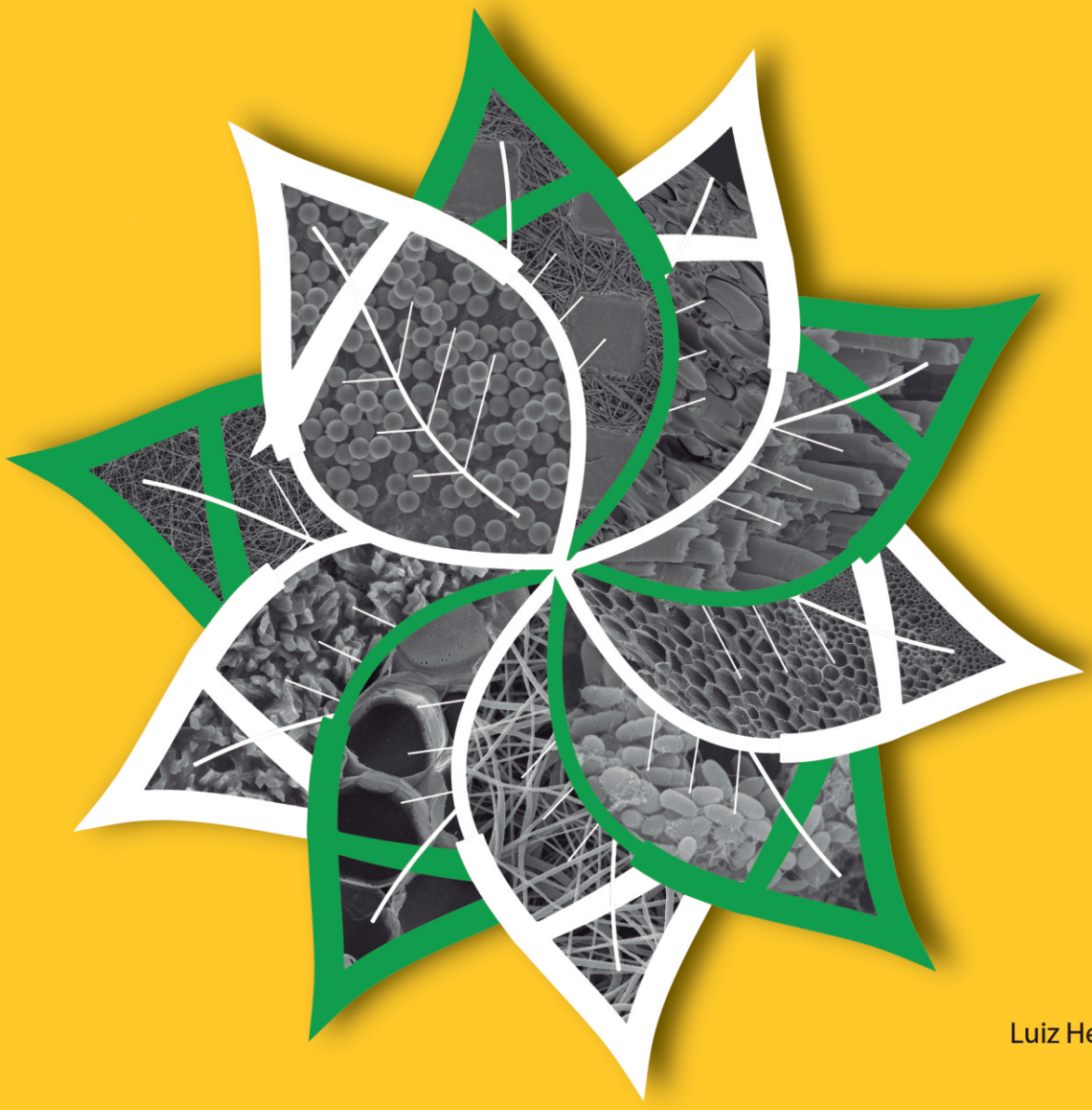
ISSN 21758395

Rede AgroNano 10 Anos

Rede de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio

Anais do IX Workshop 2017



Editores
Caue Ribeiro de Oliveira
Elaine Cristina Paris
Luiz Henrique Capparelli Mattoso
Marcelo Porto Bemquerer
Maria Alice Martins
Odílio Benedito Garrido de Assis

