CONTROLADA DO HERBICIDA AMETRINA EM COMPÓSITOS À BASE DE PVA – CARVÃO ATIVADO

\*Ricardo Bortoletto-Santos<sup>1</sup>, Caue Ribeiro<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP. <sup>2</sup>Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP.

\*ricbortolettosantos@hotmail.com

**Classificação:** Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio.

## Resumo

Herbicidas têm grande importância na produtividade agrícola, já que são necessários para o controle de ervas daninhas, devido a sua competição com as culturas. No entanto, uma aplicação inadequada pode conduzir a problemas ambientais, de modo a ser minimizados por meio da liberação controlada de compostos ativos. Isto pode ser feito por proteção do herbicida em uma estrutura com porosidade adequada, onde o comportamento de difusão determina a liberação. Assim, esse estudo teve a finalidade de avaliar uma nova estrutura de compósito baseado em carvão ativado ligado por álcool polivinílico (PVA) na forma de pastilhas, a fim de liberar controladamente herbicidas triazínicos. O trabalho dividiu-se em três etapas: (i) obtenção de um compósito/herbicida, observando a quantidade máxima adsorvida pelo material; (ii) preparação de pastilhas com o auxílio de PVA, variando a força de compactação (2,9 MPa; 4,2 MPa e 5,8 MPa) e a porcentagem de PVA (2%, 5% e 10%); e (iii) execução dos ensaios de liberação em água, ácido cítrico e HCl. A análise de adsorção revelou que a quantidade máxima adsorvida pelo carvão ativado é em torno de 8,76 g de ametrina/g de material, devido à elevada área superficial. Os ensaios de liberação em água revelaram que a força de compactação utilizada não influencia significativamente na taxa de desorção. E ao comparar os resultados nos diferentes meios, observou-se que a acidificação acelera a liberação do herbicida e aumenta a quantidade total em solução.

**Palavras-chave:** Adsorção, Carvão ativado; Liberação controlada.

## STUDY OF THE CONTROLLED RELEASE OF AMETRYN HERBICIDE USING PVA – ACTIVATED CARBON COMPOSITES

### Abstract

Herbicides have great importance in agricultural productivity since the control of weeds is necessary, due its competition with crops. However, inadequate application of herbicides may lead to environmental problems, with can be minimized through the controlled releasing of the active compounds. This may be done by protecting the herbicide in a structure with adequate porosity, where the diffusional behavior determine the releasing. Then in this study we evaluated a novel structure, a composite based on activated carbon bonded by poly(vinil alcohol) (PVA) as pellets, in order to deliver a triazine herbicide. The study was divided into three steps: (i) to obtain a nanocomposite/herbicide, observing the maximum quantity adsorbed by the material, (ii) prepare tablets with aid of PVA studied the relationship between the pressing force (2,9 MPa; 4,2 MPa e 5,8 MPa) and percentage of PVA (2%, 5% and 10%); and (iii) perform release tests of the herbicide in water, citric acid and HCl. Analysis of the adsorption of commercial ametryne revealed that the maximum quantity adsorbed by the activated charcoal is around 8.8 g/g of material due to high surface area of the activated carbon. The water release tests showed that the compaction force not have significantly influence in the rate of desorption. In addition, when comparing results in different medium it was observed that acidification accelerates the release rate of herbicide and increases the total amount in solution.

**Keywords:** Adsorption; Activated carbon; Controlled release.

**Publicações relacionadas:** Aceito para publicação, Química Nova (2014).

## 1 INTRODUÇÃO

O crescimento da população mundial implica na busca cada vez maior de uma agricultura altamente produtiva, de modo que há proporcionalidade com o uso de defensivos agrícolas. Nesse contexto, é importante o desenvolvimento de tecnologias de controle destas substâncias no ambiente, visando um aumento de sua eficiência, redução de custos na aplicação e minimização de impactos ambientais.

O processo de adsorção do carvão ativado tem sido utilizado como um eficaz método para remover pesticidas residuais em tratamento de água e de efluentes industriais, devido à alta porosidade do carvão (HERNÁNDEZ et al., 2008). Assim, estudos como o de Coelho, Vazzoler e Leal (2012) demonstraram que o uso de carvão ativado é uma alternativa eficiente para remoção de pesticidas, principalmente, triazínicos, nos quais se inclui a ametrina.

Considerando-se a presença de grupos facilmente ionizáveis ligados ao anel carbônico, em geral pesticidas triazínicos são mais solúveis em meios ácidos (MANGRICH et al., 2011). Este fator é particularmente importante nas características de solos brasileiros, geralmente ácidos, facilitando assim a migração destes compostos (quando em excesso) para zonas de acúmulo, como lençóis freáticos.

No entanto, apesar do carvão ativado ser conhecido nos processos de adsorção, não há grandes estudos na literatura sobre seu uso como meio de controle da liberação de defensivos. Visto que sua estrutura permite que uma grande quantidade de defensivo seja carregada por interação com a superfície, assim, um sistema de liberação lenta de defensivos poderia ser projetado a partir da dessorção de um princípio ativo previamente carregado no carvão ativado, trocando lentamente com o meio por difusão e equilíbrio químico. Porém, é necessário estabelecer condições de processamento que permitam administrar o material final em formatos aceitáveis, como por exemplo, grânulos – visto que a disposição do carvão ativado (em pó) é pouco aceita pela dificuldade de aplicação nos sistemas agrícolas disponíveis.

Assim, este trabalho descreve a produção de um compósito baseado em carvão ativado ligado por álcool polivinílico (PVA), previamente carregado com o herbicida ametrina, de modo que o PVA permitisse que o material fosse processado por prensagem, obtendo-se grânulos densos que facilitam a administração do herbicida.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Foram obtidos compósitos previamente carregados com herbicida, a fim de observar a quantidade máxima adsorvida pelo carvão ativado. Assim, fez-se, primeiramente, a adsorção de 250 mL de uma solução de 10.000  $\mu\text{g g}^{-1}$  (10.000 ppm) de ametrina (Sipcam UPL, 500 g L<sup>-1</sup>) em um béquer contendo 250 mg de carvão ativado (Synth), deixando esse sistema em agitação branda por 24 horas. Após atingir o equilíbrio, filtrou-se o material e fez-se a leitura do sobrenadante em espectrofotômetro UV-VIS, para obter a concentração adsorvida. Em seguida, secou-se o compósito em estufa a 30°C e prepararam-se pastilhas com o auxílio de PVA (J.T Baker, 87,0-89,0% parcialmente hidrolisado), variando: a força de compactação (2,9 MPa, 4,2 MPa e 5,8 MPa) e a porcentagem de PVA (2%, 5% e 10%).

Os materiais obtidos foram caracterizados por microscopia eletrônica de varredura (MEV), para verificação da homogeneidade dos compósitos obtidos e de aspectos morfológicos. E os ensaios de liberação foram conduzidos em béquer de 250 mL, sendo o sistema mantido sob agitação constante e temperatura ambiente. Os experimentos foram conduzidos em água, solução de ácido cítrico (0,1 mol L<sup>-1</sup>), ácido clorídrico (0,5 mol L<sup>-1</sup>) e solução de água/metanol 50% v/v. Os resultados foram analisados por meio de Espectrometria UV-vis, entre 400-200 nm (Shimadzu UV-1601 PC).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 apresenta imagens de MEV (JSM-6510 – JEOL) do carvão ativado utilizado como base para a formação do compósito de liberação. Observa-se que esse material apresenta partículas finas, que se aglomeram formando poros, além de possuir superfície rugosa. Essa característica é desejável para aumentar a quantidade do herbicida a ser carregado na amostra, e esse resultado é confirmado pela medida de área superficial, obtida por fisissorção de N<sub>2</sub>, seguindo a metodologia BET. Assim, obteve-se um valor de área de 720,88 m<sup>2</sup>g<sup>-1</sup>, resultado muito elevado quando comparado a outros materiais (permitindo alta área de interação com o defensivo agrícola). Para determinação da quantidade máxima de herbicida a ser carregada no compósito por adsorção, determinou-se a concentração do sobrenadante na solução de ametrina, através de espectroscopia UV-visível (400 a 200 nm). Deve-se ressaltar que a presença de adjuvantes na ametrina comercial pode influenciar na adsorção do herbicida pelo carvão ativado.

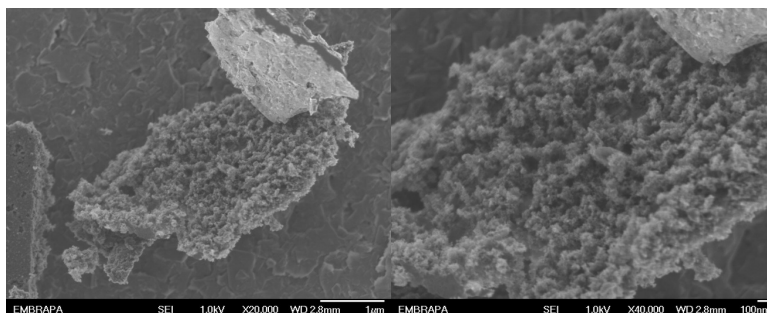


Figura 1. Imagens de microscopia eletrônica de varredura do carvão ativado utilizado nos experimentos.

A partir da análise da adsorção da ametrina comercial, nota-se que a concentração máxima adsorvida pelo carvão ativado é em torno de 8,76 g de ametrina por g de carvão ativado, sendo esse valor reflexo da elevada área superficial, que aumenta a área de contato favorecendo tal processo.

Para obter o compósito de liberação controlada, utilizou-se PVA como aglomerante para o processo de prensagem, visto que esse polímero é conhecido por sua capacidade de hidratação e intumescimento. Portanto, pretendeu-se que o PVA fosse uma barreira à rápida liberação do herbicida, controlando a penetração da água, e consequentemente, a velocidade de liberação.

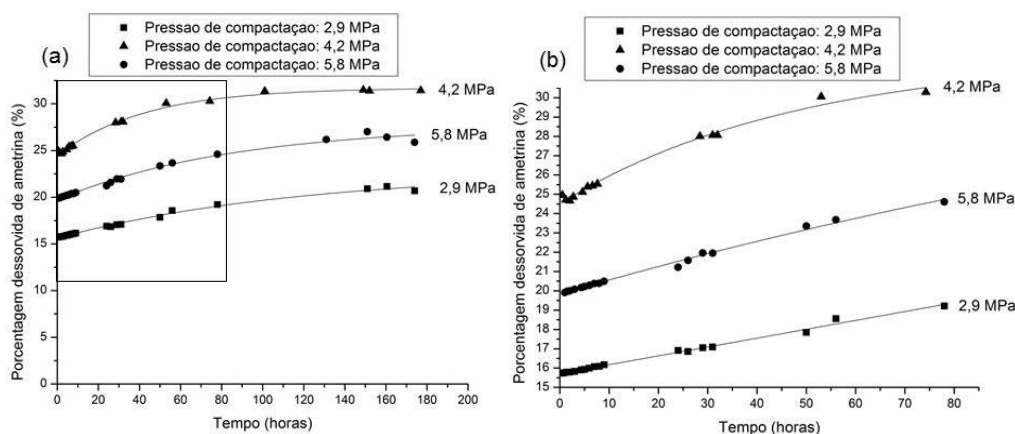


Figura 2. Estudo da liberação em água em relação à força de prensagem – (a) liberação total e (b) da liberação inicial.

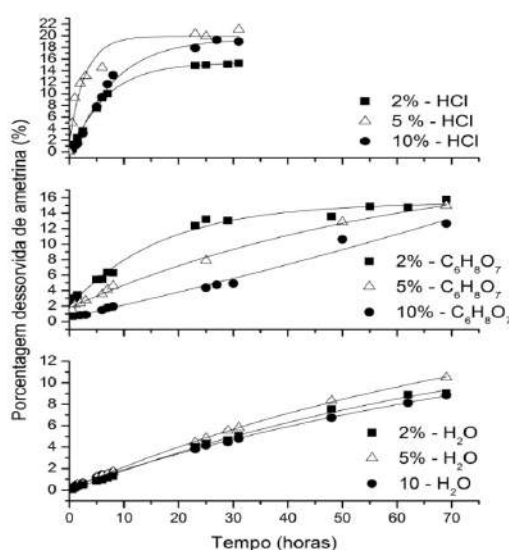


Figura 3. Estudo da liberação em água, ácido cítrico e ácido clorídrico variando-se a quantidade de PVA.

Os experimentos de liberação foram novamente conduzidos em água, em solução de ácido cítrico ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ), a fim de mimetizar os ácidos orgânicos do solo, e em ácido clorídrico ( $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ ), de modo a promover uma condição drástica, como representado na Figura 3.

Comparando-se os resultados, observou-se que a acidificação do meio acelerou a liberação do herbicida e aumentou a quantidade total em solução. Também, a liberação em solução de ácido forte foi significativamente rápida em comparação aos demais experimentos. No entanto, observou-se que a liberação em condições intermediárias de PVA adicionado ao material (5%) foi máxima, sendo que em 10% de polímero houve, para ambos os ácidos, redução na cinética de liberação e no teor total liberado. Possivelmente, considerando-se que o PVA é um polímero hidrolisável em condições ácidas,

em menores teores a sua presença pode alterar o equilíbrio da solução através de uma reação de esterificação frente ao ácido. De fato, Shi et al. (2008), observaram esta reação em filmes de amido compósitos com PVA, sendo inclusive este mecanismo utilizado como forma de obter ligações cruzadas na estrutura do PVA. Assim, é compreensível que, nas maiores concentrações de polímero, o material tenha ligeira redução da sua liberação pela formação de ligações cruzadas, sendo que nas menores quantidades a alteração do equilíbrio seria mais significativa. Para garantir a completa solubilização da ametrina no experimento de liberação e, conseqüentemente, avaliar corretamente o comportamento dos compósitos, utilizou-se solução de água/metanol 50% v/v, devido a solubilidade da ametrina em metanol ser maior que em água (aproximadamente  $510 \text{ g L}^{-1}$ ).

Observa-se na Figura 4 que a variação do teor de PVA tem, nesse caso, correlação direta com o perfil de liberação, principalmente nas primeiras horas. Nota-se que a quantidade total liberada é inferior de acordo com o aumento do PVA na composição, o que indica que o polímero impede a saída imediata do herbicida.

Deve-se também notar que, para todos os compósitos, a liberação do princípio ativo foi acima de 80% do valor total carregado, e o comportamento somente estabilizou acima de 100 horas em todos os casos, caracterizando um comportamento de liberação controlada.

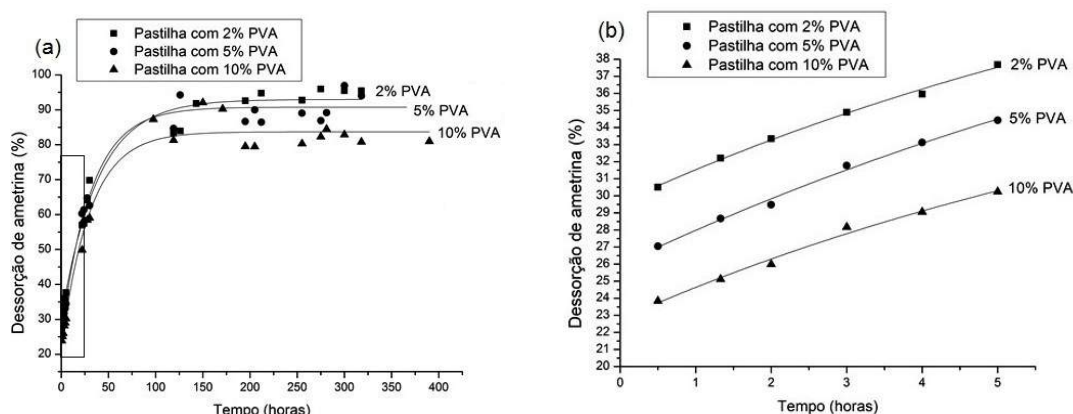


Figura 4. Estudo da liberação em relação à porcentagem de PVA – (a) liberação total e (b) liberação inicial.

#### 4 CONCLUSÃO

Os ensaios revelaram que a utilização do PVA altera o comportamento de liberação do carvão ativado, de modo que o aumento do PVA reduz a liberação inicial, devido à barreira difusional para saída do herbicida. No entanto, a alta capacidade de hidratação e o intumescimento do polímero fazem com que esta barreira se dissolva ou se torne permeável, facilitando o processo de troca. Também, pode-se verificar que a pressão de compactação não segue um padrão definido para a taxa de liberação, sendo possível a ocorrência de segregação do PVA, tornando o material pouco homogêneo.

Já nos ensaios empregando o meio ácido observou-se que a acidificação acelera a liberação, além de aumentar a quantidade total em solução. E, também, quanto maior a acidificação do meio (liberação em solução de ácido forte) mais rápida é a liberação.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Rede Agronano, ao CNPq, e à FINEP pelo apoio concedido.

## REFERÊNCIAS

- COELHO, E. R. C.; VAZZOLER, H.; LEAL, W. P. Emprego do carvão ativado para remoção de atrazina em água de abastecimento público. *Engenharia Sanitaria e Ambiental*, v. 17, n. 4, p. 421-428, 2012.
- HERNÁNDEZ, M.; MORGANTE, V.; VILLALOBOS, P.; MIRALLES, P.; GONZÁLEZ, M.; SEEGER, M. Novel s-triazine-degrading bacteria isolated from agricultural soils of central Chile for herbicide bioremediation. *Electronic Journal of Biotechnology*, v.11, n. 5, p. 1-6, 2008.
- MANGRICH, A. S.; TESSARO, L.C.; ANJOS, A. D.; WYPYCH, F.; SOARES, J. F. A slow-release K<sup>+</sup> fertilizer from residues of the Brazilian oil-shale industry: synthesis of kalsilite-type structures. *Environmental Geology*, v. 40, p. 1030–1036, 2001.
- SHI, R.; BI, J.; ZHANG, Z.; CHEN, D.; ZHOU, X.; ZHANG, L.; TIAN, W. The effect of citric acid on the structural properties and cytotoxicity of the polyvinyl alcohol/starch films when molding at high temperature. *Carbohydrate Polymers*, v. 74, n. 4, p. 763-770, 2008.

---

## MODELOS CINÉTICOS DE ABSORÇÃO DE ÁGUA EM ESPUMAS DE PVA OBTIDAS POR FREEZE DRYING

Isabela Cristina Barros Pereira<sup>1</sup>, Milena Gomes Barbosa da Silva<sup>1</sup>, Luiz Henrique Capparelli Mattoso<sup>2</sup>, Eliton Souto Medeiros<sup>3</sup>, \*Juliano Elvis Oliveira<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal da Paraíba, Departamento de Engenharia Química. <sup>2</sup>Embrapa Instrumentação, Laboratório Nacional de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio, São Carlos, SP. <sup>3</sup>Universidade Federal da Paraíba, Departamento de Engenharia de Materiais.  
\*juliano.materiais@gmail.com

**Classificação:** Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio.

### Resumo

Em razão do aumento das preocupações ambientais e buscando diminuir a degradação ambiental, muitos especialistas passaram a demonstrar considerável interesse sobre o álcool polivinílico (PVA), devido ao seu ótimo desempenho ambiental e preço baixo em relação a outros materiais biodegradáveis [1,2]. Espumas de PVA também são fortes candidatas para uso ao invés de espumas não biodegradáveis comumente utilizadas para aplicações com vida curta, devido a suas potentes características, especialmente na liberação controlada e nos campos agrícolas [3]. Nessa pesquisa, buscou-se utilizar uma técnica eficaz para fabricação de espuma biodegradável livre do contato com solventes tóxicos. Os objetos utilizados na pesquisa foram complexo de inclusão (2-heptanona/ $\beta$ -ciclodextrina ( $\beta$ -CD)). O método é baseado na preparação em estado sólido, através da liofilização, obtendo assim complexos de inclusão de elevado rendimento. Todas as amostras foram caracterizadas por absorção de água.

**Palavras-chave:** Complexo de inclusão; Espumas de PVA; 2-heptanona; absorção de água.

### KINETIC MODELS OF WATER ABSORPTION OF PVA FOAMS OBTAINED BY FREEZE DRYING

#### Abstract

Considering the increasing of environmental concerns and searching to decrease environmental degradation, many experts began demonstrating considerable interest on the polyvinyl alcohol (PVA), owing to its excellent environmental performance and low cost compared to other biodegradable materials [1,2]. PVA foam's are also strong candidates for use instead of non-biodegradable foams commonly utilized for applications with short life, due to its strong technical features, especially in controlled release and agricultural fields [3]. In this study, we attempted to use an effective technique for making biodegradable foam free from contact with toxic solvents. The objects used in the research were the inclusion complex (2-heptanone/ $\beta$ -cyclodextrin ( $\beta$ -CD)). The preparation method is based on solid state, by lyophilization, thus obtaining inclusion complexes in high yield. All samples were characterized by water absorption.

**Keywords:** Inclusion Complex, PVA foam, 2-heptanone, water absorption.

## 1 INTRODUÇÃO

O grande objetivo dessa pesquisa é o desenvolvimento e caracterização de espumas de álcool polivinílico (PVA) e complexos de inclusão 2-heptanona/ $\beta$ -ciclodextrina com ênfase em diversas aplicações que envolvem o encapsulamento e posterior liberação de feromônios de interesse no agronegócio.

O desenvolvimento de polímeros biodegradáveis provenientes de matérias-primas renováveis com o intuito da redução de resíduos de materiais poliméricos descartados no meio ambiente vem sendo objeto de estudo e interesse de uma grande classe de pesquisadores [1,2]. O poli(álcool vinílico) (PVA) é um polímero sintético, solúvel em água e biodegradável, adequado para simulação de tecidos naturais [3]. Apresenta boa permeabilidade ao oxigênio, não mostra efeitos imunogênicos e apresenta excelente formação de filme, propriedades de emulsificação e re-hidratação. Tem sido utilizado como carregador de princípios ativos, devido às suas propriedades de degradabilidade e não toxicidade. Por sua versatilidade e excelentes propriedades, o PVA tem sido utilizado em um grande número de aplicações industriais [4].

As ciclodextrinas (CDs) constituem uma nova classe de excipientes farmacêuticos usadas para alterar as propriedades físico-químicas e biológicas indesejáveis de certos fármacos através da complexação dos mesmos com as CDs. A característica mais importante das CDs é a sua habilidade de formar complexos de inclusão em muitas moléculas hóspedes (que são compostos orgânicos ou inorgânicos, de natureza iônica ou neutra) em uma solução. As ciclodextrinas naturais apresentam três diferentes tipos de estruturas que ocorrem por modificação enzimática de seis, sete ou oito unidades de glicose, denominadas, respectivamente,  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$  – CD [5,6]. Devido a sua cavidade hidrofóbica, na qual substratos podem ser “aprisionados” para formarem complexos de inclusão, as ciclodextrinas podem hospedar distintos compostos, cuja estequiometria mais usual é 1:1 [7,8].

Feromônios são substâncias químicas que, captadas por animais de uma mesma espécie (intra-específica), permitem o reconhecimento mútuo e sexual dos indivíduos. Existem vários tipos de feromônio, como os feromônios sexuais, de agregação, de alarme, entre outros. Atualmente existe um grande interesse no estudo de feromônios de insetos e do controle de sua liberação, considerando que estes podem fornecer alternativas ao uso de inseticidas para o controle de populações de insetos-praga [9,10]. O feromônio utilizado nesta pesquisa é o 2-heptanona, cuja fórmula molecular é  $C_7H_{14}O$  e é caracterizado como um líquido incolor branco-água, com um odor que se assemelha ao da fruta banana, o qual é obtido através do excremento de abelhas quando elas mordem pequenas pragas dentro da colônia.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 MATERIAIS

O álcool polivinílico (PVA), a 2-heptanona e a  $\beta$ -ciclodextrina empregados neste trabalho foram adquiridos da Sigma-Aldrich. Os solventes utilizados na obtenção dos filmes serão: água destilada e álcool etílico P.A. (FMaia).

### 2.2 MÉTODOS

#### 2.2.1 Formação dos Complexos 2-heptanona/ $\beta$ -ciclodextrina

Na primeira etapa desse estudo, foram produzidos os complexos de inclusão 2-heptanona/ $\beta$ -ciclodextrina utilizando-se o método de preparação em estado sólido, através da liofilização. Optou-se pela escolha desse método devido sua capacidade de permitir a obtenção de complexos de inclusão com elevado rendimento. A 2-heptanona junto com a  $\beta$ -ciclodextrina foram dissolvidos em um mesmo solvente para formação de um sistema em solução. A partir daí, através de um prévio congelamento e posterior secagem a pressões reduzidas, utilizando-se o liofilizador, houve a eliminação do solvente e ao mesmo tempo a formação de um pó seco, amorfo e com alto grau de interação entre a 2-heptanona e a  $\beta$ -ciclodextrina.

#### 2.2.2 Caracterização dos Complexos 2-heptanona/ $\beta$ -ciclodextrina

Após a produção, os complexos de inclusão foram caracterizados através da técnica de espectroscopia de infravermelho (FTIR) com o intuito de avaliar o grau de eficiência da reação de comple-

xação.

### 2.2.3 Preparo das Espumas de Álcool Polivinílico (PVA)

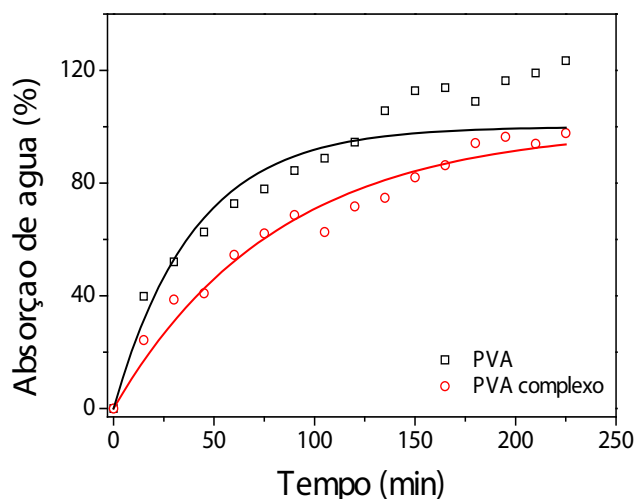
Nesta segunda etapa da pesquisa, foram incorporados os complexos de inclusão 2- heptanona/ $\beta$ -ciclodextrina em espumas de álcool polivinílico (PVA), utilizando-se também o método de preparação denominado freeze drying, através da liofilização. O complexo de inclusão formado pela  $\beta$ -ciclodextrina e 2-heptanona foi dissolvido em água destilada e após homogeneização sobre agitação magnética vigorosa foi adicionado PVA numa concentração de 10% m/v. O sistema formado foi congelado bruscamente até aproximadamente  $-100^{\circ}\text{C}$  e encaminhado a um liofilizador para completa eliminação da fase solvente. Este processo levou a formação de uma espuma biodegradável com alto grau de interação entre o complexo de inclusão e o polímero.

### 2.2.4 Caracterização das Espumas de Álcool Polivinílico (PVA)

Foram realizados experimentos de absorção de água para avaliar o comportamento das espumas produzidas com e sem a presença do complexo de inclusão. Nestes ensaios, amostras em triplicata das espumas foram pesadas em balança analítica e imersas em água destilada. A massa das amostras foi determinada periodicamente até sua estabilização em função do tempo. Para avaliar a cinética de absorção de água foi aplicado um modelo cinético de 1ª ordem

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados experimentais obtidos estão apresentados na Figura 1.



**Figura 1.** Perfil de Absorção de água nas espumas biodegradáveis obtidas por freeze drying

A cinética de absorção de água foi investigada através de um modelo de 1ª ordem, de Higushi e de Weibull de acordo com as equações 1, 2 e 3 respectivamente.

$$\text{Água Absorvida (\%)} = 100x[1 - e^{-kt}] \quad (1)$$

$$\text{Água Absorvida (\%)} = Kxt^{1/2} \quad (2)$$

$$\text{Água Absorvida (\%)} = 100x \left\{ 1 - e^{-t^{\beta}/\alpha} \right\} \quad (3)$$

Os resultados obtidos com a aplicação de cada um dos modelos se encontram reportados na tabela 1. Com auxílio do coeficiente de correlação (R) observa-se que o modelo de Higushi melhor representou os dados experimentais obtidos para a absorção de água na espuma de PVA e na espuma de PVA contendo o complexo de inclusão  $\beta$ -ciclodextrina/2-heptanona. A constante cinética K relaciona a velocidade da absorção de água com a fração absorvida. A incorporação do complexo de inclusão nas espumas de PVA levou a uma redução na constante cinética K. Essa redução indica que a absorção de água é dificultada pela presença do complexo de inclusão e da morfologia final resultante.

**Tabela 1.** Parâmetros obtidos a partir de modelos cinéticos

Parâmetro	PVA			PVA + complexo		
	1ª Ordem	Higushi	Weibull	1ª Ordem	Higushi	Weibull
K	0,025	8,66	$\alpha=49,2$ $\beta=1,05$	0,012	6,69	$\alpha=53,49$ $\beta=0,91$
t50	27,7	33,4	28,84	56,3	55,9	53,22
R	0,88	0,98	0,88	0,97	0,99	0,97

Os parâmetros  $\alpha$  e  $\beta$  obtidos a partir do modelo de Weibull sofreram um decréscimo com a adição do complexo de inclusão nas espumas biodegradáveis de poli(álcool vinílico). Sua magnitude está associada a taxa de absorção de água e a capacidade de absorção máxima de cada espuma, sendo que maiores valores indicam maiores taxas e capacidade de absorção.

#### 4 CONCLUSÃO

Espumas biodegradáveis de poli(álcool vinílico) foram obtidas pela técnica de freeze drying. O complexo de inclusão  $\beta$ -ciclodextrina/ 2-heptanona foi incorporado de forma eficiente nas espumas de PVA. A incorporação do complexo reduziu a capacidade de absorção de água das espumas e o modelo cinético de primeira ordem foi o que melhor descreveu o comportamento das espumas biodegradáveis.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Embrapa, Laboratório Nacional de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio e CNPq (Processo 409955/2013-2).

#### REFERÊNCIAS

- Gilding, D. K.; Reed, A. M., Polymer 20, 1459 1979.
- Li, S.M.; Garreau, H.; Vert, M. J. Materials Science in Medicine 1, 123 1990.
- Merck PVA EMPROVE Ph Eur, USP. Disponível em: <[http://www.merckmillipore.com.br/pharmaceutical-ingredients/polyvinyl-alcohol\\_pva/c\\_EsCb.s1OCXwAAAEYEWMDnIV](http://www.merckmillipore.com.br/pharmaceutical-ingredients/polyvinyl-alcohol_pva/c_EsCb.s1OCXwAAAEYEWMDnIV)>. Acesso: 11 mai. 2014.
- Das, Nilanjana; Chakraborty, Sriparna; Biswas, Prasanta Kumar, RSC ADVANCES 2(24) 9183, 2012.
- Das, Subhraseema; Subuddhi, Usharani, Journal of Applied Polymer Science, 131(11), 2014.
- Fraceto, Leonardo Fernandes; Grillo, Renato; Sobarzo-Sanchez, Eduardo, CURRENT TOPICS IN MEDICINAL CHEMISTRY, 14(4), 518, 2014.
- SZEJTLI, J. Cyclodextrin Technology. Boston: Kluwer Academic Publishers, 1988.
- BENDER, M. L.; KOMIYAMA, M. Cyclodextrin Chemistry. Springer, Berlin, 1978.



9. Cork, A.; De Souza, K.; Hall, D. R.; Jones, O. T.; Casagrande, E.; Krishnaiah, K.; Syed, Z., *Crop Protection* 27, 248 2008.
10. Vacas, S.; Alfaro, C.; Navarro-Llopis, V.; Zarzo, M.; Primo, J., *Journal of Economic Entomology* 102, 1094 2009.

---

## PROPRIEDADES ANTIMICROBIANAS DAS NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA ENCAPSULADAS COM CLOREXIDINA

Isaque Jerônimo Porto<sup>1</sup>, Allan Reis Albuquerque<sup>2</sup>, Roberta Ferreti Bonan<sup>2</sup>, Eliton Souto Medeiros<sup>1</sup>, Luiz Henrique Capparelli Mattoso<sup>3</sup>, \*Juliano E. Oliveira<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal da Paraíba, Departamento de Engenharia de Materiais, PB. <sup>2</sup>Universidade Federal da Paraíba, Departamento de Odontologia, PB. <sup>3</sup>Embrapa Instrumentação, Laboratório Nacional de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio, São Carlos, SP.  
\*juliano.materiais@gmail.com

**Classificação:** Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio.

### Resumo

Os sistemas de liberação controlada têm como objetivo a manutenção da concentração de um fármaco no organismo em níveis terapêuticos por maiores períodos de tempo, maior biodisponibilidade e menor toxicidade da droga utilizada, tendo como consequência a redução dos efeitos colaterais. O desenvolvimento de sistemas carreadores de fármacos a partir de nanopartículas de quitosana possui inúmeras vantagens, pois associam os benefícios de um sistema de liberação controlada as características desejáveis presentes na quitosana tais como biodegradabilidade, biocompatibilidade e propriedades antiinflamatórias. Neste trabalho objetiva-se analisar a influência da incorporação de clorexidina em nanopartículas de quitosana em diferentes concentrações. A síntese nas nanopartículas de quitosana incorporadas com clorexidina foi realizada pelo método de gelatinização ionotrópica e a avaliação microbiológica destas foi realizada medida dos halos de inibição do crescimento de microorganismos por difusão em Agar BHI caldo. As nanopartículas de quitosana incorporadas com clorexidina apresentaram inibição do crescimento de microorganismos. As nanopartículas de quitosana incorporadas com clorexidina podem representar uma alternativa no controle de *Staphylococcus aureus*.

**Palavras-chave:** Quitosana; Clorexidina; Nanopartículas Biopoliméricas; Encapsulamento, Liberação controlada.

### ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF CHITOSAN NANOPARTICLES ENCAPSULATED WITH CHLOREXIDINE

#### Abstract

The controlled release systems are designed to maintain the concentration of a drug in the body at therapeutic levels for longer periods of time, greater bioavailability and less toxicity of the drug used, resulting in the reduction of side effects. The development of carrier systems for drugs based on chitosan nanoparticles has many advantages, as they associate the benefits of a controlled release system the desirable characteristics present in chitosan such as biodegradability, biocompatibility and anti-inflammatory properties. This work aims to analyze the influence of the incorporation of chlorhexidine into chitosan nanoparticles in different fractions. The nanoparticle synthesis of chitosan and chitosan/chlorhexidine was performed by the ionotropic gelation method and microbiological evaluation of these measurement of inhibition zones was performed the growth of microorganisms by agar diffusion BHI. Nanoparticles of chitosan incorporated chlorhexidine showed inhibition of the growth of microorganisms. The chitosan nanoparticles incorporated with chlorhexidine may be an alternative in the control of *Staphylococcus aureus*.

**Keywords:** Chitosan; Chlorhexidine; Biopolymeric Nanoparticle; Encapsulation, Drug release

## 1 INTRODUÇÃO

Os sistemas de liberação controlada vêm se destacando pelo aperfeiçoamento da administração de fármacos. Estes possuem dois objetivos principais: manter o nível farmacológico em concentrações terapêuticas no organismo do paciente e redução dos efeitos colaterais, com isso se obtém melhor resposta do medicamento, eleva-se o número de pacientes que aderem ao tratamento e diminuição do número de dosagens [1, 2].

Atualmente vários sistemas de liberação controlada estão disponíveis comercialmente, estes diferem entre si em relação a tamanhos, vias de administração, concentrações, incompatibilidade, entre outros variáveis. Esta é uma consequência do fato de não existir um dispositivo ideal, de forma que para cada substância e concentração é preciso um novo dispositivo [1].

O desenvolvimento de sistemas carreadores de fármaco a partir de quitosana possui inúmeras vantagens, pois associam os benefícios da liberação controlada às características desejáveis presentes na quitosana tais como biodegradabilidade, biocompatibilidade e propriedades antiinflamatórias [2, 3]. Estes se tornam possíveis pelo encapsulamento de fármaco em nanopartículas de quitosana por métodos como o gelatinização ionotrópica [4].

O objetivo deste trabalho foi a síntese de nanopartículas de quitosana com e sem a incorporação de clorexidina pela técnica de gelatinização ionotrópica para avaliação da atividade antibacteriana frente a bactéria *Staphylococcus aureus*.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Os materiais utilizados para a síntese das nanopartículas de quitosana e quitosana encapsuladas com clorexidina foram: Quitosana (QS) de baixo peso molecular com 75% de desacetilação, Tripolifosfato de sódio (TPP) e Digluconato de Clorexidina (CHX) obtidos através da Sigma Aldrich Chemical Company (USA) e ácido acético obtido através da Vertec (Brasil).

As nanopartículas de quitosana foram sintetizadas pelo método de gelatinização ionotrópica conforme reportado por Moura et al. [4]. O processo consiste na solubilização da quitosana em ácido acético (1%) e do TPP em água destilada. Na sequência as soluções de quitosana são mantidas sob intensa agitação magnética e temperatura ambiente à medida que as soluções de TPP são gotejadas a taxa de 1000 $\mu$ L/min. Após o fim do gotejamento as soluções permaneceram em agitação por 15 minutos. Foram preparadas três nanopartículas de clorexidina em concentrações diferentes denominadas de S1, S2 e S3.

A síntese das nanopartículas de quitosana incorporadas com clorexidina foi realizada de maneira similar, porém, após a solubilização da quitosana em ácido acético (1%) e previamente ao gotejamento do TPP, foi adicionada uma solução aquosa de clorexidina a 4% em cada solução de QS de modo que a concentração final do antibiótico na solução foi de 0,12%. As soluções permaneceram sob agitação magnética por 10 min. e em seguida o TPP foi adicionado de modo similar ao processo das nanopartículas de quitosana. Foram preparadas três nanopartículas de clorexidina incorporadas com quitosana em concentrações diferentes denominadas de S4, S5 e S6.

A Tabela 1 apresenta as concentrações de quitosana, TPP e clorexidina utilizadas nas sínteses das nanopartículas de quitosana (S1, S2 e S3) e quitosana com a incorporação de clorexidina (S4, S5 e S6).

**Tabela 1.** Concentrações utilizadas nas sínteses das nanopartículas de quitosana e quitosana incorporadas com clorexidina

Soluções	Concentração (mg/ml)		
	QS	TPP	CHX
S1	3,38	0,48	0,00
S2	2,42	0,28	0,00
S3	1,65	0,14	0,00
S4	3,28	0,47	0,12
S5	2,35	0,27	0,12
S6	1,60	0,13	0,12

A avaliação microbiológica foi realizada por difusão em Agar BHI. Para o cultivo bacteriano foram diluídos 1000  $\mu\text{L}$  do microorganismo em 7 ml BHI caldo, e armazenados em jarra anaeróbica por 24 horas em estufa bacteriológica a 37°C. Em seguida, os inóculos foram padronizados pela escala McFarland ( $10^8$  células/mL) e semeados em placas de Petri.

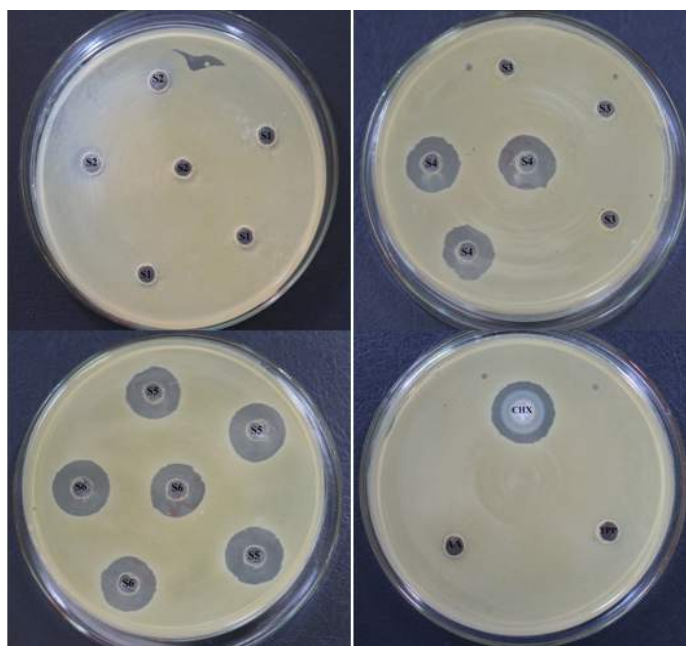
O teste foi realizado para as nanopartículas de quitosana com e sem incorporação de clorexidina. Como controle positivo foi utilizado digluconato de clorexidina, na concentração de 2%. Como controles negativos foram utilizados as soluções de ácido acético (1%) e TPP (2%), utilizados na produção das nanopartículas.

Em cada placa de petri foram feitos 6 poços e para cada poço foi colocada uma alíquota de 100 $\mu\text{L}$  de cada solução testada, sendo feito em triplicata. As amostras foram distribuídas nas placas da seguinte maneira: placa 1: S1 e S2, placa 2: S3 e S4, placa 3: S5 e S6 e placa 4: ácido acético, TPP e clorexidina.

Após preenchimento dos poços, as placas foram armazenadas por 24 h em estufa bacteriológica a 37°C. Na sequência a inibição do crescimento bacteriano foi determinada pela medida dos halos de inibição formados ao redor dos poços. O halo foi expresso como a média de 5 determinações  $\pm$  o desvio padrão.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 apresenta os resultados obtidos no ensaio de atividade antimicrobiana por difusão em Agar. Pode-se observar que as amostras de nanopartículas de quitosana (S1, S2 e S3) não apresentam atividade antimicrobiana significativa. As amostras de nanopartículas de quitosana incorporadas com clorexidina (S4, S5 e S6) apresentaram formaram halos de inibição em todas as concentrações estudadas. Dos testes realizados como controle positivo (clorexidina) e controle negativo (ácido acético e TPP), apenas a clorexidina mostrou atividade antimicrobiana



**Figura 1.** Resultado obtido para ensaio de atividade antimicrobiana para as nanopartículas de quitosana com e sem incorporação de clorexidina e controles positivo e negativo. Siglas (AA-ácido acético, TPP-tripolifosfato, CHX-clorexidina, S-solução de nanopartículas de quitosana)

A medida do diâmetro médio (mm) dos halos de inibição e desvio padrão (mm) obtidos para as amostras S4, S5, S6 e CHX estão descritos na Tabela 2.

**Tabela 2.** Medida dos halos de inibição de S4, S5 e S6

Halo	S4	S5	S6	CHX
Media (mm)	$5,10 \pm 0,46$	$5,56 \pm 0,34$	$5,19 \pm 0,27$	$6,5 \pm 0,3$

#### 4 CONCLUSÃO

Os resultados demonstram que as nanopartículas de quitosana estudadas, S1, S2 e S3 não apresentam atividade antimicrobiana. No entanto, as nanopartículas de quitosana incorporadas com clorexidina mostram maior eficiência quando comparadas com o controle positivo, podendo representar uma significativa alternativa no controle de *Staphylococcus aureus*, um importante patógeno humano.

A variação da concentração de quitosana, nos valores estudados, não apresenta alteração significativa na medida dos valores dos halos de inibição.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Embrapa, Laboratório Nacional de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio e CNPq (Processo 409955/2013-2).

#### REFERÊNCIAS

1. Henrique, J.S., R.S. Falcare, and P.S. Lopes, Sistemas de Liberação Controlada. Pharmacia Brasileira, 2006. **56**: p. 22.
2. RUBENS, S.-N., et al., Biomateriais à base de quitosana com aplicação médica e odontológica: revisão de literatura. Revista de Odontologia da UNESP, 2008. **37**(2): p. 155-161.
3. Azevedo, V., et al., Quitina e quitosana: aplicações como biomateriais. Revista eletrônica de Materiais e processos, 2007. **2**(3): p. 27-34.
4. MOURA Aouada, M.R., Aplicação de nanopartículas em filmes utilizados em embalagens para alimentos. 2009.

---

## HETEROESTRUTURAS DE WO<sub>3</sub>:TiO<sub>2</sub> APLICADAS NA FOTODEGRADAÇÃO DE CORANTES

\*Oliveira, J.A.<sup>1</sup>, Castro, I. A.<sup>2</sup>, Paris, E. C.<sup>3</sup>, Ribeiro, C.<sup>3</sup>, Giralddi, T. R.<sup>1</sup>, Poirier, G. Y.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Alfenas, Campus Avançado de Poços de Caldas, Poços de Caldas, MG.

<sup>2</sup>Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP. <sup>3</sup>Embrapa CNPDIA, São Carlos, SP.

\*jessicarianeoliveira@hotmail.com

**Classificação:** Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio.

#### Resumo

Em trabalhos anteriores (OLIVEIRA, 2014), partículas de TiO<sub>2</sub>, WO<sub>3</sub> e heteroestruturas de TiO<sub>2</sub>:WO<sub>3</sub> foram sintetizadas pelo Método dos Precursores Poliméricos e usadas na fotodegradação do corante Rodamina B (RhB). Diversas composições foram avaliadas e a amostra que teve a maior atividade fotocatalítica foi 50%TiO<sub>2</sub>:50%WO<sub>3</sub> (m/m) (W50). Portanto, essa composição foi utilizada no presente estudo para degradar diferentes corantes: RhB, Azul de Metileno e Alaranjado de Metila. As heteroestruturas foram caracterizadas por DRX, BET, FEG, PL. DRX detectou em W50 picos de difração não muito bem definidos, indicando que as partículas são amorfas. Por BET, constatou-se que a maior área superficial foi a de W50 (107.6 m<sup>2</sup>.g<sup>-1</sup>). Por FEG, verificou-se morfologia mais homogênea em W50. Por PL, W50 demonstrou a menor taxa de recombinação eletrônica. Assim, W50 possivelmente tem a melhor atividade catalítica porque suas partículas apresentam alta área superficial, estrutura amorfa, menor taxa de recombinação eletrônica e formação de heteroestrutura mais eficiente. Os ensaios fotocatalíticos foram realizados na região UVC a temperatura ambiente. Foi observado que a presença dos catalisadores acelera a degradação dos três corantes analisados. Devido aos perfis exponenciais observados para a cinética de degradação dos corantes sob luz UV, pode-se sugerir que a reação é de primeira ordem em relação aos corantes. Logo, conclui-se que W50 é eficiente na fotodegradação de diferentes compostos. **Palavras-chave:** TiO<sub>2</sub>; WO<sub>3</sub>; Heteroestruturas; Fotodegradação; Corantes.

## WO<sub>3</sub>:TiO<sub>2</sub> HETEROSTRUCTURES APPLIED IN THE PHOTODEGRADATION OF DYES

### Abstract

In previous studies (OLIVEIRA, 2014), particles of TiO<sub>2</sub>, WO<sub>3</sub> and TiO<sub>2</sub>:WO<sub>3</sub> heterostructures were synthesized by the Polymeric Precursor Method and used in the photodegradation of dye Rhodamine B (RhB). Several compositions were evaluated and the sample that had the highest photocatalytic activity was 50%TiO<sub>2</sub>:50%WO<sub>3</sub> (p/p) (W50). Therefore, this composition was used in present work to degrade different dyes: RhB, Methylene Blue, Methyl Orange. Heterostructures were characterized by XDR, BET, FEG, PL. XRD detected in W50 diffraction peaks not well defined, indicating that the particles are amorphous. BET shows that the largest surface area was the W50 (107.6 m<sup>2</sup>.g<sup>-1</sup>). By FEG it was verified W50 showed more homogeneous morphology. By PL W50 demonstrated the lowest rate of electron recombination. Then, possibly W50 has the best photocatalytic activity because its particles have a high surface area, amorphous feature, lowest rate of electron recombination and a formation of heterostructure more effective. The photocatalytic essays were performed in the UVC region and at room temperature. It was observed that the presence of catalysts accelerated degradation of three dyes analyzed. Due of the exponential profiles observed for the kinetic degradation of dyes under UV light, it can suggest that the reaction is first-order with respect to the dyes. Thus, it can conclude that W50 is efficient in the photodegradation of different compounds.

**Keywords:** TiO<sub>2</sub>; WO<sub>3</sub>; Heterostructures; Photodegradation; Dyes.

## 1 INTRODUÇÃO

Atualmente, procura-se continuamente pelo desenvolvimento sustentável, verificando-se um maior envolvimento e preocupação das autoridades governamentais e da população em geral com o controle da poluição ambiental. Com relação aos tipos de poluição ambiental, destaca-se a contaminação dos recursos hídricos, podendo-se citar como exemplo as indústrias têxteis e de couro que descartam grande parcela dos corantes sintéticos utilizados em seus processos. Assim, faz-se necessário o tratamento desses efluentes e uma das possíveis alternativas é a utilização dos Processos Oxidativos Avançados (POAs) em uma reação fotocatalítica. O semicondutor geralmente mais empregado na fotocatalise é o TiO<sub>2</sub>. Contudo, a eficiência fotocatalítica do TiO<sub>2</sub> é comprometida pela recombinação eletrônica das cargas fotogeradas durante os POAs. Para evitar essa recombinação, pode-se realizar a junção com outros semicondutores, como, por exemplo, WO<sub>3</sub>:TiO<sub>2</sub> (CERVANTES, ZAIA, SANTANA, 2009).

Dessa maneira, em trabalhos anteriores (OLIVEIRA, 2014), sintetizaram-se, pelo Método dos Precursores Poliméricos, partículas de TiO<sub>2</sub> puro, WO<sub>3</sub> puro, e em diferentes proporções mássicas de TiO<sub>2</sub> – 10%, 20%, 50%, 80% e 90% (m/m) – para o estudo de suas atividades fotocatalíticas na degradação do corante Rodamina B (RhB). Segundo Oliveira (2014), a amostra que possuiu maior atividade fotocatalítica foi a de composição intermediária dos óxidos, ou seja, 50%WO<sub>3</sub>:50%TiO<sub>2</sub> (m/m) (W50). Assim, nos presentes estudos, utilizou-se a amostra W50 como catalisador na reação de fotodegradação de outros corantes, os quais são Azul de Metileno (AzM) e Alaranjado de Metila (AIM), bem como, realizou-se novamente o ensaio de fotodegradação da RhB.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

No Método dos Precursores Poliméricos, primeiramente se forma um citrato metálico e posteriormente se adiciona etilenoglicol para promover a polimerização. Assim, para a obtenção do citrato de titânio, dissolveu-se ácido cítrico (AC) em água deionizada com posterior adição de isopropóxido de titânio – 3:1 (AC:Ti). Já para o citrato de tungstênio, ácido tungstico foi solubilizado em aproximadamente 50 ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, sendo esta mistura adicionada em uma solução aquosa de AC – 10:1 (AC:W). Ambas as soluções ficaram sob constante agitação e foram aquecidas a 70°C, durante 30 min, para complexação.

Os citratos (CI) obtidos foram misturados nas proporções mássicas desejadas e em seguida, adicionou-se etilenoglicol (EG) para promover a polimerização – 40:60 (EG:CI). As soluções obtidas foram pirolisadas a 300°C por 2 horas, a uma taxa de aquecimento de 5°C/min, e em seguida calcinadas a 500°C por 2 horas, a uma taxa de aquecimento de 10°C/min. Deste modo, as heteroestruturas de WO<sub>3</sub>:TiO<sub>2</sub> foram obtidas, conforme as composições apresentadas pela Tabela 1.

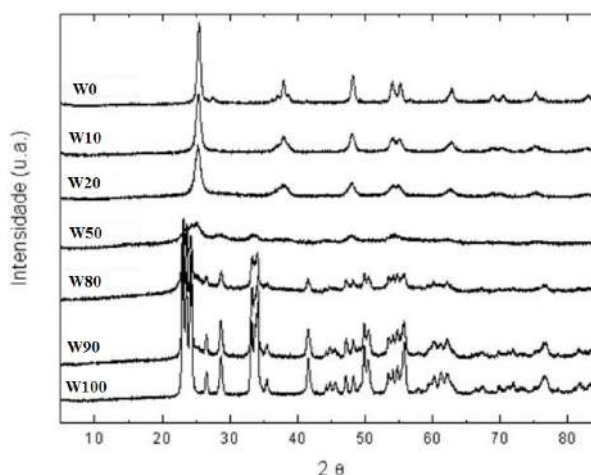
Tabela 1. Composição das amostras preparadas de catalisadores

Composição (% m/m)	Amostra
100%WO <sub>3</sub>	W0
WO <sub>3</sub> :10%TiO <sub>2</sub>	W10
WO <sub>3</sub> :20%TiO <sub>2</sub>	W20
WO <sub>3</sub> :50%TiO <sub>2</sub>	W50
WO <sub>3</sub> :80%TiO <sub>2</sub>	W80
WO <sub>3</sub> :90%TiO <sub>2</sub>	W90
100%TiO <sub>2</sub>	W100

Então, as partículas foram caracterizadas por diferentes análises, citando-se DRX, adsorção física de nitrogênio utilizando a equação BET, imagens FEG e espectros PL. Utilizou-se a amostra W50 para realizar a fotodegradação dos corantes AzM, AIM e RhB. Os ensaios fotocatalíticos foram realizados na região do UVC. Soluções aquosas de RhB, AzM e AIM 5 mg/l foram preparadas. Em três diferentes béqueres foram adicionados separadamente 50 ml de cada uma das soluções e, em cada um, 0,01 g de W50 – amostra que apresentou maior atividade fotocatalítica na degradação da RhB segundo estudos realizados por Oliveira (2014). O sistema foi mantido à temperatura ambiente, sob constante agitação e iluminado por quatro lâmpadas UVC. A degradação dos corantes foi monitorada por medidas de absorbância, realizadas em um espectrômetro UV-vis, em diferentes tempos de exposição à luz.

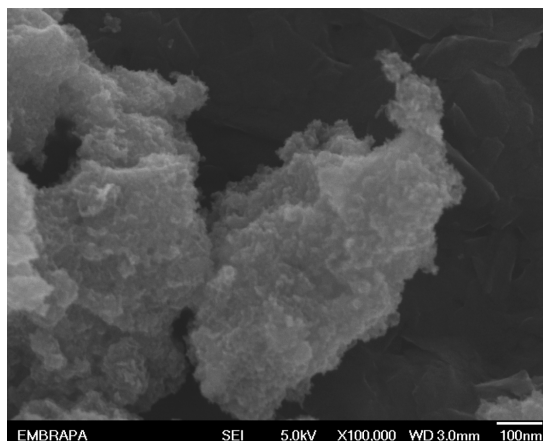
### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pela análise dos difratogramas de raios-X das amostras, Figura 1, pode-se dizer que o WO<sub>3</sub> se encontra na fase monoclinica e o TiO<sub>2</sub> apresenta picos relativos majoritariamente à fase anatase. Além disso, verificou-se que a amostra de W50 apresenta picos de difração não muito bem definidos, indicando que as partículas da amostra são amorfas.

Figura 1. Difratogramas de raios-X das partículas WO<sub>3</sub>:TiO<sub>2</sub>.

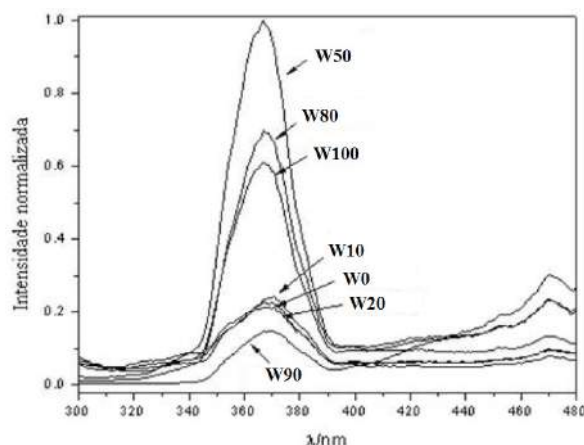
Pela adsorção física de nitrogênio foi possível obter a área superficial das amostras, sendo que a amostra W50 apresentou a maior área superficial (107,6 m<sup>2</sup>.g<sup>-1</sup>).

A morfologia de todas as amostras foi analisada por Microscopia Eletrônica por Emissão de Campo (FEG), sendo que a amostra W50 está representada na Figura 2. Acredita-se que W50 apresenta uma estrutura amorfa, já que as suas partículas aparentemente não exibem um contorno de grão definido. Essa suposição é sustentada pelo seu difratograma de raios-X, apresentado na Figura 1, que também demonstra que a amostra W50 possui baixa cristalinidade.



**Figura 2.** Microscopia Eletrônica por Emissão de Campo da amostra W50.

As intensidades PL podem ser entendidas como inversamente proporcionais à presença de centros de recombinação nas amostras. Como pode ser verificada pela Figura 3, a amostra W50 apresentou maior intensidade do que as demais. Possivelmente esta razão mássica proporciona uma menor recombinação de cargas.



**Figura 3.** Espectros de fotoluminescência das amostras. Todas as intensidades foram normalizadas para a amostra mais intensa (W50).

Segundo Oliveira (2014) a amostra W50 apresenta maior atividade fotocatalítica na degradação da RhB e conforme pode ser constatado pelas análises descritas e discutidas anteriormente, possivelmente W50 apresenta essa maior atividade fotocatalítica devido ao fato de que suas partículas apresentam alta área superficial, estrutura amorfa, menor taxa de recombinação eletrônica e formação de heteroestrutura mais eficiente.

Assim, os ensaios catalíticos realizados para a fotodegradação do AzM, AIM e RhB, e que utilizaram a amostra W50 como catalisador, mostraram perfis de degradação semelhantes ao encontrado por Oliveira (2014). Os perfis exponenciais observados para a cinética de degradação desses corantes sob luz UV são indicativos de que a reação é de primeira ordem em relação aos corantes.

#### 4 CONCLUSÃO

Nanopartículas das heteroestruturas de  $\text{WO}_3:\text{TiO}_2$  foram sintetizadas com êxito pelo Método dos Precursores Poliméricos. Além disso, ensaios fotocatalíticos foram realizados e bons resultados foram obtidos, sendo que a amostra W50 é eficiente na fotodegradação de diferentes corantes, tais como Azul de Metileno, Alaranjado de Metila e Rodamina B. Possivelmente a amostra W50 apresenta alta atividade fotocatalítica, sob radiação UV, na fotodegradação de corantes devido ao fato de suas partículas apresentarem alta área superficial, estrutura amorfa, menor taxa de recombinação eletrônica e formação de heteroestrutura homogênea.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fapemig pela bolsa e pelos recursos concedidos (Projeto TEC - APQ-01316-12) e ao CNPq pelos recursos concedidos (Projeto RECAM 64913/2010-3).

## REFERÊNCIAS

CERVANTES, T. N. M.; ZAIA, D. A. M.; SANTANA, H. Estudo da fotocatalise heterogênea sobre Ti/TiO<sub>2</sub> na descoloração de corantes sintéticos. *Quim. Nova*, v. 32, n. 9, p. 2423-2428, 2009.

OLIVEIRA, J. A. Obtenção de partículas de WO<sub>3</sub>:TiO<sub>2</sub> aplicadas a Processos Oxidativos Avançados para despoluição de águas. 36p. Monografia (Engenharia Química) – Universidade Federal de Alfenas, UNIFAL, Poços de Caldas, 2014.

---

# NANOPARTÍCULAS LIPÍDICAS SÓLIDAS COMO CARREADOR PARA OS HERBICIDAS ATRAZINA E SIMAZINA: PREPARO E CARACTERIZAÇÃO

**\*Jhones Luiz Oliveira<sup>1</sup>, Estefânia V. R. Campos<sup>2</sup>, Camila Morais Gonçalves da Silva<sup>2</sup>, Tatiane Pasquoto<sup>3</sup>, Renata Lima<sup>3</sup>, Leonardo Fernandes Fraceto<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Universidade Paulista Júlio de Mesquita Filho. <sup>2</sup>Universidade Estadual de Campinas. <sup>3</sup>Universidade de Sorocaba.

\*jholuisoliveira@hotmail.com

**Classificação:** Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio.

## Resumo

Neste trabalho foram preparadas através do método de evaporação-difusão do solvente, nanopartículas lipídicas sólidas (SLN) contendo os herbicidas atrazina e simazina, que foram caracterizadas quanto a suas propriedades físico-químicas (diâmetro, polidispersão, potencial zeta e pH), a sua eficiência de encapsulação, a interação dos herbicidas com a partícula, concentração, morfologia e perfil de cinética de liberação. Os herbicidas apresentaram elevada eficiência de encapsulação nas partículas, sendo de 90 % para atrazina e 98 % para simazina. Análises de espectroscopia de infravermelho e calorimetria diferencial de varredura indicaram a interação dos ativos com as nanopartículas. As SLN apresentaram diâmetro hidrodinâmico médio de 300 nm, um índice de polidispersão abaixo de 0,2 e potencial zeta de aproximadamente -17 mV. Os ensaios de cinética de liberação mostraram que as nanopartículas lipídicas sólidas modificaram o perfil de liberação dos herbicidas, retardando a sua liberação em relação ao herbicida, juntamente com os dados de fluxo aparente, constatou-se que a organização dos herbicidas dentro das partículas ocorre de forma diferente para a encapsulação conjunta (mesmo sistema carreador) e isoladas. Portanto estes resultados obtidos até o momento, abrem novas perspectivas para o uso de sistemas de liberação modificada de herbicidas, os quais podem reduzir a quantidade de produtos utilizados.

**Palavras-chave:** Atrazina. simazina. nanopartículas lipídicas sólidas. liberação modificada.

## SOLID LIPID NANOPARTICLES AS A CARRIER FOR THE HERBICIDES ATRAZINE AND SIMAZINE: PREPARATION AND CHARACTERIZATION.

### Abstract

In this work we have been prepared the solid lipid nanoparticles (SLN) by the method of diffusion-evaporation of the solvent. The solid lipid nanoparticles containing herbicides were characterized according to their physicochemical properties (diameter, polydispersity, zeta potential and pH), encapsulation efficiency, FTIR and DSC showed the interaction between the herbicides and nanoparticles. The herbicides showed high efficiency encapsulation in nanoparticles being close to 90 % for atrazine and 98 % for simazine. The SLN showed hydrodynamic diameter around 300 nm, polydispersity index below 0.2 and the zeta potential of about -17 mV. The release kinetics assays showed that solid lipid nanoparticles modified the release profile of herbicides, decreasing their release in relation to herbicide only. There-



fore these results open new perspectives for the use of modified release systems to herbicides, which may have greater efficacy in pest control.

**Keywords:** Atrazine. simazine. solid lipidic nanoparticles. modified release

## 1 INTRODUÇÃO

A atrazina é um herbicida triazínico seletivo pertencente à família das s-triazinas, aplicada em cultura de milho. A simazina é um herbicida triazínico seletivo sistêmico, absorvido pelas raízes das plantas e disponível em pó, grânulos dispersíveis em água, líquidos e formulações granulares. A simazina é utilizada para o controle de ervas daninhas submersas e de algas, em grandes aquários, piscinas, lagos ornamentais e tanques de cultivo (KODAMA *et al.*, 2001). A nanotecnologia tem recebido grande atenção, pois através dela tem se desenvolvido novas formulações com compostos ativos (c.a) de interesse na agricultura (DURAN; MARCATO, 2013). Basicamente estas formulações ter por objetivo: i) aumentar a solubilidade dos compostos ativos; ii) libera-los de uma forma lenta e/ou iii) protegê-los contra a degradação prematura (KAH; HOFMANN, 2013). As formulações baseadas em nanotecnologia abrangem uma grande variedade de produtos para sua produção, e também uma vasta gama de compostos ativos (herbicidas, inseticidas, acaricidas entre outros) (KAH; HOFMANN, 2013). As nanopartículas lipídicas sólidas, são partículas de tamanho nanométrico, cuja matriz é composta por lipídios sólidos a temperatura ambiente (MÜLLER *et al.*, 2000). As SLN constituem um sistema particulado alternativo, que combina as vantagens de outros sistemas carreadores, como das nanopartículas poliméricas, a permeabilidade dos lipossomas, a biodisponibilidade das emulsões e também diminui os problemas associados a eles. Este trabalho teve por objetivo o preparo e caracterização de nanopartículas lipídicas sólidas contendo os herbicidas atrazina e simazina visando aplicações em agricultura.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Preparo das nanopartículas lipídicas sólidas contendo os herbicidas ATZ e SMZ

As nanopartículas lipídicas sólidas contendo os herbicidas atrazina e simazina foram preparadas segundo o método de emulsificação evaporação do solvente, como descrito no item 1.4.2.1 (VITORINO *et al.*, 2011). A quantificação dos herbicidas atrazina e simazina foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), utilizando-se um equipamento da Varian® Pro Star.

### 2.2 Caracterização das nanopartículas

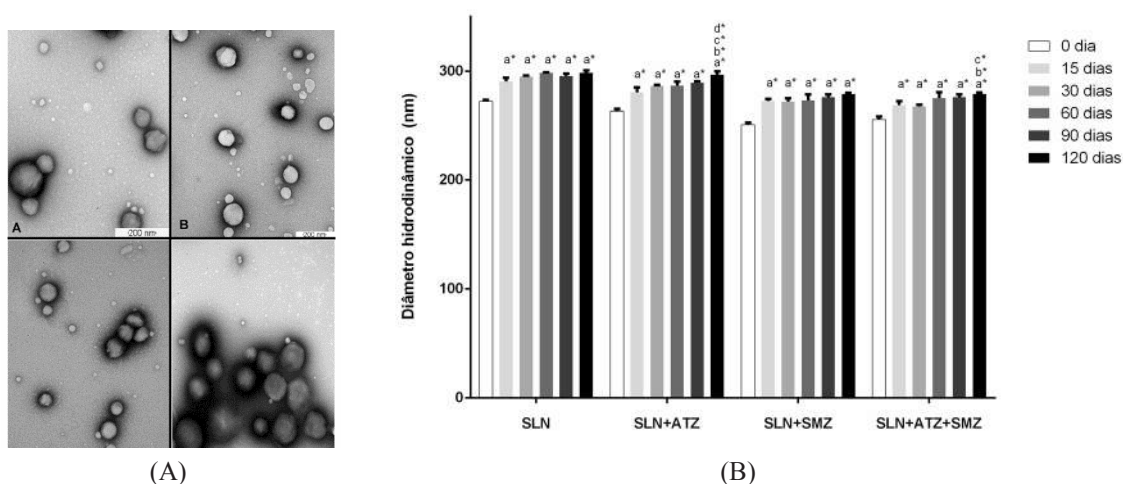
Foram determinadas algumas propriedades físico-químicas como tamanho (diâmetro hidrodinâmico), polidispersão, potencial zeta e eficiência de encapsulação em função do tempo (zero, 15, 30, 60, 90 e 120 dias). Para o diâmetro hidrodinâmico, polidispersão e potencial zeta utilizou-se um analisador de partículas Malvern ZS90 (Malvern®). A eficiência de encapsulação foi determinada pelo método de ultrafiltração-centrifugação. Com o intuito de observar interações entre os herbicidas e as nanopartículas foram realizadas análises de DSC utilizando o DSC Q20 TA Instruments® e de infravermelho utilizando espectrofotômetro de FI-IR 660 Varian® em uma faixa de número de onda de 400 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ , utilizando 32 varreduras por amostra com resolução de 8  $\text{cm}^{-1}$ . A morfologia das SLN foi verificada por Microscopia Eletrônica de Transmissão (Zeiss-LEO 906) de acordo com o método previamente descrito (LÓPEZ-PINTO *et al.*, 2005). Para avaliar o perfil de liberação dos herbicidas através das SLN, foram realizados experimentos de cinética de liberação utilizado para isso um sistema de dois compartimentos. Nesse sistema foi utilizado uma membrana de celulose (Spectrapore, com poro para exclusão molecular de 1 kDa.) que separa o compartimento doador do receptor. O modelo semi-empírico de Korsmeyer Peppas foi aplicado para elucidar o tipo de mecanismo com que os herbicidas são liberados das nanopartículas lipídicas.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas formulações mantiveram praticamente estáveis o seu diâmetro hidrodinâmico durante os 120 dias de armazenamento, apresentando pequenas variações ao longo deste período. Sendo que foi observado um aumento significativo com 15 dias, e após com 120 dias para SLN com apenas atrazina

e com ambos os herbicidas (Figura 1-A). O potencial zeta das formulações apresentou um valor médio de -15 mV. As SLN tiveram uma eficiência de encapsulação média de 90 % e 98 %, para a atrazina e a simazina respectivamente, tanto para encapsulação separada como a conjunta.

A figura 1-B mostra as micrografias obtidas para as SLN. Nestas podem se observar que as SLN possuem formato esférico, e apresentaram tamanhos menores ( $111 \pm 2,3$  nm para SLN;  $135 \pm 4,8$  nm para SLN+ATZ;  $122 \pm 4,3$  nm para SLN+SMZ e  $178 \pm 3,1$  nm para SLN+ATZ+SMZ) em relação às análises feitas por espectroscopia de correlação de fótons, sendo isso devido a espectroscopia de correlação fótons medir o diâmetro hidrodinâmico e para as análises de TEM as amostras foram secas. No tempo final de armazenamento surgiu uma nova população, com baixa intensidade, porém representando grande volume, isto devido ao surgimento de deformações na morfologia das partículas, corroborando com os resultados mostrados para diâmetro hidrodinâmico, onde um aumento significativo ocorreu com 120 dias.



**Figura 1.** A) Dados de estabilidade (Diâmetro Hidrodinâmico). B) Micrografias das SLN com e sem os herbicidas ATZ e/ou SMZ no tempo inicial de armazenamento (0 dias). A) SLN, aumento de 27800 vezes; B) SLN+ATZ, aumento de 27800 vezes; C) SLN+SMZ, aumento de 27800 vezes e D) SLN+ATZ+SMZ, aumento 21560 vezes.

As análises de DSC dos herbicidas atrazina e simazina puro, mostraram picos endotérmicos correspondentes ao ponto de fusão em  $179^\circ\text{C}$  e  $232^\circ\text{C}$ , respectivamente. A mistura física dos componentes apresentou dois picos alargados, atribuídos a presença dos herbicidas, porém estes sofreram deslocamentos devido a interação com a tripalmitina. A análise da SLN sem a presença dos herbicidas, apresentou um pico simétrico em  $64^\circ\text{C}$  característico da fusão da forma  $\beta$  da tripalmitina e um outro pico em  $48^\circ\text{C}$  este devido a recristalização da forma  $\alpha$  da tripalmitina. Para as SLN contendo os herbicidas observam-se os picos característicos da fusão das formas  $\alpha$  e  $\beta$ , porém não foi possível observar os picos simétricos por volta de  $179^\circ\text{C}$  e  $232^\circ\text{C}$ , correspondentes aos herbicidas, indicando que os herbicidas estão disperso em toda a matriz lipídica das nanopartículas e não sendo encontrado disperso na forma de cristais. As análises de infravermelho mostraram para os herbicidas atrazina e simazina na forma pura, bandas específicas como em  $3251\text{ cm}^{-1}$  correspondente à deformação axial simétrica e assimétrica de N-H em  $2972\text{ cm}^{-1}$  o estiramento de C-H de alifáticos, e em  $1616$  e  $1546\text{ cm}^{-1}$  encontra-se a deformação das ligações C=C e C=N. O espectro da tripalmitina apresentou bandas específicas como em  $2914\text{ cm}^{-1}$  referente ao estiramento da ligação C-H do grupamento alquila, em  $1733\text{ cm}^{-1}$  o do estiramento da ligação C=O da função éster e em  $1173\text{ cm}^{-1}$  a deformação angular de C-O. Na mistura física foram observadas as bandas características do lipídio tripalmitina, assim como a deformação das ligações C=C e C=N pertencentes aos herbicidas. No espectro da SLN sem ativo foram observadas praticamente a maioria das bandas presentes na tripalmitina e também de uma banda na região de  $3340\text{ cm}^{-1}$  caracterizada pela presença do grupamento O-H na estrutura. O espectro da SLN carregada com os ativos atrazina e simazina, foram observadas as bandas características da tripalmitina, e foi possível identificar em menor intensidade as bandas específicas da deformação das ligações C=C e C=N em  $1629$  e  $1561\text{ cm}^{-1}$ , proveniente dos herbicidas, as quais sofreram deslocamento. Portanto isto indica que os herbicidas encontram-se encapsulados/interagindo com as nanopartículas. Em comparação com os herbicidas na forma livre, todas as formulações de SLN conseguiram modificar o perfil de liberação, retardando a liberação dos herbicidas

em função do tempo. A solução de ATZ livre liberou 50 % do ativo em 2,5 horas (0,1 dias), enquanto que para a SMZ livre foram necessárias 5,3 horas (0,25 dias). Quando os herbicidas foram encapsulados conjuntamente nas SLN, a atrazina atingiu 50 % de liberação em 51,9 horas (2,19 dias) enquanto que a simazina precisou de 70,2 horas (2,08 dias) para liberar a mesma quantidade. A encapsulação exclusiva da simazina nas SLN mostrou que com 55 horas (2,29 dias) de experimento, ocorreu a liberação de apenas 31 % do ativo. Já pra atrazina encapsulada de forma exclusiva, no mesmo período, foram atingidos cerca de 38 % de liberação. A aplicação do modelo matemático de Korsmeyer-Peppas mostrou que o processo de liberação é governado pelo transporte anômalo.

#### 4 CONCLUSÃO

Os herbicidas apresentaram elevada eficiência de encapsulação nas SLN, o que indica uma boa interação dos herbicidas com o sistema carreador, a qual também foi demonstrada pelas análises de DSC e Infravermelho. As SLN apresentaram diâmetro hidrodinâmico compreendido entre 255 nm e 300 nm, um índice de polidispersão abaixo de 0,2 e potencial zeta de aproximadamente -17 mV, em função do tempo, todas as formulações mantiveram-se praticamente estáveis, sendo a SLN contendo apenas o herbicida simazina a que apresentou melhor estabilidade físico-química. As análises de microscopia mostraram que as SLN apresentam morfologia esférica. Os ensaios de liberação *in vitro* demonstraram que as nanopartículas foram capazes de retardar a liberação dos herbicidas em comparação ao herbicida livre, sendo o processo de liberação é governado pelo transporte anômalo. Os resultados abrem novas perspectivas para o uso de sistemas de liberação modificada de herbicidas, os quais podem reduzir a quantidade de produtos utilizados.

#### AGRADECIMENTOS

Autores gostariam de agradecer a FAPESP, Capes, Cnpq, Fundunesp e a Rede Agronano pelo suporte financeiro.

#### REFERÊNCIAS

- DURAN, N.; MARACATO, D. P. Nanobiotechnology perspectives. Role of nanotechnology in the food industry: a review. *International Journal of Food Science and Technology*, v.48, p. 1127–1134, 2013.
- JOSHI, M.D.; MÜLLER, R.H. Lipid nanoparticles for parenteral delivery of actives. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 71, p. 161-172, 2009.
- KAH, M., BEULKE, S., TIEDE, K., HOFMANN, T. Nanopesticides: State of Knowledge, Environmental Fate, and Exposure Modeling. *Crit. Rev. Env. Sci. Technol.* v.43, p. 1823–1867, 2013.
- KAH, M., HOFMANN, T. Nanopesticide research: Current trends and future priorities. *Environment International*, v.63, p. 224–235, 2014.
- KODAMA, T.; DING, L.; YOSHIDA, M.; YAJIMA, M. Biodegradation of an s-triazine herbicide, simazine. *J. Mol. Catal. B: Enzym.*, v. 11, p.103–1078, 2001.
- Lopez-Pinto, J. M., Gonzalez-Rodriguez, M. L, Rabasco, A.M. Effect of cholesterol and ethanol on dermal delivery from DPPC liposomes. *Int J Pharm.* v. 298, p.1–12, 2005.
- MOHANRAJ, V. J.; CHEN, Y. Nanoparticles – A review. *Tropical J. Pharm. Res.* v. 5, p. 561-573, 2006.
- MÜLLER H. R., MADER K., GOHLA S. Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery - a review of the state of the art. *Euro. Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v.50, 161-177, 2000.
- VITORINO, C., CARVALHO, A. F., ALMEIDA, J. A., SOUSA, J. J., PAIS, C. C. A. A. The size of solid lipid nanoparticles: An interpretation from experimental design. *Colloids Surf. B*, v. 84, p. 117–130, 2011.

## INCREMENTO DA ADESÃO SUPERFICIAL DE MADEIRA POR MEIO DE PLASMA A FRIO

Pedro Henrique Gonzalez de Cademartori<sup>1</sup>, Graciela Inês Bolzon de Muniz<sup>1</sup>, \*Washington Luiz Esteves Magalhães<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Centro de Ciências Florestais e da Madeira, Universidade Federal do Paraná (PPGEF). <sup>2</sup>Embrapa Florestas, Centro Nacional de Pesquisas Florestais.

\*washington.magalhaes@embrapa.br

**Classificação:** Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio.

### Resumo

O presente estudo objetivou estudar o efeito de tratamentos de plasma a frio na adesão superficial de peças de madeira. Foram considerados quatro tempos de descarga luminescente (5, 15, 30 e 45 s) e um nível de potência (100 W). Os tratamentos foram realizados em um reator cilíndrico de plasma a frio em aço inoxidável desenvolvido pela Embrapa Florestas. Para tal, utilizou-se gás rarefeito de hélio. A caracterização das modificações na adesão superficial do material foi realizada por meio de ensaios de ângulo de contato aparente (CA) e volume da gotícula em um goniômetro. A área de espalhamento da gotícula foi mensurada a partir da captura de imagens de alta resolução. Os principais resultados apontam um incremento da molhabilidade superficial do material em função do aumento do tempo de descarga. Além disso, ambos os fenômenos de penetração e espalhamento foram observados na superfície do material. A utilização de tempos de descarga luminescente maiores resultou em ângulo de contato aparente (CA) nulo.

**Palavras-chave:** Ângulo de contato; Espalhamento; Tratamento por plasma; Modificação da superfície.

### ENHANCEMENT OF SURFACE ADHESION OF WOOD THROUGH COLD-PLASMA

#### Abstract

This study aimed to evaluate the effect of cold-plasma treatments on surface adhesion of wood flooring pieces. We considered four times of discharge (5, 15, 30 and 45 s) and just one level of power (100 W). A stainless steel reactor developed by Embrapa Forestry was used for the plasma treatments with helium-rarefied gas. Changes on surface adhesion of the material was measured through apparent contact angle (CA) and droplet volume using a goniometer. Spreading contact area was measured through high-resolution images captured in a stereomicroscope. The main findings pointed out that higher is the time of discharge, higher is the surface wettability of the material. Furthermore, both phenomenon of penetration and spreading were observed in the materials' surface. Use of high time of luminescent discharge resulted in a null apparent contact angle.

**Keywords:** Contact angle; Spreading; Plasma treatment; Surface modification.

#### Publicações relacionadas:

CADEMARTORI, P.H.G.; MUNIZ, G.I.B.; MAGALHÃES, W.L.E. Changes of wettability of medium density fiberboard (MDF) treated with He-DBD plasma. *Holzforschung*, Aceito para publicação, 2014.

## 1 INTRODUÇÃO

Atualmente, o uso da nanotecnologia para a modificação de superfícies de materiais tem sido mais frequente devido as suas inúmeras vantagens, tais como baixo impacto ambiental e desenvolvimento de materiais com maior resistência físico-mecânica. Entre as alternativas que se apresentam atualmente disponíveis, ressalta-se o tratamento de materiais por meio de plasma, o qual pode ser definido como um conjunto de partículas carregadas que se movem de maneira aleatória e que se caracterizam por serem eletricamente neutras (MAGALHÃES; SOUZA, 2002; LIEBERMAN; LICHTENBERG, 1994).

A atuação do plasma dá-se na superfície dos materiais, em que o objetivo principal é a modificação das propriedades químicas e físicas (INAGAKI, 1996). Apresenta capacidade de indução de polimerização de um gás precursor na superfície de determinado substrato, além da introdução de grupos funcionais (SANTOS; SIMÃO, 2010).

No setor florestal e madeireiro, o plasma apresenta recente utilização como alternativa de tratamento e modificação de madeira e de produtos à base de madeira quando comparada a outras áreas de conhecimento. Estudos anteriores com madeira sólida (ACDA et al. 2012; AVRAMIDIS et al. 2012) e materiais compósitos produzidos com fibras naturais tratadas (Lee et al., 2011) comprovaram a eficiência do tratamento por plasma para modificar os níveis de hidroflicidade e hidrofobicidade destes materiais.

Nesse contexto, este estudo avaliou o efeito do tempo de descarga luminescente (plasma frio) na adesão superficial de peças de madeira sólida. A técnica de ângulo de contato possibilitou a mensuração do comportamento deste ângulo, bem como do volume da gotícula depositada na superfície das peças. Imagens de alta resolução foram capturadas, de maneira a permitir a avaliação da área de espalhamento da gotícula na superfície do material.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Tratamentos da superfície por plasma a frio

Peças de madeira com dimensões de 25 x 20 x 20 mm (comprimento, largura e espessura) e previamente lixadas com lixa grão 120 foram utilizadas no presente estudo. Os tratamentos de plasma a frio foram conduzidos em um reator cilíndrico de plasma a frio com 500 mm de diâmetro desenvolvido na Embrapa Florestas.

O reator está equipado com um manômetro capacitivo e uma válvula borboleta para controle da pressão no interior da câmara. Dois eletrodos de aço inoxidável com 300 mm de diâmetro formam um sistema capacitivo. Por meio de um casador de impedância, um dos eletrodos permanece conectado a um gerador de energia a alta frequência (13,5 MHz). Dois medidores de fluxo de massa controlam a admissão dos gases no interior do reator. As amostras são dispostas no eletrodo aterrado junto a base do reator.

Para os tratamentos de plasma a frio consideraram-se quatro tempos de descarga (5, 15, 30 e 45 s) e apenas um nível de potência de descarga (100 W). Gás hélio (pureza >99%) foi admitido no interior da câmara durante 180 s para eliminar impurezas. Subsequentemente, descargas luminescentes de hélio foram realizadas a uma pressão constante de ~10,64 Pa e fluxo de gás de 0,032 m<sup>3</sup> s<sup>-1</sup>.

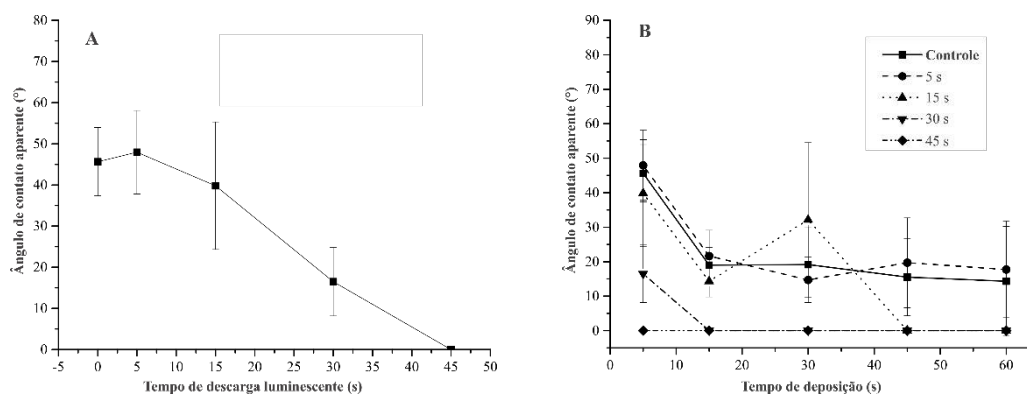
### 2.2 Caracterização de molhabilidade da superfície

A caracterização da molhabilidade deu-se por meio da determinação do ângulo de contato aparente (CA) das amostras não tratadas e tratadas. Utilizou-se um goniômetro DataPhysics OCA 15+ (método de gota séssil) em temperatura ambiente (20±2°C). Três gotículas de água deionizada (5 µl) foram dispensadas na superfície de cada uma das amostras. Determinou-se o CA e o volume da gotícula em intervalos regulares de tempo (5, 15, 30, 45 e 60 s após a dispensação da gotícula).

Imagens de alta resolução foram capturadas por meio de um estereomicroscópio para caracterizar o comportamento da área de espalhamento das gotículas. Três gotículas de água deionizada (5 µl) foram dispensadas na superfície de cada amostra por meio de uma micropipeta automática. As imagens foram capturadas após 15 s da dispensação da gotícula e a área de espalhamento foi mensurada em mm<sup>2</sup>.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As amostras de madeira sólida não tratadas e modificadas por plasma a frio apresentaram superfície molhável, visto que o CA foi menor que 90° (Figura 2A). O CA variou entre ~45° (controle) e ~0° (tratamento por plasma durante 45 s). Quanto maior o tempo de descarga, maior foi a redução do CA. Além disso, o tempo de descarga de 45 s resultou em total absorção da gotícula de água na superfície das peças. Rowell (2005) afirmou que o espalhamento espontâneo da gotícula de um líquido na superfície de um sólido ocorre quando a energia de adesão do líquido-sólido é igual ou maior do que a coesão do líquido. Consequentemente, observa-se um ângulo de contato sólido-líquido nulo.

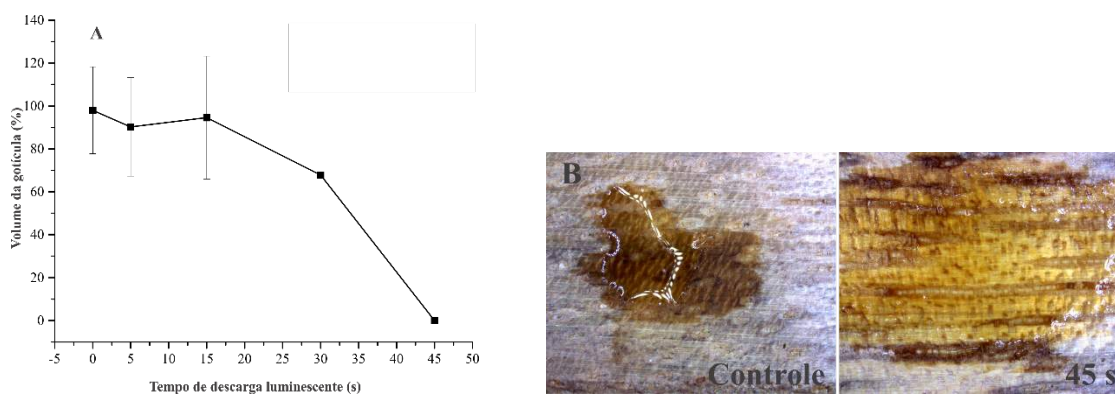


**Figura 2.** Ângulo de contato aparente. (A) Após 15 s de deposição na superfície do material e em função do tempo de descarga luminiscente; (B) Cinética em função do tempo de deposição na superfície do material.

Espécies ativas, tais como metaestáveis de hélio, íons, elétrons e radiação UV, em uma descarga de hélio atingem a superfície da madeira, causando reticulação das moléculas. Consequentemente, o ângulo de contato é reduzido e a energia livre de superfície é elevada (PLACINTA et al. 1997).

A cinética de absorção da gotícula das peças de madeira não apresentou um comportamento linear devido ao seu caráter hidrofílico natural (Figura 2B). Para tempos de descarga iguais ou maiores que 30 s, o CA foi nulo após 15 s de deposição da gotícula na superfície das peças. O tratamento de plasma mais drástico (45 s) resultou em total absorção da gotícula, o que impossibilitou a mensuração do CA, visto que observou-se rápida penetração e espalhamento da gotícula. A molhabilidade da madeira pode ser caracterizada em três estágios. Primeiro, há uma forte redução do CA nos primeiros segundos após o contato da gotícula com a superfície. O segundo estágio ainda apresenta redução do CA e o líquido depositado na superfície preenche os traços de rugosidade na camada superficial da madeira. No terceiro estágio, o líquido retrocede da superfície previamente molhada e penetra lentamente no substrato (LIPTÁKOVA; KÚDELA, 1994; PETRIC, 2013).

O volume da gotícula (Figura 3A) reduziu significativamente após 15 s de descarga luminiscente, comprovando a existência dos fenômenos de penetração e espalhamento da gotícula de água na superfície das peças tratadas com plasma.



**Figura 3.** Volume da gotícula de água em função do tempo de descarga luminiscente (A); Imagens de alta resolução da área de espalhamento em amostras controle (não tratadas) e tratadas por plasma durante 45 s (B).

O fenômeno de espalhamento também foi observado durante a captura das imagens de alta resolução para a mensuração da área de espalhamento da gotícula (Figura 3B). As imagens de alta resolução confirmaram um espalhamento rápido em grande parte da superfície da peça tratada, o que impossibilitou a mensuração deste parâmetro. Por outro lado, confirmou a eficiência do tratamento por plasma sob a superfície das peças. De acordo com Duncan et al. (2005), os fenômenos de difusão ou de capilaridade do líquido através do substrato são responsáveis pelo espalhamento da gotícula na superfície do material. Além disso, a textura ou a direção da grã também tendem a influenciar a direção de espalhamento da gotícula.

## 4 CONCLUSÃO

Os tratamentos de plasma a frio incrementaram significativamente a molhabilidade da superfície das peças de madeira. A hidrofobicidade da superfície aumentou conforme a elevação do tempo de descarga luminescente. Em geral, o ângulo de contato aparente e o volume da gotícula de água foram reduzidos. Tratamentos mais drásticos em função do tempo de descarga resultaram em ângulo de contato igual ou próximo a zero.

## AGRADECIMENTOS

Os autores gostariam de agradecer ao CNPq pela concessão da bolsa de doutorado (processo nº 141260/2013-0), a ANPM e a ITTO pelo suporte técnico e financeiro.

## REFERÊNCIAS

ACDA, M. N.; DEVERA, E. E.; CABANGON, R. J.; RAMOS, H. J. Effects of plasma modification on adhesion properties of wood. *International Journal of Adhesion and Adhesives*, v. 32, n. 0, p. 70-75, 2012.

AVRAMIDIS, G.; MILITZ, H.; AVAR, I.; VIÖL, W.; WOLKENHAUER, A. Improved absorption characteristics of thermally modified beech veneer produced by plasma treatment. *European Journal of Wood and Wood Products*, v. 70, n. 5, p. 545-549, 2012.

DUNCAN, B.; MERA, R.; LEATHERDALE, D.; TAYLOR, M.; MUSGROVE, R. Techniques for characterising the wetting, coating and spreading of adhesives on surfaces. Teddington: National Physical Laboratory, 2005. 42 p.

INAGAKI, N. *Plasma Surface Modification and Plasma Polymerization*. USA: CRC Press, 1996. 265 p.

LEE, K., DELILLE, A., BISMARCK, A. Greener surface treatment of natural fibres for the production of renewable composite materials. In: KALIA, S., KAITH, B.S., KAUR, I (Coord.). *Cellulose Fibers: Bio- and Nano-Polymer Composites: Green Chemistry and Technology*; Springer, USA, Springer, 2011. p. 155-178.

LIEBERMAN, M. A.; LICHTENBERG, A. J. *Principles of Plasma Discharges and Materials Processing*. 1 ed. New Jersey: John Wiley and Sons Wiley, 1994. 800 p.

LIPTÁKOVA, E.; KÚDELA, J. Analysis of the wood wetting process. *Holzforschung*, v. 48, p. 139-144, 1994.

MAGALHÃES, W. L.E.; SOUZA, M.F. Solid softwood coated with plasma-polymer for water repellence. *Surface and Coatings Technology*, v. 155, n. 1, p. 11-15, 2002.

PETRIC, M. Surface Modification of Wood: A Critical Review. *Rev. Adhesion Adhesives*, v. 1, n. 2, p. 216-247, 2013.

PLACINTA, G.; AREFI-KHONSARI, F.; GHEORGHIU, M.; AMOUROUX, J.; POPA, G. Surface properties and the stability of poly(ethylene terephthalate) films treated in plasmas of helium-oxygen mixtures. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 66, n. 7, p. 1367-1375, 1997.

SANTOS, A. E.; SIMÃO, R. Hidrofobicidade de filmes de amido de milho produzido por tratamento de plasma com hexafluoreto de enxofre (SF<sub>6</sub>) e hexametildisiloxano (HMDSO). In: PAINEL PEMM, 2010, Rio de Janeiro. Anais. Rio de Janeiro, 2010.

ROWELL, R. M. *Handbook of Wood Chemistry and Wood Composites*. 1th ed. : CRC Press, 2005. 487 p.

# AVALIAÇÃO FOTOCATALÍTICA DE NANOSSEMICONDUCTORES BASEADOS EM ÓXIDOS DE ZINCO E COBALTO OBTIDOS POR MOAGEM DE ALTA ENERGIA

DIAS, J.A.<sup>1</sup>, GIRALDI, T.R.<sup>1</sup>, RAMOS, A.S.<sup>1</sup>, MINUCCI, M.Z.<sup>1</sup>, ARANTES, V.L.<sup>2</sup>,  
\*MAESTRELLI, S.C.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Alfenas, Inst. de Ciência e Tecnologia. <sup>2</sup>Universidade de São Paulo, Escola de Engenharia de São Carlos.

\*sylma.maestrelli@unifal-mg.edu.br

**Classificação:** Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio.

## Resumo

Foi avaliado por meio do estudo a utilização da Moagem de Alta Energia (MAE) como mecanismo de obtenção de nanossemicondutores para aplicação em fotocatalise. ZnO e Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> precursores foram caracterizados via sedígrafo, B.E.T, difração de raios X e picnometria a hélio. Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> também foi caracterizado por DSC/TG. ZnO-Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (5 % em mols de óxido de cobalto) foi processado por MAE em vaso de zircônia com relação mássica de pós/corpos moedores de 1:10, velocidade de moagem à 600 rpm por quatro horas via seca e dez horas via seca e úmida. Os pós obtidos foram caracterizados por difração de raios X e o potencial fotocatalítico avaliado na degradação do corante Rodamina-B em câmara de luz visível. Os resultados demonstraram alta pureza da matéria-prima, ausência de contaminação durante a moagem e fotoatividade dos materiais obtidos corroborando com a potencialidade da técnica para a obtenção de nanossemicondutores para aplicação em fotocatalise.

**Palavras-chave:** Fotocatálise; Nanotecnologia; Mecanossíntese; Degradação; Corante.

## PHOTOCATALYTIC EVALUATION OF NANO SEMICONDUCTORS BASED IN ZINC AND COBALT OXIDE OBTAINED BY HIGH ENERGY MILLING

### Abstract

In this study it was evaluated the High Energy Milling (HEM) as a mechanism to obtain nano semiconductors to be applied in photocatalytic process. Raw ZnO and Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> were characterized by sedigraph analysis, B.E.T, X-Ray diffraction and Helyum Pycnometry. Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> also was characterized by DSC/TG. ZnO-Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (5 % cobalt oxide in molar rate) was processed by HEM in zirconium container with mass relation of raw powder/milling corps of 1:10, rotation speed of 600 rpm during four hours dry milling, ten hours wet and dry milling. The powders were characterized by X-Ray diffraction and photocatalytic potential was evaluated by Rhodamine-B dye degradation in photoreactor operating with visible light. The results infers high purity of raw materials, absence of powder contamination during the milling and photoactivity for all semiconductors corroborating with the potentiality of this technique to obtain nano semiconductors to be applied in photocatalytic process.

**Keywords:** Photocatalysis; Nanotechnology; Mechanosynthesis; Degradation; Dye.

## 1 INTRODUÇÃO

Os corantes são substâncias amplamente utilizadas em diversos processos industriais e se configuram como uma classe de resíduos bastante nocivos ao meio ambiente se descartados inadequadamente, sobretudo no que concerne os recursos hídricos.

Um método de tratamento aplicado para esses resíduos são os Processos Oxidativos Avançados (POA), que têm se mostrado como alternativas eficazes no tratamento de efluentes contaminados por compostos orgânicos, dentre eles os corantes. Entre os POA, a fotocatalise heterogênea vem sendo empregada para tal fim por meio da utilização de materiais semicondutores com propriedades de degradação catalíticas fotoativadas (GIRALDI, 2011).

A redução do tamanho de partícula dos semicondutores tem sido realizada através de técnicas químicas e físico-químicas, haja vista que a degradação dos poluentes se processam na superfície do semicondutor. Dentre essas técnicas, a Moagem de Alta Energia (MAE) tem se destacado atualmente em se tratando da obtenção de pós finos por meio de mecanossíntese (SURYANARAYANA, 2001), todavia,



esse estudo ainda ocorre forma bastante discreta se comparado aos métodos químicos no que concerne à aplicação em fotocatalise.

Vários semicondutores vêm sendo desenvolvidos para aplicação na fotocatalise heterogênea. Dentre os semicondutores comumente empregados, o óxido de zinco (ZnO) tem se destacado devido suas propriedades fotocatalíticas pertinentes sob ação de radiação ultravioleta. Esse tipo de radiação é necessária devido à energia de *band-gap* do material, no valor de 3,37 eV (CUI et al, 2011). Óxido de cobalto (Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) por sua vez possui energia de *band-gap* de 1,89 eV (AMIRI, 2010), o que torna passível fotoativação por meio de luz visível.

Sistemas multicomponentes obtidos por rotas químicas e testes fotocatalíticos processados em luz ultravioleta em sistemas envolvendo óxidos de zinco e cobalto têm sido estudados com resultados satisfatórios (CUI et al, 2011). Nesse sentido, o presente trabalho objetiva estudar nanossemicondutores no sistema ZnO:Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> obtidos por MAE e avaliar sua fotoatividade na degradação do corante Rodamina-B por meio de exposição à luz visível.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Caracterização dos precursores

ZnO e Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> foram caracterizadas por B.E.T no equipamento Micromeritics ASAP 2020 na temperatura de -196,7 °C e análise por adsorção de N<sub>2</sub>. Distribuição de tamanho de partícula foi obtida pelo sedígrafo Micromeritics SediGraph III Plus em água à 20°C. Picnometria a hélio foi feita em quintuplicata por meio de Micromeritics AccuPyc 1330 com taxa de equilíbrio de 5,0.10<sup>-3</sup> psig.min<sup>-1</sup>.

Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> também foi caracterizado por DSC/TG no equipamento NETZZCH STA 449F3 com massa de amostra de 10 mg e cadinho de platina, em atmosfera de nitrogênio. A taxa de aquecimento empregada foi de 10 K.min<sup>-1</sup> entre 200 e 1100°C.

A estrutura do material precursor foi caracterizada por difração de raios X (Cu K $\alpha$  0.1542 nm) tanto para o ZnO (JCPDS N<sup>o</sup> 36-1451) quanto para Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (JCPDS N<sup>o</sup> 42-1467).

### 2.2 Síntese

Os precursores ZnO (Synth) e Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (Sigma-Aldrich) foram processados utilizando um moinho de alta energia Fritsch Pulverisette 4 mill empregando vasos de 500 ml e corpos moedores de zircônia. Foi utilizado uma proporção de 5 % de óxido de cobalto em relação à zinco e proporção de pós/corpos moedores de 1:10. A atmosfera de moagem foi ar numa rotação total de 600 rpm.

As moagens foram realizadas quatro e dez horas via seco e dez horas via úmido. A moagem via úmido foi feita em álcool isopropílico. A cada trinta minutos de moagem o sistema foi interrompido por cinco minutos, a fim de evitar superaquecimento e o sentido de rotação alterado.

Os materiais obtidos também foram caracterizados por difração de raios X nas mesmas condições descritas na seção 2.1.

### 2.3 Avaliação fotocatalítica

Utilizou-se o corante Rodamina B (Synth) para mensurar a atividade fotocatalítica do material processado. Solução estoque desse corante foi preparada à 1000 ppm em água deionizada (3  $\mu$ S.cm<sup>-1</sup>) armazenada em frasco âmbar à 4°C. Anterior à cada análise, solução à 5 ppm foi preparada a partir da diluição da solução estoque em água com mesma procedência.

A avaliação foi feita empregando 25 mg de cada óxido e 60 ml de solução. Foi utilizada uma solução branco com finalidade de comparação. Os testes fotocatalíticos foram feitos em triplicata.

O fotorreator foi construído empregando-se seis lâmpadas fluorescentes de 11 W dispostas equidistantemente na parte superior de uma caixa de fundo espelhado e com volume interno de 34 litros. O sistema foi refrigerado a ar e possui quatro pontos padrões com agitação magnética, além de possuírem temperatura e intensidade de luminosidade conhecidas.

Todos os testes processaram-se durante duas horas com interrupções regulares a cada quinze minutos para análise. Amostras com volume de 3 ml foram coletadas a cada tempo e centrifugadas na microcentrífuga Micro Spin MS-43 à 13.000 rpm por 3 minutos, com intervalo de aceleração e frenagem de 1 minuto. O sobrenadante foi analisado em cubeta de vidro no espectrofotômetro HACH DR3900 à 554nm, comprimento de onda de máxima absorção demonstrada pelo corante obtido por varredura

espectral. As amostras centrifugadas foram homogeneizadas com o catalisador através de vórtex e devolvidas no sistema reacional para dar sequência ao teste.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

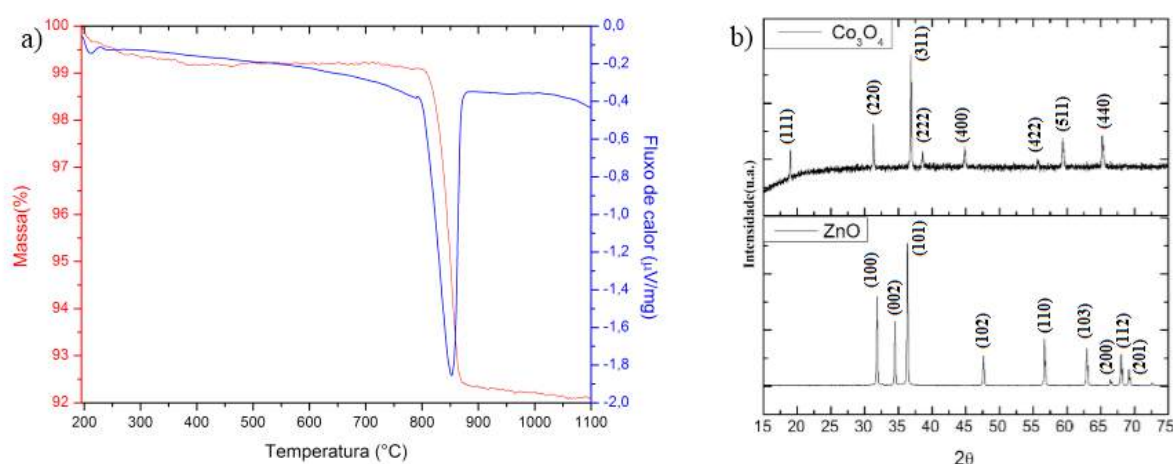
Os resultados de área superficial, tamanho médio de partícula e densidade real para os pós precursores são apresentados em Tabela 1.

**Tabela 1.** Resultados das caracterizações dos pós precursores

Caracterização	Unidade		ZnO	Co <sub>3</sub> O <sub>4</sub>
Distribuição de tamanho de partícula	μm	D <sub>10</sub>	0,30	0,88
		D <sub>50</sub>	0,78	1,50
		D <sub>90</sub>	1,80	5,80
B.E.T.	m <sup>2</sup> .g <sup>-1</sup>		5,4386	0,9094
Picnometria à hélio	g.cm <sup>-3</sup>		6,20 ± 0,04	6,32 ± 0,06

A distribuição de tamanho de partícula apresentou característica monomodal para ambos os compostos precursores. D<sub>10</sub>, D<sub>50</sub> e D<sub>90</sub> referem-se ao diâmetro de partícula para o percentual de massa acumulado em 10, 50 e 90% respectivamente.

Os resultados de DSC/TG para Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> e difração de raios X para ambos os materiais precursores podem ser visualizados em Figura 1.



**Figura 1.** A) DSC/TG para o composto Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (10 K.min<sup>-1</sup>). B) Espectro de raios X dos pós precursores.

Os resultados para DSC/TG apresentam um evento de decomposição específico e endotérmico para o Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, ocorrente próximo à 850°C. A perda de massa obtida foi de 6,81% que se aproxima do esperado pela estequiometria dessa decomposição (6,64%). Esse fator infere presença aproximadamente equitativa de ambas as valências (CoO e Co<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) no óxido de cobalto precursor. A difração de raios X demonstrou apenas picos referentes aos óxidos trabalhados inferindo em alta pureza desses.

A Figura 2 apresenta os resultados obtidos para difração de raios X após MAE e os resultados fotocatalíticos na degradação do corante Rodamina B. Os pós moídos 4 horas via seco (4hD) 10 horas via úmido (10hW) e 10 horas via úmido (10hW) e solução branco (RhB) foram avaliados em mesma condição.

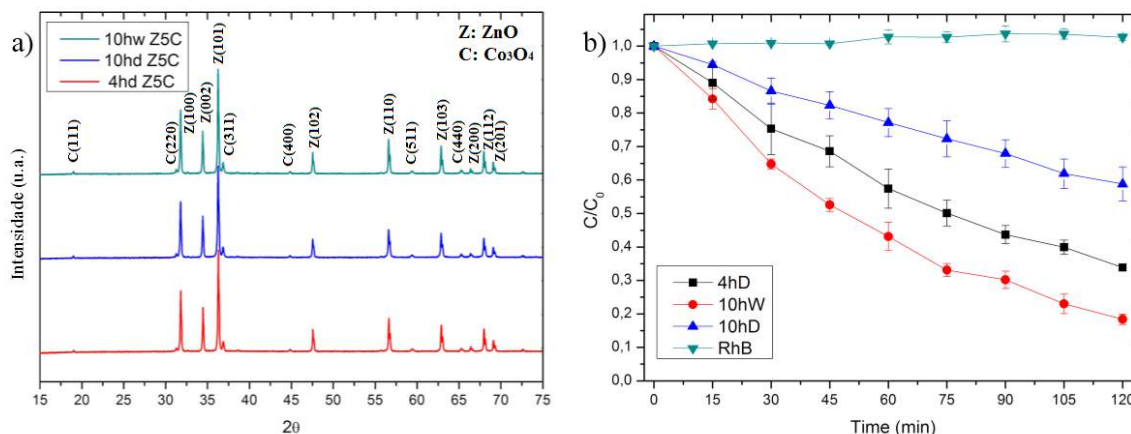


Figura 2. A) Espectros de raios X para o material moído. B) Curva de fotocatalise.

Não foi detectado picos diferentes dos precursores, o que induz que não houve contaminação pelos elementos do vaso de moagem, bem como não houve transformação de fases. Todos os semicondutores trabalhados apresentaram fotoatividade nas condições experimentais, sendo que o material processado por dez horas por moagem via úmida demonstrou maior degradação no corante.

#### 4 CONCLUSÃO

Por meio desse estudo foi possível obter semicondutores fotoativos em luz proveniente de lâmpadas fluorescentes convencionais de baixa potência (11 W), tecnicamente mais simples para futuras aplicações industriais que se comparadas à lâmpadas de radiação UV. Foi possível também avaliar a MAE como técnica promissora para a obtenção de nanossemicondutores para aplicação em fotocatalise, obtendo-se resultados satisfatórios no sistema ZnO-Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub>. Dentre os materiais estudados o tempo de dez horas via úmida apresentou os melhores resultados, já que tal mecanismo diminui a formação de aglomerados durante a mecanossíntese.

#### AGRADECIMENTOS

À FAPEMIG pelo apoio financeiro fornecido.

#### REFERÊNCIAS

- AMIRI,S.E.H; KANDJANI,A.E; SADRNEZHAAD, S.K; VAESI,M.R. Optical and magnetic properties of Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ZnO Core/Shell nanoparticles. *Journal of optoelectronics and advanced materials*, n. 10, p. 2057-2062, 2010.
- CUI,P; FEI, G.T; FANG,M; GUO, X; LI, H; YAN, P; ZHANG, L. Synthesis of urchin-like Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> hierarchical micro/nanostructures and their photocatalytic activity. *Journal of Applied Surface Science*, n. 257, p. 6527–6530, 2011.
- GIRALDI, T. R.; MENDONÇA, V. R.; SANTOS, A.V.; RIBEIRO, C.; WEBER,I.T. Annealing Effects on the Photocatalytic Activity of ZnO Nanoparticles. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, v.11, p. 3635-3640, 2011.
- SURYANARAYANA, C. Mechanical alloying and milling. *Progress in Materials Science*, n.46, p.1-184, 2001.

# AVALIAÇÃO DA QUANTIDADE DE PASSES NA OBTENÇÃO DE MFC'S E SUA INFLUENCIA NAS PROPRIEDADES MECÂNICAS DE PAPÉIS KRAFT

\*Elaine Cristina Lengowski<sup>1</sup>, Washington Luiz Esteves Magalhães<sup>2</sup>, Graciela Inês Bolzon de Muniz<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Paraná. <sup>2</sup>Embrapa Florestas. <sup>3</sup>Universidade Federal do Paraná.

\*elainelengowski@yahoo.com.br

**Classificação:** Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio.

## Resumo

A indústria busca novas técnicas e o aprimoramento de processos visando competitividade e aumento da qualidade de seus produtos. Esse trabalho teve como objetivo a avaliação da quantidade de passes na microfibrilação de polpa celulósica e aumento de propriedades mecânicas dos papéis que tiveram a incorporação de celulose microfibrilada (MCF). Os resultados mostraram que a incorporação das MFC's resultou no aumento das propriedades mecânicas do papel e que uma menor quantidade de passes no moinho (5 passes) já é suficiente para produção das MFC's que resultam no ganho dessas propriedades.

**Palavras-chave:** MCF; propriedade mecânica; otimização de processo.

## ASSESSING THE AMOUNT OF PASSES IN OBTAINING MFC'S AND ITS INFLUENCE ON MECHANICAL PROPERTIES OF KRAFT PAPER

### Abstract

The industry seeks new techniques and the improvement of processes to increase the quality and competitiveness of their products. The objective of this study is to assess the amount of passes on microfibrillation cellulosic pulp and increased mechanical properties of papers that had to incorporate microfibrillated cellulose (MCF). The results showed that the incorporation of MFC's resulted in increased mechanical properties of paper and a minor amount of raisins in a mill (5 passes) is sufficient to produce the MFC's which result in the gain of these properties.

**Keywords:** MCF; mechanical property; optimization process.

## 1 INTRODUÇÃO

Há um crescente interesse na aplicação de celulose microfibrilada (MCF) na indústria de produção de papel (IOELOVICH *et al.*, 2008). No entanto, os parâmetros de processamento e obtenção das MFC's ainda estão em fase de ajustes e testes, buscando o melhor custo benefício para a sua incorporação no processo.

Entre as desvantagens do processo de microfibrilação, há o elevado consumo de energia de refinação e a obtenção do material na forma de gel com grande porcentagem em água, podendo tornar mais difícil sua aplicabilidade e funcionalização (VARTIAINEN *et al.*, 2011; SPENCE *et al.*, 2011).

Outra etapa importante para a obtenção das MFC's é a remoção de lignina da parede celular da madeira, já que esta facilita a separação das fibras, facilitando a fibrilação e reduzindo a energia consumida no processo de desfibrilação mecânica (ABE *et al.*, 2007; IWAMOTO *et al.*, 2008; MORÁN *et al.*, 2008).

Nesse contexto, esse trabalho busca avaliar a quantidade de passes durante o processo de microfibrilação e seu efeito após incorporação das MFC's obtidas nas propriedades mecânicas de folhas produzidas com polpa Kraft.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

A polpa utilizada nesse trabalho foi obtida pelo processo Kraft, sendo doada pela indústria Celpa - Companhia de Celulose e Papel do Paraná. O número Kappa (Norma TAPPI T236 om-85), foi usado para medir a quantidade de lignina residual na polpa, antes e após a deslignificação. A deslignificação foi realizada para obtenção das MFC's, onde para cada 10 g de polpa foi usado 1,5 g de clorito de sódio (NaClO<sub>2</sub>) a 80% e 10 gotas de ácido acético glacial em 160 ml de água destilada. O material foi

mantido em banho maria na temperatura de 80°C durante 1 hora. Foram realizadas três etapas de deslignificação, sendo que em cada intervalo a polpa foi lavada com água em abundância a fim de eliminar possíveis resíduos de NaClO<sub>2</sub>.

A produção das MCF's se deu através do microfibrilamento em Microprocessador Super MASS-COLLOIDER MASUKO SANGYO, no Laboratório Polpa e Celulose da UFPR. A consistência dos cavacos para passagem no moinho foi de 1% com 5, 10 e 40 passes e com uma rotação de 1500 rpm nos discos do moinho. Foi adicionado um percentual de 10% de MFC's na confecção das folhas. Foram produzidas 5 folhas, para cada tratamento, com gramatura objetivo de 60g/m<sup>2</sup> com a polpa não branqueada. As folhas de papel confeccionadas foram depositadas em ambiente climatizado, a uma temperatura de 23°C ± 2°C e 50% ± 2% de umidade relativa do ar por 24 horas. Os ensaios realizados nos papéis produzidos seguiram as seguintes normas: Resistência a Tração- T404-om92; Resistência a Arrebatamento (Estouro)- T403-om02; Resistência ao Rasgo- T414-om98.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de lignina residual resultou em um número Kappa de 51,7 para polpa sem branqueamento e de 3,6 após a etapa de deslignificação.

A adição de MCF's na confecção dos papéis proporcionou um ganho de 38,71% com a adição de 10% de 5 passes e de 40,52% e 40,10% com a adição de 10% de MCF's com 10 passes e 40 passes respectivamente (Tabela 1).

Esse ganho de propriedade fica mais evidente para a propriedade de rasgo e arrebatamento, onde todos os índices superam um ganho de 100% nas propriedades.

**Tabela 1.** Propriedades mecânicas dos papéis produzidos

Amostras	IT (Nm/g)	IR (mNm <sup>2</sup> /g)	IA (kPam <sup>2</sup> /g)
PN	40.89	1.16	2.51
PN5	56.72	12.92	5.59
PN10	57.46	14.85	5.37
PN40	57.29	14.46	5.63

*PN= Papel não branqueado pinus; PN5= Papel não branqueado pinus com 10% nano com 5 passes no moinho; PN10= Papel não branqueado pinus com 10% nano com 10 passes no moinho; PN40= Papel não branqueado pinus com 10% nano com 40 passes no moinho.*

Já em relação à quantidade de passes para essas propriedades, ocorreu o mesmo comportamento observado para a propriedade de tração. Não houve um ganho expressivo com o aumento da quantidade de passes no moinho, mostrando que com 5 passes já há a formação das MCF's. Esse resultado é muito relevante para as questões industriais, onde é possível produzir MCF's com um menor gasto energético, o que acaba viabilizando o processo em escala industrial.

### 4 CONCLUSÕES

A adição de nanocelulose proporcionou um aumento considerável das propriedades mecânicas dos papéis produzidos. Esse ganho não foi acentuado com o aumento da quantidade de passes no moinho, demonstrando que com 5 passes já foram produzidas as MCF's necessárias para o reforço dos papéis.

### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq, Capes.

### REFERÊNCIAS

ABE, K.; IWAMOTO, S.; YANO, H. Obtaining Cellulose Nanofibers with a Uniform Width of 15 nm from Wood, *Biomacromolecules*, v. 8, p. 3276-3278, 2007.

- IOELOVICH, M. Cellulose as a nanostructured polymer: a short review. Nanostructured cellulose: Review, BioResources, v. 3, n. 4, p. 1403-1418, 2008.
- IWAMOTO, S.; KENTARO, A.; YANO, H. The Effect of Hemicelluloses on Wood Pulp Nanofibrillation and Nanofiber Network Characteristics. Biomacromolecules, Uji, v.9, p.1022-1026, 2008.
- MORÁN, J.I.; ALVAREZ, V.A.; CYRAS, V.P.; VÁZQUEZ, A. Extraction of cellulose and preparation of nanocellulose from sisal fibers. Cellulose, v. 15, p. 149-159, 2008.
- SPENCE, K.L.; VENDITTI, R.A.; ROJAS, O.; HABIBI, Y.; PAWLAK, J.J. A comparative study of energy consumption and physical properties of microfibrillated cellulose produced by different processing methods. Cellulose, v. 18, p. 1097-1111, 2011.
- TECHNICAL ASSOCIATION OF THE PULP AND PAPER INDUSTRY - TAPPI. T236 om-85. Kappa number of pulp. In: Tappi Test Methods. TAPPI Press, Atlanta, 1999.
- TAPPI. T 489-om99. Bending resistance (stiffness) of paper and paperboard (Taber-type tester in basic configuration). In: Tappi Test Methods. TAPPI Press, Norcross, GA, 2004. 6 p. 69
- TAPPI. T 494-om01. Tensile properties of paper and paperboard. In: Tappi Test Methods. TAPPI Press, Norcross, GA, 2004. 9 p.
- TAPPI. T 807-om03. Bursting strength of paperboard and linerboard. In: Tappi Test Methods. TAPPI Press, Norcross, GA, 2004. 4 p.
- VARTIAINEN, J.; PÖHLER, T.; SIROLA, K.; PYLKKÄNEN, L.; ALENIOUS, H.; HOKKINEN, J.; TAPPER, U.; LAHTINEN, P.; KAPANEN, A.; PUTKISTO, K.; HIEKKATAIPALE, P.; ERONEN, P.; RUOKOLAINEN, J.; LAUKKANEN, A. Health and environmental safety aspects of friction grinding and spray drying of microfibrillated cellulose. Cellulose, v. 18, p. 775-786, 2011.

---

## NOVOS NANOCOMPÓSITOS FERTILIZANTES NITROGENADOS DE LIBERAÇÃO LENTA: O IMPACTO DE POLÍMEROS NAS PROPRIEDADES E APLICAÇÃO

\*Elaine I. Pereira<sup>1,2</sup>, Camila C. T. da Cruz<sup>1,2</sup>, Caue Ribeiro<sup>1</sup>

<sup>1</sup>EMBRAPA Instrumentação, São Carlos, SP. <sup>2</sup> Universidade Federal de São Carlos, Departamento de Química, São Carlos, SP.

\*elaineinaciopereira@gmail.com

**Classificação:** Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio.

### Resumo

O uso eficiente de fertilizantes, especialmente nitrogenados, é essencial para a produção agrícola. Entre as tecnologias que podem contribuir para o uso eficiente de fertilizantes estão os produtos de liberação lenta ou controlada. Este trabalho descreve o impacto de nanocompósitos de ureia associada a um argilomineral esfoliado preparados adicionando diferentes concentrações de polímeros hidrofílicos ou hidrofóbicos sobre a estrutura e a taxa de liberação de ureia. Nosso processo de produção - extrusão de massa plástica - é simples e pode ser utilizado em grande escala, permitindo a produção de grânulos, sem custos elevados. Os nanocompósitos foram preparados adicionando quantidades variáveis (1, 2 e 4% em peso) de hidrogel de poliacrilamida ou policaprolactona, que influenciaram na morfologia, nas propriedades mecânicas e os perfis de liberação de ureia.

**Palavras-chave:** Ureia; Montmorilonita; Polímero; Liberação lenta; Resistência mecânica.

### NOVEL SLOW RELEASE NANOCOMPOSITE NITROGEN FERTILIZERS: THE IMPACT OF POLYMERS ON NANOCOMPOSITE PROPERTIES AND FUNCTION

**Abstract**

Efficient use of fertilizers, especially nitrogen, is essential to agricultural production. Among the technologies that can contribute to efficient use of fertilizers are slow or controlled release products. This paper describes the impact of urea nanocomposite associated with exfoliated clay mineral prepared by adding different concentrations of hydrophilic or hydrophobic polymers on the structure and the release rate of urea. Our manufacturing process - the extrusion of a plastic mixture - is simple and can be scaled up, allowing granule production without high costs. Nanocomposites were prepared by adding various amounts (less than 4% by weight) of polyacrylamide hydrogel or polycaprolactone, which influenced mechanical properties and urea release profiles.

**Keywords:** Urea; Montmorillonite; Polymer; Slow release; Mechanical resistance.

**Publicações relacionadas:** Esse trabalho é parte de outro trabalho que foi submetido para publicação no *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.

## 1 INTRODUÇÃO

A indústria de fertilizantes enfrenta um desafio permanente de melhorar a eficiência de seus produtos, principalmente dos fertilizantes nitrogenados. Isso pode ser feito através da melhoria de compostos já em uso ou por meio do desenvolvimento de novos tipos de fertilizantes sendo que, o uso eficiente desses materiais é essencial e estratégico para a obtenção de produtividade máxima econômica das culturas e também para minimizar as perdas de nutrientes para o ambiente (TRENKEL, 2010). O nitrogênio se destaca dentre os macronutrientes que são, essencialmente, utilizados no manejo do solo em diversos cultivos. Entre as opções comerciais disponíveis para a adubação com nitrogênio, uma das mais interessantes do ponto de vista econômico é a ureia –  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ . Porém, os fertilizantes nitrogenados são mais susceptíveis a perdas, tanto por lixiviação ou escoamento superficial, ou através de emissões gasosas (SNYDER et al., 2009). Dessa forma, torna-se imprescindível controlar a quantidade desse nutriente no solo, a fim de se obter uma maior produção agrícola, maior lucratividade e menores impactos ao meio ambiente. Entre as possíveis tecnologias que podem contribuir para o uso mais eficiente desses fertilizantes estão os sistemas de liberação lenta ou controlada, especialmente os baseados na associação de materiais lamelares e/ou polímeros a esses fertilizantes. Assim, o objetivo desse trabalho foi estudar o impacto da preparação de nanocompósitos de ureia associada a um argilomineral esfoliado em sua estrutura, com a presença de polímeros que possam modificar a interface entre ureia e o argilomineral.

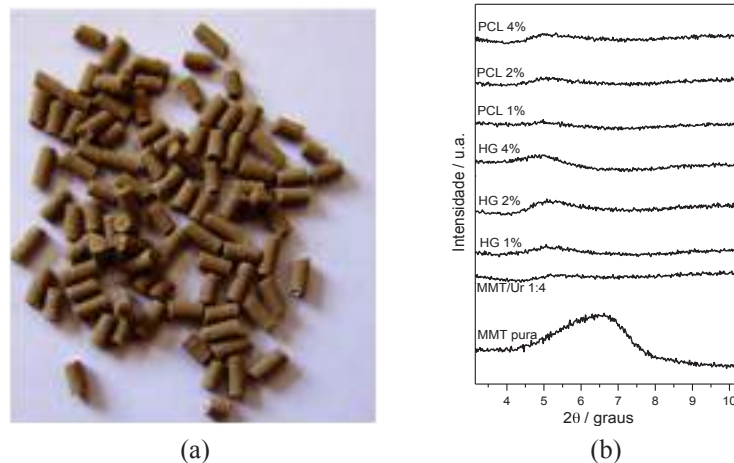
## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

A preparação dos compostos consistiu em três etapas: pré-mistura, extrusão e secagem (Pereira et al., 2012). A MMT (Drescon S/A - Produtos de Perfuração), a ureia comercial (moída - moinho de martelo Tecnal, TE-330) e polímero (hidrogel de poliácridamida – HG - e policaprolactona - PCL) foram pesados separadamente e pré-misturados. 13% de água (em relação ao peso total) foram adicionados para completar a mistura. As misturas foram então extrudadas em uma extrusora de dupla rosca (ZSK Coperion 18), a 120 rpm e  $\sim 40$  °C, e convertidas em pellets. Os materiais foram secos à temperatura ambiente e armazenados. A relação mássica entre MMT e ureia (1:4) foi a mesma para todos os materiais. No entanto, a massa de polímero adicionado variou entre 1, 2 e 4%, com base na massa total. Os materiais foram designados: HG 1%, HG 2% e HG 4% aqueles preparados com HG, e PCL 1%, PCL 2% e PCL 4% aqueles preparados com PCL. Um compósito com apenas MMT e ureia (1:4 m/m), denominado MMT/Ur, também foi testado. Os materiais foram caracterizados por difratometria de raios X (DRX) (SHIMADZU XRD 6000), microscopia eletrônica de varredura (MEV) (JEOL Microscope - modelo JSM 6510) e testes de compressão diametral (EMIC/DL - 3000). Foi realizado também um teste para medir a liberação de ureia em água (Pereira et al., 2012).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 DRX

Uma imagem do compósito PCL 1% é apresentada na Figura 1a, ressaltando que todos os compósitos são visivelmente iguais. Para verificar a expansão interlamelar ou esfoliação da MMT presente nos nanocompósitos foram feitas análises por DRX (Fig. 1).

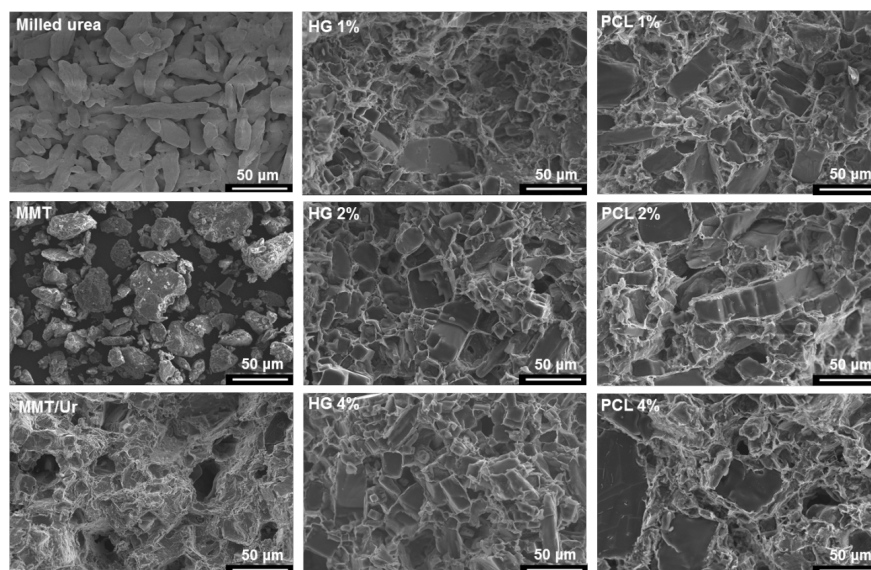


**Figura 1.** (a) Imagem do compósito PCL 1% granulado; (b) Difratomogramas de raios X da MMT pura e dos nanocompósitos MMT/Ur 1:4, HG 1, 2 e 4% e também PCL 1, 2 e 4%.

O difratograma da MMT pura mostra características típicas desse material, com o valor de  $d_{001}$  ( $2\theta = 6,6^\circ$ ) igual a 1,34 nm, valor calculado com base na equação de Bragg ( $2 \cdot d \cdot \sin\theta = n \cdot \lambda$ ). Já para a MMT presente nos nanocompósitos é possível notar que a posição do pico referente ao plano cristalográfico d001 foi deslocada para menores ângulos em todos os materiais e sua intensidade diminuiu significativamente, indo a valores quase nulos. Isso sugere que a MMT presente nos nanocompósitos tornou-se esfoliada após o processo de extrusão na presença de ureia e dos polímeros (HG ou PCL).

### 3.2 MEV

A análise morfológica feita por MEV (Fig. 2) mostra que diferenças significativas podem ser observadas entre a morfologia do nanocompósito MMT/Ur 1:4 e dos nanocompósitos preparados com HG e PCL. Para os nanocompósitos com polímero são observadas superfícies de fratura mais uniformes, sem espaços vazios, e a presença de cristais de ureia maiores. Já uma análise comparativa entre os nanocompósitos preparados com polímero mostra que a presença do HG leva à formação de um material com uma superfície de fratura mais plana, enquanto que aqueles preparados com PCL apresentaram morfologia superficial irregular, característica de fratura instável. Essa análise indica que o HG atua como melhor aditivo de processamento, comparado ao PCL, melhorando a uniformidade do material. Este fato pode estar relacionado à maior interação química do HG com a MMT e ureia, visto serem todos materiais hidrofílicos, melhorando a adesão interfacial entre estes materiais, o que não ocorre com o PCL.

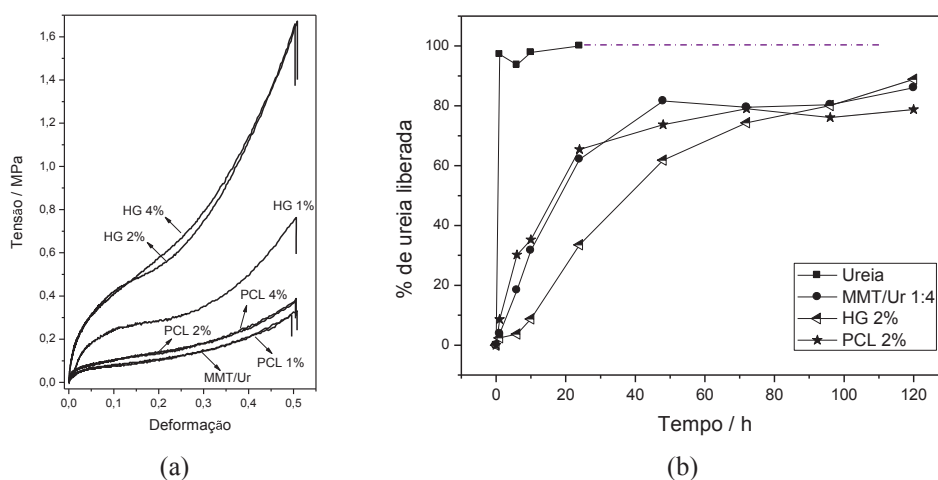


**Figura 2.** Micrografias obtidas por MEV dos compósitos e seus precursores.



### 3.3 Testes de compressão diametral e Teste de liberação de ureia em água

A partir das curvas de tensão *versus* deformação (Fig. 3a) pode-se observar que todas as composições mostraram-se deformáveis, não apresentando ruptura até a deformação máxima suportada pelo equipamento. Com relação à resistência à deformação, observa-se que as misturas preparadas com PCL apresentaram comportamento mais próximo ao compósito MMT/Ur, com baixa resistência à deformação. Já as misturas com HG apresentaram maior resistência à compressão diametral, sendo os resultados mais significativos para as composições 2 e 4%. A melhora na resistência mecânica atribuída à presença do HG na mistura de MMT e ureia confirma o maior grau de interação entre os componentes. Ligações e interações entre o HG e a MMT (Ruiz-Hitzky & van Meerbeek, 2006), permitem a formação de compostos mais rígidos e, portanto, mais resistentes mecanicamente. Esses resultados concordam com os obtidos pelo MEV. Com relação aos testes de solubilização em água, observa-se a dissolução instantânea da ureia pura, a mesma utilizada comercialmente como fertilizante. Já todos os nanocompósitos, mesmo o sem polímero ou com polímero, apresentaram comportamento de liberação mais lento. Porém, uma análise comparativa entre eles mostra que, os nanocompósitos produzidos com HG apresentaram uma cinética de liberação mais lenta, principalmente nos tempos iniciais, durante o período de inchamento do grânulo. Desta forma, nota-se que o comportamento de competição pela entrada de água no material com HG determinou maior tempo de retenção.



**Figura 3.** (a) Curvas representativas de tensão *versus* deformação obtidas a partir do teste de compressão diametral; (b) Curvas de liberação da ureia, MMT/Ur, HG 2% e PCL 2%.

## 4 CONCLUSÃO

Em resumo, os compósitos foram produzidos através de MMT, ureia e dois diferentes polímeros, HG (hidrofílico) e PCL (hidrofóbico). Estudos de difração mostraram que a MMT torna-se esfoliada após o processo de extrusão, na presença de ureia e de polímero. A adição de HG na mistura de MMT:ureia gera uma nova interface entre estes materiais com interações fortes, e, conseqüentemente, foi eficaz em aumentar a resistência mecânica. A liberação de ureia em água mostrou pouca variação, quando comparado com a referência (composto MMT/Ur, sem modificação com polímeros). No entanto, o material de HG mostrou uma melhor retenção de ureia durante as primeiras ~50 h após a água ser adicionada, indicando que o polímero provavelmente concorre para a difusão da água no grânulo, favorecendo, assim, a retenção de ureia durante o inchaço do grânulo.

## AGRADECIMENTOS

CNPq (141278/2010-2); UFSCar, Embrapa Instrumentação (LNNA); FINEP; Rede Nanobiotec Brasil (Edital 04/CII - 2008).

## REFERÊNCIAS

PEREIRA, E. I.; MINUSSI, F. B.; CRUZ, C. C. T. da; BERNARDI, A. C. C.; RIBEIRO, C. Urea-Montmorillonite- Extruded Nanocomposites: A Novel Slow-Release Material. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 60, n. 21, p. 5267-5272, 2012.

SNYDER, C. S; BRUULSEMA, T. W; JENSEN, T. L. & FIXEN, P. E. "Review of greenhouse gas emissions from crop production systems and fertilizer management effects". *Agriculture, Ecosystems & Environment*, v. 133, n. 3-4, p. 247-266, 2009.

TRENKEL, M. E. *Slow- and Controlled-Release and Stabilized Fertilizers: An Option for Enhancing Nutrient Use Efficiency in Agriculture*. Paris, International Fertilizer Industry Association (IFA), 2010. 163p.

RUIZ-HITZKY, E. & van MEERBEEK, A. Clay mineral and organoclay-polymer nanocomposites. In: *Handbook of Clay Science*. Bergaya, F.; Theng, B. K. G. & Lagaly, G. (Eds.). Elsevier, 2006. p. 583-621.

---

## AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE FILMES FINOS DE QUITOSANA/NANOPARTÍCULAS DE PRÓPOLIS CONTRA *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

\*Rejane C. Goy<sup>1</sup>, Márcia C. R. S. Ferreira<sup>2</sup>, Rubens B. Filho<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP. <sup>2</sup>Centro Universitário Central Paulista, Unicep, São Carlos, SP. <sup>3</sup>Pesquisador, Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP.  
\*rejanegy@gmail.com

**Classificação:** Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio.

### Resumo

A própolis é milenarmente reconhecida por ser um antibiótico natural produzido por abelhas, para assepsia de suas colmeias. A quitosana é um polissacarídeo de origem natural com conhecida eficiência como agente antibacteriano e a capacidade de formar filmes. Com o intuito de melhorar essa propriedade de inibir o crescimento de bactérias, foi realizada a junção dos dois materiais. A forma nanométrica das partículas de própolis também tem o objetivo de favorecer a interação com as bactérias devido as pequenas dimensões do material. Como base para formação das nanopartículas de própolis foi utilizado álcool polivinílico (PVA), polímero sintético, solúvel em água, atóxico, hidrofílico, biodegradável e biocompatível. O microorganismo de trabalho foi a bactéria gram-positiva *Staphylococcus aureus*. Foram realizados testes de formação de halo de inibição, nos quais partições dos filmes foram colocadas sobre meio de cultura TSB (Tryptic Soy Broth) inoculados com bactérias e as placas foram incubadas em estufa para o crescimento das colônias e observação da formação dos halos de inibição. Os resultados obtidos foram promissores, havendo eficiência do material estudado contra o crescimento das colônias bacterianas.

**Palavras-chave:** Nanopartículas; Própolis; Quitosana; Filmes Finos; Anti-bacteriano.

### ANTIBACTERIAL ACTIVITY AGAINST STAPHYLOCOCCUS AUREUS FROM CHITOSAN/PROPOLIS THIN FILMS

#### Abstract

Propolis is recognized for millennia to be a natural antibiotic produced by bees, for sterilization of their hives. Chitosan is a polysaccharide of natural origin known as antibacterial agent efficiency and the ability to form films. In order to improve this property of inhibiting the growth of bacteria, the junction of the two materials was carried out. The nano-particle form of propolis also aims to facilitate the interaction with bacteria due to the small size of the material. As a basis for the formation of nanoparticles was used propolis polyvinyl alcohol (PVA), synthetic polymer, water soluble, non-toxic, hydrophilic, biodegradable and biocompatible. The micro-organism was working the gram-positive bacterium *Staphylococcus aureus*. Inhibition tests by no grow formation zone were performed in which partitions of the films were placed on the middle of TSB culture (Tryptic Soy Broth) inoculated with bacteria and the plates were incubated in a greenhouse for colonies growing and observing the formation of inhibition zones. The results were promising, there efficiency of the studied material against the growth of bacterial colonies.

**Keywords:** Nanoparticles; Propolis; Chitosan; Thin films; Against bacteria

**Publicações relacionadas:**

GOY, R. C.; BRITTO, D.; ASSIS, O. B. G. A Review of the Antimicrobial Activity of Chitosan. *Polímeros* (São Carlos. Impresso), v.19, n. 3, p. 241-247, 2009.

## 1 INTRODUÇÃO

A busca incessante pela descoberta e aprimoramento de embalagens inteligentes, utilizando materiais inovadores, eficientes na preservação de alimentos é constante. Produtos de origem natural têm sido utilizados para substituir as embalagens tradicionais (plásticos em geral) para que, além proteger fisicamente, possam garantir aos alimentos proteção contra agentes microbiológicos e toxicológicos, melhorando também as trocas gasosas e umidade, mantendo a qualidade e prolongando o tempo de prateleira de hortifrutis. Neste estudo estão sendo testados dois produtos conhecidos por sua ação contra microorganismos, a quitosana e a própolis, ambos com conhecida capacidade de inibição de crescimento contra muitos microorganismos quando usados separadamente, porém esse estudo utiliza a combinação de ambos, o que é inédito na literatura, utilizando ainda a própolis na forma nanométrica, que é um estudo recentemente desenvolvido na Embrapa Gado de Leite pelo pesquisador Humberto de Mello Brandão e sua equipe. Além disso, esses dois produtos são de origem natural. O termo quitosana não se refere a um único componente, mas a uma família de co-polímeros com várias frações de unidades acetiladas com estrutura básica poli[(1→4)-β-2-amino-2-dioxi-D-glucose]. A quitosana possui ótima propriedade filmogênica, por isso tem sido muito explorada como membranas e películas, principalmente para o revestimento de produtos agrícolas pós-colheita, embalagens e como meios de separação. Filmes de quitosana obtidos por *casting* a partir de soluções ácidas têm sido caracterizados quanto às suas propriedades mecânicas com diferentes comportamentos dependentes do solvente empregado na solução precursora (Bégin e Calsteren, 1999; Britto et al., 2005). A própolis, que embora seja comercializada na forma de extrato para fabricação de vários produtos, ainda é um material de fácil obtenção, abundante e barato. Sua composição química é complexa e variada, uma vez que, além da flora regional está sujeita a variações sazonais. Em média sua composição é de 55% resinas vegetais; 30% cera de abelhas; 8 a 10% de óleos essenciais; e 5% de pólen. Já foram identificados cerca de 200 compostos químicos na própolis entre eles os ácidos graxos e fenólicos, ésteres, ésteres fenólicos, flavonóides (flavonas, flavanonas, flavonóis, dihidroflavonóis), terpenos, β-esteróides, aldeídos e álcoois aromáticos, sesquiterpenos e naftaleno (Vargas, et al., 2004;). Os nanomateriais possuem as vantagens consequentes do seu tamanho reduzido, aumentando acessibilidade química dos componentes da embalagem e aumentando a superfície de contato desses componentes.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Preparação de Nanopartículas de Própolis

A própolis de alecrim-do-campo (*Baccharis dracunculifolia*), produzida por abelhas *Apis mellifera*, africanizadas na região do sul de Minas Gerais foi fornecida pela Wenzel Indústria e Comércio de Produtos Apícolas LTDA. As nanopartículas de própolis foram produzidas a partir do extrato alcoólico a 2,75% de matéria seca filtrado previamente em membrana de 0,22μm. Álcool polivinílico preparado numa concentração de 0,3% e também previamente filtrado em membrana de 0,22μm é colocado sob agitação de 600rpm na temperatura de 35°C. O extrato de própolis (1mL) é então gotejado lentamente no álcool polivinílico formando assim as nanopartículas de própolis (Brandão, et al. 2010).

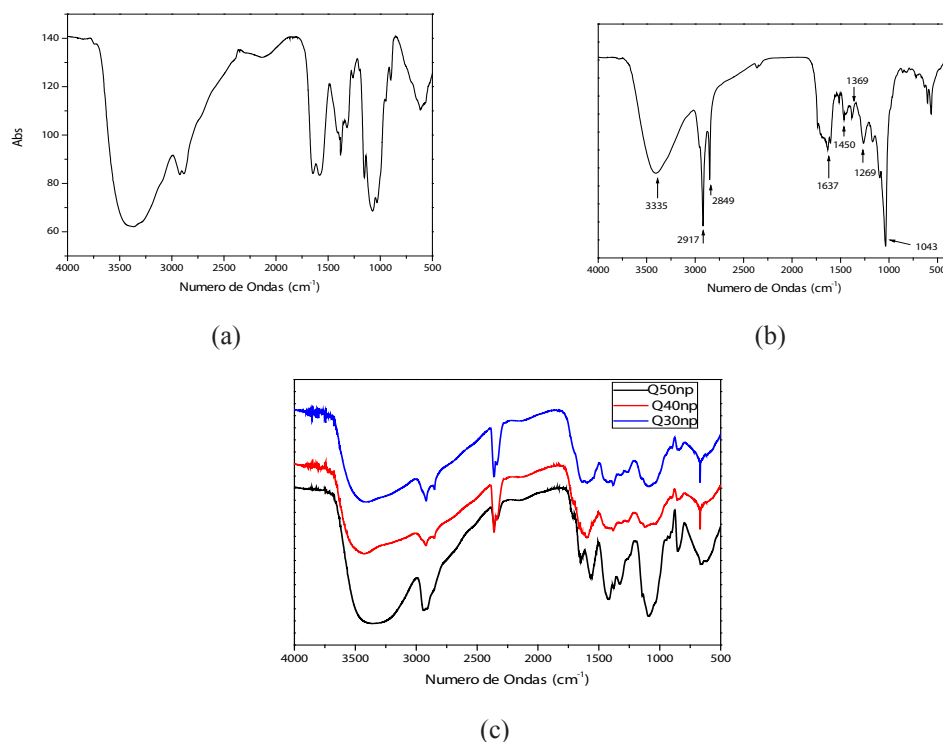
### 2.2 Preparação dos Filmes

A quitosana utilizada para confecção dos filmes é comercial, de média massa molar, adquirida da Sigma Aldrich - lote 448877. Os filmes foram preparados empregando a técnica de “casting” sob superfície apolar a partir de géis de quitosana em concentração de 2gL<sup>-1</sup>. Quitosana foi diluída em ácido acético 1% sob agitação magnética constante por 24h. Após a solubilização foram adicionadas as diferentes concentrações de nanopartículas de própolis, 30, 40 e 50% v/v. Para que essas concentrações fossem determinadas, foram realizados testes preliminares com porcentagens menores de nanopartículas, até observar quais as melhores concentrações de trabalho, que apresentassem eficiência na inibição do crescimento bacteriano. A adição das nanopartículas foi seguida por homogeneização sob agitação

magnética por dez minutos. As misturas obtidas (20mL) foram vertidas sobre placas acrílicas e deixadas numa temperatura de 40°C em estufa de circulação para evaporação dos solventes e formação dos filmes. Após a secagem as películas foram destacadas e armazenadas em dessecador.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas análises de espectroscopia na região do infravermelho observamos a diferença entre os espectros de quitosana e própolis, bem como o espectro final obtido após a junção desses dois materiais. Na **Figura 1** observamos os espectros do filmes em KBr:



**Figura 1.** Espectros na região do infravermelho de (a) Quitosana e (b) Própolis e (c) Nanopartículas de própolis.

Pode ser observado o aparecimento de bandas devido à presença dos grupos flavonóides em filmes de quitosana com própolis, como no caso das bandas em 1637, 1269 e 1043  $\text{cm}^{-1}$ , que são responsáveis pela ação bacteriostática contra *S. aureus*. (Alvarez, et al., 2006). Estas bandas pertencem à própolis e não aparecem no filme de quitosana pura, exceto em 1033  $\text{cm}^{-1}$  que são bandas de álcoois primários que também aparecem na quitosana pura. onhecidas as bandas da quitosana, temos para o PVA, que é a base das nanopartículas juntamente com a própolis uma banda intensa em aproximadamente 3400 $\text{cm}^{-1}$  correspondente à vibração de estiramento do grupo OH<sup>-</sup>; uma banda de absorção correspondente ao estiramento —CH em 2900 $\text{cm}^{-1}$  e uma banda de estiramento da ligação C—O em 1100 $\text{cm}^{-1}$ . As bandas do PVA coincidem com algumas bandas da quitosana e própolis, não alterando significativamente o espectro de absorção na região do infravermelho.

Foram feitos muitos testes de inibição de crescimento contra *S. aureus* com em meio TSB pelo método de difusão em ágar utilizando partições dos filmes.



**Figura 2.** Imagens da interação dos filmes de quitosana e nanopartículas própolis contra *S. aureus*.

Os testes realizados foram qualitativos, porém, foi observado que a incorporação da própolis na forma de nanopartículas aos filmes baseados em quitosana favoreceu a formação de zonas de inibição do crescimento das bactérias ao redor da película. Nesse estudo qualitativo, foram testados diferentes formatos e tamanhos de filmes, e, foi constatado, que essa variação não aumentava nem diminuía o tamanho dos halos, sempre equivalentes, considerando as margens das películas ao início da margem de crescimento das colônias. Outra observação importante, que por mais simétrico que fossem os “pedaços” recortados dos filmes, após a colocação sobre o ágar, houve uma espécie de difusão das películas, causando uma deformação nas mesmas. Testes quantitativos, bem como toxicológicos estão sendo realizados na continuidade do trabalho.

#### 4 CONCLUSÕES

Nesse estudo observamos que apesar da eficiência da quitosana e da própolis já conhecidos como agentes bactericidas ou bacteriostáticos separadamente, a união destes dois materiais para fabricação de filmes é um estudo inédito e promissor. A aplicação como agente de inibição do crescimento bacteriano mostrou que esse novo material foi eficiente contra as bactérias gram-positivas *S. aureus* encorajando o desenvolvimento da pesquisa para ampliação de suas aplicações no pós colheita.

#### AGRADECIMENTOS

Agradeço a colaboração da estagiária Márcia Ferreira, ao meu supervisor Dr. Rubens Bernardes Filho, ao CNPq, Finep, Capes e Projeto MP1 Rede Agronano – Embrapa.

#### REFERÊNCIAS

ALVAREZ M. DE LOS A.; DEBATTISTA, N.B.; PAPPANO, N.B. Synergism of flavonoids with bacteriostatic action against *Staphylococcus aureus* ATCC 25 923 and *Escherichia coli* ATCC 25 922. *Bio-cell*, 30: 39-42, 2006.

BRANDAO, H. M. ; VINHOLIS, M. M. B. ; MOSQUEIRA, V. C. F. ; MATTOSO, L. H. C. ; BRITO, M. A. V. P. ; RIBEIRO, C. ; SOUSA, R. V. ; BARBOSA, N. R. ; LANGE, C. C. . NANOPARTÍCULAS DE PRÓPOLIS, PROCESSOS DE OBTENÇÃO E USO. 2010, Brasil. Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: 01210001131, data de depósito: 27/10/2010, título: “NANOPARTÍCULAS DE PRÓPOLIS, PROCESSOS DE OBTENÇÃO E USO” . Instituição(ões) financiadora(s): Embrapa.

BRITTO, D.; CAMPANA-FILHO, S. P.; ASSIS, O. B. G. Mechanical properties of N,N,N-trimethyl-chitosan chloride films, *Polímeros*, v. 15, n. 2, p. 129-132, 2005.

VARGAS, A. C.; et al. Atividade antimicrobiana “in vitro” de extrato alcoólico de própolis, *Ciência Rural*, v. 34, n. 1, p. 159-163, 2004.

---

## FORMAÇÃO DE NANOESTRUTURAS DE A-LACTOALBUMINA COM GOMA ACÁCIA POR UM PROCESSO VERDE E SUA CARACTERIZAÇÃO

**Fabíola Cristina de Oliveira<sup>1</sup>, Jane Sélia dos Reis Coimbra<sup>2</sup>, Rachel Campos Sabioni<sup>2</sup>, Eduardo Basílio de Oliveira<sup>2</sup>, \*Mariana Helena Cardoso Costa<sup>2</sup>, Igor José Boggione Santos<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de MG, Rio Pomba, MG. <sup>2</sup>Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, MG.

\*maricardoso<sup>27</sup>@yahoo.com.br

**Classificação:** Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio.

## Resumo

Nanopartículas biopoliméricas foram preparadas utilizando  $\alpha$ -lactoalbumina e goma arábica. Inicialmente foi realizado um aquecimento a seco para o preparo de conjugados via Reação de Maillard. Posteriormente os conjugados foram dissolvidos em água e submetidos a um segundo aquecimento com pH e temperatura controlada para induzir a formação das nanoestruturas. Medidas de espalhamento dinâmico de luz (DLS), espalhamento estático de luz (SLS) e microscopia eletrônica de transmissão (MET) foram utilizadas na caracterização estrutural das nanopartículas. No geral, as nanoestruturas apresentaram um formato esférico e raio hidrodinâmico variando de 30 a 150 nm, de acordo com o sistema e as condições utilizadas. O tamanho dos nanogéis permaneceu estável durante os 7 dias de análise. O pH influencia no raio hidrodinâmico, no raio de giro e no índice de polidispersão das nanoestruturas formadas.

**Palavras-chave:** Glicosilação; Proteína do soro do leite; Polissacarídeo; Nanoestruturas.

## FORMATION OF $\alpha$ -LACTALBUMIN NANOSTRUCTURES WITH ACACIA GUM IN A GREEN PROCESS AND ITS CHARACTERIZATION

### Abstract

Biopolymer nanoparticles were prepared using  $\alpha$ -lactalbumin and acacia gum. Initially a dry heating for preparing conjugates via Maillard reaction was performed. Subsequently conjugates were dissolved in water and subjected to a second heating temperature and pH controlled to induce the formation of nanostructures. Dynamic light scattering (DLS), static light scattering (SLS) and transmission electron microscopy (TEM) were used in the structural characterization of nanoparticles. In general, the nanostructures had a spherical shape and hydrodynamic radius ranging from 30 to 150 nm according to the system and the conditions used. The size of the nanogels remained stable during 7 days of analysis. The pH influences the hydrodynamic radius, the radius of gyration and polydispersity of the formed nanostructures.

**Keywords:** Glycosylation; Whey protein; Polysaccharides; Nanostructure.

### Publicações relacionadas

DE OLIVEIRA, F. C. Propriedades técnico-funcionais e obtenção de nanoestruturas de proteínas do soro conjugadas com goma arábica via reação de Maillard. 2013. 177 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, UFV, Viçosa, 2013.

## 1 INTRODUÇÃO

A interação de proteínas com polissacarídeos e carboidratos menores através de reação de Maillard é um método eficaz para melhorar a estabilidade das proteínas, que não requer a utilização de catalisadores químicos (OLIVER et al. 2006). A importância da glicosilação de proteínas com polissacarídeos via reação de Maillard, constitui um meio efetivo de melhorar as propriedades técnico-funcionais de proteínas e apresenta potencial para utilização em sistemas de liberação controlada. Estudos recentes estão sendo realizados com o objetivo de produzir nanoestruturas, a partir de conjugados proteína-polissacarídeo, para serem utilizados em sistemas de liberação controlada (MARKMAN e LIVNEY et al., 2012; LI e YAO, 2009; LI et al., 2008; QI et al., 2010). De acordo com estes estudos, nanoestruturas produzidas a partir de conjugados proteína-polissacarídeo são mais estáveis em relação às formadas somente por proteínas.

Nanoestruturas formadas de proteína são candidatos ideais para o encapsulamento e liberação de compostos. Neste contexto, o presente estudo tem como objetivo a produção de nanoestruturas compostas por proteína do soro de leite,  $\alpha$ -Lactoalbumina, conjugada com goma arábica, com vista a futuras aplicações na área de alimentos, tais como: alteração de propriedades funcionais e reológicas de alimentos, produção de embalagens ativas para alimentos ou na liberação controlada de compostos bioativos. Neste sentido pretende-se conjugar proteínas do soro com polissacarídeos, via reação de Maillard, para obter nanoestruturas à base de conjugados que podem apresentar uma maior estabilidade e melhor desempenho em relação às compostas por apenas proteínas.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Materiais

$\alpha$ -lactoalbumina ( $\alpha$ -la, contendo 95% de proteína, sendo 90% $\alpha$ -la) foi doada pela Davisco Foods Internacional Inc. (Eden Prairie, MN, USA). Goma arábica (GA, com pureza superior a 85%) foi adquirida da Vetec Química Fina (RJ, Brasil). Os reagentes foram utilizados sem nenhuma purificação adicional e foram de grau analítico. Água deionizada (resistividade elétrica  $\approx 18 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$ ) foi obtida a partir do sistema de purificação Milli-Q (Millipore Co., MA, EUA) e utilizado nos experimentos.

### 2.2 Obtenção de nanoestruturas de proteínas a partir de conjugados proteína-GA

Conjugados  $\alpha$ -la:GA foram preparados via Reação de Maillard utilizando o método de aquecimento a seco (KATO, 2002). As nanoestruturas obtidas a partir de conjugados foram preparados segundo o proposto por LI et al. (2008), com algumas modificações. Os conjugados foram aquecidos a  $80 \text{ }^\circ\text{C}$  por 30 min em banho termostático (TE-184, Tecnal, Brasil) para a formação das nanoestruturas.

### 2.3 Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS) e Espalhamento estático de luz (SLS)

As medidas de espalhamento foram realizadas utilizando um detector de fotodiodo de avalanche Brookhaven modelo BI-APD e um correlacionador TURBOCORR também da Brookhaven. A fonte de luz foi um laser HeNe de 35 mW de potência e  $\lambda = 632,8 \text{ nm}$ , linearmente polarizada, da CVI Melles Griot. A intensidade das funções de autocorrelação foi analisada pelo método Cumulantes (quadrático). A temperatura foi mantida a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  e o ângulo de espalhamento foi fixado em  $90^\circ$ .

### 2.4 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

A amostra foi fixada por deposição de uma gota de solução sobre grades de cobre de 200 mesh revestidas com filmes finos de Formvare carbono (Koch Electron Microscopy, Brasil). As imagens foram feitas em um Microscópio Eletrônico de Transmissão (Zeiss, 43 modelo EM 109, Oberkochen, Alemanha), com voltagem de aceleração de 80 kV.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Preparação dos conjugados $\alpha$ -lg:GA

De acordo com os resultados da análise de eletroforese (SDS-PAGE) e teste OPA (dados não mostrados) pode-se concluir que houve formação de conjugados a partir do primeiro dia de reação de Maillard, porém a extensão da reação foi limitada, restando uma grande quantidade de proteína sem reagir com a goma arábica.

### 3.2 Efeito do tempo de reação de Maillard sobre o tamanho dos nanogéis

O tamanho das nanoestruturas formadas foi acompanhado durante um período de 7 dias, com o objetivo de detectar uma possível alteração no tamanho das nanoestruturas. De acordo com a curva típica da correlação do espalhamento de luz  $\alpha$ -la:GA (pH 4,0), 1 dia de reação de Maillard, com o ajuste do modelo cumulante quadrático, os resultados mostram que para  $\alpha$ -la:GA, houve uma pequena variação no tamanho das partículas. Os nanogéis obtidos utilizando apenas mistura de  $\alpha$ -la e GA apresentaram um tamanho levemente maior que os obtidos pelos conjugados (tempo de reação de Maillard de 1 dia). Enquanto que os conjugados obtidos por 3 dias de reação de Maillard foram os que apresentaram menor raio hidrodinâmico. Quanto ao índice de polidispersão (PDI), os resultados mostraram que as nanoestruturas formadas de diferentes amostras, apresentam um valor baixo de PDI, indicando a presença de um sistema monodisperso. O valor de PDI para as partículas preparadas com conjugados obtidos por 3 dias de reação de Maillard, foi um pouco maior em relação aos demais sistemas, indicando que apesar de ter tido uma diminuição do tamanho dos nanogéis, o sistema ficou menos homogêneo. Os resultados de  $\rho$  mostraram que as nanoestruturas apresentam um formato esférico (esfera oca) ou levemente elipsoidal.

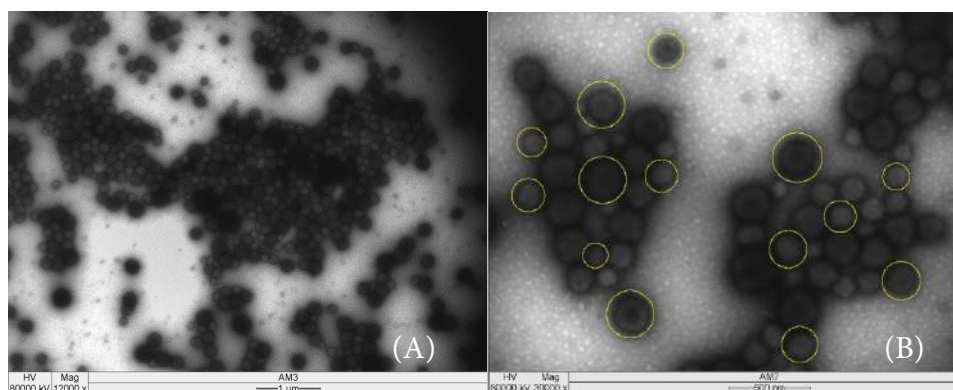
Não houve variação expressiva no tamanho dos nanogéis durante os 7 dias em que foram avaliados, indicando que tais nanogéis permaneceram estáveis no período analisado. O aquecimento da solução de proteína pura levou a formação de precipitado (agregados) e a solução resultante apresentou uma maior turbidez.

### 3.3 Efeito do pH do meio durante a síntese sobre o tamanho nanogéis

Foi realizado um estudo variando o pH das soluções de conjugados em valores próximos ao pI das proteínas. As soluções de  $\alpha$ -la e GA, o pH das soluções foi ajustado para 4,0 e 4,5 antes da segunda etapa de aquecimento. Os resultados indicam que apesar do pH 4,5 ter apresentado um valor de raio hidrodinâmico muito menor em relação ao pH 4,0, o PDI foi muito maior indicando que apesar de obter um tamanho médio de partículas o sistema foi muito mais heterogêneo.

### 3.4 Microscopia eletrônica de transmissão (MET)

As imagens obtidas por MET, conforme apresentadas na Figura 1, mostram que as nanopartículas de  $\alpha$ -la, circulos em amarelo, são esféricas. O raio hidrodinâmico médio das nanopartículas nas imagens em MET é de  $75\pm 22$  nm para  $\alpha$ -la:GA (1 dia de reação, pH 4,0). O tamanho encontrado por meio de MET é menor que o raiohidrodinâmico de  $118\pm 1$  nm determinados por DLS, para esta nanoestrutura.



**Figura 1.** Imagens de microscopia eletrônica de transmissão das nanoestruturas formadas  $\alpha$ -la:GA, pH 4,0 (A) aumento de 12000x e (B) aumento de 30000x.

A diferença de tamanho quando se compara as técnicas de DLS e MET, em parte, deve-se ao fato que as análises de DLS são realizadas em solução, enquanto que as análises de MET mostram as imagens das nanopartículas secas. De acordo com Yu et al. (2006) e Pan et al. (2007) esta diferença de tamanho indica que as nanopartículas apresentam uma estrutura de baixa densidade e alta capacidade de retenção de água. Devido a estas características tais autores a denominaram de nanogéis. Ao observar a Figura 1, percebe-se que as nanoestruturas formadas apresentam uma maior densidade de moléculas na superfície (coloração mais intensa). Esta observação indica que as nanoestruturas formadas podem apresentar uma estrutura oca.

## 4 CONCLUSÃO

Proteínas do soro e goma arábica, biomoléculas naturais, foram utilizadas para preparar nanoestruturas utilizando um método considerado “green process”, por ser um método simples e fácil e não requer a adição de agentes químicos. Dentre as variáveis estudadas as melhores condições para o preparo das nanoestruturas foram concentração de  $2 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  e pH 4,0 para sistemas contendo  $\alpha$ -la e GA. O tempo de reação de Maillard não influenciou no tamanho e a forma das nanoestruturas formadas. O raio hidrodinâmico das nanoestruturas obtidas variou de 30 a 150 nm e apresentaram um formato esférico (esfera oca). Devido às características apresentadas pelas nanoestruturas formadas, pode-se concluir que estas apresentam um potencial para serem utilizados em sistemas de liberação controlada. No entanto, torna-se necessário, mais estudos, com relação à caracterização destas nanoestruturas.



## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico (CNPq), e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo suporte financeiro.

## REFERÊNCIAS

- OLIVER, C. M., MELTON, L. D., STANLEY, R. A. Creating proteins with novel functionality via the Maillard reaction: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 46, p. 337–350, 2006.
- MARKMAN, G., LIVNEY, Y. D. Maillard-conjugado based core-shell co-assemblies for nanoencapsulation of hydrophobic nutraceuticals in clear beverages. *Food Function*, v. 3, n. 3, p. 262-270, 2012.
- LI, J., YAO, P. Self-Assembly of Ibuprofen and Bovine Serum Albumin-Dextran Conjugados Leading to Effective Loading of the Drug. *Langmuir*, v. 25, n. 11, p. 6385-6391, 2009.
- LI, J., YU, S., YAO, P., JIANG, M. Lysozyme–Dextran Core–Shell Nanogels Prepared via a Green Process. *Langmuir*, v. 24, n. 7, p. 3486-3492, 2008.
- QI, J., YAO, P., HE, F., YU, C., HUANG, C. Nanoparticles with dextran/chitosan shell and BSA/chitosan core – Doxorubicin loading and delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 393, p. 177-185, 2010.
- KATO, A. Industrial applications of Millard-type protein- polysaccharide conjugates. *Food Science and Technology Research*, v. 8, p. 193–199, 2002.
- YU, S. Y.; YAO, P.; JIANG, M.; ZHANG, G. Z. Nanogels prepared by self-assembly of oppositely charged globular proteins. *Biopolymers*, v. 83, p. 148- 158, 2006.
- PAN, X.; YU, S.; YAO P.; SHAO Z. Self-assembly of  $\beta$ -casein and lysozyme. *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 316, p. 405–412, 2007.

---

## SÍNTESE DO $\text{BiVO}_4$ E APLICAÇÃO NA FOTODEGRADAÇÃO DE AZUL DE METILENO SOB RADIAÇÃO VISÍVEL

Osmando F. Lopes<sup>1,2</sup>, Vagner R. de Mendonça<sup>2,3</sup>, Waldir Avansi<sup>3</sup>, Caue Ribeiro<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Química, UFSCar. <sup>2</sup>LNNA - Embrapa Instrumentação. <sup>3</sup>Departamento de Física, UFSCar.

\*osmando\_iq@hotmail.com

**Classificação:** Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio.

### Resumo

Este trabalho estudou diferentes parâmetros da síntese hidrotérmica do  $\text{BiVO}_4$  e avaliou a sua eficiência fotocatalítica na fotodegradação do corante azul de metileno. As sínteses realizadas com o precursor  $\text{NH}_4\text{VO}_3$  conduziram sempre a formação do  $\text{BiVO}_4$  na fase monoclinica com propriedades fotocatalíticas semelhantes independente das condições de síntese. Já a amostra sintetizada partindo do  $\text{V}_2\text{O}_5$  na condição 5:1 de  $\text{H}_2\text{O}_2$ :M formou uma heteroestrutura tipo II entre as fases cristalinas monoclinica e tetragonal do  $\text{BiVO}_4$ , esta amostra apresentou a maior eficiência de degradação do AM, demonstrando o aumento no tempo de vida dos portadores de carga. Assim, o método de síntese se mostrou eficaz na produção de  $\text{BiVO}_4$  para aplicações fotocatalíticas.

**Palavras-chave:** Fotocatálise, Tratamento de água, Método Hidrotérmico.

## BiVO<sub>4</sub> SYNTHESIS AND APPLICATION IN BLUE METHYLENE PHOTODEGRADATION UNDER VISIBLE LIGHT

### Abstract

This work describes the study of different parameters of the BiVO<sub>4</sub> hydrothermal synthesis and evaluation of their photocatalytic efficiency in the photodegradation of methylene blue (MB) dye. The syntheses performed with the precursor NH<sub>4</sub>VO<sub>3</sub> always led the formation of BiVO<sub>4</sub> in monoclinic phase with similar photocatalytic properties independent of the synthesis conditions. The synthesis using the V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> with 5:1 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:M formed a heterostructure type II between the tetragonal and monoclinic crystalline phases of BiVO<sub>4</sub>, this sample showed a higher MB photodegradation, evidencing the increased lifetime of the charge carriers. Thus, the synthesis method is effective in the production of BiVO<sub>4</sub> for photocatalytic applications.

**Keywords:** Photocatalysis, Water treatment, Hydrothermal Method

## 1 INTRODUÇÃO

O TiO<sub>2</sub> e o ZnO devido as suas propriedades estruturais e eletrônicas são os principais semicondutores estudados para aplicações fotocatalíticas. No entanto devido aos seus altos valores de band gap (3,2 e 3,4 eV respectivamente) estes só podem ser ativados sob radiação ultravioleta, que representa menos de 5% da energia proveniente da luz solar que alcança a superfície da terra, o que inviabiliza a utilização destes sob radiação solar (Park, 2013). Neste sentido, materiais semicondutores que podem ser ativados sob radiação visível despertam grande interesse científico, como por exemplo o vanadato de bismuto (BiVO<sub>4</sub>) que possui valor de band gap variando de 2,4 – 2,8 eV dependendo da fase cristalina. No entanto, o BiVO<sub>4</sub> apresenta baixa fotoatividade, principalmente devido a rápida recombinação do par elétron/buraco. Para contornar este problema algumas estratégias tem sido adotadas com o intuito de aumentar o tempo de vida dos portadores de carga, como a formação de heterojunções entre BiVO<sub>4</sub> e metais tais como: Ag, Au, e Pt, e também pela formação de heteroestruturas do tipo II entre BiVO<sub>4</sub> e outros semicondutores como o BiVO<sub>4</sub>/WO<sub>3</sub> (Park, 2013).

A síntese de heteroestruturas usando BiVO<sub>4</sub> para aplicações em fotocatalise até o presente momento foi pouco estudado. Então, este trabalho tem como objetivo o estudo de dois dos principais desafios em fotocatalise heterogênea: ativação do semicondutor sob radiação visível e o estudo do aumento do tempo de vida dos portadores de carga pela formação de heteroestruturas do BiVO<sub>4</sub> em diferentes fases pelo método hidrotérmico.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

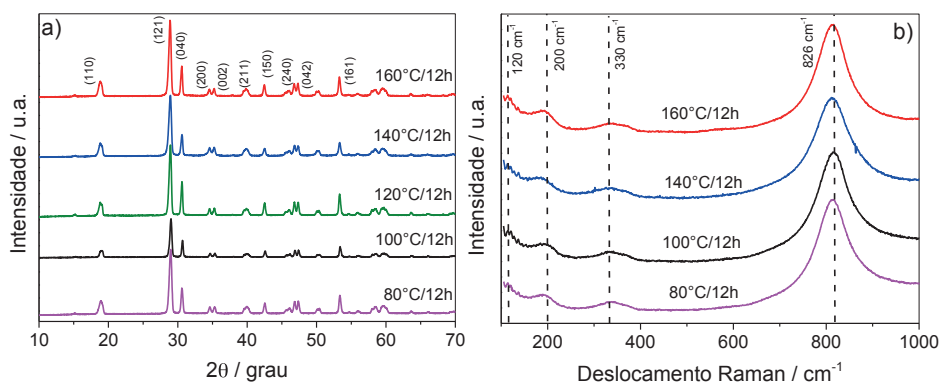
As amostras de BiVO<sub>4</sub> foram sintetizadas pelo método de oxidação por peróxido com cristalização sob condições hidrotérmicas. A síntese consistiu na adição dos precursores Bi(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>·5H<sub>2</sub>O e NH<sub>4</sub>VO<sub>3</sub> na proporção molar de Bi:V 1:1 a uma solução aquosa com peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) na relação “mol de metal” (Bi+V) / H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 1:10. No peroxo-complexo formado foi realizado tratamento hidrotérmico em diferentes temperaturas (80 a 160 °C) com tempo fixado em 12 h. É sabido que a natureza do precursor metálico pode interferir diretamente nas propriedades finais do material obtido, portanto foi estudado a síntese do BiVO<sub>4</sub> substituindo o NH<sub>4</sub>VO<sub>3</sub> pelo V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, foi estudado diferentes proporções do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1:5 e 1:10), com a temperatura e tempo de síntese hidrotérmica fixado em 120 °C e 12h, respectivamente. As amostras sintetizadas foram caracterizadas por difração de raios-X para identificar as fases obtidas, espectroscopia Raman para estudar a estrutura a curto alcance e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV-FEG) para verificar a morfologia, tamanho e distribuição de partícula dos materiais obtidos. A fotoatividade dos materiais foram testadas frente à degradação do corante AM, uma solução de 5 ou 10 mg/L de AM, foi transferida a um béquer contendo o material na concentração de 500 mg/L e colocado no fotoreator de bancada com lâmpada visível. A cinética de fotodegradação foi acompanhada por espectrofotometria UV-Vis

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Estudo da influência do tempo na síntese do BiVO<sub>4</sub>

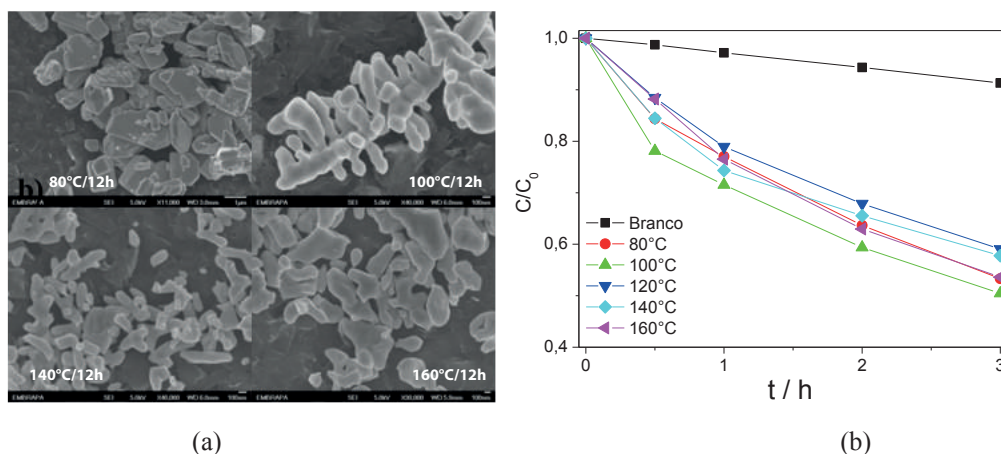
O DRX das amostras obtidas em função da temperatura de síntese são apresentadas na Figura 1a. Como pode ser observado, todos os padrões de difração de raios-X foram indexados ao BiVO<sub>4</sub>

na fase cristalina monoclinica (JCPDS nº 01-083-1699), isto indica que o aumento na temperatura de síntese não conduziu a uma mudança na fase cristalina das amostras. Na Figura 1b são apresentados os espectros Raman das amostras. Todas as amostras apresentaram um espectro com o mesmo perfil, com quatro principais deslocamentos Raman em, 120, 200, 330 e 826  $\text{cm}^{-1}$ , os dois primeiros deslocamentos Raman podem ser relacionado ao modo externo do  $\text{BiVO}_4$ , enquanto o terceiro pode ser relacionado ao modo vibracional de deformação assimétrica e o quarto ao modo vibracional de estiramento simétrico ambos da ligação V-O no tetraedro de  $\text{VO}_4^{3-}$ .



**Figura 1.** a) difratogramas de raios-X e b) espectro Raman das amostras de  $\text{BiVO}_4$  sintetizadas em função da temperatura.

As imagens de MEV para as amostras sintetizadas em função da temperatura são apresentadas na Figura 2a. Pode ser observada uma mudança na morfologia das amostras com o aumento na temperatura de síntese, a amostra sintetizada a 80 °C apresentou partículas com diferentes tamanhos e formas em escala micrométrica. Na amostra sintetizada a 100 °C pode ser observado uma diminuição no tamanho de partícula e uma morfologia semelhante a “fish-bone”. As amostras sintetizadas a partir de 120 °C apresentaram um menor tamanho de partícula quando comparado às amostras sintetizadas em menores temperaturas.



**Figura 2.** a) Imagens de MEV das amostras de  $\text{BiVO}_4$  sintetizadas em função da temperatura de síntese. b) Cinética de fotodegradação do corante AM (5 mg/L) catalisado pelas amostras de  $\text{BiVO}_4$  sintetizados em função da temperatura de síntese.

Na Figura 2b é apresentado a cinética de fotodegradação do corante AM catalisado pelas amostras de  $\text{BiVO}_4$  sintetizadas em função da temperatura de síntese sob radiação visível. Foi avaliada a degradação do AM sem a presença de fotocatalisador algum, e verificado uma degradação de aproximadamente 8% do corante após 3h sob radiação visível. Todas as amostras de  $\text{BiVO}_4$  apresentaram aproximadamente de 40 a 50% de degradação do corante AM após 3h sob radiação visível. A realização da triplicata deste experimento, demonstrou que não houve diferenças significativas na fotoatividade das amostras de  $\text{BiVO}_4$ . Isto já era esperado, já que as mudanças na temperatura de síntese não conduziram a diferenças significativas nas propriedades das amostras, como observado por DRX, espectroscopia Raman e MEV.

### 3.2 Estudo da influência do precursor e concentração de $H_2O_2$ na síntese do $BiVO_4$

O DRX das amostras sintetizadas com diferentes precursores e concentração de  $H_2O_2$  são apresentados na Figura 3a e b. Para as amostras obtidas com o precursor  $NH_4VO_3$  foi formado o  $BiVO_4$  na fase monoclinica, independente da concentração de  $H_2O_2$  utilizada (Figura 3b). Para as amostras obtidas com o precursor  $V_2O_5$ , com  $H_2O_2$  na relação de 10:1 mols de metal, foi formado o  $BiVO_4$  na fase monoclinica. No entanto, quando a concentração de  $H_2O_2$  foi reduzida a metade ( $H_2O_2:M - 5:1$ ) foi formado uma mistura das fases monoclinica e tetragonal, com maior quantidade da fase tetragonal. Os diferentes resultados nas fases cristalinas obtidas com os diferentes precursores na concentração de 5:1 de  $H_2O_2:M$ , pode está diretamente relacionado as diferentes solubilidades dos precursores em água, já que o  $NH_4VO_3$  é solúvel em água e o  $V_2O_5$  depende do  $H_2O_2$  para ser solubilizado. Na Figura 4a e b é apresentado a cinética de fotodegradação do corante AM catalisado pelas amostras de  $BiVO_4$  sob radiação visível. Para verificar efeitos de adsorção o AM foi colocado em contato com o fotocatalisador por 12h sem radiação, e pode ser observado que as amostras sintetizadas com o precursor  $V_2O_5$  apresentaram alta adsorção do AM, já para as amostras sintetizadas com o precursor  $NH_4VO_3$  a adsorção foi insignificante (Figura 4a). Na Figura 4b foi retirado o efeito de adsorção, de modo a avaliar somente a fotocatalise, e mais uma vez pode ser verificado a maior eficiência das amostras sintetizadas com o precursor  $V_2O_5$ , especialmente a amostra que apresentou a mistura de fases monoclinica e tetragonal. Levando em conta a posição relativa das bandas de valência e condução e a energia de Fermi dessas fases do  $BiVO_4$ , pode se afirmar que a maior atividade dessa amostra está diretamente relacionada a formação de uma heteroestrutura do tipo II que conduziu a maior tempo de vida dos portadores de carga comparado as outras amostras.

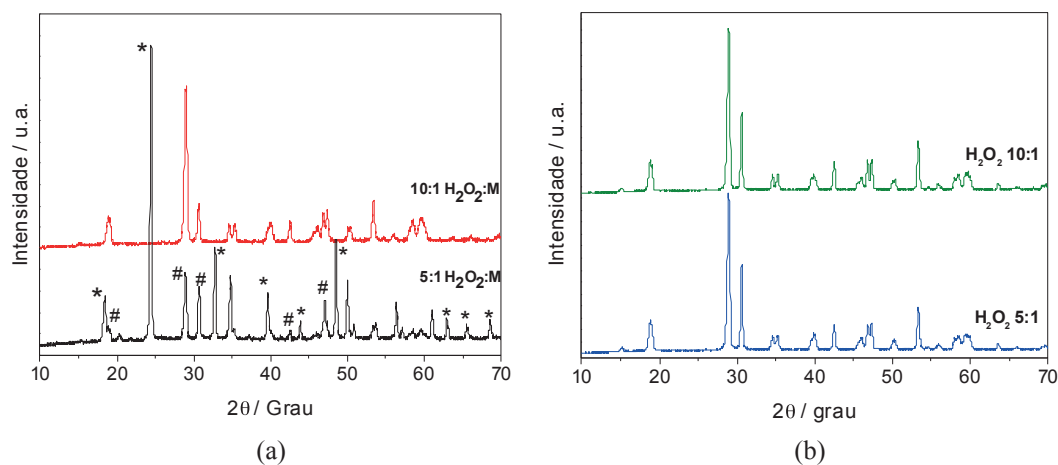


Figura 3. DRX das amostras sintetizadas com diferentes concentrações de  $H_2O_2$  e diferentes precursores de vanádio, a)  $V_2O_5$  e b)  $NH_4VO_3$ .

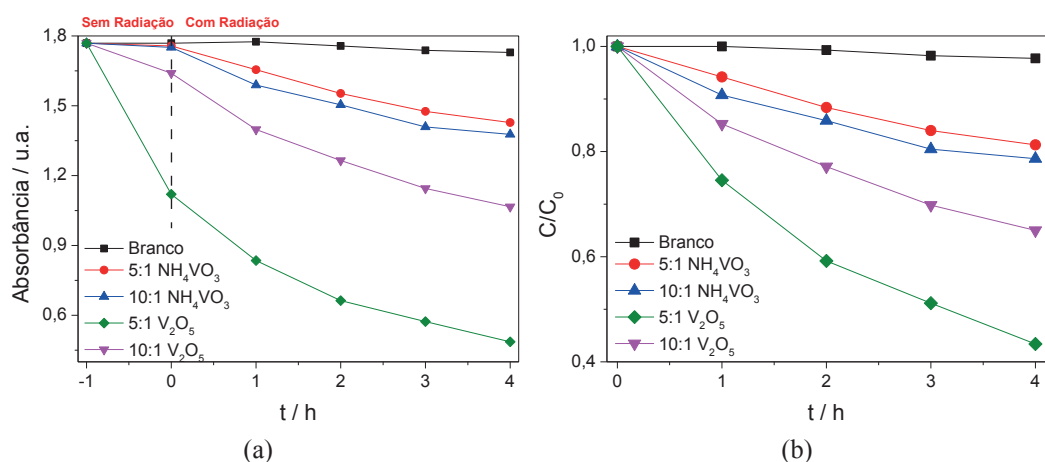


Figura 4. A) Eficiência de remoção do AM (10 mg/L) sem e com radiação b) Cinética de fotodegradação do corante AM catalisado pelas amostras sintetizadas com diferentes precursores, padronizado.

## 4 CONCLUSÃO

Os resultados apresentados e discutidos no presente trabalho indicam que o método de síntese aqui empregado foi eficiente na obtenção da fase monoclinica do  $\text{BiVO}_4$  e de heteroestruturas entre as fases monoclinica e tetragonal do  $\text{BiVO}_4$ . Os materiais obtidos apresentaram excelente desempenho fotocatalítico na degradação do azul de metileno sob radiação visível. Portanto, foi demonstrado o potencial de aplicação do  $\text{BiVO}_4$  sob radiação solar.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao órgãos de fomento, Fapesp (nº de projeto 2013/13888-0), CNPq, CAPES e FINEP pelo suporte financeiro.

## REFERÊNCIAS

PARK, Y.; MCDONALD, K. J.; CHOI, K. S.; Progress in bismuth vanadate photoanodes for use in solar water oxidation. *Chemical Society Reviews*, v. 42, p. 2321-2337, 2013.

---

## DESENVOLVIMENTO DE MATRIZ BIODEGRADÁVEL PARA O ENCAPSULAMENTO DE HERBICIDA.

\*Adriana de Campos<sup>1</sup>, Camila M. Zequine<sup>2</sup>, Amanda S. Giroto<sup>2</sup>, Caue Ribeiro<sup>1</sup>, José M. Marconcini<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP. <sup>2</sup> Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP.  
\*dridecampos@yahoo.com.br

**Classificação:** Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio.

### Resumo

O objetivo deste trabalho foi descrever um método de preparação de um compósito baseado em amido e PVA com o agroquímico ametrina incorporado, para a liberação controlada deste herbicida. Filmes de amido, PVA e ametrina, obtidos por casting, foram caracterizados em relação à morfologia (MEV), propriedades térmicas (DSC) e de biodegradação. Os resultados mostraram que ametrina apresentou interação com PVA e com gel de amido. O compósito apresentou menor evolução de  $\text{CO}_2$  que as demais amostras, porém não inibiu na evolução de  $\text{CO}_2$  do solo, indicando que o agroquímico encapsulado não apresentou efeito de toxicidade no período avaliado.

**Palavras-chave:** Amido; Poli(álcool vinílico); Ametrina; Liberação controlada; Encapsulamento.

### DEVELOPMENT OF BIODEGRADABLE MATRIX FOR THE HERBICIDE ENCAPSULATION.

#### Abstract

The aim of this study was to describe a method of preparing a composite based on starch and PVA and encapsulated ametryne for the release control of this herbicide. Films of starch and PVA and ametryne obtained by casting, were characterized by morphology (SEM), thermal properties (DSC) and biodegradation. The results showed that ametryne showed interaction with PVA and starch gel. The composite presented lower  $\text{CO}_2$  evolution than the other samples, but did not inhibit the  $\text{CO}_2$  evolution of the soil, indicating that the encapsulated agrochemical no presented toxicity effect during the time of the experiment.

**Keywords:** Starch; Poly(vinyl alcohol); Ametryne, Control release, encapsulated.

## 1 INTRODUÇÃO

A utilização de defensivos agrícolas é uma prática indispensável na proteção dos cultivos contra as pragas, doenças e plantas daninhas (Ghini et al., 1997). No entanto, frações são perdidas

no ambiente, tornando um dos poluentes orgânicos mais encontrados nas águas e no solo. Neste cenário, a liberação controlada de defensivos agrícolas é uma estratégia fundamental para reduzir a quantidade aplicada destes produtos, reduzindo o seu impacto sobre o meio ambiente e à saúde humana, além de diminuir os custos agrícolas (Fernández-Pérez et al., 2008; Sopenã et al., 2007).

O encapsulamento de pesticidas em amido tem recebido grande atenção, pois o amido é uma matéria-prima de baixo custo, não tóxica, e de fácil manipulação e biodegradável (Wienhold & Gish, 1994; Carr et al., 1992; El Bahri & Taverdet, 2005). Quando se utiliza destes sistemas, a liberação é regulada essencialmente por processos de difusão: quando os grânulos de amido são aplicados ao solo, absorvem água e incham, e o composto encapsulado difunde para fora da matriz de amido (Wienhold & Gish, 1994). Outro aspecto importante que deve ser considerado é a afinidade entre a matriz polimérica e o seu intercalante, como é o caso entre o amido e muitos pesticidas. O amido hidrofílico e o pesticida pouco solúvel em água não se interagem quimicamente tornando a encapsulação de pesticidas nesta matriz uma estratégia um pouco inadequada. Uma tentativa para minimizar estas questões seria a modificação da matriz preparando um compósito, por exemplo, de amido com PVA, onde PVA é inserida na matriz por ligações de van der Waals. É um dos poucos polímeros semicristalinos solúveis em água com boas características interfaciais e mecânicas.

Desta forma, o objetivo principal deste trabalho foi descrever um método de preparação de um compósito baseado em amido e PVA com o agroquímico ametrina incorporado, para a liberação controlada deste herbicida.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Materiais

O amido de milho utilizado foi o Amidex® 3001 (70% amilopectina e 30% amilose) gentilmente cedido pela Corn Products. O poli(álcool vinílico) utilizado foi da Sigma-Aldrich, 98% hidrolisado. A ametrina empregada foi Metrimex 500 SC, da Nufarm.

### 2.2 Métodos

Preparação dos homopolímeros, blendas e compósitos: Os filmes de amido com glicerol foram obtidos misturando 5% em massa de amido e 20% em massa de glicerol, em 30 mL de água. A gelatinização ocorreu a 90°C, durante 30 minutos. Após, o amido gelatinizado foi adicionado em placa de polipropileno (PP) e secos em estufa com circulação de ar a 40°C. Os filmes de PVA foram obtidos por casting, dissolvendo 5% em massa de PVA (98% hidrolisado) em 30 mL de água. A solubilização ocorreu a 90°C, durante 30 minutos, com agitação mecânica. A blenda de PVA/amido (1:1) foi obtida por casting, misturando PVA, amido e glicerol (20% em massa) em água, com agitação mecânica, a 90°C, durante 30 minutos, para a gelatinização do amido e solubilização do PVA. Após, diminuiu a temperatura para 70°C, para o acréscimo da ametrina. A agitação foi mantida por 10 minutos, para a completa homogeneização da ametrina. Todos os filmes foram adicionados em placas de PP e secos em estufa com circulação de ar a 40°C.

#### 2.2.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As morfologias das superfícies dos polímeros e compósitos foram investigadas utilizando-se um microscópio JEOL microscope, modelo JSM 6510, à 5 kV. Os filmes foram acoplados nos porta-amostras (“stubs”) e recobertos com uma fina camada de ouro ( $\pm 15$  nm), em uma camera BALTEC Med. 020.

#### 2.2.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

Os polímeros e compósitos foram analisados por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), em equipamento DSC Q100 (TA Instruments), nas seguintes condições: massa  $6,00 \pm 1$  mg, nitrogênio, fluxo  $60 \text{ mL min}^{-1}$ , em duas etapas consecutivas: 1) Isotherma de 3 min a  $-80^\circ\text{C}$ ; 2) Aquecimento: razão de aquecimento  $10^\circ\text{C min}^{-1}$ , de  $-80^\circ\text{C}$  a  $250^\circ\text{C}$ ;

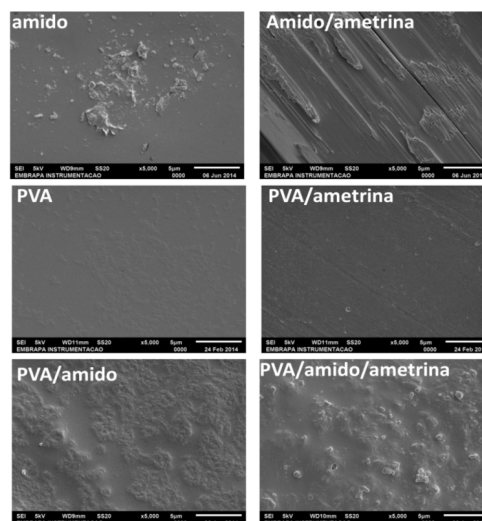
### 2.2.3 Biodegradação

As amostras foram recortadas 3x3 cm. Cerca de 0,5 g de cada amostra foi misturada com 50 g de solo compostado sob condições adequadas em uma câmara de reação 500 mL (respirômetro de Bartha e Pramer) a 28°C durante aproximadamente 23 dias. O acúmulo de CO<sub>2</sub> foi monitorado, seguindo a norma técnica brasileira (ABNT-NBR-14283 (1999)). Cada amostra foi analisada em triplicata, comparadas com amostras contendo somente solo compostado (controle). O dióxido de carbono produzido durante a atividade microbiana foi capturado por uma solução 0,20 M de KOH (10 mL), localizada ao lado dos respirômetro. Periodicamente, a solução de KOH foi removida e 1ml de solução 0,5 M de cloreto de bário foi adicionado. O KOH residual foi titulado com solução de HCl 0,1 M padronizada.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As micrografias de filmes de amido, PVA e blenda de PVA/amido (1:1) com e sem ametrina são apresentadas na Figura 1. Observa-se que o filme de gel de amido apresentou grânulos de amido não desestruturados. Verifica-se no filme de amido com ametrina que o agroquímico encontra-se uniformemente recoberto pela matriz de amido. A microscopia do filme de PVA apresentou-se com certa rugosidade, devido bolhas que se formaram na obtenção do filme. O filme de PVA com ametrina apresentou-se uniforme, indicando boa dispersão do agroquímico na matriz polimérica.

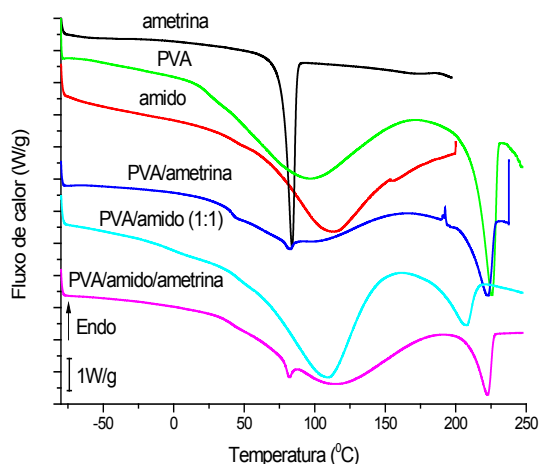
Verifica-se que a blenda de PVA/amido (1:1) apresentou separação de fases, indicando certa imiscibilidade entre os componentes da blenda. A ametrina na blenda apresentou dispersão uniforme, porém, é possível verificar cristais da ametrina na blenda. Alguns poros são observados, indicando que a ametrina pode estar encapsulada, ocupando esses poros.



**Figura 1.** Micrografias de MEV de filmes de amido, PVA, PVA/amido (1:1) com e sem ametrina.

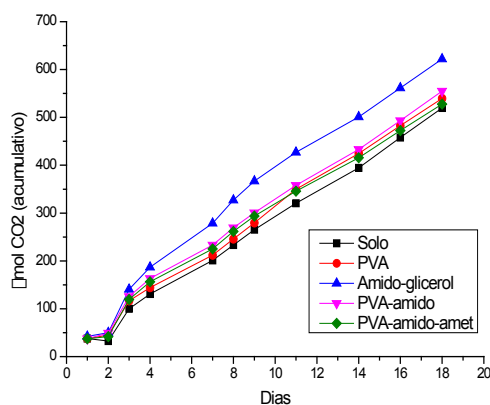
As curvas de DSC das amostras estudadas são apresentadas na Figura 2. A ametrina apresentou entalpia de fusão à 84°C e alta cristalinidade. O filme de gel de amido apresenta entalpia de fusão à 110°C, indicando a fusão da água. O PVA apresentou dois picos de entalpia de fusão. O primeiro pico é referente à fusão da água e o segundo pico (226°C), é referente à fusão do PVA. A mistura de PVA/ametrina apresentou 3 picos de fusão: 81°C, referente à fusão da ametrina, 100°C, referente à fusão da água e 222°C, fusão do PVA. Verificou-se o deslocamento da ametrina e do PVA para temperaturas inferiores das amostras puras, indicando interação entre PVA e ametrina.

O pico de PVA na blenda de PVA/amido apresentou deslocamento de 226°C para 206°C, indicando interação de van der Waals entre ambos. O composto de PVA/amido/ametrina apresentou o pico de fusão da ametrina deslocado para 81°C e o pico de fusão do PVA para 222°C. A diminuição de temperatura na entalpia de fusão sugere interação com a matriz polimérica.



**Figura 2.** Curvas de DSC da ametrina, PVA, amido, PVA/amido (1:1), PVA/amido/ametrina.

A evolução de  $\text{CO}_2$  dos materiais estudados é apresentada na Figura 6. Todas as amostras apresentaram evolução de  $\text{CO}_2$  semelhante ou superior ao solo compostado, indicando que as amostras não interferiram negativamente na microbiota do solo. Os filmes de amido foram os que apresentaram maior evolução de  $\text{CO}_2$ , indicando a preferência dos micro-organismos na biodegradação deste material. A blenda de PVA/amido apresentou biodegradação superior ao PVA. O amido neste caso atua como modulador na biodegradação. O compósito de PVA/amido/ametrina apresentou evolução semelhante ao solo, indicando uma biodegradação mais lenta quando comparado com as demais amostras, no período de análise observado. Porém, o compósito não interferiu na microbiota do solo, indicando que o agroquímico ametrina não apresentou toxicidade aos micro-organismos do solo.



**Figura 3.** Evolução de  $\text{CO}_2$  em solo compostado para os filmes de PVA, amido, blenda de PVA/amido (1:1) e PVA/amido/ametrina.

#### 4 CONCLUSÃO

A ametrina apresentou interação com PVA e com gel de amido, influenciando na liberação do agroquímico em água. Porém, quando a ametrina foi incorporada na blenda, a taxa de liberação do agroquímico foi maior que apenas com um dos polímeros, resultantes da maior interação entre os polímeros em relação à ametrina.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Embrapa, Fapesp, CNPq e Capes, pelo suporte financeiro.

#### REFERÊNCIAS

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas; Resíduos em solos - Determinação da biodegradação pelo método respirométrico; NBR 14283, 1999.



CARR, M. E., WING, R. E., & DOANE, W. M. Encapsulation of Atrazine Within a Starch Matrix by Extrusion Processing. *Cereal Chemistry*, 68, 262-266, 1992.

EL BAHRI, Z. & TAVERDET, J. L. (2005). Optimization of an herbicide release from ethylcellulose microspheres. *Polymer Bulletin*, 54, 353-363.

FERNÁNDEZ-PÉREZ, M.; FLORES-CÉSPEDES, F.; GONZÁLEZ-PRADAS, E.; VILLAFRANCA-SÁNCHEZ, M.; PÉREZ-GARCÍA, S.; GARRIDO-HERRERA, F.J. Use of Activated Bentonites in Controlled-Release Formulations of Atrazine. *J. Agric. Food Chem.*, v.52, p.3888-3893, 2004.

GHINI, R. ; LIGO, M. A. V. ; HERMES, L. C. . Efeito de herbicidas na biomassa microbiana de solos de arroz irrigado. *Ecosistema (FAZMCG)*, v. 22, p. 99-103, 1997.

SOPENÃ, F.; CABRERA, A.; C. MAQUEDA, MORILLO, E. Ethylcellulose formulations for controlled release of the herbicide alachlor in a sandy soil. *J. Agric. Food Chem.*, v. 55, p.8200-8205, 2007.

WIENHOLD, B. J., & GISH, T. J. Chemical Properties Influencing Rate Of Release Of Starch Encapsulated Herbicides: Implications For Modifying Environmental Fate. *Chemosphere*, 28, 1035-1046, 1994.

---

## SÍNTESE DE NANOCOMPÓSITOS UTILIZADOS PARA LIBERAÇÃO LENTA DE FOSFATOS MINERAIS

\*Amanda S. Giroto<sup>1</sup>, Caue Ribeiro<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de São Carlos, Departamento de Química, São Carlos, SP. <sup>2</sup>Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP.  
\*asgiroto@gmail.com

**Classificação:** Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio.

### Resumo

Dentre os três principais macronutrientes primários o fósforo é o menos necessário pelas plantas. No entanto, é o nutriente que mais limita a produção e mais utilizado em adubos no Brasil. As principais fontes industriais de P utilizadas na agricultura são obtidos pelo tratamento de rochas fosfáticas (fosfato de rocha). Assim, a hidroxiapatita (HPT) foi escolhida como modelo de fosfatos minerais, devido às suas características físicas, estruturais, morfológicas e ainda devido a maior solubilidade em comparação com outras fases existentes. Uma estratégia estabelecida para aumentar a solubilidade de fosfatos foi utilizando a síntese de um nanocompósito, que se baseou no isolamento de nanopartículas HPT em uma matriz solúvel, impedindo sua aglomeração e melhorando assim sua solubilidade. A matriz escolhida para a dispersão de HPT foi a uréia, principal fertilizante utilizado como fonte de nitrogênio no Brasil. Deste modo, o presente trabalho, descreve a preparação e caracterização de nanocompósitos bifuncionais de liberação lenta com base no isolamento de HPT numa matriz de ureia por um processo simples de extrusão em temperatura razoáveis. Este processo pode produzir grânulos contendo altos níveis de nanopartículas HPT com valores de tamanho de partículas de interesse para o processo de solubilização. **Palavras-chave:** Liberação Lenta; Fosfatos; Dispersão; Ureia.

### SYNTHESIS OF NANOCOMPOSITES USED TO SLOW RELEASE OF MINERAL PHOSPHATES

#### Abstract

Among the top three primary macronutrients phosphorus is least necessary by plants. However, it is the nutrient that limits the production more and more used in fertilizers in Brazil. The main industrial sources of P used in agriculture are obtained by treating phosphate rock. Thus, hydroxyapatite (HPT) was chosen as a model phosphate minerals due to their physical, structural, morphological and still greater solubility compared with other existing phase characteristics. To develop a strategy to increase the solubility of phosphate was established a strategy of synthesizing a nanocomposite that would rely on the isolation of nanoparticles HPT soluble matrix, preventing their agglomeration and thus improving

its solubility. The choice for the dispersion matrix of HPT was urea fertilizer used as a primary source of nitrogen in Brazil. The present work, therefore, describes the preparation and characterization of bifunctional nanocomposites based on slow release of HPT isolation of urea in a simple matrix by extrusion at reasonable temperatures. This process can produce granules containing high levels of HPT nanoparticles with particle size values of interest for the solubilization process.

**Keywords:** Controlled Release; Phosphate; Dispersion; Urea.

**Publicações relacionadas:** Enviado para 16th World Fertilizer Congress of CIEC.

## 1 INTRODUÇÃO

O crescimento da população mundial implica na busca cada vez maior de uma agricultura altamente produtiva. Os avanços tecnológicos devido às pesquisas agronômicas resultaram em aumento da produção agrícola, principalmente pelo desenvolvimento de novas fontes de fertilizantes que, desta forma, também contribuem evitando que novas áreas sejam desmatadas para produção de alimentos. No Brasil, entre os anos de 1970 a 2001 houve um aumento de 3,5 vezes dos 16 principais produtos agrícolas, enquanto o uso de fertilizantes cresceu 4,4 vezes e a área cultivada cresceu apenas 1,5 vezes. Portanto, o aumento da produtividade por hectare plantado está diretamente ligado ao ganho na fertilização do solo. Em 2010, foram comercializados no Brasil mais de 24,5 milhões de toneladas de fertilizantes. Apesar da produção nacional de fertilizantes crescer a uma taxa anual superior a 8,5%, a capacidade local não é suficiente para suprir o consumo interno, sendo necessária a importação de aproximadamente 90% do potássio (K), 70% do nitrogênio (N) e 50% do fósforo (P) utilizado na adubação das terras brasileiras [1,2]. Dentre os três macronutrientes primários principais (nitrogênio, fósforo e potássio), o fósforo é o menos exigido (em massa) pelas plantas. No entanto, é o nutriente que mais limita a produção e o mais utilizado em adubações no Brasil. Essa situação é resultante da carência generalizada de fósforo nos solos brasileiros e, principalmente da sua forte interação com o solo, especialmente em solos argilosos ou que contenham concentrações elevadas de Fe, Al ou Mn, o que leva à sua imobilização e, portanto, indisponibilidade. As plantas absorvem o íon fosfato do solo principalmente nas formas  $H_2PO_4^-$  e  $HPO_4^{2-}$  e requerem um suprimento constante para seu desenvolvimento durante toda vida. Fosfatos naturais, devido à sua baixa solubilidade em água, são submetidos a processos químicos e físicos, tais como a acidificação por tratamento com ácido sulfúrico ou ácido fosfórico para aumentar a sua solubilidade em água, produzindo superfosfato triplo entre outros. Esses processos, por um lado, tornar fosfato mais disponível, também reduzem o controle solubilidade, além das questões relacionadas com os altos custos de produção envolvidos. Neste sentido, a atual demanda de fertilizantes fosfatados requer métodos mais racionais são projetados para o uso deste nutriente, buscando estratégias para aumentar e controlar a solubilidade das fontes utilizadas, além de evitar processos de imobilização, coalescência ou aglomeração comprometer a disponibilidade durante o processo. Desta forma, é necessário desenvolver rotas que possibilitem isolar as nanopartículas produzidas em matrizes solúveis, permitindo assim o controle da solubilidade pela exposição gradual das nanopartículas fosfáticas ao meio evitando a sua aglomeração melhorando sua solubilidade. Além disso, uma vantagem desta estratégia seria a possível conformação do nanocompósito como grânulos, que são mais aceitos pelos produtores rurais para aplicação do que o material pulverizado, por conta da menor geração de poeira e facilidade de mecanização na aplicação. Matrizes para formação dos nanocompósitos devem, necessariamente, ser compatíveis com a superfície das nanopartículas de fosfato – portanto, hidrofílicas – e é desejável que possam ser processadas continuamente, como por exemplo, por extrusão. Um candidato para dispersão dos fosfatos é a uréia, principal fertilizante utilizado como fonte de nitrogênio no Brasil [3]. O presente trabalho, portanto, descreve a preparação e caracterização de liberação lenta nanocompósitos bifuncionais com base no isolamento de HPT numa matriz de ureia por um processo de extrusão simples a temperatura razoável. Este processo pode produzir grânulos contendo altos níveis de nanopartículas HPT com valores de tamanho de partículas de interesse para o processo de solubilização.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Os nanocompósitos foram preparados em diferentes proporções (mássicas) de Hidroxiapatita HPT: Uréia, ou seja 1:1 (50% de HPT), 1:2 (33% HPT) e 1:4 (20% de HPT) (Polylab Rheodrive e mixer Rheomix OS4) 60 rpm, 10 min a 100 °C. Os materiais foram secos à temperatura ambiente durante 24 horas. Após a obtenção dos materiais secos, eles foram levados para a moagem em um moinho vibratório.

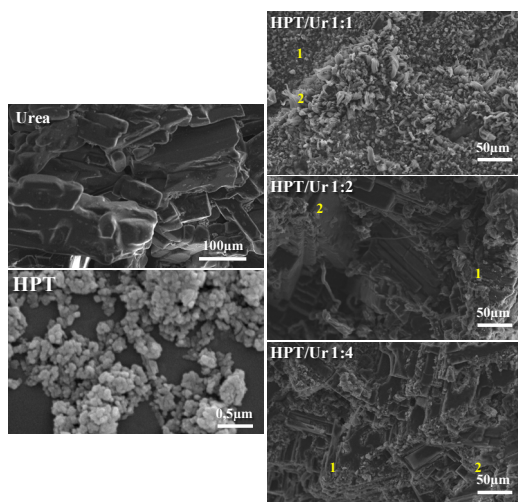
rio (SERVITECH, CT 242) para obtenção na forma de pós, como ilustram na Figura 2a. Os compósitos foram designados “HPT/Ur 1:1”, “HPT/Ur 1:2” e HPT/Ur 1:4”, sendo relação HPT e uréia, respectivamente. Os Nanocompósitos foram caracterizados por microscopia eletrônica de varredura (MEV), Análise dispersiva de Raios X (EDX), Análise termogravimétrica (TGA) e Análise do tamanho da partícula.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para monitorar a morfologia e o grau de dispersão de Hidroxiapatita em ureia, após o processamento, os materiais foram analisados por MEV e EDX (Figura 1 e Tabela 1). Pode-se observar diversas alterações na morfologia após a formação dos Nanocompósitos em comparação com a HPT e a ureia pura. Estas mudanças, após o processamento, é devido afinidade entre a ureia e a superfície hidrofílica da Hidroxiapatita. Observa-se que a partir do material HPT/Ur 1:2 a presença de longos cristais de ureia e entre eles a presença de pequenas partículas de HPT, como confirmado por análise de EDX. Verifica-se através das imagens de MEV que as regiões indicadas por “1” correspondem nanopartículas de Hidroxiapatita dispersos em uréia. Enquanto a região indicada por “2” corresponde aos cristais de ureia re dispersas .

**Tabela 1.** Proporção de C, N, O, P, e Ca nos compostos (assinalados pelos números na Figura 1.) Medidos por EDX em% atômica.

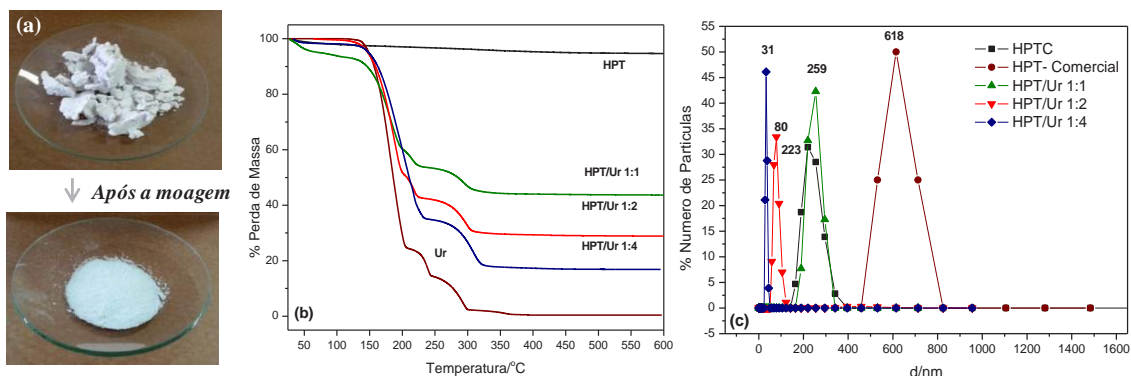
Nanocompósitos					
HPT/Ur 1:1					
	C	N	O	P	Ca
1	5.55	23.99	30.42	14.45	25.22
2	5.37	49.95	27.12	2.32	5.24
HPT/Ur 1:2					
	C	N	O	P	Ca
1	5.40	24.82	43.82	6.11	18.99
2	3.66	31.84	48.88	2.96	
HPT/Ur 1:4					
	C	N	O	P	Ca
1	5.36	11.64	56.20	11.48	15.21
2	9.12	36.09	48.73	2.19	3.87



**Figura 1.** Imagens de microscopia da HPT e dos nanocompósitos formados.

A Figura 2a apresentam as imagens dos materiais após secagem e moagem. A obtenção dos pós é importante, uma vez que a aplicação de tais produtos é via pulverização direta, ou até mesmo por dispersão em diversos solventes, cenário mais favorável ao produtor agrícola. A análise termogravimétrica foi utilizada de forma a avaliar a estabilidade térmica da HPT e ureia presente nas amostras durante a decomposição térmica dos materiais sólidos (Figura 2b). O nanocompósitos apresentaram um comportamento de degradação térmica dominado majoritariamente pela degradação da uréia presente, mostrando as mesmas temperaturas de degradação, exceto para a mistura 1:2 e 1:4. Estes nanocompósitos por terem o menor teor de HPT, obtiveram uma maior dispersão deste na matriz de ureia. Esta melhora na dispersão de HPT, é responsável pelo aumento na estabilidade térmica dos nanocompósitos, verificada pelas mudanças na temperatura da primeira fase de degradação da ureia em cerca de 20 °C. Isto ocorre devido às fortes interações entre a superfície do HPT e ureia, portanto, não observando sinais de degradação da ureia livre no nanocompósitos. Além disso, é importante ressaltar que em todos os nanocompósitos, o resíduo final após 350 °C corresponde ao teor inicial HPT adicionado em cada material. Podemos observar pela Figura 2c os resultados da análise de tamanho de partículas dos nanocompósitos em contato com água. Uma forma de aumentar a solubilidade do fosfato no solo é através da diminuição do tamanho das partículas, uma vez que a solubilidade das partículas no meio está relacionada com o seu tamanho de acordo com a equação de Ostwald-Freundlich [4], devido a isso acredita-se que as partículas de menores tamanhos terão maior a solubilidade. Através dessa análise foi possível verificar, então, a distribuição do tamanho das nanopartículas de HPT (presente no compósitos) após solubilização total da ureia presente. Podemos verificar, desta forma, que a HPT comercial apresentou um tamanho de em torno de 618 nm. Como verificamos pelo MEV, a ureia, promove uma dispersão da HPT

de forma a reduzir o tamanho das partículas de HPT, como podemos observar pelos tamanhos apresentados pelos nanocompósitos HPT/Ur 1:1, 1:2 e 1:4 em 249, 80 e 31 nm, respectivamente.



**Figura 2.** (a) Nanocompósitos HPT/Ur 1:1 antes e após da moagem; (b) Curva termogravimétrica do HPT, uréia e dos nanocompósitos HPT/Ur 1:1, HPT/Ur 1:2, e HPT/Ur 1:4; (c) Análise do tamanho de partícula dos Nanocompósitos.

#### 4 CONCLUSÃO

Através dos resultados obtidos podemos concluir que é possível utilizar uma estrutura do tipo nanocompósito, com altas frações de carga de interesse, de forma a obter materiais com tamanho de partículas de interesse para utilização destes compostos como modelo para fertilização de solos.

#### AGRADECIMENTOS

Embrapa Instrumentação; UFSCar; CNPq; CAPES; FINEP; FAPESP Processo 2013/11821-5.

#### REFERÊNCIAS

- [1] CONAB; Insumos fertilizantes entregues ao consumidor. [2013]. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13\\_03\\_15\\_19\\_02\\_02\\_0605\\_fertilizantes\\_entregues.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13_03_15_19_02_02_0605_fertilizantes_entregues.pdf)>. Acesso em: Julho 2014.
- [2] FERNANDES, E.; GUIMARÃES, B. A.; MATHEUS, R. R.; Principais empresas e grupos brasileiros do setor de fertilizantes. In: BNDES setorial, Rio de Janeiro, n. 29, p. 203-228, 2009.
- [3] MAXIMO, E.; BENDASSOLLI, J. A.; TRIVELIN, P.C.O.; ROSSETE, A. L.R. M.; OLIVEIRA, C. R.; PRESTES, C.V. Produção de sulfato de amônio duplamente marcado com os isótopos estáveis 15n e 34s. Química Nova, vol. 28, No. 2, 211-216, 2005.
- [4] ATKINS, P; DE PAULA, J. Físico-Química Volume 1. LTC Editora, São Paulo, 2008, 8ª edição. 592 p.

## CARACTERIZAÇÃO DO FERTILIZANTE SUPERFOSFATO SIMPLES – UM ESTUDO SOBRE O EFEITO DA MOAGEM SOBRE A CINÉTICA DE SOLUBILIZAÇÃO

\*Fábio Plotegher<sup>1</sup>, Caue Ribeiro<sup>2</sup>

<sup>1</sup>UFSCar – Universidade Federal de São Carlos, PPGQ, São Carlos, SP. <sup>2</sup>EMBRAPA Instrumentação, São Carlos, SP.

\*fabioplotegher@yahoo.com.br

**Classificação:** Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio.

### Resumo

O fertilizante fosfato supersimples (SSP) é conhecido como uma das fontes mais importantes e comuns de fosfato como nutriente para o crescimento de plantas. Apesar deste material ser amplamente produzido como um fertilizante, pouco foi estudado sobre a sua cinética de solubilidade e sobre as suas propriedades físico-químicas. Este é um conhecimento essencial uma vez que existe o interesse na utilização de diferentes fases de fosfatos menos solúveis, que podem estar presentes em certa quantidade, na produção desse fertilizante. Então, este trabalho descreve uma caracterização detalhada de pós obtidos por moagem desse fertilizante em diferentes tempos, correlacionando as propriedades de tamanhos de partículas e áreas de superfície. Observou-se que a moagem em tempos curtos foi benéfica para a cinética de solubilização, enquanto longos tempos de moagem foi deletério, provavelmente, indicando que a aglomeração pode desempenhar um papel mais importante na disponibilidade de fosfato. Estes resultados dão uma profunda compreensão acerca desse material podendo contribuir para o desenvolvimento de novas estratégias para a produção de fertilizantes alternativos.

**Palavras-chave:** Fertilizante; Fosfato; Supersimples; Moagem; Solubilização.

### CHARACTERIZATION OF SINGLE SUPERPHOSPHATE POWDERS – A STUDY ABOUT MILLING EFFECTS ON SOLUBILIZATION KINETICS

#### Abstract

Conventional single superphosphate powder (SSP) is known as one of the most important and common sources of phosphate as a nutrient in plant growth. Despite this material is widely produced as a fertilizer, few was studied about its solubility kinetics and about its physico-chemical properties. This is an essential knowledge since there is the interest in using different poor-soluble phosphate phases, which may be present in some extent in SSP production. Then, this paper describes a detailed characterization of SSP powders milled in different times, correlating the properties to particle sizes and surface areas. It was observed that the milling in short times was beneficial to the solubilization kinetics, whereas long milling was deleterious, probably indicating that agglomeration may play a more important role in phosphate availability. These results give a deep comprehension of this powder as a material and may help the development of novel strategies for alternative fertilizer production.

**Keywords:** Superphosphate, Phosphorus, Milling, Release, Powder, Solubilization.

**Publicações relacionadas:** “O uso de nanopartículas de óxidos fosfatados em fertilização de solos: um estudo inicial” Resumo submetido ao VI Workshop de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio – Fortaleza 2012 e “Characterization of single superphosphate powders – A study about milling effects on solubilization kinetics” Artigo completo submetido a Revista Powder Technology em 2014.

## 1 INTRODUÇÃO

O fósforo é um elemento essencial para a vida, ele está presente em organelas de grande importância para a existência da vida na Terra, bem como para o armazenamento de energia e fotossíntese. O fósforo, juntamente com nitrogênio e potássio formam o grupo dos macronutrientes essenciais para as plantas. No século XIX, a fertilização do fósforo nas lavouras era feita com farinha de osso, mas este material possuía liberação lenta pois era necessária a decomposição do material para a liberação do nutriente. Justus von Leibig descobriu que a adição de ácido sulfúrico em farinha de osso ajudava na solubilização desse material. Poucos anos mais tarde esse fertilizante começou a ser fabricado industrialmente, nascia assim o primeiro fertilizante sintético que se tem registro no mundo. Desde a sua descoberta houveram poucas mudanças a mais impactante foi a fonte de fósforo utilizada, agora não mais farinha de osso e sim rochas fosfáticas. Apesar de sua simplicidade poucos trabalhos descrevem fisico-quimicamente as fases que o compõe, bem como o seu comportamento de degradação térmica e cinética de solubilidade. Assim, este trabalho apresenta uma caracterização detalhada deste material (1,2).

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

As amostras: Foram feitas moagens em diferentes tempos (2,5, 5, 10, 20, 40 e 80 minutos) de um fertilizante SSP comercial em moinho orbital, com jarro de porcelana e esferas de alumina. Caracterizações feitas: A estrutura mineralógica do material foi confirmada por análises de raios-X de difração. A análise química do material foi determinada por meio de fluorescência de raios-X com fusão tetrabo-

rato de lítio. A morfologia das amostras foi observada por microscopia eletrônica de varredura. A área superficial específica foi determinada por meio da técnica de fissorção de nitrogênio com isoterma de BET (Brunauer-Emmett-Teller). O comportamento térmico das amostras foi verificado por meio da análise termogravimétrica (TGA) e calorimetria exploratória diferencial (DSC).

A solubilidade do material foi testado diretamente em água deionizada. O experimento foi realizado durante 7 dias, coletando amostras diárias. Para determinar as concentrações de fosfato solubilizadas as alíquotas foram complexadas e as leituras foram feitas em espectrômetro UV-VIS por meio da técnica de colorimétrica (3).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1A mostra o padrão de difração de raios-X para a amostra do SSP. As fases principais foram observadas foram o gesso  $[Ca(SO_4) \cdot xH_2O]$  e uma fase de fosfato o di-hidrogênio fosfato de cálcio  $[Ca(H_2PO_4)_2 \cdot xH_2O]$ . A análise química por fluorescência de raios-X mostrou para este material um valor de 23,3% de  $P_2O_5$  disponível, esse valor se encontra dentro das normas para este material pois, segundo as normas de fabricação, são esperados para o SSP a quantia de 16 a 23% de  $P_2O_5$  disponível. As micrografias apresentadas na Figura 2. mostram que cada aumento do tempo de moagem induziu a diminuição no tamanho das partículas. Observou-se também a formação de pequenos agregados formados por pequenas partículas nos tempos maiores. Além disso, pode-se notar tamanhos de partículas sub-micron, que já é observado para o tempo de 5 minutos de moagem. A análise da área superficial relativa apresentado na Figura 1B. mostram o aumento relativo na área de superfície com o aumento do tempo de moagem, o que confirma as conclusões tiradas das micrografias.

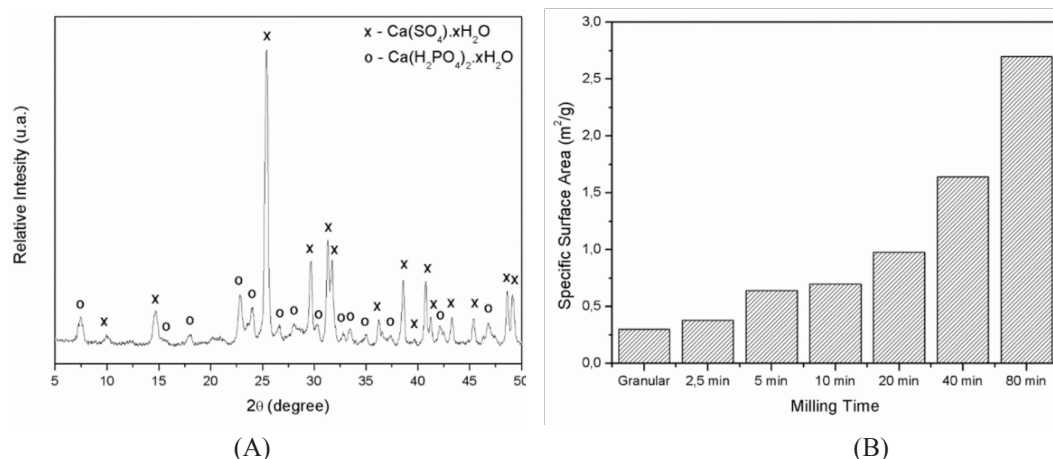


Figura 1. A) Difractometria de raios X. B) Área superficial relativa

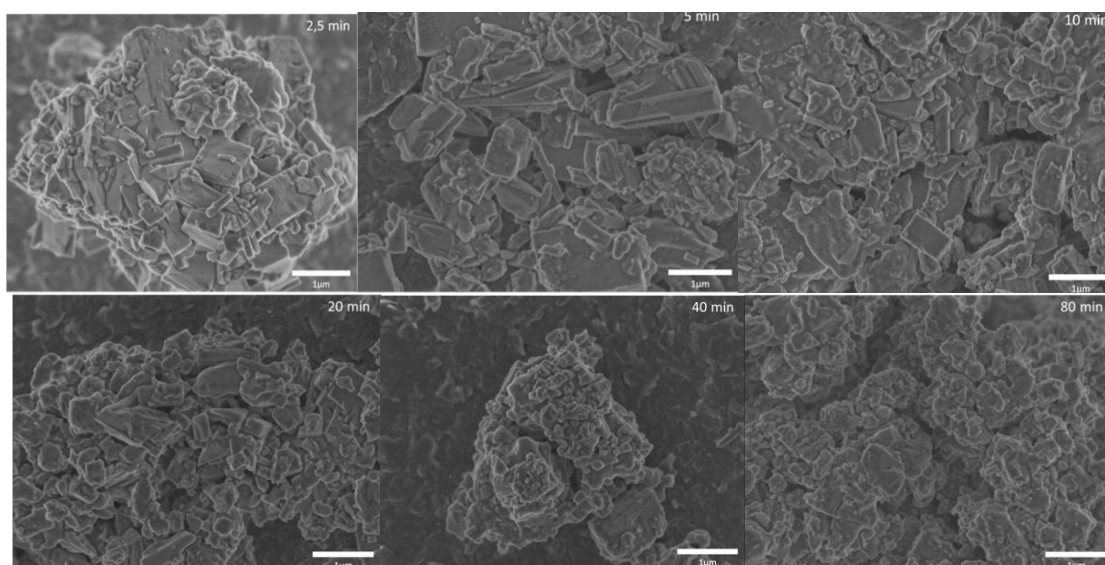


Figura 2. Microscopia eletrônica de varredura.

A análise termogravimétrica mostrou para todas as amostras no mesmo perfil, como mostrado na Figura 3A. A primeira perda de massa (entre as temperaturas de 100-250° C) refere-se à perda de massa relacionada com as moléculas de água em gesso e o fosfato de cálcio. Em ambos os casos, a desidratação completa iria ocorrer até 300° C. Uma segunda região interessante observado nesta análise foi entre 550-950° C, como mostrado na Figura 3B. para todas as amostras moídas incluindo adubo granulado. Esta perda de massa significativa é a transformação de gesso em óxido de cálcio (CaO). Neste passo, é interessante notar que houve uma redução significativa da temperatura desse evento térmico de 791° C para 762° C. Este facto também indica que a moagem afetou a estrutura do material, facilitando a mudança de fase desse evento térmico. O DSC apresentado na Figura 4.A, mostrou o mesmo perfil para todas as amostras moídas, pode-se notar que na faixa entre 150 e 225 ° C há apenas eventos endotérmicos. Estes picos correspondem as perdas de moléculas de água estruturais do gesso e da fase fosfática do SSP. A fim de observar o efeito de moagem de uma cinética de libertação de nutrientes P na água, a figura 4B, mostram uma correspondência entre o tempo de moagem e a cinética de libertação: 70% de solubilização do material disponível, no SSP granular, foi atingido depois de 3 dias de imersão, ao passo que o mesmo conteúdo foi obtido para o material moído por 80 min em 2 dias. Vale ressaltar que a moagem tem efeito maior em períodos curtos, uma vez que o 2,5 min de moagem apresentou um aumento significativo na cinética de libertação. Isto mostra que o efeito de aglomeração do gesso tem um papel influente na cinética de solubilização do SSP, uma vez que a desaglomeração foi eficaz para melhorar a sua solubilização.

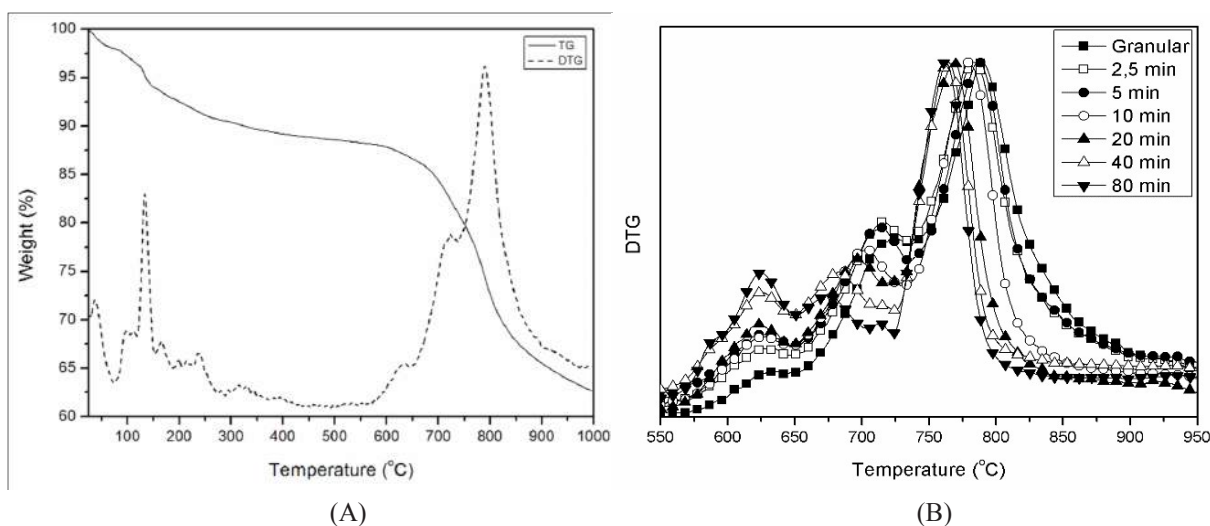


Figura 3. A: Análise termogravimétrica (TG). B: DTG.

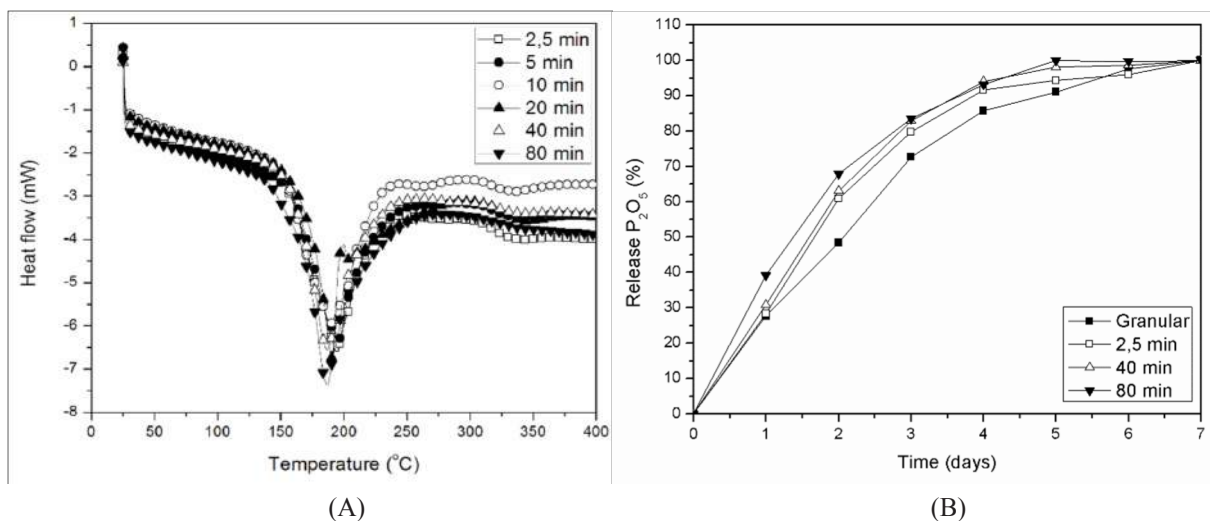


Figura 4. A: DSC. B: Teste de Soubilidade

#### 4 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados deste estudo conclui-se que a moagem foi eficaz para diminuir o tamanho das partículas observada nas micrografias e o aumento relativo da área da superfície. Este efeito foi evidente nos resultados de termogravimetria, onde as temperaturas de eventos de perda de massa e mudanças de fase foram diminuídas e, principalmente, na que a solubilidade do material, mesmo que contém uma fase de fosfato solúveis, houve um aumento na taxa de liberação deste material.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores gostariam de agradecer as agências CAPES, CNPq, FAPESP, FINEP e a Embrapa (“Rede Agronano”) pelo apoio na pesquisa.

#### REFERÊNCIAS

K.F. ISHERWOOD, Mineral Fertilizer Use and the Environment, first ed., IFA – International Fertilizer Industry Association, Paris, 2000.

D.CORDELL, J. DRANGERT, S. WHITE, The story of phosphorus: Global food security and food for thought. Glob. Environ. Chang. 19 (2009) 292-305.

L. DRUMMOND, W. MAHER, Determination of phosphorus in aqueous solution via formation of the phosphoantimonymolybdenum blue complex re-examination of optimum conditions for the analysis of phosphate, Anal. Chim. Acta, 302 (1995) 69,74.

---

### SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE FASES FOSFÁTICAS MINERAIS: HIDROXIAPATITA E FLUORAPATITA.

\*Fábio Plotegher<sup>1</sup>, Isabela Pezzopane Cobra<sup>2</sup> e Caue Ribeiro<sup>3</sup>

<sup>1</sup>UFSCar – Universidade Federal de São Carlos, PPGQ, São Carlos, SP. <sup>2</sup>USP – Universidade de São Paulo, IQSC, São Carlos, SP. <sup>3</sup>EMBRAPA Instrumentação, São Carlos, SP.

\*fabioplotegher@yahoo.com.br

**Classificação:** Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio.

#### Resumo

O uso das rochas fosfáticas como matéria prima de fertilizantes é amplamente conhecido, um fato que vem ocorrendo nos últimos anos é o uso dessas rochas como um aditivo a fertilização convencional, feita juntamente com os fertilizantes sintéticos solúveis. Como esse mercado está em crescimento se faz necessário saber qual o potencial real dessas rochas quando aplicados na lavoura. Pouco se conhece sobre a cinética de solubilização das apatitas. Sendo assim esse trabalho vem a esclarecer alguns pontos sobre a as semelhanças e diferenças que podem influenciar a solubilidade de duas fases fosfáticas minerais mais comuns, a hidroxiapatita e a fluorapatita e destas fases seria melhor para a aplicação como fertilizante. Os resultados obtidos nesse estudo mostraram que as duas fases possuem características semelhantes em algumas técnicas de caracterização utilizadas tais como morfologia e a perda de massa mas, o teste de solubilidade mostrou que a hidroxiapatita é mais solúvel que a fluorapatita, podendo rochas contendo essa fase obterem melhor resultados se aplicadas como fertilizante.

**Palavras-chave:** Síntese; Hidroxiapatita; Fluorapatita; Fosfato; Solubilidade.

#### SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF MINERAL PHOSPHATE PHASES: HYDROXYAPATITE AND FLUORAPATITE.

#### Abstract

The use of phosphate rock as raw material for fertilizers is widely known, a fact that has occurred in recent years is the use of these rocks as an additive to conventional fertilization, taken together with soluble synthetic fertilizers. As this market is growing, it is necessary to know the real potential of these



rocks when applied in the field. Little is known about the kinetics of apatite solubilization. Therefore this work is to clarify some points about the similarities and differences that may influence the solubility of two common phosphate mineral phase, hydroxyapatite and fluorapatite them and what would be best for the application as fertilizer. The results of this study showed that the two phases have similar characteristics in some characterization techniques employed, such as morphology and mass loss, but the solubility test showed that the hydroxyapatite is more soluble than fluorapatite rocks containing this phase could obtain best results if applied as fertilizer.

**Keywords:** Synthesis; hydroxyapatite; fluorapatite; phosphate; solubility.

**Publicações relacionadas:** “Padronização da síntese de nanohidroxiapatita via coprecipitação com tratamento hidrotérmico.” Resumo apresentado na IV Jornada Científica da Embrapa – São Carlos 2012 e “Síntese de fluorapatita nanoestruturada por substituição com tratamento hidrotérmico.” Resumo apresentado na V Jornada Científica da Embrapa – São Carlos 2013.

## 1 INTRODUÇÃO

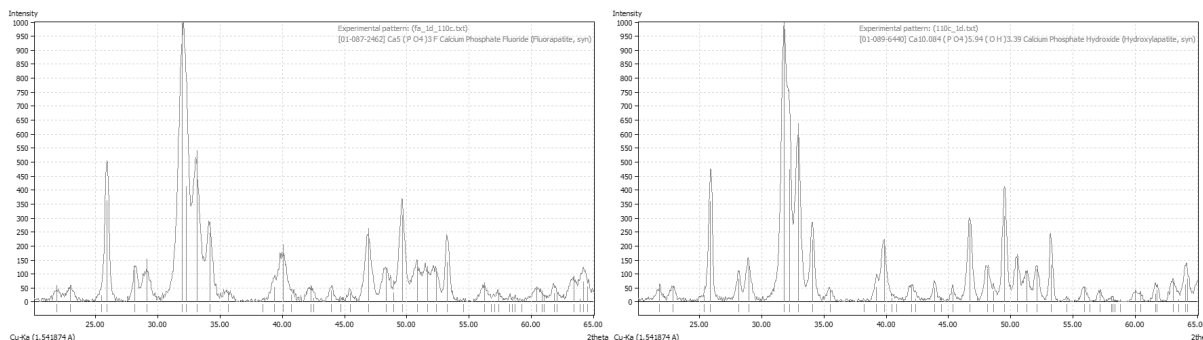
A utilização de fertilizantes nas lavouras brasileiras tem se intensificado ano após ano. Os fertilizantes fosfatados são um dos mais utilizados nas lavouras principalmente devido aos solos serem carentes desse nutriente ou mesmo devido às perdas, por lixiviação e principalmente pela imobilização do fosfato nos solos argilosos. Uma alternativa para aumentar a solubilidade e por consequência a eficiência dos fertilizantes é a diminuição do tamanho das partículas, aumentando assim a superfície de contato do substrato com a solução (1,2). A hidroxiapatita (HA) e a fluorapatita (FA) são duas variantes do mineral apatita, comumente utilizado para a fabricação dos fertilizantes fosfatados sintéticos e até mesmo na aplicação direta na lavoura. Sendo assim, este estudo tem por objetivo sintetizar e caracterizar as fases em escala nanométrica para assim compreender melhor o papel que cada uma das duas fases pode ter quando forem utilizadas como fertilizante direto, sem algum tipo de tratamento químico como são os fertilizantes fosfatados atuais.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

As partículas de HA foram obtidas por meio da coprecipitação com posterior tratamento hidrotérmico. Foram preparadas suspensões baseadas na hidrólise de sais contendo os principais íons de interesse. Em um balão de 3 bocas coloca-se a solução contendo os íons de cálcio (nitrato de cálcio), ajusta-se o pH da solução para 11 com hidróxido de amônio, borbulha-se nitrogênio gasoso, em uma bureta coloca-se a solução de íons de fosfato (fosfato de amônio) e goteja-se essa solução sob agitação mecânica constante. Ao fim do gotejamento, a solução contendo um precipitado branco é tratada hidrotérmicamente por 50°, 80° e 110°C por 1, 3, 5 e 7 dias, resultando em 12 condições diferentes. Ao fim do tratamento os materiais foram lavados em centrífuga até chegar a pH 7, seca-se em estufa a 100°C por 24 horas. O material então é desaglomerado em almofariz e caracterizado. A FA foi obtida pela substituição da hidroxila da HA. Em um balão de 3 bocas com atmosfera inerte de nitrogênio, solubilizou-se a HA com ácido nítrico até pH próximo de 2, adicionou-se os íons fluoreto (fluoreto de cálcio) e deixou-se reagir por 30 minutos, neutralizou-se o pH da solução com hidróxido de amônio e o precipitado branco foi tratado hidrotérmicamente nas mesmas condições da HA. As caracterizações feitas em ambas as fases foram, difratometria de raios X, microscopia eletrônica de varredura, fisissorção de nitrogênio, termogravimetria e solubilidade em ácido cítrico 2%.

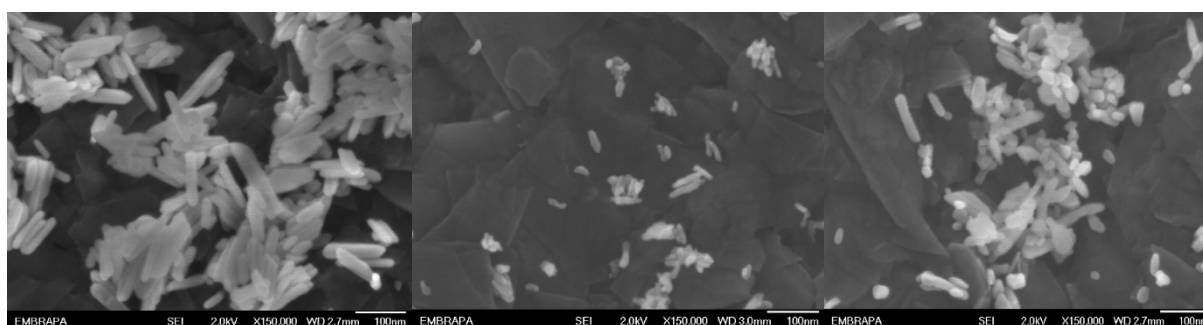
## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para as 12 condições de síntese de HA e FA sintetizadas, houve a formação da fase desejada. A Figura 1, mostra o perfil de difração de uma das amostras de cada fase sintetizada, nota-se que os perfis são muito parecidos, isso porque a diferença na rede cristalina é muito pequena é devido a substituição da hidroxila da HA por um fluoreto na rede do cristal.

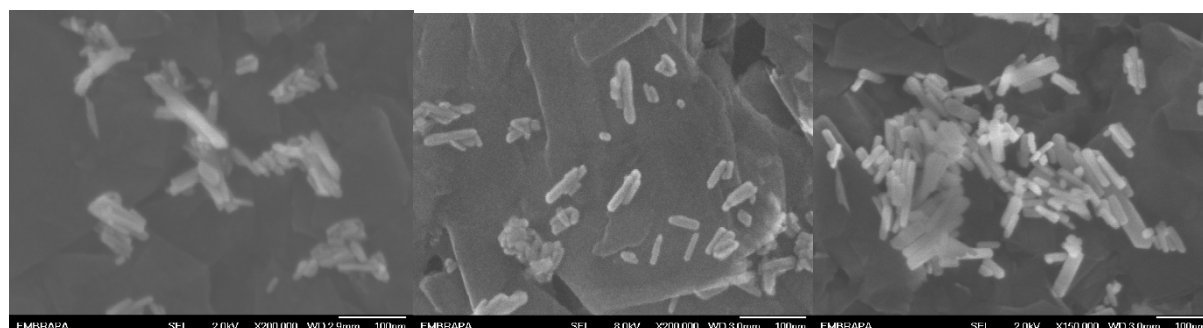


**Figura 1.** Perfil do difratograma de raios X da HA e FA respectivamente.

As micrografias apresentadas na Figura 2A e 2B, mostram a morfologia de bastonetes dos materiais, característico para esse tipo de síntese. Outro fator a se destacar é o aumento no tamanho das partículas. Sabe-se que com o aumento da temperatura ou o aumento no tempo de tratamento do material, ocorre o crescimento dos cristais.



**Figura 2. A** – Micrografia da HA, 1 dia 50, 80 e 110° C respectivamente.



**Figura 2. B** – Micrografias da FA, 1 dia 50, 80 e 110o C respectivamente.

Figura 2B – Micrografias da FA, 1 dia 50, 80 e 110° C respectivamente.

De acordo com os resultados da micrografia, ocorre o aumento no tamanho das partículas, portanto, há diminuição nos valores da área superficial (Tabela 1). Observa-se claramente um abaixamento nos valores da área superficial com o aumento da temperatura e tempo de tratamento. As análises termogravimétricas apresentadas na Figura 3, mostram que as fases são muito estáveis pois não ocorrem perdas de massa significativas além das perdas de água adsorvidas no material. Na literatura existem relatos de mudança de fase acima dos 1000° C (3). Como a temperatura estudada foi menor, não seria observado tais transformações nas curvas. Outro fator a se destacar é que com o aumento da temperatura de tratamento os materiais vão sendo melhor formados, portanto, perdem menos massa devido a sua menor área superficial.

Tabela 1. Valores de área superficial relativa da HA e FA, valores em m<sup>2</sup>/g.