Embrapa

ISSN 2175-8395

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

ANAIS DO IX WORKSHOP DE NANOTECNOLOGIA APLICADA AO AGRONEGÓCIO

Caue Ribeiro
Elaine Cristina Paris
Luiz Henrique Capparelli Mattoso
Marcelo Porto Bemquerer
Maria Alice Martins
Odílio Benedito Garrido de Assis

Editores

Embrapa Instrumentação
São Carlos, SP
2017

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Instrumentação
Rua XV de Novembro, 1452
Caixa Postal 741
CEP 13560-970 - São Carlos-SP
Fone: (16) 2107 2800
Fax: (16) 2107 2902
www.embrapa.br/instrumentação
E-mail: www.embrapa.br/fale-conosco

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: Wilson Lopes da Silva
Secretária executiva: Maria do Socorro Gonçalves de Souza Monzane
Membros:
Carlos Renato Marmo
Cínthia Cabral da Costa
Cristiane Sanchez Farinas
Elaine Cristina Paris
Maria Alice Martins
Paulo Renato Orlandi Lasso
Capa - Desenvolvimento: NCO; criação: Letícia Longo
Editoração eletrônica: Valentim Monzane

1ª edição
1a impressão (2017): tiragem 300

As opiniões, conceitos, afirmações e conteúdo desta publicação são de exclusiva e de inteira responsabilidade dos autores, não exprimindo, necessariamente, o ponto de vista da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), vinculada ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

Todos os direitos reservados.
A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).
Dados internacionais de catalogação (CIP)

Embrapa Instrumentação

Anais do IX Workshop da rede de nanotecnologia aplicada ao agronegócio – 2017 – São Carlos: Embrapa Instrumentação, 2017.

ISSN 2175-8395

1. Nanotecnologia – Evento. I. Ribeiro, Caue. II. Paris, Elaine Cristina. III. Mattoso, Luiz Henrique Capparelli. IV. Bemquerer, Marcelo Porto. V. Martins, Maria Alice. VI. Assis, Odílio Benedito Garrido de. VII. Embrapa Instrumentação.

© Embrapa 2017

Editores

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

Elaine Cristina Paris
Química, D.Sc. em Química pela Universidade Federal de São Carlos. Pesquisadora 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.

Marcelo Porto Bemquerer
Biólogo, D.Sc. em Ciências Biológicas (Bioquímica) pela Universidade de São Paulo. Pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

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

Odílio Benedito Garrido de Assis
Físico, D.Sc. em Engenharia de Materiais pela Universidade Federal de São Carlos. Pesquisador da Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP.

Comitê Científico

Adriana de Campos Pastre
André Esteves Nogueira
Anny Manrich
Caio Gomide Otoni
Cauê Ribeiro de Oliveira
Clarice Steffens
Claudio Martin Jonsson
Cristiane Sanchez Farinas
Daniel Souza Corrêa
Diego Stéfani Teodoro Martinez
Edjane Rocha dos Santos
Fábio Plotegher
Fauze Ahmad Aouada
Gelton Geraldo Fernando Guimarães
Henriette Monteiro Cordeiro de Azeredo
Juliana Carine Gern
Lucimara Aparecida Forato
Luís Fernando da Silva
Luiza Amim Mercante
Marcelo Porto Bemquerer
Maria Alice Martins
Michele Munk Pereira
Paulo de Sousa Carvalho Júnior
Rafaela da Silveira André
Raimundo Vicente de Sous
Renata Valeriano Tonon
Tânia Regina Giraldi
Tatiana Santana Ribeiro
Vagner Romito de Mendonça
Waldir Avansi Júnior

AGRADECIMENTOS

A Rede AgroNano agradece a todos os seus membros que, não obstante a difícil situação de recursos destinados à pesquisa em 2017, não mediram esforços para participar e viabilizar a realização deste importante evento. Agradecemos igualmente às chefias de todas as Unidades da Embrapa e Universidades participantes da Rede Agronano, no âmbito dos projetos do Arranjo em Nanotecnologia, e em especial, às chefias da Embrapa Instrumentação, organizadora deste evento. Por fim, agradecemos aos gestores da programação da Embrapa, em especial ao atual gestor do MP1, Sergio Folle, pelo apoio continuado.