Hidroxiapatita				Fluorapatita			
Amostra	Área	Amostra	Área	Amostra	Área	Amostra	Área
50°C-1 dia	84,7	50°C-dias	72,7	50°C-1 dia	89,1	50°C-dias	98,3
80°C-1 dia	58,3	80°C-5 dias	52,6	80°C-1 dia	83,5	80°C-5 dias	113,7
110°C-1 dia	58,3	110°C-5 dias	51,5	110°C-1 dia	78,4	110°C-5 dias	66,8
50°C-3 dias	74,2	50°C-7 dias	78,7	50°C-3 dias	58,5	50°C-7 dias	86,5
80°C-3 dias	58,8	80°C-7 dias	61,3	80°C-3 dias	70,1	80°C-7 dias	66,5
110°C-3 dias	57,1	110°C-7 dias	38,8	110°C-3 dias	35,8	110°C-7 dias	21,8

Por fim, o teste de solubilidade em ácido cítrico mostrado na Figura 4, mostra claramente a diferença entre as fases sintetizadas. Observou-se que em 10 dias a HA foi praticamente solubilizada, liberando todo o fosfato, enquanto a FA liberou cerca de 15 a 30% de todo o fosfato, dependendo da condição de tratamento hidrotérmico. Fazendo um paralelo, se pensássemos no equilíbrio de solubilidade em água o Kps da HA é da ordem de 10<sup>-34</sup> enquanto o da FA é de 10<sup>-60</sup> ou seja, a FA é um material mais estável e bem menos solúvel que a HA.

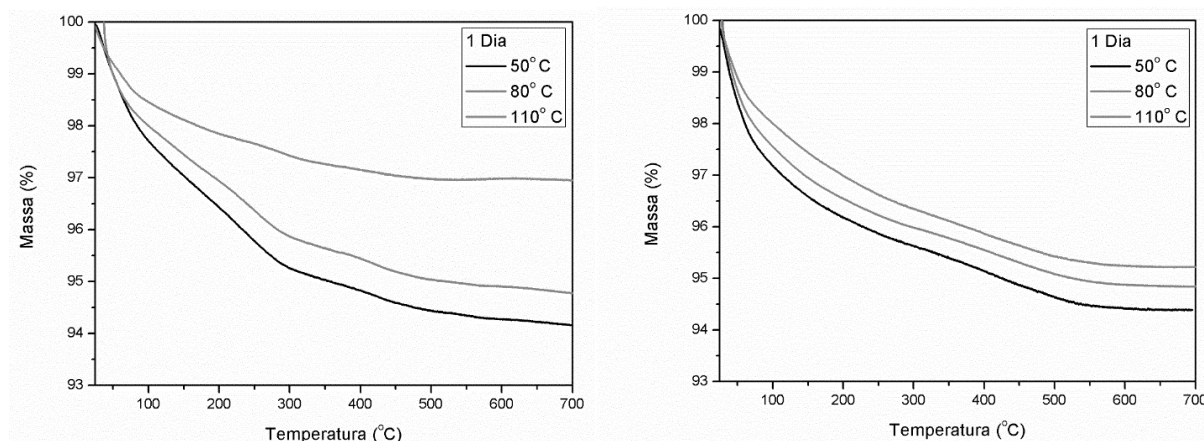


Figura 3. Curvas TG da HA e FA respectivamente.

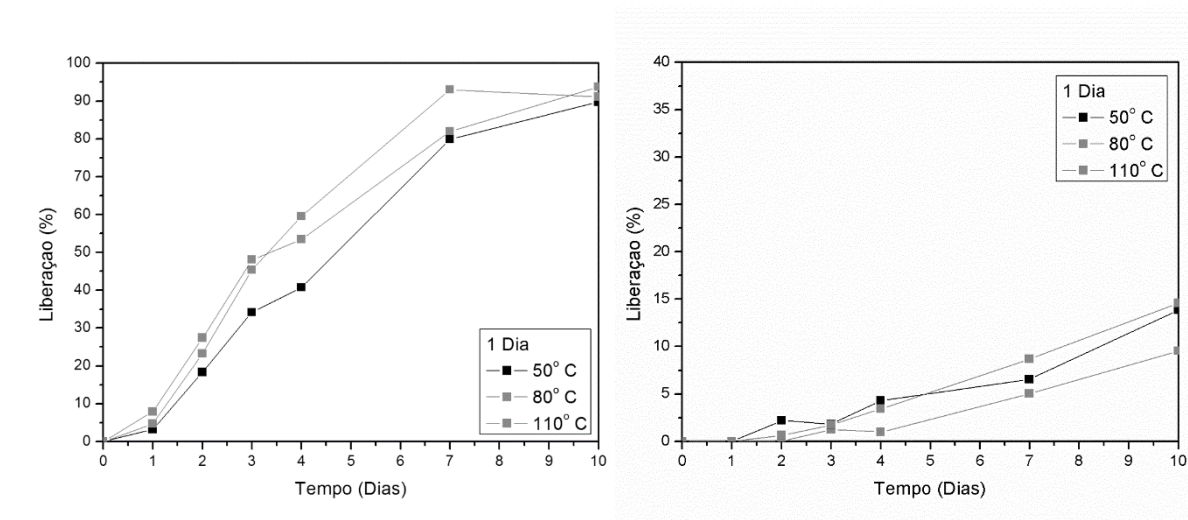


Figura 4. Solubilidade em ácido cítrico da HA e FA respectivamente.

#### 4 CONCLUSÃO

Neste trabalho pudemos observar que pequenas mudanças podem modificar significativamente a propriedade de um material, por mais que elas sejam semelhantes na morfologia, no comportamento de perda de massa ao serem tratadas termicamente, ou até mesmo no perfil de difratograma de raios X. Observamos por meio do teste de solubilidade que a mudança de apenas um íon que compõe o retículo cristalino faz com que a nova fase obtida mude completamente o seu comportamento de solubilidade, o que pode ser preponderante na aplicação do tipo de rochas minerais na fertilização de lavouras.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores gostariam de agradecer as agências CAPES, CNPq, FAPESP, FINEP e a Embrapa (“Rede Agronano”) pelo apoio na pesquisa.

#### REFERÊNCIAS

ISHERWOOD, K. F.; O uso de fertilizantes minerais e o meio ambiente. ANDA, São Paulo, 63p. 2000.

LOUREIRO, F. E. V. L.; MELAMED, R.; O fósforo na agricultura brasileira: uma abordagem mine-ro-metalúrgica. Rio de Janeiro: CETEM – Centro de Tecnologia Mineral, 2006, 76p. (CETEM Série Estudos e Documentos, 67).

LIAO, C. J.; LIN, F. H.; CHEN, K. S.; SUN, J. S.; Thermal decomposition and reconstitution of hydroxyapatite in air atmosphere, *Biomat.* 20 (1999) 1807-1813.

---

## MOAGEM E CARACTERIZAÇÃO DE UMA ROCHA FOSFÁTICA NATURAL (BAYOVAR) COM POTENCIAL USO PARA FERTILIZAÇÃO DIRETA.

Fábio Plotegher<sup>1</sup>, Caue Ribeiro<sup>2</sup>

<sup>1</sup>UFSCar – Universidade Federal de São Carlos, PPGQ, São Carlos, SP. <sup>2</sup>EMBRAPA Instrumentação, São Carlos, SP.

\*fabioplotegher@yahoo.com.br

**Classificação:** Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio.

#### Resumo

O uso de fertilizantes sintéticos no mundo só vem crescendo, juntamente com esse fator, cresce o uso dos recursos naturais para a fabricação desses fertilizantes. O fósforo é um dos macronutrientes principais absorvidos pelas plantas, o alto uso das reservas de rocha fosfática para a fabricação dos fertilizantes tem chamado a atenção da comunidade científica para a busca de novas formas de aplicação e melhoramento dos fertilizantes atuais. O uso direto das rochas na lavoura é uma opção que já vem sendo cogitada porém, pouco se sabe quanto ao real potencial das rochas e a dinâmica de solubilidade das fases fosfáticas. Esse estudo tenta esclarecer alguns pontos dessas discussões trazendo a caracterização de uma rocha fosfática que já está sendo comercializada, frente a diferentes tempos de moagem mostrando a efetividade na diminuição do tamanho das partículas e no aumento da velocidade de liberação do nutriente, mostrando que a moagem pode ser uma real condição para a fabricação de novos tipos de fertilizantes diminuindo assim duas operações unitárias na fabricação dos fertilizantes sintéticos solúveis atuais.

**Palavras-chave:** Moagem; Rocha; Fosfato; Apatita; Fertilizante.

#### MILLING AND CHARACTERIZATION OF A NATURAL ROCK PHOSPHATE (BAYÓVAR) WITH POTENTIAL FOR DIRECT USE IN FERTILIZATION.

##### Abstract

The use of synthetic fertilizers in the world only has grown along with this factor, the growing use of natural resources for the production of fertilizers. The phosphorus is a major macronutrient absorbed

by plants, the high use of the reserves of phosphate rock to manufacture fertilizers has drawn the attention of the scientific community to search for new ways of implementation and improvement of current fertilizer. The direct use of rocks in farming is an option that is already being considered however, little is known about the real potential of rocks and the dynamic solubility of phosphate phases. This study attempts to clarify some points of these discussions and brings the characterization of a phosphate rock that is already being marketed, milling at different times showing the effectiveness in reducing the particle size and increasing the release rate of the nutrient, showing that milling can be a real condition for manufacturing new types of fertilizer thus reducing two unit operations in the manufacture of synthetic fertilizers soluble current.

**Keywords:** Grinding; Rock; Phosphate; Apatite; Fertilizer.

**Publicações relacionadas:** Inédito.

## 1 INTRODUÇÃO

A agricultura moderna tem se caracterizado pelo uso intensivo da terra, na maioria das vezes por monoculturas com utilização de altas doses de agrotóxicos e fertilizantes. Os avanços tecnológicos e o uso desses fertilizantes fizeram com que as propriedades aumentassem suas produções (1). Dentre os três macronutrientes primários principais, nitrogênio, fósforo e potássio, o fósforo é o menos exigido pelas plantas, em contrapartida é o nutriente que mais limita a produção. Porém, muitos dos produtos utilizados na correção de solos com fosfatos são pouco eficientes, levando a grande desperdício de material por imobilização, solubilização parcial e até mesmo lixiviação (2). Uma possibilidade é a diminuição do tamanho das partículas, através da moagem de rochas naturais aumentando assim a superfície de contato do substrato com a solução. Assim, o foco desse estudo será avaliar a liberação do macro nutriente fósforo a partir da moagem de rochas naturais, correlacionando sua liberação ao tamanho das nanopartículas (3).

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Foram feitas moagens da rocha Bayovar em um moinho orbital, o meio de moagem utilizado foi: jarro de porcelana de 1000mL com esferas de alumina. Variou-se o tempo de moagem em: 2.5, 5, 10, 20, 40, 80 e 160 minutos de moagem. Os materiais foram caracterizados por difratometria de raios X para identificação das fases mineralógicas constituintes, análise química por fluorescência de raios X para a determinação dos dez óxidos mais comumente encontrados em minérios, fissisórcão de nitrogênio para determinação da área superficial, microscopia eletrônica de varredura para a visualização da morfologia e tamanho das partículas obtidas, teste de solubilidade estático em tubo falcon com ácido cítrico determinando a quantidade de fosfato solubilizada por complexação e leitura em UV-Vis (4).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1, apresenta o difratograma de raios X para a amostra da rocha Bayovar, de acordo com as fichas cristalográficas padrão disponíveis na literatura, foram identificadas três fases principais que constituem o material, uma fase formada por óxido de silício ou quartzo, ficha cristalográfica número: 03-065-0466, e duas possíveis fases de apatita, a hidroxiapatita e a fluorapatita com as fichas cristalográficas de número: 01-089-6440 e 01-087-2462 respectivamente.

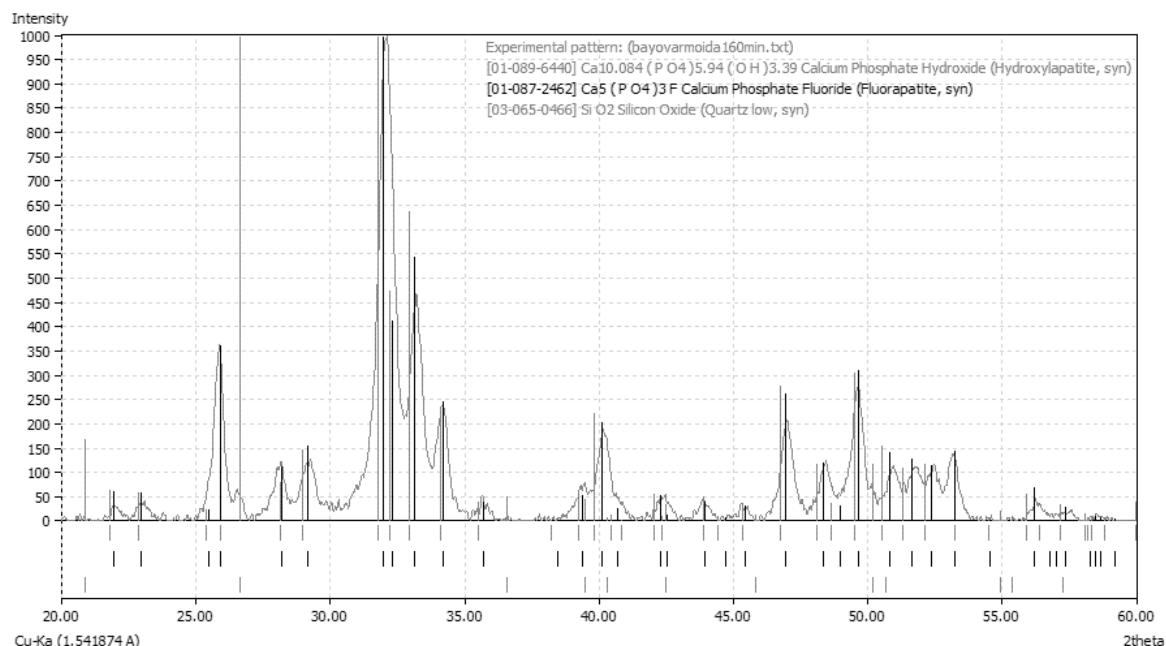


Figura 1. Difratoograma de raios X da rocha Bayovar.

A análise química por fluorescência de raios X mostrada da Tabela 1, nos revelou que além de uma parte de óxido de silício confirmando a análise do difratograma de raios X também que essa rocha possui cerca de 31% de fosfato, além de uma alta concentração de óxido de cálcio. Se considerarmos que todo esse fosfato provém da fase apatita isso chega a representar em massa aproximadamente 75% ou seja, três quartos da massa total dessa rocha é formada pela fase mineral apatita, o restante são outros minerais contaminantes como o quartzo.

Tabela 1. Análise por fluorescência de raios X.

Óxidos determinados	% em massa	Óxidos determinados	% em massa
SiO <sub>2</sub>	4,42	TiO <sub>2</sub>	0,07
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0,96	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	30,73
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0,87	Na <sub>2</sub> O	1,98
CaO	46,6	K <sub>2</sub> O	0,30
MgO	0,53	MnO	0,01
Perda na Ignição	10,57		

A Figura 2 mostra, os resultados obtidos para cada amostra nas análises de fissionamento de nitrogênio para a determinação da área superficial específica do material, nota-se um ligeiro aumento no valor da original para a de 2,5 minutos podendo ser somente uma desaglomeração do material, a partir de 5 minutos os valores passam a aumentar significativamente, chegando a um aumento de cerca de 50% do valor inicial no tempo de 160 minutos de moagem.

As micrografias apresentadas na Figura 3, mostram realmente que as partículas foram diminuídas em seu tamanho, podemos observar partículas acima de 100 microm na rocha original chegando até mesmo a valores sub microm nas moagens de 80 e 160 minutos, mais um indício de que a moagem foi efetiva e esse resultado corrobora com os valores determinados para a área superficial.

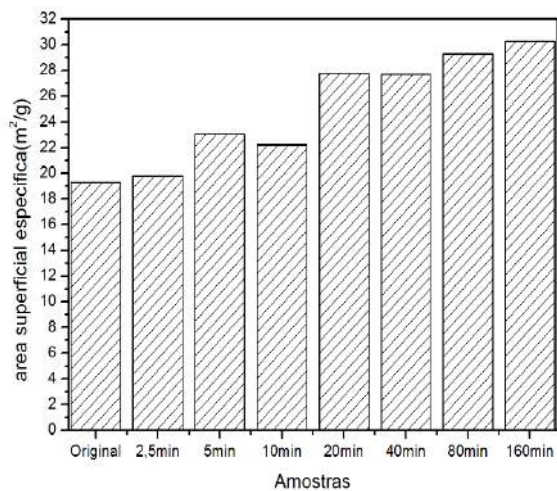


Figura 2. Área superficial relativa.

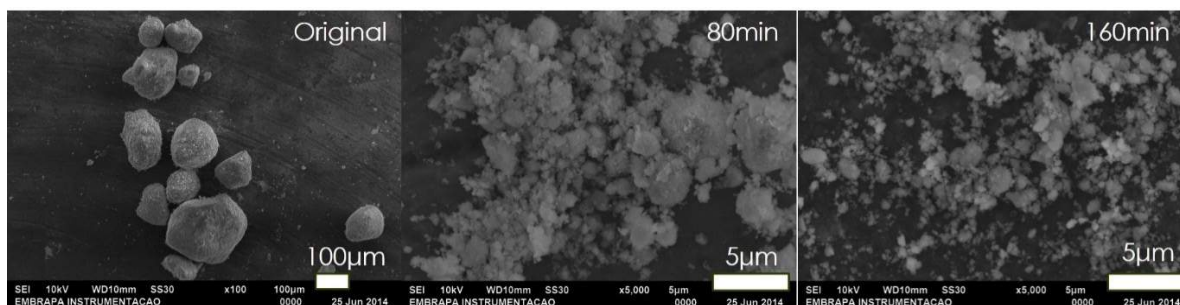


Figura 3. Microscopia eletrônica de varredura.

O teste de solubilidade feito em tubos falcon com ácido cítrico nos mostrou que houve aumento na velocidade de liberação do fosfato com a diminuição das partículas. A Figura 4 mostra as curvas obtidas para a liberação da rocha de tamanho original recebida no laboratório contra as moídas em 2,5 e 160 minutos. De acordo com a evolução dos dias vai ocorrendo a liberação do fosfato. Para a amostra moída em 2,5 minutos, nota-se que os valores dos erros caem dentro dos erros da curva da amostra original, podendo a moagem nesse curto tempo estar apenas desaglomerando o material. Para a moagem de 160 minutos podemos notar que realmente houve aumento na velocidade de liberação do nutriente, mostrando que a diminuição das partículas foi efetiva nesse aspecto. Cabe lembrar que esse experimento ainda está em curso e as análises de alguns pontos serão repetidas para melhorar os desvios ocorridos na curva e para os testes de comparação estatísticos.

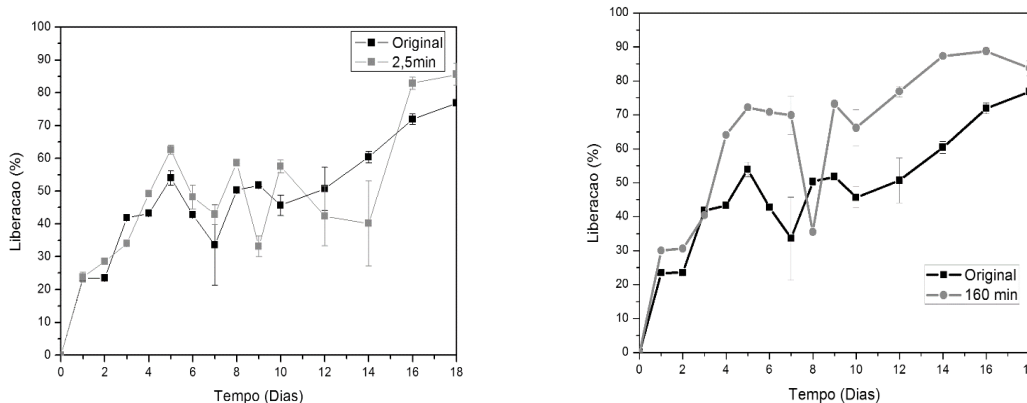


Figura 4. Teste de solubilidade.

#### 4 CONCLUSÃO

Por meio desse estudo vimos que o uso da moagem em rochas fosfáticas foi efetiva para a diminuição do tamanho das partículas e também que houve um aumento na velocidade de liberação do nutriente. Mostrando que a moagem pode ser uma opção para o tratamento de rochas fosfáticas com altos teores de fosfato e com potencial aplicabilidade direta em lavouras.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores gostariam de agradecer as agências CAPES, CNPq, FAPESP, FINEP e a Embrapa (“Rede Agronano”) pelo apoio na pesquisa.

#### REFERÊNCIAS

- [1] LUCHESE, E. B.; FAVERO, L. O. B.; LENZI, E.; Fundamentos da química do solo – Teoria e Prática. Freitas Bastos, Rio de Janeiro, 159p. 2002.
- [2] LOUREIRO, F. E. V. L.; MELAMED, R.; O fósforo na agricultura brasileira: uma abordagem mineral-metalúrgica. Rio de Janeiro: CETEM – Centro de Tecnologia Mineral, 2006, 76p. (CETEM Série Estudos e Documentos, 67).
- [3] TÕNSUAADU, K.; KALJUVEE, T.; PETKOVA, V.; TRAJSMMA, R.; BENDER, V.; KIRIMÄE, K.; Impacto f mechanical activation on physical and chemical properties of phosphorite concentrates. International Journal of Mineral Processing, v. 100, p. 104-109, 2011.
- [4] L. Drummond, W. Maher, Determination of phosphorus in aqueous solution via formation of the phosphoantimony molybdenum blue complex re-examination of optimum conditions for the analysis of phosphate, Analytica Chimica. Acta, v. 302, p. 69,74, 1995.

---

## OTIMIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINCO OBTIDO VIA MÉTODO HIDROTÉRMICO

**\*Rafaela da Silveira André<sup>1,2</sup>, Bruno Mascarenhas<sup>1</sup>, Daniel Souza Corrêa<sup>2</sup>, Elaine Cristina Paris<sup>2</sup>, Luiz H. C. Mattoso<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP. <sup>2</sup>Embrapa Instrumentação, LNNA, São Carlos, SP.

\*rafaela.s.a@outlook.com

**Classificação:** Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio.

#### Resumo

O óxido de zinco (ZnO) é um dos mais importantes óxidos metálicos, tem vasta utilização e apresenta um grande potencial para ser empregado como material semicondutor. Pode ser obtido por vários métodos de síntese como por exemplo o método sol-gel, reação por combustão via líquida, hidrólise forçada, método Pechini e o método hidrotermal. O objetivo principal deste trabalho foi controlar fatores como o tamanho, a uniformidade e dispersão das partículas de ZnO sintetizadas. Para isso foram variados os surfactantes (PEG 8000, PEG 4000 e PEG 400) empregados para a síntese. O método de síntese escolhido para obtenção das nanopartículas foi o método hidrotermal convencional. Assim, o ZnO foi obtido com sucesso por meio do método hidrotermal convencional e caracterizado por difração de raios X, microscopia eletrônica de varredura (MEV-FEG) e análise de potencial Zeta.

**Palavras-chave:** Óxido de zinco; Método Hidrotérmico; PEG; Nanopartículas.



## OPTIMIZATION OF ZNO NANOPARTICLES OBTAINED BY HYDROTHERMAL METHOD

### Abstract

Zinc oxide (ZnO) is one of the most important and widely used metal oxides, with potential in semiconductor application. It can be obtained by different methods of synthesis such as sol-gel method, via combustion reaction liquid, forced hydrolysis, spray-drying, the Pechini method and hydrothermal method. The main objective of this work was to control factors such as the size, uniformity and dispersion of ZnO particles. For this purpose the surfactants were varied (PEG 8000, PEG 4000 and PEG 400). The synthesis method chosen to obtain the nanoparticles was the conventional hydrothermal method. ZnO was successfully obtained and characterized by X-ray diffraction, scanning electron microscopy (SEM-FEG) and Zeta potential analysis.

**Keywords:** Zinc oxide; Hydrothermal Method; PEG; Nanoparticles.

## 1 INTRODUÇÃO

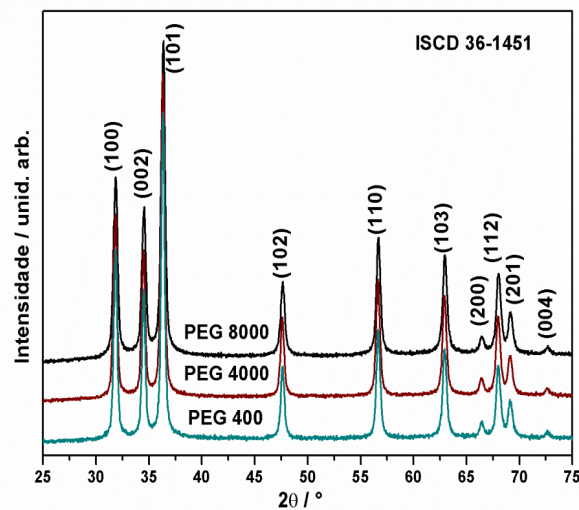
O óxido de zinco (ZnO), tem recebido muita atenção nos últimos anos. Com propriedades elétricas e ópticas de destaque, além de ser biocompatível, o ZnO foi testado para diferentes aplicações, entre as quais se destacam como sensores e catalisadores (WANG Wenchuang, 2013 e HUANG, Rong-Hsin 2013). Assim, o ZnO se classifica como um dos mais importantes óxidos metálicos, tem vasta utilização como fotocalisador e ainda apresenta uma ampla possibilidade de ser empregado como material semicondutor do tipo n, devido à presença de defeitos intrínsecos que podem ser gerados pela formação de vacâncias de oxigênios. O ZnO pode formar estruturas cristalinas do tipo wurtzita, blenda de zinco ou cúbicas, em condições normais de temperatura e pressão. Geralmente, a estrutura hexagonal wurtzita apresenta parâmetros de rede iguais a  $a = 3,250\text{Å}$  e  $c = 5,207\text{Å}$ , além de um band gap de 3,37 eV (368 nm), o que possibilita variações significativas de sua condutividade quando exposto a incidência de luz UV com energia superior ao seu gap. Entre os vários métodos de síntese química que estão sendo utilizados para a preparação de nanopartículas de ZnO pode-se citar o método sol-gel, reação por combustão via líquida, hidrólise forçada, método Pechini e o método hidrotermal (PAWAR, Rajendra, 2012). O objetivo principal deste trabalho foi controlar a morfologia e a dispersão do ZnO com dimensões nanométricas. Para isso foram variados os surfactantes (Polietilenoglicol, PEG, com diferentes massas molares) adicionados.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

As nanopartículas de ZnO foram obtidas pelo método hidrotermal convencional (MHC). O MHC permite a obtenção de partículas de ZnO em uma única etapa, não havendo a necessidade de tratamentos pós-síntese. O precursor de Zn, nitrato de zinco ( $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ ), foi dissolvido em água ultra deionizada e, em seguida, o pH da solução foi ajustado para 14 com NaOH. Para um maior controle do tamanho e da uniformidade das partículas de ZnO foram adicionados os surfactantes Polietilenoglicol de massa molar 8000, 4000 e 400 com concentração de 0,1M. As soluções foram submetidas ao tratamento hidrotérmico separadamente a 150°C por 1 hora. Durante todo o tratamento manteve-se a solução em agitação constante. Após o tratamento, o sólido branco obtido foi lavado até pH neutro e seco em estufa.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A ordem a médio e longo alcance das amostras obtidas foi investigada por difração de raios X. Como pode-se observar na Figura 1, as três amostras apresentam-se cristalinas com estrutura hexagonal pertencente ao grupo espacial P63mc e com os referidos planos cristalinos de acordo com a ficha cristalográfica ISCD 36-1451. Assim, confirmou-se a obtenção do ZnO pelo MHC com sucesso. Pode-se afirmar ainda que não houve a formação de fases secundárias.



**Figura 1.** Difratoograma de raios X para as amostras de ZnO obtidas com diferentes surfactantes.

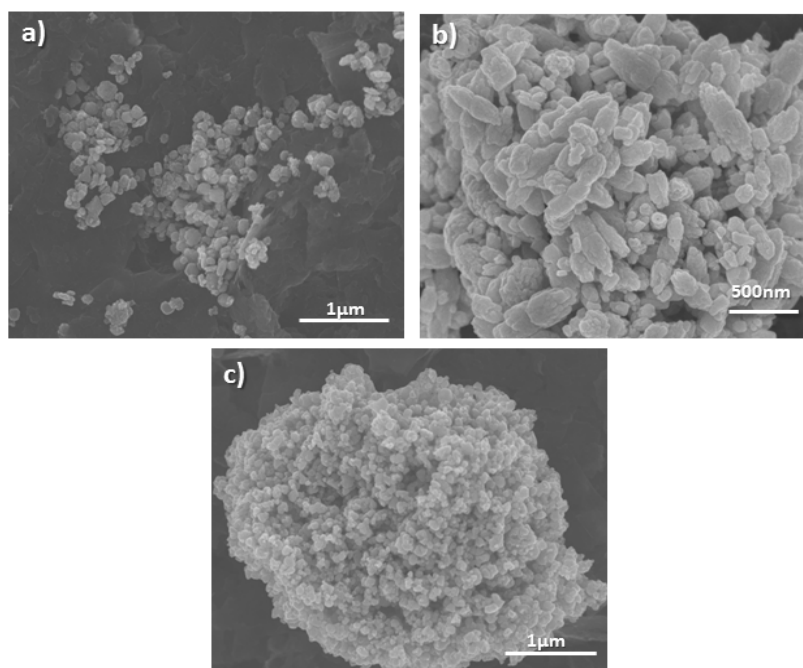
A estabilidade das nanopartículas em suspensão foi avaliada por análise dos respectivos potenciais zeta. O potencial Zeta é o valor do potencial eletrocinético envolvido na região de dupla camada de um colóide. Esta medida permite o estudo da estabilidade dos colóides na suspensão. A dupla camada é formada pela superfície carregada, os contra-íons e os co-íons numa forma difusa no meio. Como consequência surge um potencial elétrico que inicia na superfície carregada e decai exponencialmente até tornar-se constante. Este potencial é chamado de potencial Zeta,  $\zeta$ , localizado entre a superfície carregada e a solução.

Os resultados das análises de potencial Zeta são apresentados na Tabela 1. Segundo MOTSKIN (MOTSKIN, Michael, 2009), partículas com altos valores de potencial Zeta, excedendo, em módulo,  $\pm 30$  mV, permanecem estáveis em suspensão, sendo consideradas, partículas coloidais. Em contrapartida, partículas com valores de potencial Zeta menores em módulo, que  $\pm 30$  mV, são instáveis em suspensão e tendem a se aglomerar. Assim, analisando-se os valores de  $\zeta$  obtidos pode-se inferir que a amostra obtida com PEG 8000 apresenta-se mais dispersa em solução do que as outras duas amostras. Tal fato é confirmado pelos valores de DLS. A medida de DLS fornece uma estimativa do tamanho das nanopartículas de acordo com o espalhamento de luz, o qual é muito influenciado pela presença de aglomerados. A amostra obtida com PEG 400 apresentou tamanho médio de 615 nm, muito acima do tamanho das nanopartículas observado pela microscopia eletrônica, indicando a formação de aglomerados e confirmando a baixa dispersividade indicada pelo potencial Zeta.

**Tabela 1.** Valores de potencial zeta e tamanho médio das partículas de ZnO

Amostra	$\zeta$ / mV	DLS / nm
PEG8000	-22,1	190
PEG4000	-19,3	220
PEG400	-17,7	615

Na Figura 2 são apresentadas as imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV-FEG). Pode-se observar que a amostra obtida com PEG 4000 (Fig 2b) apresenta uma grande variação no tamanho das nanopartículas enquanto que as outras duas amostras apresentam maior homogeneidade. Podemos observar ainda que a amostra obtida com PEG 400 (Fig. 2c) apresenta-se aglomerada, como era esperado de acordo com os resultados de potencial zeta.



**Figura 2.** Imagens de microscopia eletrônica para as amostras de ZnO sintetizadas com a) PEG 8000, b) PEG 4000 e c) PEG 400.

#### 4 CONCLUSÃO

Como conclusão, pode-se afirmar que o ZnO foi obtido com sucesso pelo método proposto em baixas temperaturas e curtos tempos de tratamento hidrotérmico. Foi possível concluir também que é possível controlar o tamanho, a forma e a dispersão dos nanomateriais utilizando-se diferentes surfactantes. Porém, os tamanhos de partículas conseguidos até agora não são satisfatórios para as futuras aplicações pretendidas. Portanto, como etapas futuras serão variadas as concentrações dos surfactantes para melhores resultados visando as necessidades de aplicação e interesse.

#### AGRADECIMENTOS

Este trabalho recebe o apoio do CNPq, CAPES, FAPESP e Embrapa.

#### REFERÊNCIAS

- HUANG, R. H.; CHIU, T. W.; LIN, T. J.; SUN, C. H.; CHAO, W. K.; TSAIA, D. C.; HSUEH, K. L.; SHIEU, F. S. Improvement of proton exchange membrane fuel cells performance by coating hygroscopic zinc oxide on the anodic catalyst layer. *Journal of Power Sources*, v. 227, p. 229-236, 2013.
- MOTSKIN, M., WRIGHT, D.M.; MULLER, K.; KYLE, N.; GARD, T.G.; PORTER, A.E; SKEPPER, J.N. Hydroxyapatite nano and microparticles: Correlation of particle properties with cytotoxicity and biostability. *Biomaterials*, v. 30, n.19, p3307-3317, 2009.
- PAWAR, R.C; SHAIKH, J.S.; SURYAVANSHI, S.S.; PATIL, P.S. Growth of ZnO nanodisk, nanospindles and nanoflowers for gas sensor: pH dependency. *Current Applied Physics*, v. 12, n. 3, p. 778-783, 2012.
- WANG, W.; TIAN, Y.; WANG, X.; HE, H.; XU, Y.; HE, C.; LI, X. Ethanol sensing properties of porous ZnO spheres via hydrothermal route. *Journal of Materials Science*, v. 48, n. 8, p. 3232-3238, 2013.

# AVALIAÇÃO DO USO DE NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA NA COAGULAÇÃO/ F-LOCULAÇÃO DE MICROALGAS CRESCIDAS EM EFLUENTE SUINÍCOLA

\*Francisco Noé da Fonseca<sup>1</sup>, William Michelon<sup>2</sup>, Melissa Paola Mezzari<sup>3</sup>, Márcio Luís Busi da Silva<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Suínos e Aves. <sup>2</sup>UFSC – Universidade Federal de Santa Catarina. <sup>3</sup>UNOESC – Universidade do Oeste de Santa Catarina.

\*francisco.fonseca@embrapa.br

**Classificação:** Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio.

## Resumo

O presente trabalho investigou a eficiência de uma solução de quitosana nanoparticulada na coagulação/floculação de biomassa de microalgas *Chlorella vulgaris*, cultivada em efluente suinícola laboratório e em fotobioreatores de escala laboratorial. O efeito da quitosana nanoparticulada foi comparado ao uso da quitosana na forma pura utilizando testes de jarros. Entre as concentrações testadas (20, 30, 40 e 60 mg L<sup>-1</sup>), a nanoquitosana na dose de 40 mg L<sup>-1</sup> apresentou a maior recuperação de biomassa (94%), enquanto a solução de quitosana pura (30 mg L<sup>-1</sup>) foi de 87%. Além disso, a nanoquitosana apresentou maior capacidade total de recuperação. Os resultados sugerem que as nanopartículas de quitosana podem ser uma alternativa interessante de polímero orgânico não tóxico para coagulação e floculação e coleta de microalgas *Chlorella* sp.

**Palavras-chave:** Quitosana; Nanoquitosana; *Chlorella vulgaris*; Dejetos suínos; Fitorremediação.

## ASSESSMENT OF CHITOSAN NANOPARTICLES AS COAGULANT FOR HARVESTING MICROALGAE FROM SWINE EFFLUENTS

### Abstract

The present study investigated the efficiencies of chitosan and nanochitosan to harvest *Chlorella vulgaris* biomass grown in a lab scale photobioreactor treating swine wastewater digestate. The dosage effect from both chitosan forms were evaluated in jar test experiments. Among the concentrations tested (20, 30, 40 and 60 mg L<sup>-1</sup>), nanochitosan at 40 mg L<sup>-1</sup> showed the highest biomass recovery efficiency (94%) and chitosan alone (30 mg L<sup>-1</sup>) was 87%. Moreover, nanochitosan presented higher total harvest capacity. Overall, the results suggest that nanochitosan can be an interesting alternative choice of non-toxic organic polymer for harvesting *Chlorella* sp from organic-rich swine wastewater.

**Keywords:** Chitosan; *Chlorella vulgaris*; Nanochitosan; Swine wastewaters; Phycoremediation.

## 1 INTRODUÇÃO

Atualmente, as microalgas são matérias-primas de grande valor comercial tanto para a produção de biocombustíveis como para a alimentação humana e animal. O cultivo de microalgas apresentam muitas vantagens sobre as monoculturas destinadas a biocombustíveis devido ao seu rápido crescimento, menor consumo de água e não interferem na agricultura alimentar. Entretanto, a demanda de energia e os custos associados à coleta e separação de microalgas a partir de seu meio de cultivo ainda é muito elevado, o que pode comprometer a produção em escala industrial (Vandamme *et al.*, 2013; Brennan; Owende, 2010; Mata *et al.*, 2010). Não há um método padrão para a coleta e separação das microalgas, mas a precipitação química apresenta-se como a mais econômica e viável atualmente (Mata *et al.*, 2010; Vandamme *et al.*, 2013).

A precipitação química com sais metálicos é utilizada em sistemas de tratamento de esgotos e de águas, pois auxilia na remoção de partículas suspensas e dissolvidas através de processos de sedimentação (Metcalf; Eddy, 1991). Estes mesmos sais metálicos (sulfato de alumínio, cloreto de ferro, sulfato de ferro, etc) têm sido utilizados eficientemente para a remoção de microalgas do meio de cultivo (Molina Grima *et al.*, 2003; Harith *et al.*, 2009; De Godos *et al.*, 2011; Vandamme *et al.*, 2011). Entretanto, a toxicidade inerente nestes sais poderia impactar a qualidade da água e interferir nos processos de extração de biocombustíveis (Uduman *et al.*, 2010; Anthony *et al.*, 2013).

Polímeros orgânicos podem substituir o uso de sais metálicos na precipitação de microalgas devido a sua baixa toxicidade e eficiência de remoção. A quitosana é um biopolímero biodegradável, obtido a partir da desacetilação da quitina e tem se mostrado como uma alternativa de coagulante na remoção da biomassa de microalgas em sistemas de cultivos (Harith *et al.*, 2009; De Godos *et al.*, 2011; Rashid *et al.*, 2013). Embora os coagulantes de nano-escala apresentem melhor desempenho de adsorção devido a sua elevada área de superfície específica (Sivakami *et al.*, 2013), pouco se conhece sobre o uso de coagulantes nanoparticulados na coleta de microalgas. No presente trabalho, foi proposto a modificação da quitosana pura para forma nanoparticulada para avaliar a eficiência desta na coagulação e floculação da biomassa da microalga *Chlorella vulgaris* cultivadas em fotobiorreatores simulando o tratamento de dejetos de suínos.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Cultivo das microalgas

O inoculo de microalgas foi obtido diretamente de uma lagoa facultativa de tratamento de efluentes de um biodigestor anaeróbico da Estação de Tratamento de Dejetos Suínos (ETDS) na EMBRAPA (Concórdia, SC). Microalga *Chlorella vulgaris* foi a espécie dominante observada nos fotobiorreatores alimentados com efluente de biodigestor (para detalhes ver Mezzari *et al.*, 2013). As microalgas foram coletadas durante a fase de crescimento (exponencial), sendo utilizada uma suspensão inicial com turbidez de 134 NTU, determinada com turbidímetro (2100P, Hach).

### 2.2 Preparação das nanopartículas de quitosana

As nanopartículas de quitosana foram preparadas por gelificação ionotrópica conforme descrito por Farid *et al.* 2013. Sucintamente, foi preparada uma solução de quitosana de baixo peso molecular (2 mg/mL, 70 mL) em solução de ácido acético 1% (v/v) contendo NaCl (3 mg/mL). Em seguida, sob agitação magnética moderada, foram gotejadas lentamente 5 mL de solução de tripolifosfato de sódio (2 mg/mL). O diâmetro das nanopartículas foi determinado por espalhamento de luz dinâmico (Zetasizer ZS, Malvern).

### 2.3 Determinação da recuperação de biomassa

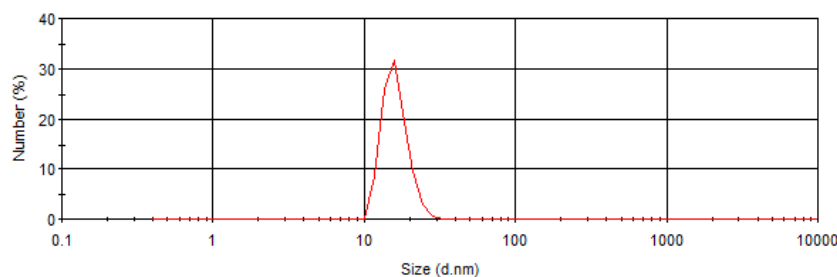
Para o teste de floculação, foram utilizados 700 mL de suspensão de microalgas em testes de jarros realizados em triplicatas. Foram adicionadas diferentes concentrações da formulação de nanopartículas de quitosana (20, 30, 40 e 60 mg L<sup>-1</sup>). O sistema foi mantido sob agitação mecânica contínua de 60 rpm. Como controle, foi utilizada uma solução de quitosana pura, sem o acréscimo do tripolifosfato. O processo de sedimentação ocorreu por 30 min e a recuperação de biomassa ( $\eta$ ) determinada com a leitura da turbidez do sobrenadante, conforme a equação abaixo (Equação 1):

$$\eta (\%) = \frac{NTU_i - NTU_f}{NTU_i} \times 100 \quad (1)$$

Onde  $NTU_i$  e  $NTU_f$  correspondem a densidade ótica do sobrenadante antes e depois da coagulação/ floculação e sedimentação, respectivamente. O pH inicial e final foi determinado com o auxílio de um pHmetro (HI98183, Hanna).

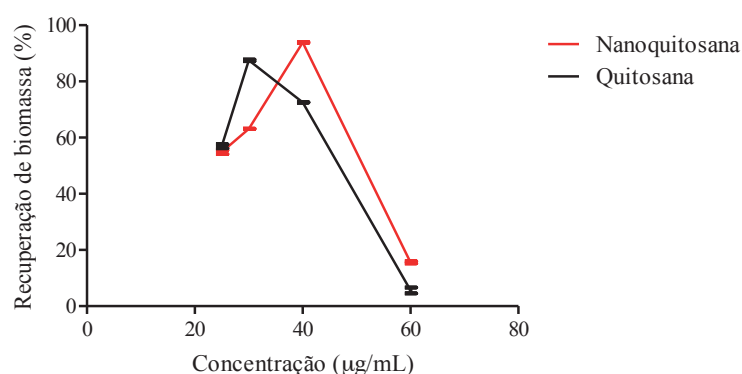
## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A solução de nanopartículas de quitosana apresentou aspecto transparente e um pouco menos viscoso quando comparada com a solução de quitosana. Esse fato pode ser justificado pela redução da rede tridimensional das cadeias de quitosana em solução, já que ao ser adicionado o agente reticulante (tripolifosfato) ocorre a desestruturação dessa rede e a nucleação das partículas através do mecanismo de gelificação ionotrópica. O pH de ambas as soluções ficou em torno de 4,5. O diâmetro médio das nanopartículas foi de 16 nm, corroborando estudos anteriores (Farid *et al.* 2013). A Figura 1 apresenta o perfil de distribuição do diâmetro das nanopartículas.



**Figura 1.** Distribuição do diâmetro das nanopartículas de quitosana.

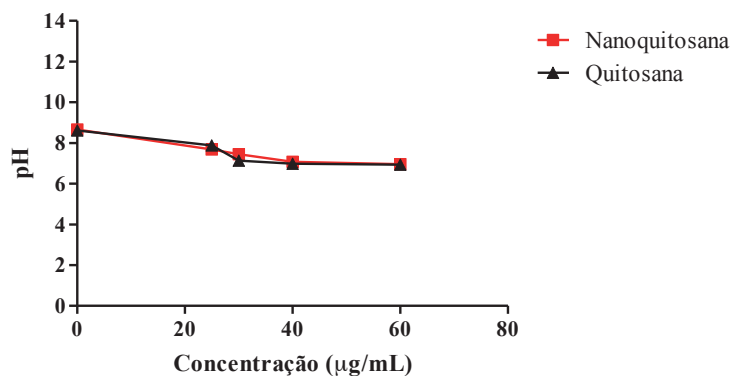
A partir da Figura 2, é possível observar que na faixa de concentração avaliada a solução de quitosana pura apresentou maior eficiência de remoção das microalgas na concentração de 30  $\mu\text{g/mL}$  em comparação as nanopartículas (40  $\mu\text{g/mL}$ ). No entanto, um incremento de quase 12% de recuperação total de biomassa (área sob a curva) foi observado utilizando-se as nanopartículas de quitosana em relação à solução (2175 e 1943, respectivamente).



**Figura 2.** Efeito da concentração da solução de quitosana pura ou nanoestruturada na eficiência de remoção da microalga *Chlorella sp.*

Além disso, foi realizado um experimento adicional, no qual concentrações crescentes de quitosana ou nanoquitosana foram adicionadas no mesmo jarro. Foi observado que com metade da concentração da nanoquitosana em comparação com a quitosana em solução (50 e 100  $\mu\text{g/mL}$ ) houve uma recuperação de biomassa levemente maior (96 e 91%), sugerindo a maior capacidade flocculante da quitosana nanoestruturada.

O pH do meio após o fenômeno de coagulação e floculação diminuiu de 8,5 para 6,5). Este resultado não foi surpreendente considerando à adição crescente de ácido acético nas amostras, o qual é usado para solubilizar a quitosana (Figura 3).



**Figura 3.** Variação do pH da amostra em função das diferentes concentrações de quitosana em solução ou nanoestruturada.

#### 4 CONCLUSÃO

Diante do exposto, percebe-se o potencial das nanopartículas de quitosana como agente floculante de microalgas utilizadas no tratamento de efluentes da cadeia de suínos. O sistema coloidal proposto apresentou como principal vantagem a não necessidade de ajuste do pH do meio (básico) antes da floculação e mantendo-se levemente ácido ao fim do processo, e também a ter uma capacidade total de precipitação superior a solução de quitosana. Vale destacar que estudos adicionais de caracterização das nanopartículas, bem como dos possíveis mecanismos que regem o processo de floculação observado, são necessários para consolidar essa abordagem como tecnologia inovadora para o setor.

## AGRADECIMENTOS

Gostaríamos de agradecer ao Pesquisador Humberto Brandão (Embrapa Gado de Leite) pelo fornecimento das matérias-primas necessárias para preparação das nanopartículas de quitosana e ao Pesquisador Cauê Ribeiro (Embrapa Instrumentação) pelas análises de diâmetro das nanopartículas. O presente trabalho foi financiado pelo CNPq (407146/2013-0) e pela CAPES-EMBRAPA (001/2011).

## REFERÊNCIAS

ANTHONY R.J., ELLIS J.T., SATHISH A., RAHMAN A., MILLER C.D. AND SIMS R.C. 2013 Effect of coagulant/flocculants on bioproducts from microalgae. *Bioresource and Technology*, 149, 65-70.

DE GODOS I., GUZMAN H.O., SOTO R., GARCÍA-ENCINA P.A., BECARES E., MUÑOZ R. AND VARGAS, V.A. 2011. Coagulation/flocculation-based removal of algal-bacterial biomass from piggery wastewater treatment. *Bioresource Technology*, 102, 923-927.

FARID, M. S.; SHARIATI, A.; BADAQSHAN, A.; ANVARIPOUR, B. Using nano-chitosan for harvesting microalga *Nannochloropsis* sp. *Bioresource Technology*, v. 131, p. 555-559, 2013.

MATA T.M., MARTINS A.A. AND CAETANO N.S. 2010 Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(1), 217-232.

METCALF & EDDY INC., 1991. *Wastewater Engineering Treatment, Disposal, Reuse*. McGraw-Hill, Inc., New York.

RASHID N., REHMAN S.U. AND HAN J.I. 2013 Rapid harvesting of freshwater microalgae using chitosan. *Bioresource Technology*, 48, 1107-1110.

UDUMAN N., QI Y., DANQUAH M.K., FORDE G.M. AND HOADLEY A. 2010 Dewatering of microalgal cultures: A major bottleneck to algae-based fuels. *Journal of Renewable and Sustainable Energy*, 2, 012701.

VANDAMME D., PONTES S.C.V., GOIRIS K., FOUBERT I., PINOY L.J.J. AND MUYLEAERT K. 2011 Evaluation of electro-coagulation-flocculation for harvesting marine and freshwater microalgae. *Biotechnology and Bioengineering*, 108, 2320-2329.

SIVAKAMI M.S., GOMATHI T., VENKATESAN J., JEONG H.S., KIM S.K., SUDHA P.N. 2013. Preparation and characterization of nano chitosan for treatment wastewaters. *International Journal of Biological Macromolecules*, 57, 204-212.

---

## ANÁLISE DA SOLUBILIDADE DE NANOPARTÍCULAS DE HIDROXIAPATITA PARA APLICAÇÃO COMO FONTE DE FÓSFORO

\*Camila R. Sciena<sup>1</sup>, Maria F. Santos<sup>2</sup>, Cauê Ribeiro<sup>3</sup>, Daniel S. Corrêa<sup>3</sup>, Elaine C. Paris<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Química – UFSCar, São Carlos. <sup>2</sup>Departamento de Biotecnologia e Produção Vegetal e Animal - UFSCar. <sup>3</sup>Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa.

\*carsciena@gmail.com

**Classificação:** Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio.

### Resumo

A necessidade do uso de fertilizantes para o auxílio da produção agrícola associado ao alto índice de importação deste insumo pelo Brasil tem motivado o desenvolvimento científico e tecnológico de materiais ativos com desempenho elevado. Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo a síntese de nanopartículas de hidroxiapatita pelo método de coprecipitação, e o envelhecimento das mesmas por hidrotermalização. Deste modo, avaliou-se a solubilidade das nanopartículas obtidas em diferentes tempos de hidrotermalização, visando acompanhar a dependência da solubilidade em solução aquosa com os diferentes tamanhos médios e condições de cristalização. Os resultados obtidos para a hidroxiapatita indicaram que a variação no tempo de hidrotermalização não teve influência significativa nos diâmetros de partículas obtidas assim como em sua cristalização, entretanto, houve melhor definição da morfologia da partícula.

**Palavras-chave:** Hidroxiapatita; Nanopartículas; Fósforo; Solubilidade.

### ANALYSIS OF HYDROXYAPATITE NANOPARTICLES SOLUBILITY FOR APPLICATION AS A PHOSPHORUS SOURCE

#### Abstract

The necessity for using fertilizer to favor the agricultural production associated with high import rates by Brazil have motivated the scientific and technological development of fertilizers with high performance. In this context, the present study aimed to the synthesis of hydroxyapatite nanoparticles by co-precipitation method followed by the hydrothermal process. The nanoparticles solubility was evaluated at different times of hydrothermalization to monitor the dependence of this behavior in aqueous solution. The results indicated that the hydrothermal treatment used did not influence significantly the particle diameters and the crystallinity, however, there was better definition of their morphology.

**Keywords:** Hydroxyapatite; Nanoparticles; Phosphorus; Solubility

**Publicações relacionadas:** “*Evaluation of hydroxyapatite nanoparticles solubility for application as a source of phosphorus*” apresentação para o 16º Congresso Mundial de Fertilizantes do CIEC, 2014.

## 1 INTRODUÇÃO

Há uma grande necessidade de utilização de fertilizantes na produção agrícola Brasileira, sendo cerca de 70% destes compostos ativos são obtidos por importação.<sup>1</sup> Para a produção de fertilizantes fosfatados para o solo temos a produção de ácido fosfórico ( $H_3PO_4$ ). Nesse processo tem-se a formação do fosfogesso ( $CaSO_4$ ) como subproduto, que apresenta-se como um grande impacto ao meio ambiente, já que toneladas desse subproduto encontram-se estocados sem nenhum uso final (RUTHERFORD et al. 1994).

Nos últimos anos o fosfato de rocha tem sido avaliado para aplicação direta no solo como fertilizante (Khasawneh; Doll.,1978). Um dos fosfatos mais abundantes na natureza é a classe das apatitas, tornando-a altamente interessante para a aplicação mineral direta no solo, exceto pela sua baixa solubilidade (Chien; Menon, 1995). Dessa forma, metodologias que possibilitem o aumento da dissolução da mesma são de grande relevância.

Dessa maneira, o presente trabalho tem como interesse sintetizar nanopartículas de hidroxiapatita (HAP) ( $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ ) pelo método hidrotermal em diferentes períodos tempos para avaliar sua solubilidade e capacidade de liberação de fósforo (P) para o solo.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

As nanopartículas de HAP foram sintetizadas pelo método de coprecipitação por via úmida e, em seguida, hidrotermalizadas por diferentes períodos de tempo com o propósito de avaliar o crescimento e cristalização das mesmas. Para isso, foram preparadas soluções de nitrato de cálcio ( $Ca(NO_3)_2$ ) e de fosfato ácido de amônio ( $(NH_4)_2HPO_4$ ), respectivamente. A seguir, a segunda foi gotejada lentamente na primeira solução sob fluxo de nitrogênio ( $N_2$ ) e pH 11 ajustado com hidróxido de amônio ( $NH_4OH$ ), formando uma suspensão branca, que foi hidrotermalizada durante 12, 24 e 36 horas à  $150^\circ C$ . As amostras obtidas foram caracterizadas pelas técnicas difração de raios x e microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo.

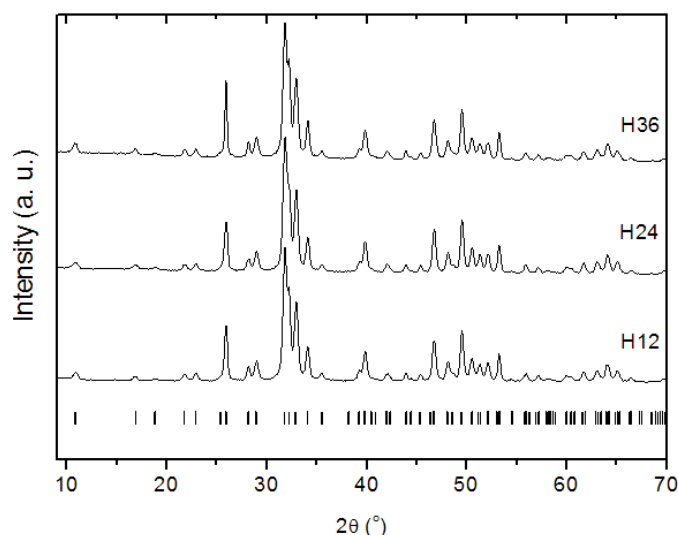
Para a verificação da solubilidade das mesmas, 0,05 g de hidroxiapatita foi colocado em um be-



cker com 200 mL de água à temperatura controlada de 40°C. Posteriormente, alíquotas foram retiradas de acordo com o tempo (4, 8 12, 24 e 48 h). A solubilidade foi analisada através de espectrofotometria de absorção na região do UV-Vis pela complexação do fósforo pelo método azul de molibdênio.

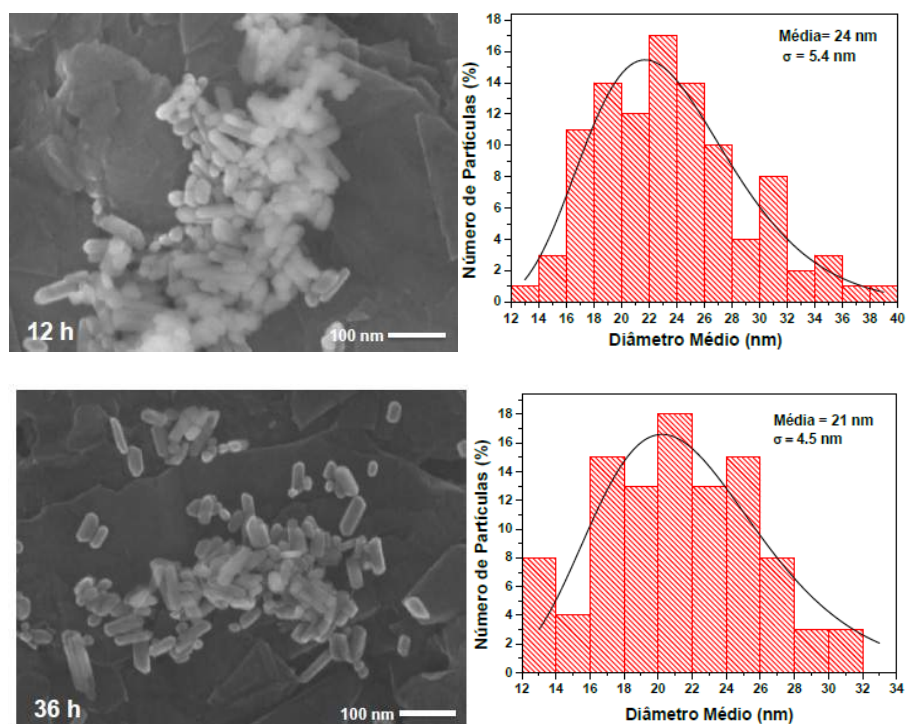
### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No difratograma da Fig. 2 pode-se perceber que todas as amostras encontram-se monofásicas e cristalinas, sem a formação de fases secundárias indesejáveis. Verifica-se também, que não houve influência significativa na cristalização com o aumento do tempo de hidrotermalização em média e longa distância no retículo cristalino, que tenha sido detectada por DRX.



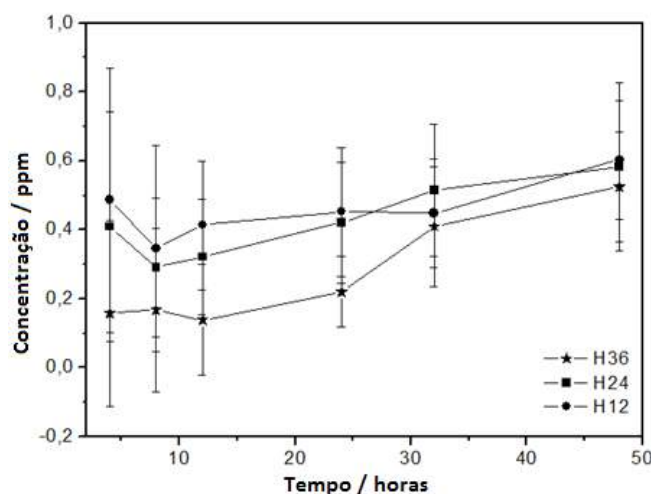
**Figura 1.** Difratogramas de raios X das amostras de hidroxiapatita sintetizadas em seus respectivos tempos de hidrotermalização.

O tamanho e a forma das nanopartículas de HAP foram analisados por MEV-FEG. As imagens e os histogramas de distribuição de tamanhos de partículas obtidos estão apresentados na Figura 2.



**Figura 2.** Imagens obtidas por microscopia eletrônica das amostras de HAP na forma de pós e a respectiva distribuição do diâmetro médio de partículas.

Com as imagens obtidas por microscopia eletrônica foi possível observar os diâmetros médios das partículas sintetizadas. Nesses tamanhos mensurados, não houve variação significativa com o aumento do tempo de hidrotermalização. Contudo, houve uma melhor definição dos bastonetes. Vê-se nos histogramas que menores períodos de hidrotermalização acarretam uma faixa de diâmetros mais larga do que a apresentada em um tempo mais longo no reator hidrotermal.



**Figura 3.** Solubilização das nanopartículas de hidroxiapatita de acordo com o tempo.

A Figura 3 foi obtida por intermédio de medidas de absorvância na região do ultravioleta-visível, empregando-se o do método azul de molibidênio na quantificação de fósforo liberado pelas nanopartículas de HAP em função do tempo. É possível observar que o tempo de processo hidrotermal não apresentou influência significativa na concentração de fósforo em solução.

#### 4 CONCLUSÃO

Neste trabalho, concluiu-se que o tempo de hidrotermalização não apresenta uma influência significativa no diâmetro médio das nanopartículas de hidroxiapatita e no processo de cristalização do material. Deste modo, é possível concluir que são preferidos períodos mais curtos de tratamento hidrotermal, uma vez que não há diferença significativa na HAP nanopartículas solubilidade.

#### AGRADECIMENTOS

Embrapa Instrumentação, CAPES, CNPq e FAPESP

#### REFERÊNCIAS

Disponível em: <<http://www.anda.org.br/index.php?mpg=03.00.00>>. Acesso em: 9 jul. 2014.

Rutherford, P. M., Dudas, M. J., & Samek, R. A. (1994). Environmental impacts of phosphogypsum. *Science of the Total Environment*, 149(1), 1-38.

Khasawneh, F. E., and E. C. Doll. "The use of phosphate rock for direct application to soils." *Adv. Agron* 30.1 (1978): 159-206.

Chien, S.H., Menon, R.G., Factors affecting the agronomic effectiveness of phosphate rock for direct application. *Fert. Res.*, 1995. 41(3): p. 227-234.

## EFEITO DO POLIETILENOGLICOL NAS NANOFIBRAS DE POLI(ÁCIDO LÁTICO)

\*Rafaella T. Paschoalin<sup>1,2</sup>, Glaucia S. Brich<sup>1,2</sup>, Juliano E. Oliveira<sup>3</sup>, Luiz H. C. Mattoso<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>PPGQ - UFSCar, São Carlos, SP. <sup>2</sup>Embrapa Instrumentação, Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agro negócio (LNNA), São Carlos, SP. <sup>3</sup>Departamento de Engenharia de Materiais, UFPB, João Pessoa, PB.

\*rafa.rntp@gmail.com

**Classificação:** Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio.

### Resumo

O método de fiação por sopro em solução (SBS) consiste numa nova forma de obtenção de fibras que tem como suportes teóricos o método de eletrofiação e fiação convencional a partir do polímero fundido. Neste trabalho, nano e micro fibras de poli (ácido lático), PLA, foram preparadas por meio da técnica SBS. Soluções poliméricas de PLA com diferentes concentrações de polietilenoglicol (PEG) (0, 1, 5, 10 e 20% m/m) foram preparadas com a finalidade de analisar o efeito nas propriedades e na morfologia das fibras obtidas. A morfologia e a composição química das fibras foram estudadas por meio das técnicas de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia de infravermelho com transformada de fourier (FTIR). Também foi observado um decréscimo de 132° para 108° no valor do ângulo de contato com o aumento da concentração de PEG.

**Palavras-chave:** Fiação por sopro em solução; Polímero; Nanofibras e Morfologia.

### EFFECT OF POLYETHYLENE GLYCOL IN NANOFIBERS POLYLACTIC ACID

#### Abstract

The solution blow spinning (SBS) is a new method to obtain fibers based in theoretical supports of electrospinning method. In this work, polylactic acid (PLA) fibrous was prepared by SBS technique. From PLA polymer solutions of different concentrations of polyethylene glycol (PEG) (0, 1, 5, 10 and 20% w/w) were prepared to analyze its effects on the morphology in the obtained fibers. The morphological and chemical composition of the fibers were analyzed by scanning electron microscopy (SEM) and fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). Was also determined that the contact angle decreased by 132° to 108° with increasing the concentration of PEG.

**Keywords:** Solution blow spinning; Polymer; Nanofibers and Morphology.

**Publicações relacionadas:** Apresentação sob a forma de pôster do trabalho intitulado “Efeito do polietilenoglicol nas nanofibras de poli(ácido lático)” Autores: PASCHOALIN, R. T.; BRICHI, G. S.; OLIVEIRA, J. E.; MATTOSO, L. H. C. 12º Congresso brasileiro de polímeros (12ºCBPol).

## 1 INTRODUÇÃO

Implantes temporários confeccionados a partir de polímeros bioabsorvíveis ganharam grande importância na área médica (SHIN, et. al., 2003). Atualmente estes vêm sendo utilizados em um amplo número de aplicações, tais como: sistemas para liberação controlada de fármacos (LIU, et. al., 2004) e regeneração de tecido (LYSAGHT, et. al., 2004). As blendas de polímeros naturais e sintéticos têm se mostrado uma alternativa viável, devido a possibilidade de se trabalhar diversas propriedades a fim de viabilizar as características de cada aplicação. Dentre as tecnologias existentes para a produção desses materiais, destaca-se a fiação por sopro em solução (SBS), que se caracteriza pela produção de arcabouços tridimensionais (scaffolds) formados por fibras que conseguem mimetizar, fisicamente, a matriz extracelular natural (KELLOMÄKI & TÖRMÄLÄ, 2004). O poli(ácido lático) (PLA) é um polímero biodegradável, bioreabsorvível e biocompatível, apresentando portanto, uma alternativa interessante para o utilização como scaffolds (WU & DING, 2005). No entanto, uma das principais limitações na utilização do PLA na engenharia de tecidos é sua hidrofobicidade, resultando em baixa permeabilidade e menor interação com células. A mistura de outro polímero como, o polietilenoglicol (PEG), poderá servir como um caminho eficaz para melhorar a estabilidade física e mecânica, a permeabilidade e a biodegradabilidade desses materiais. O objetivo do presente trabalho constitui na preparação e caracterização das nanofibras poliméricas de PLA obtidas pelo processo SBS com diferentes concentrações de polietilenoglicol (PEG).

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Materiais

Neste trabalho foi empregado o poli(ácido lático) (Massa molar = 75.000 g/mol) adquirido da Biomater (São Carlos/Brasil), polietilenoglicol (Massa molar = 8.000 g/mol) da Sigma-Aldrich, cloroformio e a acetona (VETEC) empregados como solventes.

### 2.2 Preparação das matrizes poliméricas

Mantas fibrosas foram preparadas a partir de uma solução contendo 12% m/v de PLA em cloroformio: acetona 3:1 (v/v) por meio da técnica SBS contendo diferentes concentrações de (PEG). As concentrações de PEG utilizadas foram: 0, 1, 5, 10 e 20% (m/m).

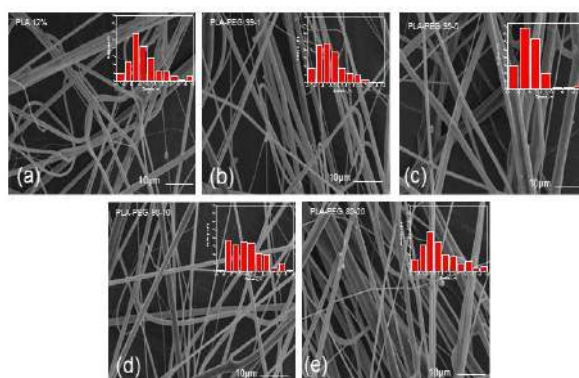
### 2.3 Caracterização

A morfologia das fibras foi observada utilizando um microscópio eletrônico de varredura (JEOL JSM - 6510 Zeiss) após recobrimento com ouro da superfície das amostras com o auxílio de um metalizador (Balzer, SCD 050). Os diâmetros das fibras foram avaliados por meio do software analisador de imagens (Image J, USA). Para cada amostra, o diâmetro médio e sua distribuição foram determinados a partir da análise de 100 fibras aleatórias. Com o objetivo de caracterizar a presença de grupos químicos específicos nas nanofibras da blenda PLA-PEG foi realizada análise de infravermelho utilizando a transformada de fourier (FTIR - Nicolet 470 Nexus). Valores do ângulo de contato médio da água deionizada na superfície das fibras foram obtidos por meio do equipamento (CAM 101 da KSV Instruments) equipado com uma câmera CCD modelo (KGV-5000). Em cada medida uma gota de aproximadamente 2  $\mu$ L de água deionizada foi gotejada sobre a superfície das mantas e as imagens foram coletadas automaticamente durante três minutos. A partir destas imagens o ângulo de contato médio foi calculado utilizando um software do próprio equipamento (KSV CAM 2008).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A Figura 1 apresenta as micrografias das nanofibras de PLA e das blendas poliméricas PLA-PEG em diferentes concentrações.

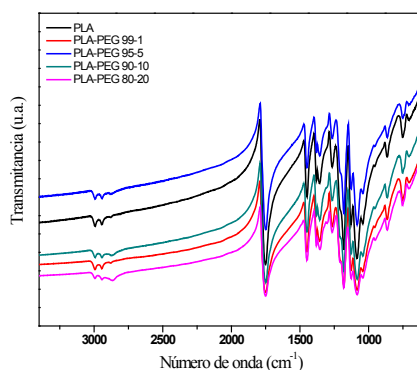


**Figura 1.** Micrografias MEV do polímero PLA e da blenda PLA-PEG obtidas por meio da fiação por sopro em solução. (a) PLA; (b) 99:1; (c) 95:5; (d) 90:10 e (e) 80:20 (v/v). Inset: dispersão dos diâmetros das fibras.

Pode-se observar, por meio da Figura 1, que a maior distribuição na porcentagem do tamanho das fibras, tanto para as obtidas com PLA puro como para as obtidas das blendas com diferentes concentrações de PEG, encontra-se entre 600 e 1200 nm. Na blenda PLA-PEG 99:1, devido a baixa concentração do PEG, a distribuição de tamanho das fibras foi similar ao PLA puro, sendo observado um aumento significativo na porcentagem de diâmetros das fibras a região entre 400 e 600 nm. Na blenda

PLA-PEG 95:5 foi possível observar um aumento na distribuição da porcentagem e do diâmetro das fibras, obtendo-se fibras com até 3,5  $\mu\text{m}$  com o aumento da concentração do PEG na blenda. Para as amostras com concentrações de PEG superiores, PLA-PEG 90:10 e 80:20, um comportamento inverso foi observado, ou seja, ocorreu uma diminuição do diâmetro médio das fibras. Para a amostra PLA-PEG 90:10 verificou-se uma distribuição mais homogênea nos diâmetros das fibras, podendo estar relacionada a viscosidade da solução, o que será investigado em estudos futuros.

### 3.2 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier



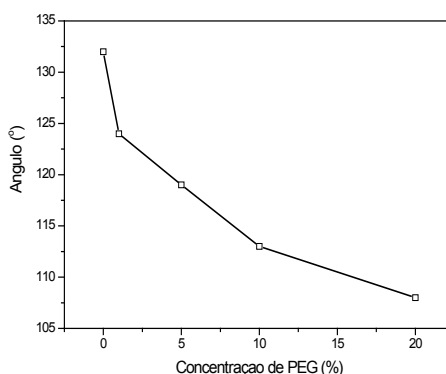
Os espectros de FTIR das fibras poliméricas de PLA e das blends PLA-PEG estão apresentados na Figura 2.

**Figura 2.** Espectros de Infravermelho para as nanofibras de PLA e suas blends com PEG.

Nos espectros a banda mais intensa observada se encontra em  $1755\text{ cm}^{-1}$ , este comprimento de onda está associado ao estiramento C=O do grupo éster presente na cadeia do poli(ácido lático). A deformação angular assimétrica dos grupos  $\text{CH}_3$  aparece em  $1450\text{ cm}^{-1}$ . Já as vibrações correspondentes as deformações axiais simétrica e assimétrica são observadas nos comprimentos de onda de  $2940$  e  $2997\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente. Assim como em outros polímeros (PEG) a região de  $1250\text{-}1440\text{ cm}^{-1}$  é caracterizada por três grupos de bandas ( $1380$ ,  $1360$  e  $1300\text{ cm}^{-1}$ ). Este conjunto de bandas está associado a deformações axiais simétricas do  $\text{CH}_3$  ( $1380\text{ cm}^{-1}$ ) e as deformações angulares do grupamento CH ( $1300\text{ cm}^{-1}$ ). Os dupletos em  $1180$  e  $1200\text{ cm}^{-1}$  observados podem ser associados aos modos de deformação axial simétrica do grupo éster (C-O-C). A deformação axial assimétrica do grupo éster é atribuída a banda em  $1086\text{ cm}^{-1}$ . Duas bandas aparecem próximo a  $1129$  e  $1045\text{ cm}^{-1}$  as quais também podem ser observadas em oligômeros obtidos a partir do ácido lático e podem ser associadas a rotação do  $\text{CH}_3$  e ao estiramento C- $\text{CH}_3$ , respectivamente. O pico em  $868\text{ cm}^{-1}$  observado no espectro pode ser associado ao estiramento C-COO.

### 3.3 Ângulo de contato

Para a determinação do caráter de molhabilidade das fibras poliméricas, o ângulo de contato da água deionizada sobre a superfície das mesmas foi verificado. A média dos ângulos de contato obtidos para cada amostra está mostrada na Figura 3.



**Figura 3.** Ângulo de Contato médio obtido para as nanofibras de PLA e suas blends com PEG.

Sabe-se que um menor ângulo de contato está relacionado diretamente com o aumento do diâmetro da gota, o que significa haver uma maior molhabilidade da superfície da fibra, resultado de uma característica mais hidrofílica da mesma. O valor médio do ângulo de contato das nanofibras de PLA puro foi 132°. Este valor indicou uma natureza hidrofóbica deste polímero, resultado este compatível aos encontrados na literatura (KIM *et. al.*, 2003). Valores menores de ângulo de contato são encontrados na literatura para as amostras de PLA na forma de filme (CHEN *et. al.*, 2009), o que indica que a morfologia na forma de fibras de PLA é a responsável pelo aumento do caráter hidrofóbico destas estruturas, o que está relacionado a um aumento da área superficial. Com o aumento da adição do PEG nas blendas foi observado uma redução no valor do ângulo de contato, ou seja, redução da hidrofobicidade, fato atribuído à presença deste polímero, de natureza hidrofílica, na superfície das fibras.

#### 4 CONCLUSÃO

Neste trabalho foram produzidas com êxito, por meio da adequação dos parâmetros como distância da agulha ao coletor, taxa de vazão da solução, velocidade de rotação do coletor e pressão do ar comprimido, micro e nanofibras de PLA e das blendas PLA-PEG produzidas a partir da técnica de fiação por sopro em solução (SBS). As membranas poliméricas foram caracterizadas, objetivando principalmente o conhecimento de suas propriedades físico-químicas, bem como os efeitos do processamento, neste caso a técnica SBS, sobre estas propriedades finais. A análise morfológica das membranas poliméricas, por meio da técnica de microscopia eletrônica de varredura, permitiu visualizar micro e nano fibras sem a presença de beads. O diâmetro das fibras, obtidos pelo software Image J, variou entre 200 a 3500 nm, sendo que a região que apresentou maior porcentagem de distribuição foi entre 600 a 1200 nm. Estudos de infravermelho evidenciaram que não houveram interações intermoleculares, as quais caracterizariam a miscibilidade da blenda de PLA-PEG. Com o aumento da adição do PEG nas blendas foi observado uma diminuição do grau de hidrofobicidade.

#### AGRADECIMENTOS

FAPESP (2013/03474-3), CNPQ, FINEP, EMBRAPA e UFSCar (PPGQ).

#### REFERÊNCIAS

- CHEN, H. C.; TSAI, C. H.; YANG, M. C. Mechanical properties and biocompatibility of electrospun polylactide/poly(vinylidene fluoride) mats. *Journal of Polymer Research*, v. 18, n. 3, p. 319-327, 2009.
- KELLOMÄKI, M.; TÖRMÄLÄ, P. Processing of resorbable poly-alpha-hydroxy acids for use as tissue-engineering scaffolds. *Methods in Molecular Biology*, v. 238, p. 1-10, 2004.
- KIM, K.; Control of degradation rate and hydrophilicity in electrospun non-woven poly(D,L-lactide) nanofiber scaffolds for biomedical applications. *Biomaterials*, v. 25, n. 27, p. 4977-4985, 2003.
- LIU, V. T.; BHATIA, S. N. Three-dimensional tissue fabrication. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 56, p. 1635-1647, 2004.
- LYSAGHT, M. J.; HAZLEHURST, A. L. Tissue engineering: the end of the beginning. *Tissue Engineering*, v. 10, n. 1-2, p. 309-320, 2004.
- SHIN, H.; JO, S.; MIKOS, A. G. Biomimetic materials for tissue engineering. *Biomaterials*, v. 24, n. 24, p. 4353-4364, 2003.
- WU, L.; DING, J. Biomaterials, Effects of porosity and pore size on in vitro degradation of three-dimensional porous poly(D,L-lactide-co-glycolide) scaffolds for tissue engineering. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, v. 75, n. 4, p. 767-777, 2005.

## SÍNTESE DE NANOESTRUTURAS ATIVAS CONTENDO ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO

\*Juliana R. Souza<sup>1,3</sup>, Márcia R. de Moura<sup>2</sup>, Daniel S. Corrêa<sup>3</sup>, Luiz H. C. Mattoso<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP. <sup>2</sup>Departamento de Física e Química, FEIS, UNESP, Ilha Solteira, SP. <sup>3</sup>LNNA, Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP.

\*juh\_reghine@hotmail.com

**Classificação:** Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio.

### Resumo

Óleos e extratos de plantas têm sido usados como uma alternativa interessante para produzir filmes para embalagens, devido à eficiência da atividade antibacteriana dos óleos essenciais. Além dos óleos, as nanopartículas poliméricas de poli ( $\epsilon$ -caprolactona), PCL, um polímero biodegradável e hidrofóbico, apresenta boa solubilidade em solventes orgânicos comuns e pode ser degradado enzimaticamente. Isso amplia sua aplicação em embalagens, uma vez que pode aumentar a hidrofobicidade de alguns materiais sem fazer com que esse material perca sua biodegradabilidade. Para a produção das nanocápsulas foi usado óleo essencial de orégano. O óleo de orégano (*Origanum vulgare*) tem como principal composto o carvacrol, que possui alta eficiência antibacteriana e antifúngica. O presente trabalho teve como objetivos: i) sintetizar e caracterizar nanocápsulas poliméricas de poli ( $\epsilon$ -caprolactona) (PCL) encapsuladas com óleo essencial de orégano, de diferentes tamanhos, e ii) sintetizar nanoesferas poliméricas contendo apenas PCL, para comparação das propriedades com as nanocápsulas. As nanocápsulas de PCL foram sintetizadas pelo método de nanoprecipitação. Para a caracterização dessas nanocápsulas foram realizadas análises de tamanho médio, potencial zeta e FT-IR. As NPs poliméricas apresentaram tamanhos menores que 200 nm em suspensão. O sucesso na formação das nanocápsulas faz com que esses materiais tenham aplicabilidade na área de embalagens para alimentos.

**Palavras-chave:** Nanocápsulas; Óleo essencial; Policaprolactona.

### SYNTHESIS OF ACTIVE NANOSTRUCTURES CONTAINING OREGANO ESSENTIAL OIL

#### Abstract

Oil and plant extracts have been used as an interesting alternative to produce packaging films, due to the very effective antibacterial activity of essential oils. Besides oil, polymeric nanoparticles of poly ( $\epsilon$ -caprolactone), PCL, a biodegradable and hydrophobic polymer, presents good solubility on common organic solvents and can be enzymatically degraded. Such properties enhance their application in packaging, once they can increase hydrophobicity of some materials without impairing the material biodegradability. The nanocapsules were synthesized by using oregano essential oil. The oregano (*Origanum vulgare* oil) is mainly composed by carvacrol, which presents high antibacterial and antifungal efficiency. This work aimed at: i) synthesize and characterize polymeric nanocapsules of poly ( $\epsilon$ -caprolactone), (PCL) encapsulated with oregano essential oil, of different sizes and ii) synthesize polymeric nanospheres containing just PCL, to compare the properties with the nanocapsules. Nanocapsules of PCL were synthesized by the nanoprecipitation method. To characterize the nanocapsules, techniques such as average size analyses, zeta potential and FT-IR have been employed. The polymeric NPs presented smaller sizes than 200 nm in suspension. The achievement in the nanocapsules synthesis qualifies these materials to be applied on food packaging area.

**Keywords:** Nanocapsule; Essential oil; Polycaprolactone.

**Publicações relacionadas:** Souza, J. R.; Moura, M. R. de; Mattoso, L. H. C. Nanocápsulas poliméricas contendo óleo essencial de orégano para aplicação em materiais ativos. 12º Congresso Brasileiro de Polímeros, 2013, Florianópolis.

## 1 INTRODUÇÃO

As nanopartículas poliméricas podem ser sintetizadas a partir de polímeros sintéticos como poliácridatos e policaprolactona (PCL) ou polímeros naturais como gelatina e quitosana. Estas partículas incluem as nanocápsulas (NC) e as nanoesferas (NE). Esses dois sistemas diferem entre si segundo a composição e organização estrutural. As NC são constituídas por um invólucro polimérico e um núcleo

oleoso já as NE são formadas por uma matriz polimérica e não apresentam óleo em sua composição (YURGEL et al., 2013). No nosso caso tanto as nanoesferas quanto as nanocápsulas foram obtidas pelo método de nanoprecipitação.

A poli ( $\epsilon$ -caprolactona), PCL, um poliéster alifático biodegradável, hidrofóbico, não tóxico e semicristalino, de baixa densidade. Apresenta boas propriedades mecânicas e grandes potenciais para uso como biomaterial. Sua biocompatibilidade permite aplicações nos campos biomédicos e farmacêutico (BARUD et al., 2013). O PCL apresenta boa solubilidade em solventes orgânicos comuns e pode ser degradado enzimaticamente. Isso amplia sua aplicação em embalagens, uma vez que pode aumentar a hidrofobicidade de alguns materiais sem fazer com que esse material perca sua biodegradabilidade (MOURA et al., 2012).

Os óleos essenciais são produtos voláteis presentes em vários órgãos vegetais e estão relacionados ao metabolismo secundário das plantas exercendo diversas funções importantes à sobrevivência vegetal, como por exemplo, na defesa contra microrganismos (RUSSO et al., 2013). Entre suas aplicações mais comuns é o uso em alimentos e na área da saúde. São formados por sua maioria de substâncias geralmente lipofílicas cujos compostos são geralmente hidrocarbonetos terpênicos (SANTURIO et al., 2007).

Para a produção das nanocápsulas foi usado óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*), uma planta aromática, e que tem como principal composto o carvacrol, um composto fenólico conhecido pelas suas propriedades antiviral, antifúngica, antibacteriana e antisséptica. O presente trabalho teve como objetivo sintetizar e caracterizar nanocápsulas poliméricas de poli ( $\epsilon$ -caprolactona) (PCL) encapsuladas com óleo essencial de orégano, de diferentes tamanhos. Além disto, também foi realizada a síntese de nanoesferas poliméricas contendo apenas PCL, para comparação com as propriedades das nanocápsulas.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

As nanocápsulas de PCL foram sintetizadas pelo método de nanoprecipitação, que consistiu na mistura de uma fase orgânica em outra aquosa. A fase orgânica constituiu-se do polímero PCL e acetona (solvente orgânico), sob agitação magnética. A fase aquosa foi composta pelo tensoativo polissorbato 80 (Tween® 80) e água deionizada (Mili-Q, Millipore). A suspensão foi mantida sob agitação durante 10 minutos e, em seguida, rotaevaporada com o auxílio de um evaporador rotativo. Para o encapsulamento do óleo essencial, foi feita uma segunda síntese com o mesmo método descrito acima. O óleo essencial de orégano foi inserido na fase orgânica junto com o polímero e acetona e então adicionado à fase aquosa com tensoativo. Com a adição de óleo, o material resultante foi uma nanocápsula. Sem a presença de óleo, seguindo a síntese descrita anteriormente, o material resultante foi a nanoesfera.

Para a caracterização das nanocápsulas foram realizadas análises de tamanho médio, potencial zeta e FT-IR. A distribuição do tamanho e a carga superficial das nanocápsulas foram medidas no equipamento NanoZS (Malvern Instruments Inc. USA). As medidas foram realizadas em triplicata na temperatura de 25 °C.

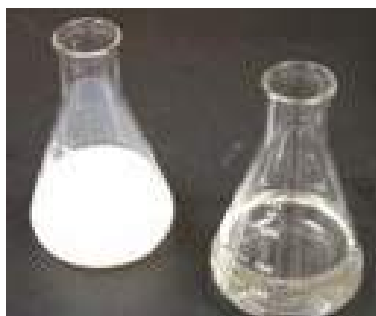
As propriedades espectroscópicas das diferentes amostras foram avaliadas por meio de espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR). O equipamento utilizado foi o espectrômetro Perkin Elmer Spectrum, modelo Paragon 1000.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nanoesferas e nanocápsulas de diferentes propriedades foram sintetizadas com diferentes tamanhos e carga superficial. Para a análise nesse trabalho comparou-se as características de uma nanoesfera (NEs) e uma nanocápsula (NCa).

Em se tratando de características visuais as duas apresentaram opalescência característica de suspensões nanométricas (Fig. 1).





**Figura 1.** Fotografia Digital das suspensões: (Esquerda) Suspensão de nanoesferas de PCL; (Direita) Somente água e polímero antes da síntese.

As suspensões (tanto de nanoesferas quanto de nanocápsulas) não apresentaram precipitados, ao serem deixadas em repouso por um período de um mês. Essa propriedade, em se tratando de futuras aplicações em embalagens, é de extrema importância.

Na Tabela 1 observam-se os valores de tamanho médio e potencial zeta para os materiais sintetizados.

**Tabela 1.** Tamanho médio e potencial zeta de NEs e NCa de PCL

NPs	Tamanho Médio (nm)	Potencial Zeta (mV)
NE	158,5 ± 8,1	- 20,6 ± 1,0
NC	184,9 ± 11,0	- 35,0 ± 1,5

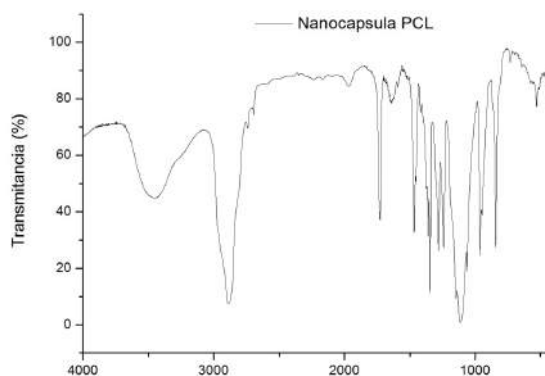
Observa-se na tabela acima que as NEs (que contêm somente o polímero) apresentam menor tamanho que as NC. Está de acordo, pois na síntese a termodinâmica dessa suspensão é mais favorável para formar partículas menores do que nas nanocápsulas (NC) que, além do polímero, possuem o óleo essencial. Apesar disso, ambos os materiais apresentam tamanho médio das partículas numa escala satisfatória para várias aplicações. Outra característica importante é que na maioria dos materiais poliméricos encontrados na forma de nanocápsulas os tamanhos médios se encontram em faixas maiores que 200 nm.

O potencial zeta reflete o potencial de superfície das partículas, o qual é influenciado pelas mudanças na interface com o meio dispersante, em razão da dissociação de grupos funcionais na superfície da partícula ou da adsorção de espécies iônicas presentes no meio aquoso de dispersão.

A maior parte dos materiais macroscópicos ou particulados em contato com um líquido adquire uma carga elétrica superficial, a qual pode ser gerada devido à dissociação de grupos ionogênicos presentes na superfície das partículas, ou devido à adsorção diferencial de íons da solução na superfície do colóide. Esta carga superficial influencia a distribuição dos íons próximos à superfície (SHAW, 1995).

O potencial zeta negativo encontrado na superfície das partículas é devido às características aniônicas das cadeias de PCL. Outro resultado obtido refere-se a grande estabilidade das soluções preparadas, uma vez que, por um período de um mês, as suspensões permaneceram estáveis, não apresentando formação de agregados. Essa estabilidade pode ser controlada pelo monitoramento das mudanças de tamanho e potencial zeta das nanoestruturas, cujos fatores não foram alterados no tempo de estocagem estabelecido.

Na Fig. 2 é apresentado o espectro de FTIR das nanocápsulas contendo óleo essencial. O espectro do PCL puro apresenta uma banda em 1726 cm<sup>-1</sup> que é atribuída ao estiramento de C=O e bandas em 2944 e 2865 cm<sup>-1</sup> que são atribuídas ao estiramento dos grupamentos C-H. Essas são as bandas características desse material. Uma banda larga situado em 3469 cm<sup>-1</sup> se refere ao estiramento O-H e ligações intermoleculares / intramoleculares de hidrogênio.



**Figura 2.** Espectro de FTIR das nanocápsulas de PCL contendo óleo essencial de orégano

Na Fig. 2 há uma banda que aparece em torno de  $1660\text{ cm}^{-1}$ , a qual se refere aos estiramentos de  $\text{-C=C-}$  encontrados na molécula do orégano. No espectro de FTIR das nanoesferas que contêm somente o polímero, não foi verificada a presença dessa banda.

#### 4 CONCLUSÃO

As NC e NE poliméricas foram sintetizadas com sucesso, e apresentaram tamanho menor que 200 nm, uma confirmação de partículas em escala nanométrica em suspensão. Os resultados indicam que as nanocápsulas de PCL contendo óleo essencial apresentam significativa estabilidade química, durante o período de um mês, não havendo indício de formação de precipitado. O sucesso na formação das nanocápsulas faz com que esses materiais tenham aplicabilidade em embalagens ativas.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq, FAPESP, FINEP, CAPES e Projeto MP1 Rede Agronano – Embrapa.

#### REFERÊNCIAS

1. BARUD, H. S.; RIBEIRO S. J. L.; CARONE C. L. P.; LIGABUE R.; EINLOFT S.; QUEIROZ P. V. S.; BORGES A. P. B.; JAHNO V. D. Optically Transparent Membrane Based on Bacterial Cellulose/ Polycaprolactone. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, São Paulo, vol. 23, núm. 1, 2013, p. 135-138.
2. MOURA, M. R. de; MATTOSO, L. H. C; ZUCOLOTTI, V. J. Development of cellulose-based bactericidal nanocomposites containing silver nanoparticles and their use as active food packaging. *Journal of Food Engineering*, v. 109, p. 520, 2012.
3. RUSSO, M.; SURACI, F.; POSTORINO S.; SERRA, D.; ROCCOTELLI, A.; AGOSTEO, G. E. Essential oil chemical composition and antifungal effects on *Sclerotium cepivorum* of *Thymus capitatus* wild populations from Calabria, southern Italy. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 23, n. 2, p. 239, 2013.
4. SANTURIO, J. M.; SANTURIO, D. F.; MORAES, P. P. C.; ALVES, P. R. F. S. H. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais sobre Microrganismos veiculados por alimentos. *Ciência Rural*, v. 37, p. 803, 2007.
5. SHAW, D. J. *Introdução a Química dos Colóides e de Superfícies*, 1ª Edição, Edgard Blucher Ltda, São Paulo, 1995.
6. YURGEL, V.; COLLARES, T.; SEIXAS. Developments in the use of nanocapsules in oncology. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v. 46, p. 486–50, 2013.

# EFEITO ENCAPSULANTE DA $\beta$ -CICLODEXTRINA EM NANOFIBRAS DE POLI(ÁCIDO LÁCTICO)(PLA) OBTIDAS POR FIAÇÃO POR SOPRO EM SOLUÇÃO (SBS)

Gláucia Silveira Brichi, Juliano Elvis de Oliveira, Luiz Henrique Capparelli Mattoso

<sup>1</sup>Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), <sup>2</sup>Universidade Federal da Paraíba (UFPB), <sup>3</sup>Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA).

\*glauciabrichi@gmail.com

**Classificação:** Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio.

## Resumo

Fiação por sopro em Solução é uma nova técnica que resultou da combinação de elementos dos processos mais convencionais, Eletrofiação e Fiação por Sopro (*Melt blowing*), a fim de se otimizar a produção de fibras. Este processo tem como principal vantagem o baixo custo, pois a produção das fibras ocorre pela passagem de uma corrente de ar pressurizada, onde as forças aerodinâmicas superam a gravitacional. Na literatura tem sido reportado o uso de nanofibras poliméricas para a formação de complexos de inclusão com a incorporação da ciclodextrina (CD). Esses complexos são formados porque a ciclodextrina possui propriedades hidrofílicas em sua região externa, devido aos grupos hidroxilas orientados para fora, em sua molécula. Na região interior, há propriedades hidrofóbicas, tornando possível a complexação de substâncias. Neste contexto o presente trabalho busca avaliar o efeito encapsulante de mentol, da ciclodextrina em nanofibras obtidas pelo método SBS

**Palavras-chave:** Fiação por sopro em solução, ciclodextrina, mentol, nanofibras

## ENCAPSULANT EFFECT OF $\beta$ -CYCLODEXTRIN IN POLY (LACTIC ACID) (PLA) NANOFIBERS OBTAINED BY SOLUTION BLOW SPINNING (SBS)

### Abstract

Solution Blow Spinning is a new technique which resulted from the combination of conventional constituents elements processes, electrospinning and melt blowing, in order to optimize the fiber production. This process has the major advantage low cost, because the production fiber occurs by pressured air current, where aerodynamic force overcomes the gravitational. In literature have been reported the uses of polymer nanofiber to form inclusion complexes with cyclodextrin (CD) incorporated. These complexes are formed because cyclodextrin has hydrophilic properties on external region due hydroxyl groups which are oriented to out of molecule. In inside region, there is a hydrophobic property that makes it possible substances complexation. In this sense, the present study aims to investigate the release characteristics of menthol encapsulated by inclusion complex with cyclodextrin into poly(lactic acid) fibers obtained by solution blow spinning.

**Keywords:** Solution blow spinning, cyclodextrin, menthol, nanofibers

## 1 INTRODUÇÃO

Atualmente, podemos destacar a eletrofiação como um dos métodos mais convencionais para obtenção de nanofibras. Neste método uma diferença de potencial gerada faz com que ocorra o estiramento da gota de uma solução polimérica, originando as fibras.<sup>1</sup> Este processo, embora convencional, possui como principal desvantagem o alto custo e o risco associado ao mesmo, uma vez a voltagem necessária é muito elevada. Outro modo de geração de fibras é a Fiação por sopro, do inglês *melt blowing*, onde a produção de fibras se dá pela passagem da corrente de ar quente que passa por uma gota de polímero fundido, fazendo com que haja o estiramento até o coletor.<sup>2</sup> Este processo tem como principal desvantagem o alto custo associado e a baixa quantidade de fibras formada. Com o intuito de otimizar a produção de fibras e custear o processo, a Fiação por Sopro em Solução, do inglês *solution blow spinning* (SBS), é uma técnica recentemente desenvolvida por Medeiros e colaboradores no USDA, Albany, CA, para obtenção de nanofibras a qual resultou da combinação de elementos dos métodos convencionais, sendo eles, eletrofiação e Fiação por Sopro (*melt blowing*).<sup>3</sup> No método SBS a formação de fibras se dá pelo estiramento da gota de uma solução polimérica, por uma corrente de ar pressurizado que vai da seringa ao coletor, produzindo as fibras. O processo tem como principal vantagem o baixo custo associado, uma

vez que as forças elétricas são substituídas pelas aerodinâmicas, não havendo mais necessidade de uma alta voltagem, além da alta produtividade que chega a ser 100 vezes mais rápida do que a eletrofição. Na literatura, tem sido reportado o uso de nanofibras poliméricas para formar complexos de inclusão com ciclodextrina (CD) incorporada. Esses complexos são formados porque a ciclodextrina possui na região externa da sua molécula propriedades hidrofílicas, devido aos grupos hidroxilas orientados para fora, porém, em seu interior há propriedades hidrofóbicas, o que torna possível o encapsulamento de substâncias que tenham polaridade e conformação estérica semelhante.<sup>4</sup> Neste contexto o presente trabalho busca avaliar o efeito encapsulante de aromas, da ciclodextrina em nanofibras obtidas pelo método SBS, por meio de análises de termogravimetria (Tg). Busca-se também efetuar a avaliação das propriedades morfológicas das fibras com os complexos de inclusão, por meio de imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). O mentol será o aroma a ser encapsulado, pois, há um grande interesse comercial nele associado, referente às indústrias de alimentos e farmacêuticas.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Todas as soluções foram feitas utilizando o Hexafluoroisopropanol (HFIP) como solvente. Após seu preparo, as nanofibras foram produzidas pelo método SBS. As condições de cada amostra foram: Amostra 1- PLA(6%)+20%Mentol (m/m) e Amostra 2- PLA(6%)+20%Mentol (m/m) + 24%  $\beta$ -CD (m/m).

As condições do processo foram: Pressão de 60 Psi; Taxa de ejeção: 7,2mL/h; Distância da seringa ao coletor: 12cm e Rotação do coletor: 200rpm. Para que fosse averiguado o efeito encapsulante da ciclodextrina, foi realizado um ensaio comparativo, de Termogravimetria (Tg) entre as fibras que continham e não continham ciclodextrina incorporadas. A análise morfológica foi realizada coletando uma região de cada amostra e por meio de imagens de Microscopia eletrônica de Varredura, analisar se a presença do encapsulante e do aroma, afetaram o diâmetro médio das fibras formadas. Os diâmetros foram medidos com o uso do software *Image J*.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Analisando o gráfico seguinte, temos uma curva de decaimento percentual da massa das amostras a uma temperatura constante (45°C). Pode-se observar que a presença da  $\beta$ -ciclodextrina reduz a liberação do mentol, quando comparamos com a que contém apenas o aroma (Figura 1). Isso pode ser explicado, por uma possível interação dos grupos hidroxilas do mentol com os grupos hidroxilas da ciclodextrina o que não se observa com o poli(ácido lático) e o mentol.

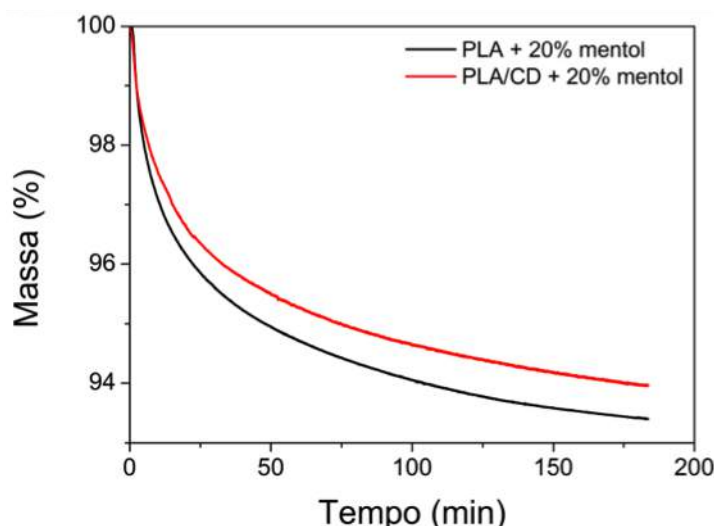
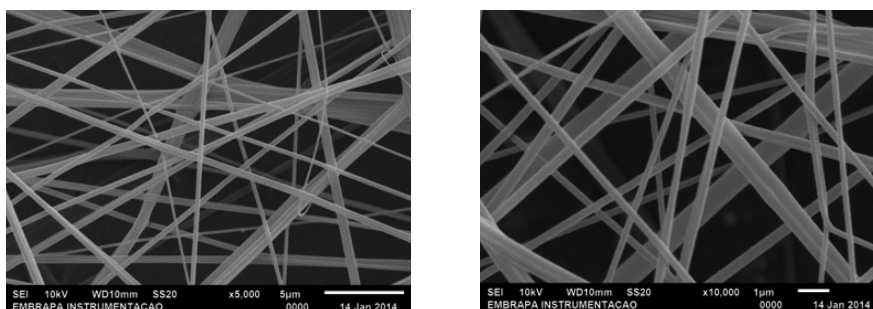


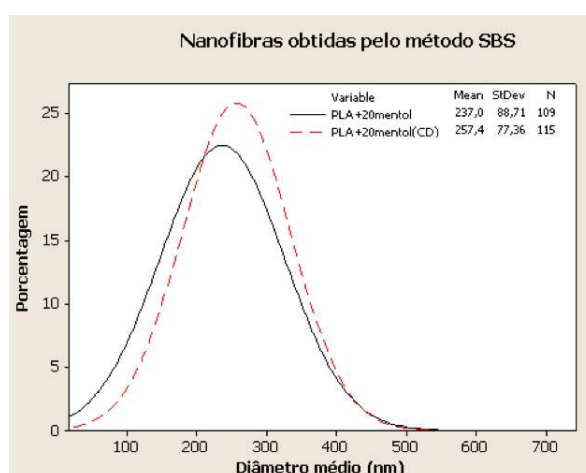
Figura 1. Decaimento percentual da massa das amostras em relação ao tempo

Analisando a morfologia das fibras obtidas podemos afirmar que as mantas com ciclodextrina possuem um aspecto homogêneo e sem a formação de *beads*, como pode ser observado nas imagens abaixo. (Figura2)



**Figura 2.** Imagens de MEV de nanofibras de PLA com 20% de mentol (esquerda) e nanofibras de PLA com 20% mentol e  $\beta$ -ciclodextrina incorporada.

Com a inclusão da ciclodextrina nas fibras e devido ao seu aspecto encapsulante de substâncias é esperado que ocorra um aumento no diâmetro médio das mesmas, em relação as fibras que não possuem. O gráfico abaixo (Figura 3) confirma que houve um aumento no diâmetro médio da fibra, mantendo a mesma faixa de desvio



**Figura 3.** Diâmetro médio das fibras que contém e não contém ciclodextrina

## 4 CONCLUSÃO

Podemos concluir que é possível a obtenção de fibras incorporando a ciclodextrina pelo método de Fiação por Sopros em Solução. Foi verificado também seu potencial de controle sob a liberação do mentol, devido a sua dupla polaridade molecular. A presença da ciclodextrina faz com que aumente o diâmetro médio da fibra gerada.

## AGRADECIMENTOS

CAPES, EMBRAPA

## REFERÊNCIAS

DOSHI,J.;RENEKER,D.H. Electrospinning process and applications of electrospun fibers. Journal of Electrostatics. V.35, n.2, p. 151-160, 1995.

BRESEE, R.R.; QURESHI, U.A. Influence Of Process Conditions On Melt Blown Web Structure Part IV. Fiber Diameter Journal of Engineered Fibers and Fabrics. V.1, n.1, p. 32-46,2006.

MEDEIROS, E.S.; GLEN, G.M.; KLAMCZYNSK, A.P.; ORTZ, W.J.; MATTOSO,L.H.C. Solution Blow Spinning: A New Method to Produce Micro- and Nanofibers from Polymer Solutions. Journal of Applied Polymer Science. V. 113, n.4, p. 2322-2330, 2009.

UYAR.T., HACALOGLU. J., BESENBACHER.F. Electrospun polystyrene fibers containing high temperature stable volatile fragrance/flavor facilitated by cyclodextrin inclusion complexes. *Reactive & Functional Polymers*. V. 69, p.145-150, 2009.

## CARACTERIZAÇÃO HIDROFÍLICA E CINÉTICA DE NANOCOMPÓSITOS ESTRUTURADOS

Adriel Bortolin<sup>1</sup>, Fauze Ahmad Aouada<sup>2</sup>, \*André R. T. Serafim<sup>1</sup>, Caue Ribeiro<sup>1</sup>, Luiz Henrique Capparelli Mattoso<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos/SP. <sup>2</sup>Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, UNESP, Departamento de Física e Química, Ilha Solteira, SP.

\*sera.adr@gmail.com

**Classificação:** Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio.

### Resumo

Este trabalho teve como objetivo sintetizar um novo hidrogel constituído por poli(acrilamida) (PAAm), metilcelulose (MC) e montmorilonita cálcica (MMt) e caracterizá-lo por suas propriedades hidrofílicas, e cinéticas utilizando como meio de intumescimento água e solução de nutriente. Os resultados mostraram que o material hidrolisado apresentou alto grau de intumescimento, cerca de até 5 vezes maiores que os encontrados comercialmente e que a presença da MMt faz com que o nanocompósito absorva água e nutriente mais rapidamente. Porém o aumento da concentração de MMt provoca uma menor absorção de água tanto para os hidrolisados ou não hidrolisados. Quando esse parâmetro é avaliado para a solução de nutriente, observa-se que para os nanocompósitos hidrolisados houve uma inversão dessa tendência, ou seja, o nanocompósito com maior quantidade de argilomineral passa a sorver uma maior quantidade de solução nutritiva. Portanto, o nanocompósito hidrolisado contendo altas cargas de MMt consegue carregar mais nutriente em sua estrutura, isso é um importante fator para uma futura liberação controlada no solo.

**Palavras-chave:** (Hidrogel; Biodegradável; Acrilamida; Metilcelulose; Hidrólise).

### HYDROPHILIC AND KINETIC CHARACTERIZATION OF STRUCTURED NANOCOMPOSITES

#### Abstract

This work aimed to synthesize a novel nanocomposite composed of polyacrylamide (PAAm), methylcellulose (MC) and calcium montmorillonite (MMT) and characterized it by their hydrophilic properties and kinetics of swelling in water and nutrient solution. The results showed that the hydrolyzed material exhibited a high swelling degree, 5 times greater than that found commercially; and the presence of MMT improved the rate of nutrient absorption. However, the increment of MMT concentration causes a lower water absorption for both the hydrolyzed or unhydrolyzed nanocomposites. When Q values were evaluated for the nutrient solution, it was observed that the nanocomposite hydrolyzed to an inversion in this tendency, for example, the nanocomposite with higher amounts of MMT becomes absorb a greater quantity of nutrient solution. Therefore, the hydrolyzate nanocomposite with high amounts of MMT can load more nutrient in their structure, an important factor for a future application in soil.

**Publicações relacionadas:** BORTOLIN, A.; AOUADA, F. A.; RIBEIRO, C. LONGO, E.; MATTOSO, L. H. C. "Nanocomposite PAAm:Methyl Cellulose:Montmorillonite Hydrogel: Evidence of Synergistic Effects for the Controlled Release of Fertilizers". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61: 7431, 2013.

## 1 INTRODUÇÃO

A disponibilidade de água e nutrientes no solo é um fator importantíssimo para o crescimento, aumento de produtividade e qualidade de plantas e cultivares, porém a maior parte desses elementos são perdidos por lixiviação, volatilização, entre outros (WU & LIU). Ainda, o risco de aplicações mal pla-

nejas de fertilizantes tornarem-se em fonte de problemas ambientais é bem conhecido: o excesso de fontes de nitrogênio em água, por exemplo, pode levar à eutrofização de cursos d'água, causando outros impactos não esperados (DE VRIES et al.). Portanto, uma parte reduzida desses elementos é de fato aproveitada pelas plantas, sendo necessário assim associar tecnologias que permitam reter determinados nutrientes quando aplicados, liberando-os em períodos críticos como os de baixa precipitação ou de alta insolação – como, por exemplo, materiais capazes de carregar grandes quantidades de nutrientes em sua estrutura. Assim, neste trabalho, realizou-se a síntese de um novo hidrogel nanocompósito, constituído por poli(acrilamida) (PAAm), utilizando-se o polissacarídeo biodegradável metilcelulose (MC) e o argilomineral montmorilonita cálcica (MMt) como modificantes. Tais materiais foram caracterizados por suas propriedades hidrofílicas e cinéticas de intumescimento utilizando em água e solução nutritiva como meio.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Os hidrogéis constituídos por poli(acrilamida) (PAAm) e o polissacarídeo biodegradável metilcelulose (MC) foram obtidos por meio de polimerização química do monômero acrilamida (AAm) em solução aquosa contendo MC e montmorilonita cálcica (MMt),  $\text{Ca}_{0,6}(\text{Al,Mg})_2\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ . Foram sintetizados hidrogéis na porcentagem de (1:1), (2:1), (3:1), (4:1) e (1:0) % (m(hidrogel [AAm + MC]) / m[MMt]). Manteve-se a concentração de agente de reticulação N'-N metileno-bisacrilamida constante em relação à AAm. A reação de polimerização / reticulação foi catalisada por N,N,N',N'-tetrametil-etilendiamina (TEMED), e iniciada por persulfato de sódio ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ). A solução resultante foi transferida para um molde em acrílico onde ficou em repouso por 24 horas para completa polimerização.

A hidrofílicidade dos hidrogéis foi investigada a partir de medidas de grau de intumescimento (Q) em diferentes meios. Os valores de Q podem ser calculados como a razão entre a massa do hidrogel intumescido, e a massa do hidrogel seco (GUO et al.). Os hidrogéis foram colocados diretamente em contato com água Milli-Q® e solução saturada de ureia. Os valores do grau de intumescimento foram monitorados em tempos pré-determinados, podendo-se assim acompanhar sua cinética de intumescimento. Para determinações de Q, os hidrogéis secos foram pesados em uma balança analítica e posteriormente colocados para intumescer em 100 mL de meio. A unidade adotada para Q neste trabalho é expressa por g/g (gramas de água por grama de hidrogel).

O processo de hidrólise dos nanocompósitos foi empregado de acordo com o procedimento descrito por BORTOLIN et al.

Os parâmetros da cinética de intumescimento foram obtidos por meio de medidas cinéticas de Q para os diferentes hidrogéis sintetizados. Para cada curva, o expoente difusional ( $n$ ) e constante de difusão ( $k$ ) foram calculados utilizando a equação de (RITGER & PEPPAS). O parâmetro  $k$  é a constante de difusão e depende do tipo do hidrogel e do meio de intumescimento,  $n$  é o expoente difusional, que fornece informação sobre o tipo de mecanismo de transporte que impulsiona a sorção.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Grau de intumescimento Q

**Tabela 1.** Grau de intumescimento no equilíbrio antes e depois do processo de hidrólise.

Hidrogel	Qeq sem hidrólise	Qeq Hidrolisado	*Qeq sem hidrólise	*Qeq Hidrolisado
(1:1)	45,8 ± 1,7	2188,1 ± 53,4	32,1 ± 2,7	230,8 ± 32,7
(2:1)	60,7 ± 1,1	3241,4 ± 150,2	41,9 ± 0,1	**
(3:1)	62,3 ± 1,0	3382,5 ± 172,5	44,2 ± 0,2	135,7 ± 9,6
(4:1)	72,9 ± 0,5	3300,3 ± 128,0	47,1 ± 2,7	**
(1:0)	90,1 ± 1,7	5403,6 ± 378,9	66,9 ± 1,7	124,2 ± 10,8

\*Intumescimento em solução saturada de ureia

\*\* Não realizado nestas condições

**Tabela 2.** Valores de  $n$  e  $k$  para os hidrogéis sintetizados.

Hidrog.	Água Milli Q		Ureia	
	$k \times 10^2$ (h <sup>-1</sup> )	$n$	$k \times 10^2$ (h <sup>-1</sup> )	$n$
(1:1)	27 ± 4,2	0,63 ± 0,03	0,56 ± 0,041	0,66 ± 0,09
(3:1)	19 ± 1,7	0,64 ± 0,03	0,12 ± 0,035	0,63 ± 0,08
(1:0)	17 ± 1,3	0,49 ± 0,02	0,07 ± 0,041	0,62 ± 0,05

Tanto para os hidrogéis hidrolisados quanto para os não hidrolisados o grau de intumescimento se mostrou totalmente dependente da concentração do argilomineral. Quando se aumenta a concentração de montmorilonita cálcica na matriz polimérica do hidrogel, o grau de intumescimento reduz consideravelmente. Para o hidrogel sem tratamento de hidrólise, o valor do grau de intumescimento no equilíbrio (Qeq) reduziu de 90,1 ± 1,7 g/g no hidrogel sem argila para 45,8 ± 1,7 g/g no hidrogel (1:1). Para esses mesmos hidrogéis, a redução ainda mais acentuada após o tratamento de hidrólise. Os valores de Qeq reduziram de 5403,6 ± 378,9 g/g para 2188,1 ± 53,4 g/g para os hidrogéis hidrolisados (1:1) Hd. e (1:0) Hd., respectivamente. Isto pode estar relacionado ao aumento dos entrelaçamentos físicos entre as cadeias formadora do hidrogel e as placas constituintes da argila montmorilonita cálcica. Outro fator que também pode contribuir para os valores menores de intumescimento é o aumento da resistência mecânica do hidrogel, pois com as cadeias mais rígidas, se torna mais difícil a expansão das cadeias. Esses altos valores de intumescimento obtidos para os hidrogéis nanoestruturados, são em média 5 vezes maiores aos valores de Q para hidrogéis aplicáveis em sistemas agrícolas encontrados na literatura e mesmo na condição extrema, quando o material (1:1) é hidrolisado obtém-se valores cerca de 2 vezes maiores que os valores de Q comumente encontrados para os hidrogéis, que gira em torno de 1000. Note-se que este elevado valor de intumescimento obtido para todas as condições de amostras hidrolisadas também compromete a resistência mecânica dos mesmos, como notado anteriormente.

A TABELA 1 mostra o aumento do grau de intumescimento ocasionado pela hidrólise do hidrogel tanto em água quanto em solução saturada de ureia. O aumento considerável do Qeq após a hidrólise se deve em sua maior parte pela conversão total ou parcial dos grupamentos amida por carboxílico, conferindo assim, maior interação com água pelo hidrogel e também o grau de intumescimento no equilíbrio para os hidrogéis em solução saturada de ureia. Observa-se que o padrão de variação do grau de intumescimento segue, para os materiais hidrolisados, o mesmo padrão observado para os não hidrolisados. Porém, na condição de intumescimento na presença de ureia, observa-se uma redução de uma ordem de grandeza nos valores totais, que indica que a ureia compete pelos mesmos sítios de adsorção que a água. Ainda, o caráter bidentado da ureia pode implicar em aumento da intercalação de cadeias separadas, influenciando mais na queda de Qeq. Nesta condição, a presença do argilomineral mostrou tendência inversa à observada no intumescimento em água, aumentando o valor de Qeq de acordo com o aumento da massa de argila no nanocompósito. Este fator provavelmente deve-se ao efeito de separação de cadeias promovido pelo argilomineral, que interfere na adsorção da ureia evitando que a sua presença compacte a estrutura do hidrogel.

### 3.2 Parâmetros da cinética de intumescimento

Os parâmetros cinéticos dos materiais foram realizados apenas com os hidrogéis sem o tratamento de hidrólise. Para hidrogéis em formato cilíndrico, os valores de  $n$  entre 0,45 e 0,50 correspondem à difusão Fickiana, ou seja, o comportamento de difusão se dá apenas por equilíbrio da solução. Um valor de  $n$  aproximadamente 1,0 indica que a difusão do solvente para o interior do gel ocorre por relaxamento das cadeias que compõe a rede. Para 0,5 <  $n$  < 1,0 a difusão ocorre por transporte anômalo (ou não-Fickiana), ou seja, o processo de difusão sofre interferência do processo de relaxação das cadeias do hidrogel. A TABELA 2 mostra os valores obtidos para as constantes cinéticas  $n$  e  $k$  dos hidrogéis estudados. Para os hidrogéis contendo montmorilonita cálcica (1:1) e (3:1) intumescidos em água e os três tipos intumescidos em solução aquosa saturada de ureia, os valores de  $n$  se encontram entre 0,5 e 1,0, indicando que a difusão ocorre por transporte anômalo. Enquanto para o hidrogel sem a presença da argila, o valor de  $n$  foi próximo de 0,5, correspondendo a difusão Fickiana. Pelo parâmetro cinético  $k$ , nota-se que a presença de argila na matriz polimérica faz com o hidrogel absorva água mais rapidamente, cerca de 1,6 vezes mais rápido comparando-se o hidrogel (1:1) com o puro (1:0). Este aumento na velocidade de sorção é ainda mais evidente para as soluções contendo nutriente ureia, onde observa-se um aumento aproximadamente de 8,0 vezes, a velocidade com que o nanocompósito absorve água



ou solução nutritiva é um fator de extrema importância para aplicação no setor agrícola, visto que, em muitas regiões ocorrem rápidas precipitações, sendo necessário que o material consiga captar maior quantidade de insumos em curtos períodos, para que em épocas com poucas chuvas ou irrigações este material possa liberar aos poucos o que foi adsorvido.

#### 4 CONCLUSÃO

Os resultados mostraram que os nanocompósitos sintetizados, principalmente os hidrolisados se destacaram por serem até 50,0% mais baratos e pelos altos valores de grau de intumescimento Q e também pela maior capacidade de carregar uma solução nutritiva, fatores que o tornam bastante interessante para uma aplicação agrícola.

#### AGRADECIMENTOS

FAPESP, CAPES, CNPQ, FINEP, EMBRAPA INSTRUMENTAÇÃO, UFSCar.

#### REFERÊNCIAS

BORTOLIN, A.; AOUADA, F. A.; RIBEIRO, C. LONGO, E.; MATTOSO, L. H. C. “Nanocomposite PAAM:Methyl Cellulose:Montmorillonite Hydrogel: Evidence of Synergistic Effects for the Controlled Release of Fertilizers”. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61: 7431, 2013.

De Vriesa, J. W.; Groenesteina, C. M. & De Boerb, I.J.M. “Environmental consequences of processing manure to produce mineral fertilizer and bio-energy” *J. ENVIRON. MANAGE.* 102 : 173, 2012.

GUO, M.; LIU, M.; ZHAN, F. & WU, L. “Preparation and properties of a slow-release membrane-encapsulated urea fertilizer with superabsorbent and moisture preservation”. *Ind. Eng. Chem. Res.* 44 : 4206, 2005.

RITGER, P. L. & PEPPAS, N. A. “A simple equation for description of solute release II: Fickian and anomalous release from swellable devices”. *J. Controlled Release*, 5: 37, 1987.

WU, L. & LIU, M. “Preparation and properties of chitosan-coated NPK compound fertilizer with controlled-release and water-retention”. *Carbohydr. Polym.* 72: 240, 2008.

---

## OBTENÇÃO DE NANOCOMPÓSITOS DE CELULOSE BACTERIANA E HIDROXIAPATITA A PARTIR DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS

Eden Batista Duarte<sup>1</sup>, Maria Fátima Borges<sup>2</sup>, Men de Sá M. Souza Filho<sup>2</sup>, Fábila Andrade<sup>2</sup>, Judith P. A. Feitosa<sup>1</sup>, Celli Rodrigues Muniz<sup>2</sup>, Ana I S. Brígida<sup>3</sup>, João Paulo Saraiva Morais<sup>4</sup>, \*Morsyleide F. Rosa<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Ceará. <sup>2</sup>Embrapa Agroindústria Tropical. <sup>3</sup>Embrapa Agroindústria de Alimentos. <sup>4</sup>Embrapa Algodão.  
\*morsyleide.rosa@embrapa.br

**Classificação:** Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio.

#### Resumo

Questões ambientais têm suscitado o interesse por fontes renováveis e os resíduos agroindustriais tornaram-se uma importante matéria prima para a produção de novos materiais, de produtos químicos e de energia. Este estudo propõe o uso de resíduos agroindustriais (suco de caju e líquido de sisal) na obtenção de celulose bacteriana (CB) para posterior preparo de nanocompósitos com hidroxiapatita (HA). Verificou-se que as películas obtidas apresentaram estrutura e comportamento típicos de celulose bacteriana e os nanocompósitos obtidos, potencial aplicação para aplicação na área biomédica.

**Palavras-chave:** Celulose Bacteriana; Hidroxiapatita; Nanocompósitos.

## NANOCOMPOSITES OF BACTERIAL CELLULOSE AND HYDROXYAPATITE OBTAINED FROM AGROINDUSTRIAL WASTE

### Abstract

Environmental issues have supported the interest in renewable sources and agroindustrial residues became a significative resource for the production of new materials, chemicals and energy. This study proposes the use of agro-industrial residues (cashew juice and sisal liquid waste) to obtain bacterial cellulose (BC) for further elaboration of nanocomposites with hydroxyapatite (HA). The films obtained showed typical structure and behavior of bacterial cellulose and the nanocomposites, great potential for biomedical application.

**Keywords:** Bacterial Cellulose; Hydroxyapatite; Nanocomposites.

## 1 INTRODUÇÃO

A celulose bacteriana (CB) vem apresentando interesse crescente por apresentar propriedades peculiares que a diferem consideravelmente da celulose vegetal (GAMA, 2012; DUGAN et al., 2013). A CB é obtida sem lignina e hemicelulose, é extremamente hidrofílica e possui cristalinidade elevada. Essas propriedades e a sua estrutura tridimensional nanométrica permitem um amplo leque de aplicações incluindo a área biomédica (LINA et al., 2011; PETERSEN et al., 2011).

Estudos *in vitro* têm revelado que compósitos obtidos a partir de celulose bacteriana e hidroxiapatita (CB-HA) têm grande potencial para aplicação em engenharia de tecidos e regeneração óssea (ZIMMERMANN et al., 2011). Quando expostos a ambientes biológicos, promovem a adesão, a proliferação, o crescimento e a diferenciação celular. Por conta disso, a fabricação de compósitos baseados em apatitas e uma matriz celulósica para empregos em substituições ósseas, tem sido de grande interesse por parte dos pesquisadores (HUANG et al., 2014).

Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi desenvolver um bionanocompósito utilizando celulose bacteriana, produzida a partir de fontes alternativas (suco de caju e resíduo líquido de sisal), e hidroxiapatita.

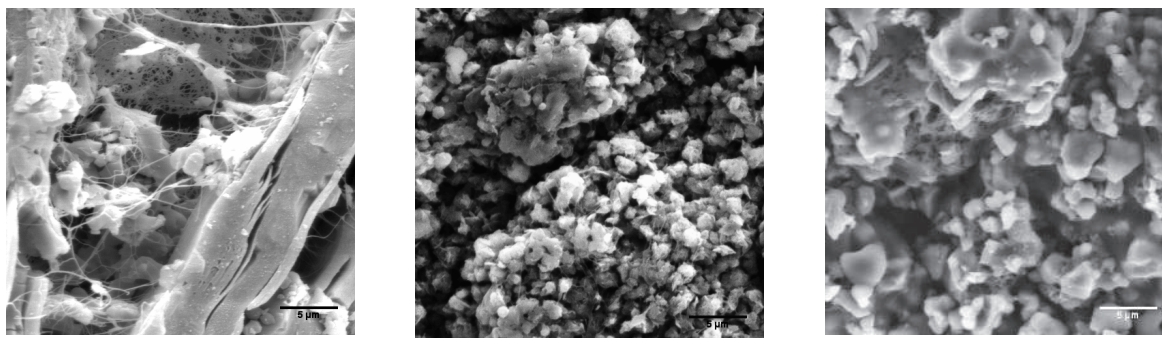
## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

O cultivo bacteriano se deu tanto em meio sintético HS (HESTRIN e SCHRAMM, 1954) quanto em meios alternativos (suco de caju e resíduo líquido de sisal). Primeiramente, realizou-se a inoculação de *G. hansenii* (CCT 1431) nos diferentes meios (3% de pré-inóculo, v/v). Após inoculação, os meios inoculados foram mantidos à temperatura de 30 °C por pelo menos 120 h, em cultivo estático. Para purificação da película realizou-se tratamento térmico com hidróxido de sódio 1 M a 80 °C por 30 min. Por fim, a CB foi neutralizada com ácido acético. Para preparo dos compósitos, as películas de CB hidratadas foram submetidas a cinco ciclos de imersão, de 24 h cada, em soluções de  $\text{CaCl}_2$  (11 g.L<sup>-1</sup>) e  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (8,52 g.L<sup>-1</sup>), após os quais os compósitos foram conduzidos à estufa. Uma vez secos, os materiais foram submetidos à caracterização. Os compósitos obtidos a partir de películas de HS, caju e sisal foram representados por HS-HA, Caju-HA e Sisal-HA, respectivamente.

A análise da microestrutura dos compósitos foi realizada em um microscópio eletrônico de varredura (MEV), modelo Zeiss DSM-940A, a 30 keV em um modo de imagens de elétrons secundários (SEI). Para a caracterização mecânica, foi utilizada uma Máquina Universal EMIC, com célula de carga de 500 N, velocidade do ensaio de 12,5 mm/min e a distância entre os apoios 10 cm. O teste de bioatividade foi realizado em fluido corporal simulado (SBF), segundo Kokubo e Takadama (2006).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 mostra imagens dos nanocompósitos BC-HA secos. Cristais de HA foram precipitados sobre as nanofibrilas de CB como aglomerados de cristalitos e poros distribuídos regularmente na superfície da membrana. Observaram-se cristais de HA típicos na forma globular e de haste, semelhantes aos também observados por outros autores (MOREJÓN-ALONSO et al, 2007; MOREJÓN-ALONSO et al, 2008). Através de medições realizadas a partir do programa ImageJ, obteve-se valor médio de espessura das fibras de 90 nm, comprovando-se o caráter nanométrico da celulose. Quanto à hidroxiapatita, embora essa apresente uma maior distribuição de tamanho de partículas, houve predominância na microescala (2 µm).



**Figura 1.** Micrografias dos compósitos CB-HA obtidos a partir de meio HS, suco de caju e resíduo líquido de sisal, respectivamente, com aumento de 3000 X

No que diz respeito aos compósitos, os parâmetros mecânicos, tensão na ruptura e deformação na ruptura mudaram em relação aos filmes de celulose bacteriana (Tabelas 1 e 2). A adição da apatita mudou a estrutura polimérica do filme dando-lhe menor resistência, porém maior alongamento. Em outras palavras, houve redução da resistência à tração e do módulo de Young do compósito CB-HA em relação à CB pura. Como contrapartida, o compósito apresentou aumento na ruptura ao alongamento, demonstrando incremento na elasticidade do material. A análise mecânica das películas de caju não apresentaram resultados satisfatórios.

**Tabela 1.** Dados de ensaio de tração para as películas de HS e sisal

Película	Espessura (µm)	Tensão Máxima (Mpa)	Tensão na Ruptura (Mpa)	Deformação na Ruptura (%)	Módulo de Elasticidade (Mpa)
HS	15,3 ± 3,0	23,3 ± 4,1	23,2 ± 3,9	0,6 ± 0,1	5339,3 ± 1004,3
Sisal	14,9 ± 3,0	20,2 ± 3,7	19,9 ± 3,6	0,8 ± 0,3	3836,6 ± 1742,0

**Tabela 2.** Dados de ensaio de tração para os compósitos HS-HA e Sisal-HA

Compósito	Espessura (µm)	Tensão Máxima (MPa)	Tensão na Ruptura (MPa)	Deformação na Ruptura (%)	Módulo de Elasticidade (MPa)
HS-HA	81,7 ± 0,0	6,7 ± 1,0	6,6 ± 0,8	4,0 ± 0,6	352,5 ± 3,2
Sisal-HA	82,1 ± 0,0	4,0 ± 0,7	4,0 ± 0,7	3,1 ± 1,4	415,4 ± 3,1

Os compósitos obtidos foram observados quanto à habilidade de induzir a nucleação de apatita, quando submetidos ao teste de bioatividade em fluido corpóreo simulado (SBF). A bioatividade de um material se refere à sua capacidade de desenvolver uma ligação estável com tecidos vivos via deposição de hidroxiapatita (CZARNECKA et al., 2008). O experimento foi realizado por 14 dias, período após o qual as amostras foram retiradas do SBF e postas para secar. Elas foram avaliadas segundo diferenças de massa tomadas antes e depois do experimento. A Tabela 3 apresenta as massas percentuais de hidroxiapatita ( $m\%$ ) depositadas sobre os compósitos mediante o teste de bioatividade.

**Tabela 3.** Massa percentual de hidroxiapatita depositada após teste de bioatividade

Compósito	$m\%$ HA (g)
CB-HA	17,7 ± 0,5
CB-Caju	23,0 ± 1,4
CB-Sisal	22,5 ± 5,9

A formação de uma camada de apatita sobre o compósito em um curto período de tempo (14 dias) está de acordo com a literatura. Segundo Chern Lin et al. (2001) e Hutchens (2006), a HA, originalmente formada sobre a celulose durante os ciclos de imersão, permite a deposição imediata da camada biomimética de apatita em sua superfície, o que favorece a ligação rápida com o osso quando implantada em um organismo vivo.

Para as películas puras, que foram utilizadas como controle, também ocorreu deposição, porém em menor extensão.

#### 4 CONCLUSÃO

As bioceluloses, obtidas a partir dos agro-resíduos, bem como seus compósitos derivados, não apresentaram diferenças significativas entre si. A hidroxiapatita foi depositada com certa regularidade, ocupando espaços entre as fibras dos biopolímeros e apresentou comportamento cristalográfico bem próximo à apatita natural ou biológica. De um modo geral, as películas mostraram-se adequadas para a elaboração de compósitos com potencial aplicação na área biomédica.

#### AGRADECIMENTOS

A Universidade Federal do Ceará, ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Materiais, à Funcap e à Embrapa.

#### REFERÊNCIAS

CHERN LIN, J. H.; KUO, K. H.; DING, S. J.; JU, C. P. Surface reaction of stoichiometric and calcium-efficient hydroxyapatite in simulated body fluid. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, Berlim, v. 12, n. 8, p. 731-741, 2001.

CZARNECKA, B.; COLEMAN, N. J.; SHAW, H.; NICHOLSON, J. W. *Dental Medical Problems*, v. 45, p. 5-11, 2008.

DUGAN, J. M.; GOUGH, J. E.; EICHHORN, S. J. Bacterial cellulose scaffolds and cellulose nanowhiskers for tissue engineering. *Nanomedicine*, Londres, v. 8, n. 2, p.287-298, 2013.

GAMA, M. *Bacterial Cellulose: A Sophisticated Multifunctional Material*. Vol. 9. CRC Press LLC, 2012.

HESTRIN, S.; SCHRAMM, M. Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum*. II. Preparation of freeze-dried cells capable of polymerizing glucose to cellulose. *Biochemical Journal*, Londres, v. 58, n.2, p. 345-352, 1954.

HUANG, Y.; ZHU, C.; YANG, J.; NIE, Y.; CHEN, C.; SUN, D. Recent advances in bacterial Cellulose. *Cellulose*, Berlim, v. 21, n. 1, p. 1-30, 2014.

HUTCHENS, S. A.; BENSON, R.S.; EVANS, B.R.; O'NEILL, H. M.; RAWN, C. J. Biomimetic synthesis of calcium-deficient hydroxyapatite in a natural hydrogel. *Biomaterials*, Amsterdam, v. 27, n. 26, p. 4661-4670, 2006.

KOKUBO, T.; TAKADAMA, H. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? *Biomaterials*, Amsterdam, v. 27, n. 15, p. 2907-2915, 2006.

FU, L.; ZHANG, Y.; ZHANG, J.; YANG, G. Bacterial Cellulose for Skin Repair Materials. In: FAZEL-REZAI, R. (Ed.) *Biomedical Engineering - Frontiers and Challenges*. Editora Intech, Rijeka, 2011. p. 249-274.

MOREJÓN-ALONSO L; CARRODEGUAS R. G.; GARCÍA-MENOCAL J. A. D. Transformations in CDHA/OCP/ $\beta$ -TCP scaffold during ageing in simulated body fluid at 36.5°C. *Journal of Biomedical Materials Research—part B*, Nova York, v. 84B, n. 2, p. 386-393, 2008.

MOREJÓN-ALONSO, L.; CARRODEGUAS, R. G.; GARCÍA-MENOCAL, J. A. D.; PÉREZ, J. A. A.; MANENT, S. M. Effect of sterilization on the properties of CDHA-OCP- $\beta$ -TCP biomaterial. *Materials Research*, São Carlos, v. 10, n. 1, p.15–20, 2007.

PETERSEN, N., GATENHOLM, P. Bacterial cellulose-based materials and medical devices: Current state and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*, Berlin, v. 91, n. 5, p. 1277-1286, 2011.

ZIMMERMANN, K. A.; LEBLANC, J. M.; SHEETS, K. T.; FOX, R. W.; GATENHOLM, P. Biomimetic design of a bacterial cellulose/hydroxyapatite nanocomposite for bone healing applications. *Materials Science and Engineering C*, Amsterdam, v. 31, n. 1, p.43-49, 2011.

---

## PAINÉIS PRODUZIDOS A PARTIR DA CASCA DO COCO VERDE SEM ADIÇÃO DE RESINAS SINTÉTICAS

Celso P. Araújo Junior <sup>1</sup>, Carlos A. Cáceres<sup>2</sup>, Adriano L. A. Mattos<sup>3</sup>, Men de Sá M. Souza Filho<sup>3</sup>, Judith P. A. Feitosa<sup>4</sup>, Celli R. Muniz<sup>3</sup>, \*Morsyleide F. Rosa<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Ceará. <sup>2</sup>Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira. <sup>3</sup>Embrapa Agroindústria Tropical. <sup>4</sup>Universidade Federal do Ceará.  
\*morsyleide.rosa@embrapa.br

**Classificação:** Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio.

### Resumo

Painéis lignocelulósicos substituem a madeira em diversas aplicações. Comumente, esse painéis necessitam da adição de resinas sintéticas para promover a aglutinação e assegurar determinadas características ao produto final. Entretanto, essas resinas podem apresentar liberação de substâncias tóxicas ao longo do tempo. O objetivo desse trabalho foi caracterizar os painéis produzidos a partir da casca do coco verde sem adição de resinas sintéticas e analisar a influência da temperatura de pressão sobre as propriedades finais dos painéis. Foi possível obter painéis com boa estabilidade dimensional, sem a necessidade de aglutinantes externos.

**Palavras-chave:** Coco verde; Resíduos; Painéis sem aglutinantes; Lignina

### PANELS MADE FROM COCONUT HUSK WITHOUT ADDITION OF SYNTHETIC RESINS

#### Abstract

Lignocellulosic panels replace wood in many applications. Usually, these panels need the addition of synthetic resins to promote bonding and to ensure certain features to the product. However, these resins may liberate toxic substances throughout the material lifetime. The aim of this study was to characterize the panels produced from coconut husk without adding synthetic resins and to analyze the influence of pressing temperature on the final properties of the panels. The production of panels with good dimensional stability was achieved, without the addition of external binders.

**Keywords:** Unripe coconut; Waste; Binderless boards.; Lignin

## 1 INTRODUÇÃO

A produção nacional média de coco verde corresponde a aproximadamente 2 milhões de toneladas por ano (IBGE, 2013), o que está diretamente relacionado com o grande volume de resíduos gerados. Entretanto, o resíduo do coco verde pode atuar como uma fonte alternativa de matéria-prima para produção de painéis que tradicionalmente são produzidos a partir da madeira. Isso porque a casca do coco é um material rico em lignina e celulose, dentre outros constituintes, que, sob condições adequadas, é capaz de servir como ligante natural, dispensando o uso de resinas sintéticas (VAN DAM *et al.*, 2004) na aglutinação de painéis tradicionais que, além de encarecer o produto final, são carcinogênicas (HASHIM,2012; IARC, 2014).

A partir desses painéis, é possível fabricar móveis, divisórias, pisos e revestimentos sem a necessidade de efetuar o corte de espécies florestais. O objetivo desse trabalho foi produzir e caracterizar painéis elaborados com casca de coco verde sem adição de resinas sintéticas.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

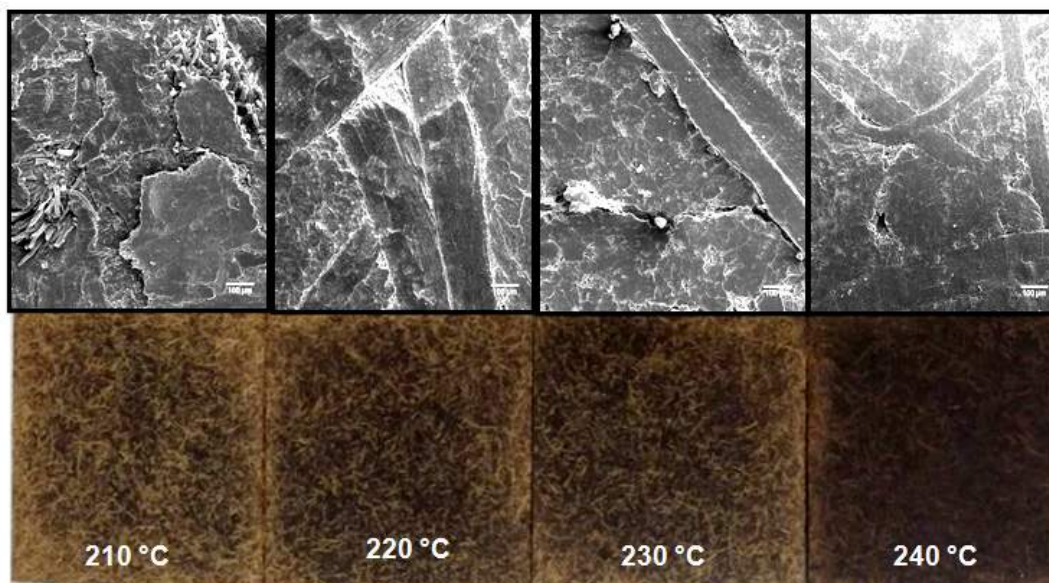
Os painéis foram obtidos a partir da mistura do pó e da fibra de casca de coco verde, prensada a quente, em uma prensa hidráulica. Todos os painéis foram manufaturados com umidade relativa de 8 %, pressão de 320 kgf/cm<sup>2</sup>, tempo de 4 minutos e proporção pó/fibra 70:30, respectivamente.

Para as análises de inchamento de espessura e absorção de água foi aplicada a norma da ABNT NBR 14810-3:2006. A análise da microestrutura dos painéis foi realizada em um microscópio eletrônico de varredura (MEV), modelo Zeiss DSM-940A, a 30 keV em um modo de imagens de elétrons secundários (SEI). Para a caracterização mecânica, foi utilizada uma Máquina Universal EMIC para realização de ensaio de flexão, com célula de carga de 5 kN, a velocidade do ensaio utilizada foi 1 mm/min e a distância entre os apoios 80 mm. A densidade foi obtida pela razão massa/volume conforme a norma BS EN 322:1993 e o resultado expresso em kg/m<sup>3</sup>.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os painéis produzidos apresentaram superfícies lisas e uma coloração variando de marrom claro a marrom escuro (Figura 1), o que evidencia modificação dos constituintes químicos durante a prensagem a diferentes temperaturas.

Conforme a micrografia dos painéis prensados a 210 °C (Figura 1), observam-se superfícies bastante rugosas, inclusive com fibras destacando-se na superfície dos painéis. Nos painéis prensados a 220°C, a superfície é mais lisa. Nos prensados a 230°C, algumas fissuras transversais são visíveis e nos prensados a 240 °C, observam-se regiões de degradação superficial.



**Figura 1.** MEV e aspecto visual dos painéis produzidos a diferentes temperaturas

A Tabela 1 apresenta os resultados obtidos dos testes de absorção de água e espessura de inchamento dos painéis em diferentes condições de processo. Verifica-se que o aumento da temperatura de prensagem tende a reduzir os valores de inchamento em espessura e absorção de água dos painéis. Isso ocorre porque à medida que a degradação dos constituintes químicos avança, as hemiceluloses são eliminadas o que favorece a hidrofobicidade dos painéis (LAEMSAK; OKUMA, 2000).

Todos os painéis apresentaram valores de absorção de água inferiores aos obtidos com painéis comerciais, tipo “MDF”.

**Tabela 1.** Absorção e espessura de inchamento 2 e 24 horas

Amostra	Absorção de água (%)		Espessura de inchamento (%)	
	2 h	24 h	2 h	24 h
MDF	26	57	5	18
210	23	48	30	48
220	13	27	8	20
230	15	23	8	17
240	18	19	13	15

Os painéis prensados a maiores temperaturas apresentaram uma maior estabilidade dimensional. No entanto, o desempenho mecânico foi inferior em relação aos demais (Tabela 2).

**Tabela 2.** Desempenho mecânico dos painéis prensados a diferentes temperaturas. Módulo de elasticidade (MOE) e módulo de ruptura (MOR)

Amostra	MOE (MPa)	MOR (MPa)
MDF	3154 ± 137	41,0 ± 4,2
210	3410 ± 142	18,0 ± 1,4
220	2323 ± 440	16,6 ± 1,0
230	1934 ± 294	9,6 ± 2,0
240	2092 ± 158	12,0 ± 1,5

Observa-se na Tabela 3, que os painéis prensados a maiores temperaturas possuem a menor densidade. De acordo com Nonaka, Umemura e Kawai (2013) a redução dos valores de densidade dos painéis é resultado da degradação de parte dos constituintes.

Conforme relata Okuda e Sato (2004) os valores de inchamento em espessura e absorção de água para longos períodos de imersão aumentam com acréscimo da densidade. Todos os painéis possuem densidade maior que 800 kg/m<sup>3</sup>, logo são denominados HDF (*high density fiberboard*), de acordo com a classificação proposta por Halvarsson (2010).

**Tabela 3.** Densidade dos painéis produzidos em função da temperatura de prensagem

Temperatura de prensagem do painel (°C)	Densidade (kg/m <sup>3</sup> )
210	1372 ± 31
220	1297 ± 52
230	1294 ± 26
240	1245 ± 7

#### 4 CONCLUSÃO

Foi possível produzir painéis com boa estabilidade dimensional. Os painéis prensados a 210 °C, 4 min e 320 kgf/cm<sup>2</sup> apresentaram um valor de MOE superior aos do MDF comercial e uma absorção de água inferior. No entanto, os valores de MOR foram inferiores. Embora o aumento de temperatura favoreça a impermeabilização, observa-se um comprometimento do desempenho mecânico dos painéis prensados a elevadas temperaturas. Todos os painéis possuem densidade maior que 800 kg/m<sup>3</sup>, logo são denominados HDF.

## AGRADECIMENTOS

A Universidade Federal do Ceará, ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Materiais, ao CNPq e à Embrapa.

## REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 14810-3: 2006: Chapas de madeira aglomerada Parte 3: Métodos de ensaio: Métodos de ensaio. Rio de Janeiro, 2006.

British Standards Institution. BS EN 322:1993 Wood-based panels. Determination of moisture content. British Standards Institution, 1993.

Halvarsson, S. Manufacture of straw MDF and fibreboards. 92p. 2010. Doctoral dissertation. Department of Natural Sciences, Engineering and Mathematics, Mid Sweden University, Sweden, 2010.

HASHIM, R. et al. Properties of binderless particleboard panels manufactured from oil palm biomass, *BioResources*, Raleigh, v. 7, n. 1, p. 1352-1365, 2012.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, IBGE| downloads| estatísticas. Disponível em: <ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao\_Agricola/Levantamento\_Sistematico\_da\_Producao\_Agricola\_[mensal]/Fasciculo/2013/lspa\_201301.pdf>, Acesso em 15.03.2014.

International Agency for Research on Cancer, IARC monographs. Disponível em: [http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol88/05\\_03](http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol88/05_03), 2014.

LAEMSAK, N.; OKUMA, M.; Development of boards made from oil palm frond II: properties of binderless boards from steam-exploded fibers of oil palm frond. *Journal of Wood Science*, Berlin, v. 46, n. 4, p. 322-326, 2000.

MACEDO, J. S.; OTUBO, L.; FERREIRA, O. P. Biomorphic activated porous carbons with complex microstructures from lignocellulosic residues. *Microporous and Mesoporous Materials*, Amsterdam, v. 107, n. 3, p. 276-285, 2008.

Nonaka, S.; Umemura, K.; Kawai, S. Characterization of bagasse binderless particleboard manufactured in high-temperature range. *Journal of Wood Science*, Berlin, v.59, n.1, p. 50-56, 2013.

Okuda, N.; SATO, M. Manufacture and mechanical properties of binderless boards from kenaf core. *Journal of Wood Science*, Berlin, v.50, n.1, p.53-61, 2004.

VAN DAM, J. E. G.; OEVER, M. J. A.; TEUNISSEN, W.; KEIJSERS, E. R. P.; PERALTA, A. G. Process for production of high density/high performance binderless boards from whole coconut husk. Part 1: Lignin as intrinsic thermosetting binder resin. *Industrial Crops and Products*, Amsterdam, v. 19, n.3, p. 207-216, 2004.

Yang, H.; YAN, R.; CHEN, H.; LEE, D. H.; ZHENG, C. Characteristics of hemicellulose, cellulose and lignin pyrolysis. *Fuel*, Amsterdam, v. 86, n. 12, p. 1781-1788, 2007.

---

## RELAÇÃO IDEAL ENTRE Ti:N NO PROCESSO DE DOPAGEM DE TiO<sub>2</sub> COM N PARA MELHORIA DA ATIVIDADE FOTOCATALÍTICA

Gabriela Byzynski Soares<sup>1\*</sup>; Caue Ribeiro de Oliveira<sup>2</sup>, Elson Longo<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP. <sup>2</sup> Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP.

\*gabi.byzynski@gmail.com

**Classificação:** Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio.



## Resumo

O presente trabalho teve como objetivo sintetizar nanopartículas de  $\text{TiO}_2\text{:N}$  para determinação da relação ideal  $\text{Ti:N}$ , assim como o impacto do processo de dopagem  $\text{TiO}_2$  com N, na atividade fotocatalítica das nanopartículas. As partículas sintetizadas foram caracterizadas por DRX, apresentando como fase cristalina principal anatase, e através da técnica de DRS, os valores de *band gap* foram obtidos. Os resultados de DRX das amostras juntamente com o deslocamento do comprimento de onda de absorção máxima observado na DRS é um indicativo de que o nitrogênio foi incorporado na rede cristalina do  $\text{TiO}_2$ , e, notou-se que a energia de *band-gap* alterou significativamente entre as amostras. Na análise da atividade fotocatalítica, a porcentagem ideal de dopagem de N apresentou-se entre 1 e 3%, tanto sob iluminação UVC quanto sob iluminação visível, sendo influenciados pela área superficial e valor de *band gap* das nanopartículas.

**Palavras-chave:**  $\text{TiO}_2$ ;  $\text{TiO}_2\text{:N}$ ; Fotocatálise.

## IDEAL RELATION BETWEEN $\text{Ti:N}$ IN $\text{TiO}_2$ DOPING PROCESS WITH N TO IMPROVE PHOTOCATALYTIC ACTIVITY

### Abstract

The main goal of this paper is the synthesis of  $\text{TiO}_2\text{:N}$  nanoparticles with ideal relation determination between  $\text{Ti:N}$ , and also the doping process effect on photocatalytic activity results. The synthesized nanoparticles were characterized by DRX, showing anatase as principal crystalline phase, and by DRS technique, obtaining the band gap values of nanoparticles. The DRX results with the absorption maximum wavelength modification obtained by DRS are suggestions that N was incorporated in  $\text{TiO}_2$  lattice and, the band gap value significantly modified between the samples. In photocatalytic activity analysis, the ideal percentage of N doping presented between 1 and 3%, as in UVC as visible irradiation, being influenced by superficial area and band gap values of nanoparticles.

**Keywords:**  $\text{TiO}_2$ ;  $\text{TiO}_2\text{:N}$ , Photocatalysis.

## 1 INTRODUÇÃO

Nanopartículas finas de semicondutor  $\text{TiO}_2$  na fase anatase são fotocatalisadores ideais devido à sua estabilidade química, não-toxicidade e alta reatividade catalítica na eliminação de poluentes do ar e da água [1]. A efetividade do efeito fotocatalítico, assim como das características estruturais desse material, está ligada ao processo de síntese. Dependendo do tamanho e da forma da nanopartículas, características como cristalinidade, área superficial e até mesmo mudança da coordenação de átomos ligantes podem ocorrer, afetando assim a efetividade fotocatalítica. Entretanto, o  $\text{TiO}_2$  somente é ativado sob irradiação UV de comprimento de onda menor do 387 nm devido ao seu alto valor de *band gap* (3,2 eV). Para esse problema, a utilização de dopantes não-metálicos como N, C, S e Bi mostrou ser eficiente para promover a excitação do  $\text{TiO}_2$ , sob luz visível [2]. Porém, somente dopagens baixas de N foi mostrado apresentar atividade fotocatalítica maior na região do visível e, sendo um dos principais motivos para realização da dopagem, somente esses materiais são priorizados para a caracterização.

Assim, o objetivo central deste trabalho consiste na determinação da relação ideal  $\text{Ti:N}$ , assim como o impacto do processo de dopagem  $\text{TiO}_2$  com N, na atividade fotocatalítica das nanopartículas. Poucos trabalhos apresentam a porcentagem de N utilizado na dopagem de  $\text{TiO}_2$ , utilizando geralmente dopagens baixas [1,2,3]. Para atingir esse objetivo, foram, primeiramente, sintetizadas as nanopartículas pelos processos dos precursores poliméricos. Posteriormente, as mesmas foram caracterizadas por BET; difração de raio-X, para confirmação da síntese da fase cristalina anatase e espectroscopia de reflectância difusa, para determinação do valor de *band gap* das nanopartículas. Finalmente, a atividade fotocatalítica das nanopartículas foram analisadas por ensaios de fotodegradação do corante Rodamina-B com iluminação UV-vis e visível.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Síntese das nanopartículas de $\text{TiO}_2$ e dopagem do material com nitrogênio

As resinas de  $\text{Ti}^{4+}$  foram preparadas pelo método dos precursores poliméricos como descrito por Soares et al.[2]. Resumidamente, tetraisopropóxido de titânio (Aldrich) é dissolvido em solução aquosa de ácido cítrico (Merck) a 75 °C em uma razão molar de 1:3. Após a completa dissolução, etilenoglicol

é adicionado em uma razão molar de 60:40 em relação ao ácido cítrico para efetiva polimerização. A resina dopada com N foi obtida pelo método semelhante adicionando quantidades diferentes de uréia antes do tratamento térmico de 150 °C para promover a pirólise nas amostras em uma mufla convencional por 2 horas e 450 °C/ 2h para produzir nanopartículas cristalinas de TiO<sub>2</sub>. As amostras dopadas foram designadas pelas porcentagens molares inicialmente adicionadas: 1% de N = SAM 02, 3 % de N = SAM 03, 5 % de N = SAM 04, 7 % de N = SAM 05, 10 % de N = SAM 06. SAM 01 é referente a amostra inicial sem dopagem TiO<sub>2</sub>.

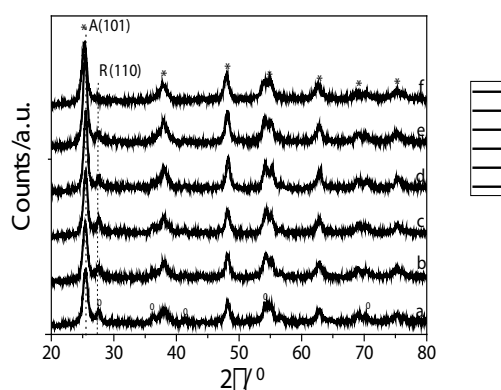
A caracterização das nanopartículas dopadas e não dopada sintetizadas foi feita em diversas análises. Para avaliar a estrutura cristalina e tamanho do cristalito foi utilizado dispersão de raios X (DRX). Os difratogramas foram obtidos com ânodo de Cu ( $\lambda_{Cu-K\alpha} = 0.154$  nm), no intervalo de  $2\theta = 25-75^\circ$  a  $2^\circ \text{ min}^{-1}$ . A área superficial das nanopartículas sintetizadas foi medida através da adsorção de nitrogênio pela equação de *Brunauer-Emmett-Teller* (BET). Com intuito de determinar a energia de *band gap* para as amostras, foram executadas medidas de refletância difusa no UV-Vis. A energia de *band gap* foi calculada através da equação de *Tauc*. Análise de fotoluminescência dos pós de TiO<sub>2</sub> e N:TiO<sub>2</sub> foram realizadas nas amostras sólidas utilizando um laser de excitação de kriptônio (350 nm).

A fotodegradação da Rodamina B foi analisada sob influência de radiação UVC e visível. Foi adicionado 2 mg de cada amostra em béqueres contendo 20 mL de uma solução aquosa de 2,5 mg L<sup>-1</sup> de Rodamina. Conduziu-se então a fotodegradação num reator a 18 °C, iluminado por seis lâmpadas emissoras de radiação UVC e submetendo as amostras a agitação magnética constante. A análise sob irradiação visível foi realizada separadamente, utilizando-se seis lâmpadas fluorescentes emissoras de radiação visível. A reação foi monitorada através de espectroscopia UV-Vis em diferentes tempos de exposição.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Difração de Raio-X (DRX)

Os difratogramas das nanopartículas de TiO<sub>2</sub> e TiO<sub>2</sub>:N são mostrados na Figura 1. Para todas as nanopartículas é possível observar a presença de fases anatase e rutilo, mesmo quando a porcentagem de N apresenta-se elevada. Porém, quando a mesma aumenta, a fase anatase torna-se predominante, ou seja, a presença de N causa o efeito de retenção da fase anatase pelo processo de dopagem [2]. Pode ser também confirmado que a presença do elemento dopante não altera a estrutura básica de anatase e rutilo e não foi identificado nenhuma presença de TiN nas amostras, confirmando a efetividade do processo de dopagem. O tamanho do cristalito das nanopartículas foram obtidas pelos picos de difração de raio-X utilizando a fórmula de *Scherrer* [4] em pelo menos três diferentes picos de cada amostra e são apresentados na Tabela 1, assim como a área superficial das nanopartículas estimada por fisiosorção de N<sub>2</sub> utilizando o método de BET. É possível observar que o tamanho do cristalito diminui com o aumento da dopagem devido a retenção da fase TiO<sub>2</sub> anatase, processo que pode afetar a redução da mobilidade nas fronteiras [2]. O comportamento da área superficial é semelhante ao comportamento do tamanho do cristalito, ou seja, conforme a porcentagem de N aumenta no processo de dopagem, ocorre a diminuição da área superficial.



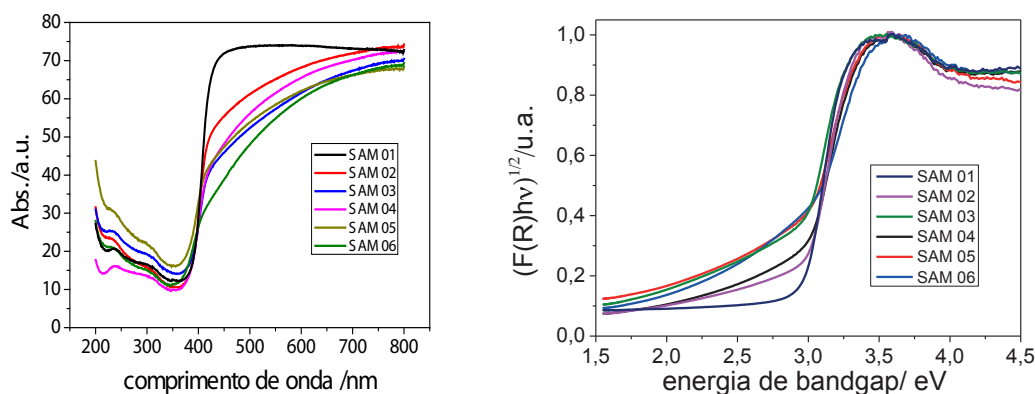
**Figura 1.** Difratogramas de raio-X com picos referentes a fase TiO<sub>2</sub> anatase (A, \*) e rutilo (R, °) entre 20 a 80 °, 0,02°/min. a) SAM 01, b) SAM 02, c) SAM 03, d) SAM 04, e) SAM 05, f) SAM 06.

**Tabela 1.** Tamanho do cristalito para as amostras de ZnO dopadas e não dopada

Amostras	Tamanho de cristalito (nm)	Area Superficial (m <sup>2</sup> /g)	Energia de <i>band gap</i> (eV)
SAM 01	11	44	2,94
SAM 02	11	46	2,93
SAM 03	10	30	2,86
SAM 04	10	28	2,89
SAM 05	10	39	2,82
SAM 06	9	34	2,82

### 3.2 Espectroscopia de Reflectância Difusa no UV-Vis

A Figura 2A apresenta os espectros de reflectância difusa UV-vis (DRS) das amostras sintetizadas. O comportamento de absorção é notoriamente diferente após o processo de dopagem conforme aumenta a porcentagem de N das amostras, ocorrendo maior interferência do N na absorção das amostras mais dopadas (SAM 03, 04 e 05). O valor de *band gap* para as amostras foi calculado a partir do modelo de *Tauc* assim como mostra a Figura 2B. O processo de dopagem altera o valor da energia de *band gap* das amostras de uma forma linear, exceto pela amostra SAM 03, como apresentado na Tabela 1. A amostra de TiO<sub>2</sub> (SAM 01) apresenta o maior valor de *band gap* (2,94 eV) entre as amostras e as amostras TiO<sub>2</sub>:N(7%) (SAM 05) e TiO<sub>2</sub>:N(10%) (SAM 06) apresentam o menor valor (2,82 eV).

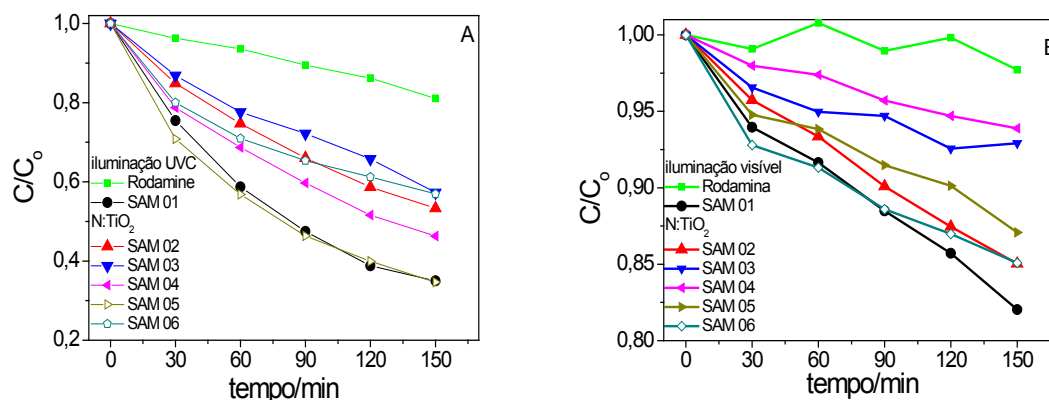


**Figura 2.** A) Espectros de reflectância difusa no UV-Vis. para as amostras de TiO<sub>2</sub> e TiO<sub>2</sub>:N sintetizadas. B) Modelo de *Tauc*.

### 3.3 Atividade fotocatalítica na região do UVC e Visível

Na avaliação da atividade fotocatalítica das nanopartículas, sob irradiação UVC assim como apresenta a Figura 3A, foi observado que, de maneira geral, todas as amostras apresentam atividade fotocatalítica elevada, até mesmo para as amostras dopadas, sendo que as amostras mais ativas, na região do UVC, são as amostras SAM 01 ( $k = 7,10 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$ ) e SAM 05 ( $k = 6,87 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$ ), degradando aproximadamente 70% da concentração inicial após 150 minutos. A atividade fotocatalítica o UVC pode ser relacionada com a área superficial, ou seja, geralmente nanopartículas com AS maiores apresentam melhor atividade fotocatalítica. Sob irradiação visível, a atividade fotocatalítica das amostras é menor quando comparada com a radiação UVC e as amostras dopadas não apresentaram uma atividade maior do que o TiO<sub>2</sub>. A cinética de degradação do corante foi avaliada como sendo de primeira ordem em relação a concentração do corante. A atividade fotocatalítica no visível está relacionada não somente com a AS das nanopartículas, mas também o valor do *band gap* das nanopartículas pode alterar a atividade fotocatalítica no visível. Surpreendentemente, as duas amostras com maiores valores de *band gap* (SAM 01 e SAM 02) apresentam maiores atividades fotocatalíticas no visível, contrariamente ao apresentado na literatura. Tanto na degradação com iluminação UVC tanto quanto sob iluminação visível, o proces-

so de dopagem em porcentagens relativamente maiores do que apresentados na literatura [1,2,3] inibem a atividade fotocatalítica das nanopartículas. Pode-se observar que a porcentagem ideal para uma melhor eficiência na degradação da Rodamina, tanto em iluminação UVC quanto em iluminação visível, varia entre 1 a 3% de N.



**Figura 3.** Perfil de fotodegradação da Rod-B Rod-B com as nanopartículas em diferentes tipos de radiação. A) UVC e B) Visível.

#### 4 CONCLUSÃO

Pode-se concluir que o método desenvolvido é adequado para a síntese de nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  dopadas com N em diferentes porcentagens Ti:N. Os da atividade fotocatalítica, tanto com iluminação UVC quanto visível, apresentam valores ideais de dopagem de  $\text{TiO}_2$  com N entre 1 e 3%. Valores maiores de N inibem a atividade fotocatalítica na região UVC e visível, podendo ser relacionada com a AS das nanopartículas e valores de *band gap*. Esse último, apresenta uma influência contrária ao apresentado na literatura na atividade fotocatalítica no visível, sendo necessário estudos mais aprofundados sobre mecanismos de degradação (em andamento) da Rodamina.

#### AGRADECIMENTOS

CNPq (Processo 500589/2013-5), Capes, Finep e Embrapa Instrumentação.

#### REFERÊNCIAS

- [1] LINSEBIGLER, A. L.; LU, G. Q.; YATES Jr, T. Photocatalysis on  $\text{TiO}_2$  Surfaces: Principles, Mechanisms, and Selected Results. *Chem. Rev.* 95, 735-758, 1995.
- [2] SOARES, G. B.; BRAVIN B.; VAZ, C.M.P.; RIBEIRO, C. Facile synthesis of N-doped  $\text{TiO}_2$  nanoparticle by a modified polymeric precursor method and its photocatalytic properties, *Applied Catalysis B.*, 106, 287-294, 2011.
- [3] DAWSON, M.; SOARES, G.B.; Ribeiro, C. Preparation and photocatalytical performance of  $\text{TiO}_2$ :- $\text{SiO}_2$  nanocomposites produced by the polymeric precursors method. *J. Nanosci. Nanotechn.*, 13, 5126-5133, 2013.
- [4] CULLITY, B.D., STOCK, S.R. Elements of X-Ray Diffraction, 3rd ed., Prentice Hall, Inc. New Jersey, 2001, 664p.

## FORMAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E ESTABILIDADE DAS NANOESTRUTURAS DE CONJUGADOS DE $\beta$ -LACTOGLOBULINA COM GOMA ARÁBICA

Fabíola Cristina de Oliveira<sup>1</sup>, Jane Sélia dos Reis Coimbra<sup>2</sup>, Rachel Campos Sabioni<sup>2</sup>, Eduardo Basílio de Oliveira<sup>2</sup>, \*Igor José Boggione Santos<sup>2</sup>, Mariana Helena Cardoso Costa<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de MG, Rio Pomba, MG. <sup>2</sup>Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, MG.  
\*igorboggione@yahoo.com.br

**Classificação:** Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio.

### Resumo

Nanopartículas biopoliméricas foram preparadas utilizando proteínas do soro,  $\beta$ -lactoglobulina, e goma arábica. Para o preparo das nanoestruturas foram utilizadas duas etapas de aquecimento. Inicialmente foi realizado um aquecimento a seco para o preparo de conjugados via Reação de Maillard. Posteriormente os conjugados foram dissolvidos em água e submetidos a um segundo aquecimento com pH e temperatura controlada para induzir a formação das nanoestruturas. Medidas de espalhamento dinâmico de luz (DLS), espalhamento estático de luz (SLS) e microscopia eletrônica de transmissão (MET) foram utilizadas na caracterização estrutural das nanopartículas. No geral, as nanoestruturas apresentaram um formato esférico ou levemente elipsoidal e raio hidrodinâmico variando de 30 a 150 nm, de acordo com o sistema e as condições utilizadas. As nanopartículas de  $\beta$ -lactoglobulina:goma arábica apresentaram boa estabilidade numa faixa de pH de 4 a 10. Estas características mostram a potencialidade de aplicação destas nanoestruturas, como por exemplo em sistemas de nanoencapsulação e liberação controlada.  
**Palavras-chave:** Glicosilação; Proteína do soro do leite; Polissacarídeo; Nanoestruturas.

### FORMATION, CHARACTERIZATION AND STABILITY OF NANOSTRUCTURES OF CONJUGATES B-LACTOGLOBULIN WITH GUM ARABIC

#### Abstract

Biopolymer nanoparticles were prepared using  $\beta$ -lactoglobulin and gum arabic. For the preparation of nanostructures two stages of heating were used. Initially a dry heating for preparing conjugates via Maillard reaction was performed. Subsequently conjugates were dissolved in water and subjected to a second heating with temperature and pH controlled to induce the formation of nanostructures. Dynamic light scattering (DLS), static light scattering (SLS), and transmission electron microscopy (TEM) were used in the structural characterization of nanoparticles. In general, the nanostructures had a spherical or slightly ellipsoidal shape and hydrodynamic radius ranging from 30 to 150 nm according to the system and the conditions used.  $\beta$ -lactoglobulin:gum arabic nanoparticles showed good stability in a pH range 4-10. These characteristics show the potential application of these nanostructures, such as in nanoencapsulation and controlled release systems.

**Keywords:** Glycosylation; Whey protein; Polysaccharides; Nanostructure.

#### Publicações relacionadas

DE OLIVEIRA, F. C. Propriedades técnico-funcionais e obtenção de nanoestruturas de proteínas do soro conjugadas com goma arábica via reação de Maillard. 2013. 177 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, UFV, Viçosa, 2013.

## 1 INTRODUÇÃO

A interação de proteínas com polissacarídeos e carboidratos menores através de reação de Maillard é um método eficaz para melhorar a estabilidade das proteínas, que não requer a utilização de catalisadores químicos (OLIVER et al. 2006). A importância da glicosilação de proteínas com polissacarídeos, via reação de Maillard, constitui um meio efetivo de melhorar as propriedades técnico-funcionais de proteínas e apresenta potencial para utilização em sistemas de liberação controlada. Estudos recentes estão sendo realizados com o objetivo de produzir nanoestruturas, a partir de conjugados proteína-po-

lissacarídeo, para serem utilizados em sistemas de liberação controlada (MARKMAN e LIVNEY et al., 2012; LI e YAO, 2009 LI et al., 2008; QI et al., 2010). De acordo com estes estudos, estas nanoestruturas são mais estáveis em relação às formados somente por proteínas.

Nanoestruturas formadas de proteína são candidatos ideais para o encapsulamento e liberação de compostos. Neste contexto, o presente estudo tem como objetivo a produção de nanoestruturas compostas por proteína do soro de leite,  $\beta$ -Lactoglobulina, conjugada com goma arábica, com vista a futuras aplicações na área de alimentos, tais como: alteração de propriedades funcionais e reológicas de alimentos, produção de embalagens ativas para alimentos ou na liberação controlada de compostos bioativos. Neste sentido pretende-se conjugar proteínas do soro com polissacarídeos, via reação de Maillard, para obter nanoestruturas à base de conjugados que podem apresentar uma maior estabilidade e melhor desempenho em relação às compostas por apenas proteínas.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Materiais

$\beta$ -lactoglobulina ( $\beta$ -lg; contendo 97,8% de proteína sendo 93,6%  $\beta$ -lg) foi doada pela Davisco Foods Internacional Inc. (Eden Prairie, MN, USA). Goma arábica (GA, com pureza superior a 85%) foi adquirida da Vetec Química Fina (RJ, Brasil). Os reagentes foram utilizadas sem nenhuma purificação adicional. Os demais reagentes químicos utilizados foram de grau analítico. Água deionizada (resistividade elétrica  $\approx 18 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$ ) foi obtida a partir do sistema de purificação Milli-Q (Millipore Co., MA, EUA) e utilizado em todos os experimentos.

### 2.2 Obtenção de nanoestruturas de proteínas a partir de conjugados proteína-GA

Conjugados  $\beta$ -lg:GA foram preparados via Reação de Maillard utilizando o método de aquecimento a seco (KATO, 2002). As nanoestruturas obtidas a partir de conjugados foram preparados segundo o proposto por LI et al. (2008), com algumas modificações. Os conjugados foram aquecidos a  $80 \text{ }^\circ\text{C}$  por 30 min em banho termostático (TE-184, Tecnal, Brasil) para a formação das nanoestruturas. Após aquecimento a solução foi imediatamente resfriada, em banho de gelo.

### 2.3 Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS) e Espalhamento estático de luz (SLS)

As medidas de espalhamento foram realizadas utilizando um detector de fotodiodo de avalanche Brookhaven modelo BI-APD e um correlacionador TURBOCORR também da Brookhaven. A fonte de luz foi um laser HeNe de 35 mW de potência e  $\lambda = 632,8 \text{ nm}$ , linearmente polarizada, da CVI Melles Griot. A intensidade das funções de autocorrelação foi analisada pelo método Cumulantes (quadrático). A temperatura foi mantida a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  e o ângulo de espalhamento foi fixado em  $90^\circ$ .

### 2.4 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

A amostra foi fixada por deposição de uma gota de solução sobre grades de cobre de 200 mesh revestidas com filmes finos de Formvare carbono (Koch Electron Microscopy, Brasil). As imagens foram feitas em um Microscópio Eletrônico de Transmissão (Zeiss, 43 modelo EM 109, Oberkochen, Alemanha) com voltagem de aceleração de 80 kV.

### 2.5 Estabilidade após a formação das nanoestruturas

A estabilidade das nanoestruturas formadas foi estudada com o tempo de armazenamento, sob refrigeração e após liofilização e reidratação. A variação do pH do meio após a formação das nanoestruturas também foi avaliada com ajuste do pH (2–10). Medidas de Raio hidrodinâmico e índice de polidispersão (PDI) foram utilizadas nestes estudos de estabilidade.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Obtenção dos conjugados $\beta$ -lg:GA

De acordo com os resultados da análise de eletroforese (SDS-PAGE) e teste OPA (dados não mostrados) pode-se concluir que houve formação de conjugados a partir do primeiro dia de reação de Maillard.

#### 3.2 Efeito do tempo de reação de Maillard e do pH sobre o tamanho dos nanogéis

O tamanho e a distribuição de tamanho das nanoestruturas resultantes foram caracterizados utilizando DLS. O tamanho das nanoestruturas formadas foi acompanhado durante um período de 7 dias. A Tabela 1 mostra o efeito do tempo no tamanho dos nanogéis. De acordo com Li e Yao (2009) o tamanho das partículas diminui com o tempo de reação devido ao maior grau de conjugação. Por outro lado, o aumento no tempo de reação de Maillard pode levar a outras reações e formação de agregados na solução de conjugados, o que levaria a um aumento no PDI e uma menor homogeneidade do sistema (LI et al., 2008). Todavia, os nossos resultados não apresentaram variação expressiva no tamanho dos nanogéis durante os dias avaliados. Em relação ao PDI, houve um pequeno aumento com o tempo de reação, porém menores que 0,2, podendo considerar os sistemas como homogêneos. Os resultados de  $\rho$  (RG/RH) mostram que as nanoestruturas apresentam um formato esférico (esfera oca) ou levemente elipsoidal.

**Tabela 1.** Efeito do tempo de reação de Maillard sobre o tamanho dos nanogéis (1 dia de reação de Maillard, pH 5,5 e concentração de 2 mg·mL<sup>-1</sup>)

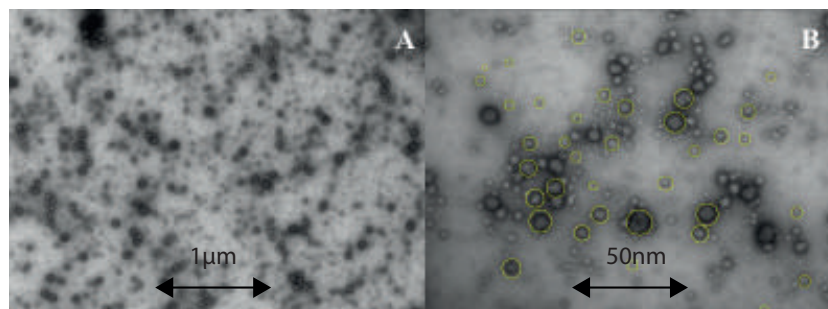
Amostra	Tempo (dias)	Raio hidrodinâmico (nm)	Índice de polidispersão (PDI)	Raio de giro	P
Mistura $\beta$ -lg:GA	0	69,0 ± 1	0,13 ± 0,01	95 ± 30	1,4 ± 0,4
	1	68,0 ± 1	0,14 ± 0,01	100 ± 31	1,5 ± 0,5
	7	70,0 ± 1	0,16 ± 0,01	102 ± 30	1,5 ± 0,4
Conjugado $\beta$ -lg:GA (1 dia)	0	68,0 ± 1	0,17 ± 0,01	100 ± 25	1,5 ± 0,4
	1	76,6 ± 1	0,16 ± 0,01	108 ± 38	1,4 ± 0,5
	7	78,7 ± 1	0,15 ± 0,01	102 ± 36	1,3 ± 0,5
Conjugado $\beta$ -lg:GA (3 dias)	0	65,0 ± 1	0,19 ± 0,01	93 ± 26	1,4 ± 0,4
	1	63,0 ± 1	0,18 ± 0,01	98 ± 28	1,5 ± 0,4
	7	63,0 ± 1	0,18 ± 0,01	116 ± 31	1,8 ± 0,5

Diferentemente, dos sistemas contendo proteína e goma, o aquecimento da solução de proteína pura levou a formação de precipitado e a solução resultante apresentou uma maior turbidez. A presença de tais precipitados inviabilizou a caracterização do sistema utilizando medidas de espalhamento de luz. Resultados semelhantes foram obtidos por Jones et al. (2010). Segundo os autores a presença do polissacarídeo estabiliza as partículas de proteínas contra agregação, provavelmente por repulsão eletrostática e estérica entre as partículas biopoliméricas. Em pH 5,0 obteve-se partículas com tamanhos menores (dados não mostrados), porém o índice de polidispersão foi alto, indicando a presença de um sistema polidisperso. Em pH 5,5 obteve-se um raio hidrodinâmico maior, porém um PDI menor, mostrando que apesar do tamanho médio das partículas ser maior, o sistema apresenta-se mais homogêneo. Em pH 6,0, o PDI foi baixo, porém o valor do raio hidrodinâmico foi alto.

#### 3.3 Microscopia eletrônica de transmissão (MET)

As nanopartículas  $\beta$ -lg:GA, circuladas em amarelo, são esféricas ou levemente elipsoidais. Estas imagens foram usadas para estimar o tamanho dos nanogéis no estado sólido por meio de tratamentos

de imagens. O raio hidrodinâmico médio das nanopartículas nas imagens em MET é de  $39 \pm 12$  nm para nanopartículas de  $\beta$ -lg:GA (1 dia de reação pH 5,5). A diferença de tamanho quando se compara as técnicas de DLS e MET, em parte, deve-se ao fato que as análises de DLS são realizadas em solução, enquanto que as análises de MET mostram as imagens das nanopartículas secas. De acordo com Yu et al. (2006) e Pan et al. (2007) esta diferença de tamanho indica que as nanopartículas apresentam uma estrutura de baixa densidade e alta capacidade de retenção de água, denominadas de nanogéis. Ao observar a Figura 1, percebe-se que as nanoestruturas formadas apresentam uma maior densidade de moléculas na superfície (coloração mais intensa), o que pode indicar uma estrutura oca.



**Figura 1.** Imagens de MET das nanoestruturas  $\beta$ -lg:GA, 1 dia de reação de Maillard, pH 5,5 (A) aumento de 12000x e (B) aumento de 30000x.

### 3.4 Estabilidade do nanogel

Os nanogéis não apresentaram uma grande variação no tamanho quando alterou o pH do meio. Houve um aumento no tamanho das partículas somente em valores de pH mais ácidos. Estes resultados levam a hipótese de que as nanopartículas formadas apresentam uma estrutura núcleo/casca e que provavelmente as moléculas de GA estariam na superfície e as moléculas de  $\beta$ -lg fariam parte do núcleo da nanoestrutura. Esta evidência se baseia no fato de não ter sido observado agregação das nanoestruturas em pH próximo ao pI da proteína.

## 4 CONCLUSÃO

Nanoestruturas de proteína e polissacarídeo foram preparadas utilizando um método “green process”. Dentre as variáveis estudadas, as melhores condições para o preparo das nanoestruturas foram concentração de  $2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  de  $\beta$ -lg e GA e pH 5,5 para. O tempo de reação de Maillard não influenciou no tamanho e a forma das nanoestruturas formadas. O raio hidrodinâmico das nanoestruturas obtidas variou de 30 a 150 nm e apresentaram um formato esférico (esfera oca) e levemente elipsoidal. As nanoestruturas formadas apresentaram boa estabilidade a uma faixa de pH de 4 a 10. Provavelmente as nanoestruturas apresentam uma estrutura de casca-núcleo, com moléculas de proteína no interior e GA na superfície.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico (CNPq), e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo suporte financeiro.

## REFERÊNCIAS

- KATO, A. Industrial applications of Millard-type protein-polysaccharide conjugates. *Food Science and Technology Research*, v. 8, p. 193–199, 2002.
- LI, J., YAO, P. Self-assembly of Ibuprofen and Bovine Serum Albumin-Dextran conjugates leading to effective loading of the drug. *Langmuir*, v. 25, n. 11, p. 6385-6391, 2009.
- LI, J., YU, S., YAO, P., JIANG, M. Lysozyme-Dextran core-shell nanogels prepared via a Green Process. *Langmuir*, v. 24, n. 7, p. 3486-3492, 2008.



MARKMAN, G., LIVNEY, Y. D. Maillard-conjugate based core-shell co-assemblies for nanoencapsulation of hydrophobic nutraceuticals in clear beverages. *Food Function*, v.3, n.3, p. 262-270, 2012.

OLIVER, C. M., MELTON, L. D., STANLEY, R. A. Creating proteins with novel functionality via the Maillard reaction: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 46, p. 337-350, 2006.

## OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE SÍNTESE DE HIDROGÉIS NANOCOMPÓSITOS BIODEGRADÁVEIS

Helena A. G. B. de Araújo<sup>1</sup>, Luiz H. C. Mattoso<sup>2</sup>, \*Fauze A. Aouada<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, UNESP – Univ Estadual Paulista, Ilha Solteira, SP.

<sup>2</sup> Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio (LNNA), Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP.

\*fauze@dfq.feis.unesp.br

**Classificação:** Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio.

### Resumo

Buscando desenvolver novos sistemas carreadores biodegradáveis para possível aplicação em sistemas de liberação controlada de insumos agrícolas, o objetivo desse estudo foi otimizar as condições de obtenção de hidrogéis nanoestruturados a partir de acrilamida (AAM), carboximetilcelulose (CMC) e diferentes teores de zeólita por meio de polimerização radicalar, mantendo as concentrações fixas de AAM e CMC. Inicialmente, constatou-se que as zeólitas dispersas por agitação mecânica geraram resultados satisfatórios, sendo então adotada essa metodologia para os demais nanocompósitos. A partir dos resultados, foi possível notar que o aumento da concentração de zeólita diminuiu consideravelmente a absorção de água dos hidrogéis, sendo essa quantificada por medidas de grau de intumescimento no equilíbrio: de  $41,7 \pm 1,3$  g/g (0% zeólita) para  $25,0 \pm 0,4$  g/g (30% zeólita). Além disso, a presença de zeólita não alterou os valores das constantes cinéticas:  $n = 0,5$  (difusão Fickiana) e  $k = 0,20$  h<sup>-1</sup>.

**Palavras-chave:** Nanocompósitos; Hidrogéis; Zeólitas; Polissacarídeo; Intumescimento.

### OPTIMIZATION OF SYNTHESIS CONDITIONS OF BIODEGRADABLE NANOCOMPOSITE HYDROGELS

#### Abstract

With the objective of develop new biodegradable carrier vehicles for possible application in controlled release systems of agrochemicals, the aim of this work was to optimize the experimental conditions for obtaining of nanostructured hydrogels from acrylamide (AAM), carboxymethylcellulose (CMC) and different amount of zeolite by means of free radical polymerization, maintaining the concentrations of AAM and CMC fixed. Initially, it was observed that the zeolite dispersed by mechanic agitation presented satisfactory results, being then adopted this methodology for all nanocomposites. From the results, it was possible to note that the increase of zeolite concentration decreased the absorption water of nanocomposites, being this property quantified by equilibrium swelling degree measurements: from  $41.7 \pm 1.3$  g/g (0 % zeolite) to  $25.0 \pm 0.4$  g/g (30 % zeolite). In addition, the presence of zeolite no altered the kinetic constant values:  $n = 0.5$  (Fickian diffusion) and  $k = 0.20$  h<sup>-1</sup>.

**Keywords:** Nanocomposites; Hydrogels; Zeolites; Polysaccharide; Swelling degree.

**Publicações relacionadas:** Araújo, H. A. G. B. de; Barbosa, D. H. de O.; Aouada, F. A. Síntese e caracterização hidrofílica e cinética de matrizes híbridas nanoestruturadas para aplicação em sistemas de liberação controlada. A ser apresentado no 21<sup>o</sup> CBECIMat entre 09 e 13 de Novembro de 2014, Cuiabá – MT.

## 1 INTRODUÇÃO

Portadores de cadeias macromoleculares flexíveis e interligadas covalentemente, os hidrogéis são polímeros altamente hidrofílicos insolúveis em água, devido ao encadeamento de suas cadeias formando um estado tridimensional altamente estável. A fim de se obter um hidrogel mais satisfatório

nos requisitos de biocompatibilidade e propriedades mecânicas tem-se sintetizado hidrogéis a partir da mistura de polímeros sintéticos e naturais, ampliando assim sua aplicabilidade desde liberação controlada tanto de medicamentos quanto de nutrientes para o solo (HEMVICHIAN et al. 2014), implantes terapêuticos, cultura de células, dentre outros.

Os sistemas de liberação controlada, primeiramente desenvolvidos para aplicação na área médica, estão sendo também estudados para aplicação na agricultura (AZEEM et al. 2014). Dentre os diversos materiais poliméricos em potencial, os hidrogéis (GUTERRES et al. 2013) vêm surgindo como um veículo em potencial devido suas importantes propriedades, dentre elas, alta hidroflicidade, biodegradabilidade, excelente capacidade de sorção e dessorção controlada de solutos com diferentes polaridades, baixo custo de obtenção, entre outras. Outra estratégia que pode ser adotada para potencializar os processos de adsorção e liberação de pesticidas e fertilizantes é a obtenção de hidrogéis nanoestruturados a partir da inserção de argilominerais e zeólitas (RASHIDZADEH et al. 2014). Pertencentes ao grupo dos aluminossilicatos de metais alcalinos ou alcalinos terrosos, as zeólitas são responsáveis pela troca iônica, absorção seletiva de moléculas orgânicas menores e exclusão de maiores, realizando assim, um peneiramento molecular. Tal estrutura confere às zeólitas, propriedades de grande importância para os processos industriais, tais como: alto grau de hidratação; baixa densidade e grande volume e estabilidade tridimensional e de estrutura cristalina quando desidratada; adsorção de gases e vapores e propriedades catalíticas, tornando-as excelentes aliadas aos hidrogéis, já que possuem alta eficiência de sorção.

Buscando desenvolver novos sistemas carreadores biodegradáveis para possível aplicação em sistemas de liberação controlada de insumos agrícolas, o objetivo desse estudo foi otimizar as condições de obtenção de hidrogéis nanoestruturados a partir de acrilamida (AAM), carboximetilcelulose (CMC) e diferentes teores de zeólitas por meio de polimerização radicalar, mantendo as concentrações fixas de AAM e CMC.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Os nanocompósitos de hidrogéis constituídos por PAAm e CMC, em diferentes formulações, foram obtidos por meio de polimerização química via radical livre (iniciada por persulfato de sódio) do monômero acrilamida (AAM), em solução aquosa contendo um tipo específico de zeólita, polissacarídeo CMC, agente de reticulação N<sup>o</sup>-N-metilenobisacrilamida (MBAAm), catalisador N,N,N',N'-tetrametil-etilenobisacrilamida (TEMED).

As propriedades hidrofílicas foram obtidas por meio do estudo do grau de intumescimento utilizando água deionizada/destilada como meio externo de intumescimento. Para obtenção dos valores de grau de intumescimento, os hidrogéis previamente secos foram pesados em uma balança analítica e acondicionados em um volume conhecido de meio de intumescimento, sendo que em tempos pré-determinados, os mesmos foram retirados do meio e novamente pesados. As razões entre as massas dos hidrogéis no estado intumescido pelo estado seco, em cada intervalo de tempo, foi utilizada para determinação dos valores de grau de intumescimento.

As propriedades cinéticas foram determinadas por meio das análises das propriedades hidrofílicas. Os parâmetros cinéticos  $n$  e  $k$  foram obtidos utilizando a equação 1 (RITGER e PEPPAS, 1987), onde  $t$  é o tempo,  $M_t$  e  $M_{eq}$  são os valores das massas do hidrogel em cada tempo "t" de estudo e no estado de equilíbrio, respectivamente.

$$\frac{M_t}{M_{eq}} = kt^n \quad (1)$$

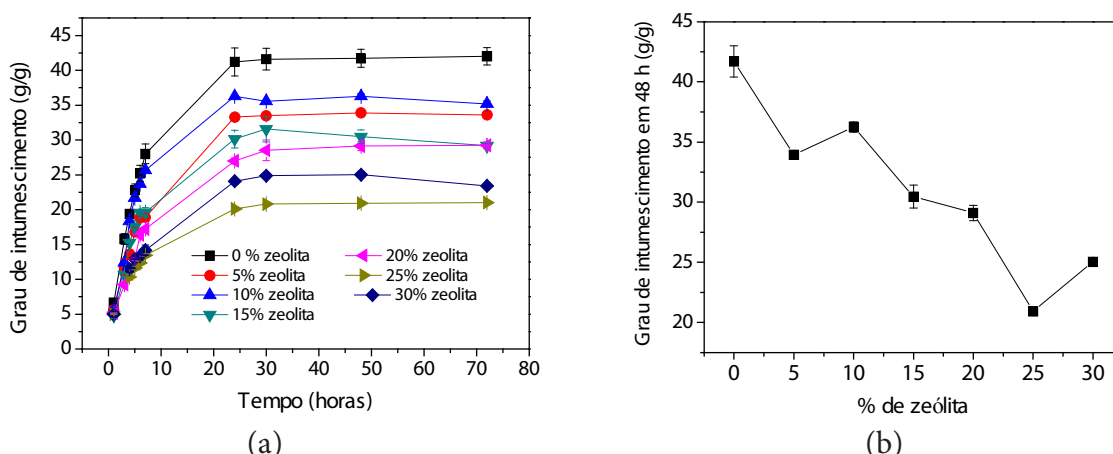
## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente, investigou o efeito do tipo de agitação na capacidade de absorção de água dos nanocompósitos. Constatou-se que os valores de grau de intumescimento após 48 horas foram  $41,7 \pm 1,3$  g/g;  $41,1 \pm 0,3$  g/g e  $33,9 \pm 0,1$  g/g para os nanocompósitos sem zeólita e contendo 5 % zeólita dispersas por agitações magnética e mecânica, respectivamente. Esse decréscimo mais pronunciado é um bom indício que as zeólitas estão melhores dispersas na matriz do hidrogel quando se utilizou agitação mecânica em relação à agitação magnética na metodologia de síntese. Pois, a otimização de propriedades, nesse caso hidrofílica, está diretamente relacionada com o grau de dispersão, sendo que essa otimização será tão mais efetiva quanto melhor for a dispersão. Então, adotou-se essa metodologia para a obtenção

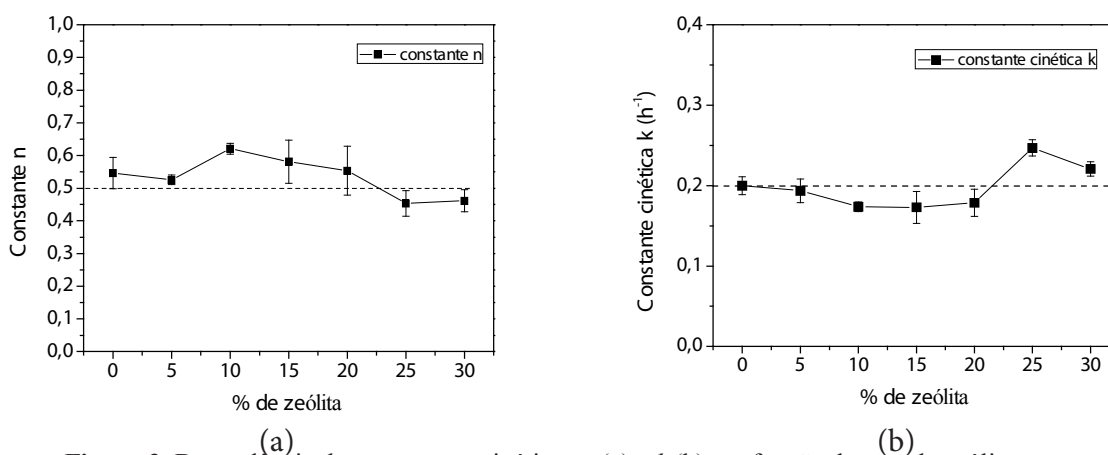
dos demais nanocompósitos.

Na Figura 1a são apresentados os valores de grau de intumescimento em função do tempo de intumescimento para os nanocompósitos contendo diferentes teores de zeólitas (0 – 30 %). Constatou-se que a capacidade de intumescimento dos nanocompósitos foi fortemente influenciada pela presença e teor de zeólita nos nanocompósitos. Pela análise da Figura 1b, constatou-se nitidamente que o teor de zeólita reduz consideravelmente as propriedades hidrofílicas dos nanocompósitos. Isso foi concluído pela diminuição abrupta do grau de intumescimento. Tal efeito pode estar relacionado pelo fato que a zeólita pode estar atuando como agente de reforço na matriz do hidrogel. Além disso, a zeólita pode estar atuando como reticulador físico entre as cadeias poliméricas formadoras dos hidrogéis, o que reduz significativamente o movimento das mesmas e consequentemente, os espaços vazios (poros) que potencialmente possam ser ocupados por moléculas de água. Efeito similar foi descrito por RASHIDZADEH et al. 2014.

A partir da Figura 2 foi possível constatar que a presença de zeólita não alterou os valores das constantes cinéticas:  $n = 0,5$  (*difusão Fickiana*) e  $k = 0,20 \text{ h}^{-1}$ . No caso dos nanocompósitos com difusão *Fickiana*, o processo de difusão da água do meio externo de intumescimento para seu interior é governado pelas Leis de Difusão de Fick.



**Figura 1.** Dependência do grau de intumescimento em função do tempo para diferentes teores de zeólita (a) e do grau de intumescimento após 48 horas (estado de equilíbrio) em função do teor de zeólita (b).



**Figura 2.** Dependência das constantes cinéticas  $n$  (a) e  $k$  (b) em função do teor de zeólita para os nanocompósitos estudados.

#### 4 CONCLUSÃO

Foi possível sintetizar com reprodutibilidade novos nanocompósitos formados por hidrogéis polissacarídicos e zeólitas. As propriedades hidrofílicas demonstraram que a presença de zeólita modifica significativamente a capacidade de absorção de água, melhorando nitidamente o manuseio dos mesmos.

Futuros testes de sorção/dessorção de agroquímicos estão sendo planejados, o que pode comprovar uma possível aplicação tecnológica desses nanocompósitos como veículos carreadores de liberação controlada.

## AGRADECIMENTOS

PPGCM,FEIS-UNESP, Capes, CNPq (Processo 305146/2012-2), Rede Agronano, Embrapa e Fapesp (Processo 2013/03643-0).

## REFERÊNCIAS

AZEEM, B.; KUSHAARI, K.; MAN, Z. B.; BASIT, A.; THANH, T. H. Review on materials & methods to produce controlled release coated urea fertilizer. *Journal of Controlled Release*, v. 181, p. 11-21, 2014.

GUTERRES, J.; ROSSATO, L.; PUDMENZKY, A.; DOLEY, D.; WHITTAKER, M.; SCHMIDT, S. Micron-size metal-binding hydrogel particles improve germination and radicle elongation of Australian metallophyte grasses in mine waste rock and tailings. *Journal of Hazardous Materials*, v. 248-249, p. 442-450, 2013.

HEMVICHIAN, K.; CHANTHAWONG, A.; SUWANMALA, P. Synthesis and characterization of superabsorbent polymer prepared by radiation-induced graft copolymerization of acrylamide onto carbonylmethyl cellulose for controlled release of agrochemicals. *Radiation Physics and Chemistry*, v. 103, p. 167-171, 2014.

RASHIDZADEH, A.; OLAD, A.; SALARI, D.; REYHANITABAR, A. On the preparation and swelling properties of hydrogel nanocomposite based on sodium alginate-g-poly (acrylic acid-co-acrylamide)/clinoptilolite and its application as slow release fertilizer. *Journal of Polymer Research*, v. 21, p. 344-358, 2014.

RITGER, P. L.; PEPPAS, N. A. A simple equation for description of solute release II: Fickian and anomalous release from swellable devices. *Journal of Controlled Release*, v. 5, p. 37-42, 1987.

---

## CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA PELA TÉCNICA DE ESPALHAMENTO DE LUZ DINÂMICO (DLS)

\*Mendes, J. E.<sup>1</sup>, Camargo, E. R.<sup>2</sup>, Sousa, C. P.<sup>1</sup>, Pessoa, J. D. C.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de São Carlos – UFSCar, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia.

<sup>2</sup>Universidade Federal de São Carlos – UFSCar, Departamento de Química. <sup>3</sup>Embrapa Instrumentação  
\*josianemendes.agro@gmail.com

**Classificação:** Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio.

### Resumo

A Nanotecnologia tem sido apontada como uma tecnologia extremamente inovadora, e dedicada à criação de materiais, dispositivos e sistemas, através do controle da matéria realçando a exploração de novas propriedades e fenômenos desenvolvidos em pequena escala (1-100 nm). Esta proporciona a capacidade de sintetizar estruturas numa escala nanométrica com controle preciso de tamanho e composição, dando-lhes assim a possibilidade de organizar estruturas maiores com propriedades e funções únicas. Dentre os muitos nanomateriais promissores com propriedades antimicrobianas, as nanopartículas metálicas (nanopartículas de prata) destacam-se devido à sua elevada atividade química. Sendo assim, o uso de nanopartículas de prata é conhecido por ter ação em uma vasta gama de micro-organismos. O presente trabalho pretende caracterizar as nanopartículas de prata através da técnica de espalhamento dinâmico de luz (DLS). As medidas obtidas pela técnica DLS também foram usadas para avaliar a estabilidade das nanopartículas. Foi possível sintetizar as nanopartículas de prata pelo método Turkevich. A síntese

das nanopartículas de prata foi confirmada por espalhamento dinâmico de luz (DLS) e possuem um diâmetro de aproximadamente 52 nm.

**Palavras-chave:** Nanopartículas de Prata; Método de Turkevitch; Caracterização.

## CHARACTERIZATION OF SILVER NANOPARTICLES BY DYNAMIC LIGHT SCATTERING (DLS)

### Abstract

Nanotechnology has been identified as an extremely innovative technology, dedicated to the creation of materials, devices and systems through the control of matter emphasizing the exploration of new properties and phenomena developed on a small scale (1-100 nm). This technology provides the ability to synthesize structures in a nanoscale with controlled size and composition, thus giving them the possibility to organize larger structures with unique properties and functions. Among the many promising nanomaterials with antimicrobial properties, a metal nanoparticle (silver nanoparticles) stands out due to their high chemical activity. Thus, the use of silver nanoparticles is known to have activity in a broad range of microorganisms. In the present work aims to characterize silver nanoparticles dynamic light scattering (DLS). The measures were obtained by DLS technique also used to evaluate the stability of the nanoparticles. The silver nanoparticles were synthesized by the Turkevich method. The synthesis of silver nanoparticles was confirmed by dynamic light scattering (DLS) and have a diameter of approximately 52 nm.

**Keywords:** Silver Nanoparticles; Turkevich Method; Characterization.

## 1 INTRODUÇÃO

Na nanotecnologia, as nanopartículas têm despertado grande interesse na sociedade científica nos últimos anos, por apresentarem propriedades físico-químicas únicas e um grande potencial em aplicações tecnológicas industriais, biológicas e médicas (RIBEIRO, 2009).

As nanopartículas podem ser agrupadas em duas classes: nanopartículas orgânicas e inorgânicas. As nanopartículas orgânicas podem incluir as nanopartículas de carbono (fulerenos), e as nanopartículas inorgânicas incluem as nanopartículas magnéticas, nanopartículas metálicas (prata e ouro) e as nanopartículas de semicondutores (dióxido de titânio e óxido de zinco) (SINGH et al., 2011).

As nanopartículas inorgânicas têm grande potencial de uso, pois possuem características versáteis tais como: tamanho (largura), funcionalidade, biocompatibilidade, capacidade de entrega e liberação controlada de fármacos (XU et al., 2006).

As nanopartículas de prata que estão agrupadas na classe de nanopartículas inorgânicas, são conhecidas por sua atividade antimicrobiana e por inibir uma ampla gama de micro-organismos dentre eles bactérias Gram-positivas e Gram-negativas incluindo estirpes resistentes a antibióticos (BALAZS et al., 2004), fungos, protozoários e alguns tipos de vírus (MELAIYE e YOUNGS, 2005; STOBIE et al. 2008). Comparada com outros metais, a prata causa maior toxicidade aos micro-organismos ao mesmo tempo em que exibe menor toxicidade para células de mamíferos (ZHAO e STEVENS, 1998).

Estudos com nanopartículas de prata têm se mostrado promissoras no combate de bactérias Gram positivas (*Staphylococcus aureus*). As nanopartículas foram incorporadas em tecido e mostraram causar esterilidade, contribuindo assim para minimizar infecções. Nanopartículas metálicas foram incorporadas a tintas sintetizadas a partir de óleos vegetais e mostraram ter uma boa atividade antibacteriana (KUMAR et al., 2008). O presente trabalho pretende caracterizar as nanopartículas de prata através da técnica de espalhamento dinâmico de luz (DLS).

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Síntese das Nanopartículas de Prata

As nanopartículas de prata foram sintetizadas pelo método de Turkevich et al., (1951) e preparadas de acordo com o procedimento experimental relatado por Gorup et al. (2011). As soluções foram preparadas com água deionizada obtida a partir do sistema de filtração Millipore Ellix3. As nanopartículas de prata foram sintetizadas pela redução do nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ ) com a solução de citrato de sódio ( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ ). Em seguida, 200 ml de uma solução aquosa de nitrato de prata ( $5.0 \times 10^3 \text{ mol l}^{-1}$ ) foram aquecidas e agitadas suavemente com uma barra magnética revestida de teflon. Após o aquecimento, quando a solução atingiu  $90^\circ \text{C}$ , 5 ml de uma solução aquosa de citrato de sódio ( $0.3 \text{ mol l}^{-1}$ ) foi

adicionado. As nanopartículas de prata foram estabilizadas por adição de 5 ml de uma solução aquosa de  $\text{NH}_3$  ( $1.4 \text{ mol l}^{-1}$ ).

## 2.2 Caracterização das Nanopartículas de Prata

A técnica de espalhamento de luz dinâmico (DLS) foi utilizada neste trabalho para medir o tamanho das nanopartículas de prata sintetizadas, sendo considerada a distribuição de tamanho da partícula em função da intensidade, área, volume e quantidade. As medidas obtidas pela técnica DLS também foram usadas para avaliar a estabilidade das nanopartículas. Após a síntese as nanopartículas foram filtradas por uma membrana de  $0.2 \mu\text{m}$ . O tamanho das nanopartículas de prata foi medido através do equipamento Zetasizer Nano ZS Malvern, sob as seguintes condições: índice de refração da prata 1.390, coeficiente de absorção da partícula de 0.002, índice de refração da água 1.330, viscosidade  $0.8872 \text{ cP}$ , tempo de equilíbrio de 2 minutos e temperatura de  $25^\circ \text{C}$ . Quinze ciclos de medição de 10 segundos cada foram realizados. As medidas foram realizadas em triplicata e foi considerada a média das distribuições do tamanho das partículas. Os resultados foram analisados pelo software DTS 5.0 Malvern.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No processo de síntese, após 12 minutos de reação, observou-se a formação das nanopartículas de prata, pois o sistema adquiriu uma coloração amarela âmbar. As AgNPs foram estabilizadas utilizando  $\text{NH}_3$  para evitar a agregação. De acordo com o trabalho realizado por Gorup et al. (2011) e Monteiro et al. (2011)  $\text{NH}_3$  desempenha um papel importante moderador crescimento, tornando-se possível estabilizar as nanopartículas de prata metálica, uma vez que os íons de prata livres, que são responsáveis pelo crescimento de partícula e a formação de novos núcleos, são aprisionados pela formação de prata diamina (I) complexos. Tais resultados estão em boa concordância com o artigo publicado anteriormente pelo Kvíteket al. (2008), que avaliou o impacto da estabilização de AgNPs sobre a sua atividade antimicrobiana.

A análise de dados de espalhamento dinâmico de luz (DLS) mostrou que o tamanho médio das partículas sintetizadas são  $51.92 \text{ nm}$  e o valor do PDI (Índice de Polidispersividade) foi de 0.093. O pico único obtido indicou que as nanopartículas de prata não possuem polidispersividade no tamanho, indicando uma boa síntese (Figura 1 e 2) (MAHL et al., 2011).

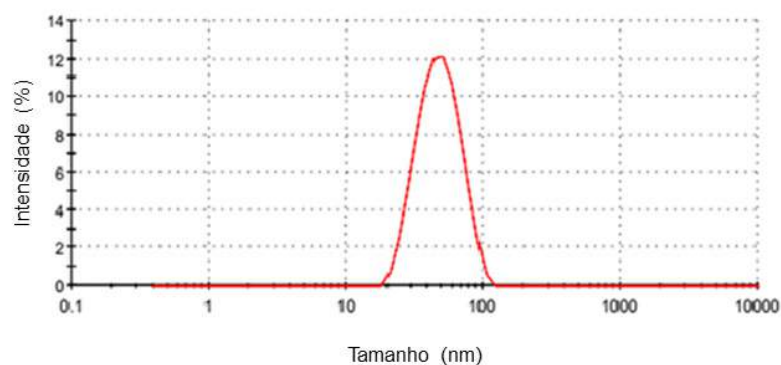


Figura 1. Distribuição de tamanho em intensidade de partículas obtida por DLS.

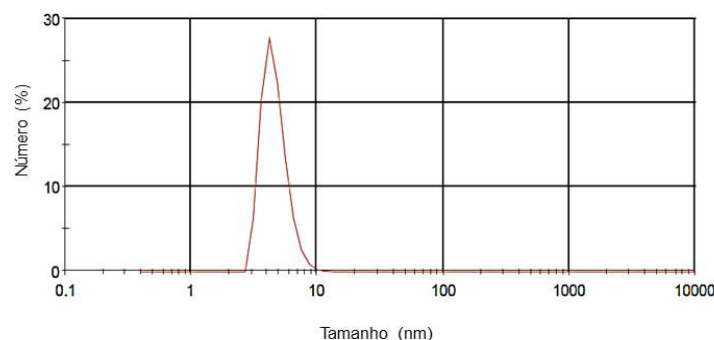


Figura 2. Distribuição de tamanho em número de partículas obtida por DLS.

#### 4 CONCLUSÃO

Foi possível sintetizar as nanopartículas de prata pelo método Turkevich. A síntese das nanopartículas de prata foi confirmada por espalhamento dinâmico de luz (DLS) e possuem um diâmetro de aproximadamente 52 nm.

#### AGRADECIMENTOS

CNPq, FINEP, EMBRAPA, Programa CAPES – Rede Nanobiotec-Brasil (Edital CAPES 04/CII-2008) – “Projeto Avaliação de Impactos de Aplicações da Nanotecnologia no Agronegócio”.

#### REFERÊNCIAS

BALAZS, D. J.; TRIANDAFILLU, K.; WOOD, P.; CHEVOLOT, Y.; VAN DELDEN, C.; HARMS, H.; HOLLENSTEIN, C.; MATHIEU, H. J. Inhibition of bacterial adhesion on PVC endotracheal tubes by RF-oxygen glow discharge, sodium hydroxide and silver nitrate treatments. *Biomaterials*, v. 25, p. 2139-2151, 2004.

GORUP, L. F.; LONGO, E.; LEITE, E. R.; CAMARGO, E. R. Moderating effect of ammonia on particle growth and stability of quasi-monodisperse silver nanoparticles synthesized by the Turkevich method. *J Colloid Interface Sci*, v. 360, p. 355–358, 2011.

KVITEK, L.; PANACEK, A.; SOUKUPOVA, J.; KOLAR, M.; VECEROVA, R.; PRUCEK, R.; HOLECOVA, M.; ZBOŘIL, R. Effect of surfactants and polymers on stability and antibacterial activity of silver nanoparticles (NPs). *J. Phys. Chem.*, v. 112, p. 5825–5834, 2008.

MAHL, D.; DIENDORF, J.; MEYER-ZAIKA, W.; EPPLE, M. Possibilities and limitations of different analytical methods for the size determination of a bimodal dispersion of metallic nanoparticles. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical. Eng. Aspects*, v. 377, p. 386–392, 2011.

MELAIYE, A.; YOUNGS, W. J. Silver and its application as an antimicrobial agent. *Expert Opin Ther Pat*, v. 15, p. 125-130, 2005.

MONTEIRO, D. R., GORUP, L. F.; SILVA, S.; NEGRI, M.; CAMARGO, E. R. DE; OLIVEIRA, R.; BARBOSA, D. B.; HENRIQUES, M. Silver colloidal nanoparticles: antifungal effect against adhered cells and biofilms of *Candida albicans* and *Candida glabrata*. *Biofouling*, v.27, p. 711–719, 2011.

MONTEIRO, D. R.; SILVA, S.; NEGRI, M.; GORUP, L. F.; CAMARGO, E. R. DE; OLIVEIRA, R.; BARBOSA, D. B.; HENRIQUES, M. Silver nanoparticles: influence of stabilizing agent and diameter on antifungal activity against *Candida albicans* and *Candida glabrata* biofilms. *Letters in Applied Microbiology*, v. 54, p. 383 – 391, 2012.

RIBEIRO, C. Nanotecnologia na Embrapa: buscando soluções para o agronegócio brasileiro. Embrapa Instrumentação Agropecuária. 2009. Disponível em: <[http://www.cetene.gov.br/galerias/pdf/workshop/caue\\_oliveira.pdf](http://www.cetene.gov.br/galerias/pdf/workshop/caue_oliveira.pdf)>. Acesso em: 08 mar 2011.

SINGH, M.; MANIKANDAN, S.; KUMARAGURU, A. K. Nanoparticles: A New Technology with

Wide Applications. *Research Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, v.1, n.1, p.1-11, 2011.

TURKEVICH, J.; STEVENSON, P. C.; HILLIER, J. A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold. *Discuss Faraday Soc* 11, p. 55-75, 1951.

XU, Z.P.; ZENG, Q.H.; LU, G.Q.; YU, A. B. Inorganic nanoparticles as carriers for efficient cellular delivery. *Chemical Engineering Science*, v. 61, p.1027-1040, 2006.

ZHAO, G. J.; STEVENS, S. E. Multiple parameters for the comprehensive evaluation of the susceptibility of *Escherichia coli* to the silver ion. *Biometals*. v. 11, p. 27–32, 1998.

# NANOFIBRAS DE PLA/TiO<sub>2</sub> PREPARADAS PELO MÉTODO DE FIAÇÃO POR SOPRO EM SOLUÇÃO: CARACTERIZAÇÃO TÉRMICA E MORFOLÓGICA

Gláucia S. Brichi<sup>1,2</sup>, \*Rodrigo G. F. Costa<sup>1</sup>, Caue Ribeiro<sup>1</sup>, Luiz H.C. Mattoso<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório Nacional de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio, Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP. <sup>2</sup>Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP.

\*guerreiro\_rodrigo@yahoo.com.br

**Classificação:** Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio.

## Resumo

No presente trabalho, nanocompósitos de poli(ácido láctico) (PLA)/dióxido de titânio anatase (TiO<sub>2</sub>) foram preparados pelo método de fiação por sopro em solução (SBS). As nanofibras fiadas foram caracterizadas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Termogravimetria (TG) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC). Os resultados obtidos mostraram que o método de SBS pode ser usado para produzir nanofibras biodegradáveis com morfologia homogênea e boas propriedades térmicas.

**Palavras-chave:** Fiação por sopro em solução; Dióxido de titânio; Poli(ácido láctico); Nanofibras

## PLA/TiO<sub>2</sub> NANOFIBERS PREPARED BY SOLUTION BLOW SPINNING: THERMAL AND MORPHOLOGICAL CHARACTERIZATION

### Abstract

In the present study, poly(lactic acid) (PLA)/titanium dioxide anatase (TiO<sub>2</sub>) nanocomposite fibers were produced by solution blow spinning (SBS). The spun fibers were characterized by scanning electron microscopy (SEM), thermogravimetric analysis (TGA) and differential scanning calorimetry (DSC). The results showed that SBS process can be effectively used to produce biodegradable nanocomposite fibers with homogeneous morphology and good thermal properties.

**Keywords:** Solution blow spinning, Titanium dioxide; Poly(lactic acid); Nanofibers

### Publicações relacionadas (Resumos publicados em anais de congressos):

COSTA, R. G. F.; RIBEIRO, C.; BRICHI, G. S.; MATTOSO, L. H. C. Photocatalytic properties of poly(lactic acid)/TiO<sub>2</sub> nanocomposite fibers. In: XII Brazilian MRS Meeting, 2013, Campos do Jordão - S.P.

COSTA, R. G. F.; RIBEIRO, C.; BRICHI, G. S.; MATTOSO, L. H. C. Thermal characterization of poly(lactic acid)/TiO<sub>2</sub> nanocomposite fibers obtained by Solution Blow Spinning. In: XII Brazilian MRS Meeting, 2013, Campos do Jordão - S.P.

## 1 INTRODUÇÃO

Fiação por Sopro em Solução (SBS) é uma nova técnica que resultou da combinação dos processos convencionais, eletrofiação e meltblowing, a fim de otimizar o processo de produção das mantas poliméricas. Nesta técnica uma solução polimérica é submetida a uma corrente de ar pressurizada que passa da seringa até o coletor [1]. Durante o percurso, o solvente evapora, havendo o estiramento polimérico e obtendo-se as fibras. O processo tem como principal vantagem o baixo custo e a alta produtividade em menos tempo, quando comparado com os métodos convencionais [1]. Na literatura é relatado o grande interesse em nanopartículas de dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>), devido à sua estabilidade química e atividade fotocatalítica [2,3]. O Poli(ácido láctico) (PLA) é classificado como um biopolímero e é largamente usado no setor industrial, por ser biocompatível e biodegradável [3]. O presente trabalho teve como objetivo realizar a análise térmica e morfológica das nanofibras de poli(ácido láctico)(PLA)/dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>) obtidas pelo processo de Fiação por Sopro em Solução.



## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Soluções contendo 6%(m/v) de poli(ácido lático) (PLA, Biomater) foram preparadas, utilizando como solvente uma mistura de clorofórmio-acetona (Synth) 3:1 (v/v). Após a solubilização total do polímero, o dióxido de titânio ( $\text{TiO}_2$ , Aldrich, 99,7% anatase) foi incorporado à solução de PLA em diferentes porcentagens, 0,9, 2,9, 4,8, 9,1 e 16.7 (wt.%), até completa homogeneização do sistema. A viscosidade das soluções foi medida com um viscosímetro Brookfield em 10 rpm e a 25 °C. As fibras obtidas foram caracterizadas por termogravimetria (TG), calorimetria exploratória diferencial (DSC) e microscopia eletrônica de varredura (MEV).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Analisando a micrografia obtida por MEV (Fig. 1), pode-se observar que os nanocompósitos produzidos apresentaram uniformidade em suas fibras, com as superfícies lisas e sem a presença de *beads*, o que indica a dispersão homogênea das nanopartículas de  $\text{TiO}_2$ . Os diâmetros médios das fibras (Tab. 1) indicam que a incorporação de dióxido de titânio à solução do polímero não afeta o tamanho das mesmas, quando comparamos com a fibra de PLA puro.

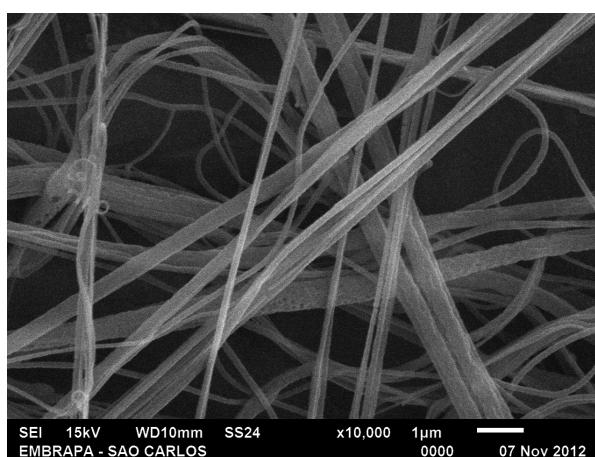


Figura 1. Micrografia obtida por MEV de manta de nanofibra de PLA/ $\text{TiO}_2$  (2,9 wt.%).

Tabela 1. Diâmetro médio das nanofibras e viscosidade das soluções

Composição das nanofibras	Diâmetro médio (nm)	Viscosidade (mPa.s)
PLA	174 ± 56	19,8
PLA/ $\text{TiO}_2$ (0.9 wt.%)	458 ± 179	23,1
PLA/ $\text{TiO}_2$ (2.9 wt.%)	196 ± 115	28,8
PLA/ $\text{TiO}_2$ (4.8 wt.%)	297 ± 143	41,7
PLA/ $\text{TiO}_2$ (9.1 wt.%)	344 ± 155	60,9
PLA/ $\text{TiO}_2$ (16.7 wt.%)	198 ± 67	27,6

Através da análise das curvas de TG (Fig. 2) observou-se que o aumento da concentração de dióxido de titânio nas fibras resultou no aumento da porcentagem de resíduo (Tab. 2) ao final da completa degradação do polímero (~362 °C).

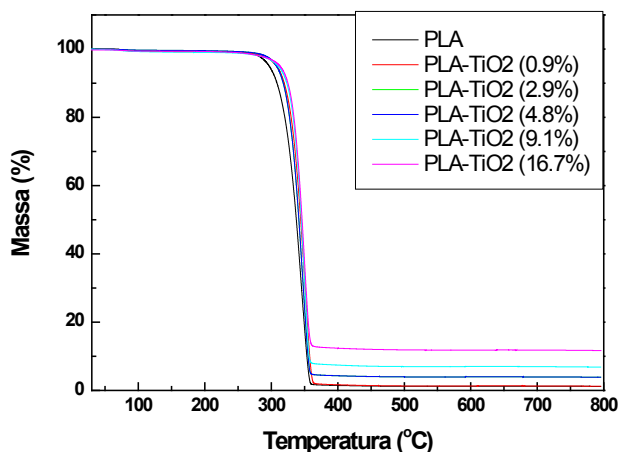


Figura 2. Curvas TG das nanofibras.

As curvas de DSC (Fig. 3) foram usadas para determinar a temperatura de cristalização ( $T_c$ ), temperatura de fusão ( $T_m$ ), entalpia de cristalização ( $\Delta H_c$ ) e de fusão ( $\Delta H_f$ ) das amostras (Tab. 2). Os picos intensos de fusão ( $T_m$ ) na faixa de 145 – 151 °C resultaram em altos valores de  $\Delta H_f$  para todas as amostras, de 23 J/g a 28 J/g. Os picos exotérmicos ( $T_c$ ) próximos a 110 °C podem ser associados à cristalização do PLA. Já os baixos valores de  $\Delta H_c$  (0,9 – 14 J/g) confirmam a semicristalinidade do polímero.

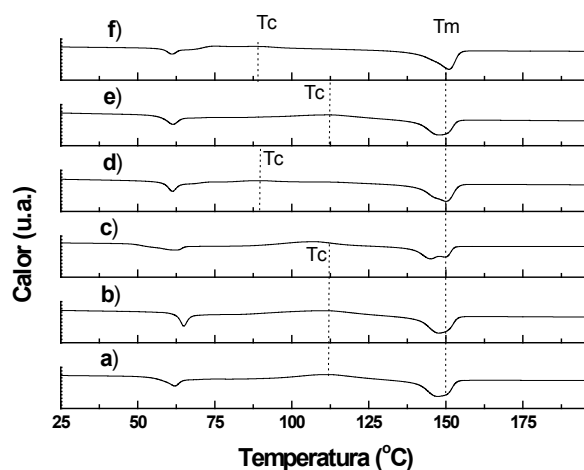


Figura 3. Curvas DSC das nanofibras: a) PLA, b) PLA/TiO<sub>2</sub> (0.9 wt. %), c) PLA/TiO<sub>2</sub> (2.9 wt.%), d) PLA/TiO<sub>2</sub> (4.8 wt.%), e) PLA/TiO<sub>2</sub> (9.1 wt.%) e f) PLA/TiO<sub>2</sub> (16.7 wt.%).

Tabela 2. Porcentagem de resíduo (Tg) e dados extraídos das curvas DSC

Composição das nanofibras	%resíduo	T <sub>c</sub> (°C)	T <sub>m</sub> (°C)	$\Delta H_c$ (J/g)	$\Delta H_f$ (J/g)
PLA	1,2	111	147	14	26
PLA/TiO <sub>2</sub> (0.9 %)	1,2	111	148	6,3	27
PLA/TiO <sub>2</sub> (2.9 %)	3,8	107	145	6,2	23
PLA/TiO <sub>2</sub> (4.8 %)	3,9	90	150	2,5	28
PLA/TiO <sub>2</sub> (9.1 %)	6,8	112	148	5,4	25
PLA/TiO <sub>2</sub> (16.7 %)	11,7	90	151	0,9	27

#### 4 CONCLUSÃO

Apesar das altas porcentagens das nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  nas fibras, não houve variação significativa nos valores de diâmetros médios. As curvas termogravimétricas demonstraram que o aumento da porcentagem de dióxido de titânio nas nanofibras resultou no aumento da porcentagem de resíduo final, indicando que as nanopartículas estavam bem dispersas nas fibras. O tratamento das curvas DSC mostrou que os valores da entalpia de fusão foram maiores do que os obtidos para a entalpia de cristalização. Pode-se concluir que o método de fiação por sopro em solução foi eficaz para obtenção de mantas nanofibrilicas com aspecto homogêneo, mesmo quando o material não é compatível com a matriz polimérica, no caso do dióxido do titânio e do poli(ácido láctico).

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq, FAPESP e CAPES.

#### REFERÊNCIAS

- [1] MEDEIROS, E.S., GLENN, G. M.; KLAMCZYNSKI, A. P.; ORTS, W. J. ; MATTOSO, L. H. C. Solution Blow Spinning: A New Method to Produce Micro-and Nanofibers from Polymer Solutions. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 113, p. 2322-2330, 2009.
- [2] COSTA, R. G. F.; RIBEIRO, C.; MATTOSO, L. H. C. Morphological and Photocatalytic Properties of PVA/ $\text{TiO}_2$  Nanocomposite Fibers Produced by Electrospinning. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology (Print)*, v. 10, p. 5144-5152, 2010.
- [3] BUZAROVSKA, A.; GROZDANOV, A. Biodegradable Poly(l-lactid acid) Nanocomposites: Thermal Properties and Degradation. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 123, p. 2187-2193, 2012.

---

## NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS NA LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACOS

\*Freitas, J. C. de<sup>1</sup>, Campos, M. G. N.<sup>1</sup>, Escolano, A. M.<sup>2</sup>, Marques, R. F. C.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de Alfenas, UNIFAL, Poços de Caldas. <sup>2</sup> Universidad de Zaragoza, UNIZAR, Zaragoza, Espanha. <sup>3</sup> Universidade Estadual Paulista, UNESP, Araraquara.  
\*juh.c.freitas@hotmail.com

**Classificação:** Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio.

#### Resumo

O tratamento convencional para o cancro danifica células saudáveis, acarretando em diversos efeitos indesejáveis ao paciente. Esse problema é minimizado pela utilização de sistemas de liberação controlada de fármacos, que se baseiam em um núcleo magnético revestido com material biocompatível (polímero), onde se imobiliza o fármaco. A liberação acontece através de estímulos aplicados no polímero. Este trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de nanodispositivos constituídos de nanopartículas magnéticas revestidas com polímeros, para a liberação controlada do metotrexato. As nanopartículas foram sintetizadas por hidrólise de sais precursores de ferro e funcionalizadas com polímeros. Imagens de microscopia eletrônica de transmissão (TEM) e as análises do espalhamento da luz dinâmica e do potencial zeta comprovaram a síntese de nanopartículas de magnetita com tamanho e estabilidade adequados para a aplicação desejada em biomedicina.

**Palavras-chave:** Nanopartículas Magnéticas; Liberação Controlada de Fármacos.

#### MAGNETIC NANOPARTICLES FOR TARGETED DRUG DELIVERY

##### Abstract

Conventional treatments for cancer damage healthy cells, resulting in various undesirable effects to the patient. This problem is minimized by using controlled drug delivery systems that are based on a

magnetic core coated with biocompatible material (polymer), which immobilizes the drug. The release happens by stimuli applied in the polymer. This study aimed the development of nanodevices consisting of magnetic nanoparticles coated with polymers for the controlled release of methotrexate. The nanoparticles were synthesized by hydrolysis of iron precursors salts and functionalized with polymer. Images of transmission electron microscopy (TEM) and the analysis of dynamic light scattering (DLS) and zeta potential confirmed the synthesis of magnetite nanoparticles with size and stability suitable for the desired application in biomedicine.

**Keywords:** Magnetic Nanoparticles; Controlled Drug Delivery.

## 1 INTRODUÇÃO

A nanotecnologia compreende a caracterização, síntese, manipulação e aplicação, na ordem de nanômetros ( $10^{-9}$  m), de estruturas biológicas e não biológicas. Sendo assim, as nanopartículas magnéticas são sistemas envolvidos nesta escala e, uma vez que estão entre os estados molecular e massivo, apresentam propriedades físicas e químicas distintas, que são influenciadas por seu tamanho, morfologia e estrutura (ASSIS, 2012).

Enquanto materiais massivos possuem múltiplos domínios magnéticos a fim de reduzir a energia magnetoestática, nanopartículas com diâmetros inferiores a um dado valor crítico apresentam um único domínio magnético, uma vez que a redução do tamanho de uma partícula acarreta na redução do tamanho também de seu domínio, alterando as características das paredes que o delimitam (ALVES, 2007). No entanto, há um valor limitante, abaixo do qual a energia proveniente da formação dos múltiplos domínios se torna inferior à energia de formação de paredes de domínio e, assim, o processo deixa de ser energeticamente vantajoso. Deste modo, para partículas de tamanhos inferiores ao diâmetro crítico, a configuração mais vantajosa é a de monodomínios. Por exemplo, para óxidos de ferro, como magnetita, os monodomínios estão presentes em partículas com diâmetro entre 5 e 20 nm.

A redução do tamanho de uma partícula também acarreta em uma maior área superficial em relação ao volume. Os átomos da superfície de uma partícula apresentam uma vizinhança distinta daqueles do seu interior, sendo capazes de influenciar as propriedades físicas e magnéticas do material. Deste modo, esta característica se torna útil para a funcionalização das partículas ou sua aplicação como carreador de substâncias (ALVES, 2007).

A aplicação de tais materiais será influenciada, portanto, pelo recobrimento, propriedades físicas e químicas, sendo que estas características são definidas pelo método utilizado para sua síntese. A padronização dos parâmetros físicos é realizada através do controle de tamanho, forma, distribuição, cristalinidade e propriedades magnéticas das nanopartículas (FITZPATRICK et al, 2012).

Neste contexto, o objetivo deste trabalho é o desenvolvimento de um nanodispositivo constituído de nanopartículas magnéticas de óxido de ferro modificadas com polímeros termosensíveis para a liberação controlada de metotrexato no tratamento de tumores. O metotrexato é usado no tratamento do câncer, mas acarreta em efeitos colaterais para o paciente por danificar as células saudáveis. Deste modo, a liberação controlada deste fármaco diminuiria esses efeitos, o que levaria a um tratamento mais eficiente e a possibilidade de aplicação de doses menores.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Síntese do ferrofluido

Em um béquer, misturou-se a solução precursora de ferro, filtrada em membrana de 0,45 micrômetros, P4VP6000, água e acetona. A mistura mantida em uma placa a temperatura ambiente para secar durante um dia. O sólido resultante foi reagido com uma solução de  $\text{NH}_3$  2M, mediante aquecimento a  $50^\circ\text{C}$ .

A solução resultante foi lavada através de separação magnética e adição de água destilada até se obter um pH neutro.

### 2.2 Síntese e desproteção do polímero

Em um béquer misturou-se PEG, BOCGLi, DMAP e diclorometano. Essa solução foi gotejada em uma solução de EDCL também em diclorometano, sob atmosfera inerte e banho de água e gelo. A

mistura resultante foi agitada durante 24 horas e, posteriormente, o solvente foi evaporado em um rotaevaporador.

O sólido obtido foi desprotegido através de sua solubilização em diclorometano e TFA sob agitação durante três horas.

Para a precipitação do sólido final, foi adicionado éter congelado e, em seguida, sua decantação.

### 2.3 Funcionalização com polímero

O ferrofluido foi dissolvido em água destilada e, em seguida, teve seu pH ajustado para 3 através da adição lenta de uma solução de ácido clorídrico. Após o ajuste adicionou-se o polímero desprotegido e MeOPEGA480, mantendo sob agitação e aquecimento a 60°C durante dois dias.

Para finalizar a funcionalização, ajustou-se o pH até aproximadamente 7.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Espalhamento da Luz Dinâmica

O tamanho médio das partículas foi de 135,5 nm, o gráfico a seguir ilustra a distribuição de tamanho em relação ao número de partículas.

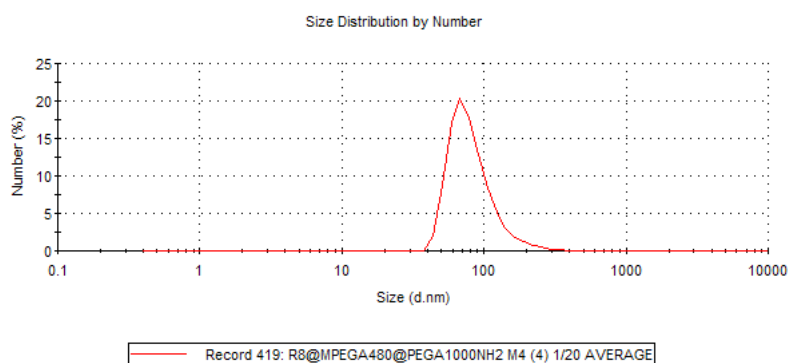


Figura 1. Distribuição de tamanhos das partículas de ferrofluido em função do número de partículas.

### 3.2 Potencial Zeta

A Figura 2 ilustra o gráfico da distribuição de potencial zeta das partículas, sendo em média 17,3 mV, o que indica boa estabilidade em solução.

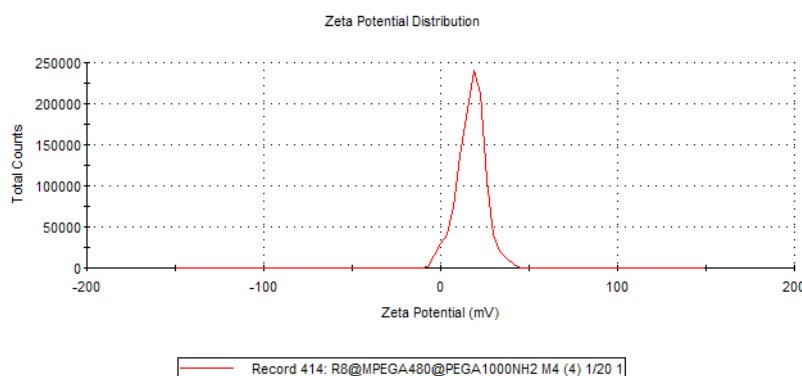
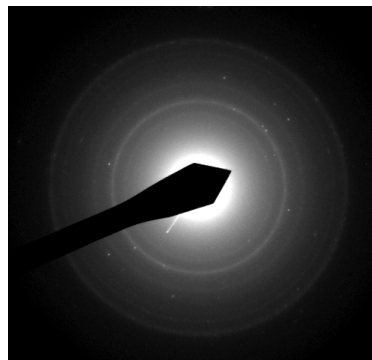


Figura 2. Distribuição do potencial zeta da amostra de ferrofluido.

### 3.3 Microscopia Eletrônica de Transmissão

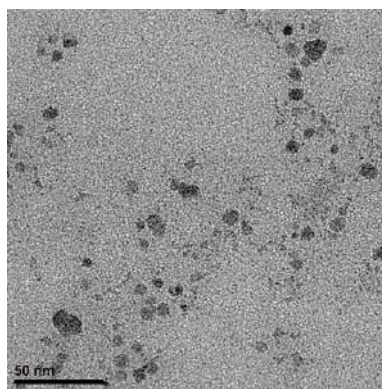
A Figura 3 ilustra a imagem obtida por TEM para a amostra de ferrofluido, anteriormente a sua funcionalização com polímero.



**Figura 3.** Imagem de TEM da amostra de ferrofluido com aumento de 40x.

Nesta figura é possível se verificar claramente os 6 anéis típicos da magnetita, comprovando a síntese das nanopartículas de óxido de ferro.

A amostra recoberta com polímero também foi observada em TEM, e a imagem resultante está ilustrada na Figura 4.



**Figura 4.** Imagem de TEM da amostra após funcionalização com aumento de 80000x.

A baixa nitidez da imagem está relacionada à limitação do TEM em relação a polímeros.

## 4 CONCLUSÃO

As nanopartículas de magnetita foram sintetizadas e funcionalizadas com polímero satisfatoriamente e com distribuição de tamanhos e estabilidade adequadas para sua aplicação da biomedicina.

## AGRADECIMENTOS

Agradecimento especial ao Programa Ciência sem Fronteiras (CNPq), ao Instituto de Ciência dos Materiais (ICMA – Espanha) e a CAPES.

## REFERÊNCIAS

ASSIS, Leticia Marques de et al. Revisão: Características de nanopartículas e potenciais aplicações em alimentos. *Brazilian Journal Of Food Technology*, Campinas, p. 1-11. abr. 2012.

ALVES, Tatiana Midori Martins Telles. Síntese e caracterização de nanopartículas de óxidos de ferro para aplicações biomédicas. 2007. 99 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Física, Unicamp, Campinas, 2007.

FITZPATRICK, Scott D. et al. Temperature-sensitive polymers for drug delivery. Temperature-sensitive Polymers For Drug Delivery: Expert Review Of Medical Devices, Canada, v. 9, n. 4, p.339-351, jul. 2012.

FLORENZANO, Fábio H.. Polímeros: Ciência e Tecnologia. Pouso Alegre: Univas, 2008. 100-105 p.

---

## OBTENÇÃO DE PÓS E FILMES NANOESTRUTURADOS À BASE DE ÓXIDO DE ZINCO

\*Ariane Porto Ruiz<sup>1</sup>, Rafaela da Silveira André<sup>1</sup>, Alessandra Carla Mendes<sup>2</sup>, Elaine Cristina Paris<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Química, UFSCar, São Carlos, SP. <sup>2</sup> Instituto de Física, USP, São Carlos, SP.

<sup>3</sup> Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP.

\*nanequimicaufscar@gmail.com

**Classificação:** Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio.

### Resumo

O objetivo deste projeto é desenvolver e caracterizar pós e filmes nanoestruturados de ZnO e  $(Zn_{x-1}In_x)O$ . Nesta etapa do projeto foi realizada otimização do procedimento experimental para obtenção dos mesmos. Através de tratamento térmico de resinas poliméricas preparadas a partir do método dos precursores poliméricos (Pechini) utilizando acetato de zinco como precursor foi obtido pós de ZnO puro e dopado com In nas proporções (m/m) de 10% de In para 90% de Zn. Estes foram os parâmetros de síntese inicial para a obtenção dos filmes. A caracterização da amostra foi feita por difração de raios X, onde se pode observar a formação da fase cristalina bem definida, identificada como ZnO com estrutura wurtzita. Os difratogramas também mostram um aumento da cristalinidade. As deposições iniciais para a obtenção de filmes foram realizadas sobre substrato de vidro comercial a partir da técnica de “*dip-coating*”. Foi modificada a viscosidade da resina para otimização dos parâmetros. Os resultados obtidos indicam que se deve variar outros parâmetros simultaneamente à viscosidade e que não foi possível inserir o In na rede cristalina de forma eficiente.

**Palavras-chave:** Filmes Finos; nanopartículas; ZnO.

### OBTAINING OF NANOSTRUCTURED POWDERS AND FILMS BASED ON ZINC OXIDE

#### Abstract

The objective of this work is to develop and characterize nanostructured films based on the deposition of ZnO and  $(Zn_{x-1}In_x)O$  on the glass substrates. The optimization of the experimental procedure was carried out obtaining pure and doped ZnO films with addition of indium in a proportion of 10% mol percentage. The powders was obtained by heat treatment of polymeric resins prepared from polymeric precursor method (Pechini), using zinc acetate as a precursor. The obtained material was characterized by X-ray diffraction, and it can be observed the formation of well-defined crystalline phase identified as ZnO wurtzite structure. The XRD patterns also indicated that the annealing temperature increasing results in a better definition of the peaks, suggesting an increase of the crystallinity. The initial deposition to obtain films were performed on commercial glass substrate using the dip-coating technique. The resin viscosity was varied for the optimization of the parameters. The obtained results indicated that other parameters should be simultaneously varied. The indium not entered in the ZnO lattice as was expected.

**Keywords:** Thin Films; ZnO.

**Publicações relacionadas:** Trabalho apresentado na VI Jornada Científica – Embrapa São Carlos no dia 06 de junho de 2014.

## 1 INTRODUÇÃO

No cenário econômico atual, o Brasil apresenta-se como grande produtor de frango para corte, atividade esta que gera grandes benefícios sociais a população em geral, mas existe uma preocupação em relação à qualidade do ambiente em aviários, especialmente em relação à amônia que se desprende

da cama e afeta a saúde animal. Os níveis de amônia até 50 ppm não são percebidos como nocivos pelos criadores, pois teoricamente o olfato humano não detecta a presença de amônia em níveis abaixo de 20 ppm<sup>[1-3]</sup>. O objetivo deste projeto é desenvolver e caracterizar pós e filmes nanoestruturados de ZnO e  $(\text{Zn}_{1-x}\text{In}_x)\text{O}$ , uma vez que a sensibilidade de materiais na nanoestruturados como ZnO, SnO e  $\text{In}_2\text{O}_3$ , sintetizados por sol-gel é conhecida e satisfatória<sup>4</sup>.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 ZnO puro – Obtenção e Caracterização de pós e filmes

Resinas poliméricas e pós de ZnO foram sintetizados através do método dos precursores poliméricos, utilizando-se acetato de zinco [ $\text{Zn}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2$ , Synth] como precursor. Considerando a proporção molar de Zn / ácido cítrico igual a 1:6, o acetato de zinco foi adicionado à solução aquosa de ácido cítrico anidro ( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ , Vetec) sob agitação constante, juntamente a 5 mL de  $\text{HNO}_3$  para evitar a precipitação. Etilenoglicol ( $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}_2$ , J.T. Backer) foi adicionado à solução de citrato de Zn considerando a razão em massa de ácido cítrico / etilenoglicol igual a 3:2. Essa solução foi mantida em agitação constante e aquecida à temperatura de 80-90°C a fim de promover a reação de poliesterificação e evaporação do excesso de solvente. Durante esta etapa de aquecimento a 80-90°C foi feito o ajuste da viscosidade das resinas em 15 cP e 25cP, as quais foram utilizada na deposição de filmes pela técnica de *dip-coating*. Para a obtenção dos pós de ZnO, parte dessas resinas resultantes foram calcinada a 300°C por 2h com taxa de aquecimento de 10°C/min. O pó resultante foi macerado em almofariz de ágata e dividido em três porções, as quais foram tratadas termicamente a 400, 500 e 600°C por 2h, com taxa de aquecimento de 10°C/min. A caracterização estrutural destas amostras foram feitas através de medidas de DRX. Para a obtenção dos filmes de ZnO, após a deposição em substrato de vidro comum, o filme foi calcinado a 300°C por 2h com taxa de aquecimento de 1°C/min e em seguida foi tratado termicamente a 500°C por 2h, com taxa de aquecimento de 5°C/min. Tal procedimento foi repetido a cada deposição totalizando 4 camadas de filme.

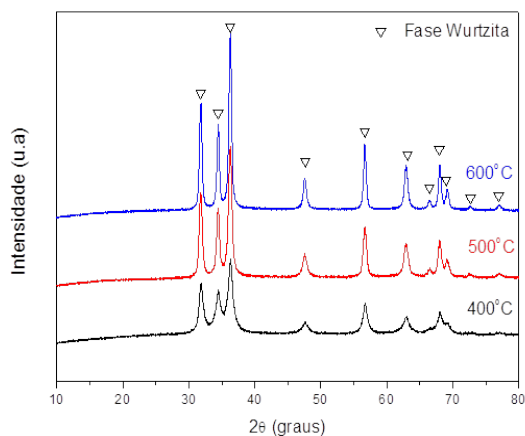
### 2.2 $(\text{Zn}_{1-x}\text{In}_x)\text{O}$ – Obtenção e Caracterização de pós

Os pós de  $(\text{Zn}_{1-x}\text{In}_x)\text{O}$  foram sintetizados através do método dos precursores poliméricos, utilizando-se acetato de zinco [ $\text{Zn}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2$ , Synth] e cloreto de zinco [ $\text{ZnCl}_2$ , Sigma Aldrich] como precursor. Considerando a proporção molar de  $(\text{Zn}+\text{In})$  / ácido cítrico igual a 1:6, e a proporção entre zinco e índio como 10% de índio. Os precursores foram adicionado à solução aquosa de ácido cítrico anidro ( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ , Vetec) sob agitação constante, juntamente a 5 mL de  $\text{HNO}_3$  para evitar a precipitação. Etilenoglicol ( $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}_2$ , J.T. Backer) foi adicionado à solução considerando a razão em massa de ácido cítrico / etilenoglicol igual a 3:2. Essa solução foi mantida em agitação constante e aquecida à temperatura de 80-90°C a fim de promover a reação de poliesterificação e evaporação do excesso de solvente. Essas resinas resultantes foram calcinadas a 300°C por 2h com taxa de aquecimento de 10°C/min. O pó resultante foi macerado em almofariz de ágata e dividido em três porções, as quais foram tratadas termicamente a 400, 500 e 600°C por 2h, com taxa de aquecimento de 10°C/min. A caracterização estrutural destes foi feita através de medidas de DRX.