Agradecemos também ao comitê científico pela valorosa contribuição e à equipe responsável pela realização do evento, confecção e elaboração deste volume, em especial: Lucas Foresti, Suzane Bertoni, Ana Maria Felicori, Valentim Monzane, Jacqueline Barreiro e Mônica Laurito**.** A Rede AgroNano agradece por fim aos autores de imagens pela gentil cessão para uso na capa.

Rede AgroNano

APRESENTAÇÃO

O amadurecimento da Rede AgroNano, ao longo de 10 anos de existência, permitiu que um fluxo natural de demandas do agronegócio passasse a ver, de forma consistente, que a nanotecnologia pode ser via robusta de soluções para estes problemas. Assim, do desenvolvimento científico ao tecnológico, a Rede vem experimentando, continuamente, uma crescente solicitação de parceiros industriais e da sociedade como um todo, que ora resultam em produtos em processo de lançamento, parcerias continuadas e um grande número de tecnologias em negociação. Esta maturidade mostra que o processo de desenvolvimento científico, apesar de seu tempo geralmente lento, é vantajoso para o país – ainda mais quando se alia competências bem consolidadas (como é o caso do agronegócio) e portadores de futuro.

O resultado desta consolidação é visto nos mais de 170 trabalhos deste volume. Há neste Workshop o desejo de comunicar o quanto o tema nanotecnologia é fundamental para nossa perspectiva de crescimento sustentável do agronegócio, e como o desenvolvimento científico é indispensável para um país próspero. As temáticas aqui apresentadas, que vão 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 indicam apenas um recorte da grande potencialidade que a nanotecnologia tem a ofertar para o agronegócio brasileiro.

Desejamos a todos um bom Workshop 2017!

Rede AgroNano

PREFÁCIO

A Rede de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio - Rede AgroNano teve a sua primeira fase desenvolvida no período 2006 – 2010 buscando a união de competências e atuação multidisciplinar para dar contribuições na área e proporcionar novas possibilidades para o desenvolvimento social e econômico.

A Segunda Fase, ocorreu entre 2011 e 2015. Buscou explorar a aplicação da nanotecnologia para aumentar a competitividade e a sustentabilidade do agronegócio brasileiro. Foi também coroada de sucesso, com a consolidação de equipes, tornando mais claras as competências internas e a capacidade de geração de tecnologias, produtos e serviços a partir da nanotecnologia.

A Terceira Fase, que teve início em 2015 e se estenderá até 2019, tem o desafio de articular temas essenciais para o desenvolvimento da Nanotecnologia aplicada ao Agronegócio, priorizando a concretização de aplicações de impacto econômico e social, nas demandas transversais que caracterizam a oferta de tecnologias, produtos e serviços de qualquer espécie.

Dentre as realizações alcançadas a partir da Rede Agronano podemos destacar a captação de recursos do SisNano a partir de 2013, que permitiram a publicação de 290 Artigos científicos neste período (sendo 69 só em 2017), a publicação de três livros e duas patentes depositadas. Ainda, como resultado da Rede, foi criado o Laboratório Nacional de Nanotecnologia aplicado ao Agronegócio (LNNA), sediado na Embrapa Instrumentação. Também, foi possível a entrada no projeto de pesquisa para regulamentação em nanotecnologia proposto pela União Europeia conhecido pela sigla NANoREG.

O IX Workshop de de Nanotecnologia aplicada ao Agronegócio apresenta em seus Anais os recentes avanços da Rede, que hoje envolve 158 pesquisadores de 51 instituições, sendo 16 unidades da Embrapa e 35 grupos de pesquisas de centros acadêmicos de excelência no país. Nesta edição vamos encontrar as recentes experiências na transferência de tecnologia materializadas pelos Contratos de Parcerias em Pesquisa e Acordos de confidencialidade celebrados com várias empresas privadas. Este Workshop apresentará mais de 170 trabalhos e cerca de 250 participantes, consolidando o sucesso da Rede Agronano, apesar do momento de dificuldades econômicas que o País atravessa, com reflexos na disponibilização de recursos para C&T.