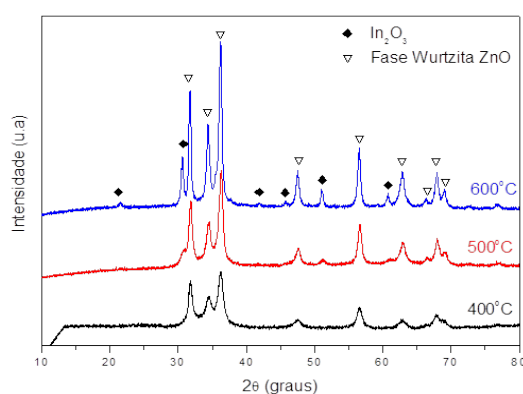
## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No difratograma realizado para as amostras de ZnO puro (Figura 1) pode-se observar a formação da fase wurtzita, com picos bem definidos e característicos para ZnO. Observa-se também aumento da cristalinidade proporcional ao aumento da temperatura de tratamento térmico. Analisando o difratograma realizado para as amostras de  $(\text{Zn}_{0,90}\text{In}_{0,10})\text{O}$  (Figura 2) pode-se observar que há a formação da fase wurtzita, com picos bem definidos e característicos para ZnO para as amostras tratadas a 400°C e 500°C, já para a amostra a 600°C observa-se o surgimento de picos característicos do  $\text{In}_2\text{O}_3$ , o que indica que não houve a entrada do dopante na estrutura. Uma possível causa é o excesso de dopante, tornando então necessária a variação de tal parâmetro em etapas futuras.





**Figura 1.** DRX ZnO puro



**Figura 2.** Difratogramas obtidos por DRX das amostras de  $(\text{Zn}_{0,90}\text{In}_{0,10})\text{O}$  tratadas termicamente de 400 a 600°C por duas horas.

### 3.1 Caracterização dos Filmes – EDS

A partir dos dados obtidos através do EDS (Figura 3), pode-se observar uma concentração de silício presente na imagem indicando que o filme apresenta imperfeições não recobrindo por completo o substrato. Em contrapartida, nas regiões onde o material se encontra é possível notar uma distribuição homogênea de Zn e O, indicando a ausência de contaminantes nessa região.

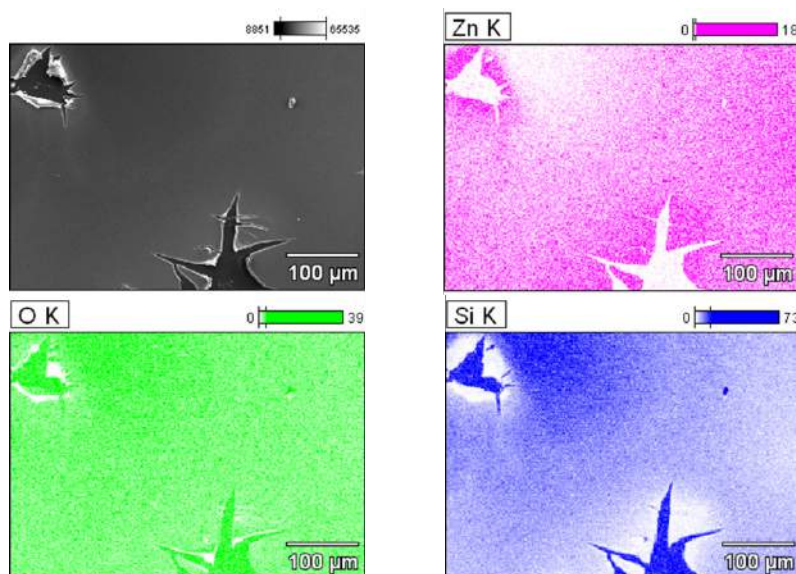


Figura 3. EDS do filme de ZnO puro com viscosidade 25cP.

#### 4 CONCLUSÃO

Conclui-se que a proporção de In deve ser variada bem como outros parâmetros para que se torne possível a dopagem.

Em decorrência da não-uniformidade dos filmes obtidos, é de fundamental importância dar continuidade ao processo de otimização de síntese para que posteriormente os filmes possam ser depositados em substratos com eletrodos e serem testados no sensoriamento da amônia.

#### AGRADECIMENTOS

Embrapa Instrumentação, CNPq, CAPES.

#### REFERÊNCIAS

1. Oliveira, C.V.A.D.O.A.M.C., Teor de Matéria Seca, pH e Amônia Volatilizada da Cama de Frango Tratada ou Não com Diferentes Aditivos. . Rev. Bras. Zootec, 2003. 32: p. 951-954.
2. Miagliotta, I.A.N.M.S.B.M.E.C.A.M.Y., Qualidade do Ar de Dois Sistemas Produtivos de Frangos de Corte com Ventilação e Densidade Diferenciadas – Estudo de Caso. Eng. Agríc., 2002. 22: p. 1-10.
3. Sampaio, M.A.P.M., et al., Estudo da População Microbiana e da Liberação de Amônia da Cama de Frango Tratada com Gesso Agrícola. . Arq. Bras. Méd. Vet. Zootec., 1999. 51: p. 559-564.
4. Rout, C.S., et al., Ammonia sensors based on metal oxide nanostructures. Nanotechnology, 2007. 18(20).

## ESTUDO DA SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE MAGNETITA PELO MÉTODO SOLVOTÉRMICO A PARTIR DE CLORETO DE FERRO E FERRO METÁLICO

\*Fernando Barbosa de Freitas Silva<sup>1</sup>, Caue Ribeiro Oliveira<sup>2</sup>, Elaine Cristina Paris<sup>2</sup>, Geraldo Magela da Costa<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de São Carlos, Departamento de Química. <sup>2</sup>Embrapa Instrumentação – Laboratório Nacional de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio. <sup>3</sup>Universidade Federal de Ouro Preto, Departamento de Química.  
\*fernandofreitas2@gmail.com

**Classificação:** Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio.

### Resumo

Este trabalho apresenta o desenvolvimento e a otimização da síntese de nanopartículas magnéticas compostas de óxido de ferro por um método solvotérmico com álcool benzílico utilizando-se cloreto de ferro(III) hexahidratado como precursor metálico em substituição ao acetilacetato de ferro(III). Os parâmetros de síntese foram estudados e variados para se obter um alto rendimento de magnetita. Ferro metálico foi avaliado como um agente redutor e fonte de ferro. Além disso, a utilização de ureia como agente precipitante foi crucial para o aumento do rendimento de magnetita, reduzindo a acidez do meio e, ao mesmo tempo, induzindo a precipitação dos íons  $Fe^{2+}$ . Longos tempos de tratamento e ausência de agitação levaram a um aumento no rendimento de magnetita, cujo processo de formação seguiu a “Ostwald setp rule”. As partículas foram caracterizadas por difração de raios X, espectroscopia Mössbauer, FTIR e MET, e um rendimento máximo de 97% de magnetita foi alcançado. A polimerização do álcool benzílico durante o tratamento solvotérmico demonstrou-se importante no recobrimento das nanopartículas.

**Palavras-chave:** Nanopartículas magnéticas; Magnetita; Método solvotérmico, Método Rietveld

### STUDY ON THE SYNTHESIS OF MAGNETITE THROUGH SOLVOTHERMAL METHOD BASED ON IRON CHLORIDE AND METALLIC IRON

#### Abstract

This paper presents the development and optimization of the synthesis of magnetic nanoparticles composed of iron oxides by a solvothermal method with benzyl alcohol using iron(III) chloride hexahydrate as metallic precursor in substitution of iron(III) acetylacetonate. The synthesis parameters were studied and varied to obtain a high yield of magnetite. Metallic iron was evaluated as a reducing agent and iron source. Furthermore, the use of urea as a precipitation agent was crucial to increasing the yield of magnetite, at once reducing the acidity of the medium and inducing the precipitation of  $Fe^{2+}$  ions. Longer treatment times and no stirring led to an increase in the yield of magnetite, whose formation process followed the Ostwald step rule and a 97% maximum yield of magnetite was achieved. The polymerization of benzyl alcohol during the solvothermal treatment was shown to play an important role in the nanoparticle capping.

**Keywords:** Magnetic nanoparticles; Magnetite; Solvothermal method, Rietveld method

**Publicações relacionadas:** indicar as publicações relacionadas com o trabalho.

Silva, F. B. F.; Paris, E. C.; Ribeiro, C.; Synthesis of magnetic nanoparticles through solvothermal method for enzyme immobilization. XI Encontro da Sociedade Brasileira de Pesquisa em Materiais, Florianópolis, 2012.

## 1 INTRODUÇÃO

Nanopartículas magnéticas estáveis, em especial as de óxido de ferro (magnetita e maghemita) despertam grande interesse em pesquisadores de vários campos do conhecimento. São consideradas materiais biocompatíveis, que apresentam fortes propriedades magnéticas e baixa toxicidade. Tais propriedades possibilitam sua utilização na produção de fluidos magnéticos, em dispositivos de armazenamento de dados e em processos biomédicos como a separação celular, carregamento de fármacos, tratamentos de hipertermia, contrastes para a obtenção de imagens por ressonância magnética nuclear e imobilização

de enzimas e proteínas (SCHÜTH et al., 2007) (JORDAN et al., 2011).

Tais nanopartículas recobertas com catalisadores promovem a fácil recuperação destes em reações em estado líquido sem que estes percam facilmente a sua atividade e enantioselectividade. Catalisadores tão pequenos e magneticamente separáveis podem combinar as vantagens de alta dispersão e reatividade com fácil separação, e a redução de custos pela reciclagem desses catalisadores.

Na síntese solvotérmica, o solvente orgânico atua não somente como o solvente da solução, pode atuar também como ligante orgânico e surfactante, e pode ser fonte de oxigênio para a formação de óxidos. Este trabalho teve por objetivo a obtenção de nanopartículas magnéticas de óxido de ferro por meio do método solvotérmico com álcool benzílico segundo o método descrito por Pinna et al (2005) utilizando-se como precursores metálicos os cloretos de ferro (III) hexahidratado e ferro metálico (PINNA et al., 2005)

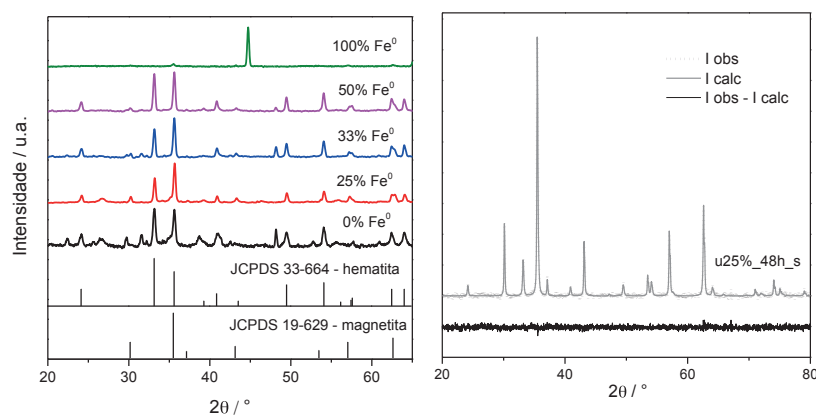
Os resultados obtidos indicam que o método proposto possibilitou a formação de óxidos de ferro em escala nanométrica com alto rendimento de fases magnéticas

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Todos os procedimentos de síntese foram realizados em atmosfera inerte de  $N_2$  em glovebox ( $[H_2O] < 0,1ppm$ ). Os precursores de ferro, totalizando sempre 4,5 mmol de Fe e 1,0g de ureia (16.6 mmol), foram adicionados a 30mL de álcool benzílico contido em uma cápsula de borossilicato de 60mL em agitação magnética. Após a homogeneização da suspensão, a cápsula foi colocada um reator do tipo autoclave que foi cuidadosamente vedado. O reator foi retirado da glovebox e aquecido a  $250^\circ C$  por diferentes tempos utilizando-se um controlador de temperatura. As suspensões resultantes foram centrifugadas a 7000 rpm, os precipitados lavados com acetona e etanol, e secados em estufa a  $70^\circ C$ . As partículas obtidas foram identificadas e caracterizadas por meio de difração de raios X com radiação  $Cu K\alpha$ , espectroscopia Mössbauer, microscopia eletrônica de transmissão, FTIR, e os subprodutos por FTIR e RMN- $H^1$ .

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O efeito do ferro metálico na formação da magnetita foi avaliado variando-se a sua fração na concentração total de ferro no sistema. Os difratogramas dos produtos obtidos nessa primeira avaliação estão apresentados na Fig. 1a, onde é possível observar que o maior rendimento de magnetita na mistura de fases (magnetita e hematita) foi obtido com 25% de ferro metálico. O rendimento de magnetita aumentou significativamente com a adição de ureia e com o aumento do tempo de reação para 48 e 96 horas (PIMPFA, CHALEATWLERT-UMPON, 2012). O difratograma do produto obtido na síntese de 48 horas pode ser observado na Fig. 1b, onde encontra-se também o difratograma calculado pelo método de refinamento de Rietveld. As frações de magnetita calculadas pelo Método Rietveld estão apresentadas na Tab. 1, onde encontram-se também as frações obtidas pelos dados de espectroscopia Mössbauer, que confirmaram a identificação da magnetita e também a presença de pequenas quantidades de goetita e de magnetita não estequiométrica e/ou maghemita.



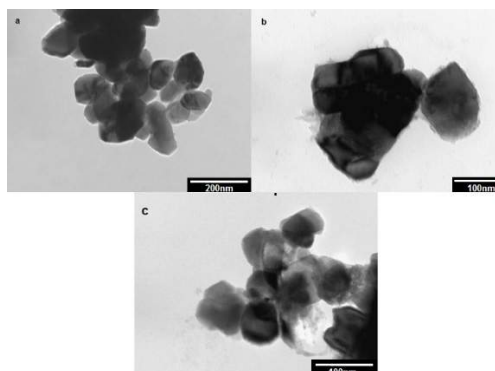
**Figura 1.** a) Difratogramas dos produtos obtidos variando-se a fração de ferro metálico; b) Difratogramas observado e calculado do produto obtido na síntese realizada em 48 horas..

**Tabela 1.** Quantificação das fases obtidas por Método Rietveld e Espectroscopia Mössbauer.

Amostra	Rietveld			Mössbauer	
	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	FeO(OH)
u25%_24h_s	61,9	38,1	60,9	35,4	3,6
u25%_48h_s	76,0	24,0	76,5	19,5	4,0
u25%_96h_s	83,5	16,5	-----	-----	-----
u25%_96h_ns	95,8	4,2	90,0	5,0	5,0
u12%_96h_ns	97,4	2,6	96,0	1,0	3,0

As siglas u25%\_24h\_s, u25%\_48h\_s e u25%\_96h\_s correspondem às amostras sintetizadas com 25% de ferro metálico, submetidas a tratamentos de 24, 48 e 96 com agitação magnética; u25%\_96h\_ns corresponde à síntese realizada com 25% de ferro metálico e 96 horas de tratamento sem agitação e a sigla u12%\_96h\_ns corresponde à síntese com 12% de ferro metálico e 96 horas de tratamento sem agitação.

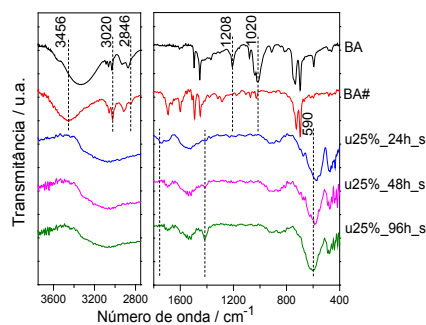
As partículas foram observadas por microscopia eletrônica de transmissão (Fig 2.) e exibem uma boa regularidade de tamanhos, com diâmetro médio de 70nm nas sínteses realizadas em 24, 48 horas e 96 horas.

**Figura 2.** Microscopia eletrônica de transmissão da amostra sintetizada com ureia e 25% de Fe<sup>0</sup> em: a) 24h, b) 48h e c) 96h

A espectroscopia no infravermelho foi utilizada para se investigar as espécies orgânicas na superfície das partículas (Fig. 3). Para isto foram obtidos espectros pelo modo de refletância difusa das amostras Ur24h, Ur48h e Ur96h; e estes foram comparados aos espectros do álcool benzílico puro e de uma amostra do solvente polimerizado obtido como subproduto de uma das sínteses.

Comparando-se os espectros do álcool benzílico e do subproduto polimerizado é possível inferir que os anéis aromáticos se mantêm inalterados com o processo de polimerização, visto que as bandas atribuídas às ligações do anel coincidem em ambos os espectros. A diminuição da intensidade das bandas relacionadas às ligações com o oxigênio está em concordância com a hipótese de polimerização do solvente e as ligações O-H remanescentes devem-se ao fato de a polimerização não ter sido completa. Os espectros das amostras Ur24h, Ur48h e Ur96h exibiram a banda característica da ligação Fe-O para a magnetita em torno de 580cm<sup>-1</sup>.

A polimerização do álcool benzílico ocorrida durante o tratamento solvotérmico levou à formação de um sobrenadante escuro e de alta viscosidade, com liberação de água, e ocorreu por meio de reações do tipo alquilação de Friedel-Crafts. A polimerização do álcool benzílico foi verificada também por meio de espectroscopia de ressonância magnética nuclear, utilizando-se o álcool benzílico puro (BA) e uma amostra do subproduto polimerizado.



**Figura 3.** Espectros na região do infravermelho (FTIR) do solvente (BA), do solvente polimerizado (BA#) e das amostras u25%\_24h\_s, u25%\_48h\_s e u25%\_96h\_s: a) de 3750 a 2750 $\text{cm}^{-1}$  b) de 1800 a 400 $\text{cm}^{-1}$

#### 4 CONCLUSÃO

O estudo apresentado neste trabalho sugere que a síntese solvotérmica com álcool benzílico é um método promissor para a obtenção de nanopartículas de magnetita, na presença de ureia, a partir do cloreto ferro(III) hexahidratado, com alta estabilidade e a baixa dispersão de tamanhos.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Fapesp, CNPq, Finep, Capes e Projeto MP1 Rede Agronano – Embrapa.

#### REFERÊNCIAS

JORDAN, J.; KUMAR, C. S. S. R. & THEEGALA, C. “Preparation and Characterization of cellulose-bound magnetite nanoparticles”. *Journal of Molecular Catalysis B-Enzymatic*, v.68: p. 139-146, 2011.

PIMPHA, N.; CHALEATWLERUMPON, S.; Morphology-controlled magnetite nanoclusters via polyethyleneimine-mediated solvothermal process. *Materials Chemistry and Physics*, v.135, p. 1-5, 2012.

SCHÜTH, F., SALABAS, E. L., LU, A., *Magnetic Nanoparticles: Synthesis, Protection, Functionalization, and Application*. *Angewandte Chemie* v.46, p. 1222-1244, 2007.

PINNA, N., GRANCHAROV, S., BEATO, P., BONVILLE, P., ANTONIETTI, M., NIEDERBERGER, M., *Magnetite Nanocrystals: Nonaqueous Synthesis, Characterization, and Solubility*. *Chemistry of Materials*, v.17, p. 3044-3049, 2005.

## OTIMIZAÇÃO DA SÍNTESE DE ÓXIDO CÚPRICO: USO DE SURFACTANTE

\*Lílian Cruz Santos<sup>1,2</sup>, Flávia Stefanini Ribeiro<sup>1,2</sup>, Elaine C. Paris<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP. <sup>2</sup>Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP.

\*lilian.cruz@gmail.com

**Classificação:** Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio.

#### Resumo

O óxido de cúprico, CuO, apresenta diversas propriedades interessantes em nanoescala, que o tornam um material promissor em distintas aplicações. Este trabalho teve por finalidade otimizar a síntese de nanoestruturas de CuO, pois é conhecido que as propriedades físico-químicas dos materiais são afetadas

pelo tamanho e forma das partículas. A metodologia de síntese utilizada foi o método de precipitação instantânea. Foram utilizadas concentrações diferentes do surfactante Polietilenoglicol 400 (PEG 400) para avaliar a sua influência na dispersão e controle do tamanho das partículas. Foi observado que o uso de PEG 400 reduz o tamanho, mas não melhora a dispersão das nanoestruturas. E que a síntese sem o uso de surfactante proporcionou partículas mais dispersas, aproximadamente esféricas, com tamanho em torno de 10 nm e cristalinas.

**Palavras-Chave:** Precipitação instantânea; Polietilenoglicol; Nanoestruturas; Óxido de Cobre.

## OPTIMIZATION OF SYNTHESIS CUPRIC OXIDE: USE OF SURFACTANT

### Abstract

Copper oxide CuO presents several interesting properties at the nanoscale, which make it a promising material for many different applications. This paper aims to optimize the synthesis of CuO nanostructures. It is known that the physical and chemical properties of the material are affected by the size and morphology. The quick precipitation method was used for synthesizing the nanoparticles. Different concentrations of the surfactant, polyethylene glycol 400 (PEG 400), were used to evaluate its influence on dispersion and particle size. It was observed that the use of PEG 400 reduces the particle size, but does not improve the dispersion of the nanostructures. The synthesis without the use of surfactant yielded approximately spherical nanoparticles, more dispersed particles with a diameter of around 10 nm and presented a crystalline structure.

**Keywords:** Quick precipitation; polyethylene glycol; nanostructures; Copper Oxide.

## 1 INTRODUÇÃO

Devido às diversas propriedades apresentadas por nanopartículas de CuO, esse material tem sido muito estudado no meio científico. Diversas metodologias de síntese são apresentadas para esse material, as quais produzem partículas de CuO em vários tamanhos e morfologias. Os pesquisadores Yang e colaboradores (2011) obtiveram nanopartículas de CuO com diversos tamanhos e formas, por precipitação química seguida pelo método hidrotermal, modificando parâmetros reacionais. Dessa forma, estes autores produziram nanoflores e nanobarcos, alterando o tempo de reação hidrotermal e adicionando polietilenoglicol ou amônia, obtiveram nanoplacas e nanoelipsóides, respectivamente (YANG et al., 2011).

Dentre as diversas aplicações do CuO, destacam-se o seu potencial de inativação bacteriana e fúngica, por intermédio da geração de radicais livres. Paschoalino e colaboradores (2008) mostraram a inativação de *E. coli* em função da área superficial e da concentração de nanopartículas de CuO sob irradiação de luz visível ( $\lambda \sim 360$  nm). Quanto maior a área superficial das nanopartículas, menor a concentração mínima inibitória necessária do composto. Com a utilização de iluminação visível, foi apresentada uma inativação de 100% em apenas 4 h de ensaio (PASCHOALINO et al., 2008). Assim, o objetivo principal desse trabalho foi a síntese de nanopartículas de CuO, pelo método de precipitação instantânea e avaliação da influência do PEG 400 sobre a dispersão, morfologia e tamanho das partículas durante a síntese.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Preparação das nanopartículas de óxido de cobre

Iniciou-se a síntese com adição de 1 mL de ácido acético glacial à 300 mL de uma solução aquosa de acetato de cobre (0,02 M), num balão de fundo redondo equipado com um dispositivo de refluxo. A solução foi aquecida a 100 °C, com agitação vigorosa, e em seguida, PEG 400 foi adicionado ao meio reacional. Após a dissolução do surfactante, cerca de 0,8 g de NaOH sólido foi rapidamente adicionado ao meio em ebulição até o pH atingir o valor entre 6-7. Nesse ponto, ocorre a formação de uma grande quantidade de precipitado de coloração preta. Depois de ser arrefecido até à temperatura ambiente, o precipitado foi centrifugado, lavado uma vez com água destilada e três vezes com etanol absoluto, respectivamente, e, finalmente, seco em estufa a 100 °C.

## 2.2 Caracterização das nanopartículas

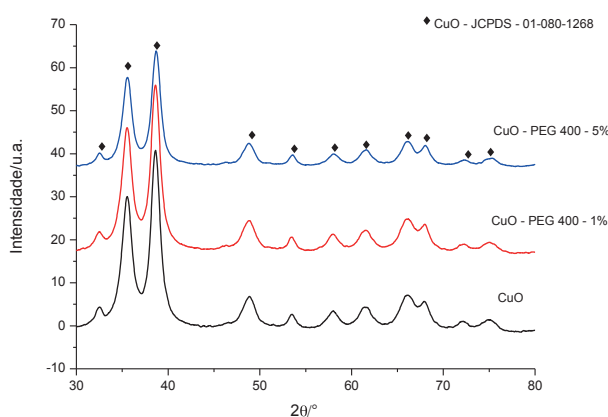
A análise de dispersão das partículas sintetizadas foi realizada por medidas do potencial zeta que permitem avaliar a estabilidade dos colóides em suspensão. O equipamento utilizado para caracterizar a dispersão foi o Zeta Sizer – Nano Series – ZS. Cerca de 1 mg da amostra foi disperso em 10 mL de água miliQ, com o auxílio do ultrassom de ponteira por 1 min. Uma alíquota dessa suspensão seguiu para a análise no equipamento Zeta.

Por microscopia eletrônica de varredura com fonte de emissão de campo (MEV-FEG) foi possível determinar a forma, tamanho e distribuição das nanopartículas. O equipamento usado nessa análise foi um JEOL JMS 6701F. Cerca de 1 mg das amostras foram dispersas em 10 mL de acetona e 5  $\mu$ L dessa dispersão foi gotejada sobre o porta amostras recobertos com tinta carbono.

A cristalinidade do material, pureza e estrutura cristalina das partículas de CuO foram determinadas pela técnica de difração de raios X. O equipamento utilizado foi o difratômetro de raios X Shimadzu modelo XRD-6000. Depois de desaglomerado, o precipitado em forma de pó, foi colocado num porta amostras e seguiu para o difratograma. A faixa utilizada para esta análise foi varredura  $\theta$ -2 $\theta$  de 10 a 80° com radiação Cu K $\alpha$ , empregando-se 30 kV e 30 mA em modo contínuo com velocidade de 1° min<sup>-1</sup>

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir dos difratogramas apresentados na Figura 1 pode-se observar que há formação de somente uma fase cristalina, a estrutura monoclinica do CuO, segundo a base de dados, Joint Committee on Powder Diffraction Standards (JCPDS) n° 01-080-1268 para todas as condições de síntese empregadas.



**Figura 1.** Difratograma de raios X das amostras de CuO com diferentes concentrações de PEG.

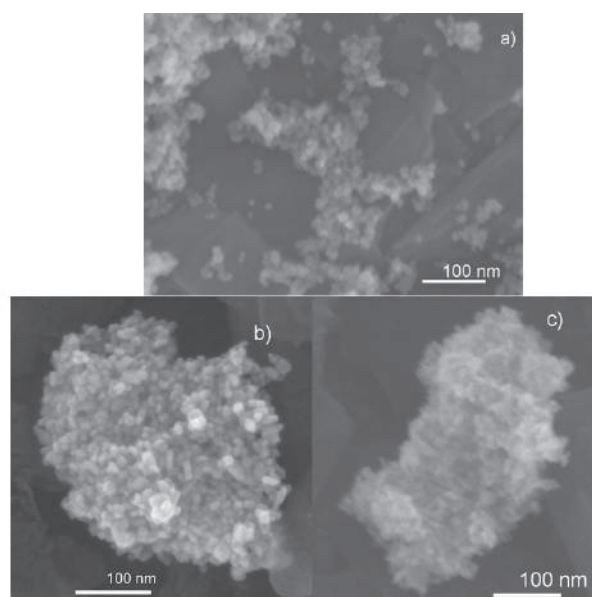
A Tabela 1 apresenta os valores do Potencial zeta obtidos pelas nanopartículas sintetizadas. Sabe-se que valores de potencial zeta acima de 30 mV indicam a estabilidade das partículas em solução. Analisando-se os valores obtidos por Potencial zeta, observa-se que ao aumentar a concentração do surfactante, a dispersão das nanopartículas de óxido de cobre é diminuída.

**Tabela 1.** Análise do potencial zeta em relação à quantidade do surfactante empregado

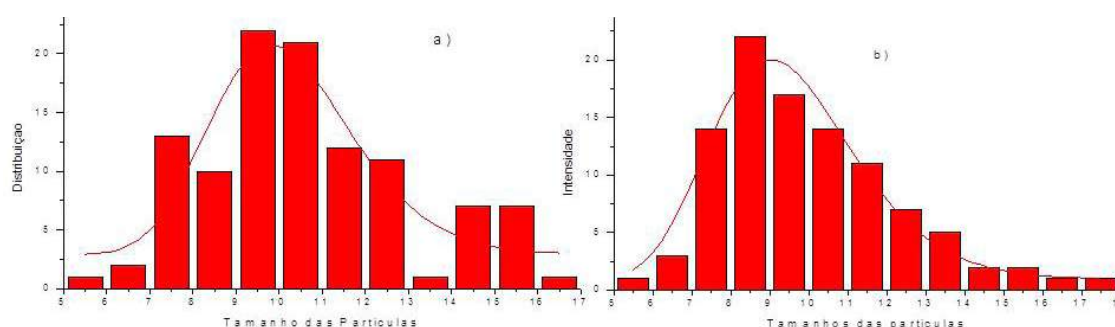
	Sem Surfactante	PEG 400 (1%)	PEG 400 (5%)
Potencial Zeta (mV)	36,5	28,9	13,8

A diminuição do tamanho das partículas e o aumento da aglomeração com o uso de PEG 400, também pode ser verificada ao analisar as imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV-FEG), apresentadas na Figura 2. Na Figura 3 estão ilustrados os resultados de distribuição destas amostras.





**Figura 2.** Imagens obtidas MEV-FEG. a) CuO sem surfactante; b) CuO com PEG 400 1%; c) CuO com PEG 400 5%.



**Figura 3.** Histogramas com a distribuição dos tamanhos das partículas. a) CuO sem surfactante; b) CuO com PEG 400 1%.

Por intermédio da análise das Figuras 2 e 3, observa-se que o surfactante reduziu a dispersão das partículas. Todavia, na amostra em que não usou-se surfactante (Fig. 2a e 3a), verifica-se que foram formadas partículas em torno de 10 nm, enquanto que o uso de 1% do surfactante resultou em partículas um pouco menores, 8-9 nm (Fig. 2b e 3b). Ao aumentar a concentração do PEG 400, houve uma redução das partículas, embora, devido aos limites de resolução do aparelho, a contagem do tamanho de partículas da amostra com 5% PEG 400 (Fig. 2c) não foi realizada. Desta maneira, verifica-se que com a utilização de PEG 400 em concentrações controladas é possível obter nanopartículas de CuO com tamanhos reduzidos.

#### 4 CONCLUSÃO

A metodologia empregada na obtenção de nanopartículas de CuO mostrou-se eficiente na síntese do material sem a presença de fases secundárias indesejáveis. Verificou-se também, que o aumento da adição de PEG 400 reduziu a dispersão e o tamanho das partículas. De modo que, as sínteses realizadas sem surfactante produziram partículas aproximadamente esféricas, com 10 nm de diâmetro, mais dispersas e cristalinas.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o suporte financeiro da CAPES, CNPq e EMBRAPA.

## REFERÊNCIAS

PASCHOALINO, M., GUEDES, N. C., JARDIM, W. MIELUARSKI, E., MIELCZARSKI, J. A., BOWEN, P., KIWI, L. Inactivation of E-coli mediated by high surface area CuO accelerated by light irradiation > 360 nm. Journal of Photochemistry and Photobiology a-Chemistry, v.199, n.1, Sep, p.105-111. 2008.

YANG, M. Q., HE, J. H. Fine tuning of the morphology of copper oxide nanostructures and their application in ambient degradation of methylene blue. Journal of Colloid and Interface Science, v.355, n.1, Mar, p.15-22. 2011.

---

## SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS ESFÉRICAS E MONODISPERSAS DE SÍLICA

\*Amanda Chiuzoli Silva<sup>1</sup>, Alessandra Carla Mendes<sup>2</sup>, Caue Ribeiro<sup>2</sup>, Elaine Cristina Paris<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP. <sup>2</sup>Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP.  
\*amanda.chiuzoli@yahoo.com.br

**Classificação:** Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio.

### Resumo

Nanopartículas de sílica (SiO<sub>2</sub>) ocupam uma posição de destaque na pesquisa científica e tecnológica em decorrência de suas aplicações industriais, como por exemplo no acabamento de têxteis, na remoção de contaminantes orgânicos da água residual ou até mesmo como carreadores de compostos ativos em fármacos. Nanopartículas esféricas e monodispersas de SiO<sub>2</sub> podem ser sintetizadas via método Stöber, o qual envolve a hidrólise e a policondensação de um alcóxido de silício (tetraetilortosilicato, TEOS) em etanol na presença de hidróxido de amônio. Parâmetros como a concentração de TEOS, água, amônia, solvente (etanol) e a temperatura da reação governam o tamanho e a distribuição das partículas. Neste trabalho, nanopartículas esféricas de sílica, com diâmetros variando de 35 a 280 nm e diferentes graus de aglomeração, puderam ser obtidas variando-se a proporção entre água e etanol em um sistema reativo contendo TEOS e uma mistura de água/etanol como solvente. O tamanho de partículas foi analisado por microscopia eletrônica de varredura com fonte de emissão de campo (MEV-FEG) e espalhamento dinâmico de luz (DLS).

**Palavras-chave:** Nanopartículas de sílica; Método de Stöber

### SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF SPHERICAL AND MONODISPERSED SILICA NANOPARTICLES

#### Abstract

Silica nanoparticles (SiO<sub>2</sub>) occupy a prominent position in scientific and technological research due to their industrial applications, such as the chemical finishing of textiles, the removal of certain organic contaminants from wastewater, as well as the potential in drug delivery. Monodisperse and spherical silica nanoparticles can be synthesized via Stöber method, which involves hydrolysis and polycondensation of tetraethylorthosilicate (TEOS) under alkaline conditions in ethanol. Parameters, such as the concentration of TEOS, ammonia, water, solvent (ethanol) and the reaction temperature govern the particle size and size distribution. In this work, spherical SiO<sub>2</sub> nanoparticles, with diameters ranging from 35 to 280 nm and different degrees of agglomeration could be obtained just by changing the ethanol/water ratio in a reactive system containing tetraethylorthosilicate (TEOS) and ethanol/water mixture as solvent. The particle size was examined by field emission scanning electron microscopy (FEG-SEM) and dynamic light scattering (DLS).

**Keywords:** Silica nanoparticles; Stöber method

## 1 INTRODUÇÃO

Em 1968, Stöber *et al.* (1) introduziu um método para a preparação de partículas esféricas e

monodispersas de sílica, o qual envolve a hidrólise e condensação de um alcóxido metálico, como o tetraetilortosilicato (TEOS) em etanol na presença de hidróxido de amônio. Após este estudo pioneiro envolvendo o método sol-gel, muitos estudos têm sido realizados nesta área. Este método tem sido bastante utilizado na síntese de nanopartículas devido à sua habilidade em controlar a morfologia, o tamanho e a distribuição destas partículas através do monitoramento dos parâmetros de síntese (2, 3). Neste contexto, os estudiosos da área acreditam que a concentração de TEOS, água, amônia, solvente (etanol) e a temperatura da reação são parâmetros que governam o tamanho e a distribuição das partículas de sílica. Dependendo das condições reacionais, a condensação pode levar à formação de um gel com estrutura tridimensional (monolito) ou à formação de partículas esféricas regulares e monodispersas.

A formação das partículas pode ser dividida em dois estágios: nucleação e crescimento, processos que são fortemente correlacionados com as taxas de hidrólise e condensação do TEOS. A competição entre os processos de nucleação é fortemente influenciada pela razão água/etanol. Sendo assim, o objetivo deste projeto foi avaliar a influência desta razão no tamanho final das partículas de  $\text{SiO}_2$ .

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Uma variação do método Stöber com diferentes proporções entre água/etanol foi usada na síntese de nanopartículas de sílica.  $(50-x)$  ml de etanol,  $x$  ml de água ( $x = 0, 10, 20$  e  $30$ ), 3 ml de hidróxido de amônio (28%) e 1.5 ml de TEOS foram misturados e mantidos em agitação magnética por 1h. As proporções molares podem ser vistas na Tabela 1. Os experimentos foram realizados em temperatura ambiente. A solução resultante foi submetida a um processo de centrifugação com lavagens de etanol. Após a realização de três etapas de centrifugação, as partículas de sílica resultantes do processo de condensação foram congeladas e posteriormente liofilizadas.

O tamanho das partículas foi analisado por microscopia eletrônica de varredura com fonte de emissão de campo (MEV-FEG) e espalhamento dinâmico de luz (DLS).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 mostra as imagens obtidas por MEV-FEG considerando diferentes proporções molares entre água/etanol, as quais podem ser vistas na Tabela 1. As proporções molares entre etanol/TEOS, assim como o valor do diâmetro médio ( $D_m$ ) das partículas, determinado a partir das imagens, também estão apresentadas nesta tabela. As imagens mostram que foi possível obter nanopartículas de sílica esféricas e monodispersas, com distribuição regular de tamanho cujos diâmetros variam de 35 a 280 nm.

**Tabela 1.** Valores do diâmetro médio das nanopartículas de  $\text{SiO}_2$ , variando-se os parâmetros de síntese

Amostra	Proporção molar Água/Etanol	Proporção molar Etanol/TEOS	$D_m$ (nm) <sup>a</sup>	$D_H$ (nm) <sup>b</sup>
1 ( $x=0$ )	0	128	110 +/- 30	189
2 ( $x=10$ )	0,9	102,3	260 +/- 20	322
3 ( $x=20$ )	2,2	76,6	280 +/- 40	289
4 ( $x=30$ )	4,9	51	35 +/- 5	534

<sup>a</sup>  $D_m$  corresponde ao diâmetro médio determinado a partir das imagens de MEV-FEG

<sup>b</sup>  $D_H$  corresponde ao diâmetro determinado por DLS

Medidas de DLS fornecem uma estimativa do tamanho das nanopartículas com base no espalhamento da luz. Nesta técnica, o valor encontrado para  $D_H$  pode ser influenciado pela presença de aglomerados. Observando os resultados apresentados na Tabela 1, para a maioria das amostras o valor de  $D_H$  é comparável ao valor de  $D_m$ . No entanto, para a amostra 4 o valor de  $D_H$  é muito maior que o valor de  $D_m$ , resultado que pode estar associado a um maior estado de aglomeração.

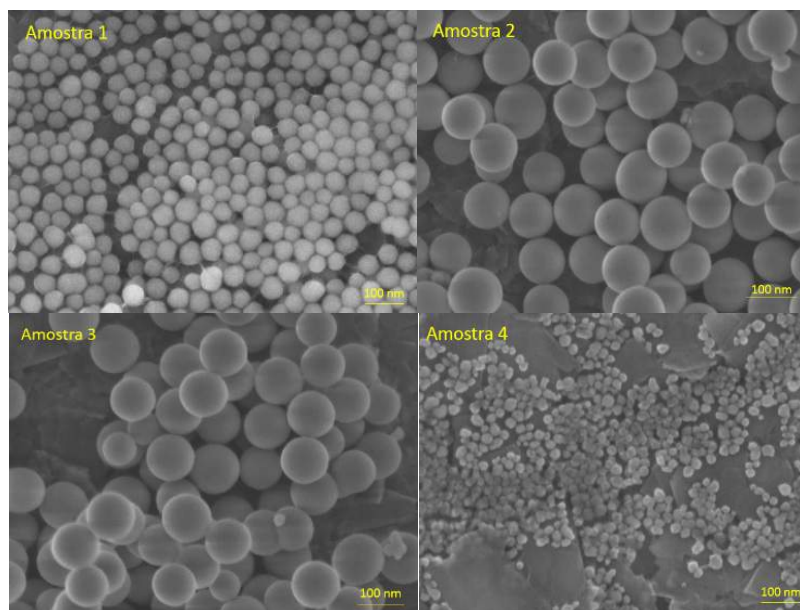


Figura 1. Micrografias obtidas por MEV-FEG das amostras listadas na Tabela 1

#### 4 CONCLUSÃO

Os resultados mostram que foi possível obter nanopartículas de  $\text{SiO}_2$  com diferentes diâmetros e graus de aglomeração apenas variando a proporção entre água/etanol em um sistema reativo contendo TEOS e uma mistura de água/etanol como solvente. Tais partículas serão modificadas quimicamente através do processo de silanização para que possam ser impregnadas em diferentes tecidos de algodão com o intuito de avaliar a impermeabilidade dos mesmos após a impregnação.

#### AGRADECIMENTOS

Gostaríamos de agradecer à EMBRAPA, CAPES, CNPq e à FINEP pelo suporte financeiro ao projeto.

#### REFERÊNCIAS

- [1] STÖBER, W.; FINK, A.; BOHN, E. Controlled growth of monodispersed spheres in the micron size range, *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 26, p. 62-69, 1968.
- [2] BERRÚ, R.S.; SANIGER, J.M.; FLORES, J.; ESPÍNDOLA, M.S. Simple Method for the Controlled Growth of  $\text{SiO}_2$  Spheres. *Journal of Materials Science and Engineering A*. v. 3, n. 4, p. 237-242, 2013.
- [3] LIMPO, J.; RUBIO, J.; OTEO, J.L. Estudio por FT-IR de la hidrólisis del tetraetilortosilicato. *Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio*. v. 32, n. 1, p.31-35, 1993.

---

## FOTOCATÁLISE DE PESTICIDAS EM ÁGUA PELO $\text{Nb}_2\text{O}_5$ HIDROTHERMAL

\*Érico Daniel Witzel dos Reis<sup>1</sup>, Luiz Ferreira Neves Junior<sup>1</sup>, Elaine Cristina Paris<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP. <sup>2</sup>Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP.  
\*ericodosreis@hotmail.com

**Classificação:** Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio.

## Resumo

Reservas de água do mundo têm vestígios de pesticidas que requerem um tratamento especial, uma vez que os métodos tradicionais são ineficientes. Um método possível para resolver este problema baseia-se na utilização de processos de oxidação avançada (POA), os quais consistem na produção de radicais livres altamente oxidantes para a degradação de moléculas orgânicas. A fotoexcitação banda UV-visível de um semicondutor é um exemplo de POA. Neste trabalho, o semicondutor utilizado foi  $\text{Nb}_2\text{O}_5$  nanoparticulado obtidos pelo método hidrotermal usando  $\text{NH}_4[\text{NbO}(\text{C}_2\text{O}_4)_2\text{H}_2\text{O}]\text{H}_2\text{O}$  como fonte de Nb, variando tempo de reação e quantidade de reagente.

As amostras foram caracterizadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e de difração de raios X (DRX). As respostas de degradação do agrotóxico atrazina por fotocatalise heterogênea foram realizadas utilizando-se  $\text{Nb}_2\text{O}_5$  sob radiação UV e analisadas por espectroscopia de UV-visível.

Observou-se que a degradação ocorre mais eficiente entre zero e a primeira hora de exposição à radiação ultravioleta. Também foi observado que a quantidade de amônia influencia na resposta da catalise sendo que quanto maior o volume empregado pior é a resposta. Não é possível distinguir as fases do  $\text{Nb}_2\text{O}_5$  pelo DRX.

**Palavras-chave:** Pentóxido de Nióbio; Hidrotermal, Fotocatalise, Atrazina

## PHOTOCATALYSIS OF PESTICIDES IN WATER BY HYDROTHERMAL $\text{Nb}_2\text{O}_5$

### Abstract

Water reserves in the world have traces of pesticides requiring special treatment, since the traditional methods are inefficient. A possible method for solving this problem could be based on the use of advanced oxidation processes (AOP), by means of the production of oxidizing radicals to degrade organic molecules. The photoexcitation in the UV-visible band of a semiconductor is an example of AOP. In this work, the semiconductor used was  $\text{Nb}_2\text{O}_5$  nanoparticles obtained by hydrothermal method using  $\text{NH}_4[\text{NbO}(\text{C}_2\text{O}_4)_2\text{H}_2\text{O}]\text{H}_2\text{O}$  as a source of Nb. The samples were characterized by scanning electron microscopy (SEM) and X-ray diffraction (XRD). The response of atrazine degradation was analyzed by UV-visible spectroscopy. It was observed that the degradation is most efficient between zero and one hour of exposure to ultraviolet radiation. It was also observed that the amount of ammonia influences the response of catalysis being the response worse in higher volume. It is not possible to distinguish the phases of  $\text{Nb}_2\text{O}_5$  by XRD

**Keywords:** Niobium Pentoxide; Hydrothermal, Photocatalysis, Atrazine

**Publicações relacionadas:** Dos Reis, E. D. W.; Neves Jr., L. F.; Paris, E. C.; Analysis of the photocatalytic effect of  $\text{Nb}_2\text{O}_5$  on pesticides in water. In: ENCONTRO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PESQUISA EM MATERIAIS, 12, 2013, Campos do Jordão. *Resumos...*

## 1 INTRODUÇÃO

Desde 2010 o Brasil ocupa o posto de maior consumidor de agrotóxicos do mundo, sendo que 68% dos pesticidas pulverizados se espalham pelo meio ambiente, fazendo com que grande parte atinja o solo e conseqüentemente a água.<sup>1</sup> Uma medida para tentar remediar esta contaminação é o uso de Processos Oxidativos Avançados (POAs), este processo consiste na formação de espécies altamente oxidantes que buscam mineralizar as moléculas orgânicas. Essas espécies podem ser geradas a partir de reações de fotoativação de um semicondutor usando radiação ultravioleta UV. Um semicondutor promissor e pouco explorado na área de catálise é o  $\text{Nb}_2\text{O}_5$ , além de apresentar propriedades químicas e físicas notáveis, o nióbio é altamente disponível no Brasil e apresenta baixo custo.

Este trabalho teve como objetivo principal avaliar uma possibilidade de empregar e agregar valor a um material abundante no Brasil, o nióbio buscando contribuir com a resolução de um problema ambiental e de saúde coletiva, a contaminação da água por agrotóxicos. Desta maneira, procurou-se traçar paralelos entre as características estruturais, morfológicas, superficiais do  $\text{Nb}_2\text{O}_5$  sintetizado pelo método hidrotermal e a sua atividade fotocatalítica frente a agrotóxicos como a atrazina.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 OBTENÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS

Nesta etapa foram realizados procedimentos para a obtenção de nanopartículas de  $\text{Nb}_2\text{O}_5$

pelo processamento hidrotermal. Usou-se, como precursor de Nb, o Oxalato Amoniacal de Nióbio ( $\text{NH}_4[\text{NbO}(\text{C}_2\text{O}_4)_2\text{H}_2\text{O}]\text{H}_2\text{O}$ ) de 99% de pureza cedido pela CBMM, variando tempo de reação e quantidade de reagente. Foi utilizado o método de coprecipitação. Desta maneira, foram obtidas suspensões, baseadas na hidrólise de um alcóxido ou sal do metal de interesse ( $\text{Nb}^{5+}$ ).

Dissolveu-se o reagente de partida em água sob constante agitação. Foi adicionada a solução  $\text{NH}_4\text{OH}$ , em diferentes volumes, sempre completando 100 mL de volume total da solução. Esta mistura reacional foi submetida ao processo hidrotermal, a 200°C por tempos que variaram de 12 a 24 horas.

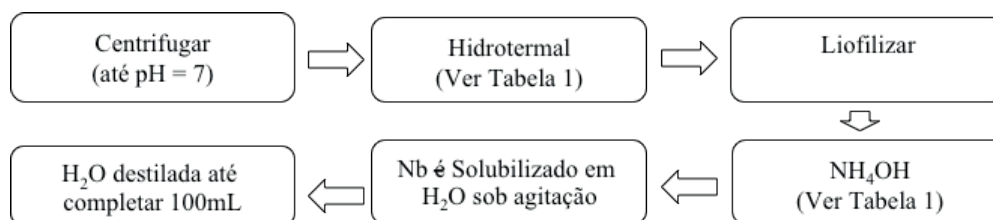


Figura 1. Fluxograma do procedimento experimental

Tabela 1. Amostras obtidas e parâmetros utilizados

Nome	$\text{NH}_4\text{OH}/\text{mL}$	t/h	T/°C
G008	15	12	200
G009	20	12	200
G010	10	12	200
G011	10	24	200

Após as sínteses, as amostras obtidas foram caracterizadas por difração de raios X (DRX), espectroscopia Raman e Infravermelho com transformada de Fourier e MEV-FEG. As respostas de degradação do agrotóxico Atrazina por fotocatalise heterogênea foram realizadas utilizando-se  $\text{Nb}_2\text{O}_5$  sob radiação ultravioleta (UV) e analisadas por espectroscopia de UV-visível.

## 2.2 ENSAIOS FOTOCATALÍTICOS

Foi avaliada a efetividade dos materiais sintetizados como fotocatalisadores para a degradação da atrazina. Para isto, uma solução contendo uma quantidade conhecida deste contaminante será transferida a um béquer sob agitação constante em um fotoreator de bancada com lâmpada UV-Vis. A eficiência de remoção foi acompanhada por espectrofotometria UV-Vis (espectrofotômetro Shimadzu UV-1601PC).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 CARACTERIZAÇÃO

Os resultados abaixo se referem à caracterização estrutural e formação de fases das amostras. A Figura 2 mostra os difratogramas obtidos a partir das amostras.

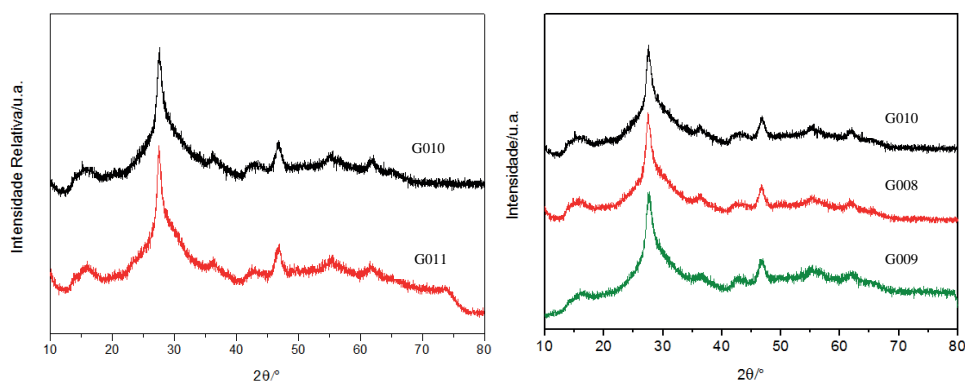


Figura 2. Difratogramas das amostras obtidas nas sínteses utilizando o Método Hidrotermal.

Pela análise da Figura 2, não foi possível identificar a fase obtida empregando-se o banco de dados do Joint Committee on Powder Diffraction Standards (JCPDS). Porém, é possível observar que as amostras obtidas apresentam cristalinidade e que o mesmo composto foi obtido em todos os processos de síntese.

Como técnica adicional para a caracterização estrutural, empregou-se espectroscopia Raman. Por intermédio da análises dos espectros obtidos, pode-se concluir que há vibrações referentes às ligações Nb=O na região  $\sim 900\text{ cm}^{-1}$ . Comparando os espectros com os obtidos por JEHNG et al. <sup>2</sup> observa-se grandes semelhanças, indicando a possibilidade do material sintetizado apresentar Oxalato de Nióbio.

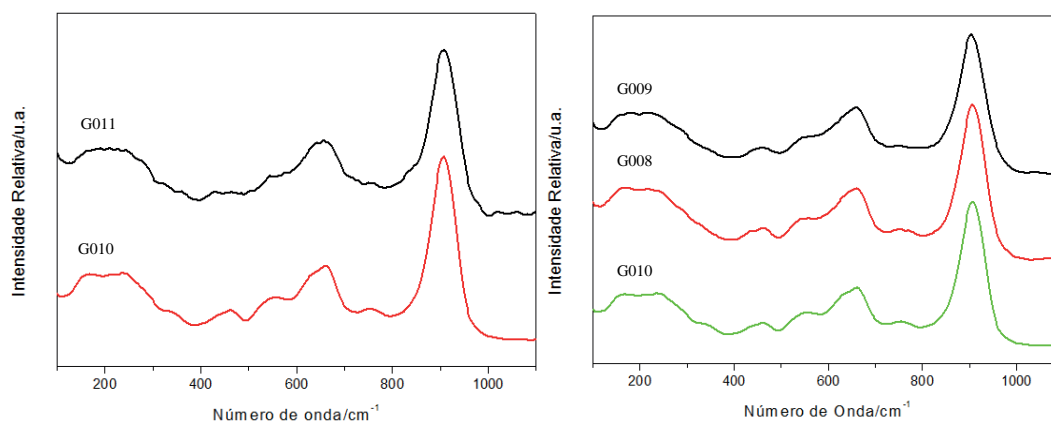


Figura 3. Espectro Raman das amostras obtidas nas sínteses utilizando o Método Hidrotermal.

### 3.2 TESTE FOTOCATALITICO

A Figura 4 ilustra espectro na região do UV-Visível da degradação da atrazina submetida à radiação UV pelo período de 1 hora. Já na Figura 5 observa-se o gráfico da degradação da atrazina utilizando os catalizadores.

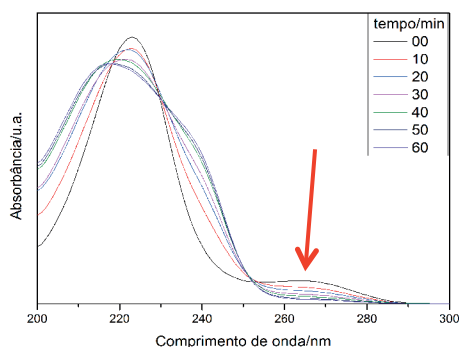


Figura 4. Espectro da degradação da atrazina por 1 hora. No destaque comprimento de onda 265nm característico da atrazina.

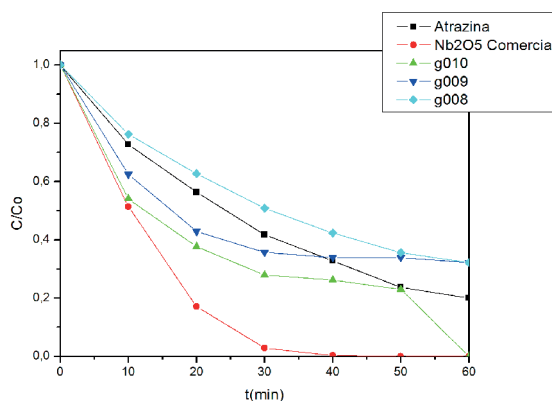


Figura 5. Curvas de  $C/C_0$  da degradação da atrazina.

Considerando que a degradação da atrazina é uma reação de primeira ordem e utilizando a lei de Lambert-Beer obteve-se a constante de degradação da atrazina  $k$ . Quanto maior o valor  $k$  mais eficiente foi a degradação. A TABELA 2 descreve o comportamento  $k$  de cada amostra.

Tabela 2. Valores  $k$  das amostras

Amostra	Valor $k$
Atrazina	0,0272
G008	0,0219
G009	0,0348
G010	0,0488
Nb <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (sigma-aldrich)	0,0473

Pode-se observar pela pelos valores de  $k$  que os materiais obtidos G009, G010 e o comercial apresentam atividade fotocatalítica em relação à atrazina. A Amostra G010 apresenta um resultado superior ainda ao Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub> comercial.

#### 4 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados apresentados e com os objetivos do trabalho, constata-se que as melhores condições de síntese para obtenção do óxido de nióbio para ser empregado na fotocatalise da atrazina corresponde à amostra G010, ou seja, com a utilização de 10mL de NH<sub>4</sub>OH processada no reator hidrotermal por 12 horas a 200°C.

Pode-se concluir, com esses resultados, que é viável o tratamento de águas contaminadas com atrazina utilizando o pentóxido de nióbio (Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub>).

#### AGRADECIMENTOS

CAPES, CNPq, FINEP, UFSCar

#### REFERÊNCIAS

<sup>1</sup> CARNEIRO, F. et al. Dossiê ABRASCO - Um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde. ABRASCO. Rio de Janeiro, p.135. 2012

<sup>2</sup> JEHNG, J. M.; WACHS, I. E. STRUCTURAL CHEMISTRY AND RAMAN-SPECTRA OF NIOBIUM OXIDES. Chemistry of Materials, v. 3, n. 1, p. 100-107, Jan-Feb 1991. ISSN 0897-4756.



## ESTUDO DE NANOCOMPÓSITOS DE HIDROXIAPATITA/ $\text{Nb}_2\text{O}_5$ NA FOTODEGRADAÇÃO DE PESTICIDAS

\*Henrique Cesar Musetti<sup>1</sup>, Tamires Barcellos Fonseca<sup>2</sup>, Luiz Ferreira Neves Júnior<sup>1</sup>, Érico dos Reis<sup>2</sup>, Elaine Cristina Paris<sup>3</sup>

<sup>1</sup>PPGQ-DQ-UFSCar, São Carlos, SP. <sup>2</sup>Graduação em Bacharelado em Química, UFSCar, São Carlos, SP. <sup>3</sup>Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP.

\*henriquemusetti@gmail.com

**Classificação:** Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio.

### Resumo

A busca por metodologias e tecnologias de tratamento de águas que possibilitem remoção eficiente ou a completa mineralização de poluentes orgânicos tem sido crescente. Assim, o presente trabalho objetivou avaliar a atividade *fotocatalítica* de nanopartículas de Hidroxiapatita (HAP) ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ), inicialmente puras, na degradação do pesticida Atrazina e, posteriormente, impregnadas com Óxido de Nióbio ( $\text{Nb}_2\text{O}_5$ ), a fim de verificar se o nanocompósito assim obtido possibilitaria otimização no processo *fotocatalítico* do pesticida supracitado. Os testes de degradação foram conduzidos em solução aquosa de Atrazina em presença de amostras de: HAP (coprecipitada e hidrotermalizada por 02h e 12h),  $\text{Nb}_2\text{O}_5$  (obtido via método dos precursores poliméricos e hidrotérmico) e de nanocompósitos com diferentes relações de massa de HAP: $\text{Nb}_2\text{O}_5$  obtidos pelos métodos dos precursores poliméricos e hidrotermal em diferentes quantidades em massa. Os resultados obtidos mostraram que foram obtidas nanopartículas de HAP por coprecipitação e de  $\text{Nb}_2\text{O}_5$  pelo método dos precursores poliméricos e hidrotermal, monofásicas e cristalinas, sendo passíveis de aplicação em fotocatalise heterogênea para a degradação da Atrazina. Foi possível a obtenção dos compósitos com diferentes relações de massa de HAP: $\text{Nb}_2\text{O}_5$  pelo método dos precursores poliméricos e por hidrotermalização, sendo que estes apresentaram eficiência inferior à HAP e ao  $\text{Nb}_2\text{O}_5$  puro sintetizado por estes métodos.

**Palavras-chave:** Hidroxiapatita; Pentóxido de Nióbio; Atrazina; Pesticida; Fotocatalisadores

### STUDY OF NANOCOMPOSITES OF HYDROXYAPATITE/ $\text{Nb}_2\text{O}_5$ ON PHOTODEGRADATION OF PESTICIDES

#### Abstract

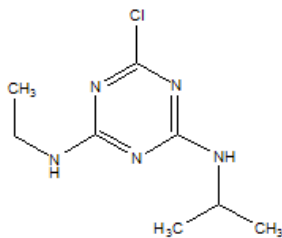
The follow for methods and water treatment technologies that enable efficient removal or complete mineralization of organic pollutants have been increasing. Thus, the present study aimed to evaluate the photocatalytic activity of nanoparticles of hydroxyapatite (HAP) ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ), initially pure, on degradation of the pesticide Atrazine and subsequently impregnated with Niobium Oxide ( $\text{Nb}_2\text{O}_5$ ) in order to verify if the nanocomposite obtained enable optimization in photocatalytic process of the pesticide. The degradation tests were conducted in aqueous solution of atrazine with the presence of samples of: HAP (coprecipitated and hydrothermalized for 02h and 12h),  $\text{Nb}_2\text{O}_5$  (produced by hydrothermal and polymeric precursors methods) and nanocomposites with various weight ratios of HAP: $\text{Nb}_2\text{O}_5$  obtained by the polymeric precursors and hydrothermal methods in different weight proportions. The results showed that HAP nanoparticles were obtained by coprecipitation and  $\text{Nb}_2\text{O}_5$  by polymeric precursors and hydrothermal methods, single phase and crystalline, being capable of application in heterogeneous photocatalysis for the degradation of Atrazine. Were possible obtain the composites with different mass HAP:  $\text{Nb}_2\text{O}_5$  by polymeric precursors and hydrothermal methods, and these had significantly lower efficiency than pure HAP and  $\text{Nb}_2\text{O}_5$  synthesized by these methods.

**Keywords:** Hydroxyapatite; Niobium Pentoxide; Atrazine; Pesticide; Photocatalysts

## 1 INTRODUÇÃO

Os pesticidas são considerados como a segunda maior fonte de contaminação de água potável nos países em desenvolvimento (RIBEIRO *et al.*, 2009).

A Atrazina (2-cloro-4-etilamino-6-isopropilamino-1,3,5-triazina) é um herbicida sintético utilizado na agricultura para o controle de ervas daninhas (REZENDE *et al.*, 1999) em culturas como cana-de-açúcar, soja, milho, algodão, feijão etc. (REZENDE *et al.*, 1999 e SANTANA *et al.*, 2003). Sua estrutura e principais propriedades físico-químicas são apresentadas abaixo, na Fig. 1.

	P.M. (g mol <sup>-1</sup> )	215,69
	P.F. (°C)	175-177
	Solubilidade em H <sub>2</sub> O a 20-25 °C (mg L <sup>-1</sup> )	33
	Densidade (g cm <sup>-3</sup> )	1,187

**Figura 1.** Propriedades físico-químicas da Atrazina. (REZENDE et al., 1999)

Tanto a Atrazina como seus produtos de degradação por radiação ultravioleta são de elevada toxicidade para os seres vivos (SANTANA *et al.*, 2003) e são classificados, ambientalmente, como micropoluentes (REZENDE et al., 1999).

A hidroxiapatita é um pó branco de fórmula estequiométrica Ca<sub>10</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>6</sub>(OH)<sub>2</sub> e razão Ca/P igual a 1,67, sendo o fosfato de cálcio mais estável e menos solúvel de todos (COSTA *et al.*, 2009). Possui sítios ácidos, representados pelos íons Ca<sup>2+</sup>, e sítios básicos, representados pelos íons PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, em uma única cela da estrutura cristalina (KIBBY and HALL, 1973), o que favorece sua aplicação em fotocatalise.

O óxido de nióbio (Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) é um semicondutor que apresenta grande absorção de energia na região do ultravioleta, podendo, inclusive, ser utilizado na proteção de materiais sensíveis a esta radiação. O Brasil é o maior produtor mundial de nióbio e, como destaca (NEVES JR., 2011), o nióbio, devido às suas propriedades físicas e químicas tem se apresentado um material interessante para catálise. Especialmente o Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub> tem apresentado boa resposta para fotodegradação de moléculas com grupos fenólicos (KARUNAKARAN and DHANALAKSHMI, 2009).

O presente trabalho teve como objetivo sintetizar, caracterizar e avaliar a atividade *fotocatalítica* de nanopartículas de Hidroxiapatita, HAp (Ca<sub>10</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>6</sub>(OH)<sub>2</sub>), inicialmente puras, na degradação do pesticida Atrazina e, posteriormente, impregnadas com Óxido de Nióbio (Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub>), a fim de verificar se esta impregnação resulta em uma otimização no processo *fotocatalítico* do pesticida supracitado.

O processo de fotodegradação objetivado baseou-se nos Processos Oxidativos Avançados (POAs), em que há a geração de radicais livres altamente oxidantes que levam a quebras sucessivas da estrutura orgânica do substrato inicial até sua completa mineralização ou produção de produtos atóxicos (RIBEIRO *et al.*, 2009). Neste sentido, fotocatalisadores em escala nanométrica são bastante interessantes devido à sua alta área superficial específica, uma vez que a efetividade do processo catalítico em catálise heterogênea depende diretamente deste fator (RIBEIRO *et al.*, 2009).

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 SÍNTESE DO Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub>.

A obtenção de Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub> por meio do método dos precursores poliméricos se deu por meio de reação entre Complexo Amoniacal NH<sub>4</sub>[NbO(C<sub>2</sub>O<sub>4</sub>)<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O]H<sub>2</sub>O<sub>n</sub> e Ácido Cítrico seguida de adição de Etilenoglicol, sob agitação, à temperatura de aproximadamente 90 °C. Após isto, a viscosidade do poliéster obtido foi ajustada em 11,5 cP. Esta resina foi, então, tratada termicamente à 300 °C (4h) e, posteriormente, à 700 °C (3h)

Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub> foi obtido, também, por meio do método hidrotermal que consistiu na adição de 10 mL de solução NH<sub>4</sub>OH à uma solução de Complexo Amoniacal NH<sub>4</sub>[NbO(C<sub>2</sub>O<sub>4</sub>)<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O]H<sub>2</sub>O<sub>n</sub> sob agitação. Tal mistura reacional foi tratada termicamente por 12h sob temperatura de 200 °C. O produto obtido desta forma foi posteriormente lavado, centrifugado e seco.

### 2.2 SÍNTESE DA HIDROXIAPATITA (HAP).

As nanopartículas de HAP foram sintetizadas pelo método de *coprecipitação* (COP) seguida do envelhecimento por *hidrotermalização* (150 °C por 0, 2 e 12 h). O procedimento consistiu em promover, inicialmente, reação entre sais de fosfato controlando-se o pH (11) com NH<sub>4</sub>OH em presença de N<sub>2</sub> (Equação 1).



### 2.3 SÍNTESE DO COMPÓSITO $\text{Nb}_2\text{O}_5$ :HAP (COP).

As metodologias para a obtenção dos compósitos foram as mesmas descritas em 2.1. Entretanto, à metodologia dos precursores poliméricos acrescentou-se uma etapa de adição de certa massa de HAP (COP) à resina obtida, antes do tratamento térmico desta, a fim de obter compósitos com relações massa/massa iguais a  $\text{Nb}_2\text{O}_5$ :HAp (COP) (4:1) e  $\text{Nb}_2\text{O}_5$ :HAp (COP) (6:1)

No caso da metodologia hidrotermal, quantidade de HAP (COP) para a obtenção de compósitos nas proporções supramencionadas foi adicionada ao meio reacional antes do tratamento térmico desta.

### 2.4 CARACTERIZAÇÃO

Os pós do sistema HAP: $\text{Nb}_2\text{O}_5$ , assim como os pós de HAP e  $\text{Nb}_2\text{O}_5$  foram submetidos às seguintes técnicas de caracterização: Difração de raios X (DRX); Espectrofotometria na região do infravermelho; Microscopia Eletrônica de Varredura com Fonte de Emissão de Campo (MEV-FEG).

### 2.5 ENSAIOS DE FOTOCATÁLISE HETEROGÊNEA

Para a avaliação da efetividade dos materiais sintetizados (HAP,  $\text{Nb}_2\text{O}_5$  e HAP: $\text{Nb}_2\text{O}_5$ ) para fotocatalise empregou-se os mesmos com massas variando de 0,01 a 0,1 g em um volume de 70 mL de solução ( $5 \text{ mg L}^{-1}$ ) do pesticida atrazina (Aldrich, 98,8%).

As medidas foram realizadas sob radiação ultravioleta-visível (UV-Vis), em um reator fotocatalítico constituído por uma câmara de madeira. No interior do reator foram acopladas seis lâmpadas, que emitiram radiação UVC (Lamps Phillips TUV, 15 W, intensidade máxima em 254 nm). Sob a câmara foram inseridos agitadores magnéticos, nos quais foram posicionados os béqueres de 100 mL. Além disso, foi acoplado um sistema de resfriamento à mesma, a fim evitar o superaquecimento.

A eficiência da degradação foi acompanhada por espectrofotometria UV-Vis, utilizando o espectrofotômetro Shimadzu UV-1601PC.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A amostra de HAP não hidrotermalizada **apresentou melhores resultados na fotodegradação do pesticida e, por isso, foi selecionada para a síntese dos compósitos do sistema HAP: $\text{Nb}_2\text{O}_5$** ; Além disso, Os melhores resultados dos testes de fotodegradação da atrazina que foram concordantes para a HAP e o  $\text{Nb}_2\text{O}_5$  ocorreram com a massa de 0,01 g do fotocatalisador. Portanto, essa massa foi mantida para os compósitos obtidos por ambos os métodos: precursores poliméricos (1:4PP e 1:6PP) e hidrotermal (1:4H12 e 1:6H12).

A Figura 2 apresenta os resultados obtidos na fotodegradação da atrazina ( $5 \text{ mg L}^{-1}$ ) na presença de 0,01 g de HAP,  $\text{Nb}_2\text{O}_5$  (PP e H12), dos compósitos 1:4 (PP e H12) e 1:6 (PP e H12). A fim de fornecer informações sobre a cinética da fotodegradação, as constantes de velocidade (k) para estas amostras foram calculadas considerando que este processo é de pseudo primeira-ordem. Os resultados obtidos estão descritos na Tabela 2.

**Tabela 1.** Descrição das siglas utilizadas

Amostra	Composição	Método de Síntese	Parâmetros da Síntese
HAP	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	Coprecipitação	T= Ambiente
$\text{Nb}_2\text{O}_5\text{PP}$	$\text{Nb}_2\text{O}_5$	Precusores Poliméricos	Síntese: 3 AC : 1Nb, pH = 1 Calcinação: 700°C / 3 h
* 1:4PP	1 mol HAP 4 mols $\text{Nb}_2\text{O}_5$		Dispersão de HAP nas condições de síntese do $\text{Nb}_2\text{O}_5\text{PP}$ . Calcinação: 700°C / 3 h
* 1:6PP	1 mol HAP 6 mols $\text{Nb}_2\text{O}_5$		
$\text{Nb}_2\text{O}_5\text{H12}$	$\text{Nb}_2\text{O}_5$	Hidrotermalização	10 mL $\text{NH}_4\text{OH}$ Hidrotermalização: 200°C / 12 h
* 1:4H12	1 mol HAP 4 mols $\text{Nb}_2\text{O}_5$		Dispersão de HAP nas condições de síntese do $\text{Nb}_2\text{O}_5\text{H12}$ . Hidrotermalização: 200°C / 12 h
* 1:6H12	1 mol HAP 6 mols $\text{Nb}_2\text{O}_5$		

\* Compósitos

**Figura 2.** Curva de fotodegradação da atrazina sob radiação ultravioleta na presença de 0,01 g de Hidroxiapatita (HAP),  $\text{Nb}_2\text{O}_5$  (PP e H12), dos compósitos 1:4 (PP e H12) e 1:6 (PP e H12).**Tabela 2.** Valores das constantes de velocidade para a degradação da atrazina na presença de 0,01 g do fotocatalisador.

Amostra	$k / \text{min}^{-1}$
HAP	0,00785
$\text{Nb}_2\text{O}_5\text{PP}$	0,01310
1:4PP	0,00246
1:6PP	0,00498
$\text{Nb}_2\text{O}_5\text{H12}$	0,00507
1:4H12	0,00246
1:6H12	0,00137

A partir dos resultados da Tabela 2, observa-se que as melhores constantes de velocidade foram encontradas para as amostras  $\text{Nb}_2\text{O}_5\text{PP}$ ,  $\text{Nb}_2\text{O}_5\text{H12}$  e HAP, com  $k_{\text{Nb}_2\text{O}_5\text{H12}} < k_{\text{HAP}} < k_{\text{Nb}_2\text{O}_5\text{PP}}$ . O maior valor da constante de velocidade foi encontrado para a solução contendo  $\text{Nb}_2\text{O}_5\text{PP}$  ( $k = 0,01310 \text{ min}^{-1}$ ), valor superior aos encontrados para os compósitos. Sendo assim, é possível concluir que os compósitos sintetizados pela metodologia descrita não potencializaram o efeito fotocatalítico do  $\text{Nb}_2\text{O}_5$  sobre a degradação do pesticida atrazina, como desejado.

#### 4 CONCLUSÃO

Pela análise dos resultados obtidos no presente trabalho, pode-se concluir que foram obtidas nanopartículas de HAP por coprecipitação e de  $\text{Nb}_2\text{O}_5$  pelo método dos precursores poliméricos e hidrotermal, monofásicas e cristalinas, sendo passíveis de aplicação em fotocatalise heterogênea para a degradação da atrazina. Verificou-se que foi possível a obtenção dos compósitos com diferentes relações molares de HAP: $\text{Nb}_2\text{O}_5$  pelo método dos precursores poliméricos e por hidrotermalização, sendo que estes apresentaram eficiência inferior à HAP e ao  $\text{Nb}_2\text{O}_5$  puro sintetizado por estes métodos. Fato este, que foi atribuído à possível adsorção da atrazina pela HAP, diminuindo a eficiência do processo.

#### AGRADECIMENTOS

CNPq, Embrapa (Projeto Embrapa N° 03.11.01.027.00.00)

## REFERÊNCIAS

- RIBEIRO, C. *et al.* Nanoestruturas em fotocatalise: uma revisão sobre estratégias de síntese de fotocatalisadores em escala nanométrica. *Quim. Nova*, v.32, n. 8, p.2181-2190, 2009.
- REZENDE, M. O. O.; LANDGRAF, M. D.; JAVARONI, R. C. A. Comportamento dos herbicidas atrazina e alaclor aplicados em solo preparado para o cultivo de cana-de-açúcar. *Quim. Nova*, v.22, p.58-64, 1999.
- SANTANA, H.; BONANCÊA, C. E.; TAKASHIMA, K. Fotocatalise eletroquímica de atrazina sobre dióxido de titânio: efeito de diferentes parâmetros experimentais. *Quim. Nova*, v. 26, n. 6, p.807-811, 2003.
- COSTA, A. C. F. M. *et al.* Hidroxiapatita: obtenção, caracterização e aplicações. *Revista Eletrônica de Materiais e Processos*, v. 4.3, p.29-38, 2009.
- KIBBY, L.C.; HALL, K.W. Dehydrogenation of alcohols and hydrogen transfer from alcohols to ketones over hydroxyapatite catalysts. *J. Catal.* 31, p.65-73, 1973.
- NEVES JÚNIOR, L. F. Síntese de Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub> nanoparticulado para a degradação de pesticidas. 48 p. Monografia de Conclusão de Curso de Bacharelado em Química Tecnológico. Universidade Federal de São Carlos, UFSCar, São Carlos, 2011.
- KARUNAKARAN, C.; DHANALAKSHMI, R. Selectivity in photocatalysis by particulate semiconductors. *Central European Journal of Chemistry*, v. 7, n. 1, p. 134-137, Mar 2009.

---

## LIBERAÇÃO LENTA DE NUTRIENTES A PARTIR DE NANOCOMPOSITOS CARREGADOS COM ARGILOMINERAIS

\*André R. T. Serafim<sup>1</sup>, Adriel Bortolin<sup>1</sup>, Fauze Ahmad Aouada<sup>2</sup>, Caue Ribeiro<sup>1</sup>, Luiz Henrique Capparelli Mattoso<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos, SP. <sup>2</sup>Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, UNESP. Departamento de Física e Química, Ilha Solteira, SP.  
\*sera.adr@gmail.com

**Classificação:** Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio.

### Resumo

Foram utilizados nanocompósitos baseados em hidrogéis desenvolvidos anteriormente no grupo de pesquisa, com o objetivo de avaliar seu potencial como veículo carreador para liberação controlada de ureia. Os resultados mostraram que a liberação de ureia é responsiva a mudanças de pH e a presença de MMt. Observou-se maiores taxas de liberação em pH básico e uma liberação mais lenta para os nanocompósitos carregados com maiores quantidades de argilomineral. A hidrólise do material também contribuiu significativamente para o aumento do nutriente carregado e liberado pelos nanocompósitos. A presença do argilomineral no nanocompósito se mostrou um fator importante para a viabilidade de sua aplicação, pois aumentou a capacidade de carregamento para a fonte nutritiva estudada, contribuindo ainda de maneira significativa para a diminuição do custo final do produto. Os resultados obtidos mostraram que os nanocompósitos obtidos são potencialmente aplicáveis em sistemas de liberação lenta/controlada de ureia.

**Palavras-chave:** Nanocompósito, liberação controlada, ureia .

### SLOW RELEASE OF NUTRIENTS FROM NANOCOMPOSITES HYDROGELS

#### Abstract

Nanocomposite hydrogels developed previously on the research group were used in order to evaluate

their potential as a urea controlled release system. The results showed that the release of urea is responsive to changes in pH and the presence of MMT. It was observed an increased rates of urea release in basic pH and that the presence of MMT makes a slower urea release for the nanocomposites. The hydrolysis of the material also contributed significantly to the increase of amount nutrient load and released from nanocomposites. The presence of MMT in the nanocomposite showed an important factor to the viability of its application due the increased nutrient loading capacity for source studied and contributing significantly to the reduction of the final product cost. The results showed that nanocomposites are potentially applicable for nutrient slow or controlled release systems.

**Keywords:** Nanocomposite; Slow release; Urea.

### Publicações relacionadas

BORTOLIN, A.; AOUADA, F. A.; RIBEIRO, C. LONGO, E.; MATTOSO, L. H. C. "Nanocomposite PAAm:Methyl Cellulose:Montmorillonite Hydrogel: Evidence of Synergistic Effects for the Controlled Release of Fertilizers". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61: 7431, 2013.

## 1 INTRODUÇÃO

Com o aumento da demanda por alimentos e uma redução dos espaços para o plantio, faz-se necessário a otimização no manejo de fertilizantes, visando uma redução no uso destes compostos mantendo-se ou até mesmo melhorando sua aplicação. Para isso, destacam-se os sistemas de liberação lenta/controlada, que visam um controle na liberação de determinado insumo, fazendo com que fique mais tempo no solo e em períodos críticos, tais como, alta insolação e baixa precipitação, otimizando assim a utilização de fertilizantes, reduzindo os custos para o produtor, além de minimizar possíveis impactos ambientais. (Lia et al, 2014). Um dos principais nutrientes que as plantas necessitam é o nitrogênio, porém sua perda de por volatilização de amônia para a atmosfera e lixiviação é um dos principais fatores responsáveis pela baixa eficiência destes fertilizantes no solo (Malavolta, 2006). Para otimizar o uso de nutrientes no solo, vários materiais têm sido desenvolvidos e utilizados, dentre esses materiais destacam-se o uso de nanocompósitos, produzidos pela combinação de polímeros hidrofílicos com argilominerais, obtendo-se assim um material multifuncional, ou seja, que contribui tanto para manter a taxa hídrica quanto a nutritiva em faixas ótimas para o desenvolvimento dos cultivos (Khare et al, 1995). O interesse em se utilizar argilominerais combinados com hidrogéis se dá pelo fato de que o material carregado passa a ter maior capacidade de carregar nutriente, além de reduzir o custo final do produto. (Lan e Pinnavaia, 1994). Assim, neste trabalho, realizou-se testes de liberação lenta/controlada de ureia em diferentes valores de pH a partir de nanocompósitos baseados em hidrogéis.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados nanocompósitos baseados em hidrogéis de PAAm, MC e MMT desenvolvidos em trabalhos anteriores do grupo de pesquisa (Bortolin et al, 2013) e esses materiais foram testados em sistemas de liberação lenta/controlada de ureia. Para isso, os nanocompósitos foram deixados submersos em solução 90 % saturada de ureia a 25°C por 144 horas. Em seguida foi realizada a dessorção de ureia adaptando modelo proposto por Fu et al (2011) para a liberação lenta de fármacos. Nesse sistema, os nanocompósitos intumescidos em solução saturada de ureia foram colocados em um pequeno béquer imerso em 250 mL de água MiliQ contida em um recipiente maior como como segue na figura 1.



**Figura 1.** Sistema utilizado para retirar as alíquotas para as medidas de dessorção de ureia

A dessorção de ureia foi testada em diferentes valores de pH (4, 7 e 9). A agitação externa ao recipiente contendo o nanocompósito foi mantida constante. Foram coletadas alíquotas em diferentes

intervalos de tempo pré fixados, até o limite de 196 horas. Realizou-se a dessorção simultaneamente para todos os nanocompósitos que foram nomeados de (1:1), (3:1) e (1:0), sendo que estes valores referem-se as proporções de argilomineral em relação aos outros componentes do nanocompósito. Assim, o nanocompósito (1:1) contém 50% de argilomineral em sua composição, (3:1) possui 25% e (1:0) não contém o argilomineral. Da mesma forma, os nanocompósitos hidrolisados foram nomeados de acordo com sua proporção de argilomineral sendo acrescentada a terminologia Hd na nomenclatura destes.

A determinação da concentração de ureia em solução foi feita por análise espectrofotométrica no UV-visível, segundo metodologia proposta por Gutowska et al (1994). Esta metodologia consiste na reação de ureia com o reagente de Ehrlich (5 g de dimetilaminobenzaldeído + 20 mL de ácido clorídrico concentrado) e uma solução 10% de ácido tricloroacético formando um produto que pode ser monitorado em  $\lambda = 420$  nm. Assim pode-se construir uma curva de calibração, com coeficiente de regressão linear ( $R^2$ ) igual a 0,997 e com os dados obtidos foi possível realizar a análise da dessorção de ureia em função do tempo para todas as alíquotas recolhidas.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Dessorção Controlada de ureia a partir dos nanocompósitos em diferentes pHs.

A tabela 1 e 2 mostram os valores de dessorção controlada de ureia no equilíbrio para os nanocompósitos sem e com o tratamento de hidrólise, respectivamente.

**Tabela 1.** Quantidade de ureia dessorvida (g de ureia por gramas de hidrogel seco) no equilíbrio para os diferentes tipos de nanocompósitos não hidrolisados em diferentes pHs

	pH 4	pH 7	pH 9
Nanocompósito	Massa (g)	Massa (g)	Massa (g)
(1:1)	13,5 ± 1,0	10,2 ± 0,3	12,5 ± 0,3
(3:1)	19,4 ± 0,9	15,8 ± 0,7	20,9 ± 0,6
(1:0)	23,2 ± 0,2	15,1 ± 0,7	24,0 ± 1,9

**Tabela 2.** Quantidade de ureia dessorvida (g de ureia por gramas de hidrogel seco) no equilíbrio para os diferentes tipos de nanocompósitos hidrolisados em diferentes pHs

	pH 4	pH 7	pH 9
Nanocompósito	Massa (g)	Massa (g)	pH 9
(1:1) Hd.	51,5 ± 4,8	74,2 ± 5,6	86,9 ± 1,0
(3:1) Hd.	45,0 ± 0,6	59,2 ± 6,8	61,4 ± 1,8
(1:0) Hd.	37,7 ± 5,2	48,5 ± 7,3	55,0 ± 4,0

A dessorção de ureia para os nanocompósitos mostrou-se responsiva ao pH para todos os nanocompósitos. Um fator em evidência é o efeito sinérgico que ocorre quando o material sofre o tratamento de hidrólise, ou seja, os nanocompósitos hidrolisados mostraram uma tendência inversa da ocorrida nos nanocompósitos sem o tratamento de hidrólise, onde, o nanocompósito (1:1) Hd. passa a dessorver maior quantidade de nutriente que os nanocompósitos (3:1) Hd. e (1:0) Hd. Observa-se em alguns casos aumento na dessorção de ureia de aproximadamente 7 vezes para os nanocompósitos hidrolisados.

A figura 2 mostra a dessorção controlada em função do tempo para os nanocompósitos com e sem o tratamento de hidrólise em pH = 7,0. Embora existam diferenças nos valores absolutos de dessorção, como reportados nas tabelas acima, não observou-se mudanças significativas na cinética com que o nutriente é dessorvido para os valores de pH de 4,0 e 9,0. Em todos os nanocompósitos, a presença do argilomineral faz com que o hidrogel dessorva o nutriente de maneira mais lenta, o que pode ser observado pela menor inclinação inicial nas curvas de dessorção vs tempo (Figura 2) apresentadas pelos nanocompósitos carregados

com argilominerais. Isso foi observado em todas os valores de pH analisados, onde o nanocompósito sem a MMT desorve praticamente todo o nutriente em 24-48 horas. Já para os nanocompósitos com MMT, esses valores passam para aproximadamente 72 horas para os nanocompósitos sem hidrólise e 200 horas para os nanocompósitos hidrolisados nos diferentes valores de pH. Isso se deve ao fato que o tratamento de hidrólise faz com que grande parte da MMT contida na matriz polimérica seja esfoliada, garantindo assim uma maior interação com o nutriente e consequentemente uma maior capacidade de carregamento do mesmo.

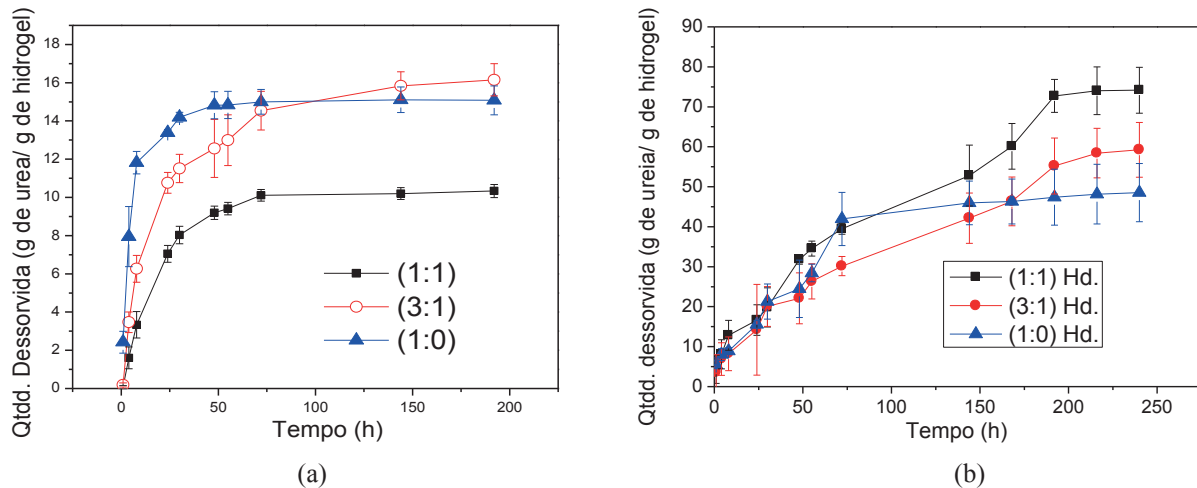


Figura 2. Dessorção controlada de ureia em pH 7,0 para os nanocompósitos sem hidrólise (a) e hidrolisados (b).

#### 4 CONCLUSÃO

Os nanocompósitos sintetizados apresentaram excelentes propriedades de carregamento e dessorção de ureia, principalmente após o tratamento de hidrólise. Houve um aumento nos valores de dessorção de ureia de aproximadamente 7 vezes comparando-se os nanocompósitos hidrolisados com os não hidrolisados, fator que está diretamente ligado ao fato de que o processo de hidrólise facilita a dispersão e esfoliação do argilomineral aumentando assim a capacidade de carregamento da solução nutritiva pelos materiais, além disso, o argilomineral atua como barreira efetiva para o controle de liberação, que retarda consideravelmente o processo de dessorção dos nutrientes para o meio e além disso contribui com a redução do custo final do produto, o que mostra grandes possibilidades em aplicá-los em sistemas agrícolas como carreador de nutrientes.

#### AGRADECIMENTOS

FAPESP, CAPES, CNPQ, FINEP, EMBRAPA INSTRUMENTAÇÃO, UFSCar.

#### REFERÊNCIAS

- FU, J.; WANG, X.; XU, L.; MENG, J.; WENG, Y.; LI, G.; HE, H. & TANG, X. "Preparation and in vitro–in vivo evaluation of double layer coated and matrix sustained release pellet formulations of diclofenac potassium". *Int. J. Pharm.* 406 : 84, 2011.
- GUTOWSKA, A.; BAE, Y. H.; JACOBS, H.; FEIJEN, J. & KIM, S. W. "Thermosensitive interpenetrating polymer networks". *Macromolecules.* 4167 : 27, 1994.
- KHARE, A. R. & PEPPAS, N. A. "Swelling/deswelling of anionic copolymer gels". *Biomaterials.* 16 : 559, 1995.
- LAN, T. & PINNAVAIA, T. J. "Clay-Reinforced Epoxy Nanocomposites". *Chem. Mater.* 6 : 2216, 1994.
- LIA, J.; ZHUANG, X.; FONTB, O.; MORENOB, N.; VALLEJOC, V. R.; QUEROLB, X. & TOBIAS, A. "Synthesis of merlinoite from Chinese coal fly ashes and its potential utilization as slow release K-fertilizer" *J. Hazard. Mater.* 265 : 242, 2014



MALAVOLTA, E. "Manual de nutrição mineral de plantas". São Paulo: Editora Agronômica Ceres 2 : 231, 2006.

## NANOCOMPÓSITOS A BASE DE AMIDO-ARGILA APLICADOS A LIBERAÇÃO CONTROLADA DE HERBICIDA

\*Camila C. T. Cruz<sup>1</sup>, Amanda S. Giroto<sup>1</sup>, Adriana de Campos<sup>2</sup>, Elaine I. Pereira<sup>1</sup>, José M. Marconcini<sup>2</sup>, Caue Ribeiro<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de São Carlos, Departamento de Química, São Carlos, SP. <sup>2</sup>EMBRAPA Instrumentação, São Carlos, SP.

\*camila\_cctc@yahoo.com.br

**Classificação:** Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio.

### Resumo

Neste trabalho desenvolveu-se nanocompósitos á base gel de amido de milho e o argilomineral montmorillonita(MMT), como sistema carregador para a liberação controlada de um herbicida hidrofóbico presente em altas concentrações (50% no peso total). A estrutura dos nanocompósitos gera barreiras de difusão para o composto ativo possibilitando uma liberação lenta. As taxas de liberação de herbicida na água mostraram que os nanocompósitos apresentaram retenções mais elevadas do que as amostras de puras (amido herbicida-carregado ou MMT), revelando um efeito sinérgico ou cooperativo entre os constituintes.

**Palavras-chave:** Amido; Argilomineral; Herbicida; Liberação; Nanocompósitos.

### NANOCOMPOSITES BASED ON STARCH-CLAY APPLIED TO CONTROLLED RELEASE HERBICIDE

#### Abstract

In this work Nanocomposites based on corn starch gel and the argilomineral montmorillonite (MMT), as the charger for the controlled release of a hydrophobic herbicide present in high concentrations (50% in total weight). The structure of the Nanocomposites raises barriers to diffusion of the active compound allowing a slow release. The rates of release of herbicide in water showed that the Nanocomposites exhibited higher retentions than pure samples (starch-laden herbicide or MMT), revealing a synergistic effect or cooperative among the constituents.

**Keywords:** Starch; Argilomineral; Herbicide; Release; Nanocomposites.

## 1 INTRODUÇÃO

Atualmente uma boa produtividade agrícola esta ligada à utilização de pesticidas. Cerca de 60 a 70% dos pesticidas utilizados em áreas agrícolas não atingem a superfície do alvo e esta fração é perdida no ambiente (ARIAS-ESTEVEZ *et.al.*, 2008). No entanto, a liberação controlada de agroquímicos é uma estratégia-chave para reduzir a quantidade aplicada destes produtos, diminuindo seu impacto no meio ambiente e vida humana e reduzindo o custo agrícola (FERNÁNDEZ-PÉREZ *et.al.*, 2004). O encapsulamento de pesticidas em amido tem recebido crescente atenção. Porém pesticidas com baixa solubilidade em água podem ser inadequados para esta estratégia (EL BAHRI, Z *et.al.*, 2005) Este é o caso da ametrina, que é um amplamente utilizado na produção de cana-de-açúcar, arroz, milho e soja. Uma vez que a liberação é principalmente governada por processo de difusão uma forma de adequar essa matriz para uma ampla gama de compostos de interesse seria promover uma modificação deste processo. Nanocompósitos onde argila esfoliada é usada para impor barreiras de difusão no movimento molecular já foram estudados (PEREIRA, E. I. *et.al.*, 2012). O presente trabalho estudou nanocompósitos á base de argila esfoliada em uma matriz de amido com a incorporação de uma quantidade significativa de ametrina, para o controle de liberação deste herbicida. Os resultados mostraram um interessante efeito sinérgico, onde a matriz de amido atua controlando a liberação de curto período de tempo e a argila modifica esse comportamento em tempos mais longos.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Materiais

As matérias-primas utilizadas na formulação dos nanocompósitos foram ametrina (Metrimex 500 SC, NUFARM), argila Montmorilonita (MMT) sem purificação (Bentonita, Drescon S/A, produtos de perfuração) e o amido de milho (Amidex 3001 - amilopectina 70% e 30% de amilose).

### 2.2 Preparação dos Nanocompósitos:

Os nanocompósitos foram obtidos pela gelatinização do amido (5% em peso), por meio de dispersão em água destilada em um béquer e agitador mecânico durante 15 min. O processo de gelatinização foi feito, mantendo o amido disperso em cerca de 90 ° C por 30 min, sob agitação, até que formou-se uma pasta de amido. Em seguida, diminuiu-se a temperatura até 70 ° C e adicionou-se MMT e/ou ametrina. O gel misto foi mantido a 30 ° C, sob circulação de ar pelo menos 72 h para se obter um gel sólido. Posteriormente, os materiais foram obtidos como um pó por moagem moinho inball durante 24 h (242 SERVITECH, CT). Preparou-se diferentes grupos de nanocompósitos utilizando o mesmo procedimento, variando as proporções (base de w.w-1) de gel de amido e MMT. O encapsulamento do herbicida, na quantidade desejada foi adicionado ao mesmo tempo que a MMT, adicionou-se de 50% em massa de ametrina. O teor de água final nos nanocompósitos foi de 4%.

### 2.3 Caracterizações

#### 2.3.1 Difração de raios-X (DRX)

Na difração de raios-x usou-se um difratômetro Shimadzu XRD 6000. A intensidade relativa foi gravada em uma escala de difração ( $2\theta$ ) ° 3–40, usando um feixe incidente de Cu K $\alpha$  ( $\lambda = 0.1546$  nm). A velocidade de digitalização foi 1° min<sup>-1</sup>, e a tensão e a corrente do tubo de raios-x foram 30 kV e 30 mA, respectivamente. O correspondente “d” interplanar espaçamento basal do MMT foi computado da equação de difração de Bragg,  $2d \cdot \sin \theta = n \cdot \lambda$ , “n” (= 1) sendo a ordem de reflexão e “ $\theta$ ” a ângulo de refração.

#### 2.3.2 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

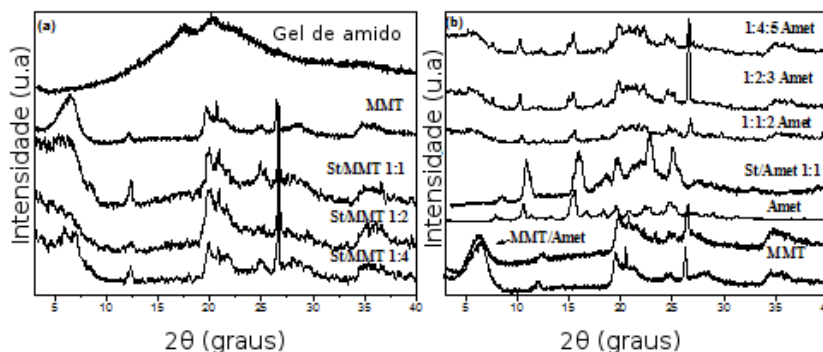
As análises espectroscópicas na região do infravermelho de polímeros e compósitos foram realizadas em pastilha de KBr (5/200 mg) na faixa de 4000-500 cm<sup>-1</sup>. Os dados de espectros FT-IR foi obtidos usando aparelho Shimadzu FTIR-8300.

### 2.4 Taxa de liberação de components ativos em água:

A taxa de liberação dos componentes ativos em água foi realizada com um teste adaptado.(PE-REIRA *et.al.*,2012) Cada amostra foi colocada com uma massa conhecida em um béquer imergido em meio aquoso, com agitação externa do conteúdo do copo. Alíquotas foram coletadas em intervalos de tempo diferentes, durante 6 dias. Para comparação,realizou-se um teste com ametrina pura como um experimento de controle. A determinação da concentração de ametrina em solução foi feita por espectrofotometria de UV-vis (Shimadzu-1601PC) com base em uma curva de calibração previamente construída em um determinado comprimento de onda ( $\lambda = 223$ nm).

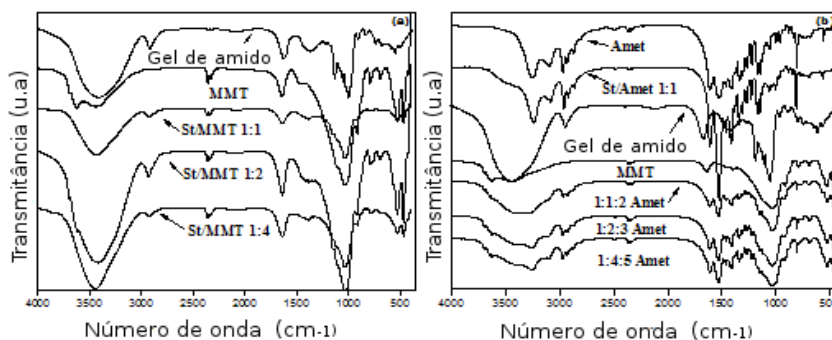
## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A figura 1 mostra uma diminuição na intensidade do pico d001 para todos os nanocompósitos, significando que uma parte da montmorilonita passou por esfoliação após a mistura com o amido. No entanto o compósito (MMT/Amet) não se apresentou nenhuma redução ou deslocamento nos picos de difração, evidenciando que o herbicida não influenciou a esfoliação de argila.



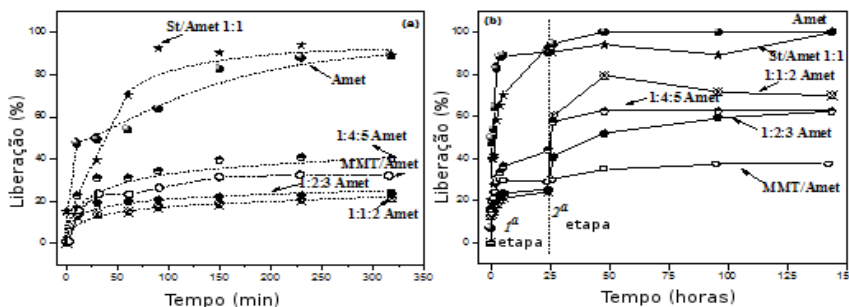
**Figura 1.** DRX dos nanocompósitos , MMT e gel de amido .(a) deslocamento do ângulo de difração nas amostras,(b)

Na figura 2 observa-se no espectro de St/MMT que os grupos hidroxila de amido estão interagindo com as hidroxilas ativas da MMT devido o deslocamento da banda em 3400 cm<sup>-1</sup>, atribuída ao grupo O-H do amido. Também foi observado que o pico em 1640 cm<sup>-1</sup> de amido, atribuído ao estiramento de O-H, foi suprimido. A incorporação da ametrina nos nanocompósitos St/MMT deslocada a banda no 2969 cm<sup>-1</sup> 2975 cm<sup>-1</sup>, que é atribuída aos grupos C-H de ametrina devido a interação com amido. A banda em 1640 cm<sup>-1</sup> corresponde a vibração dos grupos – OH da água do amido. Esta banda foi deslocada para 1600 cm<sup>-1</sup> nos nanocompósitos St/MMT/Amet. Estes deslocamentos indicam possíveis interações iônicas e de hidrogénio entre os dois componentes presentes nanocompósitos, devido as cargas negativas de ametrina com cargas positivas da MMT no gel de amido.



**Figura 2.** Espectroscopia no infravermelho para o gel de amido puro, MMT e nanocompósitos

A figura 3 mostra a primeira fase de liberação para todas as amostras produzidas, em comparação com a ametrina . A amostra St/Amet 1:1 apresentou comportamento mais perto de ametrina pura. Em apenas 20 minutos, os grânulos de amido absorvem água suficiente para começar a libertar a ametrina. Por outro lado, quando usando o material preparado a partir de adsorção de Amet no MMT tem uma elevada retenção deste ametrina, liberando apenas 40% do total após 27 horas de imersão. Isso indica que o uso apenas do amido ou MMT não controla o lançamento de ametrina, uma vez o intermediário de comportamento ideal é entre os dois extremos mencionados.



**Figura 3.** Liberação da ametrina em água , comportamento dos nanocompósitos o composto puro.

#### 4 CONCLUSÃO

Foi possível obter nanocompósitos amido/montmorillonita/amestrina capazes de incorporar uma quantidade elevada de herbicida. As boas interações entre os dois componentes amido (matriz) e montmorillonita (carga) mostraram um comportamento sinérgico. Os resultados obtidos de liberação de componentes ativos em água evidenciaram um comportamento de liberação lenta dos nanocompósitos comparado ao amido/amestrina. A análise estrutural de nanocompósitos deu provas de que o comportamento de liberação é governado pela interação entre os constituintes.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o suporte financeiro da FAPESP, CNPq, CAPES e EMBRAPA do Brasil.

#### REFERÊNCIAS

ARIAS-ESTÉVEZ, M., LÓPEZ-PERIAGO, E., MARTÍNEZ-CARBALLO, E., SIMAL-GÁNDARA, J., MEJUTO, J., GARCÍA-RÍO, L. *Agric. Ecosyst. Environ.* 2008, 123, 247-260.

FERNÁNDEZ-PÉREZ, M., FLORES-CÉSPEDES, F., GONZÁLEZ-PRADAS, E., VILLAFRANCA-SÁNCHEZ, M., PÉREZ-GARCÍA, S. AND GARRIDO-HERRERA, F. J. *J. Agric. Food Chem* 2004, 52, 3888-3893.

EL BAHRI, Z. AND TAVERDET, J. L. *Polym. Bull.* 2005, 54, 353-363.

PEREIRA, E. I., MINUSSI, F. B., CRUZ, C. C. T., BERNARDI, A. C. C. AND RIBEIRO, C. J. *Agric. Food Chem.* 2012, 60, 5267-5272.

---

### AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA DE NANOFIBRAS DE PLA OBTIDAS POR FIAÇÃO POR SOPRO EM SOLUÇÃO UTILIZANDO O SOLVENTE DIMETILCARBONATO

**Delne Domingos da Silva Parize<sup>1,3</sup>, Juliano Elvis de Oliveira<sup>2</sup>, José Manoel Marconcini<sup>3</sup>, \*Luiz Henrique Capparelli Mattoso<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Universidade Federal de São Carlos (UFSCar). <sup>2</sup>Universidade Federal da Paraíba (UFPB). <sup>3</sup>Embrapa Instrumentação.

\*luiz.mattoso@embrapa.br

**Classificação:** Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio

#### Resumo

Nanofibras de poli(ácido láctico) (PLA) tem sido obtidas por eletrofiação e fiação por sopro em solução utilizando-se solventes tais como clorofórmio e acetona, os quais são classificados como tóxicos e compostos orgânicos voláteis (VOCs). O objetivo deste trabalho foi avaliar o uso do solvente dimetilcarbonato (DMC), que não é tóxico e não pertence à classificação dos VOCs, na produção de nanofibras de PLA por fiação por sopro em solução. Para isso, foi delineado um planejamento fatorial para avaliar a influência de três variáveis de processamento (concentração de polímero, taxa de injeção e pressão do ar) de sistemas PLA/DMC no diâmetro médio das nanofibras. A morfologia e os diâmetros das nanofibras de PLA foram analisados por microscopia eletrônica de varredura (MEV). Apenas metade das condições propostas no planejamento produziu nanofibras em quantidade satisfatória para análise morfológica, impossibilitando uma análise estatística completa. Entretanto, os resultados obtidos foram bastante relevantes e indicaram que menores concentrações de polímero e maiores taxas de injeção favorecem a formação de fibras de menor diâmetro (~260 nm) com distribuição normal mais estreita. Desta maneira, é possível obter nanofibras de PLA por fiação por sopro em solução utilizando o DMC como solvente, porém para determinação das condições ótimas de processamento e das variáveis mais significativas em sistemas PLA/DMC é necessário uma análise estatística completa.

**Palavras-chave:** Fiação por sopro em solução; Poli(ácido láctico); Dimetilcarbonato.

## MORPHOLOGICAL EVALUATION OF PLA NANOFIBERS OBTAINED BY SOLUTION BLOW SPINNING USING DIMETHYL CARBONATE SOLVENT

### Abstract

Poly(lactic acid) (PLA) nanofibers has been obtained by eletrospinning and solution blow spinning using solvents such as chloroform and acetone, that are classified as toxic and volatile organic compounds (VOCs). The aim of this work was to evaluate the use of dimethyl carbonate (DMC) solvent, that is atoxic and is not classified as VOC, in the poly(lactic acid) (PLA) nanofibers production obtained by solution blow spinning. Thus, an experimental design was delineated to evaluate the influence of three processing variables (polymer concentration, feed rate and air pressure) of PLA/DMC systems in the average nanofibers diameter. The morphology and average diameters of the PLA nanofibers were analyzed by scanning electron microscopy (SEM). Only half of the proposed conditions in the design produced satisfactory quantity of nanofibers for morphological analysis, impeding a complete statistical analysis. However, the results were quite significant and indicated that lower polymer concentrations and higher feed rates produce smaller fiber diameters (~260 nm) with narrower normal distribution. Therefore, it is possible to obtain PLA nanofibers by solution blow spinning using DMC as solvent, however to determine the optimum processing conditions and the most significant variables of PLA/DMC systems is necessary a complete statistical study.

**Keywords:** Solution blow spinning; Poly(lactic acid); Dimethyl carbonate.

## 1 INTRODUÇÃO

Dentre as técnicas desenvolvidas para a produção de fibras poliméricas, a eletrofiação (*electrospinning*) se destaca por conseguir produzir fibras de menor diâmetro, variando entre 40 nm e 2  $\mu\text{m}$ , enquanto as outras, como por exemplo a fiação a quente (*melt spinning*) e a fiação por jatos de ar em alta velocidade (*melt blowing*), produzem fibras com diâmetros entre 1 e 50  $\mu\text{m}$  (MEDEIROS et al., 2009). Apesar da eletrofiação ser a técnica mais utilizada, sua maior limitação está na restrição dos solventes, além da necessidade do uso de uma fonte de alta tensão e produção de ozônio. Uma técnica recentemente desenvolvida e bastante promissora é a fiação por sopro em solução (*solution blow spinning*) (MEDEIROS et al., 2014), a qual produz fibras sem fontes de alta tensão e pode-se utilizar uma gama maior de solventes. A fiação por sopro em solução consiste em utilizar bocais concêntricos, na qual a solução polimérica é bombeada pelo bocal interno e o ar pressurizado pelo bocal externo. Quando a tensão superficial gerada pela solução polimérica é superada pelas forças aerodinâmicas provenientes do ar pressurizado, fluxos de arraste são gerados e a solução polimérica é lançada em direção ao coletor. Durante este trajeto, o solvente é evaporado formando fibras de diâmetros micro e/ou nanométricos (MEDEIROS et al., 2009). Dentre as várias aplicações, destacam-se a utilização destas fibras em processos de filtração de água e gases, biorremediação, além de aplicações na área médica para liberação controlada de fármacos. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o uso do solvente dimetilcarbonato (DMC) na produção de nanofibras de poli(ácido láctico) (PLA) por fiação por sopro em solução, uma vez que este solvente não é tóxico e não pertence à classificação de compostos orgânicos voláteis (VOC).

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Os materiais utilizados para produção das nanofibras poliméricas por fiação por sopro em solução foram o poli(ácido láctico) (PLA), adquirido da Biomater (São Carlos, Brasil) ( $M_n = 125.000 \text{ g.mol}^{-1}$ ) e o solvente dimetilcarbonato (DMC), obtido da Sigma-Aldrich (D152927). Para melhor avaliação dos resultados, foi delineado um planejamento fatorial  $2^3$  tendo como variável resposta o diâmetro médio das nanofibras formadas. Os fatores e níveis utilizados foram: concentração do polímero ( $A_{-1} = 8\% \text{ m/v}$  e  $A_{+1} = 10\% \text{ m/v}$ ); taxa de injeção ( $B_{-1} = 0,9 \text{ mL.h}^{-1}$  e  $B_{+1} = 1,8 \text{ mL.h}^{-1}$ ) e pressão do ar ( $C_{-1} = 0,2 \text{ MPa}$  e  $C_{+1} = 0,4 \text{ MPa}$ ). O planejamento fatorial encontra-se descrito na Tabela 1, totalizando 8 experimentos.

**Tabela 1.** Planejamento fatorial para processamento por fiação por sopro em solução

Experimentos	Fatores		
	Concentração de PLA	Taxa de injeção	Pressão do ar
	A	B	C
1	-1	-1	-1
2	+1	-1	-1
3	-1	+1	-1
4	-1	-1	+1
5	+1	+1	-1
6	+1	-1	+1
7	-1	+1	+1
8	+1	+1	+1

Para a preparação das soluções, o PLA e o DMC foram dispostos em um frasco com tampa conforme concentração desejada e mantidos sob agitação magnética por 24h a 50°C. Após a solubilização, a solução foi transferida para uma seringa de vidro de 10 mL e conectada ao sistema de fiação por sopro em solução, mantendo a distância de trabalho em 10 cm e rotação a 180 rpm. Para avaliação da morfologia das nanofibras de PLA, amostras foram coletadas e analisadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) utilizando um microscópio eletrônico de varredura Carl Zeiss DSM 940-A, à 10 kV. As amostras foram previamente recobertas com uma fina camada de ouro ( $\pm 15$  nm). Os diâmetros das nanofibras foram obtidos com auxílio do *software* ImageJ, sendo coletados pelo menos 100 medidas aleatórias de cada amostra para cálculo do diâmetro médio.

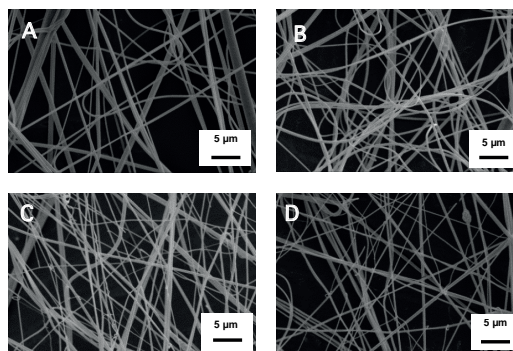
### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Planejamento fatorial

Dos experimentos previstos pelo planejamento fatorial, apenas metade das condições propostas produziu nanofibras em quantidade satisfatória para análise morfológica, sendo estas os experimentos 3, 4, 6 e 7 (Tabela 1). Embora não tenha sido possível analisar metade dos experimentos, impossibilitando uma análise estatística completa, os resultados foram bastante relevantes.

#### 3.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

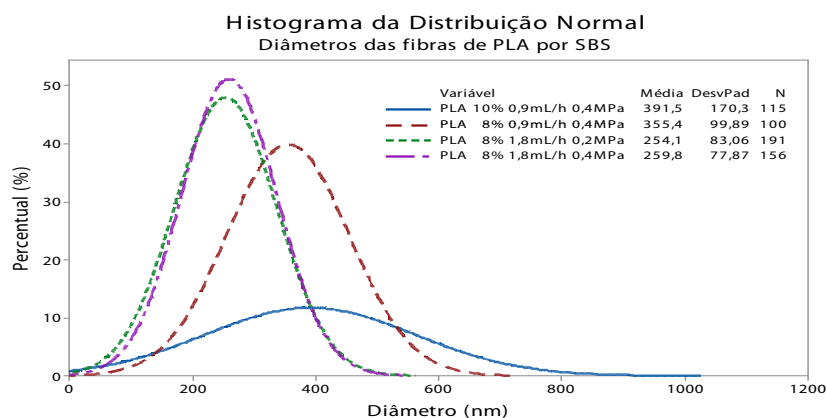
As micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) estão na Figura 1. Observa-se que as fibras são homogêneas sem a formação de grânulos (*beads*).



**Figura 1.** Micrografias obtidas por MEV das nanofibras de PLA produzidas por fiação por sopro em solução utilizando DMC como solvente: A) 10% m/v – 0,9 mL.h<sup>-1</sup> – 0,4 MPa; B) 8% m/v – 0,9 mL.h<sup>-1</sup> – 0,4 MPa; C) 8% m/v – 1,8 mL.h<sup>-1</sup> – 0,2 MPa; D) 8% m/v – 1,8 mL.h<sup>-1</sup> – 0,4 MPa.

### 3.3 Diâmetro médio das nanofibras

Os diâmetros das nanofibras foram obtidos com o auxílio do *software* ImageJ e pelo menos 100 medidas aleatórias foram coletadas de cada amostra para determinação do diâmetro médio. O gráfico da Figura 2 mostra o histograma da distribuição normal dos diâmetros, bem como o valor médio, desvio padrão e número de dados coletados por amostra. Observou-se que a amostra com concentração de PLA de 10% m/v apresentou uma distribuição normal mais larga quando comparada às amostras com concentração de 8% m/v, indicando que a variação dos diâmetros se distribui de forma mais homogênea. Já as amostras com menor concentração de PLA apresentaram uma distribuição normal mais estreita, sugerindo que uma maior quantidade de nanofibras possui diâmetros mais próximos do seu valor médio. É possível observar também que reduzindo a concentração e mantendo as outras variáveis fixas, os diâmetros médios apresentaram valores bastante próximos (391 e 355 nm). Notou-se também que com o aumento da taxa de injeção de 0,9 para 1,8 mL.h<sup>-1</sup> ocorreu um estreitamento da curva de distribuição e uma redução no tamanho médio das nanofibras dos sistemas estudados, indicando que uma maior taxa de injeção favorece a formação de fibras de menor diâmetro (254 e 259 nm). Estes resultados diferem da literatura, como reportado por Oliveira et al. (2011). Com relação à pressão do ar, não foi observado diferenças significativas entre as amostras, porém sabe-se que este é um fator bastante importante na fiação por sopro em solução, pois a força motriz do sistema ocorre devido à pressão de arraste do ar conduzindo o polímero em solução até o coletor, no qual durante este trajeto o solvente é evaporado. Possivelmente, o fator pressão do ar somado ao fator concentração de polímero foi responsável pela não produção de fibras das outras condições estudadas, pois com a maior concentração de PLA (10% m/v), apenas a amostra com maior pressão do ar (0,4 MPa) e menor taxa de injeção (0,9 mL.h<sup>-1</sup>) foi possível obter fibras, indicando que nas outras condições a força de arraste do ar não venceu a tensão superficial da solução. Pelo mesmo motivo pode-se justificar a dificuldade em produzir nanofibras na amostra com concentração de PLA de 8% m/v com menor taxa de injeção (0,9 mL.h<sup>-1</sup>) e menor pressão do ar (0,2 MPa). Medeiros et al. (2009) obteve diâmetros das nanofibras variando entre 80-260 nm por fiação por sopro em solução utilizando o PLA com o solvente tetrafluoretileno (TFE), diâmetros menores do que os encontrados com DMC, porém segundo Oliveira et al. (2013) utilizando uma mistura de clorofórmio e acetona na proporção 3:1 foi possível obter diâmetro médio de 289±93 nm, valor próximo ao obtido neste trabalho. Estes resultados comparados com a literatura evidenciam que o tipo de sistema polímero/solvente influencia diretamente nos diâmetros das fibras.



**Figura 2.** Histograma da distribuição normal dos diâmetros das fibras obtidas por fiação por sopro em solução.

## 4 CONCLUSÃO

Observou-se que é possível obter nanofibras de PLA por fiação por sopro em solução utilizando o DMC como solvente, sendo que os resultados indicaram que menores concentrações de PLA e maiores taxas de injeção favorecem a formação de fibras de menor diâmetro com distribuição normal mais estreita. Entretanto, para determinação das condições ótimas de processamento e das variáveis mais significativas, é necessária uma análise estatística completa.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Embrapa Instrumentação pela infraestrutura e a CAPES/CNPq pelo auxílio financeiro.

## REFERÊNCIAS

MEDEIROS, E. S.; GLENN, G. M.; KLAMCZYNSKI, A. P.; ORTS, W. J.; MATTOSO, L. H. C. Solution Blow Spinning: A New Method to Produce Micro- and Nanofibers from Polymer Solutions. *J. Appl. Polym. Sci.*, v. 113, p. 2322-2330, 2009.

MEDEIROS, E. S.; GLENN, G. M.; KLAMCZYNSKI, A. P.; ORTS, W. J.; MATTOSO, L. H. C. US8641960: Solution Blow Spinning. Washington, 2014.

OLIVEIRA, J. E.; MORAES, E. A.; MARCONCINI, J. M.; MATTOSO, L. H. C.; GLENN, G. M.; MEDEIROS, E. S. Properties of poly(lactic acid) and poly(ethylene oxide) solvent polymer mixtures and nanofibers made by solution blow spinning. *J. Appl. Polym. Sci.*, v. 129, p. 3672-3681, 2013.

OLIVEIRA, J. E.; MORAES, E. A.; COSTA, R. G. F.; AFONSO, A. S.; MATTOSO, L. H. C.; ORTS, W. J.; MEDEIROS, E. S. Nano and submicrometric fibers of poly(D,L-lactide) obtained by solution blow spinning: process and solution variables. *J. Appl. Polym. Sci.*, Vol. 122, p. 3396-3405, 2011.

---

# CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E MORFOLÓGICA DE ANTIBIÓTICO $\beta$ -LACTÂMICO ENCAPSULADO EM NANOPARTICULAS PARA O TRATAMENTO DE INFECÇÕES BOVINAS

R. G. Castanheira<sup>1</sup>, R. S. Araújo<sup>1</sup>, L. T. Oliveira<sup>1</sup>, G. M. Garcia<sup>1</sup>, J. M. C. Vilela<sup>2</sup>, H. M. Brandão<sup>3</sup>, \*V. C. F. Mosqueira<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Desenvolvimento Galênico e Nanobiotecnologia, CIPHARMA, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, MG. <sup>2</sup>Centro Tecnológico de Minas Gerais (CETEC-MG), Belo Horizonte. \*vamosqueira@gmail.com

**Classificação:** Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio

### Abstract

Os antibióticos  $\beta$ -lactâmicos (BL) são amplamente utilizados na prática veterinária devido à sua atividade contra bactérias gram-positivas, especialmente *Staphylococcus spp.* Portanto, o objetivo desse estudo foi o preparo, a caracterização físico-química e morfológica e estudo de encapsulação de NP de carga positiva contendo BL, as quais também podem ser empregadas em estudos de biodistribuição.

**Keywords:** mastite bovina, nanopartículas, caracterização físico-química

**Publicações relacionadas:** artigos submetidos

Araújo, RS, Vilela JMC, Andrade MS, Kano EK, Lange CC, Paiva e Brito MAV, Castanheira RG, Brandão HM, Mosqueira VCF. Cloxacillin benzathine polymeric nanocapsules for veterinary use: quantification and assay validation, release kinetic and in vivo antimicrobial effect.

Castanheira RG, Araújo, RS, Vilela JMC, Andrade MS, Brandão HM, Mosqueira VCF. Bioadhesive nanoparticles for mastitis treatment: characterization, release kinetic and ex vivo interaction with bovine mammary gland.

Dissertação de mestrado defendida no PPG Ciências Farmacêuticas UFOP (Castanheira RG, Nanopartículas bioadesivas para administração intramamária: desenvolvimento, caracterização físico-química, cinética de liberação e avaliação biológica ex vivo).



## 1 INTRODUÇÃO

Infecções bovinas causadas por bactérias são responsáveis por grandes perdas econômicas dos criadores em todo o mundo. As perdas se devem aos investimentos feitos em tratamento e prevenção, à redução da qualidade da carne e do leite e à morte dos animais infectados (A. Zecconi *e cols.*, 2009; Dee Griffin, 2010). Além do problema do desenvolvimento de resistência aos antibióticos, o tratamento das infecções bovinas bacterianas pode ser complicado devido a outros fatores, como a degradação precoce da droga e sua inativação por secreções inflamatórias. Nesses casos, há uma redução da biodisponibilidade da droga, o que pode resultar em cura reduzida e recorrência da doença (C.H. Sandgren *e cols.*, 2008).

Nanopartículas poliméricas (NP), como nanocápsulas (NC) e nanoesferas (NS) são candidatos interessantes para disponibilização de antibióticos em infecções bacterianas (Couvreur & Vauthier, 2006). Eles apresentam alta estabilidade em contato com fluidos biológicos, sua natureza permite liberação controlada da droga e a protege da degradação prematura (J.M. Irache *e cols.*, 2011). A encapsulação de antibióticos em NP pode aumentar a dose máxima tolerada e seu índice terapêutico se comparada à droga livre, o que pode ser explicado pela modificação na biodistribuição e perfil farmacocinético da droga encapsulado (Couvreur & Vauthier, 2006). Os antibióticos  $\beta$ -lactâmicos (BL) são amplamente utilizados na prática veterinária devido à sua atividade contra bactérias gram-positivas, especialmente *Staphylococcus spp* (P. Gruet *e cols.*, 2001). Portanto, o objetivo desse estudo foi o preparo, a caracterização físico-química e morfológica e estudo de encapsulação de NP de carga positiva contendo BL, as quais também podem ser empregadas em estudos de biodistribuição.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Os BL foram obtidos pela Embrapa-GL (Brasil) e os polímeros utilizados, poli- $\epsilon$ -caprolactona (PCL) e quitosana quimicamente modificada (QM), foram obtidos da Sigma-Aldrich (EUA).

### 2.1 Preparo de Nanopartículas

Nanoestruturas associadas à BL foram preparadas de acordo com protocolo documentado (Mosqueira *e cols.*, 2006) usando os polímeros PCL e QM.

### 2.2 Caracterização de Nanopartículas

#### 2.2.1 Espectroscopia de correlação fotônica

O tamanho médio das NP foi avaliado no equipamento Nanosizer N5 PLUS (Beckmann Coulter, Fullerton, EUA) e os valores obtidos foram expressos como média $\pm$ desvio padrão.

#### 2.2.2 Análise de potencial zêta

O potencial zêta foi avaliado por medida eletroforética acoplada a anemometria do laser doppler no equipamento Zetasizer HS3000 (Malvern Instruments, Malvern, UK) e os valores expressos como média $\pm$ desvio padrão.

#### 2.2.3 Microscopia de força atômica (MFA)

Análise de MFA foi realizada em temperatura ambiente, no Equipamento Dimension 3100 monitorado por controlador Nanoscope IIIa da Digital Instruments (Santa Barbara, CA, EUA) usando software versão Nanoscope 5.31r1 (Veeco Metrology, Santa Bárbara, EUA) para aquisição de dados. As imagens foram obtidas usando placas de sílica comerciais, sonda de 228  $\mu$ m de comprimento. Uma alíquota de 5  $\mu$ L da amostra foi diluída em água MilliQ e depositada sobre placa de mica recentemente clivada, espalhada e seca em corrente de argônio.

#### 2.2.4 Eficiência de Encapsulação

A porcentagem e eficiência de encapsulação (EE) foram determinadas pela técnica de ultrafil-

tração/centrifugação por HPLC em equipamento Waters Alliance 2695 acoplado a DAD Waters 2996. A quantidade de droga na NP foi determinada pela Eq. (1) e a EE pela Eq. (2), na qual A=concentração.

(1)

$$(\%) = \frac{A^{total} - A^{ultrafiltrate}}{A^{weighted}} \times 100 \quad (2)$$

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

**Tabela 1.** Caracterização físico-química de NP

NP	[Fármaco] (mg/ml)	Tamanho médio (nm)	IPD	Zêta (mV)
NS1	0,5	246,7	0,13	+52,0
NS2	1,0	230,8	0,10	+51,9
NS3	2,0	306,5	0,11	+19,9
NS4	3,0	294,1	0,14	+18,6
NC1	0,5	264,9	0,19	+39,4
NC2	1,0	295,3	0,20	+41,3
NC3	2,0	282,0	0,23	+28,2
NC4	3,0	328,3	0,34	+28,5

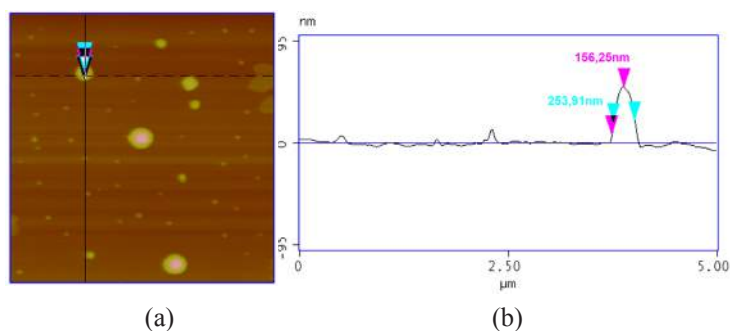
*Volume final: 5 ml. NP=nanopartícula.*

**Tabela 2.** Eficiência de encapsulação de NP com diferentes concentrações de BL.

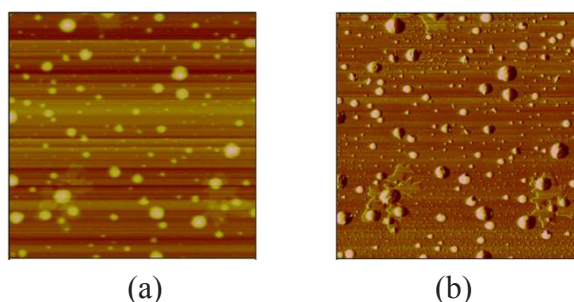
NP	[Fármaco] (mg/ml)	LOADING (%)	Eficiência de encaps. (%)
NS1	0,5	74	47
NS2	1,0	67	41
NS3	2,0	67	46
NS4	3,0	55	26
NC 1	0,5	78	58
NC 2	1,0	79	52
NC 3	2,0	78	37
NC4	3,0	72	22

*Volume final: 5 ml. NP=nanopartícula.*

Como mostrado nas tabelas 1 e 2, o aumento da concentração da droga reduz a estabilidade da partícula e influencia significativamente ( $p < 0.05$ ) a carga superficial da partícula a seu índice de polidispersão. Ambos os tipos de NP, matricial (NS) e vesicular (NC) foram afetados. A incorporação do fármaco à NP e a eficiência de encapsulação foram reduzidas à medida que a concentração do fármaco aumentou. A estabilidade coloidal provavelmente foi comprometida pela redução do potencial elétrico de superfície das NP, induzindo agregação.

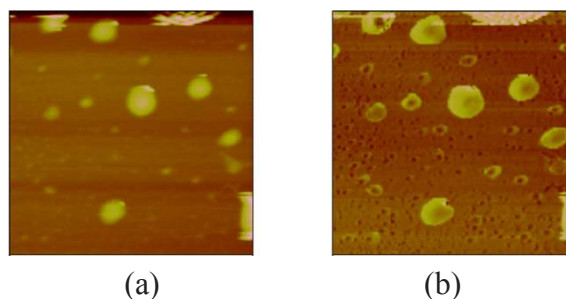


**Figura 1.** Altura por MFA (a) imagem e perfil topográfico (b) de NS com 0,5mg/ml de BL. Escaneamento:  $3\mu\text{m} \times 3\mu\text{m}$ .



**Figura 2.** Altura por MFA (a) e fase (b) de NS com 0,5mg/mL de BL. Tamanho  $10\mu\text{m} \times 10\mu\text{m}$ .

As figuras 1 e 2 mostram estruturas esféricas e nanométricas homogêneas. Na figura 1 é possível analisar a relação diâmetro/altura da NS=1,6, indicando estrutura macia e deformável, provavelmente devido ao recobrimento por polímero de QM. Esses resultados corroboram com as iamgens da figura 2, demonstrando uma superfície irregular e deformável da NS.



**Figura 3.** Altura por MFA (a) e fase (b) de NC com 0,5mg/ml de BL. Tamanho  $3\mu\text{m} \times 3\mu\text{m}$ .

A figura 3 mostra estruturas mais heterogêneas e deformáveis, provavelmente devido à adesão das NC na superfície de deposição da amostra sob pressão da sonda.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPEMIG/Brasil pelo apoio financeiro aos autores e à pesquisa. Esse trabalho foi também financiado pelo programa NANOBIOMG, Minas Gerais, e pela Embrapa – Gado de Leite, Brasil.

## REFERÊNCIAS

- [1] A. Zecconi *e cols.*, Evaluation of interleukin-2 treat..., *Comp. Immunol., Microbiol. And Inf. Dis.* 32, 439-451 (2009).
- [2] C.H. Sandgren *e cols.*, Therapeutic effects of systemic or intram..., *The Vet. J.* 175, 108-117 (2008).
- [3] Couvreur & Vauthier, Nanotechnology: intelligent design..., *Pharm. Res.* 23, 1417-1450

[4] Dee Griffin. Bovine Pasteurellosis and Other Bact..., Vet. Clin. N. Am.: Food Anim. Pract. 26, 57-71 (2010).

[5] J. M. Irache *e cols.*, Nanomedicine: novel approaches..., Vet. Parasitol., 1-25 (2011).

[6] P. Gruet *e cols.*, Bovine mastitis and intram...,

---

## AFM CHARACTERIZATION OF PEG-BLOCK-PLA BIODEGRADABLE NANOPARTICLES

Giani Martins Garcia<sup>1</sup>, Margareth Spangler Andrade<sup>2</sup>, José Mário Carneiro Vilela<sup>2</sup>, Patrice Hildgen<sup>3</sup>, \*Vanessa Carla Furtado Mosqueira

<sup>1</sup>Laboratório de Desenvolvimento Galênico e Nanobiotecnologia, CiPharma, Escola de Farmácia, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, MG. <sup>2</sup>Centro Tecnológico de Minas Gerais (CETEC-MG), Belo Horizonte, MG. <sup>3</sup>Faculté de Pharmacie, Université de Montréal, Québec, Canada.

\*mosqueira@ef.ufop.br

**Classificação:** Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio

### Resumo:

Neste estudo, apresentamos a caracterização físico-química de nanoesferas poliméricas (NS), produzidas a partir de polímeros em bloco de ácido poli-*rac*-lático (PLA) covalentemente ligado ao polietilenoglicol (PEG). Utilizou-se polímeros com arquiteturas diferentes; do tipo dibloco (PLA-PEG) e tribloco (PLA-PEG-PLA), com ou sem funcionalização ao longo da cadeia de PLA. As nanoestruturas foram analisadas e caracterizadas de acordo com o tamanho por espectroscopia de correlação de fótons (PCS), obtendo-se o tamanho médio e o índice de polidispersão (IP). A análise morfológica foi realizada por microscopia de força atômica (MFA). O tamanho médio de NS obtido por MFA; 158 nm (PLA), 81 nm (dibloco) e 98 nm (tribloco) foram menores que os obtidos por PCS, 206 nm (PLA), 117 nm (dibloco) e 150 nm (tribloco), respectivamente. Observou-se a presença de um forte contraste nas imagens de fase nas NS contendo cadeias de PEG, quando analisados por MFA, o que é sugestivo da presença de um material de menor dureza na superfície. Este contraste não foi observado nas NS obtidas a partir do homopolímero de PLA.

**Palavras-chave:** Nanopartículas Poliméricas, Microscopia de Força Atômica, Ácido poli-*rac*-lático.

### Abstract

In this study we present a physicochemical characterization of polymeric nanospheres (NS), produced from block polymers of poly-*rac*-lactide (PLA) covalently linked to polyethylene glycol (PEG). We used polymers with diblock (PLA-PEG) and triblock (PLA-PEG-PLA) architectures, with or without functionalization along the linear PLA backbone. The nanostructures were analyzed and characterized by photon correlation spectroscopy (PCS), to determine the NS mean size and population polydispersity (PI). The morphological analysis was performed by atomic force microscopy (AFM). The average diameters of unloaded NS obtained by AFM were smaller 158nm (PLA), 81nm (diblock) and 98nm (triblock) than those obtained by PCS, 206nm (PLA), 117nm (diblock) and 150nm (triblock). We observed a strong contrast at interfaces of NS containing PEG blocks in phase images, which is suggestive of the presence of a softer domains. This contrast was not observed in the NS obtained from PLA homopolymer.

**Keywords:** Polymeric Nanoparticles, Atomic Force Microscopy; poly-*rac*-lactide.

**Publicações relacionadas:** Leite EA, Vilela JMC, Mosqueira VCF, Andrade MS. Poly- $\epsilon$ -caprolactone nanocapsules morphological features by atomic force microscopy. *Microsc. Microanal.* 2005;11;48-51. Dissertação de mestrado defendida no PPG Ciências Farmacêuticas UFOP (*Garcia GM, NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS FUNCIONALIZADAS PARA DIRECIONAMENTO DE FÁRMACOS: ESTUDO FÍSICO-QUÍMICO E APLICAÇÕES NO ENCAPSULAMENTO DE FÁRMACOS ANTI-TRYPANOSOMA CRUZI E ANTI-ATEROGÊNICO*)

## 1 INTRODUCTION

The interest on the biodegradable nanoparticles as suitable devices to control drug release and targeting has been increased in the last twenty years. Particles with sizes larger than 250 nm and those with hydrophobic surfaces are more rapidly cleared from the blood circulation, because they activate human complement system. Thus, the surface modification of polymeric nanoparticles is often required to control their interaction and fate within the biological system (Essa *et al.*, 2008). Polyethylene glycol (PEG) has been the most investigated polymer, since they are able to reduce interaction with blood proteins. PEG is an uncharged, hydrophilic and non-immunogenic polymer that can be physically adsorbed onto or, preferably, covalently attached to the surface of hydrophobic colloids (Mosqueira *et al.*, 2001).

## 2 MATERIALS AND METHODS

### 2.1 Preparation of nanoparticles

Surface-modified NS were prepared according to method described by Mosqueira *et al.*, 2001, using the diblock (PLA-PEG) and triblock polymer (PLA-PEG-PLA). The PEG chains were covalently linked to the PLA backbone and are located at NS surface (Mosqueira *et al.*, 2009).

### 2.2 AFM analysis

In the present work nanospheres (NS) were analysed by atomic force microscopy (AFM) to determine the diameter distribution, the height/diameter ratio and their morphological features. AFM analysis using the *tapping* mode were performed on nanoparticles (NP) samples deposited upon mica plates and dried with argon stream. AFM observation was performed in air at room temperature, on a Dimension 3100 Equipment monitored by a Nanoscope IIIa controller from Digital Instruments (Santa Barbara, CA, USA) using the software version Nanoscope 5.31r1 (Veeco Metrology, Santa Bárbara, USA) for data acquisition. The images were obtained using commercial Si probes, with cantilevers having a length of 228  $\mu\text{m}$ , resonance frequencies of 75-98 kHz, spring constants of 3.0-7.1 N/m and a nominal tip curvature radius of 5 nm. The scan rate was 1Hz. Dimensional analyses were performed using the “*section analyses*” program of the Nanoscope<sup>®</sup> software.

## 3 RESULTS AND DISCUSSION

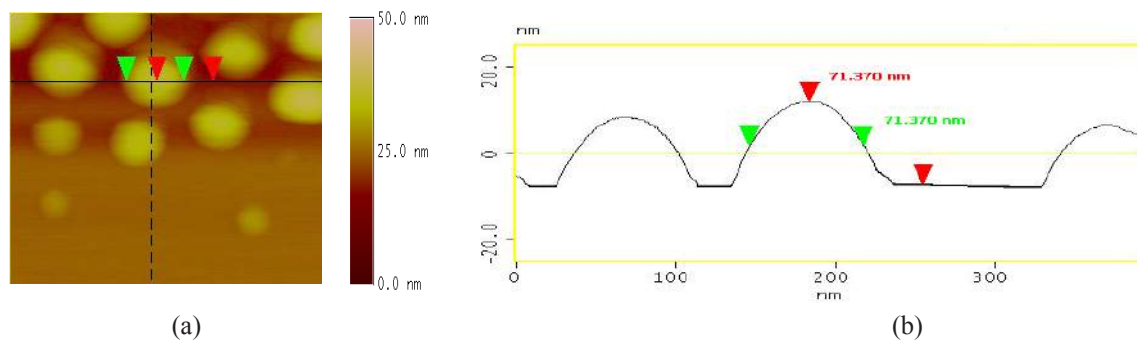
The phase image shows more contrast than the height image at the NS surfaces containing PEG. This technique has been shown to be sensitive to analyze surface properties of this material, such as stiffness, viscoelasticity, and chemical composition (Raghavan *et al.*, 2000). While Photon Correlation Spectroscopy (PCS) measures hydrodynamic radius, the AFM technique allows direct measurement of size in samples in a partially dried state, deposited on freshly cleaved mica plates, which permits simultaneous characterization of particle morphology and polymer supramolecular organization. The average sizes of unloaded NS obtained by AFM were smaller than those obtained by PCS (Table 1).

Both methods of size analysis confirm that diblock polymer is more efficient in reducing NP sizes than PLA homopolymer, suggesting an especial organization of the polymer at NP surface that reduce interfacial tension during mutual solvent diffusion in the preparation process (*brush* or *mushroom* conformations) (Table 1). The shape of the NS (Figure 1a) is almost spherical, what means that their diameters/height ratios are closer to 1. This is due to their rigid polymeric matrix structure. When analyzed with higher resolution, it could be observed that PLA NS surface was not completely homogeneous and showed structures similar to pores and wells, and also imperfections such as small hills (Figure 2a). In fact, the method used to produce NS, the polymer deposition followed by solvent displacement, result in fast interfacial diffusion of the solvents at the moment of mixture. This produces the “Marangoni effect” (Fessi *et al.*, 1989), which reduce the size of the solute droplets in order to form further nanoparticles. PLA NS produced without any surfactant, as shown in the present work, probably experience higher turbulent diffusion producing these surface imperfections compared with NS produced at lower interfacial tension. On the opposite of NS made of PLA homopolymer, PEG modified surfaces of NS (Figure 2b) showed an observable contrast on the phase images at the NS surface, suggesting the present of smooth material located at this area. In the case of triblock polymer, the NP did not show any difference in the surface in the phase images compared to homopolymer, indicating another form of PEG organization in the spheres, as hypothetically represented in the Figure 3.

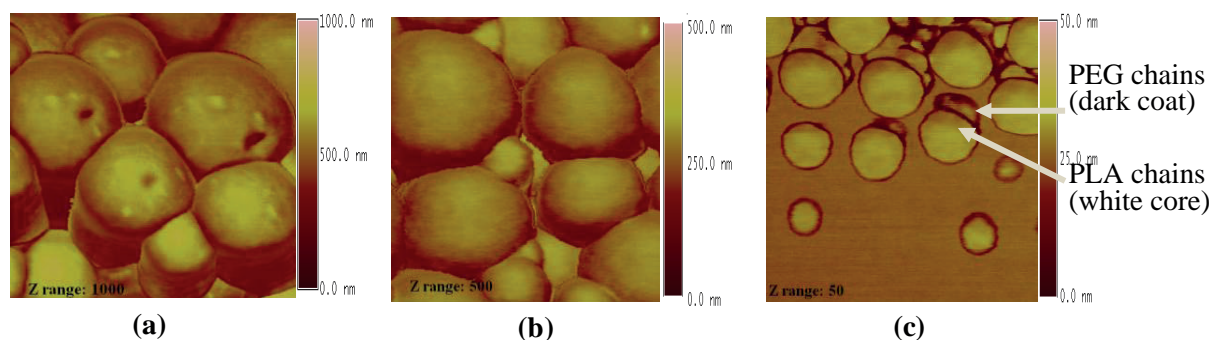
**Table 1.** Size of unloaded NS analysed by PCS and AFM

Formulation	Mean size (nm) (PCS)	Mean size (nm) (AFM)	Polydispersity index <sup>a</sup>
PLA	206	158	0.057
PLA-PEG	117	81	0.069
PLA-PEG-PLA	150	97	0.079

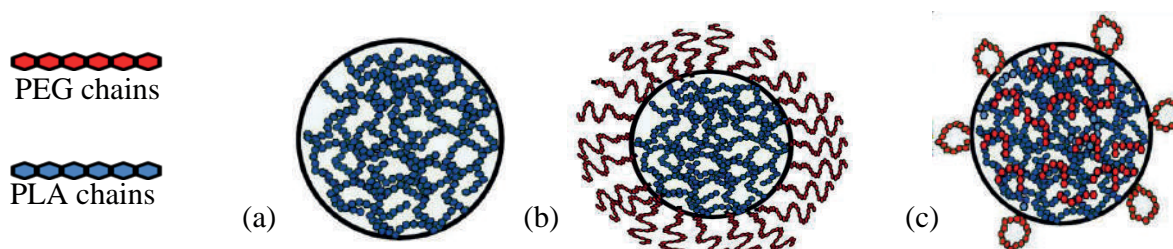
<sup>a</sup> Monodispersed samples (below 0.3).



**Figure 1.** AFM image of *diblock* NS (a) and topographic profile (b) showing nanosphere height (red arrows) and diameter (green arrows). Scan size: 390 nm.



**Figure 2.** Phase images of NS prepared with PLA (a), triblock (b) and diblock polymers (c). Scan size: (a) 450nm, (b) 300 nm, (c) 390 nm.



**Figure 3.** Scheme of different polymers organization, (a) PLA, (b) diblock (PLA-PEG) and triblock NP (PLA-PEG-PLA). Adapted from Essa et al., 2010.

#### 4 CONCLUSION

The architecture in block polymers can influence the PEG location in the general structure of nanospheres and the intermittent-contact mode (*tapping*) in atomic force microscopy is a versatile tool, which allows soft samples probing and imaging, such as those of the polymeric materials. The phase

image analysis provides in this case more information than the topographic image. It has been shown to be sensitive to material surface properties such as stiffness, viscoelasticity, and chemical composition.

## ACKNOWLEDGEMENTS

The first author thanks CAPES-Brazil scholarship. VCF Mosqueira is fellows of CNPq, Brazil. This work was also supported by NANOBIOMG-Network and PPM grant from FAPEMIG, Minas Gerais, Brazil.

## REFERENCES

- ESSA, S., RABANEL, J.M., HILDGEN, P. Effect of polyethylene glycol (PEG) chain organization on the physicochemical properties of poly(D,L-lactide) (PLA) based nanoparticles. *Eur J Pharm Biopharm*, v.75 (2), p.96-106, 2010.
- FESSI H., PUISIEUX F., DEVISSAGUET J.P., AMMOURY N., BENITA S. Nanocapsule Formation by Interfacial Polymer Deposition Following Solvent Displacement. *Int J Pharm*, v.55, p.R1-R4, 1989.
- MOSQUEIRA, V.C., LEGRAND, P., GULIK, A., BOURDON, O., GREF, R., LABARRE, D., BARRATT, G. Relationship Between Complement Activation, Cellular Uptake and Surface Physicochemical Aspects of Novel PEG-Modified Nanocapsules. *Biomaterials*, v.22, p.2967-2979, 2001.
- MOSQUEIRA, V. C. F.; RABANEL, J-M. ; HILDGEN, P.. One Step Reaction for Functionalized Biodegradable Block Copolymers Towards Surface Engineering and Targeted Stealth Nanocarriers. In: 36th Annual Meeting & Exposition of the Controlled Release Society, 2009, Copenhagen. Proceedings of 36th Annual Meeting & Exposition of the Controlled Release Society. 2009. v. 36. p. 417-418.
- RAGHAVAN, D., GU, X., NGUYEN, T., VANLANDINGHAM, M., KARIM, A. Mapping polymer heterogeneity using atomic force microscopy phase imaging and nanoscale indentation. *Macromolecules*, v.33, p.2573-2583, 2000.

---

## POLY(D,L-LACTIDE)- CHITOSAN NANOCAPSULES MORPHOLOGICAL FEATURES

L.T. Oliveira<sup>1</sup>, G.M. Garcia<sup>1</sup>, J.M.C. Vilela<sup>2</sup>, M.S. Andrade<sup>2</sup>, \*V.C.F. Mosqueira<sup>1</sup>

<sup>1</sup>CiPharma-Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Escola de Farmácia, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, MG. <sup>2</sup>Centro Tecnológico de Minas Gerais – CETEC, Belo Horizonte, MG.

\*vamosqueira@gmail.com

**Classificação:** Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio

### Abstract

Polymeric nanoparticles containing an oily core surrounded by polymeric membrane, named nanocapsules (NCs), have been widely studied in the life sciences field due to their therapeutic potentialities of drug targeting in the body, accompanied also by its larger stability in the biological fluids compared to other colloidal carriers. Chitosan is an interesting natural material with excellent biocompatibility, and several advantages due to its unique polymer cationic character render it highly useful for pharmaceutical application [1]. Knowledge about membrane properties of the nanocapsules is rather limited. In the present work, unloaded poly(D,L-lactide)-chitosan (PLA-ch) nanocapsules were analyzed by Atomic Force Atomic (AFM) to determine the diameter and topographic characteristics of their surface deposited on mica. Their diameters lie in the range of 220-280nm with vertical distance of 50-70nm, showing the flattening property of the NC.

**Keywords:** Nanocapsules, chitosan, atomic force microscopy

**Publicações relacionadas:**

OLIVEIRA, LT; Garcia, GM; Kano, EK; Tedesco, AC; Mosqueira, VCF. HPLC-FLD methods to quantify chloroaluminum phthalocyanine in nanoparticles, plasma and tissue: application in pharmacokinetic and biodistribution studies. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* (Print), p. 70-77, 2011.

Dissertação de mestrado defendida no PPG Ciências Farmacêuticas - UFOP (Oliveira, LT, 2011) Nanocápsulas: variação das características superficiais, caracterização e efeitos após administração intravenosa.

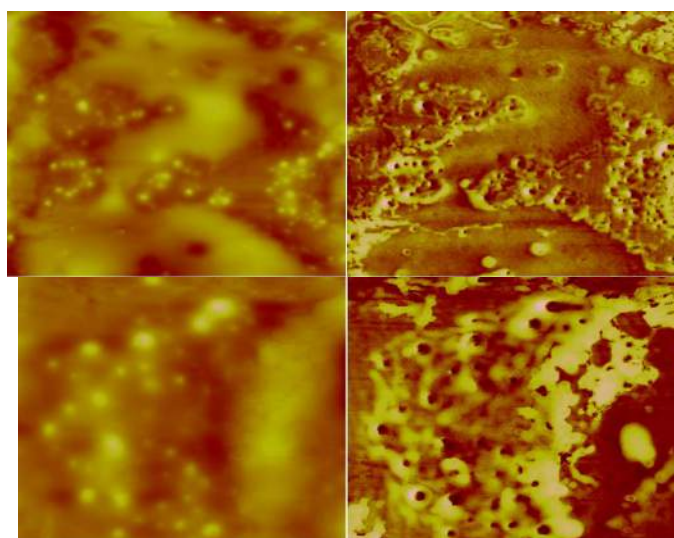
**1 INTRODUCTION**

Colloidal nanocarriers delivery systems have been extensively investigated as system used to target drugs to selected sites in the body in order to improve drug efficacy and reduce toxicity (1). Nanocapsules (NC) are reservoir systems containing an oily core surrounded by a polymeric wall. These systems have already increased the therapeutic index of many drugs (Leite 2007). The NC surface is generally hydrophobic and induces extensive opsonization by the complement system, promoting rapidly clearance by phagocytes, particularly Kupffer cells in the liver and macrophages in the spleen.

Chitosan (Ch) is a cationic polysaccharide, derived from chitin, occurring in abundance in the environment. It is one hydrophilic polymer and has several advantages due to its unique cationic charge that is useful for pharmaceutical application (2). Chitosan nanoparticles have been used in many applications such as drug delivery, muco-adhesive dosage forms, protein delivery carrier, improved peptide and gene delivery and as a nanoscale vaccine delivery system for hepatitis B subunit antigens. Therefore, in the present study, the PLA-Ch NC was developed and characterized by Atomic Force Microscopy (Fig 1). These investigations will contribute to further rational design of chitosan nanocarriers.

**2 MATERIAL AND METHODOLOGIES**

The PLA-ch NC were prepared by nanoprecipitation method (3) as previously described (Oliveira *et al.*, 2011) using 0.25% w/v of chitosan polymer in the aqueous phase. The organic solvents were completely removed under reduced pressure until 10 ml of final aqueous colloidal suspension was obtained (Heidolph Rotary Evaporator, Germany). The nanocapsules formed were analysed by AFM. The measurements were performed at room temperature, in air, on a Dimension 3000, as well as, on a Multimode Equipment, both monitored by a Nanoscope IIIa controller, from Digital Instruments (Santa Barbara, CA), using the software version Nanoscope 5.31r1 (Veeco Metrology, Santa Bárbara, USA). The images were obtained in *tapping mode*, using commercial silicon probes from Nanosensors with cantilevers of 228  $\mu\text{m}$  length, resonance frequencies of 75- 98 kHz, spring constants of 29-61 N/m, and nominal tip radius of curvature of 5 nm to 10 nm. The “scan rate” used was of 1 Hz.

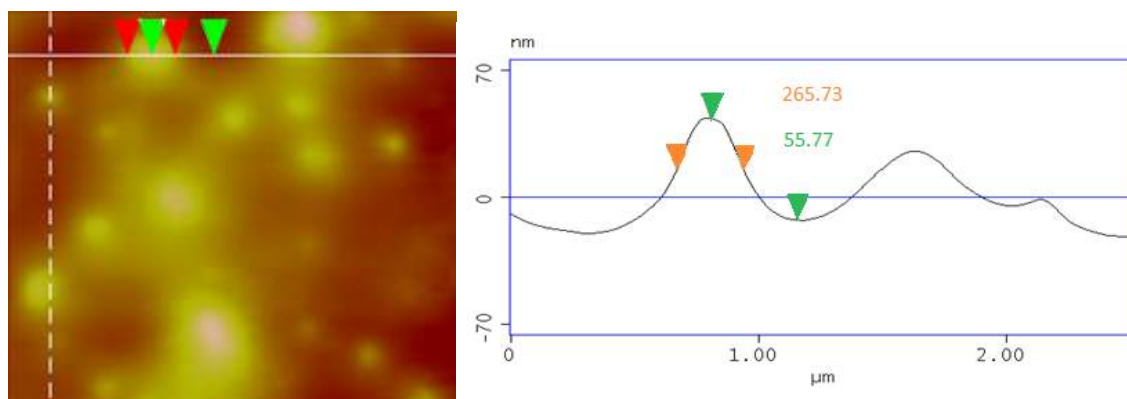


**Figure 1.** AFM images of nanocapsules: on the right side the phase images and on the left side the topographic images. Scan size 5 $\mu\text{m}$  x 5 $\mu\text{m}$ .



### 3 RESULTS AND DISCUSSION

AFM images (Figure 1) show NC with spherical shape. The AFM images show particles with diameters in the nanometrical range. PLA-ch NC structures are spherical and surrounded by clouds of a material that seems to be the chitosan polymer. These clouds are very soft and deformable, as observed in the phase images (data not shown). However, the clouds of chitosan are one interesting aspect of this formulation, because showed the adsorption of chitosan at NC surface. The shape of the NC (Figure 1a) is almost spherical and the higher heights in the topographical image correspond to softer and deformable domains, which may be attributed to the oily core of these vesicular structures. The images confirms the existence of round vesicular units (Figure 1) spread on mica surface. Their diameters lie in the range of 200-300 nm and a vertical distance of around 55 nm, demonstrating the flattening of the NC (Figure 2) evidenced by its diameter/height ratio higher than 4. This study shows that AFM can be used to analyze the morphology of NC and to explore its physical properties.



**Figure 2.** AFM image of height of PLA-Cs nanocapsules and at the right side the “analysis section” showing the measure of diameter and height of nanocapsules. Scan size  $5\ \mu\text{m} \times 5\ \mu\text{m}$ .

### 4 CONCLUSION

This study shows that AFM was efficiently used to observe the morphology and to explore physical properties of chitosan-coated nanocapsules. The Pla-Ch NC showed diameter of 260 nm by AFM and the ability of flattening upon tip pressure during scanning, confirming its vesicular structural nature.

### ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank CAPES-Brazil for personal financial support to the first author and CNPq-Brazil for the research grant to VCF Mosqueira. This work was also supported by FAPEMIG and by NANOBIOMG Network, Minas Gerais, Brazil.

### REFERÊNCIAS

- 1- Legrand P., Barrat G., Mosqueira V., Fessi H., Devissaguet J. P. Polymeric nanocapsules as drug delivery systems. A review. S.T.P. Pharma Sciences, v. 9, n. 5, p. 411-418, 1999.
- 2- Caban S., Capan Y., Couvreur P., Dalkara T. Preparation and characterization of biocompatible chitosan nanoparticles for targeted brain delivery of peptides. Methods Mol Biol., 846:321-32, 2012.
- 3- Fessi H., Puisieux F., Devissaguet J.P., Ammoury N., Benita S. Nanocapsule formation by interfacial polymer deposition following solvent displacement. Int. J. Pharm. 55, R1–R4 1989.

## ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE NANOPARTÍCULAS DE PRÓPOLIS CONTRA ALGUMAS BACTÉRIAS COMUNS EM CONTAMINAÇÃO DE CARNE

\*Alves, H. C.<sup>1,2,3</sup>, Martins, J. T.<sup>1</sup>, Bernardes-Filho, R.<sup>2</sup>, Sousa, C. P.<sup>3</sup>, Teixeira, J. A.<sup>1</sup>, Vicente, A. A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Minho, Depto. de Engenharia Biológica, Braga, Portugal. <sup>2</sup>Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP. <sup>3</sup>Universidade Federal de São Carlos – Depto. de Morfologia e Patologia, São Carlos, SP.

\*henrique.biotech@gmail.com

**Classificação:** Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio

### Resumo

Própolis é uma substância resinosa natural coletada em botões foliares de diferentes espécies de árvores por abelhas e conhecida por suas propriedades biológicas (antibacteriana, antifúngica e antioxidante). O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antimicrobiana de nanopartículas de própolis (NPs) em comparação com extrato etanólico de própolis (EEP) contra algumas bactérias (*Escherichia coli* was 1.15%, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella thompson*, *Listeria monocytogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter helveticus*, *Lactobacillus buchneri* and *Leuconostoc mesenteroides*) comuns em contaminação de carne. O EEP foi obtido de resina de própolis verde, em etanol absoluto sob agitação durante 15 dias. Para obter as NPs, EEP a 13,75% (m/V) foi misturado com solução de álcool polivinílico a 0,1% (m/V). Concentração inibitória mínima (CIM) de ambas as soluções foi avaliada pelo método de difusão por poços em ágar; todas as linhagens foram suscetíveis e os valores da CIM, para as NPs, variaram entre 0,57, para *S. aureus* e 2,29% (m/V) para *S. thompson*, *E. helveticus* e *L. buchneri*. Para o EEP, a CIM variou de 0,68, para *S. aureus*, a 6,88% (m/V) para *E. helveticus* e *L. buchneri*. A atividade antimicrobiana apresentada pelas NPs é de potencial interesse para aplicações em produtos cárneos (por exemplo, na formulação de revestimentos comestíveis).

**Palavras-chave:** Própolis; Nanopartículas; Antimicrobianas; Carne; Bactérias;

### ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF PROPOLIS NANOPARTICLES AGAINST SOME COMMON MEAT CONTAMINATION BACTERIA

#### Abstract

Propolis is a natural resinous substance collected from the leaf buds of different tree species by honeybees and known for its biological properties (antibacterial, antifungal and antioxidant). The aim of this work was to evaluate the antimicrobial activity of propolis nanoparticles (PNs) in comparison with ethanol-propolis extract (EPE) against some bacteria (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella thompson*, *Listeria monocytogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter helveticus*, *Lactobacillus buchneri* and *Leuconostoc mesenteroides*) common in meat contamination. The EPE was obtained from green propolis resin, in absolute ethanol under agitation during 15 days. To obtain the PNs, ethanol extract at 13.75% (w/V) was mixed with polyvinyl-alcohol solution at 0.1% (w/v). Minimum inhibitory concentrations (MIC) of both solutions were evaluated by agar-well diffusion method; all strains were susceptible and MIC values, for PNs, ranged from 0.57, for *S. aureus*, to 2.29% (w/v) for *S. thompson*, *E. helveticus* and *L. buchneri*. For EPE, the MIC ranged from 0.68, for *S. aureus*, to 6.88% (w/v) for *Enterobacter helveticus* and *Lactobacillus buchneri*. The shown antimicrobial activity of propolis nanoparticles is of potential interest for meat products (e.g. in edible coatings formulation).

**Keywords:** Propolis; Nanoparticles; Antimicrobial; Meat; Bacterias;

**Publicações relacionadas:** PORTUGUESE CONGRESS OF MICROBIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY - MicroBiotec '13 6th – 8th December | Aveiro Portugal.

## 1 INTRODUÇÃO

A utilização de antibióticos naturais, para a conservação de alimentos é uma tendência de mercado, haja vista que o consumidor moderno tende a exigir um alimento que preserve ao máximo as suas características originais e isento de produtos sintéticos, para que se atinja este objetivo (Vaithyanathan *et al.*, 2011; Economou *et al.*, 2009; Dutta *et al.*, 2009; Chouliara *et al.*, 2007). Um produto que possui

estas características é a própolis, milenarmente reconhecida por ser um antibiótico natural produzido por abelhas, para a assepsia de suas colmeias (Koo, 2000).

Um dos principais fatores que influenciam o rápido crescimento microbiano em carnes é a sua composição: 75% de água, conseqüentemente água livre e principalmente a presença de muitos nutrientes como aminoácidos, peptídeos, nucleotídeos e açúcares (Lawrie, 1985).

Com o advento da nanotecnologia, possibilitou a utilização de quantidades reduzidas de um determinado produto, obtendo-se resultados mais satisfatórios, em virtude do aumento da superfície de contato da partícula com o material em questão, neste caso as bactérias. Sendo assim, neste trabalho, nanopartículas de própolis foram testadas, para se comparar a eficiência em relação ao tradicional extrato de própolis, contra gêneros bacterianos comumente encontrados em carne bovina *in natura*.

## 2 OBJETIVOS

Sintetizar e caracterizar nanopartículas de própolis (NPs);  
Avaliar *in vitro* a eficiência, de NPs, na inibição do crescimento microbiano;

## 3 MATERIAIS E MÉTODOS

### 3.1 Síntese e caracterização de nanopartículas de própolis

#### 3.1.1 Extrato de própolis

Extrato etanólico de própolis (EEP) foi preparado, mediante a maceração de 12,75 g de própolis verde, em almofariz de ágata e posterior agitação em 100 mL de álcool etílico absoluto, durante 360 h.

#### 3.1.2 Síntese de NPs

Cinco mL de uma solução de álcool polivinílico (PVA) a 0,1%, foram filtrados em membrana de *nylon* com diâmetro de poro de 0,22  $\mu\text{m}$ . Em seguida, esta solução foi aquecida a 35° C e agitada a 600 rpm. Posteriormente, foi adicionado 1 mL de EEP, preparado conforme descrição acima, também filtrado no mesmo tipo de membrana, obtendo-se as nanopartículas de própolis.

#### 3.1.3 Caracterização de NPs

Foram depositados trinta microlitros de solução de nanopartículas em suspensão, em lâmina de mica e deixar secar em dessecador, contendo sílica desidratada, para determinar o tamanho das partículas obtidas, por meio de microscopia de força atômica (MFA).

O diâmetro médio de partículas de própolis em suspensão foi determinado pelo método de Espalhamento Dinâmico de Luz (EDL) utilizando-se o equipamento Zetasizer Nano® da marca Malvern.

### 3.2 Determinação da a concentração inibitória mínima (CIM) de EEP e NPs

Foi determinada a CIM para 8 espécies de bactérias de gêneros comumente presentes em amostras de carne, em especial, de carne embalada a vácuo. São elas: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella thompson*, *Listeria monocytogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter helveticus*, *Lactobacillus buchneri* and *Leuconostoc mesenteroides*.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Caracterização de nanopartículas de própolis

Através de medições feitas pelo software Gwyddion (versão 2.31), em imagens obtidas por AFM, como na figura 1 (abaixo), pôde-se concluir que o tamanho mínimo das nanopartículas foi de aproximadamente 40 nm.

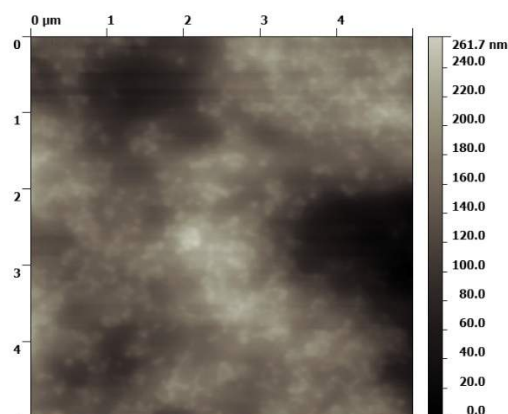


Figura 1. Imagem de nanopartículas de própolis, obtida por AFM.

Após medições do diâmetro médio de partículas pelo método de Espalhamento Dinâmico de Luz, percebeu-se que o tamanho médio das partículas foi 46,32 nm, o que é coerente com as medições feitas pelo método anterior. O resultado pode ser observado na figura 2, abaixo.

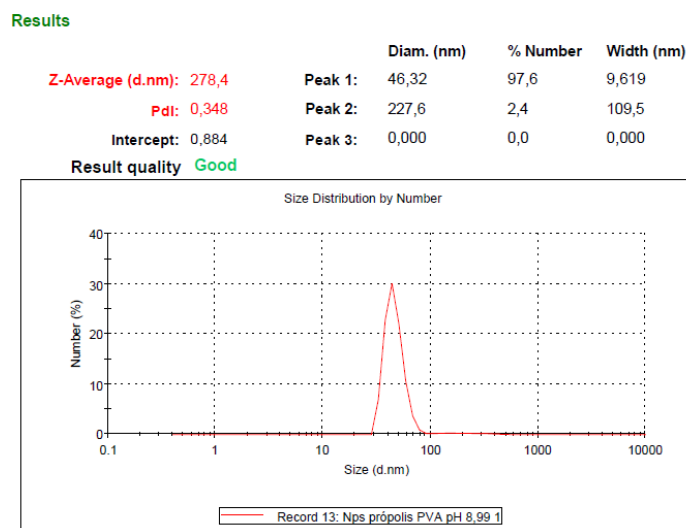


Figura 2. Determinação de diâmetro médio de nanopartículas de própolis, por DLS.

#### 4.2 Determinação da CIM do extrato e das nanopartículas de própolis

Houve inibição de todas as espécies submetidas a bioensaio. Isto foi uma grata surpresa, em especial no caso das espécies gram-negativas, pois pela literatura é sabido que a própolis possui melhor efeito contra gram-positivas.

Tabela 1. CIM e média dos halos inibitórios de 8 gêneros microbianos comumente presentes em carne bovina.

Micro-organismo	Concentrações NPs (%)	Média – halos de inibição (mm)	Concentrações EEP (%)	Média – halos de inibição (mm)
<i>Enterobacter helveticus</i>	2.28	1.53	6.88	1.33
<i>Salmonella thompson</i>	2.28	1.73	3.44	2.33
<i>Escherichia coli</i>	1.15	1.60	3.44	1.87
<i>Listeria monocytogenes</i>	1.71	1.67	3.44	1.93

Micro-organismo	Concentrações NPs (%)	Média – halos de inibição (mm)	Concentrações EEP (%)	Média – halos de inibição (mm)
<i>Lactobacillus buchneri</i>	2.28	1.47	6.88	1.60
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	1.71	0.90	3.44	0.67
<i>Enterococcus faecalis</i>	1.71	2.10	3.44	3.50
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.57	1.97	0.69	3.67

## 5 CONCLUSÃO

As NPs se mostraram mais eficazes que o EEP na inibição do crescimento das espécies bacterianas testadas neste trabalho. Em alguns casos a concentração necessária de nanopartículas de própolis necessárias para inibir o crescimento bacteriano foi inferior a 1/3 da concentração necessária quando se utilizou o estrato etanólico de própolis. Com isso, pode-se obter o mesmo resultado utilizando-se uma quantidade significativamente menor de própolis, o que reduz custos, além de reduzir o odor e o sabor produzido por esta substância, no caso de aplicação em alimentos.

## AGRADECIMENTOS

À Dra. Rejane Celi Goy e ao Dr. Humberto de Mello Brandão, por ensinarem a sintetizar as NPs. À profa. Dra. Olivia Pereira e à Dra. Carina Almeida, pelo auxílio nos bioensaios. À CAPES pelas bolsas de doutorado e doutorado sanduíche concedidas.

## REFERÊNCIAS

- Chouliara, E.; Karatapanis, A.; Savvaidis, I.N.; Kontominas, M.G. Combined effect of oregano essential oil and modified atmosphere packaging on shelf-life extension of fresh chicken breast meat, stored at 4° C. *Food Microbiology*, v. 24, p. 607–617, 2007.
- Dutta, P.K.; Tripathi, S.; Mehrotra, G.K.; Dutta, J. Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. *Food Chemistry*, v. 114, p 1173–1182, 2009.
- Economou, T.; Pournis, N.; Ntzimani, A.; Savvaidis, I.N. Nisin–EDTA treatments and modified atmosphere packaging to increase fresh chicken meat shelf-life. *Food Chemistry*, v. 114 p.1470–1476, 2009.
- Koo, H.; Gomes, B.P.F.A.; Rosalen, P. L.; Ambrosano, G.M.B.; Park, Y. K.; Cury, J. A. In vitro antimicrobial activity of propolis and *Arnica montana* against oral pathogens. *Archives of Oral Biology*, v. 45, p.141-148, 2000.
- Lawrie, R. A. Meat science. Oxford - Pergamon Press, v.4 p.44, 1985.
- Vaithyanathan, S.; Naveena, B.M.; Muthukumar, M.; Girish, P. S.; Kondaiah, N. Effect of dipping in pomegranate (*Punica granatum*) fruit juice phenolic solution on the shelf life of chicken meat under refrigerated storage (4 °C). *Meat Science*, v. 88, p. 409–414, 2011.

# CO-PRECIPITAÇÃO *IN SITU* DE BIOHÍBRIDOS MULTIFUNCIONAIS BASEADOS EM CARBOXIMETIL-DEXTRANA E HIDRÓXIDO DUPLO LAMELAR

Francys K. V. Moreira<sup>1,2</sup>, David Brito<sup>3</sup>, Roberto J. A. Bustillos<sup>4</sup>, Tara H. McHugh<sup>4,\*</sup>, José M. Marconcini<sup>1</sup>, Luiz H. C. Mattoso<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP. <sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais (PPG-CEM), Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), São Carlos, SP. <sup>3</sup>The Molecular Foundry, Lawrence Berkeley National Laboratory, Berkeley, CA. <sup>4</sup>Healthy Food Processed Research Unit (HFPR), Western Regional Research Center, ARS-USDA, Albany, CA.

\*tara.mchugh@ars.usda.gov

**Classificação:** Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio

## Resumo

Este trabalho descreve a formação de um biohíbrido a partir de hidróxido duplo lamelar (HDL) tipo hidrotalcita (MgAl) e carboximetil-dextrana (CMD) utilizando o método de co-precipitação *in situ*. Nestes biohíbridos, as moléculas de CMD são intercaladas na estrutura lamelar, mas também adsorvem na superfície externa do HDL. Caracterizações por espectroscopia vibracional FT-IR revelaram a formação de interações eletrostáticas e ligações de hidrogênio entre estes compostos, principais interações responsáveis pelo fenômeno de adsorção. Os biohíbridos apresentaram quantidade máxima de CMD adsorvida de 0,6 mg · g HDL<sup>-1</sup> em relação as concentrações iniciais investigadas. Os biohíbridos HDL MgAl-CMD sintetizados apresentam potencial como reforçadores mecânicos mais compatíveis com filmes de polisacarídeos direcionados ao setor de embalagens biodegradáveis e comestíveis.

**Palavras-chave:** Nanocompósitos; Compatibilizantes; Intercalação; Embalagens.

## *IN SITU* CO-PRECIPITATION OF MULTIFUNCTIONAL BIOHYBRIDS BASED ON CARBOXYMETHYL-DEXTRAN AND LAYERED DOUBLE HYDROXIDE

### Abstract

This work reports on the formation of new biohybrid additives from hydrotalcite-like layered double hydroxide (LDH) and carboxymethyl-dextran (CMD) by means of *in situ* co-precipitation. In these biohybrids, CMD molecules are intercalated into the layered structure, but they adsorb on the LDH external surface as well. FT-IR spectroscopy characterizations revealed the establishment of electrostatic interactions and hydrogen bonds between CMD and the LDH, such an interactions being responsible for the adsorption phenomenon. The biohybrids had a maximum adsorbed CMD amount of 0.6 mg · g HDL<sup>-1</sup> in relation to the initial concentrations studied. The synthesized LDH-CMD biohybrids show potential as more compatible reinforcing fillers for polysaccharide-based films used in the edible and biodegradable packaging sector.

**Keywords:** Nanocomposites; Compatibilizers; Interaction; Packaging.

## 1 INTRODUÇÃO

Hidróxidos duplos lamelares (HDL) são argilas aniônicas de fórmula  $M^{II} M^{III} (OH)_2 \cdot A^{n-} \cdot x/n \cdot mH_2O$  onde  $M^{II} = Mg^{2+}, Mn^{2+}, Fe^{2+}, Co^{2+}, Zn^{2+}$  ou  $Ca^{2+}$ ;  $M^{III} = Al^{3+}, Cr^{3+}, Mn^{3+}, Fe^{3+}$  ou  $Ni^{3+}$ ; e  $A^{n-} = NO_3^-$ ,  $Cl^-$ ,  $SO_4^{2-}$ ,  $CO_3^{2-}$  etc. (EVANS & SLADE, 2006). Diversos fenômenos e aspectos estruturais destes hidróxidos têm sido estudados a partir da hidrotalcita ( $Mg_6Al_2(OH)_{16}CO_3 \cdot 4H_2O$ ), o primeiro HDL identificado na natureza. As aplicações da hidrotalcita (HT) como aditivo anti-ácido em produtos farmacêuticos e carreador de biomoléculas (vitaminas, DNA, etc.) em medicina a tornam também um dos minerais tecnologicamente mais importantes deste grupo (DEL HOYO, 2007).

O uso da HT pode também ser promissor na área de nanocompósitos devido à sua estrutura lamelar, propriedades de intercalação e atoxicidade (EVANS & SLADE, 2006). Contudo, a alta densidade de cargas elétricas e a compactação interlamelar típica de HDL fazem com que uma etapa preliminar de compatibilização seja crucial. A intercalação de compatibilizantes pode aumentar a distância interlamelar e diminuir a energia superficial da HT, tornando possível a obtenção de nanocompósitos com morfologia esfoliada (COSTA et al. 2008).

Enquanto a modificação de HT por compatibilizantes hidrofóbicos tem sido extensivamente investigada (COSTA et al. 2008), existe muito pouca informação sobre a intercalação de espécies hidrofílicas. Isto é especialmente relevante para o caso de filmes comestíveis baseados em polissacarídeos, onde o uso de um compatibilizante hidrofílico pode aumentar a compatibilidade da HT com a matriz, facilitando a dispersão das lamelas do HDL durante a preparação do nanocompósito.

Neste trabalho, a síntese e caracterização de um HDL do tipo hidrotalcita ( $\text{MgAl}$ ,  $x = 0,25$ ) compatibilizado com carboximetil-dextrana (CMD) são reportadas. O objetivo desta contribuição foi obter um material biohíbrido para uso como agente de reforço em filmes de amido, de forma a estender sua faixa de propriedades físicas. A CMD foi escolhida como compatibilizante por ser uma forma oligomérica do amido, tendo, portanto, alta compatibilidade química com o biopolímero.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Os biohíbridos HDL  $\text{MgAl}$ -CMD foram sintetizados via co-precipitação *in situ* utilizando água ultra-pura ( $18 \Omega \cdot \text{cm}^{-1}$ ) e descarbonatada como solvente. Diferentes massas de CMD (Sigma-Aldrich) foram dissolvidas em solução de  $\text{NaOH}$   $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  para formar soluções com concentração de CMD entre  $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  e  $100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ . A precipitação da fase HDL nas soluções de CMD foi então realizada pela injeção de uma solução salina ( $0,5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) de  $\text{Mg}^{2+}$  e  $\text{Al}^{3+}$  a uma taxa de  $0,5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ . As sínteses foram conduzidas à temperatura de  $75 \text{ }^\circ\text{C}$ , sob agitação pujante e atmosfera inerte de  $\text{N}_2$ . Os precipitados foram envelhecidos mantendo-se as condições de síntese por 1 hora, sendo depois purificados por 3 ciclos de centrifugação a  $10,000 \text{ rpm}$ . Amostras em pó foram obtidas após liofilização por 72 h.

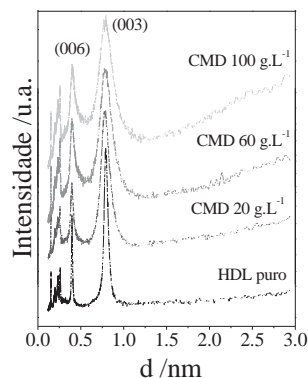
Medidas de difração de raios-X (DRX) foram realizadas em um difratômetro XRD 6000 (Shimadzu Corporation) utilizando radiação monocromática  $\text{Cu K}_\alpha$  ( $\lambda = 1,5405 \text{ \AA}$ ). O ânodo de  $\text{Cu}$  foi excitado com um potencial de  $30 \text{ kV}$  e corrente elétrica de  $30 \text{ mA}$ . Os difratogramas foram coletados na faixa  $3 - 80^\circ$  de  $2\theta$  com uma velocidade de varredura de  $2^\circ \cdot \text{min}^{-1}$ . As distâncias interplanares ( $d$ ) foram calculadas utilizando a Lei de Bragg. Análises térmicas (TG/DTG) foram realizadas em um equipamento Q500 (TA Instruments) previamente calibrado com padrão de  $\text{Zn}$ . Amostras ( $10 - 12 \text{ mg}$ ) foram aquecidas de  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  até  $800 \text{ }^\circ\text{C}$  a uma taxa de  $10 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$  sob atmosfera de  $\text{N}_2$  fluindo à  $60 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ . Os espectros na região do infravermelho médio (FT-IR) foram obtidos com um espectrômetro Spectrum 1000 (Perkin Elmer) utilizando uma acumulação de 32 varreduras com resolução de  $2 \text{ cm}^{-1}$ . Todos os experimentos foram realizados com uma repetição.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de DRX confirmam que o HDL  $\text{MgAl}$  foi formado mesmo com inclusão de CMD no meio reacional, Figura 1. Em geral, os picos das reflexões de série  $\langle 00l \rangle$  foram alargados para os biohíbridos, o que pode ser atribuído à múltiplos estados de adsorção da CMD, perda de ordem cristalina das lamelas ou perda de coerência naquela direção cristalográfica imposta pela adsorção da biomolécula (COSTA et al. 2008). Todavia, nota-se que o pico da reflexão basal  $\langle 006 \rangle$  foi deslocado para maiores valores  $d$  com o aumento da concentração de CMD, o que é indicativo da expansão da estrutura lamelar do HDL.

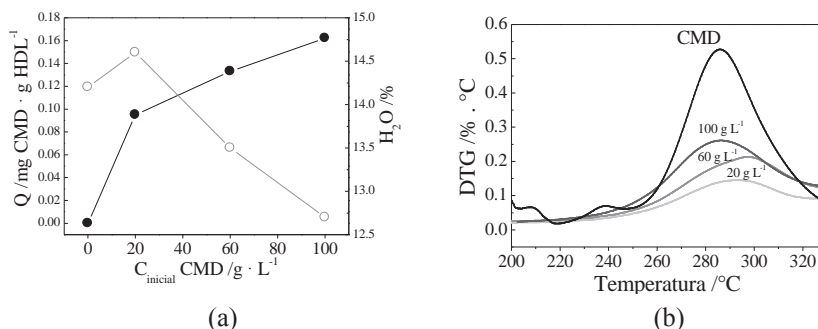
A quantidade de CMD adsorvida ( $Q$ ) nas lamelas do HDL  $\text{MgAl}$  em função de sua concentração inicial ( $C_{\text{inicial}}$ ) em solução é mostrada na Figura 2a. Os cálculos foram baseados nas perdas de massa entre  $200 \text{ }^\circ\text{C}$  e  $330 \text{ }^\circ\text{C}$  nas curvas TG/DTG dos biohíbridos, região onde ocorre a degradação térmica da CMD, Figura 2b. Os valores  $Q$  foram expressos com base na massa seca de HDL, e confrontados com o teor de umidade ( $\text{H}_2\text{O}$ , %) encontrado para cada amostra.

Os resultados mostram que a quantidade adsorvida de CMD aumenta com o aumento da concentração da biomolécula em solução ( $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  a  $100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) sendo que os valores  $Q$  parecem tender a um equilíbrio para  $C_{\text{inicial}}$  maiores que  $100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ .



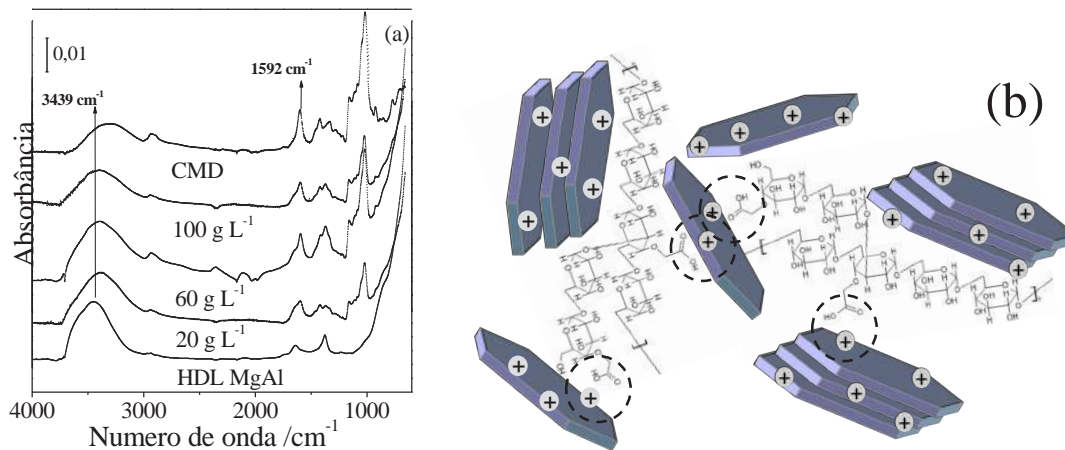
**Figura 1.** Difratomogramas do HDL MgAl puro e seus híbridos obtidos a partir de diferentes concentrações de carboximetil-dextrana (CMD).

Em paralelo, observa-se que o teor de umidade dos biohíbridos diminui. As moléculas de água originalmente adsorvidas nas regiões interlamelares e superfície externa dos cristais do HDL são provavelmente substituídas por cadeias de CMD como um resultado da co-precipitação *in situ*. Dessa forma, os resultados de TG/DTG concordam com a expansão lamelar sugerida pelos difratogramas dos biohíbridos.



**Figura 2.** (a) Quantidade de CMD adsorvida (Q) no HDL MgAl (●) e teor de umidade dos biohíbridos HDL MgAl-CMD (○) em função da concentração inicial de CMD ( $C_{inicial}$ ). (b) Curvas termogravimétricas diferenciais (DTG) para os biohíbridos HDL MgAl-CMD na faixa de 200 a 300 °C (taxa de aquecimento de 10°C·min<sup>-1</sup>; Atmosfera dinâmica de ar sintético 60 mL·min<sup>-1</sup>).

Interações eletrostáticas podem se formadas entre os grupos carboxilatos (-COO<sup>-</sup>) da CMD e os sítios positivamente carregados (Al<sup>3+</sup>) das lamelas do HDL MgAl. É esperado também que os grupos hidroxílicos (-OH) destas estruturas possam interagir via ligações de hidrogênio. Os espectros de FT-IR confirmam tais suposições, Figura 3a. As bandas entre 1250 – 950 cm<sup>-1</sup> confirmam a presença de CMD no biohíbrido.



**Figura 3.** (a) Espectro de FTIR para o HDL MgAl puro, CMD puro, e seus resultantes biohíbridos obtidos por co-precipitação *in situ*. (b) Ilustração da adsorção da CMD sobre as lamelas do HDL MgAl.



Além disso, os deslocamentos observados para as bandas  $\nu_{OH}$  em  $3439\text{ cm}^{-1}$  e  $1592\text{ cm}^{-1}$  referente à vibração  $\nu_{(COO^-)}$ , confirmam a interação química entre a CMD e o HDL MgAl. A adsorção da CMD na estrutura do hidróxido é ilustrada na Figura 3b.

#### 4 CONCLUSÃO

A combinação de hidróxido duplo lamelar tipo hidrotalcita (MgAl) e carboximetil-dextrana (CMD) via co-precipitação *in situ* formam novos biohíbridos onde a biomoléculas intercala e adsorve sobre a superfície da nanopartícula. O mecanismo de adsorção é originado da interação eletrostática entre os grupos carboxilatos da CMD e os sítios positivamente carregados do HDL. Devido ao caráter atóxico, os biohíbridos HDL MgAl-CMD podem ser promissores para o desenvolvimento de nanocompósitos com estrutura esfoliada, utilizando polissacarídeos, tais como amido e quitosana.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao WRRR/ARS-USDA, CNPq, CAPES, FINEP, e FAPESP (Processos No. 2010/11584-5 e No. 2012/87216) pelo suporte financeiro e bolsas de estudo. Este trabalho também foi suportado pelo Molecular Foundry, Office of Science, Office of Basic Energy Science, U.S. Department of Energy sob contrato n° DE-AC02-05CH11231.

#### REFERÊNCIAS

COSTA, F. R.; SAPHIANNIKOVA, M; WAGENKNECHT, U.; HEINRICH G. Layered Double Hydroxide Based Polymer Nanocomposites, *Advanced Polymer Science*, v. 210, 101–168, 2008.

DEL HOYO, C. Layered double hydroxides and human health: An overview. *Applied Clay Science*, v.36, 103-121, 2007.

EVANS, D. G.; SLADE, R. C. T. Structural Aspects of Layered Double Hydroxides. Em: DUAN, X.; EVANS, D. G., *Layered Double Hydroxides, Structure and Bonding Series*, Springer Berlin Heidelberg New York, 1-88, 2006.

---

## ESTUDO DA ESTABILIDADE DE VITAMINAS NANOENCAPSULADAS EM SUSPENSÃO AQUOSA E EM SUBSTRATOS SÓLIDOS (FUBÁ)

Flávia G. Pinola<sup>1</sup>, \*Douglas de Britto<sup>2</sup>, Lícia M. Lundstedt<sup>3</sup>, Odilio B.G. Assis<sup>1</sup>, Luiz H.C. Mattoso<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio (LNNA), Embrapa Instrumentação.

<sup>2</sup>Embrapa Semiárido.

\*douglas.britto@embrapa.br

**Classificação:** Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio.

#### Resumo

A eficiência nutricional da ração para peixes pode ser diminuída devido a processos de degradação e lixiviação. Uma forma de minimizar estas perdas é através da formação de nanopartículas (NPs). Assim, vitaminas C, B9 e B12 foram encapsuladas em NPs de quitosana-tripolifosfato. A estabilidade das vitaminas foi avaliada a partir da suspensão aquosa das NPs+ vitamina (por espectroscopia no UV-Visível) e a partir da extração destas vitaminas em substrato sólido (fubá) por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, HPLC. Os resultados indicaram que a NP teve um efeito positivo de preservação das vitaminas, principalmente para a vitamina C. Para a forma encapsulada, a concentração da vitamina C variou de 0,22 mg/mL a 0,07 mg/mL no período de 3 semanas, enquanto que para a forma não-encapsulada a concentração caiu de 0,22 mg/mL a 0,00 mg/mL no mesmo período. Da mesma forma, para o estudo da análise de vitamina a partir da extração em substrato sólido, a concentração da vitamina C praticamente não variou para o sistema NP-VitC, enquanto que para a forma não-encapsulada a concentração variou

de 0,014 mg/mL a 0,005 mg/mL. Estes resultados confirmam que a NP é uma alternativa potencial para preservação de nutrientes da ração de peixe.

**Palavras-chave:** Aquicultura; Ração de peixe; Nanoencapsulação; Vitaminas; Quitosana.

## STUDY OF THE STABILITY OF NANOENCAPSULATED VITAMINS IN AQUEOUS SUSPENSION AND IN SOLID SUBSTRATES (CORNMEAL)

### Abstract

The nutritional efficiency of fish feed may be decreased due to degradation and leaching. One way to minimize these losses is by formation of nanoparticles (NPs). Thus, vitamins C, B9 and B12 were encapsulated in NPs of chitosan-tripolyphosphate. The stability of vitamins was evaluated from the aqueous suspension of NPs + vitamin (by UV-Visible spectroscopy) and from the extraction of these vitamins from a solid substrate (cornmeal) by High Efficiency Liquid Chromatography, HPLC. The results indicated that the NP had a positive effect on the preservation of vitamins, especially for vitamin C. For the encapsulated form, the vitamin C concentration ranged from 0.22 mg/mL to 0.07 mg/mL within 3 weeks, whereas for non-encapsulated form, the concentration fell from 0.22 mg/mL to 0.00 mg/mL in the same period. Likewise, for the analysis of vitamin from the extraction of solid substrate, the concentration of vitamin C remained practically unchanged for the system NP-VitC, while for non-encapsulated form the concentration ranged from 0.014 mg/mL to 0.005 mg/mL. These results confirm that NP is a potential alternative for preserving nutrients from fish feed.

**Keywords:** Aquaculture; Fish feed; Nanoencapsulation; Vitamins; Chitosan.

### Publicações relacionadas

BRITTO, D., MOURA, M. R., AOUADA, F. A., MATTOSO, L.H.C., ASSIS, O. B. G. N,N,N-trimethyl chitosan nanoparticles as a vitamin carrier system. *Food Hydrocolloids*, v.27, p.487 - 493, 2012.

## 1 INTRODUÇÃO

Na piscicultura, as rações administradas representam a maior parte do custo de produção, variando de 40 a 70% (Kubitza, 2000; Kubitza, 1999). Além disto, as rações administradas enfrentam barreiras técnicas como manter a qualidade nutricional durante o processo de preparação, diminuir perdas de nutrientes por lixiviação, diminuir impactos ambientais pelo acúmulo de resíduos nos leitos aquosos. Uma maneira para diminuir esse processo de perda é através do encapsulamento. NPs de quitosana com enfoque alimentício têm sido amplamente reportadas na literatura, sendo objeto de revisão em artigo recente (Zhao, et al., 2011).

As vitaminas estão sujeitas a processos de degradação durante a estocagem, produção ou mesmo utilização dos alimentos, tanto para humanos quanto para animais, principalmente por oxidação, ação da luz ou da alta temperatura, e seu encapsulamento pode ser utilizado para diminuir a velocidade deste processo e aumentar o tempo de vida dos produtos que as contêm (Alishahi, 2011). Quitosana e seus derivados são polímeros naturais, biodegradáveis, seguro e não-tóxico e ideal para formação das NPs.

Com isso em vista, a encapsulação das vitaminas C, B12 e B9 foi estudada a partir da síntese de NPs de quitosana e tripolifosfato de sódio (TPP). Parâmetros importantes como estabilidade das vitaminas em suspensão aquosa de NP em diferentes condições e também estabilidade das vitaminas em substrato sólido (fubá) usados em ração de peixe foram avaliados. Este segundo estudo trouxe também informação para se estabelecer uma metodologia de extração e análise das vitaminas por HPLC em ração de peixe.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Materiais

Tripolifosfato de sódio, quitosana de média massa molar (80% desacetilada), ácido ascórbico, ácido fólico e cianocobalamina foram adquiridos da Aldrich Chemical Company Inc. (USA). Outros reagentes foram adquiridos da Synth (São Paulo). Fubá mimoso (Zilio) foi adquirido no mercado local.

## 2.2 Preparação das nanopartículas

Para obtenção das NPs, 150 mg de quitosana foram dissolvidos em 50mL de solução de ácido acético 1% (v/v) preparada com água destilada. Foram então preparadas três soluções de TPP com de 67 mg, 35 mg e 69 mg de TPP em 50 mL de água destilada. Em cada uma destas três soluções adicionou-se respectivamente 22,5 mg (15% em relação à massa de quitosana) das vitaminas C, B9 e B12. Em seguida, cada solução contendo TPP e vitamina foi colocada em uma bureta gotejada sobre a solução de quitosana sob agitação para a formação das NPs pelo mecanismo espontâneo de gelificação iônica.

## 2.3 Avaliação de vitaminas em suspensão aquosas

Suspensão aquosa de vitamina C foi colocada em estufa (Nova Ética) a 30°C e mantida por 3 semanas no escuro. Duas vezes por semana alíquotas de 1 mL foram retiradas e armazenadas em geladeira e protegidas da luz juntamente com 1mL de solução de ácido metafosfórico 6% (m/v). As amostras contendo as vitaminas B9 e B12 foram armazenadas da mesma maneira, porém com 1 mL de solução 0,1M KOH + 0,1M  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . Soluções aquosas das vitaminas C, B9 e B12 foram submetidas à mesma metodologia para servir como parâmetros de comparação. Adicionalmente, degradação da solução aquosa de vitamina C em ácido acético 1% também foi considerada como parâmetro de comparação.

## 2.4 Preparação das amostras em substrato sólido

Amostras NPs foram centrifugadas (Continent R da Hanil Science Industrial Co., Korea) por 30min a 12000 rpm e 4 °C e após a separação do sobrenadante, as NPs foram adicionadas ao fubá numa razão de 4 mg de vitaminas para 10 g de fubá. No entanto, a massa de fubá foi ajustada, observando as respectivas Eficiência de Encapsulação de 42, 17 e 16% para as vitaminas B9, C e B12. Para as vitaminas puras (não-encapsuladas) não foi necessário este ajuste, aplicando-se diretamente a proporção acima referida. Após esta adição, colocou-se um volume mínimo de água, formando-se uma mistura homogênea com o fubá. A amostra foi então congelada, liofilizada, e depois macerada, obtendo-se um pó fino.

## 2.5 Degradação das amostras em substrato sólido

Cerca de 100 mg de cada uma das amostras descritas acima foram submetidas aos processos degradativos por luz, calor,  $\text{O}_2$  e umidade, descritos a seguir nos tempos 0h, 24h e 48h. Após a degradação as amostras foram congeladas em tubos até o dia das análises. a) amostras foram colocadas em placas de Petri e deixadas em um recipiente que continha um spot de luz com uma lâmpada incandescente de 100W (127V) e forrado com papel alumínio (para refletir a luz o máximo possível); b) amostras foram colocadas em placas de Petri e deixadas em estufa (Estufa para esterilização e secagem, ODONTOBRAS), sem iluminação, a 80 °C; c) amostras foram colocadas em um cilindro com base porosa, abaixo da qual um fluxo de  $\text{O}_2$  foi conectado, e com saída de ar em cima. O fluxo de gás permaneceu passando através da amostra por todo o período de tempo analisado; d) amostras foram colocadas em placas de Petri e deixadas em estufa com circulação de ar a 30 °C (Nova Ética) dentro da qual foi deixado também um recipiente contendo água para promover a umidificação do ambiente.

## 2.6 Análise das amostras

As amostras em suspensão foram analisadas por espectroscopia UV-Visível (UV-1601PC, Shimadzu Corporation, Japão), nos comprimentos de onda de 244, 283, 362 nm para as vitaminas C, B9 e B12. No caso das NPs, antes da análise as amostras foram centrifugadas (MiniSpin plus, Eppendorf), 10 min a 14500 rpm.

As amostras em substrato sólido foram analisadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência -HPLC (Varian, ProStar). Às amostras congeladas foram adicionados 1 e 3 mL quando a amostra continha vitamina encapsulada ou não-encapsulada, respectivamente, de solução 0,1 M de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  + 0,1 M de KOH, e elas foram submetidas a agitação em agitador de tubos (AP 56, Phoenix), por cerca de 60 segundos, a fim de extrair as vitaminas do meio, e posteriormente centrifugadas na minicentrífuga para injeção da amostra. As condições cromatográficas foram: pré-coluna e coluna C18 (Microsorb, MV100-5, 250x4,6mm), 20  $\mu\text{L}$  de injeção, fluxo de 0,5 mL/min, gradiente de diluição contendo inicialmente 95% da fase A e 5% da fase B, e chegando a 80% da fase A e 20% da fase B após 10 minutos, sendo A a fase aquosa (0.1 M de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  + 0.1 M de KOH) e B a fase orgânica (isopropanol grau HPLC) e

detector UV-Visível programado para a detecção em 243 nm, 280 e 362 nm para as vitaminas C, B9 e B12 respectivamente.

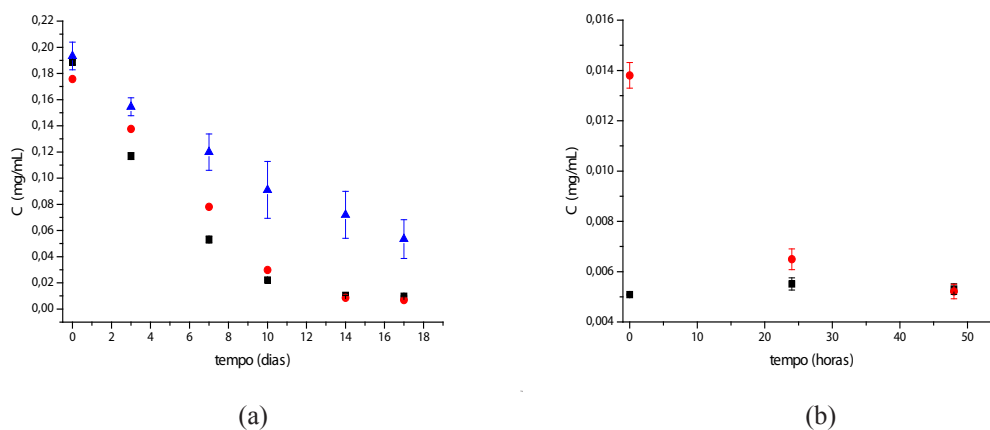
### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises da quantidade de vitaminas B9 e B12 das amostras em suspensão mostram claramente que estas duas vitaminas não sofrem muita influência em função do tempo de estocagem. De fato, foi observado que a concentração das vitaminas B9 e B12 não apresentou variação significativa tanto para a forma de suspensão de NPs como para a solução pura (controle comparativo) dentro do período de tempo analisado.

Já em relação à degradação da vitamina C foi observado um comportamento bem diferente (Figura 1a). A vitamina C sofre oxidação nas condições ambientes e se degrada com o tempo. Por outro lado, a degradação desta vitamina quando encapsulada é bem menor. Isto mostra que o encapsulamento tem um efeito positivo na conservação desta vitamina. Outro fato interessante é que o meio ácido acético 1% também é favorável à degradação da vitamina C (Figura 1a). Este fato coloca o uso de derivados hidrossolúveis de quitosana como alternativa potencial no encapsulamento de vitaminas, pois o solvente para estes derivados é somente água, não empregando o ácido acético 1% que, como visto, é mais agressivo à degradação da vitamina.

O estudo da degradação das vitaminas a partir de substratos sólidos mostrou que a temperatura é um fator significativo que provoca a degradação da vitamina C (Figura 1b). Nota-se claramente o efeito positivo de preservação da vitamina C na forma encapsulada, em que a curva de degradação praticamente não variou para forma encapsulada durante as 48 horas de análise, enquanto que para a forma não-encapsulada houve um decréscimo significativo na concentração de vitamina C. De fato, tanto no experimento em suspensão aquosa como neste de extração do substrato sólido, as NPs de quitosana-TPP apresentaram excelente capacidade de preservação, principalmente da vitamina C.

Este estudo da degradação e extração em substrato sólido (fubá) também forneceu informação dos parâmetros de HPLC a ser utilizados na extração da ração de peixe em que haverá um nível de complexidade maior devido à presença de vários ingredientes. Os outros parâmetros (umidade, luz e oxigênio) apresentaram alguma influência, mas os dados ainda são inconclusivos. Experimentos estão sendo repetidos para a confirmação dos resultados.



**Figura 1.** (a) Variação da concentração de vitamina C em água (●); solução aquosa de ácido acético 1% (■) e suspensão aquosa de NPs (meio reacional) (▲) durante 3 semanas de estocagem. (b). Variação da concentração de vitamina C encapsulada (■) e não-encapsulada (●) extraída do fubá durante 48 horas de degradação a 80°C em estufa.

### 4 CONCLUSÃO

Os resultados indicaram que tanto no experimento da estabilidade da vitamina em suspensão aquosa como no experimento de extração da vitamina a partir de substrato sólido (fubá), as NPs de quitosana e TPP apresentaram excelente capacidade de preservação das vitaminas, principalmente da vitamina C. NP é uma alternativa potencial e viável para preservação de nutrientes da ração de peixe.

## AGRADECIMENTOS

Os autores são gratos aos órgãos FINEP/MCT, Embrapa (Rede AgroNano), FAPESP, CNPq e CAPES pelo suporte financeiro.

## REFERÊNCIAS

KUBITZA, F. Manejo nutricional e alimentar de tilápias. Revista Panorama da Aquicultura, Jundiaí, SP, v. 10, n. 60, p. 31-36, 2000.

KUBITZA, F. Nutrição e alimentação de tilápias. Parte 1. Revista Panorama da Aquicultura, Jundiaí, SP, v. 9, n. 52, p. 42-50, 1999.

ZHAO, L.-M.; SHI, L.-E.; ZHANG, Z.-L.; CHEN, J.-M.; SHI, D.-D.; YANG, J.; TANG, Z.-X. Preparation and application of chitosan nanoparticles and nanofibers. Brazilian Journal of Chemical Engineering, v. 28, n. 3, p. 353-362, 2011.

ALISHAHI, A.; MIRVAGHEFI, A.; TEHRANI, M.R.; FARAHMAND, H.; SHOJAOSADATI, S.A.; DORKOOSH, F.A.; ELSABEE, M.Z. Shelf life and delivery enhancement of vitamin C using chitosan nanoparticles. Food Chemistry, v. 126, p. 935-940, 2011.

---

## NANOPARTÍCULAS DE TRIMETIL QUITOSANA. I - CARACTERIZAÇÃO E EFICÁCIA DE ENCAPSULAMENTO DE VITAMINAS HIDROSSOLÚVEIS

**\*Douglas de Britto<sup>1</sup>, Marcia R. de Moura<sup>2</sup>, Fauze A. Aouada<sup>2</sup>, Flávia G. Pinola<sup>3</sup>, Lícia M. Lundstedt<sup>4</sup>, Odilio B. G. Assis<sup>3</sup>, Luiz H. C. Mattoso<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Embrapa Semiárido. <sup>2</sup>UNESP Ilha Solteira. <sup>3</sup>Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio (LNNA), Embrapa Instrumentação. <sup>4</sup>Embrapa Aquicultura.

\*douglas.britto@embrapa.br

**Classificação:** Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio.

### Resumo

Nanoencapsulação é um processo adequado para reduzir a degradação de componentes instáveis. Neste estudo, nanopartículas (NPs) de quitosana e trimetilquitosana com tripolifosfato foram utilizadas para encapsular vitaminas C, B9 e B12. As análises de tamanho de partícula mostraram que, para uma razão fixa de polímero:tripolifosfato, o sistema experimentou uma enorme variação de tamanho quando as vitaminas foram adicionada; para a vitamina B9 o tamanho variou de 150±5 nm a 809±150 nm. O potencial zeta confirmou que, em geral, a trimetilquitosana tem menor carga residual positiva (20 mV) em comparação com a quitosana (40 mV). A eficiência de encapsulação mostrou uma dependência entre a estrutura da NPs e da solubilidade vitamina; o sistema mais eficientemente encapsulado foi da vitamina B9 (~40%).

**Palavras-chave:** Encapsulamento; Liberação controlada; Nanogel; Ração de peixe; Nutrição.

### CONTROLLED RELEASE OF HYDROSOLUBLE VITAMINS FROM TRIMETHYL CHITOSAN NANOPARTICLES

#### Abstract

Nanoencapsulation is a very suitable process to reduce degradation of instable components. In this study, chitosan and trimethyl chitosan with tripolyphosphate are used to nanoencapsulate vitamins C, B9 and B12. Particle size analysis shows that for a fix proportion polymer : tripolyphosphate, the system experiences a huge size variation by vitamins addition; for vitamin B9 the size varies from 150±5 nm to 809±150 nm. The zeta potential confirms that, generally, trimethyl chitosan has lower net positive charge (20 mV) than chitosan nanoparticles (40 mV). The encapsulation efficiency shows dependency on the nanoparticle structure and vitamin solubility; the most efficiently encapsulated is the vitamin B9 (~40%).

**Keywords:** Encapsulation; Controlled release; Nanogel; Fishery diet; Nutrition.

### Publicações relacionadas

BRITTO, D., MOURA, M. R., AOUADA, F. A., MATTOSO, L.H.C., ASSIS, O. B. G. N,N,N-trimethyl chitosan nanoparticles as a vitamin carrier system. *Food Hydrocolloids*, v.27, p.487 - 493, 2012.

## 1 INTRODUÇÃO

As vitaminas são fundamentais para o crescimento normal do corpo humano e animal, desempenhando funções específicas e vitais no metabolismo e manutenção da vida. As vitaminas, no entanto, devem ser administradas de forma adequada; sua falta pode levar a doenças específicas (Herrmann e Obeid, 2011), enquanto que o excesso pode ser tóxico, por isso a preocupação das agências reguladoras (OMS/FAO) em recomendar as doses específicas para a sua ingestão (Report of a joint FAO/WHO expert consultation, 2004). Cerca de treze vitaminas são reconhecidas como essenciais para a nutrição humana e estas podem ser classificadas em lipossolúveis, *e.g.*, vitaminas A, D, e, K; e hidrossolúveis, *e.g.*, vitamina C e membros do grupo da vitamina B.

Durante o processamento e armazenamento de alimentos, a maioria das vitaminas pode ser perdida devido a reações químicas, principalmente por oxidação. Isso é um problema, especialmente para a nutrição animal, área em que a conservação e manipulação nem sempre são adequadas. Em rações formuladas para peixes em aquicultura uma preocupação adicional é a perda de nutrientes por lixiviação (Soliman et al, 1987). Uma das formas de evitar ou reduzir essa taxa de degradação é através da nano-encapsulação (Jang, K. e Lee, 2008; Alishahi et al., 2011).

Considerando a sua capacidade quelante e complexante, o polissacarídeo quitosana tem sido extensivamente estudado para a encapsulação, principalmente na área alimentícia (Zhao et al., 2011) e fármacos (Agnihotri et al. 2004). O derivado hidrossolúvel N,N,N-trimetil quitosana, TMQ, também é adequado para preparar NPs para muitas aplicações.

Assim, visando a estabilização ou a manutenção de tais vitaminas quando usadas como aditivos alimentares, o encapsulamento foi realizada por meio da gelificação iônica da quitosana ou TMQ com tripolifosfato, TPP. Parâmetros específicos como capacidade de encapsulação após a centrifugação (Eficiência de Encapsulação) serão discutidos.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Materiais

Tripolifosfato de sódio, quitosana de média massa molar (80% desacetilada), ácido ascórbico, ácido fólico e cianocobalamina foram adquiridos da Aldrich Chemical Company Inc. (USA). Outros reagentes foram adquiridos da Synth (São Paulo).

### 2.2 Preparação e caracterização das nanopartículas

A TMQ foi obtida por metilação da quitosana com dimetilsulfato (Britto et al., 2011).

As NPs foram preparadas pela adição contínua (~ 1,0 mL/min) de 50,0 mL de uma solução de TPP a 0,7; 1,34 e 1,38 mg/mL, respectivamente, para as vitaminas B9, B12, C em 50,0 mL de solução de quitosana a 3,0 mg/mL (Britto et al., 2012). A quitosana foi dissolvida em ácido acético 1%. Da mesma forma, para a TMQ 50,0 mL de uma solução de TPP a 0,6; 0,7 e 0,44 mg/mL, respectivamente para as vitaminas B9, B12, C foi adicionada a 50,0 mL de solução de TMQ a 2,0 mg/mL em água desionizada. O sistema foi agitado magneticamente à temperatura ambiente durante a adição de solução de TPP e estendida por 15 minutos após a adição total. A quantidade de vitaminas foi de 15,0% (m/m) com base na massa de quitosana ou de TMQ. Outros testes com base em 5,0% e 10,0% (m/m) de vitaminas também foram feitos. As vitaminas foram previamente dissolvidas na solução de TPP.

O rendimento das NPs, expresso em porcentagem, foi baseado na razão entre a massa seca liofilizada de NPs e a soma das massas de quitosana (ou TMQ) e TPP.

Um equipamento Zetasizer Nano ZS Zen 3600 da Malvern Instruments Ltd., Inglaterra, com base na técnica de dispersão dinâmica da luz, foi usado para medir a distribuição do tamanho médio hidrodinâmico e o potencial zeta das NPs. Todas as análises foram realizadas em triplicata, a 25°C.

## 2.3 Determinação da eficácia de encapsulação

A eficiência de encapsulação das NPs foi determinada após a centrifugação da suspensão a 12000 rpm, a 4°C (centrífuga Continente R da Hanil Science Industrial Co., Coreia). O precipitado foi separado e a quantidade de vitamina no sobrenadante determinada por espectroscopia de UV-Visível (Espectrofotômetro UV-1601PC da Shimadzu Co., Japão). Assim, 1,0 mL do sobrenadante foi extraído com o mesmo volume de solução aquosa de ácido metafosfórico a 3,0% (m/v) para a vitamina C e com uma solução aquosa constituída de 0,1 M de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  + 0,1 M de KOH para as vitaminas do complexo B. Quando necessário, a solução foi centrifugada a 10.000 rpm para eliminar os sólidos em suspensão. A detecção foi em 244, 283, 362 nm, respectivamente, para as vitaminas C, B9 e B12. Em seguida, a eficiência de encapsulação (EE) foi calculada de acordo com a seguinte equação:

$$EE = (\text{vitamina no sobrenadante} - \text{vitamina total}) / (\text{vitamina total}) \times 100$$

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Propriedades físico-químicas da nanopartículas

O tamanho e o potencial zeta das NPs mostraram ser dependentes do tipo da vitamina adicionada (Tabela 1). Deste modo, para atingir o tamanho desejado, torna-se necessário fixar a concentração do polímero e a ajustar a concentração de TPP. A partir da Tabela 1, é claro que a adição de vitamina B9 (mantendo-se fixa a proporção utilizada para o sistema puro Qui-TPP), resultou num aumento considerável no tamanho das NPs. De fato, a vitamina B9 é praticamente insolúvel em meio ácido e em tais condições é quimicamente favorável para ela ficar na fase sólida (precipitado de NPs) do que na fase líquida (solvente da quitosana). Isto aumenta o tamanho e também influenciará o EE, bem como o perfil de libertação. O mesmo argumento pode ser usado para explicar o tamanho dos sistemas Chi-VitC e Qui-VitB12. Nestes casos, dobrando-se a quantidade de TPP não resultou num aumento significativo no tamanho das NPs. Como estas vitaminas são muito solúveis em meio ácido é favorável para elas estar na fase líquida, de modo que o aumento do tamanho das NPs não foi proeminente.

**Tabela 1.** Características principais de NPs de Qui-TPP e TMQ-TPP encapsuladas com vitaminas C, B9 e B12 a 15% (m/m)

System	TPP <sup>a</sup> (mg cm <sup>-3</sup> )	Nanoparticle size (nm)	Zeta potential (mV)	Yielding (%)
Qui	0,70	150±5	40,3±4,0	16
Qui-Vit B9	0,70	809±150	64,9±4,6	22
Qui-Vit C	1,34	325±24	30,7±3,7	54
Qui-Vit B12	1,38	326±41	29,4±3,1	55
TMQ	0,40	404±60	26,9±5,6	4
TMQ-Vit B9	0,60	606±10	18,4±3,0	54
TMQ-Vit C	0,70	338±74	10,3±6,4	37
TMQ-Vit B12	0,44	335±21	20,7±7,1	10

<sup>a</sup> Concentração inicial.

Para a TMQ, outras considerações devem ser feitas, tendo em mente que o solvente agora é água (pH ≈ 7,0). Por exemplo, comparando os sistemas TMQ e TMQ-VitB9 (quinta e sexta linhas na Tabela 1), um aumento na quantidade de TPP não resultou num aumento considerável no tamanho das NPs. Neste caso, a fase líquida não é tão desfavorável para esta vitamina como aquele da quitosana e vitamina B9 pode estar tanto nas fases sólida e líquida. Mais uma vez, este efeito influencia a formação de NPs, bem como as suas propriedades de encapsulamento.

O potencial zeta também foi influenciado pela quantidade de TPP e vitamina. Em geral, tanto para quitosana e TMQ, seu valor aumenta para a vitamina B9, mas diminui para as outras vitaminas,

quando comparado com as NPs não-encapsuladas. Tal como discutido na literatura (Alishahi et al., 2011; Britto et al., 2012), NPs de quitosana e TMQ têm uma carga superficial positiva, devido ao caráter catiônico destes polieletrólitos e, dependendo da estrutura do complexo polímero-vitamina-TPP, o seu valor pode aumentar ou diminuir. Além disso, o potencial zeta, também mostrou uma clara diferença residual de carga global entre a quitosana e a TMQ e depois do entrecruzamento com o TPP. A quitosana tem muito mais da carga positiva, uma vez que cada grupo amina é protonado em meio ácido, já para a TMQ esta densidade de carga é menor visto que somente 40% de grupos quaternários são responsáveis pela geração de carga positiva (Britto et al., 2011).

### 3.2 Eficiência de encapsulamento

De acordo com a Tabela 2, o sistema mais eficiente foi o da vitamina B9, tanto para quitosana como para a TMQ. O fator preponderante aqui é, evidentemente, a solubilidade da vitamina. Vitaminas muito solúveis em meio aquoso (C e B12) apresentaram baixa EE. O sistema de quitosana-TPP pode ser classificado como um nanogel que combina características de nanomateriais e hidrogel. Como as NPs neste estudo foram sintetizadas e encapsuladas num estado intumescido, propriedades químicas das vitaminas, principalmente sua solubilidade influenciam o EE, bem como o perfil de liberação.

**Tabela 2.** Eficiência de encapsulação, EE, (%) de vitaminas em NPs de Qui-TPP e TMQ-TPP em três diferentes concentrações de vitaminas

System	EE a 15% de vitamina	EE a 10% de vitamina	EE a 5% de vitamina
Qui-Vit B9	42,4	31,0	5,7
Qui-Vit C	17,1	28,0	15,0
Qui-Vit B12	16,1	~1,0	~1,0
TMQ-Vit B9	44,8	-	-
TMQ-Vit C	6,3	-	-
TMQ-Vit B12	4,4	-	-

## 4 CONCLUSÃO

A adição de vitamina ao sistema polissacarídeo-TPP afetou muito a estrutura das NPs, como o tamanho e o potencial zeta. As propriedades particulares de cada vitamina, por exemplo, massa molar e solubilidade, desempenham um papel importante na eficácia de encapsulação e no perfil de liberação. Os resultados mostram a potencialidade das NPs de quitosana e TMQ-TPP como veículo encapsulador e pode ser usado como um agente de estabilização de vitaminas em produtos alimentícios para humanos e animais.

## AGRADECIMENTOS

Os autores são gratos aos órgãos FINEP/MCT, Embrapa (Rede AgroNano), FAPESP, CNPq e CAPES pelo suporte financeiro.

## REFERÊNCIAS

- AGNIHOTRI, S.A.; MALLIKARJUNA, N.M.; AMINABHAVI, T.M. Recent advances on chitosan-based micro- and nanoparticles in drug delivery, *Journal of Controlled Release*, v 100, n. 1, p. 5–28, 2004.
- ALISHAHI, A.; MIRVAGHEFI, A.; TEHRANI, M.R.; FARAHMAND, H.; SHOJAOSADATI, S.A.; DORKOOSH, F.A.; ELSABEE, M.Z. Shelf life and delivery enhancement of vitamin C using chitosan nanoparticles. *Food Chemistry*, v. 126, p. 935-940, 2011.



BRITTO, D., FREDERICO, F. R., ASSIS, O. B. G. Optimization of N,N,N-trimethylchitosan synthesis by factorial design. *Polymer International* v. 60, p. 910-915, 2011

BRITTO, D.; MOURA, M.R.; AOUADA, F.A.; MATTOSO, L.H.C.; ASSIS, O.B.G. N,N,N-trimethyl chitosan nanoparticles as a vitamin carrier system. *Food Hydrocolloids*, v. 27, n. 2, p. 487-493, 2012.

HERRMANN, W.; OBEID, R. Vitamin in the prevention of human diseases, Walter de Gruyter GmbH & Co. KG, Berlin/New York, 2011.

JANG, K.; LEE, H.G. Stability of chitosan nanoparticles for l-ascorbic acid during heat treatment in aqueous solution, *Journal of Agricultural Food Chemistry*. v. 56, p. 1936-1941, 2008.

Report of a joint FAO/WHO expert consultation, Vitamin and mineral requirements in human nutrition, 2nd Ed., World Health Organization, Bangkok, 2004.

SOLIMAN, A.K.; JAUNCEY, K.; ROBERTS, R.J. Stability of L-ascorbic acid (vitamin C) and its forms in fish feeds during processing, storage and leaching, *Aquaculture*, v. 60, p. 73, 1987.

ZHAO, L.-M.; SHI, L.-E; ZHANG, Z.-L.; CHEN, J.-M.; SHI, D.-D.; YANG, J.; TANG, Z.-X. Preparation and application of chitosan nanoparticles and nanofibers. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, v. 28, n. 3, p. 353-362, 2011.

---

## NANOPARTÍCULAS DE TRIMETIL QUITOSANA. II - PERFIL DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE VITAMINAS HIDROSSOLÚVEIS

\*Douglas de Britto<sup>1</sup>, Marcia R. de Moura<sup>2</sup>, Fauze A. Aouada<sup>2</sup>, Flávia G. Pinola<sup>3</sup>, Lícia M. Lundstedt<sup>4</sup>, Odilio B. G. Assis<sup>3</sup>, Luiz H. C. Mattoso<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Semiárido. <sup>2</sup>UNESP Ilha Solteira. <sup>3</sup>Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio (LNNA), Embrapa Instrumentação. <sup>4</sup>Embrapa Aquicultura.

\*douglas.britto@embrapa.br

**Classificação:** Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio.

### Resumo

Nanoencapsulação é um processo adequado para reduzir a degradação de componentes instáveis. Neste estudo, nanopartículas (NPs) de quitosana e trimetilquitosana com tripolifosfato foram utilizadas para encapsular vitaminas C, B9 e B12. Por meio de espectroscopia de UV-Visível, o estudo de liberação mostrou perfis diferentes para as vitaminas C, B9 e B12 em solução de PBS neutro, com respectiva liberação de 36%, 52% e 16% após 2, 24 e 4 horas. Em geral, a taxa de liberação foi mais lenta em meio ácido.

**Palavras-chave:** Encapsulamento; Liberação controlada; Nanogel; Ração de peixe; Nutrição.

### CONTROLLED RELEASE OF HYDROSOLUBLE VITAMINS FROM TRIMETHYL CHITOSAN NANOPARTICLES

#### Abstract

Nanoencapsulation is a very suitable process to reduce degradation of instable components. In this study, chitosan and trimethyl chitosan with tripolyphosphate are used to nanoencapsulate vitamins C, B9 and B12. By means of UV-Visible spectroscopy, release study shows different profiles for vitamins C, B9 and B12 in neutral PBS solution, with a respective release of 36%, 52% and 16% after 2, 24 and 4 hours. In general, the liberation rate is slow in acid media.

**Keywords:** Encapsulation; Controlled release; Nanogel; Fishery diet; Nutrition.

### Publicações relacionadas

BRITTO, D., MOURA, M. R., AOUADA, F. A., MATTOSO, L.H.C., ASSIS, O. B. G. N,N,N-trimethyl chitosan nanoparticles as a vitamin carrier system. *Food Hydrocolloids*, v.27, p.487 - 493, 2012.

## 1 INTRODUÇÃO

As vitaminas são fundamentais para o crescimento normal do corpo humano e animal, desempenhando funções específicas e vitais no metabolismo e manutenção da vida. As vitaminas, no entanto, devem ser administradas de forma adequada; sua falta pode levar a doenças específicas (Herrmann e Obeid, 2011), enquanto que o excesso pode ser tóxico, por isso a preocupação das agências reguladoras (OMS/FAO) em recomendar as doses específicas para a sua ingestão (Report of a joint FAO/WHO expert consultation, 2004). Cerca de treze vitaminas são reconhecidas como essenciais para a nutrição humana e estas podem ser classificadas em lipossolúveis, *e.g.*, vitaminas A, D, e, K; e hidrossolúveis, *e.g.*, vitamina C e membros do grupo da vitamina B.

Durante o processamento e armazenamento de alimentos, a maioria das vitaminas pode ser perdida devido a reações químicas, principalmente por oxidação. Isso é um problema, especialmente para a nutrição animal, área em que a conservação e manipulação nem sempre são adequadas. Em rações formuladas para peixes em aquicultura uma preocupação adicional é a perda de nutrientes por lixiviação (Soliman et al, 1987) Uma das formas de evitar ou reduzir essa taxa de degradação é através da micro e nanoencapsulação (Jang, K. e Lee, 2008; Alishahi et al., 2011).

Considerando a sua capacidade quelante e complexante, o polissacarídeo quitosana tem sido extensivamente estudado para a encapsulação, principalmente na área alimentícia (Zhao et al., 2011) e fármacos (Agnihotri et al. 2004). O derivado hidrossolúvel N,N,N-trimetil quitosana, TMQ, também é adequado para preparar NPs para muitas aplicações.

Assim, visando a estabilização ou a manutenção de tais vitaminas quando usadas como aditivos alimentares, o encapsulamento foi realizada por meio da gelificação iônica da quitosana e TMQ com tripolifosfato, TPP. Parâmetros específicos como o perfil de liberação no sistema aquoso em meio neutro e ácido serão discutidos.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Materiais

Tripolifosfato de sódio, quitosana de média massa molar (80% desacetilada), ácido ascórbico, ácido fólico e cianocobalamina foram adquiridos da Aldrich Chemical Company Inc. (USA). Outros reagentes foram adquiridos da Synth (São Paulo).

### 2.2 Preparação e caracterização das nanopartículas

As NPs foram preparadas e caracterizadas conforme descrito na parte 1 (Britto et al., 2014).

### 2.3 Determinação do perfil de liberação.

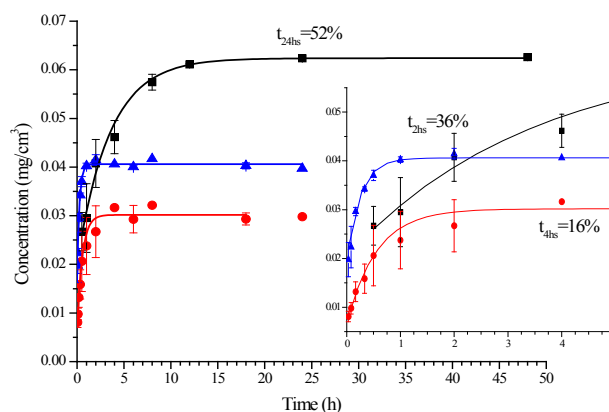
Após a separação do sobrenadante, o precipitado de NPs foi ressuspensão em 40,0 mL (para a vitamina B9) ou 20,0 mL (para as vitaminas C e B12) de solução tampão de fosfato salina preparada recentemente, PBS, (NaCl, 137,0 M + KCl, 2,7 M + Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 10,0 M + KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 2,0 M, pH = 7,4), procedendo-se a liberação a 25°C sob agitação orbital (120 rpm). Em intervalos de tempo pré-determinados, alíquotas foram centrifugadas, o sobrenadante separado e a vitamina livre determinada como mencionado acima. Todas as experiências foram realizadas em triplicata. Para os ensaios, em meio ácido em pH = 3,0, a solução de PBS foi ajustada com HCl 1,0 M.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

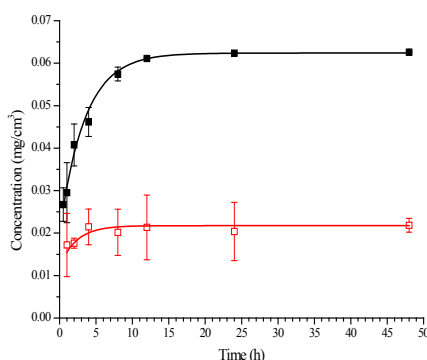
### 3.1 Perfil de liberação

O perfil de liberação é muito importante para definir a durabilidade teórica da substância encapsulada. Cada vitamina encapsulada apresentou diferentes perfis de liberação em solução neutra de PBS (Figura 1). Os sistemas de Qui-Vit C e Qui-Vit B12 apresentaram um efeito *burst* (liberação inicial rápida). Para a vitamina B12 este efeito foi menos pronunciado. Por outro lado, o sistema Qui-VitB9 apresentou um comportamento muito diferente, com uma taxa de liberação mais lenta, atingindo um

patamar em 24 horas. É evidente que a propriedade particular de cada vitamina influencia o perfil de liberação. A vitamina C é uma molécula pequena e bem solúvel em água, portanto, em um estado intumescido ela é rapidamente liberada do nanogel. A vitamina B12, embora muito solúvel em água ela tem um tamanho relativamente grande e portanto, sua liberação é mais lenta (Brazel e Peppas, 1999). Por outro lado, o perfil de liberação da vitamina B9 pode ser compreendido em função de sua solubilidade dependente do pH. Em solução neutra de PBS (Figura 1) a vitamina B9 é pouco solúvel e, portanto, sua liberação é mais lenta. O perfil de liberação para a vitamina B9 em meio PBS ácido (pH = 3,0), confirma claramente a dependência da solubilidade em função do pH (Figura 2). Em tais condições, a quantidade liberada e a velocidade de liberação foram muito baixas em comparação com a liberação medida em condição neutra. Neste caso, a vitamina B9 tem uma afinidade muito baixa para com o solvente e a sua liberação ocorre de maneira muito lenta.

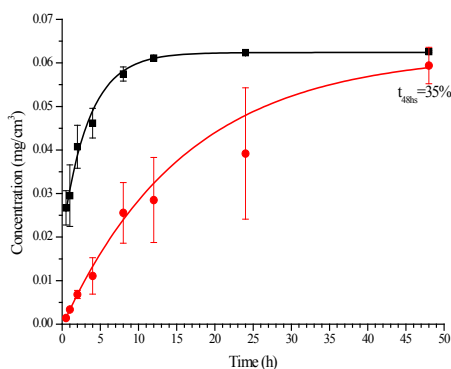


**Figura 1.** Perfil de liberação para os sistemas Qui-Vit C (▲), Qui-Vit B9 (■) e Qui-Vit B12 (●) em solução neutra de PBS (pH = 7.4). Detalhe: expansão das curvas para a faixa de 0 – 5 horas.



**Figura 2.** Comparação dos diferentes perfis de liberação entre Qui-Vit B9 em solução neutra de PBS (■) e em meio ácido, pH = 3.0 (□).

Um comportamento bem diferente e muito interessante foi encontrado para o perfil de liberação dos sistemas de TMQ, principalmente a da TMQ-Vit B9 (Figura 3). Este perfil mostrou um efeito *burst* menos pronunciado quando comparado com a Qui-VitB9. O sistema apresentou uma taxa de liberação baixa com um aumento gradual com o tempo, atingindo 35% em 48 horas. Este é um cenário positivo, uma vez que em contrapartida a quitosana atingiu 52% em 24 horas. Evidentemente a natureza hidrofílica da cadeia TMQ foi contrabalançada pela baixa solubilidade da vitamina B9, resultando numa liberação gradual de vitamina e também da solubilização das NPs.



**Figura 3.** Comparação dos diferentes perfis de liberação entre Qui-Vit B9 (■) e TMQ-Vit B9 (●) ambos em solução neutra de PBS.

#### 4 CONCLUSÃO

O efeito *burst* pode ser explorado em algumas aplicações onde é desejável uma liberação inicial grande de vitamina, seguida por uma taxa de liberação mais lenta e constante. Uma das vantagens do TMQ sobre quitosana foi um efeito *burst* menos pronunciado, principalmente a da vitamina B9. Além disso, a ocorrência da solubilização progressiva das NPs de TMQ pode ser explorada em algumas aplicações, tais como formulação de rações para peixes. De facto, os resultados mostram a potencialidade das NPs de quitosana e TMQ-TPP como veículo encapsulador e pode ser usado como um agente de estabilização de vitaminas em produtos alimentícios para humanos e animais.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores são gratos aos órgãos FINEP/MCT, Embrapa (Rede AgroNano), FAPESP, CNPq e CAPES pelo suporte financeiro.

#### REFERÊNCIAS

- AGNIHOTRI, S.A.; MALLIKARJUNA, N.M.; AMINABHAVI, T.M. Recent advances on chitosan-based micro- and nanoparticles in drug delivery, *Journal of Controlled Release*, v 100, n. 1, p. 5–28, 2004.
- ALISHAHI, A.; MIRVAGHEFI, A.; TEHRANI, M.R.; FARAHMAND, H.; SHOJAOSADATI, S.A.; DORKOOSH, F.A.; ELSABEE, M.Z. Shelf life and delivery enhancement of vitamin C using chitosan nanoparticles. *Food Chemistry*, v. 126, p. 935-940, 2011.
- BRAZEL, C.S.; PEPPAS, N.A. Mechanisms of solute and drug transport in relaxing, swellable, hydrophilic glassy polymers, *Polymer* v. 40, p. 3383–3398, 1999.
- BRITTO, D.; MOURA, M.R.; AOUADA, F.A.; PINOLA, F.G.; LUNDSTEDT, L.M.; MATTOSO, L.H.C.; ASSIS, O.B.G. Nanopartículas de trimetil quitosana. I Caracterização e eficácia de encapsulamento de vitaminas hidrossolúveis. In: WORKSHOP DE NANOTECNOLOGIA APLICADA AO AGRONEGÓCIO, VIII, 2014, Juiz de Fora, Anais... submetido.
- HERRMANN, W.; OBEID, R. Vitamin in the prevention of human diseases, Walter de Gruyter GmbH & Co. KG, Berlin/New York, 2011.
- JANG, K.; LEE, H.G. Stability of chitosan nanoparticles for l-ascorbic acid during heat treatment in aqueous solution, *Journal of Agricultural Food Chemistry*. v. 56, p. 1936-1941, 2008.
- Report of a joint FAO/WHO expert consultation, Vitamin and mineral requirements in human nutrition, 2nd Ed., World Health Organization, Bangkok, 2004.

SOLIMAN, A.K.; JAUNCEY, K.; ROBERTS, R.J. Stability of L-ascorbic acid (vitamin C) and its forms in fish feeds during processing, storage and leaching, *Aquaculture*, v. 60, p. 73, 1987.

ZHAO, L.-M.; SHI, L.-E; ZHANG, Z.-L.; CHEN, J.-M.; SHI, D.-D.; YANG, J.; TANG, Z.-X. Preparation and application of chitosan nanoparticles and nanofibers. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, v. 28, n. 3, p. 353-362, 2011.

## **Capítulo 5**

# **ESTUDO DOS ASPECTOS DE SEGURANÇA EM NANOTECNOLOGIA**



## ANÁLISE DO NÚMERO DE CÉLULAS E APOPTOSE EM EMBRIÕES BOVINOS EXPOSTOS A NANOFIBRAS DE CELULOSE E A NANOTUBOS DE CARBONO

\*Michele Munk Pereira<sup>1</sup>, Eliza Diniz de Souza<sup>2</sup>, Carolina Capobiango Romano Quintão<sup>2</sup>, Juliana Gern<sup>2</sup>, Nádia Rezende Barbosa Raposo<sup>1</sup>, José Manoel Marconcini<sup>3</sup>, Luiz Sérgio de Almeida Camargo<sup>2</sup>, Luiz Orlando Ladeira<sup>4</sup>, Humberto de Mello Brandão<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Juiz de Fora, UFJF, Juiz de Fora, MG. <sup>2</sup>Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. <sup>3</sup>Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos, SP. <sup>4</sup>Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG, Belo Horizonte, MG.

\*mimunkbio@gmail.com

**Classificação:** Estudo dos aspectos de segurança em nanotecnologia.

### Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar os possíveis efeitos de nanofibras de celulose (NFC) e nanotubos de carbono multicamadas carboxilados (MWCNT-COOH) no número de células e apoptose em embriões bovinos. Os embriões foram produzidos por fertilização *in vitro* após maturação de oócitos coletados em abatedouro local. No sétimo dia após fertilização, os blastocistos foram aleatoriamente divididos em três grupos: grupo controle (sem nanopartículas; n=19), NFC (0,2µg ml<sup>-1</sup>; n=16) e MWCNT-COOH (0,2µg ml<sup>-1</sup>; n=16). Os embriões foram cultivados na presença de nanopartículas por 72h em meio CR2aa com 10% de soro fetal bovino em 5% CO<sub>2</sub> a 38,5°C em ar atmosférico. Posteriormente, os blastocistos foram submetidos à técnica de TUNEL. Os dados foram analisados por ANOVA e teste SNK. O nível de significância adotado foi P= 0,05. O número total de células e o índice apoptótico não foi alterado entre os grupos (P>0,05). Em conclusão, a adição de NFC ou MWCNT-COOH, nas condições testadas, não afetou a cinética de desenvolvimento pré-implantacional e o índice de apoptose nos embriões bovinos.

**Palavras-chave:** Nanomateriais; Embriotoxicidade; Apoptose

### IN VITRO ANALYSIS OF CELLULOSE NANOFIBERS AND MUTIWALLED CARBON NANOTUBES EFFECTS IN NUMBER OF CELLS AND APOPTOSIS IN EMBRYO

#### Abstract

The aim of present study was to investigate the cotton cellulose nanofibers (CNF) and multiwalled carbon nanotubes with carboxylate functionalization (MWCNT-COOH) effects on cell number and the incidence of apoptosis in bovine blastocysts. The embryos were produced after *in vitro* maturation and fertilization of oocytes obtained of ovaries collected from slaughtered cows. At day seven post-fertilization embryos at blastocyst stage were randomly distributed into three culture groups: control group (without nanomaterials; n=19), cotton CNF (0.2µg ml<sup>-1</sup>; n=16) and MWCNT-COOH (0.2µg ml<sup>-1</sup>; n=16). Embryos in both groups were cultured in CR2aa medium and NPs, supplemented with 10% of fetal calf serum and granulosa cell monolayer, for 72hr under 5% CO<sub>2</sub> at 38.5°C in air. The embryos at tenth day post fertilization were permeabilized for TUNEL assay. Total cell number and apoptotic cell index were analyzed by ANOVA and SNK test. Total cell number and apoptotic cell number was similar (P>0.05) between groups. In conclusion, under the conditions tested, both cotton CNF and MWCNT-COOH does not interfere on preimplantation development and the incidence of apoptosis in bovine blastocysts.

**Keywords:** Nanomaterials; Embryotoxicity; Apoptosis

#### Publicações relacionadas:

PEREIRA, M. M.; GERN, J.C.; BARBOSA, N. R.; SOUZA, E. D.; MATTOSO, L.H.C.; CAMARGO, L.S.A.; LADEIRA, L.O.; BRANDÃO, H.M. Expressão gênica de biomarcadores de estresse e multipotência em embriões mamíferos expostos à nanofibras de celulose e à nanotubos de carbono. In: VII Workshop de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio, 2013, São Carlos. Anais do VII Workshop de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio. São Carlos: Embrapa Instrumentação, 2013.

## 1 INTRODUÇÃO

O aumento da produção e uso de nanomateriais (NMs) em diferentes segmentos tem causado



preocupações sobre o potencial impacto desses produtos na saúde pública (LING et al., 2012). Embriões bovinos são bons modelos de toxicidade para testes de agentes potencialmente teratogênicos, pois são sensíveis a toxicantes, bem como pelas suas similaridades morfológicas e bioquímicas a embriões humanos (LEIDENFROST et al., 2011). Dados toxicológicos existentes sobre a interação de nanotubos de carbono (NTCs) em embriões mamíferos ainda são incipientes (PEREIRA et al., 2010a) ou foram obtidos em períodos pós-implantação (ZALGEVIČIENĖ et al., 2012). Com relação às nanofibras de celulose (NFCs) não são conhecidos seus efeitos em embriões mamíferos. Portanto, há uma necessidade de estudos que avaliem o potencial teratogênico de novos materiais para a obtenção de resultados mais conclusivos e seguros sobre a toxicidade de NTC e NFCs.

O objetivo deste trabalho foi analisar o efeito de NFC e NTC multicamadas carboxilados (MWCNT-COOH) no número celular e apoptose *in situ* em blastocistos bovinos produzidos *in vitro*.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Oócitos imaturos foram obtidos de ovários coletados de animais abatidos e maturados e fertilizados *in vitro*. Após a fecundação, os possíveis zigotos foram transferidos para meio de cultivo embrionário CR2aa suplementado com 10% de soro fetal bovino, em incubadora com 5% CO<sub>2</sub>, ar atmosférico e umidade saturada, por 7 dias. Posteriormente, os embriões foram divididos em 3 grupos: controle, expostos a 0,2 µg ml<sup>-1</sup> de NFC (diâmetro: 6-18 nm; comprimento: 85-225 µm) ou MWCNT-COOH (diâmetro: 10-50 nm; comprimento: 5-30 µm) por 72h. Os blastocistos expostos aos NMs foram fixados em formaldeído 4%. A fragmentação do DNA foi avaliada com o Kit comercial *Dead end fluorimetric terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT)-mediated dUTP nick end (TUNEL) System* (Promega, Madison, WI, EUA). Todos os blastômeros foram marcados pelo DAPI e visualizados em azul no filtro de 460 nm do microscópio de epifluorescência (BX 52, Olympus, Washington, EUA). As células em apoptose foram identificadas no filtro de 520 ± 20 nm (cor verde pela absorção da fluoresceína). As imagens foram capturadas utilizando-se o programa Image-Pro Plus 4.5 (Media Cybernetics, Silver Spring, EUA). O o número total de células e o número de células apoptóticas foram analisados pelo programa *Image J*. O índice apoptótico foi calculado a partir da relação do número total de células e o número de células contendo corpos apoptóticos. Os dados foram avaliados por ANOVA e SNK. Os valores de P < 0,05 foram considerados significativos.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

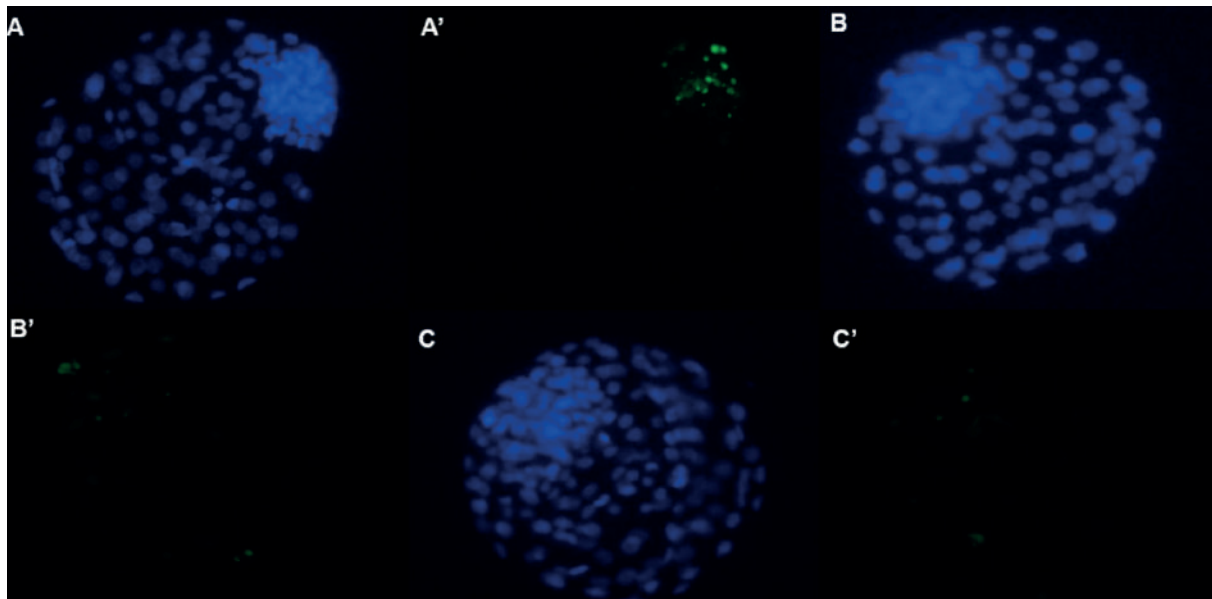
Após a exposição dos embriões às NFCs e aos MWCNT-COOHs por 72h não foram observadas diferenças no número total de células (P=0,91), número de células apoptóticas (P=0,89) ou índice apoptótico (P=0,82) quando comparado ao controle (Tabela 1).

**Tabela 1.** Efeito das NFCs e dos MWCNT-COOHs (0,2 µg ml<sup>-1</sup>) após 72 horas de exposição no número total de células e apoptose em embriões produzidos *in vitro*.

Grupos	N	Total de células*	Células apoptóticas*	Índice apoptótico*
Controle	19	130,88±5,59	13,22±1,05	10,28±2,83
NFC	16	126,06±6,93	14,43±1,62	11,46±3,57
MWCNT-COOH	16	127,81±8,04	14,37±1,99	10,28±1,51

\*ANOVA. Não houve diferença no número total de células (P=0,91), número de células apoptóticas (P=0,89) e índice apoptótico (P=0,82) entre os grupos. Os resultados foram expressos como média ± erro padrão da média.

Na Figura 1 estão representadas as imagens dos blastocistos submetidos à técnica de TUNEL após contato com os NMs.



**Figura 1.** Detecção da fragmentação do DNA pela técnica de TUNEL em blastocistos bovinos. Ilustrações A, B e C - Blastocistos com blastômeros marcados pelo DAPI e visualizados em azul (460nm). Ilustrações A', B' e C' - Blastocistos com blastômeros corados pela fluoresceína e visualizados em verde (520±20nm), indicando apoptose. Grupos - A/A' (grupo controle); B/B' (0,2 µg ml<sup>-1</sup> NFC); C/C' (0,2 µg ml<sup>-1</sup> MWCNT-COOH) - Aumento: 100X.

### 3.1 Efeito dos nanomateriais no número total de células embrionárias

Dentre os períodos críticos de desenvolvimento de um organismo destaca-se a fase pré-implantacional, possivelmente devido à existência de células ainda indiferenciadas. Um distúrbio nesta etapa pode causar falhas na implantação ou levar a danos nos processos de divisão celular e diferenciação que originarão os tecidos fetais (ZALGEVIČIENĖ et al., 2012). De acordo com os dados obtidos (Tabela 1) a adição de NFC ou MWCNT-COOHs no meio de cultura embrionário não alterou o número total de células que representa um importante parâmetro na avaliação da qualidade de embriões.