Sergio Mauro Folle
Gestor do Macroprograma 1 – Grandes Desafios Nacionais
Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento – DPD
Embrapa

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – Métodos e Processos para Aumento da Escala de Produção de Nanoprodutos de interesse do Agronegócio

OTIMIZAÇÃO DAS POLPAÇÕES APLICADAS NAS FIBRAS DO MESOCARPO DO DENDÊ UTILIZANDO PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL 25
Nagila F. Souza, Kilvia F. Alves, Renato Carrhá Leitão, Henriette M. C Azerêdo e Morsyleide F. Rosa

VIABILIDADE ECONÔMICA DA PRODUÇÃO DE CELULOSE NANOFIBRILADA POR DESFIBRILAÇÃO MECÂNICA 28
Caroline Jordão, Francine C. Claro e Washington L. E. Magalhães

BIONANOCOMPÓSITOS PECTINA/NANOFIBRILAS DE CELULOSE PRODUZIDOS POR CASTING CONTÍNUO 32
Caio M. Ferreira, Francys K. V. Moreira, Alessandra A. Lucas e Luiz H. C. Mattoso

ESTUDO DE ESCALONAMENTO NA SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS PARA ENCAPSUALMENTO DE PRINCÍPIOS ATIVOS 36
Dirliane Santos Duarte, José Augusto de Almeida Nascimento e Douglas de Britto

NANOFIBRAS DE CELULOSE DE DENDÊ OBTIDAS POR HIDRÓLISE ÁCIDA: USO DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (SEM) PARA A CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA 40
Larissa Andreani e Leonardo Fonseca Valadares

ESTUDO DA INFLUÊNCIA DA MOAGEM DE ALTA ENERGIA E LIXIVIAÇÃO ÁCIDA NA ATIVIDADE FOTOCATALÍTICA DO ÓXIDO DE ZINCO 44
Ana Gabriela Storion, Tânia Regina Giraldi, Elíria Maria de Jesus Agnolon Pallone e Sylma Carvalho Maestrelli

PRODUÇÃO EM FLUXO CONTÍNUO DE NANOCÁPSULAS DE PCL CONTENDO CLOXACILINA BENZATINA EM ESCALA SEMI-PILOTO PARA TRATAMENTO DE MASTITE BOVINA 48
Pereira, D. G. S.; Trindade, I. C.; Araújo, R. S.; Garcia, G. M.; Castanheira, R. G.; Brandão, H. M. e Mosqueira, V. C. F.

PROPRIEDADES MECÂNICAS E ANTI-UV DE FILMES DE ALGINATO PRODUZIDOS POR CASTING CONTÍNUO 52
Kawany M. B. Shimomura, Davi R. Munhoz, Marcela P. Bernardo, Francys K.V. Moreira and Luiz H. C. Mattoso

OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE OBTENÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA-TPP PELO MÉTODO DE GELIFICAÇÃO IONOTRÓPICA 56
Daniel Aparecido Lopes Vieira da Cunha; Taís Téo de Barros-Alexandrino e Odílio Benedito Garrido Assis

PROPRIEDADES MECÂNICAS E ANTI-UV DE PLÁTICOS DE GELATINA PRODUZIDOS POR CASTING CONTÍNUO 60
Flávia B. Junqueira, Luiz H. C. Mattoso e Francys K. V. Moreira

AVALIAÇÃO REOLÓGICAS DE FORMULAÇÕES AMIDO/NANOCRISTAIS DE CELULOSE PARA APLICAÇÃO EM CASTING CONTÍNUO 64
Rodrigo Ambrosio Rodrigues de Carvalho, Francys K.V. Moreira e Luiz H. C. Mattoso

CAPÍTULO 2 – Desenvolvimento de sensores e biossensores nanoestruturados

NANOFIBRAS ELETROFIADAS DE PVP/QUITOSANA/ ÓXIDO DE GRAFENO REDUZIDO PARA APLICAÇÃO EM BIOSSENSORES 71
Adriana Pavinatto, Luiza A. Mercante, Murilo H.M. Facure, Luiz H.C. Mattoso e Daniel S. Correa

DESENVOLVIMENTO DE BIOSENSOR PARA A DETECÇÃO DE UREIA BASEADO EM NANOFIBRAS CONDUTORAS