### 3.2 Efeito dos nanomateriais no índice apoptótico

A apoptose embrionária pode ocorrer pelo estresse provocado pelo sistema de cultura *in vitro*, porém, acomete embriões em baixas taxas sendo considerada um processo normal de desenvolvimento. Por isso, tanto embriões produzidos *in vivo* quanto *in vitro* apresentam em média até 20% de blastômeros em processo de morte celular (PEREIRA et al., 2010b). No presente estudo, os índices apoptóticos não ultrapassaram os valores encontrados na literatura (Tabela 1).

Estudos anteriores demonstraram aumento na apoptose em embriões expostos aos MWCNTs na mesma concentração e tempo de exposição (0,2 µg ml<sup>-1</sup> por 72h) do presente trabalho (PEREIRA et al., 2010a). Contudo, neste estudo anterior, a indução da apoptose foi atribuída principalmente a baixa pureza (81%) desses NTCs. No presente trabalho foram utilizados MWCNT de alta pureza (93%). Portanto, esses achados controversos podem ser explicados principalmente pela natureza química dos diferentes NTCs. Com relação às NFC, este material também não causou impacto nos parâmetros de qualidade embrionária avaliados. Possivelmente, o caráter biodegradável, a flexibilidade e a constituição química das NFCs (KOLAKOVIC et al., 2011) parecem ser determinantes na sua biocompatibilidade em embriões bovinos.

## 4 CONCLUSÃO

Na concentração avaliada, as NFCs e os MWCNT-COOHs não alteraram a cinética de desenvolvimento e sobrevivência embrionária de embriões bovinos produzidos *in vitro*.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq, Finep, Capes e Projeto MP1 Rede Agronano – Embrapa. À CAPES Rede Nanobiotec-Brasil (Edital CAPES04/CII-2008), CNPQ, FINEP, EMBRAPA, Rede Agro-Nano, Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio (LNNA) e ao Laboratório de Nanomateriais da UFMG.

## REFERÊNCIAS

KOLAKOVIC, R.; PELTONEN, L.; LAAKSONEN, T.; PUTKISTO, K.; LAUKKANEN, A.; HIRVONEN, J. Spray-dried cellulose nanofibers as novel tablet excipient. *AAPS PharmSciTech*, Springer, v.12, n. 4, p. 1366-1373, 2011.

LEIDENFROST, S.; BOELHAUVE, M.; REICHENBACH, M.; GÜNGÖR, T.; REICHENBACH, H.D.; SINOWATZ, F.; WOLF, E.; HABERMANN, F.A. Cell arrest and cell death in mammalian preimplantation development: lessons from the bovine model. *PLoS One*, v. 6, n. 7, p. e22121, 2011.

LING, M.P.; LIN, W.C.; LIU, C.C.; HUANG, Y.S.; CHUEH, M.J.; SHIH, T.S. Risk management strategy to increase the safety of workers in the nanomaterials industry. *Journal of Hazardous Materials*, Elsevier, v. 229-230, p. 83-93, 2012.

PEREIRA, M.M.; BRANDÃO, H.M.; BARBOSA, N.R.; SERAPIAO, R.V.; CARVALHO, B.C.; CAMARGO, L.S.A.; LADEIRA, L.O. Gene expression and apoptosis in bovine preimplantation embryo exposed to carbon nanotubes. In: *NANOAGRI, 2010, São Pedro. Anais... International Conference on Food and Agriculture Applications of Nanotechnologies, 2010a*. p. 238-238.

PEREIRA, M.M.; MACHADO, M.A.; COSTA, F.Q.; SERAPIAO, R.V.; VIANA, J.H.M.; CAMARGO, L.S.A. Effect of oxygen tension and serum during IVM on developmental competence of bovine oocytes. *Reproduction, Fertility and Development*, Csiro Publishing, v. 22, n. 7, p. 1074-1082, 2010b.

ZALGEVIČIENĖ, L.; KULVIETIS, V.; BULOTIENĖ, D.; DIDŽIAPETRIENĖ, J.; ROTOMSKIS, R. The effect of nanoparticles in rats during critical periods of pregnancy. *Medicina (Kaunas)*. v. 48, n. 5, p. 256-264, 2012.

---

## ESTUDO *IN VITRO* DO EFEITOS DE NANOPARTICULAS DE TITANATO DE BÁRIO EM LEUCÓCITOS

**\*Michele Munk Pereira<sup>1</sup>, Wanessa Araújo Carvalho<sup>2</sup>, Mariana Machado Araujo do Nascimento<sup>3</sup>, Saulo Ribeiro da Silva<sup>4</sup>, Juliana Carine Gern<sup>2</sup>, Alessandro de Sá Guimarães<sup>2</sup>, Humberto de Mello Brandão<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. <sup>2</sup>Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. <sup>3</sup>Centro de Ensino Superior de Juiz de Fora. <sup>4</sup>Ciências Farmacêutica da Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, MG.

\*mimunkbio@gmail.com

**Classificação:** Estudo dos aspectos de segurança em nanotecnologia.

### Resumo

Nanopartículas de Titanato de Bário (TB) têm propriedades físicas e químicas que possuem aplicações interessantes em sondas de imagens, entrega de fármacos e engenharia tecidual. Entretanto, pouco se conhece sobre os possíveis impactos tóxicos desta nanopartícula em sistemas biológicos. O objetivo deste estudo foi avaliar a citotoxicidade de nanopartículas de TB em cultura *in vitro* de leucócitos bovinos. As células foram expostas as nanopartículas em concentrações crescentes de 5, 25, 50, e 100µg ml<sup>-1</sup> por 24 e 48h. Não foram observadas alterações na viabilidade celular após a exposição às nanopartículas de TB até a concentração de 25µg ml<sup>-1</sup> (P>0,05). Porém, concentrações acima de 50µg ml<sup>-1</sup> diminuíram a via-

bilidade celular ( $P < 0,05$ ). Nas condições testadas, os resultados evidenciaram que altas concentrações de nanopartículas de TB ( $50$  e  $100 \mu\text{g ml}^{-1}$ ) são citotóxicas para leucócitos bovinos cultivados *in vitro*.

**Palavras-chave:** Nanopartículas; Citotoxicidade; Viabilidade Celular

## **IN VITRO EFFECTS OF BARIUM TITANATE NANOPARTICLES ON LEUCOCYTES CELLS**

### **Abstract**

Nanoparticle of Barium Titanate (BT) have physical and chemical properties that make them very attractive for applications in the imaging probes, drug delivery and tissue engineering. However, little is known about its toxic impact on biological systems. The objective of this study was to evaluate the cytotoxicity of BT nanoparticles on leukocytes cultured *in vitro*. Cells were exposed to nanoparticles in increasing concentrations of  $5$ ,  $25$ ,  $50$ , and  $100 \mu\text{g ml}^{-1}$  for  $24$  and  $48$ hr. No significant changes were observed in cell viability up to nanoparticle concentrations of  $25 \mu\text{g ml}^{-1}$  ( $P > 0,05$ ). However, at concentrations above  $50 \mu\text{g ml}^{-1}$ , the BT nanoparticles significantly decreased cell viability ( $P < 0,05$ ). The current study concludes that, under the conditions tested, high concentrations ( $50$  and  $100 \mu\text{g ml}^{-1}$ ) of BT nanoparticles cause decreased cell viability.

**Keywords:** Nanoparticles; Citotoxicity; Cell viability

## **1 INTRODUÇÃO**

A nanotecnologia oferece a perspectiva de grandes avanços que prometem melhorar a qualidade de vida e ajudar a preservar o meio ambiente. Entretanto, como qualquer área da tecnologia que faz uso intensivo de novos materiais e substâncias químicas, ela traz consigo alguns riscos ao meio ambiente e à saúde humana (QUINA, 2004).

Dentre os materiais que podem ser utilizados na escala nano destaca-se o Titanato de Bário (TB) considerado estratégico e com grande interesse tecnológico, graças às suas propriedades piezo-elétricas/dielétricas peculiares (CIOFANI et al., 2013). Na área da saúde, alguns estudos utilizaram nanopartículas de TB como nanocarreadores intracelulares para proteínas e fármacos de baixo peso molecular, tais como doxorubicina (CIOFANI et al., 2010a; 2010b), como biomarcadores, através da bioconjugação dos seus nanocristais com anticorpos imunoglobulina G para sondas de imagem (HSIEH et al., 2010) e como matéria prima para enxertos ósseos (BALL et al., 2014).

Embora exista um grande potencial de aplicações de nanopartículas de TB, dados relativos à sua toxicidade são raros (CIOFANI et al. 2010a; BALL et al. 2014). Diante disso, o objetivo deste foi avaliar a citotoxicidade de diferentes concentrações de nanopartículas de TB sobre leucócitos bovinos cultivados *in vitro*.

## **2 MATERIAIS E MÉTODOS**

As nanopartículas de TB foram obtidas da Sigma-Aldrich (CAT n. 467634, lot MKBF7837V,  $< 100$  nm). As amostras foram esterilizados por autoclave durante  $15$  min, e após este período, foram preparadas soluções estoques das nanopartículas ( $5 \text{ mg ml}^{-1}$ ) em meio de cultura *Rosewell Park Memorial Institute* (RPMI; INLAB), suplementados com  $10\%$  de soro fetal bovino (SFB; Nutricell) com auxílio de ultrassom por  $2$  min, para a completa dispersão das nanopartículas.

Amostras de sangue periférico foram coletadas de bovinos da raça Girolando e centrifugadas a  $2000$  rpm, por  $10$  min, para separar o plasma, a camada de leucócitos (*buffy coat*) e as hemácias. Após centrifugação o anel de leucócitos foi removido da interface e transferido para outro tubo. Posteriormente, foi feita a lise de hemácias com  $2$  mL de água destilada estéril seguida de reconstituição da osmolaridade com  $10$  mL de tampão PBS. As amostras foram submetidas a centrifugação por  $10$  min a  $1.440$  rpm e o sobrenadante foi descartado. O precipitado celular resultante foi ressuspenso em meio RPMI.

A densidade da cultura foi de  $5 \times 10^5$  células/poço em meio RPMI acrescido de  $10\%$  de SFB e  $1\%$  antibióticos ( $10.000$  units  $\text{ml}^{-1}$  penicilina e  $10.000 \mu\text{g ml}^{-1}$  estreptomicina). Os leucócitos foram cultivados em placas de  $24$  poços (Corning), em estufa incubadora a  $37^\circ \text{C}$ ,  $5\%$  de  $\text{CO}_2$  em ar atmosférico,  $95\%$  de umidade e contato com as nanopartículas nas concentrações de  $0$  (controle),  $5$ ,  $25$ ,  $50$  e  $100 \mu\text{g ml}^{-1}$  por  $24$  e  $48$ h.

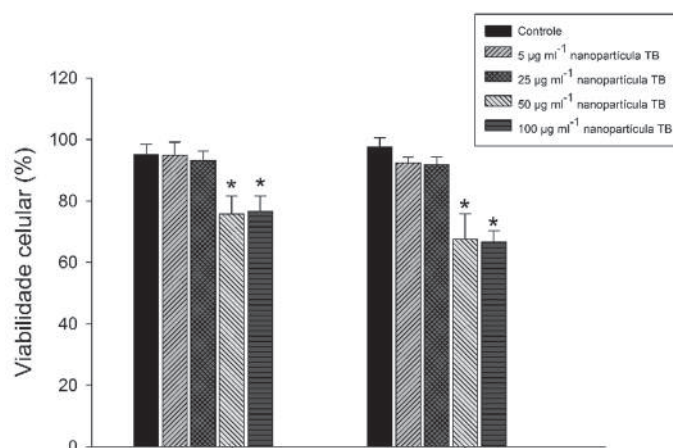
Para a avaliação da viabilidade celular  $24$  e  $48$ h após a incubação com TB as células foram coradas com Azul de Tripán ( $0,04\%$ ) diluídos em PBS. Foram contadas as células viáveis e inviáveis com auxílio de uma câmara de Neubauer e de um microscópio de luz (Carl Zeiss). Os dados foram avaliados por ANOVA e SNK. Os valores de  $P < 0,05$  foram considerados significativos.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A viabilidade das células mantidas em contato com as diferentes concentrações de nanopartículas de TB por um período de 24 e 48h pode ser observada na Figura 1. A medida que se aumentou a concentração a viabilidade celular foi afetada ( $P < 0,05$ ).

Semelhantemente ao presente estudo, trabalhos anteriores demonstraram que de  $5 \mu\text{g ml}^{-1}$  de nanopartículas de TB não afetaram o metabolismo e a viabilidade de células H9C2 cultivadas *in vitro* (CIOFANI et al., 2010a). Mais recentemente Ball e colaboradores (2014) não observaram efeitos citotóxicos em *scaffolds* poliméricos contendo nanopartículas de TB em osteoblastos de rato. Portanto, sob determinadas condições essas NPs não são tóxicas para alguns tipos de células de mamíferos cultivadas *in vitro*.

Por outro lado, no presente estudo, a medida que foi aumentada a concentração ( $50$  e  $100 \mu\text{g ml}^{-1}$ ) a viabilidade celular dos leucócitos foi diminuída em ambos os tempos avaliados, 24 e 48h (Figura 1). Outros estudos já evidenciaram que a concentração parece ser determinante para a toxicidade de diferentes NPs (SOHAEBUDDIN et al., 2010; ZHAO e LIU, 2012), principalmente por aumentar a interação e a endocitose das nanopartículas pelas células. A entrada de nanopartículas nas células pode causar danos as membranas plasmáticas, ao DNA e ao compartimento endossômico (NEL et al., 2009; LIMA et al., 2012). Nesse estudo, possivelmente, o aumento da concentração de nanopartículas de TB pode ter resultado em proporcional entrada destes nas células e causado lesões em organelas e estruturas celulares, resultando em uma perda de viabilidade celular dose dependente.



**Figura 1.** Viabilidade celular de leucócitos bovinos cultivados *in vitro* expostos a diferentes concentrações de nanopartículas Titanato de Bário (TB) ( $5$ ,  $25$ ,  $50$  e  $100 \mu\text{g ml}^{-1}$ ) em função do tempo (24 e 48 horas). Os resultados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média. Diferenças significativas entre os grupos expostos as nanopartículas e o controle são indicados por \* $P < 0,05$ .

De fato, estudos anteriores corroboram essa hipótese. Suzuki, Toyooka e Ibuki (2007) constataram que houve maior incorporação de nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  por células ovarianas de hamster, quando estas células foram expostas a elevadas concentrações desta NP.

Outros aspectos podem estar envolvidos na citotoxicidade de NP. Em altas concentrações, possivelmente fatores adicionais influenciam na intensidade das alterações na homeostase celular. Alguns estudos relataram que os NPs podem alterar a disponibilidade de componentes dos meios de cultura importantes para a manutenção das atividades celulares (CASEY et al., 2008; GUO et al., 2008). Portanto, altas concentrações de NPs podem desencadear a morte celular por diminuir a disponibilidade de fatores de crescimento ou nutrientes nos sistemas de cultivo *in vitro*.

Contudo, estudos adicionais ainda são necessários para determinar os mecanismos pelos quais as nanopartículas de TB induzem a citotoxicidade em leucócitos bovinos cultivados *in vitro*.

### 4 CONCLUSÃO

Nas condições experimentais avaliadas, as nanopartículas de TB diminuíram a viabilidade celular de leucócitos bovinos cultivados *in vitro*.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq, Finep, Capes e Projeto MP1 Rede Agronano – Embrapa. À CAPES Rede Nanobiotec-Brasil (Edital CAPES04/CII-2008), CNPQ, FINEP, EMBRAPA, Rede Agro-Nano e ao Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio (LNNA).

## REFERÊNCIAS

BALL, J.P.; MOUND, B.A.; NINO, J.C.; ALLEN, J.B. Biocompatible evaluation of barium titanate foamed ceramic structures for orthopedic applications. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, Wiley OnLine Library, v. 102, n. 7, p. 2089-2095.

CASEY, A.; HERZOG, E.; LYNNG, F.M.; BYRNE, H.J.; CHAMBERS, G.; DAVOREN, M. Single walled carbon nanotubes induce indirect cytotoxicity by medium depletion in A549 lung cells. *Toxicology Letters*, Elsevier, v. 179, n. 2, p. 78-84, Jun 2008.

CIOFANI, G.; DANTI, S.; MOSCATO, S.; ALBERTAZZI, L.; D’ALESSANDRO, D.; DINUCCI, D.; CHIELLINI, F.; PETRINI, M.; MENCIASSI, A. Preparation of stable dispersion of barium titanate nanoparticles: Potential applications in biomedicine. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, Elsevier, v. 76, n. 2, p. 535-543, 2010a.

CIOFANI, G.; DANTI, S.; D’ALESSANDRO, D.; MOSCATO, D.; PETRINI, M.; MENCIASSI, M. Barium titanate nanoparticles: highly cytocompatible dispersions in glycol-chitosan and doxorubicin complexes for cancer therapy. *Nanoscale research letters*, Springer, v. 5, n. 7, p. 1093-1101, 2010b.

CIOFANI, G.; RICOTTI, L.; CANALE, C.; D’ALESSANDRO, D.; BERRETTINI, S.; MAZZOLAI, B.; MATTOLI, V. Effects of barium titanate nanoparticles on proliferation and differentiation of rat mesenchymal stem cells. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, Elsevier, v. 102, p. 312-320, 2013.

GUO, L.; VON DEM BUSSCHE, A.; BUECHNER, M.; YAN, A.; KANE, A.B.; HURT, R.H. Adsorption of essential micronutrients by carbon nanotubes and the implications for nanotoxicity testing. *Small*, Wiley OnLine Library, v. 4, n. 6, p. 721-727, 2008.

LIMA, R.; FEITOSA, L.O.; MARUYAMA, C. R.; BARGA, M. A.; YAMAWAKI, P. C.; VIEIRA, I. J.; TEIXEIRA, E. M.; CORRÊA, A. C.; MATTOSO, L.H.C.; FRACETO, L.F. Evaluation of the genotoxicity of cellulose nanofibers. *International Journal Nanomedicine*, v.7, p. 3555-3565, 2012.

NEL, A. E; MÄDLER, L.; VELEGOL, D.; XIA, T.; HOEK, E.M.; SOMASUNDARAN, P.; KLAES-SIG, F.; CASTRANOVA, V.; THOMPSON, M. Understanding biophysicochemical interactions at the nano–bio interface. *Nature Materials*, Nature Publishing Group, v. 8, n. 7, p. 543-557, 2009.

QUINA, F. H. Nanotecnologia e o meio ambiente: perspectivas e riscos. *Quimica Nova*, Scielo, v. 27, n.6, p. 1028-1029, 2004.

SOHAEBUDDIN, S. K.; THEVENOT, P.T.; BAKER, D.; EATON, J.W.; TANG, L. Nanomaterial cytotoxicity is composition, size, and cell type dependent. *Particle and Fibre Toxicology*, BioMed Central, v. 7, p.22, 2010.

SUZUKI, H.; TOYOOKA, T.; IBUKI, Y. Simple and easy method to evaluate uptake potential of nanoparticles in mammalian cells using a flow cytometric light scatter analysis. *Environmental Science & Technology*, v. 41, n. 8, p. 3018-3024, 2007.

ZHAO, X.; LIU, R. Recent progress and perspectives on the toxicity of carbon nanotubes at organism, organ, cell, and biomacromolecule levels. *Environment International*, Elsevier, v. 40, p. 244-256, 2012.

## EFEITOS DE NANOFIBRAS DE CELULOSE E NANOTUBOS DE CARBONO NO METABOLISMO ENERGÉTICO DA MICROALGA *KLEBSORMIDIUM FLACCIDUM*

\*Michele Munk Pereira<sup>1</sup>, Juliana Carine Gern<sup>2</sup>, Claude Yéprémian<sup>3</sup>, Alain Couté<sup>3</sup>, Ludovic Mouton<sup>4</sup>, José Manoel Marconcini<sup>5</sup>, Luiz Orlando Ladeira<sup>6</sup>, Nádia Rezende Barbosa Raposo<sup>1</sup>, Roberta Brayner<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG. <sup>2</sup> Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. <sup>3</sup> Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris, France. <sup>4</sup> Interfaces, Traitements, Organisation et Dynamique des Systèmes, Université de Paris Diderot, Paris, France. <sup>5</sup> Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos, SP. <sup>6</sup> Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG, Belo Horizonte, MG. \*mimunkbio@gmail.com

**Classificação:** Estudo dos aspectos de segurança em nanotecnologia.

### Resumo

O estudo avaliou o impacto de nanofibras de celulose (NFC) de algodão e nanotubos de carbono multicamadas (MWCNT) na microalga *Klebsormidium flaccidum* em função da concentração (1, 50 e 100 µg ml<sup>-1</sup>) e tempo de exposição (24, 48, 72 e 96h). A atividade fotossintética e os níveis de ATP de *K. flaccidum* após a adição das nanopartículas (NPs) foram mensurados utilizando o fluorímetro PAM. A morfologia celular foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura (MEV) após 48h de contato com as NPs (100 µg ml<sup>-1</sup>). Os dados foram avaliados por ANOVA. A adição das NFCs na cultura celular alterou a fotossíntese após 24h de exposição ( $P < 0,05$ ). Entretanto, a atividade fotossintética permaneceu constante na presença de NFC após 48, 72 e 96h ( $P > 0,05$ ). No caso dos MWCNT, não foram observadas alterações na atividade fotossintética ( $P > 0,05$ ). Ambas NPs diminuíram o conteúdo de ATP dependendo da concentração e tempo de exposição ( $P < 0,05$ ) e alteraram a morfologia das microalgas. Em conclusão, os dados demonstraram que a exposição de NFCs e MWCNTs afetam o metabolismo celular e a morfologia de *K. flaccidum*.

**Palavras-chave:** Fotossíntese; Níveis de ATP; Morfologia Celular; Ecotoxicologia

### EFFECTS OF CELLULOSE NANOFIBER AND CARBON NANOTUBE ON ENERGY METABOLISM OF MICROALGAE

#### Abstract

The impacts of cotton cellulose nanofibers (CNF) and Multi-walled carbon nanotubes (MWCNT) on microalgae *Klebsormidium flaccidum* were measured as function of concentration (1, 50 and 100 µg ml<sup>-1</sup>) and time (24, 48, 72 and 96hr). The photosynthetic activity and ATP levels of *K. flaccidum* after addition of NPs were measured using a PAM fluorimeter. In order to evaluate morphological, cellular ultrastructure changes and interaction between NPs and *K. flaccidum*, we analyzed microalgae cells by Scanning electron microscopy (SEM) after 48hr of contact with NPs (100 µg ml<sup>-1</sup>). Data were analyzed by ANOVA. The addition of cotton CNF to cell suspension, leads to a fall in the photosynthetic rate after 24hr ( $P < 0.05$ ). However, the photosynthetic activity remains constant in the presence of cotton CNFs after 48, 72 or 96hr of culture ( $P > 0.05$ ). In the case of MWCNT no photosynthetic activity variation was observed ( $P > 0.05$ ). NPs significantly decreased content ATP, depending on concentration and time ( $P < 0.05$ ). The cell shrinkage was noted on the cells treated with both cotton CNFs and MWCNTs. In conclusion, we have demonstrated that exposure to cotton CNFs and MWCNTs affects cell metabolism and algal cell morphology.

**Keywords:** Photosynthesis; ATP levels; Cell morphology; Ecotoxicology

#### Publicações relacionadas:

PEREIRA, M.M.; MOUTON, L.; YEPREMIAN, C.; COUTE, A.; LO, J.; MARCONCINI, J.M.; LADEIRA, L.O.; BARBOSA, N.R.; BRANDÃO, H.M.; BRAYNER, R. Ecotoxicological effects of carbon nanotubes and cellulose nanofibers in *Chlorella vulgaris*. Journal of Nanobiotechnology, v. 12, p. 15, 2014.

## 1 INTRODUÇÃO

A nanotecnologia tem um grande potencial de melhorar a qualidade de vida, especialmente por

beneficiar as áreas da agricultura e indústria alimentícia. Algumas das nanopartículas (NPs) existentes incluem as nanofibras de celulose (NFCs) aplicadas em filmes nanocompósitos comestíveis (AZEREDO et al., 2010) e os nanotubos de carbono (NTC) usados na análise de pesticidas e incremento no crescimento de vegetais (FANG et al., 2009). Contudo a liberação de NPs em diferentes compartimentos ambientais (água, solo e ar) pode resultar na sua maior biodisponibilidade e acúmulo ao longo das cadeias alimentares causando impactos no ecossistema. Neste contexto, as microalgas *Klebsormidium flaccidum* são representantes típicos dos produtores primários (BRAYNER et al., 2010) e possuem ampla distribuição no planeta habitando ambientes aquáticos e terrestres.

Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar os possíveis efeitos de NFC e NTC multicamadas (MWCNT) no metabolismo energético da microalga *K. flaccidum*.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

As microalgas *K. flaccidum* foram obtidas na algoteca do Museu Nacional de História Natural da França. As microalgas ( $5 \times 10^5$  células  $\text{ml}^{-1}$ ) foram crescidas em meio Bold's basal (BB), em 20° C, iluminação de 50-80  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (14h luz e 10h escuro) e aeração constante. As microalgas foram mantidas em contato as NFC (diâmetro: 6-18 nm; comprimento: 85-225  $\mu\text{m}$ ) ou MWCNT (diâmetro: 20nm; comprimento: 40-100 $\mu\text{m}$ ,) nas concentrações de 0 (controle); 1, 50 e 100 $\mu\text{g ml}^{-1}$  por 24, 48, 72 e 96h.

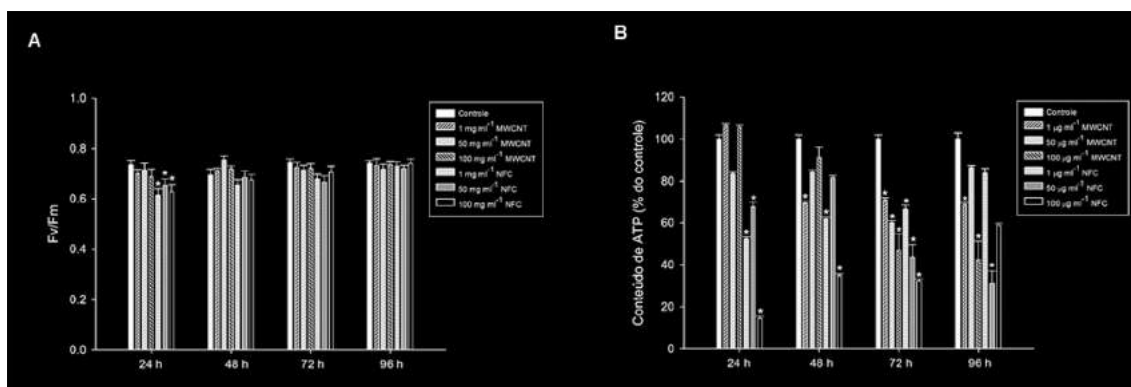
A eficiência quântica máxima do fotossistema II (Fv/Fm) foi avaliada utilizando-se o fluorômetro de amplitude de pulso modulado (PAM, Hansatech Instruments). Para a microscopia de varredura (MEV), as microalgas (100 $\mu\text{g ml}^{-1}$  em 48h de exposição), foram fixadas em solução contendo 2,5% de glutaraldeído e 1,0% de ácido pícrico em PBS por 2 h Em seguida as células foram tratadas com tetróxido de Ósmio 1% por 2h a 4° C e desidratadas à temperatura ambiente em etanol (50%, 70%, 90% e 100%), uma vez por 10 min em cada concentração. Os níveis intracelulares de ATP foram quantificados com o kit *ATP bioluminescent assay* (FL-AA) de acordo com as instruções do fabricante. A luminescência foi lida em equipamento *Envision Multilabel Plate Reader* (Perkin-Elmer, USA).

Os resultados foram avaliados por ANOVA e as médias comparadas pelo teste de SNK. Os valores de P menores que 0,05 foram considerados significativos. Os resultados foram apresentados como médias  $\pm$  EP da média.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Efeito das nanopartículas na eficiência fotossintética das microalgas

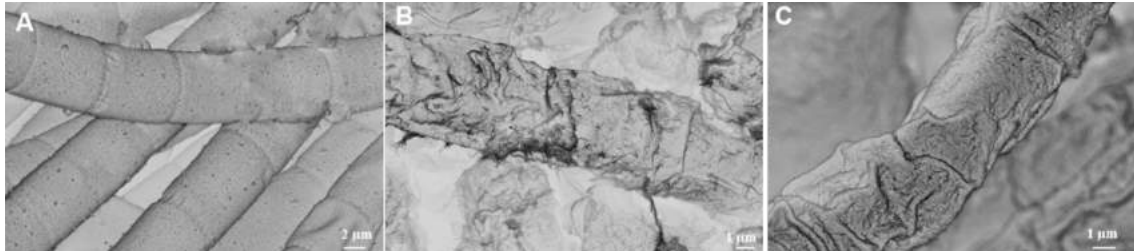
A adição de MWCNT não causou efeitos adversos ( $P > 0,05$ ) na fotossíntese de *K. flaccidum* (Figura 1A). Porém, a exposição às NFCs promoveu uma redução na taxa fotossintética em todas as concentrações ( $P < 0,05$ ), nas primeiras 24h de exposição, normalizando as taxas após este período. Semelhantemente ao presente estudo, Schwab e colaboradores (2011) demonstraram que a atividade fotossintética da microalga *C. vulgaris* permaneceu inalterada após exposição a 40 $\mu\text{g}$  de NTCs.



**Figura 1.** Efeitos de NFCs e MWCNTs (1, 50 e 100  $\mu\text{g ml}^{-1}$ ) no metabolismo energético de *K. flaccidum* após por 24, 48, 72 e 96 horas de exposição. A: Eficiência quântica máxima do fotossistema II (Fv/Fm). B: Conteúdo de ATP intracelular. Diferenças significativas entre os grupos testes (NFC ou MWCNT) e o controle são indicados por \* $P < 0,05$ .



Por outro lado, outras NPs podem alterar a taxa Fv/Fm de algas, como as NPs de ZnO (BRAYNER et al., 2010). Gao e colaboradores (2013) demonstraram que um dos efeitos tóxicos das NPs sobre organismos fotossintéticos é a redução da eficiência fotoquímica do fotossistema II. Em *K. flaccidum*, este efeito nocivo parece estar relacionado ao tipo de NP (maior efeito das NFC quando comparado aos MWCNTs). Possivelmente, o acúmulo de NFCs na superfície das microalgas inibiu a atividade fotossintética, devido a diminuição de trocas gasosas e entrada de nutrientes nas células. Apesar de ter ocorrido a adsorção de ambas as NPs (MWCNT ou NFC) à parede celular das células (Figura 2B,C), provavelmente, aquelas expostas às NFCs foram envoltas por uma estrutura semelhante a um gel intensificando os efeitos adversos da adsorção de NPs às células.



**Figura 2.** Micrografia eletrônica de varredura de células de *K. flaccidum* expostas a  $100\mu\text{g ml}^{-1}$  de MWCNT ou NFC por 48 horas. Controle de *K. flaccidum* (A), *K. flaccidum* expostas a MWCNTs (B) ou às NFCs (C).

Esse fenômeno pode ser explicado pela fisiologia das microalgas e/ou pelas características das NPs utilizados neste trabalho. A interação entre as NPs e o fitoplâncton produz substâncias poliméricas extracelulares conhecidas como exopolissacarídeos (EPS) (BRAYNER et al., 2010) como resposta adaptativa ao estresse ambiental. Em células expostas às NFCs, uma maior formação de substância gelatinosa pode ter ocorrido devido a constituição dessa NP. A celulose é composta de longas cadeias poliméricas de glicose, e é possível sugerir que as cadeias poliméricas das NFCs tenham sido reticuladas pelos EPS produzidos pelas microalgas, formando assim uma substância gelatinosa. Adicionalmente, as imagens de MEV demonstraram danos causados na parede celular das microalgas expostas às NPs (Figura 3B,C) pode ter implicações citotóxicas. De fato análises posteriores da produção de ATP celular evidenciaram que ambas as NPs estudadas prejudicaram a produção de energia pelas microalgas e serão discutidas abaixo.

### 3.2 Efeitos das nanopartículas nos níveis intracelulares de ATP

A produção de ATP pode ser um alvo de toxicidade relacionado a exposição celular às NPs. Para verificar esse efeito, foram avaliados os níveis intracelulares de ATP após exposição às NFCs e aos MWCNTs (Figura 1B). De maneira geral, as NPs causaram diminuição nos níveis de ATP ( $P < 0,05$ ) de acordo com concentrações e tempos específicos (Figura 1B).

Pouco se conhece sobre os efeitos potenciais de NPs nas mitocôndrias. Phenrat e colaboradores (2009) demonstraram que as NP de ferro valência zero induziram a diminuição nos níveis de ATP celular. O ATP é a molécula de energia mais utilizada pelas células vivas, e seu declínio é indicativo de perda de função mitocondrial. Assim, os níveis de ATP representam o estado metabólico de células ativas. No presente estudo, a mudança nos níveis de ATP nas microalgas tratadas com NPs comparada com as do grupo controle sugere que tanto as NFCs quanto os MWCNTs prejudicam o metabolismo energético de *K. flaccidum*.

## 4 CONCLUSÃO

Nas condições experimentais avaliadas, as NFCs influenciaram as taxas fotossintética e tanto as NFCs quanto os MWCNTs prejudicaram o metabolismo energético das microalgas.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq, Finep, Capes e Projeto MP1 Rede Agronano – Embrapa. À CAPES Rede Nanobiotec-Brasil (Edital CAPES04/CII-2008), CNPQ, FINEP, EMBRAPA, Rede Agro-Nano, ao Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio (LNNA) e ao Laboratório de Nanomateriais da UFMG.

## REFERÊNCIAS

- AZEREDO, H. M. C.; MATTOSO L.H.C.; AVENA-BUSTILLOS, R.J.; FILHO, G.C.; MUNFORD, M.L.; WOOD, D.; MCHUGH, T.H. Nanocellulose reinforced chitosan composite films as affected by nanofiller loading and plasticizer content. *Journal of Food Science*, Wiley Online Library, v. 75, p. 1-7, 2010.
- BRAYNER, R.; DAHOUMANE, S.A.; YÉPRÉMIAN, C.; DJEDIAT, C.; MEYER, M.; COUTÉ, A.; FI-ÉVET, F. ZnO nanoparticles: synthesis, characterization, and ecotoxicological studies. *Langmuir*, ACS Publications, v. 26, n. 9, p. 6522-6528, 2010.
- FANG, G.; MIN, G.; HE, J.; ZHANG, C.; QIAN, K.; WANG, S. Multiwalled carbon nanotubes as matrix solid-phase dispersion extraction absorbents to determine 31 pesticides in agriculture samples by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, ACS Publications, v. 57, n.8, p. 3040-3045, 2009.
- GAO, H.; PANG, Z.; JIANG, X. Targeted delivery of nano-therapeutics for major disorders of the central nervous system. *Pharmaceutical Research*, Springer, v.30, n.10, p. 2485-2498, 2013.
- PHENRAT, T.; LONG, T.C.; LOWRY, G.V.; VERONESI, B. Partial oxidation (“aging”) and surface modification decrease the toxicity of nanosized zerovalent iron. *Environmental Science Technology*, ACS Publications, v. 43, n. 1, p. 195-200, 2009.
- SCHWAB, F.; BUCHELI, T.D.; LUKHELE, L.P.; MAGREZ, A.; NOWACK, B.; SIGG L.; KNAUER, K. Are carbon nanotube effects on green algae caused by shading and agglomeration? *Environmental Science and Technology*, ACS Publications, v.45, n. 14, p. 6136-6144, 2011.

---

## AGREGAÇÃO E CARGA DE SUPERFÍCIE DE NANOFIBRAS DE CELULOSE: IMPLICAÇÕES CITOTÓXICAS

\*Michele Munk Pereira<sup>1</sup>, Juliana Carine Gern<sup>2</sup>, Saulo Ribeiro da Silva<sup>3</sup>, Claude Yéprémian<sup>4</sup>, Alain Couté<sup>4</sup>, Ludovic Mouton<sup>5</sup>, José Manoel Marconcini<sup>6</sup>, Nádia Rezende Barbosa Raposo<sup>1</sup>, Roberta Brayner<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG. <sup>2</sup>Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. <sup>3</sup>Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, MG. <sup>4</sup>Muséum National d’Histoire Naturelle, Paris, France. <sup>5</sup>Interfaces, Traitements, Organisation et Dynamique des Systèmes, Université de Paris Diderot, Paris, France. <sup>6</sup>Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos, SP.

\*mimunkbio@gmail.com

**Classificação:** Estudo dos aspectos de segurança em nanotecnologia.

### Resumo

As nanofibras de celulose (NFC) são promissoras nanomateriais (NMs) que se destacam devido a importantes características mecânicas e devido ao seu caráter renovável e abundante. Entretanto, materiais na escala nanométrica podem ser mais ecotóxicos que os mesmos materiais na escala natural, devido ao aumento da área de superfície e consequente maior exposição de grupos reativos na interface. O impacto das NFC na microalga *K. flaccidum* foi avaliado em função de diferentes concentrações (1, 50 e 100µg mL<sup>-1</sup>) e tempos de exposição (24, 48, 72 e 96h). Foram estudadas a carga de superfície, a agregação, a interação das NFC com as células e a viabilidade das microalgas expostas a esta nanofibras. Os resultados demonstraram que as células expostas às NFCs produziram exopolissacarídeos. Não foram encontradas NFC dentro das células após avaliação por microscopia eletrônica de transmissão (MET), porém, de forma geral as NFCs diminuíram a viabilidade celular das microalgas em todas as concentrações (1; 50 e 100µg mL<sup>-1</sup>) e tempos avaliados (24, 48, 72 e 96h).

**Palavras-chave:** Nanomateriais; Ecotoxicologia; Bioindicadores

## AGGREGATION AND SURFACE CHARGE: IMPLICATIONS FOR CYTOTOXICITY OF CELLULOSE NANOFIBERS

### Abstract

Cellulose nanofibers (CNF) has attracted a lot of attention recently as a natural, abundant polymer with excellent mechanical properties and biodegradable. However, materials in nanoscale can be more ecotoxic than bulk materials with the same composition, mostly because of their increased specific surface area and consequent increased exposure of reactive groups. The impacts of CNF on *K. flaccidum* were measured as function of concentration (1, 50 and 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) and time (24, 48, 72 and 96h). Responses such as surface charge, aggregation, cell uptake and cell viability were evaluated. It was observed that exposed cells to CNFs produced of exopolysaccharide (EPS). No particles were found inside the cells by transmission electron microscopy (TEM), however generally, CNF decreased cell viability at all concentrations (1, 50 and 100 $\mu\text{g ml}^{-1}$ ) and times (24, 48, 72 and 96h).

**Keywords:** Nanomaterials; Ecotoxicology; Bioindicators

### Publicações relacionadas

PEREIRA, M. P. MOUTON, L.; YÉPRÉMIAN, C.; COUTÉ, A.; LO, J.; MARCONCINI, J. M.; LA-DEIRA, O. L.; RAPOSO, N. R. B.; BRANDÃO, H. M.; BRAYNER, R. Ecotoxicological effects of carbono nanotubes and celulose nanofibers in *Chlorella vulgaris*. *Nanobiotechnology*, v. 22, n. 1, p. 1-15, 2014.

## 1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos observa-se um grande aumento na produção dos mais diversos tipos de nanomateriais (NMs) pela indústria nanotecnológica, em especial as fibras de celulose destacam-se devido ao seu caráter renovável e abundante. Apesar da seu elevado caráter higroscópico e a tendência de formar agregados as nanofibras de celulose (NFCs) podem ser empregadas no reforço de matrizes poliméricas, na indústria alimentícia, na medicina humana e veterinária e no agronegócio (TEXEIRA et al., 2011). Todavia, para garantir o seguro uso das NFCs são necessários estudos toxicológicos, uma vez que a toxicidade dos NMs pode estar diretamente relacionada ao seu tamanho (KAGAN, BAYIR e SHEVEDOVA, 2005).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a possível ecotoxicidade das NFCs em microalgas da espécie *Klebsormidium flaccidum* e estudar o tamanho das NFCs ao longo do tempo, bem como a carga de superfície em diferentes valores pH.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

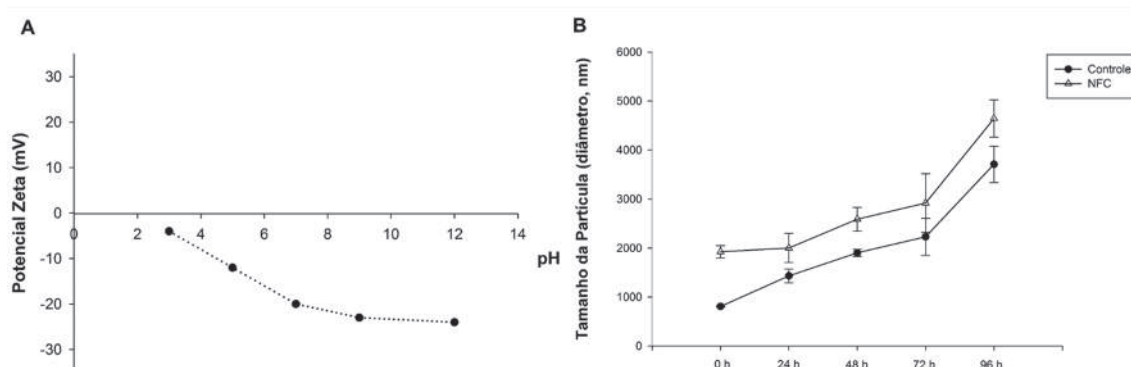
As microalgas *K. flaccidum* ( $5 \times 10^5$  células  $\text{ml}^{-1}$ ) foram obtidas na algoteca do Museu Nacional de História Natural da França e crescidas em meio Bold's basal (BB) em 20° C, iluminação de 50-80 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (14h luz e 10h escuro) e aeração constante. As microalgas foram mantidos em contato com as NFC (diâmetro: 6-18nm; comprimento: 85-225  $\mu\text{m}$ ) nas concentrações de 0 (controle); 1; 50 e 100 $\mu\text{g ml}^{-1}$  por 24, 48, 72 e 96h.

O estado de dispersão e as forças de carga da superfície/interpartículas (Potencial Zeta, PZ) das NFCs nos meios de cultura (100 $\mu\text{g ml}^{-1}$ ) foram caracterizados usando um Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments, Reino Unido). Após 48 h de exposição às NFCs (100 $\mu\text{g ml}^{-1}$ ), as microalgas foram coradas com tinta tipo nanquim para avaliação da produção exopolissacarídeos (EPS) e observadas com o auxílio de microscopia de luz (Zeiss Primo Star). Para a microscopia de varredura (MEV), as microalgas (100 $\mu\text{g ml}^{-1}$  em 48h de exposição) foram fixadas em solução contendo 2,5% de glutaraldeído e 1,0% de ácido pícrico, e tratadas com tetróxido de Ósmio 1% e desidratadas à temperatura ambiente em etanol (50%, 70%, 90% e 100%). Posteriormente, o material desidratado foi incluso em parafina e cortado em ultramicrotomo (Reichert, Jung Ultracut E, Leica). As imagens foram obtidas em um equipamento Hitachi H-700 operando com voltagem a 75kV e equipado com uma câmara Hamatsu. A viabilidade celular foi avaliada com auxílio do contador celular CelloMetter Auto T4 (Nexcelom Bioscience) utilizando o corante Azul de Tripan (0,01%).

Os resultados foram avaliados por ANOVA e as médias comparadas pelo teste de SNK. Os valores de P menores que 0,05 foram considerados significativos. Os resultados foram apresentados como médias  $\pm$  EP da média.

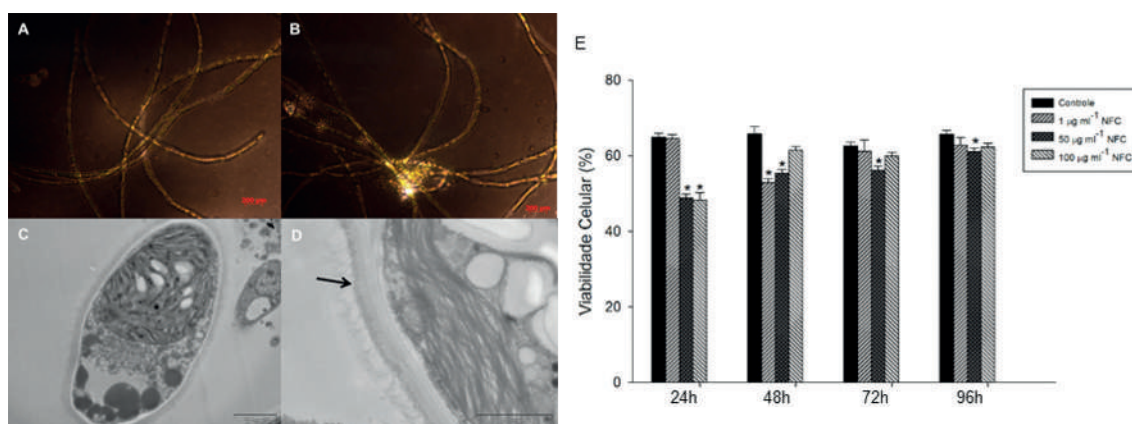
### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da Figura 1A demonstraram que as NFCs são carregadas negativamente, e esta carga tende a diminuir em módulo com valores de pH altos.



**Figura 1.** Avaliação do Potencial Zeta (PZ) e agregação das NFCs em diferentes condições. A: Variação do PZ na solução de *Klebsormidium flaccidum* expostas às NFCs em diferentes pHs após 48 horas. B: Tamanho hidrodinâmico das partículas após 24, 48, 72 e 96 horas. Dados apresentados pela média.

Esses valores sugerem que existem poucos sítios catiônicos nas microalgas para a adsorção de NMs carregados negativamente. Porém, a contrastação das microalgas por tinta nanquim demonstrou uma maior presença de EPS nas células expostas às NFCs (Figura 2B) quando comparada ao controle. Essa produção de EPS ocorre devido a interação entre os NMs e o fitoplâncton (BRAYNER et al., 2010) como resposta adaptativa ao estresse ambiental. Por outro lado, pode-se observar nos estudos de MET (Figura 2D, seta) que a interação entre as NFCs e as células das microalgas se restringiu à superfície externa da parede celular, provavelmente devido a repulsão eletrostática entre esses NMs e o interior das células das microalgas (WILHELM, 2003).



**Figura 2.** Efeitos citotóxicos da exposição de *Klebsormidium flaccidum* às NFCs. A, B: Visualização da produção de exopolissacarídeo por microscopia de luz (A: controle, B: células expostas a 100µg ml<sup>-1</sup> NFC). C, D: Microscopia eletrônica de transmissão de células controle (C) e expostas a 100µg ml<sup>-1</sup> NFC (D). A seta indica a adsorção de NMs na parede celular. E: Viabilidade celular de *K. flaccidum* expostas à NFC em diferentes condições. Valores expressos como média ± erro padrão da média. Diferenças entre os grupos expostos às NFCs e o controle são indicados por \*P<0,05.

De maneira geral, o estudo de viabilidade celular revelou que as NFCs são potencialmente citotóxicas para as microalgas *K. flaccidum* (Figura 2E). A diminuição da porcentagem da viabilidade causada pelas NFCs provavelmente ocorreu devido a obstrução da parede celular externa pela adsorção desses NMs. Isso pode acarretar em diminuição do fornecimento de nutrientes, aeração e iluminação no sistema de cultura para as microalgas. Sob essas circunstâncias, as células podem ter sofrido estresse pela restrição de nutrientes essenciais decorrente do aumento da competição entre as microalgas.

Por outro lado, como observado na Figura 2E há um aumento da viabilidade celular ao longo do tempo na concentração de 1 e 100µg ml<sup>-1</sup> de NFC. Tal fato pode ser explicado pela formação de agregados de NFCs devido à instabilidade eletrostática apresentada pelas mesmas (Figura 1B). O PZ

apresentado pelas NFCs assume valores abaixo de 30 mV em módulo, o que caracteriza um sistema eletronicamente instável (Figura 1A). Esse comportamento pode explicar o aumento do tamanho das NFCs ao longo do tempo (Figura 2B). A consequência desse fenômeno pode ser a diminuição da obstrução da parede celular das microalgas favorecendo seu crescimento. Portanto, a porcentagem de células viáveis em maiores tempos de exposição pode estar relacionada com o aumento da agregação das NFCs.

#### 4 CONCLUSÃO

Os resultados confirmam que a exposição das microalgas *K. flaccidum* às NFCs afetam a viabilidade celular, principalmente nas primeiras 24 e 48h. Todavia, devido à instabilidade eletrostática apresentada pela NFCs, a viabilidade tende a aumentar nas concentrações de 1 e 100µg ml<sup>-1</sup> NFC, em função da agregação das NFCs ao longo do tempo (72 e 96h).

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq, Finep, Capes e Projeto MP1 Rede Agronano – Embrapa. À CAPES Rede Nanobiotec-Brasil (Edital CAPES04/CII-2008), CNPQ, FINEP, EMBRAPA, Rede Agro-Nano e ao Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio (LNNA).

#### REFERÊNCIAS

KAGAN, V.E.; BAYIR, H.; SHEVEDOVA, A.A. Nanomedicine and nanotoxicology: two sides of same coin. *Nanomedicine*, Elsevier, v. 1, n. 4, p. 313-316, 2005.

TEXEIRA, E. M.; CORREA, A. C.; MANZOLI, A.; LEITE, F. L.; OLIVEIRA, C. R.; MATTOSO, L. H. C. Cellulose nanofibers from white and naturally colored cotton fibers. *Cellulose*, Springer, v. 17, p. 595-606, 2010.

WILHELM, C. Intracellular uptake of anionic supermagnetic as a function of their surface coating. *Biomaterials*, Elsevier, v. 24, n. 6, o. 1001-1011, 2003.

---

## AVALIAÇÃO DA MICROBIOTA DE SOLOS EXPOSTOS A NANOFIBRAS CELULOSICAS

\*Gabriela Sanches<sup>1</sup>, Natália Bilesky<sup>1</sup>, Ana C. Corrêa<sup>2</sup>, Eliangela M. Teixeira<sup>2</sup>, Kelcilene B. R. Teodoro<sup>2</sup>, José M. Marconcini<sup>2</sup>, Luiz H. C. Mattoso<sup>2</sup>, Leonardo F. Fraceto<sup>3</sup>, Renata de Lima<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade de Sorocaba, Sorocaba-SP. <sup>2</sup>Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, LNNA, Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP. <sup>3</sup>Unesp/Sorocaba, Sorocaba, SP.

\*ga.sanches@yahoo.com.br

**Classificação:** Estudo dos aspectos de segurança em nanotecnologia.

#### Resumo

As nanofibras são materiais de tamanho nanométrico obtidos a partir de técnicas especiais que garantem ao material flexibilidade, dureza e resistência elevada. Suas perspectivas para uso envolvem as áreas, médica, têxtil e ambiental, podendo ser utilizada em sistemas de liberação e produção de novos produtos como embalagens, fármacos, construção civil, entre outros. As nanofibras de celulose especificamente apresentam uma grande diversidade com relação as matérias disponíveis com grande heterogeneidade, resultando em um desafio quanto as diferentes propriedades e desempenhos, apresentando importância com relação a sustentabilidade, pois trata-se de matéria prima renovável. No presente trabalho foram analisadas nanofibras celulósicas (Algodão modificado sup., Algodão não modificado, polpa Kraft modificada sup. e polpa Kraft não modificada) com relação a atividade na microbiota do solo utilizando técnicas de biologia molecular (teste ARDRA) e microbiológicas (teste de difusão em agar e avaliação da Concentração inibitória mínima). Os resultados mostram que as nanofibras em geral não apresentaram alterações drásticas nas avaliações realizadas, porém os estudos continuam com a finalidade de ava-

liar os efeitos destas nanofibras na microbiota quanto a alteração na quantidade das diferentes espécies existentes no solo.

**Palavras-chave:** Nanofibras de celulose; ARDRA; Concentração inibitória mínima; Nanotoxicidade de solos.

## EVALUATION OF THE SOIL MICROBIOTA EXPOSED TO CELLULOSE NANOFIBERS

### Abstract

The nanofibers are materials with nanometric size obtained from special technical equipment to ensure the flexibility, toughness and high strength materials. Your prospects for use involve areas medical, textile and environmental, can be used in the production and release of new products such as packaging, pharmaceuticals, construction, among other systems. Specifically the cellulose nanofibers feature large diversity the materials available heterogeneity, resulting in a challenge as the different properties and performances, featuring importance with respect to sustainability because it is renewable material. In this work, cellulose nanofibers were analyzed (Cotton modified sup., Cotton unmodified, modified Kraft pulp sup. and Kraft pulp unmodified) with respect to activity in the soil microbiota techniques of molecular biology (ARDRA test) and microbiological (test agar diffusion and evaluation of minimum inhibitory concentration). The results show that the nanofibers in general didn't show drastic changes in the assessments, but studies continue on the intention to evaluate the effects of these nanofibers in the microbiota as a change species different in quantity in the soil.

**Keywords:** Cellulose nanofibers; ARDRA; Minimum inhibitory concentration; Soil nanotoxicity.

## 1 INTRODUÇÃO

Nanofibras de celulose (NFC) tem origem de polpa de madeira e suas características são alto comprimento, alta rigidez e capacidade de formar redes através de fortes ligações secundárias, incluindo ligações de hidrogênio, permitindo liberdade significativa para o desenvolvimento de novos materiais (BENHAMOU et al., 2014). Com relação a sua origem as paredes celulares das plantas possuem hemiceluloses que interagem com as microfibrilas de celulose e lignina, as NFCs consistem de fibrilas liberadas a partir da estrutura da parede celular com dimensões muito menores que as de fibras de celulose tradicionais (ERONEN et al., 2011).

A ciência e a tecnologia nas últimas décadas começaram a mover-se em direção a produção de matérias-primas sustentáveis, logo biopolímeros como a celulose, foram avaliados positivamente não só como recursos sustentáveis, mas também como materiais com propriedades funcionais (GANDINI e BELGACEM, 2008), pois podem ser misturados a outros polímeros resultando em novos materiais diferenciados (FERNANDES et al., 2010).

Neste trabalho foram estudados a interferência de nanofibras algodão modificado sup, algodão não modificado, polpa kraft modificada sup e polpa Kraft modificada sup na microbiota de solos.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Material

#### 2.1.1 Preparo das nanofibras

Para a produção das nanofibras foram utilizados algodão do branco comercial e polpa Kraft fornecida por Suzano Papel e Celulose. O algodão e polpa Kraft foram submetidas à hidrólise com solução de ácido sulfúrico 6M por 75min. e a 45°C sob agitação e para finalizar a reação foram adicionados água destilada gelada. Os whiskers foram centrifugados por 10min a 10000 rpm e posteriormente foram submetidos à diálise em água corrente até pH neutro, a modificação superficial foi realizada por esterificação das nanofibras utilizando ácido acético pelo período de 30 min, após este procedimento o material foi neutralizado, congelado e posteriormente passou por secagem por liofilização.

#### 2.1.2 Obtenção das bactérias de solo

Inicialmente 1g de solo sem tratamento prévio foi adicionado a 10mL de solução de Pirofosfa-

tosendo mantido em agitação por 30 minutos. O sobrenadante foi retirado e misturado a solução salina estéril na proporção (1:9) e distribuídas em placas de *petri* contendo meio de cultura TSA e deixada em estufa por 48h a 37°C, as colônias obtidas da cultura foram coletadas e transferidas para caldo *Brucella* para manutenção em freezer a -80°C.

## 2.2 Método de difusão com discos em ágar

Após o crescimento bacterianos 450µL ( $3 \times 10^7$ cfu/mL) de bactérias foram adicionados e espalhados na placa de Petri contendo meio de cultura *Mueller Hinton Agar*. A seguir discos de papel de 6 mm de diâmetro foram posicionados mantendo uma distância de pelo menos 15 mm até a lateral da placa e dos outros discos. Colocados os discos foram adicionados a estes 10µL do material de teste. As placas foram incubadas por 24h em estufa a 35°C.

## 2.3 Concentração inibitória mínima (MIC)

Após o período de 24h de pré-crescimento as bactérias foram contadas em câmara de Neubauer seguida de diluição concentração padrão de  $5 \times 10^6$  cfu/mL, para utilização de 10µL de bactéria por poço de teste. Para a montagem da placa de teste de concentração inibitória mínima foram realizadas concentrações decrescentes, sendo a penúltima coluna um controle sem material a ser testado e a última coluna um controle para contaminação (ausente de bactérias). O indicador de crescimento de bactérias utilizado nos testes foi o Resazurin na concentração de 6,75 mg/mL por poço. Após o preparo da placa esta foi incubada por 24h a 35°C.

## 2.4 Análise Molecular de Toxicidade da Microbiota do Solo (ARDRA)

A técnica de ARDRA (Amplificado Ribossomal de DNA e Análise de Restrição) é baseada na digestão por enzimas de restrição do DNA da região 16S-RNA amplificado por PCR, seguido por separação com eletroforese em gel de agarose. Após o tempo de exposição de 1 mês em nanofibras uma amostra do material foi retirada para extração de DNA (*PowerSoil DNA isolation kit-Mobio*). Para o teste foram analisadas regiões dos genes 16S rDNA de bactérias utilizando *primers* universais 27F e 1492R (JUNG et al., 2012), os fragmentos amplificados foram expostos à restrição enzimática com enzima *HinfI* e *HhaI*. Para visualização dos resultados foi utilizado gel de agarose 2%, os fragmentos do controle negativo foram comparados aos fragmentos dos tratamentos para a realização das análises.

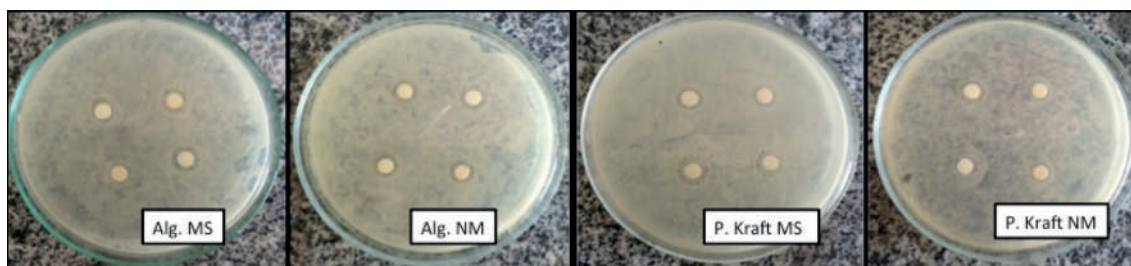
# 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

## 3.1 Teste de difusão em disco Agar com bactérias de solo

Os resultados das análises de difusão de disco com nanofibras testadas a concentração 1% mostraram a formação de pequeno halo indicando interferência no crescimento celular (Tabela 1). Os materiais que mostraram maior interferência foram o Algodão Modificado Sup. e Polpa Kraft Modificada Sup. Mostrando a formação de halo superior as demais, porém a concentração testada foi de 100mg/mL considerada concentração alta para avaliação bactericida (Figura 1).

**Tabela 1.** Valores dos halos formados no teste de difusão em disco dos tratamentos com as diferentes nanofibras.

N=Nanofibra	media±desvio
Algodão Modificado S	15,6±2,37
Algodão Não Modificado	13,1±0,88
Polpa Kraft Modificada S	15,6±2,37
Polpa Kraft Não Modificada	11,7±2,03

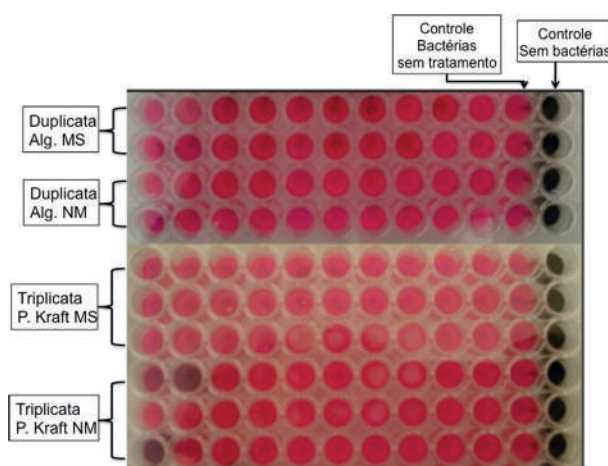


**Figura 1.** Resultados obtidos com o teste de difusão em Agar.

De acordo com Holetz et al., (2002) para extratos vegetais, aqueles que apresentam atividade antimicrobiana em concentrações acima de 500 $\mu$ g/mL possuem fraca atividade, sendo difícil aproveitamento para tratamentos de infecção bacterianas e fungicas. Aqui neste trabalho esta atividade não foi verificada utilizando-se bactérias patogênicas, e sim bactérias do solo, na intenção de verificar atividade bactericida nas mesmas, pensando na possibilidade das nanofibras atingirem o solo e causarem danos ao microbiota. Os resultados mostraram não haver efeito drástico aparente nas espécies presentes em solo.

### 3.2 Concentração inibitória mínima

Na avaliação da concentração inibitória mínima as concentrações testadas foram 0,5; 0,4; 0,3; 0,2; 0,15; 0,1; 0,05; 0,03; 0,02 e 0,01%. Para avaliação dos resultados utilizou-se como marcador o Resazurin, o qual passa da cor roxa para rosa na presença de bactérias vivas, permanecendo da cor roxa na ausência de bactérias ou com morte celular. Os resultados mostram a não ocorrência de morte das bactérias testadas (Figura 2).



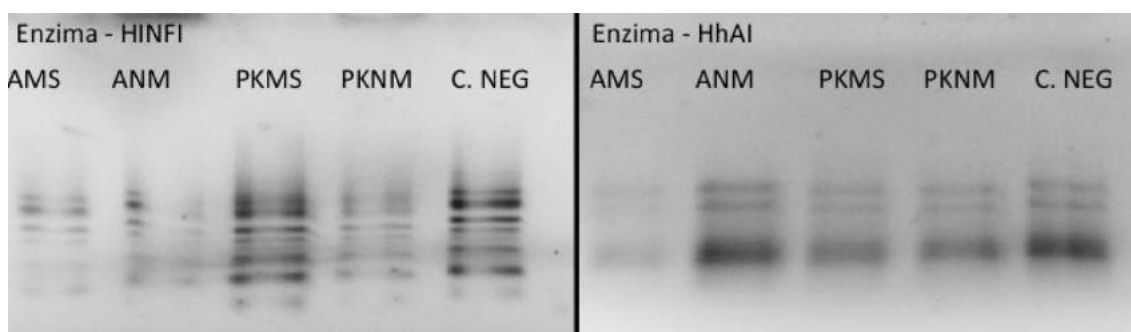
**Figura 2.** Resultados das análises de Concentração inibitória mínima realizada com bactérias extraídas do solo após 48h.

O teste de Resazurin é extremamente rápido e simples, porém existe a necessidade de adaptações, pois no teste em questão temos um *pool* de bactérias, que metabolizam de forma e tempos diferentes, logo temos que ter consciência de que dentro deste *pool* podem existir bactérias que são sensíveis as nanofibras, porém como estão juntas com outras bactérias, o metabolismo das demais pode acabar por interferir no resultado final, mostrando uma metabolização total do Resazurin realizada pelas bactéria que permaneceram vivas após tratamento. Logo lembramos que estes são as primeiras avaliações realizadas, sendo necessário novas avaliações ou avaliações complementares.

### 3.3 Resultados da Análise Molecular

A ideia principal do teste ARDRA foi comparar os resultados obtidos com o controle negativo. As enzimas de restrição utilizadas sub-fragmentam os fragmentos da PCR indicando locais que possam estar mutado. Os resultados mostram não haver diferenças visíveis entre os tratamentos e o controle negativo (Figura 3). Para estas análises os solos ficaram em exposição por 30 dias. As análises devem continuar sendo realizadas novas coletas a cada 60 dias pelo período de 1 ano.





**Figura 3.** Resultados do teste ARDRA (HinfI e HhaI) em solos tratados por um período de 30 dias.

O uso de enzima de restrição da técnica de ARDRA permite que esta seja aplicada a amostras com alta diversidade de espécies, como é o caso de amostras de solo. Em geral espera-se menos bandas em comunidades menos abundantes e diferentes bandas em diferentes comunidades, sendo um teste utilizado para detecção de modificações estruturais em comunidades microbianas (TIEDJE et al., 1999; KIRK et al., 2004).

#### 4 CONCLUSÃO

Os resultados iniciais mostram a não ocorrência de alteração na microbiota de solos expostos a nanofibras de celulose utilizadas neste estudo. Porém trata-se de um estudo inicial sendo necessários ajustes de protocolos e análises complementares, como por exemplo a quantificação das diferentes espécies da microbiota.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a EMBRAPA, Rede Agronano, Capes, Fapesp e Cnpq pelo auxílio financeiro ao trabalho realizado.

#### REFERÊNCIAS

- ERONEN, P; ÖSTERBERG, M; HEIKKINEN, S; TENKANEN, M; LAINE, J. Interactions of structurally different hemicelluloses with nanofibrillar cellulose. *Carbohydrate Polymers*, p. 1281-1290, jun. 2011.
- FAHNING, B; LOBÃO, E. Nanotecnologia aplicada a fármacos. 2011. Disponível em: <<http://www.cato-lica-es.edu.br/fotos/files/06.pdf>>. Acesso em: 22 jun 2014.
- FERNANDES, S; FREIRE, C; SILVESTRE, A; NETO, C; GANDINI, A; BERGLUND, L; SALMÉN, L. Transparent chitosan films reinforced with a high content of nanofibrillated. *Carbohydrate Polymers*, p. 394-401, fev. 2010.
- HOLETZ, F.B.; PESSINI, G.L.; SANCHES, N.R.; CORTEZ, D.A. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 97, n. 7, p. 1027-31, 2002.
- JUNG, J; YEOM, J.; HAN, J.; KIM, J.; PARK, W. Seasonal Changes in Nitrogen-Cycle Gene Abundances and in Bacterial Communities in Acidic Forest Soils. *The Journal of Microbiology*. Vol. 50, No. 3, pp. 365–373, 2012.
- Máquina de algodão-doce *high-tech* leva nanofibras para a indústria, 2010. Disponível em: BENHAMOU, K; DUFRESNE, A; MAGNIN, A; MORTHA, G; KADDAMI, H. Control of size and viscoelastic properties of nanofibrillated cellulose From palm tree by varying the TEMPO-mediated oxidation time. *Carbohydrate Polymers*, p. 74-83, ago. 2013

## ECOTOXICIDADE AQUÁTICA DE MICRO E NANOPARTÍCULAS DE TITANATO DE BÁRIO EM *ANABAENA FLOS-AQUAE*

\*Hudson C. Polonini<sup>1</sup>, Roberta Brayner<sup>2</sup>, Nádia R. B. Raposo<sup>1</sup>, Claude Yéprémian<sup>3</sup>, Alain Couté<sup>3</sup>, João B. Ribeiro<sup>4</sup>, Juliana C. Gern<sup>4</sup>, Alessandro S. Guimarães<sup>4</sup>, Humberto M. Brandão<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Núcleo de Pesquisa e Inovação em Ciências da Saúde (NUPICS), Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora. <sup>2</sup>Interfaces, Traitements, Organisation et Dynamique des Systèmes, ITODYS, Université Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, France. <sup>3</sup>Muséum National d'Histoire Naturelle, Département RDDM, USM 505, Paris, France. <sup>4</sup>Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora.

\*h.c.polonini@gmail.com

**Classificação:** Estudo dos aspectos de segurança em nanotecnologia.

### Resumo

Duas partículas de titanato de bário (BT), da ordem micrométrica (~170 nm) e nanométrica (~60 nm), foram avaliadas quanto ao seu impacto em ambientes aquáticos utilizando a cianobactéria *Anabaena flos-aquae* como organismo-modelo. BT tem um efeito tóxico muito baixo no crescimento de *A. flos-aquae*, porém ambas partículas afetam a viabilidade celular desde a menor concentração testada, o que ocorre por efeito indireto das mesmas no estresse oxidativo das células. BT foi capaz de estressar todos os organismos-teste, o que foi evidenciado pelo aumento na atividade da superóxido dismutase, pela diminuição da eficiência fotossintética e pela diminuição dos níveis intracelulares de ATP. O tamanho de BT parece não influenciar os efeitos produzidos sobre o crescimento dos microrganismos – embora a inibição do crescimento tenha sido pronunciada com o nanomaterial.

**Palavras-chave:** Nanoecotoxicologia aquática; Titanato de bário; *Anabaena flos-aquae*.

### AQUATICAL TOXICITY OF BARIUM TITANATE MICRO- AND NANOPARTICLES TO *ANABAENA FLOS-AQUAE*

#### Abstract

Two particles of barium titanate (BT), micro- (~170 nm) and nanosized (~60 nm), were evaluated for their impact on aquatic environments using *Anabaena flos-aquae* as model-organism. BT has a very low toxic effect on the growth of *A. flos-aquae*, but both particles affect cell viability since the lowest concentration tested, which occurs by indirect effect on the cells. BT was able to stress all test-organisms, which was evidenced by the increase in superoxide dismutase activity, decreased photosynthetic efficiency and the decreased intracellular ATP levels. The size of BT did not influence the effects on the growth of microorganisms - although growth inhibition has been more pronounced with the nanomaterial.

**Keywords:** Aquatic nanoecotoxicology; Barium titanate; *Anabaena flos-aquae*.

#### Publicações relacionadas

POLONINI, H. C. *et al.* Ecotoxicological studies of micro-and nanosized barium titanate on aquatic photosynthetic microorganisms. *Aquatic Toxicology*, v. 154, p. 58-70, 2014.

## 1 INTRODUÇÃO

O acelerado desenvolvimento e disseminação dos nanomateriais podem colocá-los em contato com organismos vivos em situações ainda não compreendidas plenamente. Pesquisas recentes indicam que nanomateriais possuem diferentes perfis de toxicidade quando comparados a grandes partículas, devido ao seu pequeno tamanho e alta reatividade (BRAYNER *et al.*, 2010).

O titanato de bário (BaTiO<sub>3</sub>, BT) é um material semicondutor/ferroelétrico que ainda é a base para a preparação de condensadores cerâmicos multi-camada e de termoresistores com coeficiente de temperatura positivo de resistividade (HENNINGSS *et al.*, 2001), detectores de infravermelho (LI *et al.*, 2013), dispositivos piezoelétricos (PARK *et al.*, 1999), sensores de umidade (WANG *et al.*, 2011) etc.

Porém, além de não haver na literatura dados de biocompatibilidade em longo prazo deste material, nenhum estudo do impacto ambiental de nanopartículas de BT foi encontrado. Neste contexto,

a hipótese do presente trabalho é a de que partículas de diferentes tamanhos de BT possuem diferentes perfis toxicológicos para organismos aquáticos, o que também é influenciado pelo meio onde os mesmos são cultivados. Assim sendo, o objetivo geral foi avaliar pela primeira vez o perfil ecotoxicológico de BT para a cianobactéria *Anabaena flos-aquae*, avaliando a resposta em função do tamanho de partícula, determinando se o tamanho de partícula é um parâmetro que influencia a toxicidade de BT.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

*A. flos aquae* (cianobactéria planctônica procariótica, multi-celular, cepa ALCP B24) foi proveniente da algoteca do *Muséum National d'Histoire Naturelle*. Suspensões-estoque contendo  $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$  dos pós (o chamado “nano” possui 60 nm de diâmetro e o “micro” 170 nm) foram adicionadas às algas crescidas em meio Bold's Basal (BB) em concentrações finais de 1, 25, 50, 75 e  $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ .

A resposta tóxica foi avaliada por meio da contagem de células às 24, 48, 72 e 96 h após a adição dos materiais. A contagem das células foi feita através de microscopia de campo luminoso, utilizando o Auto Cellometer X4 (Nexcelom, EUA). Foi avaliada simultaneamente a porcentagem de viabilidade celular utilizando o método de exclusão do azul de tripano.

As interações entre os organismos e os materiais na concentração de  $100 \mu\text{g mL}^{-1}$  e após 72 h de exposição foram observadas usando MEV e MET.

A enzima superóxido dismutase (SOD) foi quantificada nos controles e tratamentos (1, 50 e  $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ , em 24, 48, 72 e 96 h de exposição). Para liberação da SOD intra-celular, as células foram lisadas com o auxílio de esferas de sílica através de agitação mecânica vigorosa em vórtice e posterior centrifugação por 15 min a  $2000 \times g$  (Sorvall Lynx 6000, Thermo Scientific, EUA). Para a quantificação, utilizou-se um kit de ensaio de SOD-WST 19160 (Sigma-Aldrich, Alemanha). Os controles e os tratamentos, depois de serem incubados a  $37^\circ\text{C}$  durante 20 min, foram lidos a 450 nm utilizando um leitor de placas Envision Multilabel (Perkin-Elmer, EUA).

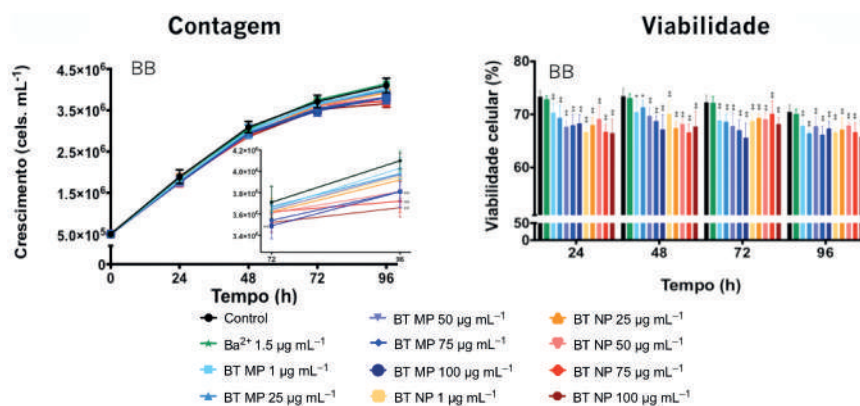
A atividade fotossintética dos controles e tratamentos (1, 50 e  $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ , a 24, 48, 72 e 96 h de exposição) foram determinados através de fluorimetria de amplitude de pulso modulado (PAM) utilizando fluorímetro PEA Handy (Hansatech, Reino Unido).

Níveis intracelulares de adenosina-5-trifosfato nos controles e tratamentos (1, 50 e  $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ , em 24, 48, 72 e 96 h de exposição) foram quantificados através de kit ATP Bioluminescent Assay (Sigma-Aldrich, Alemanha). A lise das células foi conseguida mecanicamente num vórtice usando esferas de vidro seguido de centrifugação por 15 min a  $2000 \times g$  (Sorvall Lynx 6000, Thermo Scientific, EUA), a fim de obter o ATP livre no sobrenadante. A concentração de ATP foi determinada utilizando-se uma curva analítica com concentrações conhecidas de ATP na faixa de  $2 \times 10^{-5} - 200 \mu\text{M}$ .

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 mostra a taxa de crescimento de *A. flos-aquae* como uma função do tempo de exposição às partículas de BT. Apesar da relativamente breve duração do teste, os efeitos ao longo de várias gerações podem ser avaliados por causa da taxa de divisão que as algas possuem. Os efeitos tóxicos foram significativos apenas após 72 h de exposição, e somente para as maiores concentrações dos materiais (após 96h  $\geq 75 \mu\text{g mL}^{-1}$  para BT NP e  $= 100 \mu\text{g mL}^{-1}$  para BT MP, em BB; e  $\geq 75 \mu\text{g mL}^{-1}$  para ambos os materiais em ARS).

Quanto ao ensaio realizado para avaliar a viabilidade dos organismos, *A. flos-aquae* mostrou resultados discrepantes. Enquanto nenhuma inibição significativa do crescimento foi observada, a viabilidade da sua membrana mostrou-se diminuída em todas as concentrações, em ambas substâncias, desde o primeiro dia.



**Figura 1.** Contagem celular (esquerda) e viabilidade celular (direita) de *A. flos-aquae* em função da concentração e do tempo de exposição a partículas de titanato de bário.

As imagens de MEV mostraram que, para *A. flos-aquae* exposta a partículas de BT por 72 h em uma concentração de 100 µg mL<sup>-1</sup>, não houveram alterações morfológicas das células com os tratamentos. Agregados de células e de partículas foram observados. O principal aspecto a ser destacado é: as partículas foram encontradas em torno da parede celular composta por polissacarídeos, e as imagens de MET confirmam que as mesmas não penetram as células.

O efeito que as partículas causaram no estresse oxidativo foi também avaliado. A atividade da SOD foi encontrada aumentada em *A. flos-aquae* crescida em BB quando exposta a BT MP a 100 µg mL<sup>-1</sup> e BT NP em todas as concentrações testadas, após 72 h.

O aumento da produção de EROs também é conhecida por afetar a fotossíntese. Em *A. flos-aquae*, tratamentos diferiram de seus controles em relação à capacidade fotossintética em meio BB desde a primeira hora de avaliação, para ambas as partículas.

Juntamente com a atividade da SOD, uma outra medição da atividade mitocondrial das células é o teor de ATP intracelular. As mitocôndrias estão diretamente relacionadas com a viabilidade celular, uma vez que são responsáveis não só pela produção de ATP, mas também pela geração de EROs e pela liberação de proteínas que controlam a apoptose (PEREIRA *et al.*, 2014). Em *A. flos-aquae*, o teor de ATP começou a diminuir após 48 h de exposição – isto ocorreu inicialmente nas concentrações mais elevadas, mas após 72 h todas as concentrações exerceram algum efeito

#### 4 CONCLUSÃO

Diante do exposto, as principais conclusões que se pode depreender deste estudo foram: (i) BT tem um efeito tóxico muito baixo no crescimento de *A. flos-aquae*, porém ambas partículas afetam a viabilidade celular desde a menor concentração testada, o que ocorre por efeito indireto das mesmas no estresse oxidativo das células; (ii) BT foi capaz de estressar os organismos-teste, o que foi evidenciado pelo aumento na atividade da SOD, pela diminuição da eficiência fotossintética e pela diminuição dos níveis intracelulares de ATP; e (iii) o tamanho de BT parece não influenciar os efeitos produzidos sobre o crescimento dos micro-organismos – embora a inibição do crescimento tenha sido pronunciada com o nanomaterial.

#### AGRADECIMENTOS

H. Polonini agradece CAPES (04/CII-2008-Projeto 7, Rede Brasil Nanobiotec) e Programa Ciência sem Fronteiras/CNPq (245781/2012-9) pelas bolsas de estudo concedidas. Todos os autores agradecem ao Institut Jacques Monod; prof. Dr. Marcone A. L. de Oliveira; Sophie Nowak; Jean-Yves Piquemal; e Philippe Decorse.

#### REFERÊNCIAS

BRAYNER, R. *et al.* ZnO nanoparticles: synthesis, characterization, and ecotoxicological studies. *Langmuir*, v. 26, n. 9, p. 6522-6528, 2010.

HENNINGS, D. F. K.; METZMACHER, C.; SCHREINEMACHER, B. Seriyati. Defect chemistry and microstructure of hydrothermal barium titanate. *Journal of the American Ceramic Society*, v. 84, n. 1, p. 179-182, 2001.

PARK, S. *et al.* Crystallographically engineered BaTiO<sub>3</sub> single crystals for high-performance piezoelectrics. *Journal of applied physics*, v. 86, n. 5, p. 2746-2750, 1999.

PEREIRA, M. M. Ecotoxicological effects of carbon nanotubes and cotton cellulose nanofibers in the green microalga *Chlorella vulgaris*. *Journal of Nanobiotechnology*, v. 12, n. 1, p. 15.

WANG, L. *et al.* DC humidity sensing properties of BaTiO<sub>3</sub> nanofiber sensors with different electrode materials. *Sensors and Actuators B: Chemical*, v. 153, n. 2, p. 460-464, 2011.

---

## ECOTOXICIDADE AQUÁTICA EM *CHLORELLA VULGARIS* DE MICRO E NANOPARTÍCULAS DE TITANATO DE BÁRIO

\*Hudson C. Polonini<sup>1</sup>, Roberta Brayner<sup>2</sup>, Nádia R. B. Raposo<sup>1</sup>, Ludovic Mouton<sup>2</sup>, Claude Yéprémian<sup>3</sup>, Alain Couté<sup>3</sup>, Guilherme Nunes de Souza<sup>4</sup>, Juliana Carine Gern<sup>4</sup>, Humberto M. Brandão<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Núcleo de Pesquisa e Inovação em Ciências da Saúde, NUPICS, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora. <sup>2</sup>Interfaces, Traitements, Organisation et Dynamique des Systèmes, ITODYS, Université Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, France. <sup>3</sup>Muséum National d'Histoire Naturelle, Département RDDM, USM 505, Paris, France. <sup>4</sup>Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora.

\*h.c.polonini@gmail.com

**Classificação:** Estudo dos aspectos de segurança em nanotecnologia.

### Resumo

Duas partículas de titanato de bário (BT), da ordem micrométrica (~170 nm) e nanométrica (~60 nm), foram avaliadas quanto ao seu impacto em ambientes aquáticos utilizando a alga verde *Chlorella vulgaris* como organismo-modelo. BT tem um efeito tóxico estatisticamente significativo no crescimento e na viabilidade celular de *C. vulgaris* desde 1 ppm, o que parece ser mediado por um estresse oxidativo induzido pelas próprias partículas ou pelos íons Ba<sup>2+</sup> liberados no meio de cultura. BT foi capaz de estressar todos os organismos-teste, o que foi evidenciado pelo aumento na atividade da superóxido dismutase, pela diminuição da eficiência fotossintética e pela diminuição dos níveis intracelulares de ATP. O tamanho de BT parece não influenciar os efeitos produzidos sobre o crescimento dos microrganismos – embora a inibição do crescimento tenha sido pronunciada com o nanomaterial.

**Palavras-chave:** Nanoecotoxicologia aquática; Titanato de bário; *Chlorella vulgaris*.

### AQUATICAL TOXICITY OF BARIUM TITANATE MICRO- AND NANOPARTICLES TO *CHLORELLA VULGARIS*

#### Abstract

Two particles of barium titanate (BT), micro- (~170 nm) and nanosized (~60 nm), were evaluated for their impact on aquatic environments using *Chlorella vulgaris* as model-organism. BT has a statistically significant toxic effect on cell growth and viability of *C. vulgaris*, from 1 ppm, which appears to be mediated by oxidative stress induced by the particles themselves or by Ba<sup>2+</sup> ions released into the culture medium. BT was able to stress all test-organisms, which was evidenced by the increase in superoxide dismutase activity, decreased photosynthetic efficiency and the decreased intracellular ATP levels. The size of BT did not influence the effects on the growth of microorganisms - although growth inhibition has been more pronounced with the nanomaterial.

**Keywords:** Aquatic nanoecotoxicology; Barium titanate; *Chlorella vulgaris*.

### Publicações relacionadas

POLONINI, H. C. *et al.* Size-dependent ecotoxicity of barium titanate particles: the case of *Chlorella vulgaris* green algae. *Chemosphere*. No prelo.

## 1 INTRODUÇÃO

O titanato de bário ( $\text{BaTiO}_3$ , BT) é um óxido branco do tipo perovskita tradicionalmente conhecido por ser um material semicondutor/ferroelétrico com notável constante dielétrica e, portanto, alta empregabilidade no campo da eletrocerâmica (SU *et al.*, 2013).

Não obstante, a introdução efetiva de BT em nanoescala na indústria e nas rotinas de laboratório trouxe novas aplicações em medicina para tal material. Ciofani e colaboradores descreveram sua utilização como nanocarreador intracelular para proteínas e fármacos de baixo peso molecular, tais como doxorrubicina (CIOFANI *et al.*, 2010). Ainda em 2010, a segunda aplicação do nanosistemas de BT focou na bioconjugação de nanocristais de BT com anticorpos imunoglobulina G (IgG) para sondas de imagem (HSIEH *et al.*, 2010). Mais recentemente, Ball e colaboradores (2014) investigaram o potencial de BT em medicina regenerativa. Espumas com porosidade entre 50 e 70%, com tamanho médio de partícula igual a 30 nm de diâmetro foram sintetizadas e avaliadas para aplicações ortopédicas.

Porém, além de não haver na literatura dados de biocompatibilidade em longo prazo, nenhum estudo do impacto ambiental de nanopartículas de BT foi encontrado. Neste contexto, a hipótese do presente trabalho é a de que partículas de diferentes tamanhos de BT possuem diferentes perfis toxicológicos para organismos aquáticos, o que também é influenciado pelo meio onde os mesmos são cultivados. Assim sendo, o objetivo geral foi avaliar pela primeira vez o perfil ecotoxicológico de BT para a alga verde *Chlorella vulgaris*, avaliando a resposta em função do tamanho de partícula, determinando se o tamanho de partícula é um parâmetro que influencia a toxicidade de BT.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

*C. vulgaris* (alga verde planctônica eucariota, uni-celular) foi proveniente da algoteca do *Muséum National d'Histoire Naturelle*. Suspensões-estoque contendo  $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$  dos pós (o chamado “nano” possui 60 nm de diâmetro e o “micro” 170 nm) foram adicionadas às algas crescidas em meio Bold's Basal (BB) em concentrações finais de 1, 25, 50, 75 e  $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ .

A resposta tóxica foi avaliada por meio da contagem de células às 24, 48, 72 e 96 h após a adição dos materiais. A contagem das células foi feita através de microscopia de campo luminoso, utilizando o Auto Cellometer X4 (Nexcelom, EUA). Foi avaliada simultaneamente a porcentagem de viabilidade celular utilizando o método de exclusão do azul de tripano.

As interações entre os organismos e os materiais na concentração de  $100 \mu\text{g mL}^{-1}$  e após 72 h de exposição foram observadas usando MEV e MET.

A enzima superóxido dismutase (SOD) foi quantificada nos controles e tratamentos (1, 50 e  $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ , em 24, 48, 72 e 96 h de exposição). Para liberação da SOD intra-celular, as células foram lisadas com o auxílio de esferas de sílica através de agitação mecânica vigorosa em vórtice e posterior centrifugação por 15 min a  $2000 \times g$  (Sorvall Lynx 6000, Thermo Scientific, EUA). Para a quantificação, foi utilizado um kit de ensaio de SOD-WST 19160 (Sigma-Aldrich, Alemanha). Os controles e os tratamentos, depois de serem incubados a  $37^\circ\text{C}$  durante 20 min, foram lidos a 450 nm utilizando um leitor de placas Envision Multilabel (Perkin-Elmer, EUA).

A atividade fotossintética dos controles e tratamentos (1, 50 e  $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ , a 24, 48, 72 e 96 h de exposição) foram determinados através de fluorimetria de amplitude de pulso modulado (PAM) utilizando fluorímetro PEA Handy (Hansatech, Reino Unido).

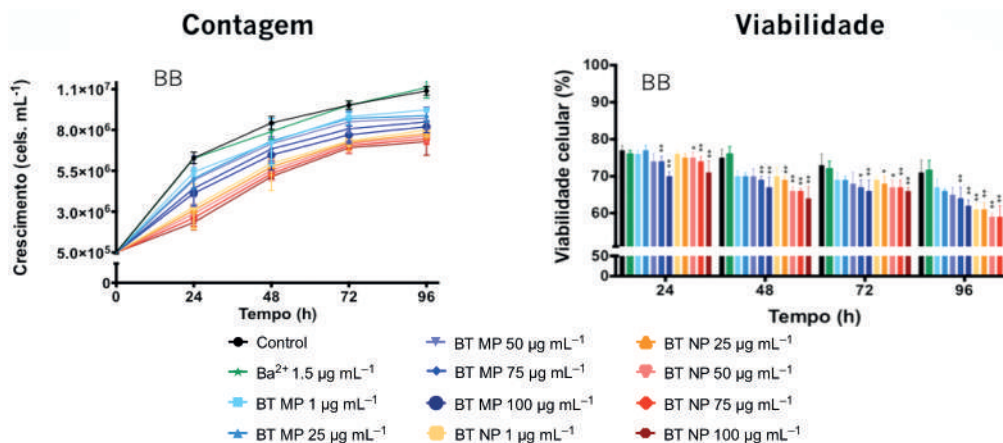
Níveis intracelulares de adenosina-5-trifosfato nos controles e tratamentos (1, 50 e  $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ , em 24, 48, 72 e 96 h de exposição) foram quantificados através de kit ATP Bioluminescent Assay (Sigma-Aldrich, Alemanha). A lise das células foi conseguida mecanicamente num vórtice usando esferas de vidro seguido de centrifugação por 15 min a  $2000 \times g$  (Sorvall Lynx 6000, Thermo Scientific, EUA), a fim de obter o ATP livre no sobrenadante. A concentração de ATP foi determinada através de uma curva analítica com concentrações conhecidas de ATP na faixa de  $2 \times 10^{-5} - 200 \mu\text{M}$ .

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 mostra a taxa de crescimento de *C. vulgaris* como uma função do tempo de exposição às partículas de BT. Apesar da relativamente breve duração do teste, os efeitos ao longo de várias gerações podem ser avaliados por causa da taxa de divisão que as algas possuem. Como a resposta do sistema é a redução do crescimento das células expostas, pode ser inferido que tanto BT MP e BT NP foram tóxicos para *C. vulgaris* em BB, em todas as concentrações testadas ( $p < 0,05$ ), embora pareça

que este efeito aumenta com a concentração. No entanto, este efeito foi observado desde o primeiro determinação de contagem de células (24 h).

Quanto ao ensaio realizado para avaliar a viabilidade dos organismos, foi observado que *C. vulgaris* exposta a BT apresentou uma diminuição da capacidade de excluir corante, embora as menores concentrações de BT MP ( $1\text{-}50\ \mu\text{g mL}^{-1}$ ) parecem não afetar a integridade da membrana, independentemente do tempo de exposição, enquanto BT NP afetou este parâmetro em todas as concentrações.



**Figura 1.** Contagem celular (esquerda) e viabilidade celular (direita) de *C. vulgaris* em função da concentração e do tempo de exposição a partículas de titanato de bário.

Pôde ser observado por Microscopia Eletrônica de Varredura que não há nenhuma partícula de BT MP ou BT NP adsorvido pelas membranas de algas, e pelas análises de Microscopia Eletrônica de Transmissão que não há nenhuma partícula detectável no interior de vesículas celulares. Ao contrário, o que pode ser observado é a formação de agregados de partículas grandes e compactos dentro das culturas, circundando as células, mas sem contato direto. As imagens mostraram que as células expostas produziram um material de tipo goma, que não foi observado nos controles. Estudos anteriores já detectaram este fenômeno, relacionado com a capacidade das células de *C. vulgaris* de produzir um polímero de alto peso molecular composto de moléculas de açúcar conhecido como exopolissacarídeo (EPS) como uma forma de proteção adaptativa. Este EPS não só impediu o contato direto das partículas com as células, mas também propiciou a formação de agregados de partículas inertes cercando as algas, o que impediu a internalização de partículas.

O efeito que as partículas causaram no estresse oxidativo foi também avaliado. Quando se olha para a taxa de inibição da atividade da SOD em *C. vulgaris*, pode ser visto que não diferiram dos controles em meio BB. Após 48 h, houve um ligeiro aumento na atividade, mas nenhuma das concentrações testadas foram estatisticamente superiores ao respectivo controle. A atividade aumentada de SOD pode ser um reflexo de uma maior exposição/produção de EROs que, por sua vez, está associada com a ativação da apoptose das células através da mitocôndria (CHENG *et al.*, 2011). Neste sentido, a mortalidade mais elevada observada em ARS pode estar ligada ao aumento da atividade da SOD – ou seja, a toxicidade pode ter ocorrido por meio de exposição a EROs gerado pelo BT. À medida em que as partículas conduziram à formação de grandes agregados de partículas em torno das algas, pode ser esperado que este causou uma diminuição na disponibilidade de nutrientes necessários para o crescimento de algas, porque o seu transporte pela membrana celular foi perturbado – e mesmo a disponibilidade de luz poderia ser ameaçada por estes grandes agregados metálicos – o que, em certa medida, poderia ter submetido as células ao estresse, levando ao aumento na produção de EROs (XIN *et al.*, 2010).

O aumento da produção de EROs também é conhecida por afetar a fotossíntese. De fato, a atividade fotossintética de *C. vulgaris* foi reduzida, porém somente após 96 h, para BT NP. Ainda, o teor de ATP foi encontrado diminuído após 48 h de exposição à concentração mais elevada de BT MP ( $> 100\ \mu\text{g mL}^{-1}$ , e após 72 h em todas as concentrações) e todas as concentrações de BT NP.

#### 4 CONCLUSÃO

Diante do exposto, as principais conclusões que se pode depreender deste estudo foram: (i) BT tem um efeito tóxico estatisticamente significativo no crescimento e na viabilidade celular de *C. vulgaris* desde a menor concentração testada (1 ppm), o que parece ser mediado por um estresse oxidativo

induzido pelas próprias partículas ou pelos íons  $Ba^{2+}$  liberados no meio de cultura; (ii) BT foi capaz de estressar os organismos-teste, o que foi evidenciado pelo aumento na atividade da SOD, pela diminuição da eficiência fotossintética e pela diminuição dos níveis intracelulares de ATP; e (iii) o tamanho de BT parece não influenciar os efeitos produzidos sobre o crescimento dos micro-organismos – embora a inibição do crescimento tenha sido pronunciada com o nanomaterial.

## AGRADECIMENTOS

H. Polonini agradece CAPES (04/CII-2008-Projeto 7, Rede Brasil Nanobiotec) e Programa Ciência sem Fronteiras/CNPq (245781/2012-9) pelas bolsas de estudo concedidas. Todos os autores agradecem ao Institut Jacques Monod; prof. Dr. Marcone A. L. de Oliveira; Sophie Nowak; Jean-Yves Piquemal; e Philippe Decorse.

## REFERÊNCIAS

- BALL, J. P. *et al.* Biocompatible evaluation of barium titanate foamed ceramic structures for orthopedic applications. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, v. 102, n. 7, p. 2089-1095, 2014.
- CHENG, W. *et al.* Single-walled carbon nanotube induction of rat aortic endothelial cell apoptosis: reactive oxygen species are involved in the mitochondrial pathway. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, v. 43, n. 4, p. 564-572, 2011.
- CIOFANI, G. *et al.* Barium titanate nanoparticles: highly cytocompatible dispersions in glycol-chitosan and doxorubicin complexes for cancer therapy. *Nanoscale Research Letters*, v. 5, n. 7, p. 1093-1101, 2010.
- HSIEH, C. *et al.* Bioconjugation of barium titanate nanocrystals with immunoglobulin G antibody for second harmonic radiation imaging probes. *Biomaterials*, v. 31, n. 8, p. 2272-2277, 2010.
- PEREIRA, M. M. Ecotoxicological effects of carbon nanotubes and cotton cellulose nanofibers in the green microalga *Chlorella vulgaris*. *Journal of Nanobiotechnology*, v. 12, n. 1, p. 15.
- SU, C. Y. *et al.* Grain growth and crystallinity of ultrafine barium titanate particles prepared by various routes. *Ceramics International*, v. 39, n. 6, p. 6673-6680, 2013.
- XIN, L. *et al.* Effects of different nitrogen and phosphorus concentrations on the growth, nutrient uptake, and lipid accumulation of a freshwater microalga *Scenedesmus* sp. *Bioresource Technology*, v. 101, n. 14, p. 5494-5500, 2010.

---

## ECOTOXICIDADE AQUÁTICA DE MICRO E NANOPARTÍCULAS DE TITANATO DE BÁRIO EM *EUGLENA GRACILIS*

\*Hudson C. Polonini<sup>1</sup>, Roberta Brayner<sup>2</sup>, Nádia R. B. Raposo<sup>1</sup>, Claude Yéprémian<sup>3</sup>, Alain Couté<sup>3</sup>, Juliana C. Gern<sup>4</sup>, Nívea M. Vicentini<sup>4</sup>, Humberto M. Brandão<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Núcleo de Pesquisa e Inovação em Ciências da Saúde, NUPICS, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora. <sup>2</sup>Interfaces, Traitements, Organisation et Dynamique des Systèmes, ITODYS, Université Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, France. <sup>3</sup>Muséum National d'Histoire Naturelle, Département RDDM, USM 505, Paris, France. <sup>4</sup>Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Gado de Leite), Juiz de Fora.

\*h.c.polonini@gmail.com

**Classificação:** Estudo dos aspectos de segurança em nanotecnologia.

### Resumo

Duas partículas de titanato de bário (BT), da ordem micrométrica (~170 nm) e nanométrica (~60 nm),



foram avaliadas quanto ao seu impacto em ambientes aquáticos utilizando a euglenófito *Euglena gracilis* como organismo-modelo. BT apresentou um efeito tóxico estatisticamente significativo ( $p < 0,05$ ) no crescimento e na viabilidade celular de *E. gracilis* desde 1 ppm, efeito relacionado à endocitose das partículas numa quantidade tal que levou a uma ruptura de suas membranas. BT foi capaz de estressar os organismos-teste, o que foi evidenciado pelo aumento na atividade da superóxido dismutase, pela diminuição da eficiência fotossintética e pela diminuição dos níveis intracelulares de ATP. O tamanho de BT parece não influenciar os efeitos produzidos sobre o crescimento dos microrganismos – embora a inibição do crescimento tenha sido pronunciada com o nanomaterial.

**Palavras-chave:** Nanoecotoxicologia aquática; Titanato de bário; *Euglena gracilis*.

## AQUATIC TOXICITY OF BARIUM TITANATE MICRO- AND NANOPARTICLES TO *EUGLENA GRACILIS*

### Abstract

Two particles of barium titanate (BT), micro- (~170 nm) and nanosized (~60 nm), were evaluated for their impact on aquatic environments using *Euglena gracilis* as model-organism. BT has a statistically significant toxic effect on cell growth and viability of *E. gracilis*, from 1 ppm, related to the effect of endocytosed particles in such an amount that a rupture of their membranes was caused. BT was able to stress all test-organisms, which was evidenced by the increase in superoxide dismutase activity, decreased photosynthetic efficiency and the decreased intracellular ATP levels. The size of BT did not influence the effects on the growth of microorganisms - although growth inhibition has been more pronounced with the nanomaterial.

**Keywords:** Aquatic nanoecotoxicology; Barium titanate; *Euglena gracilis*.

### Publicações relacionadas

POLONINI, H. C. *et al.* Ecotoxicological studies of micro-and nanosized barium titanate on aquatic photosynthetic microorganisms. *Aquatic Toxicology*, v. 154, p. 58-70, 2014.

## 1 INTRODUÇÃO

A exposição de nanomateriais em diferentes compartimentos ambientais (água, solo e ar) pode resultar na sua maior biodisponibilidade e acúmulo ao longo das cadeias alimentares. Neste contexto, a ecotoxicologia é uma ciência cujo cerne é estudar os contaminantes e seus efeitos sobre componentes da biosfera, incluindo seres humanos (NEWMAN; ZHAO, 2008).

Para tanto, os testes de toxicidade aquática são bastante utilizados porque tais ecossistemas constituem os principais receptáculos de contaminantes, quer sejam eles advindos de lançamento direto nos corpos d'água, através de descargas de efluentes, ou emitidos no ar ou depositados nos solos (KENDALL *et al.*, 2001). É recomendável que o efeito tóxico de uma amostra seja avaliado para diferentes espécies representativas da biota aquática, e neste estudo euglenófitas (*Euglena gracilis*).

As euglenófitas *E. gracilis* apresentam uma plasticidade metabólica notável, uma vez que podem comportar-se tanto como autotróficas e fotossintéticas (quando cultivadas na presença de luz, apresentando-se macroscopicamente na cor verde) quanto como heterotróficas (quando cultivadas no escuro, sendo neste caso incolor) (EINICKER-LAMAS *et al.*, 2002). No presente estudo, as culturas foram moduladas para terem um comportamento autotrófico. Além disso, elas possuem a capacidade de endocitar partículas e de se mover por meio de um flagelo, uma estrutura longa em forma de chicote (BRAYNER *et al.*, 2011).

O presente estudo focou nos estudos de ecotoxicidade de titanato de bário (BT), um material que em nanoescala tem sido utilizado como nanocarreador intracelular para proteínas e fármacos de baixo peso molecular, tais como doxorubicina (CIOFANI *et al.*, 2010), como material para sondas de imagem (HSIEH *et al.*, 2010) e como material de enxerto ósseo (BALL *et al.*, 2014). Assim sendo, o objetivo geral foi avaliar pela primeira vez o perfil ecotoxicológico de BT para a euglenófito *E. gracilis*, avaliando a resposta em função do tamanho de partícula, determinando se o tamanho de partícula é um parâmetro que influencia a toxicidade de BT.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

*E. gracilis* (euglena eucariótica) foi proveniente da algoteca do *Muséum National d'Histoire Naturelle*. Suspensões-estoque contendo 1000 µg mL<sup>-1</sup> dos pós (o chamado “nano” possui 60 nm de

diâmetro e o “micro” 170 nm) foram adicionadas às algas crescidas em Meio Mineral (MM) em concentrações finais de 1, 25, 50, 75 e 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$ .

A resposta tóxica foi avaliada por meio da contagem de células às 24, 48, 72 e 96 h após a adição dos materiais. A contagem das células foi feita através de microscopia de campo luminoso, utilizando o Auto Cellometer X4 (Nexcelom, EUA). Foi avaliada simultaneamente a porcentagem de viabilidade celular utilizando o método de exclusão do azul de tripano.

As interações entre os organismos e os materiais na concentração de 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$  e após 72 h de exposição foram observadas usando MEV e MET.

A enzima superóxido dismutase (SOD) foi quantificada nos controles e tratamentos (1, 50 e 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , em 24, 48, 72 e 96 h de exposição). Para liberação da SOD intra-celular, as células foram lisadas com o auxílio de esferas de sílica através de agitação mecânica vigorosa em vórtice e posterior centrifugação por 15 min a  $2000 \times g$  (Sorvall Lynx 6000, Thermo Scientific, EUA). Para a quantificação, foi utilizado um kit de ensaio de SOD-WST 19160 (Sigma-Aldrich, Alemanha). Os controles e os tratamentos, depois de serem incubados a 37 °C durante 20 min, foram lidos a 450 nm utilizando um leitor de placas Envision Multilabel (Perkin-Elmer, EUA).

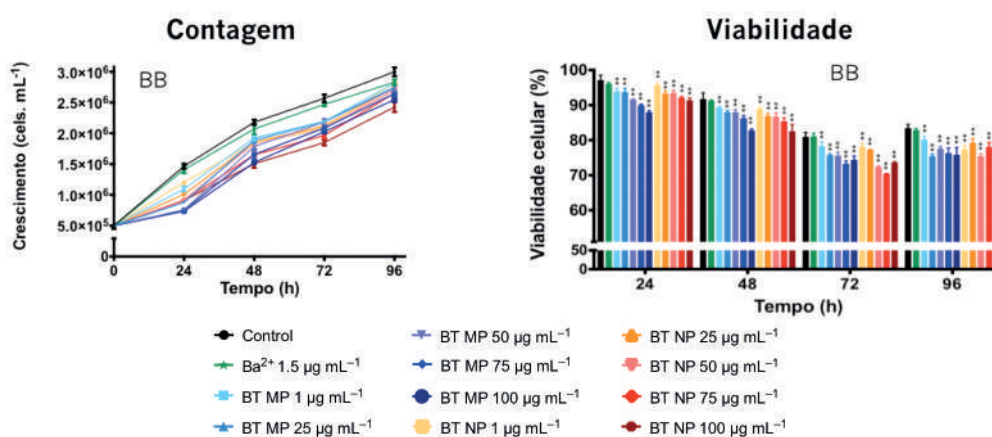
A atividade fotossintética dos controles e tratamentos (1, 50 e 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , a 24, 48, 72 e 96 h de exposição) foram determinados através de fluorometria de amplitude de pulso modulado (PAM) utilizando fluorímetro PEA Handy (Hansatech, Reino Unido).

Níveis intracelulares de adenosina-5-trifosfato nos controles e tratamentos (1, 50 e 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , em 24, 48, 72 e 96 h de exposição) foram quantificados através de kit ATP Bioluminescent Assay (Sigma-Aldrich, Alemanha). A lise das células foi conseguida mecanicamente num vórtice usando esferas de vidro seguido de centrifugação por 15 min a  $2000 \times g$  (Sorvall Lynx 6000, Thermo Scientific, EUA), a fim de obter o ATP livre no sobrenadante. A concentração de ATP foi determinada através de uma curva analítica com concentrações conhecidas de ATP na faixa de  $2 \times 10^{-5}$  – 200  $\mu\text{M}$ .

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 mostra a taxa de crescimento de *E. gracilis* como uma função do tempo de exposição às partículas de BT. Apesar da relativamente breve duração do teste, os efeitos ao longo de várias gerações podem ser avaliados por causa da taxa de divisão que as algas possuem. Um efeito muito pronunciado foi visto em *E. gracilis*, para a qual tanto BT MP quanto BT NP levaram a uma inibição significativa do crescimento ( $p < 0,05$ ) em todas as concentrações testadas e desde a primeira contagem de células, após 24 h de contato.

Quanto ao ensaio realizado para avaliar a viabilidade dos organismos, foi observado que *E. gracilis* exposta a BT apresentou uma diminuição da capacidade de excluir corante, ou seja, a diminuição na contagem foi acompanhada de diminuição na integridade membranar.



**Figura 1.** Contagem celular (esquerda) e viabilidade celular (direita) de *Euglena gracilis* em função da concentração e do tempo de exposição a partículas de titanato de bário.

Microscopicamente, as imagens de MEV do controle de *E. gracilis* mostram células alongadas bem definidas com seus flagelos em forma de chicote. Os tratamentos, no entanto, diferem sobremaneira. Pode ser visto que as células expostas a ambas partículas são menores, com uma forma de peão, e sem flagelo visível. Isso acontece provavelmente por causa da endocitose das partículas de BT e também de outras substâncias contidas nos meios de cultura. As células realizaram endocitose num tal grau que a

membrana não pôde resistir e efetivamente se rompeu. As imagens de MET, por sua vez, mostram duas características principais: as nanopartículas de fato internalizadas por endocitose e um relevante aumento da produção de corpos de paramilo, um carboidrato semelhante ao amido. Estes corpos paramilo podem ser visualizados como bastões rígidos incolores ou brancos, e quando eles atingem uma concentração demasiado elevada para a célula manusear, as paredes celulares acabam por explodir. Neste sentido, MEV e MET foram complementares, ambos confirmando que a alta endocitose das partículas conduziu a uma superprodução de paramilo, o que causou a explosão e, conseqüentemente, a morte das células.

O efeito que as partículas causaram no estresse oxidativo foi também avaliado. Ambas partículas em todas as concentrações, exceto BT MP em  $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ , exerceram algum efeito sobre a atividade da SOD.

O aumento da produção de EROs também é conhecida por afetar a fotossíntese. Para *E. gracilis*, o efeito (diminuição da atividade) foi observado a partir da primeira hora para ambas as partículas e em ambos os meios.

Juntamente com a atividade da SOD, uma outra medição da atividade mitocondrial das células é o teor de ATP intracelular. Para *E. gracilis*, os efeitos foram vistos desde o primeiro dia. A queda no teor de ATP pode refletir uma diminuição na atividade mitocondrial, e assim as partículas de BT levaram a distúrbios no metabolismo energético dos organismos. Para as células eucarióticas de *Euglena*, a elevada atividade de endocitótica também desempenhou um papel na diminuição de ATP, uma vez que o processo de endocitose utiliza energia a partir do ATP, (DUKHIN *et al.*, 2001).

#### 4 CONCLUSÃO

Diante do exposto, as principais conclusões que se pode depreender deste estudo foram: (i) BT tem um efeito tóxico estatisticamente significativo no crescimento e na viabilidade celular de *E. gracilis* desde a menor concentração testada (1 ppm), efeito relacionado à endocitose das partículas numa quantidade tal que levou a uma ruptura de suas membranas; (ii) BT foi capaz de estressar os organismos-teste, o que foi evidenciado pelo aumento na atividade da SOD, pela diminuição da eficiência fotossintética e pela diminuição dos níveis intracelulares de ATP; e (iii) o tamanho de BT parece não influenciar os efeitos produzidos sobre o crescimento dos micro-organismos – embora a inibição do crescimento tenha sido pronunciada com o nanomaterial.

#### AGRADECIMENTOS

H. Polonini agradece CAPES (04/CII-2008-Projeto 7, Rede Brasil Nanobiotec) e Programa Ciência sem Fronteiras/CNPq (245781/2012-9) pelas bolsas de estudo concedidas. Todos os autores agradecem ao Institut Jacques Monod; prof. Dr. Marcone A. L. de Oliveira; Sophie Nowak; Jean-Yves Piquemal; e Philippe Decorse.

#### REFERÊNCIAS

- BALL, J. P. *et al.* Biocompatible evaluation of barium titanate foamed ceramic structures for orthopedic applications. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, v. 102, n. 7, p. 2089-1095, 2014.
- BRAYNER, R. *et al.* Micro-algal biosensors. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v. 401, p. 581-597, 2011.
- CIOFANI, G. *et al.* Barium titanate nanoparticles: highly cytocompatible dispersions in glycol-chitosan and doxorubicin complexes for cancer therapy. *Nanoscale research letters*, v. 5, n. 7, p. 1093-1101, 2010.
- EINICKER-LAMAS, M. *et al.* *Euglena gracilis* as a model for the study of  $\text{Cu}^{2+}$  and  $\text{Zn}^{2+}$  toxicity and accumulation in eukaryotic cells. *Environmental Pollution*, v. 120, n. 3, p. 779-786, 2002.
- HSIEH, C. *et al.* Bioconjugation of barium titanate nanocrystals with immunoglobulin G antibody for second harmonic radiation imaging probes. *Biomaterials*, v. 31, n. 8, p. 2272-2277, 2010.
- KENDALL, R. J. *et al.* *Ecotoxicology*. USDA National Wildlife Research Center-Staff Publications, p. 516, 2001.

NEWMAN, M. C., ZHAO, Y. Ecotoxicology nomenclature: LC, LD, LOC, LOEC, MAC. In: Jorgensen, S.E., Fath, B. (Eds.), Encyclopedia of Ecology. Elsevier, pp. 1187–1193. 2008.

## CARACTERIZAÇÃO DE MICRO E NANOPARTÍCULAS DE TITANATO DE BÁRIO PARA ENSAIOS DE TOXICIDADE

\*Hudson C. Polonini<sup>1</sup>, Roberta Brayner<sup>2</sup>, Nádia R. B. Raposo<sup>1</sup>, Marcos Antônio F. Brandão<sup>1</sup>, Ludovic Mouton<sup>2</sup>, Yann Sivry<sup>3</sup>, Wanessa A. Carvalho<sup>4</sup>, Juliana C. Gern<sup>4</sup>, Humberto M. Brandão<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Núcleo de Pesquisa e Inovação em Ciências da Saúde, NUPICS, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora. <sup>2</sup>Interfaces, Traitements, Organisation et Dynamique des Systèmes, ITODYS, Université Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, France. <sup>3</sup>Institute de Physique du Globe de Paris, IPGP, Université Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, France. <sup>4</sup>Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora.

\*h.c.polonini@gmail.com

**Classificação:** Estudo dos aspectos de segurança em nanotecnologia.

### Resumo

Duas partículas de titanato de bário (BT) foram caracterizadas físico-quimicamente quanto a parâmetros de interesse para ensaios de toxicologia aquática. Foram realizados: difração de raios-X, observações morfológicas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e microscopia eletrônica de transmissão (MET), determinação da área de superfície, do estado de dispersão e da carga e química de superfície e avaliação do grau de dissolução em suspensões aquosas. Tanto BT MP (micropartícula) quanto BT NP (nanopartícula) se mostraram carregadas negativamente, facilmente agregáveis, com uma taxa de liberação de íons Ba<sup>2+</sup> para os meios de cultura que não ultrapassa 1,5%.

**Palavras-chave:** Titanato de bário; Caracterização físico-química; Nanoecotoxicologia.

### CHARACTERIZATION OF BARIUM TITANATE MICRO- AND NANOPARTICLES FOR TOXICITY ASSAYS

#### Abstract

Two particles of barium titanate (BT) were physico-chemically characterized regarding parameters of interest to aquatic toxicology assays. We performed: X-ray diffraction, morphological observations by scanning electron microscopy (SEM) and transmission electron microscopy (TEM), determination of surface area, the state of dispersion and charge and chemistry of surface and assessment of the dissolution in aqueous suspensions. Both BT MP (microparticle) as BT NP (nanoparticle) were negatively charged, easily aggregatable, with a release rate of Ba<sup>2+</sup> ions to the culture media that does not exceed 1.5%.

**Keywords:** Barium titanate; Physicochemical characterization; Nanoecotoxicology.

#### Publicações relacionadas

POLONINI, H. C. *et al.* Size-dependent ecotoxicity of barium titanate particles: the case of *Chlorella vulgaris* green algae. Chemosphere. No prelo.

POLONINI, H. C. *et al.* Ecotoxicological studies of micro-and nanosized barium titanate on aquatic photosynthetic microorganisms. Aquatic Toxicology, v. 154, p. 58-70, 2014.

## 1 INTRODUÇÃO

Os três elementos base para as estratégias de *screening* do perfil de toxicidade de nanomateriais, segundo Oberdörster *et al.* (2005) são: (i) caracterização físico-química (tamanho, área de superfície, formato, solubilidade, agregação); (ii) elucidação dos efeitos biológicos a partir de estudos *in vitro*; e (iii) confirmação dos efeitos em estudos *in vivo*. Nesse sentido, a caracterização assume papel primordial para o completo entendimento do mecanismo de interação dos materiais com os seres vivos.

O conhecimento científico recente sobre os mecanismos de interação de células e nanopartículas

vem indicando que as muitas células prontamente internalizam as nanopartículas, quer através de mecanismos ativos ou passivos. Mesmo partículas de um mesmo material podem apresentar comportamentos completamente diferentes, devido a, por exemplo, pequenas diferenças na superfície de revestimento, na carga ou no tamanho (ELSAESSER; HOWARD, 2012).

Além disso, há muito mais variáveis a considerar quando se trabalha com nanomateriais, e estas incluem: tamanho, forma, carga de superfície, estado de dispersão (aglomeração, agregação), concentração e meio. Caso contrário, os possíveis efeitos tóxicos não poderão ser facilmente atribuídos a uma determinada qualidade do nanomaterial ou até mesmo ao próprio nanomaterial porque, por exemplo, impurezas e outros componentes podem ser responsabilizados (SAYES; WARHEIT, 2009).

O presente estudo focou na caracterização físico-química de titanato de bário (BT), um material que em nanoescala tem sido utilizado como nanocarreador intracelular para proteínas e fármacos de baixo peso molecular, tais como doxorubicina (CIOFANI *et al.*, 2010), como material para sondas de imagem (HSIEH *et al.*, 2010) e como material de enxerto ósseo (BALL *et al.*, 2014). Assim sendo, o objetivo geral foi caracterizar físico-quimicamente dois lotes de BT com tamanhos de partículas distintos, sendo um micrométrico (BT MP) e o outro nanométrico (BT NP), em relação à composição química, à forma e ao tamanho, a seu estado de dispersão e a sua carga, área e química de superfície.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

A difração de raios-X (DRX) das amostras nano ou microparticuladas (doravante intituladas pós) foram registradas com difratômetro X<sup>pert</sup> Pro (PANalytical, Holanda) equipado com um detector multicanal X<sup>Celerator</sup>, e utilizando a radiação de Co K $\alpha$  (= 1,790307 Å), no intervalo de ângulos 2 $\theta$  variando de 5° a 120°, com um passo de varredura de 0,05°/5s. O suporte de amostras utilizado foi de sílica monocristalina.

Observações morfológicas dos materiais por microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram obtidas por meio de um microscópio Supra 40 (Zeiss, Alemanha) equipado com um detector na lente. Imagens de microscopia eletrônica de transmissão (MET) foram obtidas utilizando um microscópio 100CX -II (JEOL, Japão) operando com uma tensão de aceleração de 100 kV.

A área superficial específica ( $S_g$ ) e o tamanho dos poros foram medidos pela coleta das isotermas de adsorção-dessorção de nitrogênio ( $N_2$ ) em um sistema Gemini V 2380 (Mic America, EUA) a 77 K, após os materiais terem sido secos a 160 °C durante 1 h.

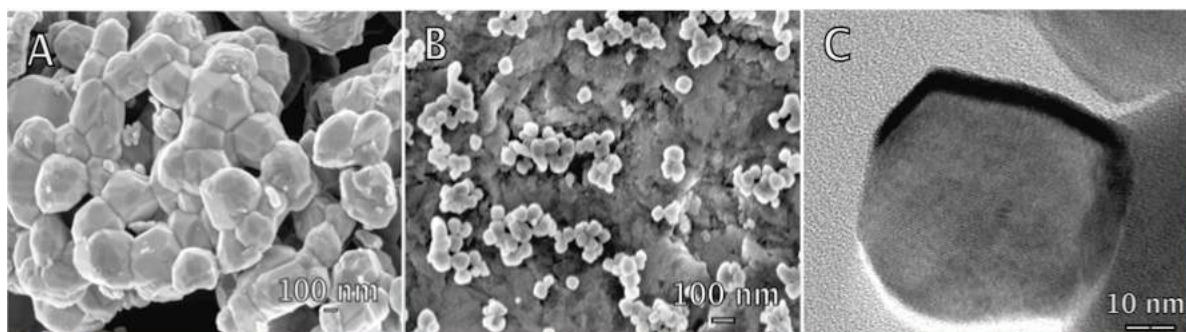
O estado de dispersão (determinado como tamanho hidrodinâmico) e as forças de carga da superfície/interpartículas (potencial zeta,  $\zeta$ ) das dispersões de pós nos meios de cultura (100  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , ou  $4,28 \times 10^{-7}$  M) foram caracterizados usando um Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments, Reino Unido), através de espalhamento dinâmico de luz (DLS) e espalhamento eletroforético de luz (ELS), respectivamente.

O grau de dissolução dos materiais nos meios de cultura (Bold's Basal, BB, e Meio Mineral, MM) como uma função de tempo (1, 2, 4, 8, 24, 48, 72 e 96h) foi avaliado seguindo um protocolo proposto por Sivry *et al.* (2014). A partir de uma solução-estoque (100  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , volume final = 100 mL), preparada no momento 0 h, alíquotas (3,5 mL) foram retiradas nos intervalos de tempo especificados e ultra-filtradas usando filtros de 3 kDa (Microsep Advance Centrifugal Device, Pall Corporation, EUA) que foram centrifugados em velocidade máxima (EBA 8, Hettich, Alemanha) por 1h. Após, adicionou-se 50  $\mu\text{L}$  de  $\text{HNO}_3$  saturado (sem nenhum traço de  $\text{Ba}^{2+}$ ). A análise elementar foi realizada por plasma indutivamente acoplado a espectrometria de emissão óptica (ICP- OES) (iCAP 6200, Thermo Scientific, EUA). O restante das dispersões aquosas (72 mL) foi centrifugado a 20.000 x g (Sorvall Lynx 6000, Thermo Scientific, EUA) e o meio foi completamente evaporado em estufa a 50 °C. Os resíduos secos foram, então, analisados por DRX e espectroscopia de foto-elétrons excitados por raios-X (XPS) (VG Escalab 250, Thermo Scientific, EUA), usando Al K $\alpha$  de 1486,6 eV, a 15 kV e 150 W, para avaliação de eventuais mudanças químicas na superfície das partículas.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os difratogramas de BT indicam que os materiais sintetizados têm duas estruturas diferentes: BT MP mostra boa concordância com a estrutura tetragonal convencional do  $\text{BaTiO}_3$ , com o grupo de espaço P4mm (ICDD 00-005-0626). O difratograma de BT NP, por sua vez, indica que o material sintetizado é  $\text{BaTiO}_3$  de estrutura cúbica, com o grupo de espaço Pm3m (ICDD 00-031-0174). Usando o modelo de Williamson-Hall calculado pelo *software* do difratômetro, tem-se que os tamanhos médios de cristalitos foram  $172,0 \pm 102,4$  Å (com  $0,19 \pm 0,06\%$  de deformação) e  $60,0 \pm 16,7$  Å ( $0,10 \pm 0,05\%$ ), respectivamente para BT MP e BT NP.

Sabendo-se que os dois materiais são diferentes em termos de estrutura cristalina e tamanho de seus cristallitos, realizou-se a observação microscópica dos mesmos. Na Figura 1, vê-se a diferença morfológica entre as partículas e confirma-se que o tamanho não é completamente uniforme, particularmente para o pó com partículas maiores (BT MP). Foi realizada a estimativa de tamanho das partículas como sendo da ordem de 170 nm para BT MP e em torno de 60 nm para BT NP.



**Figura 1.** Imagens de microscopia eletrônica de titanato de bário. (A) MEV de BT MP; (B) MEV de BT NP; (C) MET de BT NP.

A área de superfície foi calculada como sendo  $3,24 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$  para BT MP e  $16,60 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$  para BT NP. Os volumes totais dos poros foram, respectivamente,  $0,006$  e  $0,07 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$  e os diâmetros médios dos poros foram, respectivamente,  $7,34$  e  $17,46 \text{ nm}$ . A isoterma de BT NP mostra uma ligeira histerese em alta pressão relativa, o que geralmente acontece quando o material possui meso- ( $2\text{-}50 \text{ nm}$ ) ou macroporos ( $> 50 \text{ nm}$ ). A histerese é, portanto, explicada pelo fato de o nanomaterial apresentar poros maiores do que o micro.

Como o BT apresenta uma estrutura de perovskita, é esperada a observação de instabilidade termodinâmica e reatividade em meio aquoso, e isso foi evidenciado pelas medidas de DLS realizadas. Os resultados de  $\zeta$  mostram que, de uma maneira geral, ambas as partículas são carregadas negativamente, e esta carga tende a diminuir em módulo com valores de pH baixos e maior tempo em suspensão. Excetuando-se este caso, nenhum dos materiais apresentaram valores suficientemente elevados para garantir a estabilidade coloidal, que deve ser no mínimo  $25 \text{ mV}$ . Esta instabilidade pode ser observada a olho nu como sedimentação na suspensão após algumas horas de preparo. Como a carga de superfície afeta a absorção e a translocação das partículas por organismos vivos, pode-se esperar que as partículas irão mostrar efeitos distintos sobre os micro-organismos, quer devido à sua própria natureza, ou devido a seu diferente comportamento em cada meio.

Os dados de  $\zeta$  levam à afirmação de que o tamanho dos agregados não afeta o  $\zeta$ , pois ele se mantém negativo desde o momento de preparo das suspensões até  $96 \text{ h}$  após o mesmo. Quanto ao pH, vê-se também uma tendência quase de forma linear: quanto maior o pH, mais negativa a carga é, com apenas algumas exceções. O pH pode ser associado com as variações nos valores  $\zeta$  uma vez que os meios ácidos lixiviam o  $\text{Ba}^{2+}$  da superfície do BT, tornando o  $\zeta$  perto de  $0$  (suspensão instável). A dissolução (ver adiante) pode ter tornado a superfície de BT rica em Ti, isto é, uma superfície mais ácida. O aumento do pH, por sua vez, diminui a dissolução de  $\text{Ba}^{2+}$  ou causa reabsorção do cátion.

O tamanho hidrodinâmico das partículas foi avaliado como uma função do pH e do tempo, da mesma maneira como foi realizada a medição do  $\zeta$ . Em meio BB, o pH não influenciou o tamanho de agregados, ao contrário do tempo, que desempenhou um papel importante sobre este parâmetro, como os agregados parecem aumentar em grande medida ao longo dos dias em ambas as partículas. O mesmo fenômeno ocorreu em MM, mas, neste caso, a diminuição do pH também levou a um aumento nos tamanhos de agregados. Para MM, os agregados de BT NP foram maiores do que os de BT MP. Nenhuma tendência pôde ser vista, uma vez que não seguem uma relação linear com o tempo ou o pH.

Finalmente, o grau de dissolução das partículas também foi avaliado, uma vez que a liberação de íons para os meios de cultura pode ser responsáveis por um diferente grau e mecanismo de toxicidade para os micro-organismos. BT NP liberou mais  $\text{Ba}^{2+}$  nos meios do que BT MP –  $1.132 \text{ ppb}$  após  $96 \text{ h}$  em meio BB,  $6,5$  vezes mais do que BT MP no mesmo meio;  $1.258 \text{ ppb}$  após  $96 \text{ h}$  em MM contra  $345 \text{ ppb}$  de BT MP,  $3,6$  vezes mais. No entanto, as taxas de dissolução dos pós em BB ou ARS não foram superiores a  $1,5\%$ .

Após as  $96 \text{ h}$  de experimento, os difratogramas de DRX dos pós restantes foram avaliados e não foi observada nenhuma diferença significativa em nenhum meio. Análises por XPS dos resíduos também foram realizadas (química da superfície). A relação Ba/Ti/O de acordo com a baixa solubilidade verificada por ICP- OES. O carbono (C) é uma impureza comum em ultra-alto vácuo (UAV), e os sinais ao redor de

285 eV (hidrocarboneto) são normalmente utilizados como padrão interno de referência a outros elementos quando ocorrem fenômenos de carregamento elétrico. No entanto, a sua presença em mais de um estado é um indicativo da formação de carbonato de bário,  $\text{BaCO}_3$  (também observado pela energia de ligação de Ba em  $\sim 780$  eV). A deconvolução do pico C 1s revelou um pico de carbonato na superfície do BT, em 288-289 eV. O  $\text{BaCO}_3$  pode ser um subproduto da síntese de  $\text{BaTiO}_3$ , qualquer que seja a via de síntese, ou pode também ser derivado da tendência para a adsorção de  $\text{CO}_2$  que existe em superfícies de perovskitas, devido a uma interação dipolo-dipolo entre o cristal  $\text{BaTiO}_3$  ferroelétrico e a molécula de  $\text{CO}_2$  polar. Como este componente está presente somente em traços, é mais provável que o carbonato seja formado como uma segunda fase discreta ( $\sim 2\%$ ) em vez de uma película de superfície.

#### 4 CONCLUSÃO

Tanto BT MP ( $\sim 170$ nm, tetragonal) quanto BT NP ( $\sim 60$  nm, cúbico de face centrada) se mostraram negativos, facilmente agregáveis e precipitáveis (instáveis) em todos os meios de cultura aquoso estudados, com uma taxa de liberação de íons  $\text{Ba}^{2+}$  para os mesmos que não ultrapassa 1,5%. Estes dados podem ser usados para direcionar futuros trabalhos com ensaios de ecotoxicidade aquática.

#### AGRADECIMENTOS

H. Polonini agradece CAPES (04/CII-2008-Projeto 7, Rede Brasil Nanobiotec) e Programa Ciência sem Fronteiras/CNPq (245781/2012-9) pelas bolsas de estudo concedidas. Todos os autores agradecem a Jacques Monod; prof. Dr. Marcone A. L. de Oliveira; Sophie Nowak; Jean-Yves Piquemal; e Philippe Decorse.

#### REFERÊNCIAS

- BALL, J. P. *et al.* Biocompatible evaluation of barium titanate foamed ceramic structures for orthopedic applications. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, v. 102, n. 7, p. 2089-1095, 2014.
- CIOFANI, G. *et al.* Barium titanate nanoparticles: highly cytocompatible dispersions in glycol-chitosan and doxorubicin complexes for cancer therapy. *Nanoscale Research Letters*, v. 5, n. 7, p. 1093-1101, 2010.
- ELSAESSER, A.; HOWARD, C. V.. Toxicology of nanoparticles. *Advanced drug delivery reviews*, v. 64, n. 2, p. 129-137, 2012.
- HSIEH, C. *et al.* Bioconjugation of barium titanate nanocrystals with immunoglobulin G antibody for second harmonic radiation imaging probes. *Biomaterials*, v. 31, n. 8, p. 2272-2277, 2010.
- OBERDÖRSTER, G. *et al.* Principles for characterizing the potential human health effects from exposure to nanomaterials: elements of a screening strategy. *Particle and Fibre Toxicology*, v. 2, n. 1, p. 8, 2005a.
- SAYES, C. M.; WARHEIT, D. B. Characterization of nanomaterials for toxicity assessment. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, v. 1, n. 6, p. 660-670, 2009.

---

## EXPOSIÇÃO SUBLETAL DE DAPHNIA A ANATASE PROVOCA ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS DEPENDENTES DA CONDIÇÃO DE ILUMINAÇÃO

\*Clemente, Z.<sup>1,2</sup>, Castro, V.L.S.<sup>1</sup>, Jonsson, C.M.<sup>1</sup>, Fraceto, L.F.<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Ecotoxicologia e Biossegurança, Embrapa CNPMA, Jaguariúna, SP. <sup>2</sup> Programa de Pós-graduação em Biologia Funcional e Molecular, UNICAMP, Campinas, SP. <sup>3</sup> Departamento de Engenharia Ambiental, UNESP, Sorocaba, SP.

\*zairaclemente@hotmail.com

**Classificação:** Estudo dos aspectos de segurança em nanotecnologia.

### Resumo

As nanopartículas de dióxido de titânio (nano-TiO<sub>2</sub>) apresentam propriedades fotocatalíticas que devem ser consideradas na sua avaliação ecotoxicológica. Este trabalho teve por objetivo avaliar a toxicidade do nano-TiO<sub>2</sub> em *Daphnia similis*, sob diferentes condições de iluminação. *D. similis* foram expostas a 0, 7, 75 e 750 mg/L de nano-TiO<sub>2</sub> (anatase, 25 nm) sob luz visível ou luz visível e radiação ultravioleta (UV), durante 24h. Analisou-se a atividade de catalase (CAT), glutatona S-transferase (GST) e fosfatase ácida (FA) nos organismos expostos. CAT apresentou redução na sua atividade nos grupos expostos a 750 mg/L. Em geral, a exposição a radiação UV elevou a atividade de GST. FA sofreu interação dos fatores, sendo a atividade de FA inibida sob radiação UV, em todas as concentrações testadas. Estes resultados contribuem para compreensão dos efeitos ecotoxicológicos do nano-TiO<sub>2</sub> e indicam que a condição de iluminação influencia tais efeitos.

**Palavras-chave:** Nanotoxicologia; Ecotoxicologia; Água; Microcrustáceo.

### SUBLETHAL EXPOSURE OF DAPHNIA TO ANATASE CAUSES BIOCHEMICAL CHANGES THAT ARE DEPENDENT OF ILLUMINATION CONDITION.

#### Abstract

Nanoparticles of titanium dioxide (nano-TiO<sub>2</sub>) exhibit photocatalytic properties that must be considered in its ecotoxicological assessment. This study aimed to evaluate the toxicity of nano-TiO<sub>2</sub> in *Daphnia similis* under different illumination conditions. *D. similis* were exposed to 0, 7, 75 and 750 mg/L of nano-TiO<sub>2</sub> (anatase 25 nm) under visible light or visible and ultraviolet light (UV) for 24 hours. We analyzed the activity of catalase (CAT), glutathione S-transferase (GST) and acid phosphatase (AP) in exposed organisms. CAT showed a decrease in activity in the groups exposed to 750 mg/L. In general, exposure to UV radiation increased the GST activity. FA showed that there was an interaction of factors, and the activity of FA was inhibited under UV radiation, at all tested concentrations. These findings contribute to understanding the ecotoxicological effects of nano-TiO<sub>2</sub> and indicate that the illumination condition influences such effects.

**Keywords:** Nanotoxicology; Ecotoxicology; Water; Microcrustacean.

#### Publicações relacionadas

CLEMENTE, Z.; CASTRO, V.L.S.S.; JONSSON, C.M.; FRACETO, L.F.. Minimal levels of ultraviolet light enhance the toxicity of TiO<sub>2</sub> nanoparticles to two representative organisms of aquatic systems. *Journal of Nanoparticle Research*, 2014.

## 1 INTRODUÇÃO

Nanopartículas de dióxido de titânio (nano-TiO<sub>2</sub>) estão entre as mais utilizadas pela nanotecnologia. Sua crescente produção e utilização levaram a diversos estudos para avaliação da sua toxicidade. O nano-TiO<sub>2</sub> possui propriedades fotocatalíticas, gerando espécies reativas de oxigênio (ROS) capazes de danificar moléculas biológicas; este tem sido o mecanismo de toxicidade mais discutido para o nano-TiO<sub>2</sub> (NOGUEIRA; JARDIM, 1998).

Trabalho anterior do nosso grupo mostrou que níveis mínimos de radiação UV alteram a toxicidade aguda do nano-TiO<sub>2</sub> em *Daphnia similis*, sendo o valor de CE50<sub>48h</sub>=750 mg/L para anatase 25 nm. Apesar do valor de CE50 ser elevado e classificar o nano-TiO<sub>2</sub> como praticamente não tóxico (USEPA, 1985), é importante avaliar a ocorrência de efeitos subletais em organismos expostos ao nano-TiO<sub>2</sub> para avaliar possíveis riscos ao ambiente.

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos subletais do nano-TiO<sub>2</sub> em *Daphnia similis*, sob diferentes condições de iluminação, através da análise de biomarcadores bioquímicos.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

*D. similis* foram expostas durante 24h a 0, 7, 75, e 750 mg/L de nano-TiO<sub>2</sub> (Sigma Aldrich, 25 nm, 100% anatase) sob duas condições de iluminação: luz visível com ou sem radiação ultravioleta (UV). As concentrações testadas corresponderam à CE50<sub>48h</sub> sob UV, 10 % e 1 % da CE50<sub>48h</sub> sob UV de nano-TiO<sub>2</sub>. A radiação UV nos bioensaios foi estabelecida através de lâmpadas UVA340 da Q Panel, e a sua intensidade foi de 0.17 J/h/cm<sup>2</sup>, uma dose cerca de 250 vezes inferior à radiação solar no outono



(CLEMENTE et al, 2013).

Cerca de 100 organismos adultos foram expostos às condições testes, em placas de petri (diâmetro 10 cm, altura coluna de água 1 cm) contendo 50 mL de solução. Ao final do período de exposição, os organismos foram coletados utilizando uma peneira (malha de 21.2 mm), lavados com água destilada, pesados e armazenados a  $-80^{\circ}\text{C}$  para posterior realização de análises bioquímicas.

As daphnias coletadas foram homogeneizadas em tampão fosfato 50 mM pH 7 (1:10 peso/volume) e centrifugadas a 10.000 xg durante 10 min,  $4^{\circ}\text{C}$ . O sobrenadante foi utilizado para realização das análises das atividades específicas de glutathione S-transferase (GST; KEEN et al., 1976), catalase (CAT; AEBI, 1983), fosfatase ácida (FA; PRAZERES et al., 2004) e concentração proteica (BRADFORD, 1976). Ao menos 3 pools de daphnia foram analisados por grupo e todas as leituras foram feitas em triplicata.

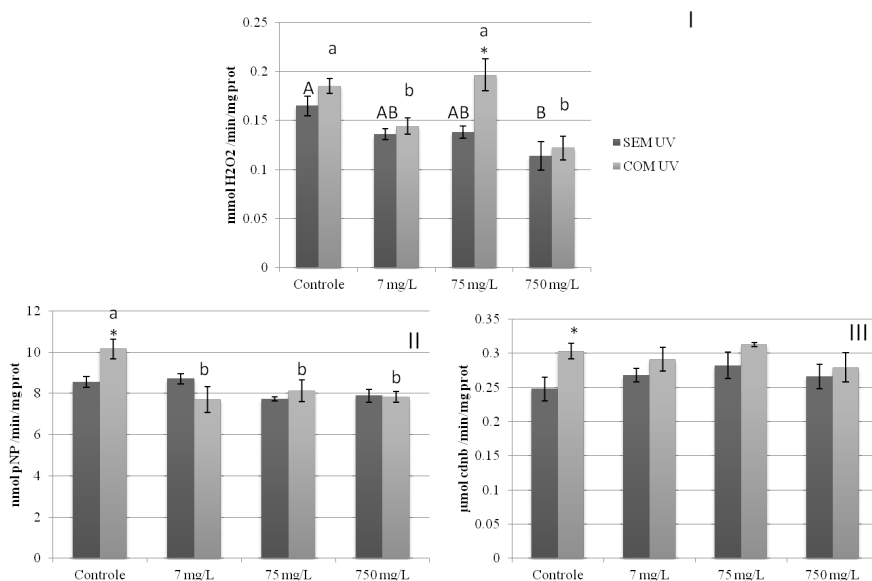
As análises foram realizadas em leitora de absorvância de microplaca (Tecan Sunrise, Austria), exceto a análise de CAT, que foi realizada em espectrofotômetro de cubeta UV-Vis (Model 1650PC, Shimadzu, Japão).

Os dados bioquímicos foram comparados através de Anova de duas vias; consideraram-se os fatores condição de iluminação (com e sem UV), concentração e a interação entre eles. Empregou-se o pós-teste de Holm-Sidak, para comparação dos grupos. Para todas as análises adotou-se um nível de significância de 5%. A normalidade dos dados foi testada através do teste de Shapiro-Wilk. Para estas análises utilizou-se o programa Sigma Plot versão 11.0.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A exposição durante 24h de daphnias a concentrações equivalentes e abaixo da  $CE50_{48h}$  sob UV, indicou diferentes respostas dos biomarcadores bioquímicos estudados. A atividade específica de CAT (Figura II) apresentou efeito da condição de iluminação ( $p=0,006$ ) e da concentração ( $p<0,001$ ), mas não houve interação entre os dois fatores ( $p=0,13$ ). A inibição na atividade de CAT ocorreu nos grupos expostos a 750 mg/L sem e com UV e também a 7 mg/L com UV. O efeito da concentração de nano- $TiO_2$  sobre a atividade específica de FA (Figura III) dependeu da condição de iluminação, caracterizando a ocorrência de interação dos dois fatores ( $p=0,017$ ). A inibição da atividade de FA ocorreu em todas as concentrações testadas de anatase com UV. A atividade específica de GST (Figura IIII) apresentou efeito da condição de iluminação ( $p=0,018$ ).

A literatura é ainda inconclusiva sobre o efeito do nano- $TiO_2$  sobre biomarcadores bioquímicos. Trabalhos com outros organismos aquáticos expostos ao nano- $TiO_2$  também observaram reduções na atividade e expressão de CAT (HAO et al., 2009, CUI et al., 2010). Altas concentrações de  $H_2O_2$  podem inibir reversivelmente e inativar irreversivelmente a atividade de catalase (LARDINOIS et al, 1996). Da mesma forma, espécies reativas de oxigênio como  $*O_2$  e  $H_2O_2$  são capazes de oxidar resíduos de cisteína presentes no sítio ativo e, portanto, inibir a atividade de fosfatases (AOYAMA et al., 2003). A ocorrência de estresse oxidativo pode estar relacionada à produção direta de ROS pelo nano- $TiO_2$ , ou por hipóxia causada devido à aderência do nano- $TiO_2$  aos organismos e consequente dificuldade respiratória. Anatase é a fase cristal de  $TiO_2$  com maiores propriedades fotocatalíticas com relação a rutilo. A fotoativação de anatase pela radiação UV leva a produção de ROS e no nosso estudo, essa condição promoveu uma elevação na toxicidade desse material para daphnia.



**Figura 1.** Análises bioquímicas em *D. similis* expostas durante 24h a nano-TiO<sub>2</sub> sem e com radiação UV. Atividades específicas de (I) catalase, (II) fosfatase ácida, (III) glutatona S-transferase. Média ± erro padrão. \* indica p<0,05 entre grupos sem e com UV dentro da mesma concentração. Letras maiúsculas diferentes indicam p<0,05 entre grupos sem UV. Letras minúsculas diferentes indicam p<0,05 entre grupos com UV.

#### 4 CONCLUSÃO

Nossos resultados indicam que o nano-TiO<sub>2</sub> anatase pode gerar efeitos subletais em organismos aquáticos que dependem da condição de iluminação. A exposição aguda de daphnias a concentrações equivalentes e abaixo da CE50<sub>48h</sub> de nano-TiO<sub>2</sub> sob radiação UV inibiu as atividades específicas de catalase e fosfatase ácida, indicando a ocorrência de estresse oxidativo. Nossos resultados indicam que o nano-TiO<sub>2</sub> pode apresentar impacto negativo em ecossistemas de água doce, e contribuem para a discussão e estabelecimentos dos protocolos nanoecotoxicológicos.

#### AGRADECIMENTOS

FAPESP, CNPq, CAPES e EMBRAPA.

#### REFERÊNCIAS

- AEBI, H. Catalase in vitro. Academic Press, v.105, p.121-126, 1984.
- Aoyama, H.; Silva, T.M.A.; Miranda, M.A.; Ferreira, C.V. Proteínas tirosina fosfatases: propriedades e funções biológicas. Química Nova, v.6, p. 896-900, 2003.
- Bradford, M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, v. 72, p. 248-254, 1976.
- Clemente, Z.; Castro, V.L.; Feitosa, L.O.; Lima, R.; Jonsson, C.M.; Maia, A.H.; Fraceto, L.F. Fish exposure to nano-TiO<sub>2</sub> under different experimental conditions: Methodological aspects for nanoecotoxicology investigations. Science of Total Environment, v. 463-464, p.647-656, 2013.
- Cui, Y.; Gong, X.; Duan, Y; et al. Hepatocyte apoptosis and its molecular mechanisms in mice caused by titanium dioxide nanoparticles. Journal of Hazard Materials, v.183, n. 1-3, p. 874-880, 2010.
- Hao, L.; Wang, Z.; Xing, B. Effect of sub-acute exposure to TiO<sub>2</sub> nanoparticles on oxidative stress and histopathological changes in juvenile carp (*Cyprinus carpio*). Journal of Environmental Science, v. 21, n. 10, p. 1459-1566, 2009.

Keen, J. H.; Habig, W. H.; Jakoby, W. B. Mechanism for several activities of the glutathione S-transferase. *Journal of Biological Chemistry*, v. 251, p. 6183-6188, 1976.

Lardinois, O.M.; Mestdagh, M.M.; Rouxhet, P.G. Reversible inhibition and irreversible inactivation of catalase in presence of hydrogen peroxide. *BBA - Protein Structure M*, v. 1295, n. 2, p. 222-238, 1996.

Nogueira, R.F.P.; Jardim, W.F. A fotocatalise heterogênea e sua aplicação ambiental. *Quimica Nova*, v. 21, n. 1, p. 69-72, 1998.

Prazeres, J.N.; Ferreira, C.V.; Aoyama, H. Acid phosphatase activities during the germination of Glycine max seeds. *Plant Physiology and Biochemistry*, v. 42, p.15-20, 2004.

USEPA (United States Environmental Protection Agency). EPA-540 / 9 -85-009. Hazard Evaluation Division. Standard Evaluation Procedure. Acute toxicity test for estuarine and marine organisms. Washington, 1985.

---

## INDICADORES DE RISCO DO DESENVOLVIMENTO DAS NANOTECNOLOGIAS – UMA FERRAMENTA DE APOIO À DECISÃO

\*Karen C. Massini<sup>1</sup>, Katia R.E. Jesus<sup>2</sup>, Odílio B. G. Assis<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP. <sup>2</sup>Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP. <sup>3</sup>Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP.  
\*kamassini@hotmail.com.

**Classificação:** Estudo dos aspectos de segurança em nanotecnologia.

### Resumo

A nanotecnologia representa atualmente um negócio mundial que movimenta mais de 100 bilhões de dólares e atrai cada vez mais recursos humanos e financeiros, devido ao seu enorme potencial de aplicação. Assim, metodologias que permitam avaliar a segurança dos nanoproductos, especialmente aqueles que já encontram-se no mercado, são de fundamental importância. No entanto, a área do conhecimento que envolve as avaliações de riscos das nanotecnologias encontra-se ainda bastante incipiente no Brasil. A criação de uma metodologia para a Avaliação dos Riscos das nanotecnologias representa uma medida mitigatória eficaz para enfrentar os desafios cada vez maiores identificados pelos cientistas e legisladores, podendo atuar em três momentos: prevenindo, monitorando e restaurando. Desta forma, são apresentados nesse trabalho 14 indicadores para a avaliar o potencial de risco. Esses foram validados pelos especialistas da área de nanotecnologia por meio da Técnica Delphi de consulta aos especialistas. Segundo eles, esses indicadores representam de modo mais completo os aspectos mais críticos relacionados ao desenvolvimento da Nanotecnologia. Estes indicadores, de modo geral, têm a finalidade de auxiliar os desenvolvedores desta tecnologia para que reavaliem as metodologias empregadas para o desenvolvimento das nanotecnologias com a finalidade de mitigar um provável risco.

**Palavras-chave:** Nanotecnologia, Nanopartícula, Avaliação da Segurança, Indicadores de riscos.

### RISK INDICATORS OF THE NANOTECHNOLOGY DEVELOPMENT - A TOOL FOR DECISION MAKING SUPPORT

#### Abstract

Nanotechnology is currently a global business that operates more than 100 billion dollars and is increasingly attracting human and financial resources, due to their enormous potential application. Thus, methodologies for assessing the safety of nano-products, especially those that are already in market. However, the area of knowledge that involves risk assessments of nanotechnology is still incipient in Brazil. The development of a methodology for risk assessment of nanotechnologies is an effective measure to face increasing challenges identified by scientists and legislators, which can act in three stages: preventing, monitoring and restoring. Thus, in this work are presented 14 indicators to assess the potential risk, these have been validated by experts in the field of nanotechnology through the Delphi technique of consulting experts. According to them, these indicators represent more completely the most critical

development-related aspects of Nanotechnology. These indicators, in general, aims to assist developers of this technology to reassess the methodologies employed for the development of nanotechnology in order to mitigate a potential risk.

**Keywords:** Nanotechnology, Nanoparticle, Safety Assessment, Risk indicators.

## 1 INTRODUÇÃO

A nanotecnologia permite desenvolver produtos de alta qualidade com ampla aplicação, na agricultura e segurança alimentar, biologia celular, proteção ambiental, métodos de tratamento de doenças, dentre outros. No entanto, uma questão vem sendo levantada quanto à segurança desses produtos. A percepção pública dos consumidores quanto a segurança desses produtos deve ser favorável para que a utilização da tecnologia em curto prazo não seja comprometida. Embora se reconheça que as aplicações das nanotecnologias emergentes tendem a trazer benefícios significativos, é igualmente reconhecido que os nanomateriais podem apresentar riscos diferentes daqueles do mesmo material convencional (produto correspondente com tamanhos micro ou macro). No entanto, a análise da literatura científica indica que não existe conhecimento suficiente sobre as propriedades toxicológicas / efeitos fisiológicos e ambientais de tais materiais. As novas propriedades das nanopartículas indicam que as metodologias de avaliações de risco conhecidas não podem ser adequadas para identificar os riscos para o homem e o meio ambiente, incluindo a saúde animal. O potencial de risco de um nanomaterial está vinculado às suas propriedades físico-químicas, sendo de extrema importância quantificar e avaliar a segurança do nano-produto.

A identificação do risco é uma ferramenta científica para estimar e compreender os fatores que levam a um risco potencial. A identificação do perigo ou risco consiste em identificar os potenciais efeitos adversos sobre a saúde ou meio ambiente que estão associados à exposição a um agente biológico, físico ou químico.

O pequeno tamanho das nanopartículas pode facilitar sua difusão na atmosfera, no solo, na água sendo de difícil detecção. De modo geral, sabe-se muito pouco sobre a biodisponibilidade, biodegradabilidade e toxicidade de novos nanomateriais. A contaminação do meio ambiente por nanomateriais com grande área superficial, boa resistência mecânica e atividade catalítica pode resultar na concentração de compostos tóxicos na superfície das nanopartículas, com posterior transporte no meio ambiente ou acúmulo ao longo da cadeia alimentar; na adsorção de biomoléculas, com conseqüente interferência em processos biológicos *in vivo*; numa maior resistência à degradação (portanto, maior persistência no meio ambiente) e em catálise de reações químicas indesejáveis no meio ambiente (Savolainen, et al., 2010). Desta forma, é de extrema importância a formulação de metodologias que identifiquem esses riscos com a finalidade de auxiliar os desenvolvedores desta tecnologia quanto ao desenvolvimento de sua tecnologia de uma forma segura e sustentável. Neste sentido, o presente trabalho demonstra alguns indicadores de riscos que foram formulados com base nos aspectos inerentes as características das nanopartículas que possam apresentar risco, sendo elas: Tamanho da nanopartícula, solubilidade, dispersão, toxicidade, instabilidade, biodegradabilidade, composição, reatividade e pureza. Estes indicadores de riscos têm a finalidade de levantar importantes questões sobre a segurança das nanopartículas e elucidar questões importantes para mitigar um provável impacto negativo na saúde e meio ambiente. Os indicadores formulados foram validados conforme o seu grau de importância e farão parte da metodologia de avaliação de riscos da nanotecnologia denominada Nanotec-Ram, que está em fase de desenvolvimento pela equipe da Embrapa e colaboradores.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Formulação dos Indicadores de Riscos

Os indicadores de riscos foram formulados através de uma minuciosa análise da literatura científica sobre o tema. Foram elaborados 14 indicadores que retrataram os aspectos mais relevantes sobre o desenvolvimento de uma nanopartícula e que indicasse um provável risco.

### 2.2 Validação dos Indicadores de Riscos com a Técnica Delphi de consulta aos especialistas

Os indicadores de riscos foram validados remotamente pelos especialistas em Nanotecnologia

através de um questionário desenvolvido de acordo com a Técnica Delphi (Dietz, 1987; Wright, J. e Giovinazzo, 2000) que foi disponibilizado no website da Embrapa Meio Ambiente. Para a construção desse questionário foi utilizado o Limesurvey (<http://www.limesurvey.com>), um software de código livre desenvolvido em PHP e utilizando banco de dados em MySQL. O painel de especialistas consultados foi composto de pesquisadores selecionados a partir da plataforma do Curriculum Lattes/CNPq, empregando-se palavras-chave relacionadas ao tema Nanotecnologia. As questões que compõem o questionário de consulta apresentam os indicadores formulados e solicitam ao especialistas versar sobre a sua importância para avaliar a segurança das nanopartículas. As respostas são apresentadas no formato da escala Likert (por grau de importância) fornecendo resultados quantitativos, que além de serem tabulados, recebem tratamento estatístico simples definindo-se a mediana e os quartis, permanecendo na metodologia de análise dos riscos os indicadores que apresentarem porcentagem de aceitação dos especialistas acima de 50%.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os Indicadores de riscos constituem uma ferramenta de avaliação para direcionar o pesquisador ou tomador de decisão para um provável problema, exercendo a função de advertir sobre os riscos e orientar para uma medida de correção. Desta forma, apresentamos na Tabela 1, os 14 indicadores de riscos formulados e validados pelos especialistas na dimensão denominada 'Desenvolvimento da Tecnologia'. Os 14 indicadores de riscos apresentaram 50% de aceitação e foram considerados indicadores relevantes para análise de um potencial risco.

**Tabela 2.** Lista de indicadores de riscos propostos para avaliar o desenvolvimento da tecnologia após levantamento da literatura científica

DIMENSÃO: DESENVOLVIMENTO DA TECNOLOGIA
<p>Justificativa Técnica para seleção dos Indicadores</p> <p>O tamanho, a forma química, solubilidade e a alteração na carga podem afetar as interações químicas e biológicas em consequência a exposição a uma nanopartícula específica (Poland et al. 2008; Benn e Westerhoff, 2008). Dependendo da reatividade da nanopartícula podem se ligar às proteínas e outras biomoléculas em soluções biológicas com grande eficiência, e com especificidade muito maior do que as superfícies de materiais equivalentes de maior proporção. Assim, a compreensão de como essas nanopartículas interagem com o meio do ensaio em estudo é crucial para entender a natureza da real dispersão no meio ambiente ou células e tecidos dos organismos expostos, com a finalidade de evitar um efeito indesejado devido uma interação com outras moléculas que não estavam previstas. Na cadeia produtiva há possibilidade do risco associado às nanotecnologias não serem diferentes de outras tecnologias estabelecidas e reguladas. Segundo Shatkin e colaboradores (2010), alguns relatórios relatam equivocadamente resultados padronizando os protocolos de toxicidade da nanopartícula. Ainda segundo o autor, é necessário estabelecer critérios-chave de modo a compreender melhor a importância das diferenças dos resultados no estudo de materiais aparentemente similares. Esses critérios-chave devem conter estimativa de erro de medição e sua variabilidade na toxicidade do material.</p>
INDICADORES DE RISCOS
Tamanho da NP e de seus componentes
Alta solubilidade e dispersão da NP na natureza
Ocorrência de instabilidade da NP em decorrência do tipo de revestimento do material ou produto
Constituição da NP a torna não biodegradável (ex: NP contém partículas inorgânicas)
A nanopartícula possui característica química desconhecida
A composição/revestimento possui reatividade de tal forma que possa agregar com outras partículas
Alto potencial da NP em formar aglomerados

Persistência da NP inorgânica na natureza

Interferência do reagente ou componentes empregados na formulação que comprometam a pureza da amostra

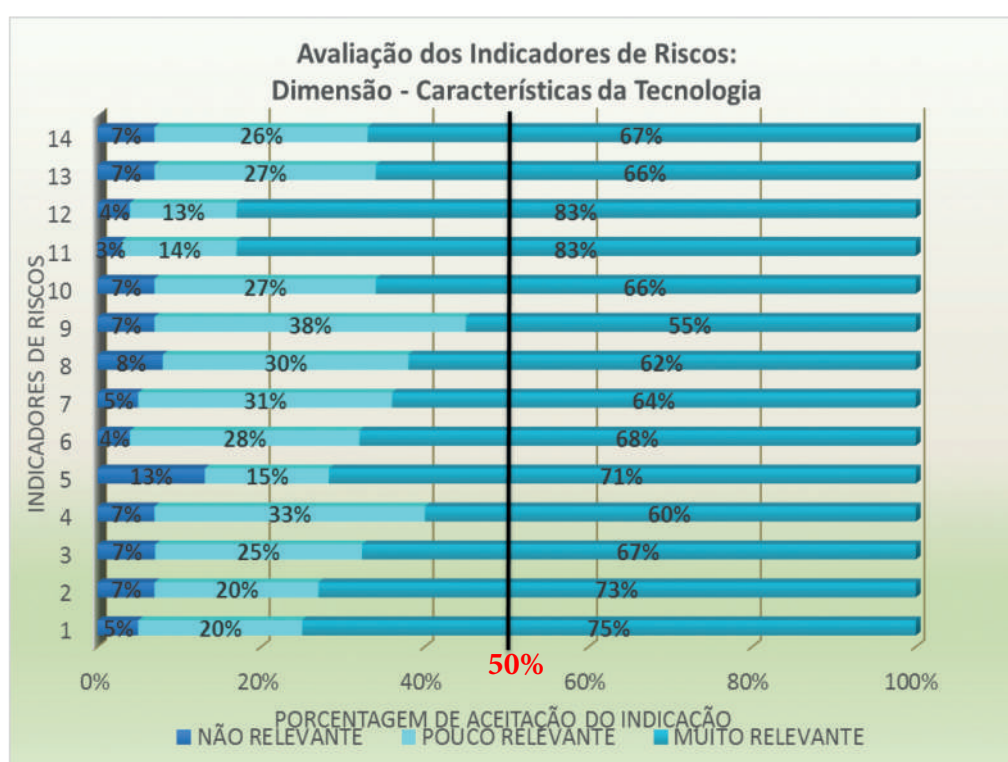
Surgimento de toxicidade em decorrência da impureza associada à NP

Necessidade de medidas de contenção específica para armazenamento dos resíduos gerados até o seu descarte

Necessidade da utilização de EPIs (Equipamento de Proteção Individual) visando a segurança do trabalhador

O material precursor utilizado para formulação da NP apresenta risco a saúde e/ou ambiente podendo comprometer a segurança do nanoproduto

A nanopartícula possui homologia com alguma tecnologia conhecida que apresenta toxicidade



**Figura 1.** Resultado da avaliação dos indicadores de riscos de acordo com a Técnica Delphi empregada em consulta remota. \*São apresentados somente os indicadores que obtiveram aceitação superior a 50% na consulta remota (a numeração dos indicadores corresponde aqueles apresentados na tabela 1)

#### 4 CONCLUSÃO

O emprego dos indicadores funciona com uma orientação para a avaliação de segurança das nanopartículas e permite o seu desenvolvimento de forma sustentável e segura.

#### REFERÊNCIAS

BENN TM, WESTERHOFF P. Nanoparticle silver released into water from commercially available sockfabrics. *Environ Sci Technol.*, v. 42 (11), p. 4133–4139, 2008.

DIETZ, T. Methods for analyzing data from delphi Panels: some evidence from a forecasting study. *Technological Forecasting & Social Change*, v. 31, p. 79-85, 1987.

POLAND CA, DUFFIN R, KINLOCH I, MAYNARD A, WALLACE WA, SEATON A et al. Carbon nanotubes introduced into the abdominal cavity of mice show asbestos-like pathogenicity in a pilot study. *Nat Nanotechnol*, v. 3 (7), p.423–428, 2008.doi:10.1038/nnano.2008.111

SHATKIN, J. A., et al. Nano Risk Analysis: Advancing the Science for Nanomaterials Risk Management. *Risk Analysis*, v. 30 (11). p., 1680-1687, 2010.

SAVOLAINEN, et al. Risk assessment of engineered nanomaterials and nanotechnologies—A review. *Toxicology*, v.269, p.92–104, 2010.

WRIGHT, J. T. C; GIOVINAZZO, R. A. D. Uma ferramenta de apoio ao planejamento prospectivo. *Caderno de Pesquisas em Administração*, v.1 (12), 2000.

---

## ANÁLISE INTEGRADA DOS CRITÉRIOS DE SEGURANÇA AMBIENTAL DOS NANOPRODUTOS

\*Katia R.E. Jesus<sup>1</sup>, Vera Lúcia S. S. de Castro<sup>1</sup>, Odílio B. G. Assis<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP. <sup>2</sup>Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP.

\*katia.Jesus@embrapa.br

**Classificação:** Estudo dos aspectos de segurança em nanotecnologia.

### Resumo

As situações de risco potencial de um nanoproduto são cada vez mais multifacetadas. A triagem para a execução de novos testes pode seguir a árvore (decisões sim/não) considerando as informações anteriormente conhecidas e os dados obtidos em testes a respeito do comportamento no ambiente, as características e a novidade do nanoproduto. A sequência de passos avaliados com a árvore de decisão dependerá do estado da arte da metodologia de avaliação de risco e das características de cada caso em estudo.

**Palavras-chave:** Ambiente; Ecotoxicidade; Segurança de nanoproductos, Árvore de decisão.

### INTEGRATED ANALYSIS OF NANOPRODUCTS ENVIRONMENTAL SAFETY CRITERIA

#### Abstract

The potential risk of nanoproducts is increasingly multifaceted. Screening for the implementation of new tests can follow the decision tree (decision yes/no) considering the previously known information and data from tests about the behavior in the environment, the characteristics and the novelty of nanoproduct. The sequence of steps evaluated by the decision tree will depend on the methodology state of the art for risk assessment and the characteristics of each case study.

**Keywords:** Environment; Ecotoxicity; Nanoproducts safety; Decision tree.

## 1 INTRODUÇÃO

A aplicabilidade da nanotecnologia oferece a perspectiva de grandes avanços científicos para melhorar a qualidade de vida e como qualquer área da tecnologia que faz uso intensivo de novos materiais e substâncias pode trazer algum risco ao meio ambiente e à saúde humana ou animal. A avaliação do potencial impacto biológico dos nanomateriais se tornou de grande importância nos últimos anos, uma vez que o rápido ritmo de desenvolvimento da nanotecnologia não foi acompanhado por uma investigação completa de sua segurança. As mesmas propriedades que tornam as nanopartículas interessantes para aplicações, como seu pequeno tamanho, sua enorme superfície e sua alta reatividade, também as tornam acessíveis a locais anteriormente inacessíveis em sistemas vivos, com consequências potencialmente significativas para o ambiente. Contudo, a regulamentação do uso de nanomateriais avançou lentamente no sentido de garantir a segurança dos ecossistemas em contato com nanomateriais (COHEN et al., 2013). Há ainda uma grande discussão a respeito da regulamentação destes materiais por ser uma área nova do conhecimento. Além disso, há discussão entre os nanotoxicologistas sobre a métrica apropriada para avaliação da toxicidade de NPs.

A compreensão de situações potencialmente de risco é cada vez mais multifacetada e, desafia os avaliadores de risco a escolherem as prioridades entre a multiplicidade de fatores de risco contribuintes. Alguns modelos foram propostos para avaliar os nanoproductos (HANSEN et al., 2014). A exposição à nanomateriais pode acontecer por ingestão, inalação e contato dérmico. Na avaliação das alterações de um ecossistema é estudada a variação de resposta entre as populações de organismos expostas e não-expostas aos agentes estressores em estudos de biomonitoramento considerando as possíveis interferências no meio ambiente. Para tanto, na construção de um modelo que envolve múltiplas hipóteses, uma abordagem útil é criar um modelo conceitual que combine os dados selecionados a priori em uma estrutura causal. Um sistema de informação pode ser consequentemente criado de modo a coletar, armazenar e compartilhar a informação além de auxiliar na tomada de decisão. Em vista disso, foi proposta desse trabalho uma árvore de decisão que consiste em um diagrama que descreve as interações chaves entre as decisões e os eventos probabilísticos associados.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

A construção da árvore de decisão direciona as informações necessárias para avaliação e define se o nanoproducto apresenta características potencialmente causadoras de danos. O processo inicia-se com um esquema que permite classificar o nanocomposto em algumas classes de perigo. O desenho da árvore de decisão baseia-se no consenso geral de que um nanomaterial insolúvel, particulado, biopersistente e capaz de translocar sistemicamente, provavelmente representa um risco para a saúde humana diferente do produto convencional, não biopersistente e prontamente solúvel. A árvore de decisão foi baseada principalmente em alguns critérios relacionados ao uso dos nanoproductos e às áreas potencialmente atingidas por estes. Assim, para a inclusão dos indicadores ecotoxicológicos selecionados, há necessidade de avaliação dos mesmos quanto ao seu nível de importância em cada caso. É importante ressaltar, contudo que a sequência de passos avaliados com a árvore de decisão dependerá do estado da arte da metodologia de avaliação de risco e das características de cada caso em estudo.

Uma característica inicial importante a ser considerada é a natureza do material. Assim, os materiais podem, por exemplo, ser divididos em nanofibras, nanopartículas metálicas, nanomatrizes e nanofilmes. Dentro destas categorias, a classificação de perigo pode ser baseada nas características do nanomaterial como forma, tamanho e carga além de informações sobre o estado de agregação/aglomeração na água e solo, presença de nanoencapsulação além de toxicidade do material convencional (tamanho não nanométrico). A triagem para a execução de novos testes seguindo a árvore (decisões sim/não) consideraria as informações anteriormente conhecidas e os dados obtidos nos testes

A seguir, são apresentadas algumas questões que guiarão o desenho da árvore relacionadas ao comportamento do nanoproducto no ambiente e ao conhecimento de sua possível toxicidade: 1 – O material em questão pode causar prejuízos ao ambiente? Ele é persistente? Ele se dispersa prontamente?; 2 - O material em questão é novo ou não tem seus efeitos toxicológicos conhecidos?; 3 - O material em questão pode causar prejuízos aos organismos de um ecossistema? Ele sofre bioacumulação?

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Questões relacionadas às características do nanoproducto

A primeira etapa de qualquer avaliação de segurança consiste na identificação e caracterização do objeto de estudo, foco da avaliação. A diversidade de construções e desenvolvimentos possíveis na área da Nanotecnologia faz com que essa orientação seja ainda mais necessária. Esse trabalho propõe a análise das características dos nanoproductos como base para auferir ou recomendar uma avaliação de segurança mais detalhada. Essa avaliação mais específica pode ser do ponto de vista toxicológico ou uma análise química propriamente dita. Essas informações são de suma importância, pois auxiliam na elaboração de uma análise mais objetiva e fornece resultados mais completos para a análise de risco. Desse modo, deve ser realizado o levantamento de informações pertinentes a caracterização e/ou classificação do produto como, por exemplo, da nanopartícula quanto às seguintes características: tamanho de sua menor dimensão, formação de aglomerados ou agregados, solubilidade em água, carga da superfície, estimativa da área superficial, além de dados prévios de efeitos tóxicos em plantas, animais ou humanos; dentre outras.



### 3.2 Questões relacionadas à novidade do nanoproduto

A novidade do nanoproduto é considerada quando os novos materiais até então não tenham sido utilizados ou são raramente usados em escala industrial; são novas formas de materiais existentes com características que diferem significativamente de formas familiares ou que ocorrem naturalmente; são novas aplicações para materiais ou são produtos tecnológicos existentes formulados de modo diferente, ou apresentam novas vias de entrada no ambiente devido a nova previsão de uso. Nestes casos, a fim de determinar se um dado nanoproduto deve ser alvo de preocupação ambiental, pode-se proceder a uma triagem inicial para avaliar a probabilidade de exposição inicial e subsequentemente a análise detalhada do perigo ambiental potencial associado ao mesmo e que venha a ser sugerido pela triagem inicial *in vitro* (potencial de translocação através das barreiras biológicas, a citotoxicidade, a geração de espécies reativas de oxigênio, a resposta inflamatória, a genotoxicidade), seguido de testes *in vivo* (toxicidade aguda e por exposições repetidas) e testes comportamentais. Dependendo do resultado deste perfil toxicológico inicial, podem ser identificados alertas de preocupação potencial e, em consequência, outros testes seriam conduzidos para melhor avaliar a segurança de uso do nanomaterial através de parâmetros adicionais caso a caso.

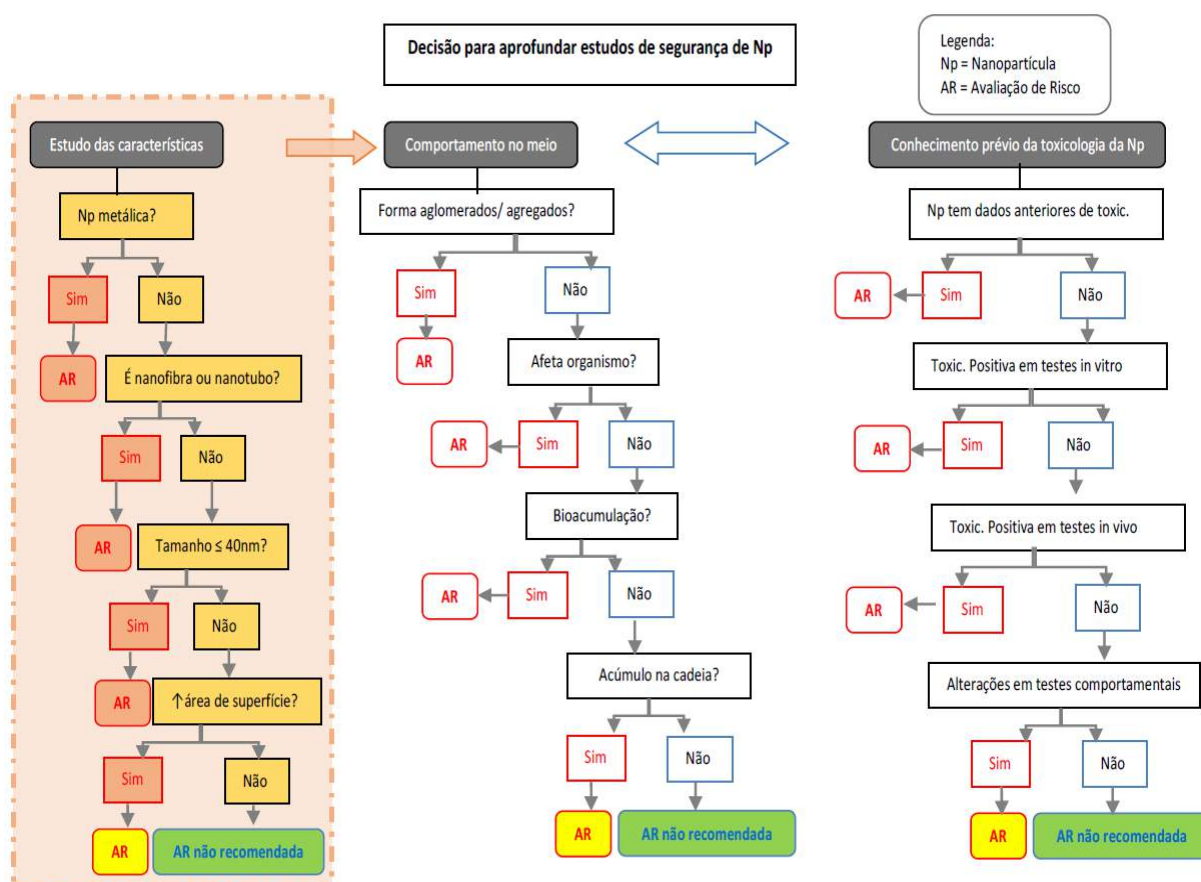


Figura 1. Dados necessários para o estabelecimento da árvore de decisão para a avaliação de risco de nanoproductos.

### 3.3 Questões relacionadas ao ambiente

Os estudos sobre a translocação do nanomaterial dentro dos organismos também podem se beneficiar do conhecimento a respeito das características dependentes do pH, já que o pH varia entre os órgãos, tecidos e compartimentos celulares de um organismo. Por sua vez, nas matrizes ambientais; a dissolução das partículas no meio aquático é dependente das propriedades físico-químicas intrínsecas do material (tamanho de partícula, área superficial, composição química, etc), e dos parâmetros ambientais (pH, temperatura, presença de matéria orgânica, etc.). Assim, alterações nas características físico- químicas da água (pH, força iônica, matéria orgânica) podem alterar a morfologia interfacial, hidrofobicidade e carga, que ditam as características de estabilidade (agregação, sedimentação, deposi-

ção), reatividade (dissolução e precipitação), e, conseqüentemente, a biodisponibilidade e a toxicidade potencial das nanopartículas. Considerando a variabilidade da química da água natural, ainda não estão bem estabelecidas as implicações de dados obtidos em laboratório, utilizando água deionizada ou meios ricos em nutrientes em relação aos sistemas ambientais reais. O tamanho, a forma química, a solubilidade e a alteração na carga podem afetar as interações químicas e biológicas em consequência a exposição a uma nanopartícula específica (HANSEN et al., 2014).

De acordo com as características físico-químicas do nanoproduto, este pode se depositar no solo ou ficar aderido a materiais orgânicos e inorgânicos. Neste sentido, há a necessidade de formulação de uma metodologia para avaliar a persistência, o bioacúmulo, os produtos de decomposição, a toxicidade e exposição aos nanoprodutos para uma avaliação de segurança desta tecnologia. Outro conjunto de questões está relacionado ao fato do nanomaterial ser persistente ou bioacumulativo nos tecidos e amostras biológicas. Contudo, as técnicas de análise para a quantificação de nanoprodutos nos meios ambientais e biológicas ainda não estão totalmente desenvolvidos. Por fim, outro problema são as propriedades fotocatalíticas do nanoproduto. Assim, por exemplo, as propriedades fotocatalíticas do nano-TiO<sub>2</sub> podem elevar seus efeitos tóxicos a organismos aquáticos em condições ambientais, e poucos estudos têm considerado isso. Devido à formação de ROS quando o TiO<sub>2</sub> é exposto à radiação UV, pode ocorrer manifestação ou aumento de seus efeitos tóxicos em organismos aquáticos em condições ambientais (CLEMENTE et al., 2014).

#### 4 CONCLUSÃO

De forma geral, as metodologias de avaliação de risco existentes atendem genericamente às necessidades de avaliação dos nanoprodutos, mas a utilização destas para a realização de ensaios nanotoxicológicos enfrenta diversos questionamentos. O detalhamento para cada teste ou grupo de testes requer modificações e validações para tratar adequadamente cada nanomaterial (STONE et al., 2010). Desta forma, a avaliação da toxicidade depende do conhecimento das propriedades físicoquímicas do material além do conhecimento de seu comportamento no meio no qual está inserido e suas interações com os diversos organismos deste. Através do emprego da árvore de decisão, recomenda-se a realização de avaliações de risco mais específicas para a situação em questão, garantindo assim a acuidade da análise e segurança da nanopartícula.

#### AGRADECIMENTOS

Fapesp, CNPq e EMBRAPA

#### REFERÊNCIAS

- CLEMENTE, Z.; CASTRO, V.; MOURA, M.; JONSSON, C.; FRACETO, L. Toxicity assessment of TiO<sub>2</sub> nanoparticles in zebrafish embryos under different exposure conditions. *Aquatic Toxicology*, v.147, p.129–139, 2014.
- COHEN, Y.; RALLO, R.; LIU, R.; LIU, H. In Silico Analysis of Nanomaterials Hazard and Risk Accounts of Chemical Research, v.46, n.3, p.802–812, 2013.
- HANSEN, S.; JENSEN, K.; BAUN, A. NanoRiskCat: a conceptual tool for categorization and communication of exposure potentials and hazards of nanomaterials in consumer products, *J Nanopart Res*, v.16, p.2195, 2014.
- STONE, V.; NOWACK, B.; BAUN, A.; VAN DEN BRINK, N.; VON DER KAMMER, F.; DUSINSKA, M.; HANDY, R.; HANKIN, S.; HASSELLOV, M.; JONER, E.; FERNANDES, T. Nanomaterials for environmental studies: Classification, reference material issues, and strategies for physico-chemical characterisation. *Sci total Environ*, v.408, p.1745-1754, 2010.

## EFEITOS DE NANOPARTÍCULAS DE $\text{TiO}_2$ SOBRE A VIABILIDADE E A EXPRESSÃO GÊNICA EM FIBROBLASTOS BOVINOS *IN VITRO*

\*Vanessa Candiotti Buzatto<sup>1</sup>, Alexandre de Lima Oliveira<sup>1</sup>, Marina Ibelli Pereira Rocha<sup>1</sup>, Suelen Scarpa de Mello<sup>1</sup>, Simone Cristina Méo Niciura<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP. <sup>2</sup>Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP.  
\*vcbuzatto@hotmail.com

**Classificação:** Estudo dos aspectos de segurança em nanotecnologia.

### Resumo

A crescente utilização de nanopartículas (NPs) em cosméticos, tintas, nanotubos de polímero e, até mesmo, em medicamentos criou a necessidade do conhecimento a respeito da segurança de seu uso. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos de NPs de dióxido de titânio ( $\text{TiO}_2$ ) anatase e rutilo sobre a viabilidade celular e a expressão dos genes *HIF1A*, *HSPA1A*, *PRDX1* e *SOD2* em fibroblastos bovinos cultivados *in vitro*. Após coleta de pele de dois bovinos e estabelecimento de cultura de fibroblastos em meio DMEM, as células em sub-confluência foram tratadas com NPs em 5 concentrações (0, 0,05, 0,5, 5 ou 50  $\mu\text{g/mL}$ ) e 3 tempos de incubação (24, 48 ou 72 horas). A viabilidade celular foi avaliada pelo teste de exclusão do corante azul de tripan e, exceto para o tratamento com 50  $\mu\text{g/mL}$  de  $\text{TiO}_2$  anatase por 24h, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos e os tempos de incubação. Após extração de RNA das células, a expressão dos genes alvo normalizada para o gene referência *GAPDH* foi avaliada em PCR em tempo real. Foi observada alteração da expressão gênica, porém não foi possível identificar um padrão de resposta relacionado ao aumento da concentração ou do tempo de incubação com as NPs de  $\text{TiO}_2$  anatase ou rutilo. O aumento mais marcante ocorreu na expressão do gene *PRDX1* após incubação com NPs de  $\text{TiO}_2$  anatase. Dessa maneira, concluímos que as NPs de  $\text{TiO}_2$  nas diferentes fases, concentrações e tempos de incubação não afetaram a viabilidade *in vitro* de fibroblastos bovinos, mas afetaram a expressão de genes relacionados ao estresse celular. Entretanto, novos estudos com maior tamanho amostral devem ser conduzidos para confirmação desses achados.

**Palavras-chave:** Nanotoxicologia; qPCR; *HIF1A*; *HSPA1A*; *PRDX1*; *SOD2*.

### EFFECTS OF $\text{TiO}_2$ NANOPARTICLES ON CELL VIABILITY AND GENE EXPRESSION IN BOVINE FIBROBLASTS *IN VITRO*

#### Abstract

The increased employment of nanoparticles (NPs) in cosmetics, polymer nanotubes and even in drugs made necessary to assess the safety of their use. Thus, the aim of this study was to evaluate the effects of anatase and rutile titanium dioxide ( $\text{TiO}_2$ ) NPs on cell viability and expression of *HIF1A*, *HSPA1A*, *PRDX1* and *SOD2* genes in bovine fibroblasts *in vitro* cultured. First, bovine skin from two animals was collected and fibroblasts were cultured in DMEM and treated under sub-confluence with NPs at 5 concentrations (0, 0.05, 0.5, 5 or 50  $\mu\text{g/mL}$ ) and 3 incubation periods (24, 48 or 72 hours). Cell viability evaluated by trypan blue exclusion resulted in no significant differences among experimental groups, except for 50  $\mu\text{g/mL}$  anatase  $\text{TiO}_2$  for 24h. RNA was extracted from cells and expression of target genes normalized by *GAPDH* was assessed by real time PCR. Expression of stress-related genes was affected by anatase and rutile  $\text{TiO}_2$  NP exposition. However, it was not observed a specific pattern in response to increasing NP concentrations and incubation periods. *PRDX1* gene upregulation was the strongest modification observed after treatment with anatase  $\text{TiO}_2$ . Then we conclude that  $\text{TiO}_2$  NPs in different phases, concentrations and incubation periods did not affect *in vitro* bovine fibroblast viability, but altered the expression of cellular stress-related genes. However, more studies with larger sample size should be addressed to confirm these findings.

**Keywords:** Nanotoxicology; qPCR; *HIF1A*; *HSPA1A*; *PRDX1*; *SOD2*.

## 1 INTRODUÇÃO

A nanotecnologia tem desenvolvido muitos avanços em diferentes áreas do conhecimento, trazendo grandes benefícios à economia, à sociedade e ao ambiente. Nesse sentido, inúmeros materiais nanométricos são desenvolvidos e comercializados. Entretanto, o conhecimento a respeito da segurança

desses produtos ainda é incipiente. Vale ressaltar que a toxicidade dos nanomateriais e o risco ao ambiente e à saúde não dependem somente de seu tamanho, mas também do número total, da área de superfície e da dose (PITKETHLY, 2004) e, por isso, é necessária a realização de estudos nanotoxicológicos sob diferentes condições experimentais.

As nanopartículas (NPs) de dióxido de titânio ( $\text{TiO}_2$ ) são usadas em tintas, fármacos, corantes de alimentos, cosméticos e implantes, gerando possível dano às células adjacentes (ALLOUNI et al., 2012). Dependendo da origem, as NPs de  $\text{TiO}_2$  podem variar em tamanho, formato, morfologia, potencial-z e ponto isoelétrico, com diferentes consequências para o processo da absorção pelas células e citotoxicidade (ALLOUNI et al., 2012). O  $\text{TiO}_2$  pode existir em 3 fases cristalográficas: rutilo, anatase e brookite (COSTA et al., 2006). A fase anatase apresenta maior atividade fotocatalítica em relação à fase rutilo.

Uma maneira de estudar a nanotoxicidade *in vitro* é por meio da exposição de células em cultivo a nanocompostos e avaliação das modificações decorrentes. Dentre os tipos celulares passíveis de cultivo *in vitro*, o fibroblasto é um dos mais utilizados, por se tratar da célula mais comum do tecido conjuntivo animal. Os fibroblastos sintetizam a matriz extracelular e o colágeno que são as bases estruturais dos tecidos. A resposta celular frente à exposição a NPs pode ser avaliada pelas mudanças resultantes na expressão gênica, por meio de PCR quantitativo (qPCR). Vários genes podem ser afetados, mas os genes relacionados ao estresse celular podem ser considerados como potenciais candidatos para estudo. O gene *HIF1A* funciona como um regulador global da homeostase de oxigênio; o gene *HSPA1A* codifica uma proteína “heat shock” de 70kDa; o gene *PRDX1* está envolvido na regulação redox da célula, eliminando peróxidos gerados pelo metabolismo; e o gene *SOD2*, membro da família do ferro/manganês superóxido dismutase, codifica uma proteína mitocondrial que se liga ao superóxido e converte-o em peróxido de hidrogênio e oxigênio.

Assim, a estratégia de avaliação de genes candidatos relacionados a respostas de estresse oxidativo (*HIF1A*, *SOD2* e *PRDX1*) e térmico (*HSPA1A*) e à produção de citocinas (*PRDX1*) pode fornecer indícios dos mecanismos iniciais de resposta à exposição a NPs de  $\text{TiO}_2$  de maneira a facilitar a compreensão dos efeitos celulares promovidos pelas mesmas.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Amostras de pele de dois bovinos foram coletadas em abatedouro e cultivadas em meio DMEM suplementado com 10% de soro fetal bovino e 1% de antibiótico-antimicótico a 37°C, 5%  $\text{CO}_2$  e umidade máxima. As células foram expostas às NPs na terceira passagem.

A NPs de  $\text{TiO}_2$  foram autoclavadas a 121°C durante 15 min e dispersas em água por sonicação no Qsonica – Q700 por 1 minuto, a 4°C e amplitude 70. A partir da solução inicial de 1 mg/mL, as NPs foram diluídas imediatamente em meio DMEM, e os fibroblastos foram incubados com  $\text{TiO}_2$  anatase ou rutilo às concentrações de 0 (controle), 0,05, 0,5, 5 ou 50  $\mu\text{g/mL}$  por 24, 48 ou 72 horas.

Foi determinado o índice de proliferação celular, por meio da razão entre o número de células obtidas ao final do cultivo (N) pelo número inicial de células plaqueadas ( $N_0$ ): razão  $N/N_0$ . O efeito das NPs sobre a viabilidade celular foi avaliado pelo teste de exclusão do corante azul de tripan. As diferenças entre os grupos experimentais foram comparadas por ANOVA seguida pelo teste de Tukey, à significância de 5%.

Para avaliação da expressão gênica, o RNA total das células foi extraído com Trizol® (Invitrogen) e quantificado em NanoDrop. Após tratamento com DNase, 1  $\mu\text{g}$  do RNA foi destinado à transcrição reversa com 200 U da enzima SuperScript III (Invitrogen) para obtenção do cDNA. Os estudos foram realizados em duplicata no ABI Prism 7500 (Applied Biosystems) em reação de 20  $\mu\text{L}$  com Power SYBR Green® PCR Master Mix (Applied) e 0,06  $\mu\text{M}$  de cada primer. Para os genes alvo e referência, os primers utilizados nas qPCR foram: *HIF1A* (5'-TGAAGGCACAGATGAATTGCTT-3' e 5'-GTTCAAACACTGAGTTAATCCCATGTATTT-3'); *HSPA1A* (5'-AGCAGGTGTGTAACCCCA-TC-3' e 5'-ACATGAGCAATCCAGGGAAG-3'); *PRDX1* (5'-ACCTGGCATGGATCAACACA-3' e 5'-GCCCCTGAATGAGATGCCTT-3'); *SOD2* (5'-GGCGTCCACCATGTTGTC-3' e 5'-ATGATCT-GCGCGTTGATGT-3'); e *GAPDH* (5'-GCGTGAACCACGAGAAGTATAA-3' e 5'-CCCTCCACGATGCCAAAGT-3').

Para mensurar as diferenças significativas a 5%, a expressão dos genes alvo foi normalizada pelo gene referência *GAPDH* e avaliada no *Relative Expression Software Tool*.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Proliferação e viabilidade celular

Em relação à proliferação celular, não foi observado efeito ( $p > 0,05$ ) de concentração ou interação concentração x tempo de incubação. O efeito de tempo de incubação sobre a razão N/No foi significativo ( $p < 0,05$ ) para  $\text{TiO}_2$  anatase por 48h (média de 9,82) em comparação a 24h e 72h (3,05 e 3,78, respectivamente); e para  $\text{TiO}_2$  rutilo entre 48h (7,81) e 72h (3,84), ambos semelhantes ( $p > 0,05$ ) a 24h (6,01).

Os resultados médios de viabilidade celular estão apresentados na Figura 1. Foi observado efeito ( $p < 0,05$ ) de tempo de incubação com as NPs de  $\text{TiO}_2$  anatase, com menor viabilidade celular no período de 24h em comparação a 48h e 72h (Figura 1). Isso ocorreu devido à baixa viabilidade celular (95,1%) observada no tratamento com 50  $\mu\text{g/mL}$  de  $\text{TiO}_2$  anatase por 24h. Para os demais grupos experimentais, não foram observados efeitos ( $p > 0,05$ ) de concentração, tempo de incubação ou interação concentração x tempo de incubação sobre a viabilidade (Figura 1).

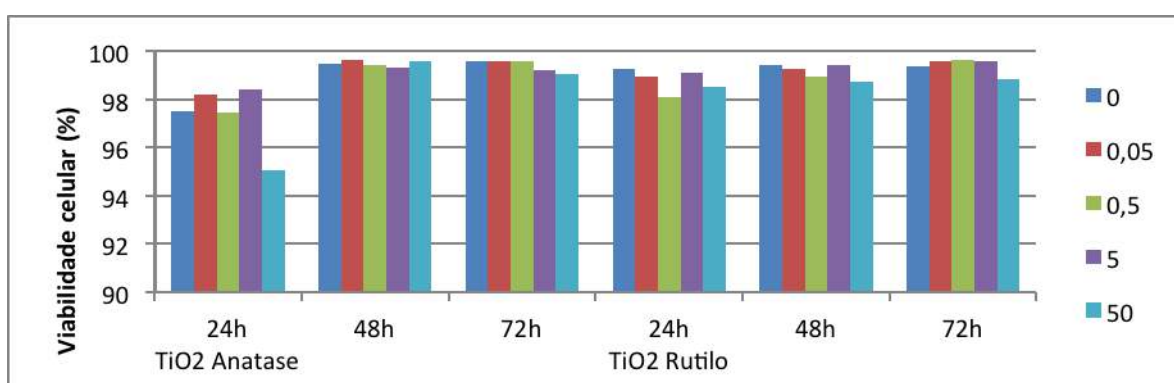


Figura 1. Viabilidade celular.

Assim, a incubação de fibroblastos com até 50  $\mu\text{g/mL}$  de  $\text{TiO}_2$  anatase ou rutilo não resultou em diminuição da viabilidade celular. Bernier et al. (2012) reportaram diminuição no número de células de fibroblastos de maneira proporcional ao aumento da concentração NPs de  $\text{TiO}_2$ , principalmente de 500 a 1000  $\mu\text{g/mL}$ , e do tempo de incubação, evidenciando efeito de dose para a citotoxicidade.

#### 3.2 Expressão gênica relativa

As análises de expressão gênica foram realizadas nas amostras tratadas com  $\text{TiO}_2$  anatase por 72h; e  $\text{TiO}_2$  rutilo por 24h e 72h (Figura 2). Observamos que a incubação com as NPs de  $\text{TiO}_2$  anatase e rutilo em diferentes concentrações e tempos de incubação promoveram alteração da expressão dos genes *HIF1A*, *HSPA1A*, *PRDX1* e *SOD2*. Entretanto, não foi observado padrão específico em relação ao aumento da concentração ou do tempo de incubação com as NPs. Aumento de expressão dos genes *HSP70.1* e *PRDX1* já foi detectada após exposição a 2 a 5  $\text{mg/mL}$  de nanofibras de celulose de algodão (PEREIRA et al., 2013).

Dos resultados obtidos, o grande aumento de expressão (22,6x a 33,7x) do gene *PRDX1* nas células expostas a todas as concentrações de  $\text{TiO}_2$  anatase merece ser melhor investigado, uma vez que esse gene não foi afetado por NPs de  $\text{TiO}_2$  rutilo, exceto a diminuição observada em 50  $\mu\text{g/mL}$  por 24h. Outra interessante observação é que em relação a exposição a  $\text{TiO}_2$  por 72h, para as NPs anatase, os genes afetados tiveram aumento de expressão, enquanto para as NPs rutilo, diminuição de expressão.

Uma vez que foram usados fibroblastos de dois animais diferentes e que essas amostras apresentaram bastante variação individual em resposta à exposição às NPs, sugere-se que novos experimentos sejam realizados com maior número amostral. Além disso, é possível que os mecanismos de resposta celulares desencadeados pelas NPs de  $\text{TiO}_2$  sejam dependentes do *background* genético de cada indivíduo.

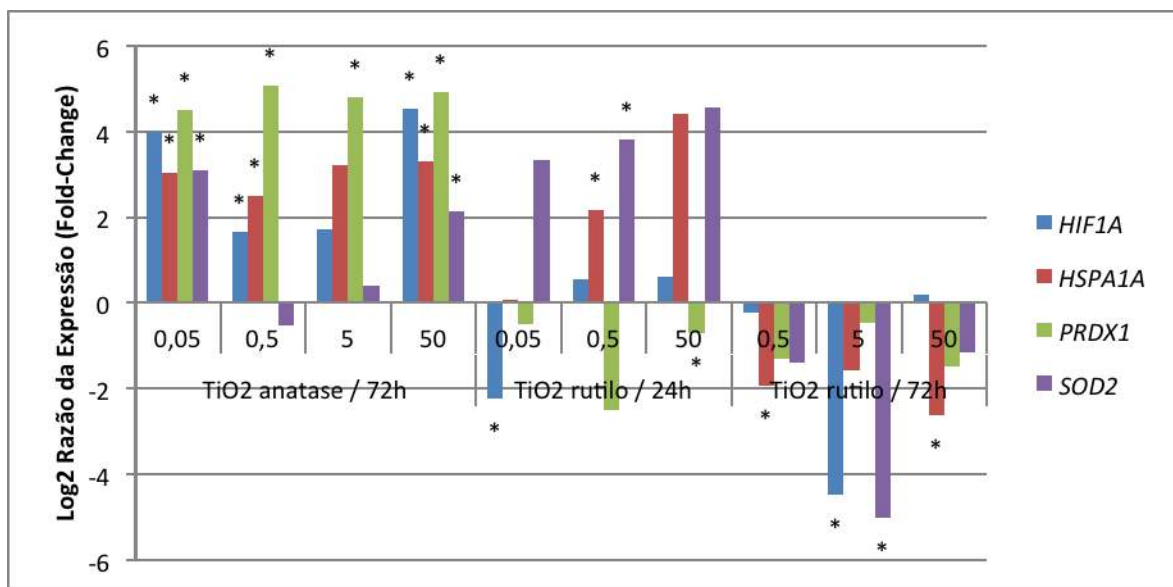


Figura 2. Expressão gênica. \*Diferença significativa ( $p < 0,05$ ) em relação ao grupo controle.

#### 4 CONCLUSÃO

As concentrações de TiO<sub>2</sub> anatase e rutilo utilizadas neste estudo (até 50 µg/mL) não resultaram em diminuição da viabilidade celular de fibroblastos bovinos cultivados *in vitro*.

A exposição a nanopartículas de TiO<sub>2</sub> anatase ou rutilo afetou a expressão de genes relacionados a estresse celular, mas não foi possível observar padrão específico de alteração.

Marcante aumento da expressão do gene *PRDX1* foi observado após exposição a TiO<sub>2</sub> anatase, mas não a TiO<sub>2</sub> rutilo.

A grande variação individual na expressão gênica permite supor que há diferenças de susceptibilidade dos indivíduos aos tratamentos com NPs de TiO<sub>2</sub> e que estudos dessa natureza devem ser realizados com maior número de repetições biológicas.

#### AGRADECIMENTOS

Apoio financeiro Embrapa - MP1 (Rede AgroNano) e bolsa PIBIC/CNPq.

#### REFERÊNCIAS

ALLOUNI, Z. E.; HØL, P. J.; CAUQUI, M. A.; GJERDET, N. R.; CIMPAN, M. R. Role of physicochemical characteristics in the uptake of TiO<sub>2</sub> nanoparticles by fibroblasts. *Toxicology in Vitro*, Oxford, v. 26, n. 3, p. 469-479, 2012.

BERNIER, M. C.; EL KIRAT, K.; BESSE, M.; MORANDAT, S.; VAYSSADE, M. Preosteoblasts and fibroblasts respond differently to anatase titanium dioxide nanoparticles: A cytotoxicity and inflammation study. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, Amsterdam, v. 90, p.68- 74, 2012.

COSTA, A. C. F. M.; VILAR, M. A.; LIRA, H. L.; KIMINAMI, R. H. G. A.; GAMA, L. Síntese e caracterização de nanopartículas de TiO<sub>2</sub>. *Cerâmica*, São Paulo, v. 52, p. 255-259, 2006.

PEREIRA, M. M.; RAPOSO, N. R. B.; BRAYNER, R.; TEIXEIRA, E. M.; OLIVEIRA, V.; QUINTÃO, C. C. R.; CAMARGO, L. S. A.; MATTOSO, L. H. C.; BRANDÃO, H. M. Cytotoxicity and expression of genes involved in the cellular stress response and apoptosis in mammalian fibroblast exposed to cotton cellulose nanofibers. *Nanotechnology*, Bristol, v. 24, n.7, p. 075103, 2013.

PITKETHLY, M. J. Nanomaterials – the driving force. *Nano Today*, Kidlington, v. 7, n. 12, p. 20-29, 2004.

## TOXICIDADE EM ALGAS *P. SUBCAPITATA* EXPOSTAS À NANOPARTÍCULAS DE PRATA ESTABILIZADAS COM PVA

\*Aline A. Becaro<sup>1,2</sup>, Claudio M. Jonsson<sup>3</sup>, Fernanda C. Puti<sup>1,2</sup>, Maria Célia Siqueira<sup>2</sup>, Luiz H. C. Mattoso<sup>2</sup>, Daniel S. Correa<sup>1,2</sup>, Marcos D. Ferreira<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de São Carlos, UFSCar. <sup>2</sup> EMBRAPA Instrumentação, São Carlos, SP.

<sup>3</sup> EMBRAPA Meio Ambiente, Jaguariúna, SP.

\*alibecaro@hotmail.com

**Classificação:** Estudo dos aspectos de segurança em nanotecnologia.

### Resumo

Ao longo dos anos, tem havido um aumento significativo na fabricação de produtos à base de nanopartículas de prata, principalmente devido à sua atividade antimicrobiana, com aplicação na medicina e na indústria têxtil e de alimentos. No entanto, o uso inadequado e descarte desses materiais pode permitir a entrada de nanopartículas de prata (AgNP) no meio aquático, resultando em potenciais efeitos toxicológicos. Neste estudo, utilizamos *Pseudokirchneriella subcapitata* como organismo modelo para investigar a toxicidade de AgNP em vários níveis de concentração. AgNP foram caracterizados físico-quimicamente por UV-Vis e Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET). AgNP apresentou um máximo de absorção a 400 nm e de dimensão compreendida entre 2 e 18 nm. As concentrações expostas de AgNP seguiram protocolo padronizado. O valor de  $CE_{50}$  encontrado foi de  $1,09 \text{ mgL}^{-1}$  ficou dentro do reportado pela literatura.

**Palavras-chave:** Prata; Nanopartícula; Toxicidade; Algas

### TOXICITY OF PVA-STABILIZED SILVER NANOPARTICLES TO ALGAE

#### Abstract

Over the years there has been a significant increase in the manufacturing of silver nanoparticles-based products, mainly due to their antimicrobial activity, with application in medicine and textile and food industry. However, the inappropriate use and disposal of these materials can allow the entry of silver nanoparticles (AgNP) compounds into the aquatic environment, with potential toxicological effects. In this study we have used *Pseudokirchneriella subcapitata* as model organism to investigate the toxicity of AgNP at several concentration levels. AgNP were physico-chemically characterized by UV-Vis spectroscopy and Transmission Electron Microscopy (TEM). AgNP presented a maximum absorption at 400 nm and size range between 2 and 18 nm. Each specific organism was exposed to AgNP concentrations through standardized protocol. For *P. subcapitata* the  $EC_{50}$  value found was  $1.09 \text{ mgL}^{-1}$  were in accordance to previous results reported in the literature.

**Keywords:** Silver; Nanoparticle; Toxicity; Algae.

## 1 INTRODUÇÃO

As nanopartículas têm propriedades de interesse em diversas aplicações tecnológicas, há na literatura, vários estudos que demonstram as propriedades benéficas de nanopartículas metálicas (Chen e Schluesener, 2008; Durán *et al.*, 2010). No entanto, estas partículas metálicas podem apresentar características indesejáveis quando liberadas acima de concentrações específicas em ambientes aquáticos e terrestres, atingindo diversas espécies (Jo *et al.*, 2012; Kwok *et al.*, 2012). O aumento da produção e consumo de produtos que contenham AgNP, podem levar à liberação dessas nanopartículas metálicas no ambiente, desde a etapa de síntese até no uso final do produto por parte dos consumidores (Ribeiro *et al.*, 2014). A prata em água doce natural pode ser encontrado na forma de cloreto de prata (AgCl), sulfeto de prata (Ag<sub>2</sub>S) e a forma iônica (Ag<sup>+</sup>), sendo esta a forma mais tóxica (Ribeiro *et al.*, 2014). Segundo uma pesquisa recente (Batley, Kirby e McLaughlin, 2012) a concentração ambiental prevista de prata em água doce já chega a valores em torno de  $0.03\text{-}0.32 \mu\text{g L}^{-1}$ , porém esse valor está aumentando no ambiente aquático e pode vir a promover danos à biota (Batley, Kirby e McLaughlin, 2012). Há muitas razões que podem explicar a toxicidade das AgNPs quando encontrada acima de níveis críticos no ambiente aquático. Um dos motivos é a elevada razão área superficial/volume das nanopartículas, o que resulta em uma maior taxa de dissolução, aumentando a toxicidade em ambiente aquático (Angel

*et al.*, 2013). No entanto, o pouco conhecimento sobre o comportamento das AgNPs no ambiente torna necessário estudos e avaliações da toxicidade de AgNPs de diferentes tamanhos e concentrações, para diferentes espécies aquáticas (Ribeiro *et al.*, 2014). O objetivo deste trabalho foi avaliar a toxicidade de AgNP para o crescimento da alga *P. subcapitata*.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Preparação das AgNPs

Foi empregada a técnica de redução química a partir do  $\text{AgNO}_3$  em meio aquoso. Água deionizada foi utilizada para preparar as soluções de álcool polivinílico (PVA - agente estabilizador) e  $\text{AgNO}_3$ , utilizando borohidreto de sódio ( $\text{NaBH}_4$ ) como agente redutor (BERNI NETO *et al.*, 2008). Aliquotas desta solução foram retiradas e diluídas em água deionizada obtendo-se as concentrações: 0,0;  $1,5 \times 10^{-4}$ ;  $1,5 \times 10^{-3}$ ;  $1,5 \times 10^{-2}$ ;  $1,5 \times 10^{-1}$ ; 1,5. Os reagentes utilizados foram obtidos da Aldrich® e usados sem purificação adicional. A síntese pode ser resumida da seguinte maneira: 60 mM de PVA foi adicionado em 10 ml de uma solução de 5 mM de nitrato de prata, cuja mistura foi mantida em agitação durante 5 min. Em seguida, foi adicionado 5 ml de uma solução de  $\text{NaBH}_4$ , e deixada sob agitação magnética durante 15 min. No final da síntese, obteve-se uma solução de cor amarela, a qual é um indicativo da formação de nanopartículas. As soluções de concentrações foram na sequência colocadas em contato com a alga. As mesmas concentrações de uma solução de  $\text{NaBH}_4$  foram utilizadas como controle.

### 2.2 Caracterização das nanopartículas obtidas na síntese

#### 2.2.1 Medição do tamanho das partículas

As AgNPs também foram analisadas por um Microscópio Eletrônico de Transmissão (MET) - (FEI Tecnai G2 F20), utilizando tensão de aceleração de 200 kV. Uma gota de solução AgNP foi adicionada em uma grade de cobre revestida de carbono e o excesso de solução foi removido com papel de filtro. A grade permaneceu protegida da luz com o auxílio de uma folha de papel de alumínio e mantido em condições de temperatura ambiente. O programa *Image J* foi utilizado para determinar o tamanho e a polidispersão de AgNP.

### 2.3 Organismos teste expostos as diferentes concentrações de AgNP

#### 2.3.1 *Pseudokirchneriella subcapitata*

A alga unicelular *Pseudokirchneriella subcapitata* (antigamente chamada de *Selenastrum capricornutum*) foi utilizada como organismo teste sendo cultivadas em conformidade com a metodologia recomendada pela Organização para a Cooperação Econômica e Desenvolvimento (OCDE), de 2011, em câmaras climáticas com temperatura controlada de  $20 \pm 2$  °C e luminosidade de  $\sim 1.300$  lux. A suspensão de algas foi distribuída em placas de Petri (volume final de 15 mL), obtendo-se uma concentração de aproximadamente  $10^5$  células  $\text{ml}^{-1}$ . As algas foram expostas durante 7 dias nas concentrações da solução AgNP, sendo também avaliadas soluções isentas de AgNP, como controle. Periodicamente, alíquotas foram retiradas das suspensões de algas para medidas de absorvância em 750 nm utilizando um espectrofotômetro UV-Vis1650 PC Shimadzu, uma vez que a absorvância é proporcional à concentração de células. O cálculo da concentração que inibe o crescimento de algas em 50% ao longo de 7 dias ( $\text{CE}_{50}$ -7d) baseou-se na inibição relativa da taxa de crescimento em função da concentração ( $\text{mgL}^{-1}$ ) de AgNPs. Para o cálculo das taxas de crescimento específico foram utilizados os valores da inclinação linear das respectivas curvas de aumento da absorvância em função do tempo (log Abs vs dias, OECD, 2011). Os dados foram tratados pelo módulo de regressão simples utilizando o software Statgraphics Plus (Manugistics, 2001), o que permitiu o cálculo de  $\text{CE}_{50}$ -7d e intervalo de confiança de 95%, determinando o modelo de regressão que melhor representa os resultados.



### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

A imagem de MET das AgNP é mostrada na Figura 1a, revelando que a morfologia primária das nanopartículas é esférica. Pode ser observado que as nanopartículas estão bem dispersas, sem agregação e possuem tamanho de partícula entre 2 e 18 nm (Figura 1b). A maioria das nanopartículas de diferentes tamanhos não é agregada devido à estabilização fornecida pelo polímero PVA. O histograma de distribuição de tamanho de partícula de AgNP correspondentes são dadas na Figura 1b. A linha sólida é o ajuste log normal de dados, o que resultou em diâmetros de 8,62 e desvio de 0,52.

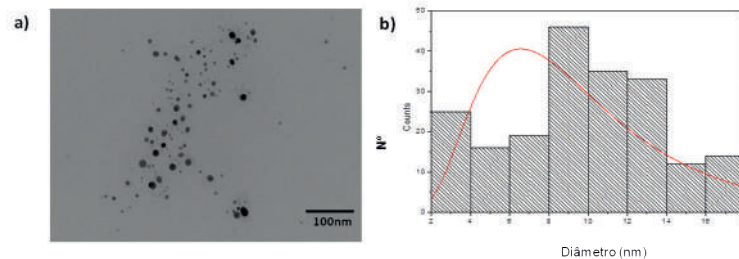


Figura 1. a) Imagem de MET das nanopartículas de Ag e (b) histograma de tamanho das AgNP.

#### 3.2 *Pseudokirchneriella subcapitata*

Na Figura 2 na comparação das curvas é sugerido que a solução de concentração  $1,5 \times 10^{-1} \text{ mg L}^{-1}$  foi a que mais afetou *P. subcapitata*, inibindo o crescimento da alga substancialmente quando comparado com as outras concentrações. Os dados mostram que em dois dias de exposição há um decréscimo no valor de absorvância e nos dias que se seguem há um aumento destes valores de absorvância (e conseqüentemente do crescimento de *P. subcapitata*), mas não excedendo 0,05. No entanto, quando foi calculada a taxa de crescimento específico, obtida pela inclinação da curva de log Abs versus tempo (OECD, 2011), a menor taxa de crescimento específico foi observado para a concentração de  $1,5 \text{ mg L}^{-1}$  comparativamente com  $1,5 \times 10^{-1} \text{ mg L}^{-1}$ . Assim, as taxas de crescimento específicas calculados foram 0,039 e 0,054  $\log \text{ Abs}_{750\text{nm}} \text{ d}^{-1}$ , respectivamente. As concentrações de  $1,5 \times 10^{-2} \text{ mg L}^{-1}$ ,  $1,5 \times 10^{-3} \text{ mg L}^{-1}$  e  $1,5 \times 10^{-4} \text{ mg L}^{-1}$  mostraram comportamento semelhante ao controle, não interferindo na taxa de crescimento específica da alga, apresentando taxas na ordem de 0,08-0,09  $\log \text{ Abs}_{750\text{nm}} \text{ d}^{-1}$ . A AgNP utilizado neste trabalho mostrou baixa toxicidade em comparação com (Ribeiro *et al.*, 2014), que obteve  $\text{CE}_{50}$   $3,24 \times 10^{-2} \text{ mg L}^{-1}$  de AgNP com 7,5 nm para *P. subcapitata*. Angel e colaboradores (Angel *et al.*, 2013) obtiveram  $\text{CE}_{50}$  de  $1,95 \times 10^{-2} \text{ mg L}^{-1}$  ao se usar AgNP revestidas com PVP e dimensões entre 9,9 e 20 nm.

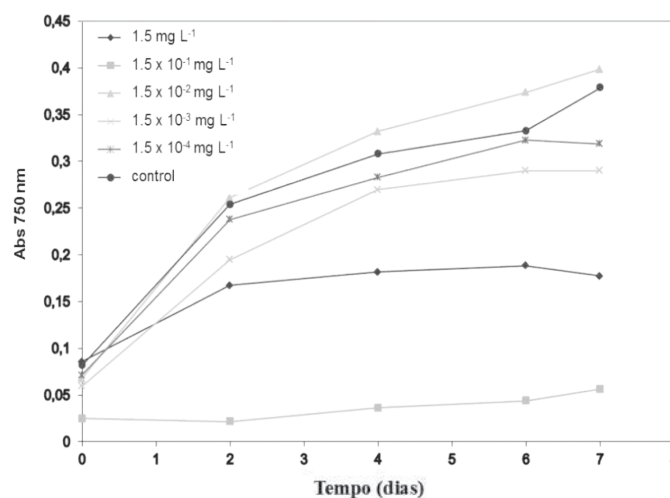


Figura 2. Absorbância em 750 nm da suspensão de algas em função do tempo de exposição (7 dias) para as diferentes concentrações de AgNP.

#### 4 CONCLUSÃO

A toxicidade dos metais, em especial das nanopartículas metálicas, é largamente afetado por parâmetros de qualidade de água, tais como pH, temperatura e composição orgânica. Considerando as aplicações tecnológicas de AgNP, as investigações sobre os seus efeitos para organismos aquáticos são importantes para estabelecer protocolos para o uso e descarte adequado de AgNP sobre o meio ambiente, minimizando assim possíveis efeitos tóxicos.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a CNPq, MCTI, FAPESP, CAPES, FINEP e Embrapa

#### REFERÊNCIAS

CHEN X, SCHLUESENER H. Nanosilver: a nanoproduct in medical application. *Toxicology letters* 2008; 176: 1-12.

DURÁN N, MARCATO PD, CONTI RD, ALVES OL, COSTA F, BROCCHI M. Potential use of silver nanoparticles on pathogenic bacteria, their toxicity and possible mechanisms of action. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 2010; 21: 949-959.

JO HJ, CHOI JW, LEE SH, HONG SW. Acute toxicity of Ag and CuO nanoparticle suspensions against *Daphnia magna*: The importance of their dissolved fraction varying with preparation methods. *Journal of hazardous materials* 2012; 227: 301-308.

KWOK KW, AUFFAN M, BADIREDDY AR, NELSON CM, WIESNER MR, CHILKOTIA, et al. Uptake of silver nanoparticles and toxicity to early life stages of Japanese medaka (*Oryzias latipes*): Effect of coating materials. *Aquatic Toxicology* 2012; 120: 59-66.

ANGEL BM, BATLEY GE, JAROLIMEK CV, ROGERS NJ. The impact of size on the fate and toxicity of nanoparticulate silver in aquatic systems. *Chemosphere* 2013; 93: 359-365.

BATLEY GE, KIRBY JK, MCLAUGHLIN MJ. Fate and risks of nanomaterials in aquatic and terrestrial environments. *Accounts of chemical research* 2012; 46: 854-862.

BERNI NETO E, RIBEIRO C, ZUCOLOTTO V. Síntese de nanopartículas de prata para aplicação na sanitização de embalagens. Embrapa Instrumentação Agropecuária. Comunicado Técnico 2008.

RIBEIRO F, GALLEGU-URREA JA, JURKSCHAT K, CROSSLEY A, HASSELLÖV M, TAYLOR C, et al. Silver nanoparticles and silver nitrate induce high toxicity to *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Daphnia magna* and *Danio rerio*. *Science of The Total Environment* 2014; 466-467: 232-241.

ORGANIZATION FOR ECONOMIC COOPERATION AND DEVELOPMENT. Guidelines for the testing of chemicals – Freshwater Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test. OECD guidelines for testing of chemicals 201, Paris, France, 2011.

---

## ESTUDO DE CITOTOXICIDADE DAS NANOFIBRAS DE PVA/TiO<sub>2</sub> EM CÉLULAS DE FIBROBLASTOS BOVINOS

**\*Rodrigo Guerreiro Fontoura Costa<sup>1</sup>, Michele Munk Pereira<sup>2</sup>, Humberto de Mello Brandão<sup>2</sup>, Caue Ribeiro<sup>1</sup>, Luiz Henrique Capparelli Mattoso<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Laboratório Nacional de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio, Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP. <sup>2</sup>Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG.

\*guerreiro\_rodrigo@yahoo.com.br

**Classificação:** Estudo dos aspectos de segurança em nanotecnologia.

### Resumo

Nanofibras de PVA e PVA/TiO<sub>2</sub> anatase com diâmetros de aproximadamente 100 nm foram preparadas *via* eletrofição. Testes preliminares de citotoxicidade em células de fibroblastos bovinos com as nanofibras foram realizados pelo método do contato direto. As imagens de microscopia ótica indicaram que estes materiais não possuem efeito citotóxico.

**Palavras-chave:** Nanofibras; Eletrofição; Citotoxicidade; Fibroblastos bovinos.

### STUDY OF PVA/TiO<sub>2</sub> NANOFIBER CYTOTOXICITY IN BOVINE FIBROBLAST CELLS

#### Abstract

Nanofibers of PVA and PVA/TiO<sub>2</sub> anatase with diameters of about 100 nm were prepared by the electrospinning technique. Preliminary cytotoxicity tests on bovine fibroblast cells with the nanofibers were performed by the direct contact method. The optical microscopy images indicated that these materials did not have a cytotoxic effect.

**Keywords:** Nanofibers; Electrospinning; Cytotoxicity; Bovine fibroblasts

## 1 INTRODUÇÃO

Os polímeros biocompatíveis que podem ser utilizados para o contato com meios biológicos são muito interessantes para aplicações biomédicas e médicas-veterinárias, como por exemplo, curativos superficiais [1,2]. A aplicação destes materiais como nanofibras permite aumentar em muito a área de contato, a adesibilidade superficial e a movimentação de fluidos, o que faz que não-tecidos de nanofibras sejam excelentes candidatos para estas aplicações. [1,2]. Além disso, a incorporação de nanopartículas inorgânicas, como o dióxido de titânio anatase (TiO<sub>2</sub>), pode resultar em nanocompósitos com propriedades bactericidas, melhores propriedades térmicas e mecânicas, e alterar a permeação de líquidos e gases na estrutura das fibras [1]. Assim, dentre os materiais de grande interesse, nanocompósitos de poli(álcool vinílico) (PVA) com nanopartículas de TiO<sub>2</sub> são bons candidatos para tais aplicações. O objetivo deste trabalho foi realizar testes de citotoxicidade em células de fibroblastos bovinos com as nanofibras de PVA e PVA/TiO<sub>2</sub> anatase.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

As soluções de PVA e PVA/TiO<sub>2</sub> (20 %) (massa /massa) foram eletrofiadas nas condições de 2,0 KV.cm<sup>-1</sup>, 1,2 mL.h<sup>-1</sup> e 180 rpm [1]. As micrografias das nanofibras foram obtidas utilizando-se um microscópio eletrônico de varredura marca JEOL (modelo JSM -6510).

O teste de citotoxicidade com as nanofibras de PVA e PVA/TiO<sub>2</sub> (20%) foi feito utilizando o método de contato direto, com adaptação da ISO 10993-5 (2009) [3] e baseando-se na metodologia descrita por NOZAKI *et al.* [4]. Em uma capela de fluxo laminar preparou-se 100 mL de meio de cultura para fibroblasto bovino, contendo: 87 mL de DMEM (*Dulbecco's Modified Eagle Medium*), 10 mL de SFB (soro fetal bovino, 10%), 1 mL de L- Glutamina (2 mM), 1 mL de Piruvato de Sódio (1 mM) e 1mL de *Pen/Strep* (1%). As células de fibroblastos bovinos (linhagem 3446 GIR) foram colocadas dentro de um tubo falcon de 15 mL com 5 mL de DMEM, este material foi centrifugado na rotação de 10 RPM e o sobrenadante foi descartado. As células foram colocadas numa placa de cultivo celular estéril (60 mm) com DMEM. Esta placa foi colocada na estufa a 37 °C e 5,0% de CO<sub>2</sub>.

Depois de 2 dias, as células atingiram 100% de confluência e foram tripsinizadas para uma placa de cultivo celular (100 mm), a qual foi lavada com 4 mL de PBS Ca Mg *Free*. Assim, colocou-se 1,5 mL de tripsina na placa para as células se destacarem por 2 minutos. Ao final desse tempo, adicionou-se 3 mL de DMEM na placa, o qual foi transferido para um tubo falcon de 15 mL e centrifugado a 10-11 RPM por 5 minutos. O *pellet* foi retirado e ressuscitado, e em seguida, foi transferido para placa de cultivo celular (100 mm), com 9 mL de DMEM e 1 mL das células, a placa foi colocada na estufa de CO<sub>2</sub>.

Após 48 horas, as células de fibroblastos atingiram 100% de confluência e foram plaqueadas em duas placas de 6 poços, 26x10<sup>4</sup> células/mL preparada em 0,85 µl por poço, mais 1,415 mL de meio completo. As placas contendo as nanofibras de PVA e PVA/TiO<sub>2</sub> (20%) foram colocadas na estufa à 37 °C com 5% de CO<sub>2</sub> por 24 horas. Antes de colocar as nanofibras, foi retirado o sobrenadante dos poços para somente depois adicionar os nanomateriais [4]. Após os ensaios de citotoxicidade foram obtidas as

imagens das amostras com um Microscópio Primovert (Zeiss) com aumentos de 200x.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Microscopia Eletrônica de Varredura

As Figuras 1a e 1b apresentam as micrografias obtidas por MEV das nanofibras de PVA e PVA/TiO<sub>2</sub> anatase (20 %), onde verifica-se que no nanocompósito (Fig. 1b) existem algumas contas (*beads*), as quais devem-se provavelmente a presença de alguns aglomerados das nanopartículas de TiO<sub>2</sub> nas soluções aquosas eletrofiadas.

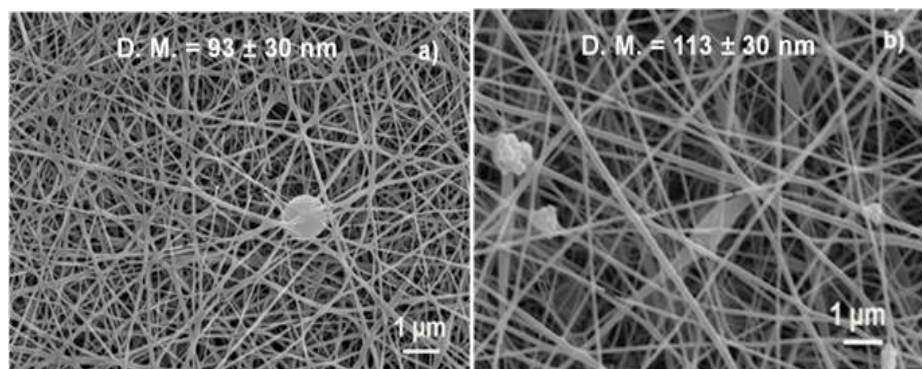


Figura 1. Micrografias obtidas por MEV das nanofibras: a) PVA, b) PVA/TiO<sub>2</sub> anatase (20 %).

#### 3.2 Testes de Citotoxicidade em Fibroblastos Bovinos pelo Método do Contato Direto e Imagens de Microscopia Ótica

Nas Figuras 2a – c estão apresentadas as imagens obtidas após a exposição das células de fibroblastos bovinos por contato direto com o controle negativo, controle positivo e com a amostra de PVA/TiO<sub>2</sub> (20 %). As células foram coradas por 56 horas com o corante cristal violeta para uma melhor visualização das mesmas.

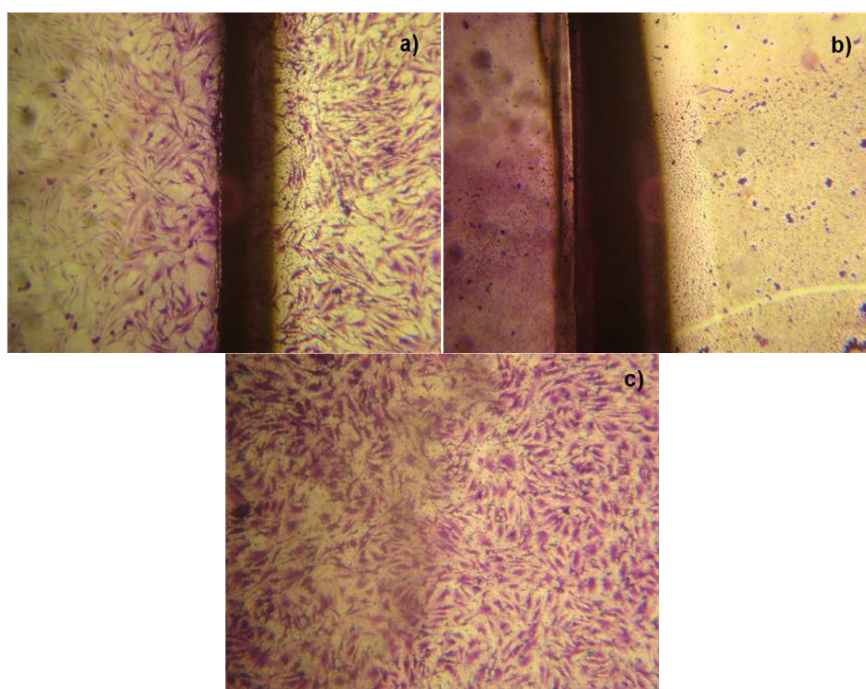


Figura 2. Imagens de microscopia ótica: a) controle negativo (polietileno de alta densidade, PEAD), b) controle positivo (PEAD + 0,4% de fenol), c) nanofibra de PVA/TiO<sub>2</sub> (20 %). Aumento de 200x.

Analisando as imagens de microscopia ótica, observa-se que não houve mudança significativa na morfologia das células expostas aos nanocompósitos (Fig. 2c) em relação às células mantidas em contato com o controle negativo (Fig. 2a). Já a imagem obtida para o controle positivo (Fig. 2b) apresentou uma clara diminuição da quantidade e mudança da forma das células, passando a ter uma forma aproximadamente esférica, mostrando o efeito tóxico do fenol, como esperado. Estes resultados indicam que as nanofibras de PVA/TiO<sub>2</sub> (20 %) não possuem efeito citotóxico. JIN *et al.* [5] pesquisaram a citotoxicidade das nanopartículas de TiO<sub>2</sub> anatase frente às células de fibroblastos de camundongos (L929). Os autores verificaram que estas nanopartículas foram significativamente citotóxicas para as células de fibroblastos [5]. Logo, as nanofibras de PVA e PVA/TiO<sub>2</sub> precisam ser melhores estudadas em relação à sua toxicidade.

#### 4 CONCLUSÃO

Os testes preliminares de citotoxicidade das nanofibras de PVA e PVA/TiO<sub>2</sub> anatase frente às células de fibroblastos bovinos (linhagem 3446 GIR) indicaram que estes materiais não são citotóxicos. Entretanto, para obter resultados conclusivos, estes materiais precisam ser melhores avaliados quanto a sua toxicidade.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq, FAPESP e CAPES.

#### REFERÊNCIAS

- [1] COSTA, R. G. F.; RIBEIRO, C.; MATTOSO, L. H. C. Morphological and Photocatalytic Properties of PVA/TiO<sub>2</sub> Nanocomposite Fibers Produced by Electrospinning. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology (Print)*, v. 10, p. 5144-5152, 2010.
- [2] CHUN, J. Y.; KANG, H. K.; JEONG, L.; KANG, Y. O.; OH, J. E.; YEOC, I. S.; JUNG, S. Y.; PARK, W. H.; MIN, B. M. Epidermal cellular response to poly(vinyl alcohol) nanofibers containing silver nanoparticles. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 78, p. 334-342, 2010.
- [3] Biological evaluation of medical devices - Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity. ISO 10993-5, 2009.
- [4] NOZAKI, C. M. A.; MARQUES, F. C. R.; DINIZ, M. A. I.; MARQUES, M. M.; MARCHI, J. Avaliação da citotoxicidade de membranas de colágeno visando à aplicação como biomaterial. In: Congresso Latino Americano de Órgãos Artificiais e Biomateriais, Natal – R.N., 2012.
- [5] JIN, C. Y.; ZHU, B.S.; WANG, X.F.; LU, Q.H. Cytotoxicity of Titanium Dioxide Nanoparticles in Mouse Fibroblast Cells. *Chemical Research in Toxicology*, v. 21, p. 1871-1877, 2008.

---

## OBTENÇÃO DE HIDROXIAPATITA NANOESTRUTURADA COM APLICAÇÃO PARA FERTILIZANTE E AVALIAÇÃO DE ASPECTOS DE NANOTOXICIDADE

\*Flávia Fontes Pereira<sup>1,2</sup>, Daniel Souza Corrêa<sup>1,2</sup>, Marcos David Ferreira<sup>1,2</sup>, Elaine Cristina Paris<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Instrumentação, São Carlos, São Paulo. <sup>2</sup>Universidade Federal de São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, São Carlos, SP.

\*flabio08@gmail.com

**Classificação:** Estudo dos aspectos de segurança em nanotecnologia.

#### Resumo

O estudo tem por objetivo sintetizar e caracterizar hidroxiapatita nanoestruturada visando aplicação como nanofertilizante e avaliar a nanotoxicidade ambiental utilizando como organismo-teste a micro-

alga *Pseudokirchneriella subcapitata*. As nanopartículas de HAP foram sintetizadas pelo método de Coprecipitação seguida de Hidrotermalização por 2 horas a 150°C. Após caracterização estrutural e morfológica das nanopartículas de HAP, bioensaios de nanotoxicidade aguda foram realizados com duração de 72 horas. Os resultados mostraram que o crescimento algáceo foi inibido na amostra de HAP Coprecipitada, enquanto que na amostra de HAP Hidrotermal o crescimento foi próximo ao controle. Variações nas concentrações e no tamanho das partículas evidenciaram diferentes comportamentos para o crescimento das microalgas.

**Palavras-chave:** Nanopartículas; Fertilizante; Hidroxiapatita; Nanotoxicidade; Microalgas.

## OBTAINING HYDROXYAPATITE NANOSTRUCTURED WITH APPLICATION FOR FERTILIZER AND EVALUATION OF ASPECTS OF NANOTOXICITY

### Abstract

The study aims to synthesize and characterize nanostructured hydroxyapatite aiming their application as nanofertilizer and evaluate environmental nanotoxicity using as test organism microalgae *Pseudokirchneriella subcapitata*. HAP nanoparticles were synthesized by Coprecipitation method followed by Hydrothermalization in 2 hours at 150°C. After structural and morphological characterization of the nanoparticle PAH, bioassay of acute nanotoxicity were carried with duration of 72 hours. The results showed that the algal growth was inhibited in the sample of Coprecipitated PAH, while for the sample of PAH Hydrothermal growth was close to the control. Changes in the concentrations and particle size showed different behaviors for the development of algae.

**Keywords:** Nanoparticles; Fertilizer; Hydroxyapatite; Nanotoxicity; Microalgae.

## 1 INTRODUÇÃO

Com o crescimento da indústria de nanomateriais manufaturados surgiu a preocupação sobre a possibilidade da entrada destes no meio ambiente, ocasionando impacto final para a biota. Quando inseridos no ambiente natural, os nanomateriais sofrem alterações no tamanho da partícula, na forma, na carga de superfície e no controle crítico da biodisponibilidade (BATLEY *et al.*, 2011). Estrutura, composição, concentrações, solubilidade e maior área superficial influenciam na toxicidade de nanopartículas (TAYLOR, K. M. and BANFIELD, J. F., 2006; MAYO *et al.*, 1999).

As nanopartículas de hidroxiapatita (HAP) que podem atuar como fertilizante nanoestruturado são uma alternativa promissora para substituir os fertilizantes convencionais uma vez que apresentam inúmeras vantagens, dentre elas, regular a liberação de nutrientes, além de serem mais eficientes que os adubos convencionais, amenizarem a produção de resíduos, e conseqüentemente os custos de proteção ambiental (TARAFDAR, *et al.*, 2013; CHINNAMUTHU and MURUGESA BOOPATHI, 2009).

Gong *et al.* (2011) evidencia que em nanotoxicologia, a toxicidade nos recursos hídricos é consideravelmente mais vulnerável à contaminação por nanomateriais, apresentando grande potencial tóxico, especialmente para as microalgas. Aruoja (2009 e 2011) e Oliveira (2007) relatam que as microalgas são de grande importância ecológica como produtores primários na cadeia trófica aquática.

Portanto, a presente pesquisa tem por objetivo sintetizar, caracterizar a HAP nanoestruturada como nanofertilizante e investigar em sua totalidade o seu comportamento quando disposta no ambiente aquático e os efeitos tóxicos gerados para a microalga *Pseudokirchneriella subcapitata*.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

As nanopartículas de HAP foram obtidas empregando-se o método de Coprecipitação por via úmida. Desta maneira, foram feitas suspensões baseadas na hidrólise do sal dos íons de interesse ( $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{P}^{5+}$ ). Inicialmente, foram preparadas soluções aquosas de nitrato de cálcio e de fosfato de amônio. A seguir, gotejou-se a solução de fosfato de amônio à solução de nitrato de cálcio sob fluxo constante de gás nitrogênio. Durante esse processo de síntese, controlou-se o pH do meio reacional com a adição do hidróxido de amônio, a fim de que fosse mantido em um valor igual a 11. Após o término da síntese o precipitado foi transferido para um recipiente de teflon acoplado a um forno hidrotermal e submetido ao aquecimento de 150°C por 2 horas. O precipitado resultante foi lavado várias vezes até atingir o pH neutro, centrifugado e seco em estufa. As amostras de HAP foram analisadas pela técnica de difração de raios-X (DRX), utilizando um difratômetro da Shimadzu, modelo XRD-6000, sendo as condições operacionais com ângulo variando de 5° a 80° (2 $\theta$ ) e velocidade de 1°/min. Para a determinação da morfologia das nanopartículas foi utilizado a microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo

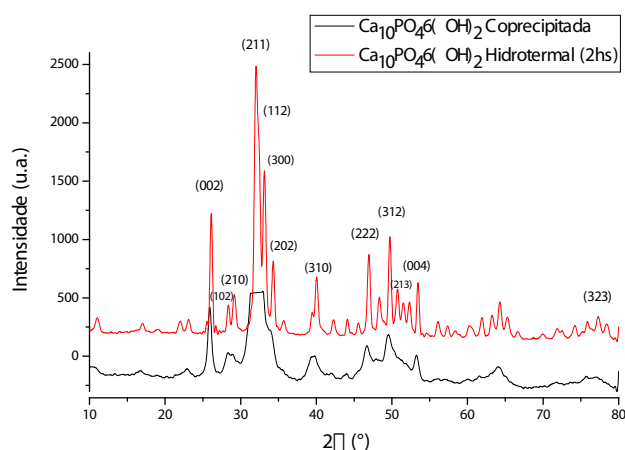
(MEV-FEG) em um microscópio JEOL, modelo JSM-6701F.

Bioensaios de nanotoxicidade aguda com a microalga *P. subcapitata* foram realizados para amostras de HAP Coprecipitada e HAP Hidrotermal no período de 72 horas. A norma utilizada foi a preconizada pela OECD, 2011, com algumas adaptações.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

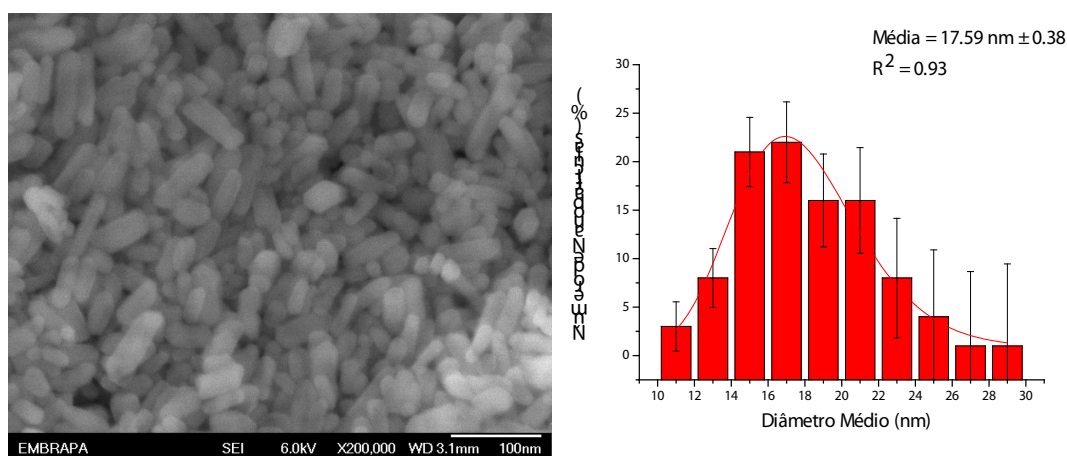
A Figura 1 apresenta os difratogramas das amostras de HAP Coprecipitada e HAP Hidrotermal. Obteve-se a HAP monofásica com estrutura hexagonal de acordo com a ficha JCPDS (*Joint Committee on Powder Diffraction Standards*) nº 09-432.

Para a amostra de HAP hidrotermal nota-se uma melhor definição dos picos difratados, resultado do processo hidrotérmico de 2 horas, o qual favoreceu o processo de cristalização da HAP, quando comparada a amostra sem hidrotermalização.



**Figura 1.** Difratogramas de raios-X das amostras de HAP obtidas por Coprecipitação e Hidrotermalização.

Na Figura 2 foi possível observar a formação de bastonetes nanoestruturados por toda a amostra de HAP Hidrotermal, com diâmetros médios que variaram entre 10 a 30 nm, sendo a faixa predominante acima de 20% de nanopartículas com diâmetro médio entre 16 a 18 nm. A amostra apresentou aglomerados/agregados, porém as nanopartículas mostraram-se mais definidas com relação ao contorno da área superficial. De acordo com o histograma obtido observou-se que a distribuição de tamanho foi homogênea, assim como os processos de nucleação e crescimento de partículas. Não houve a possibilidade de calcular a distribuição do diâmetro das partículas para a amostra de HAP Coprecipitada, devido à morfologia acentuadamente aglomerada do material.

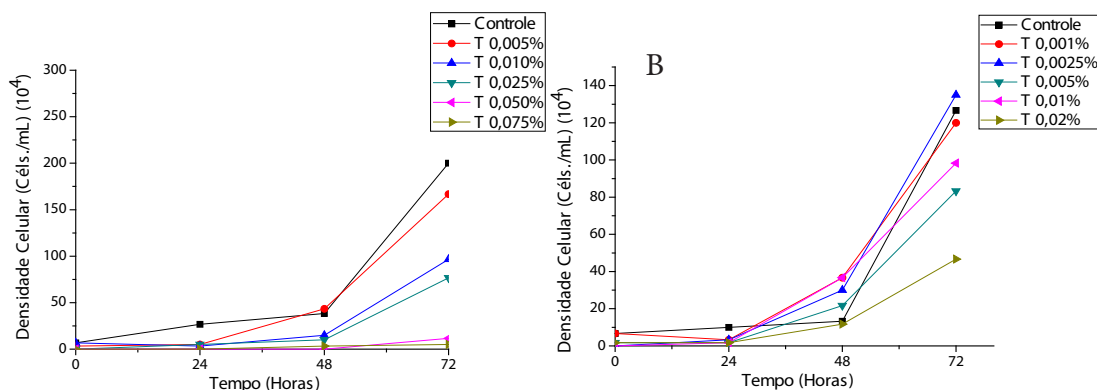


**Figura 2.** Imagem obtida por microscopia eletrônica da amostra de HAP hidrotermal (2 horas) e a respectiva distribuição do diâmetro médio das partículas.

A Figura 3A apresenta as curvas de crescimento algáceo dos 5 tratamentos comparados ao controle ao longo das 72 horas de bioensaio com nanopartículas de HAP Coprecipitada. Pode-se observar

que as concentrações mais baixas de HAP aumentaram a densidade celular das microalgas, enquanto que as concentrações mais altas diminuíram a densidade ao longo deste período.

Para o bioensaio com a HAP Hidrotermal em menores concentrações (Figura 3B) notou-se um aumento geral nas densidades celulares das microalgas, as quais foram mais próximas ao controle. As menores densidades obtidas ocorreram quando as microalgas foram expostas em concentrações mais elevadas de nanopartículas, conforme ilustrado abaixo.



**Figura 3.** Curvas de Crescimento da microalga *P. subcapitata* referente ao controle e aos respectivos tratamentos no período de 72 horas de bioensaio com a HAP Coprecipitada (A) e HAP Hidrotermal (B).

Um efeito semelhante ocorreu no trabalho de Wang, *et al.*, 2008 para o crescimento da microalga *Chlamydomonas reinhardtii* quando exposta em concentrações elevadas de nanopartículas de dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>) e quantum dots (QDs).

#### 4 CONCLUSÃO

Pode-se concluir que as nanopartículas de HAP Coprecipitada devido apresentarem menor diâmetro, maior área superficial, elevada formação de aglomerados/agregados e maior solubilidade, quando em altas concentrações apresentaram toxicidade para a microalga *P. subcapitata*. Visualmente observou-se o crescimento algáceo predominante sobre os precipitados da HAP. Em contrapartida, as nanopartículas de HAP Hidrotermal em menores concentrações, com maior diâmetro e menor área superficial, não evidenciaram toxicidade ou estimulação do crescimento algáceo significativos. Observou-se uma distribuição mais homogênea do crescimento algáceo, o qual se deu tanto sobre o material precipitado quanto por todo meio de cultivo. Portanto, as variações no tamanho, na concentração, a presença de aglomerados/agregados e a solubilidade de nanopartículas de HAP resultaram em diferentes comportamentos para o crescimento de *P. subcapitata*.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, pela bolsa de doutorado concedida. Processo N° 2013/17528-8.

#### REFERÊNCIAS

ARUOJA, V.; DUBOURGUIER, H.C.; KASEMETS, K.; KAHRU, A. Toxicity of nanoparticles of CuO, ZnO and TiO<sub>2</sub> to microalgae *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Science of the total environment*, v. 407, p. 1461 – 1468, 2009.

ARUOJA, V. Algae *Pseudokirchneriella subcapitata* in environmental hazard evaluation of chemicals and synthetic nanoparticles. 2011. 114f. Thesis for applying for the degree of Doctor of Philosophy in Environmental Protection, Estonian University of Life Sciences, Tartu, 2011.

BATLEY, G. E.; GRAEME, E.; KIRBY, J. K.; MCLAUGHLIN, M. J. Fate and Risks of Nanomaterials in Aquatic and Terrestrial Environments. *Accounts of chemical research*, v.46, n. 3, p. 854–862, 2013.



CHINNAMUTHU, C.R.; MURUGESA BOOPATHI, P. Nanotechnology and Agroecosystem. Madras Agric. J., Coimbatore, v. 96, n.1-6, p. 17-31, 2009.

GONG, N.; SHAO, K.; FENG, W.; LIN, Z.; LIANG, C.; SUN, Y. Biototoxicity of nickel oxide nanoparticles and bio-remediation by microalgae *Chlorella vulgaris*. Chemosphere, v.83, p. 510-516, 2011.

MAYO, M.J.; SEIDENSTICKER, J.R.; HAGUE, D.C.; CARIM, A.H. Surface chemistry effects on the processing and super plastic properties of nanocrystalline oxide ceramics. Nanostruct. Mater, v. 11, n.2, p. 271-282, 1999.

OLIVEIRA, A. C. Toxicidade de elementos-traços para consumidores primários na presença de exopolissacarídeos produzidos por organismos fitoplanctônicos (Chlorophyceae e Cyanophyceae). 2007. 183p. Dissertação (Mestrado em Ciências da Engenharia Ambiental) – Escola de Engenharia de São Carlos – EESC/USP, São Carlos, 2007.

ORGANIZATION FOR ECONOMIC COOPERATION AND DEVELOPMENT. Guidelines for the testing of chemicals – Freshwater Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test. OECD guidelines for testing of chemicals 201, Paris, France, 2011.

TARAFDAR, J. C.; SHARMA, S.; RALIYA, R. Nanotechnology: Interdisciplinary science of applications. African Journal of Biotechnology, v. 12, n. 3, p. 219-226, 2013.

TAYLOR, K. M.; BANFIELD, J. Environmental Risks of Nanotechnology: National Nanotechnology Initiative Funding, 2000-2004. Environ. Sci. Technol., v.40, p. 1401-1407, 2006.

WANG, J.; ZHANG, X.; CHEN, Y.; SOMMERFELD, M.; HU, Q. Toxicity assessment of manufactured nanomaterials using the unicellular green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. Chemosphere, v. 73, p. 1121–1128, 2008.

Apoio:

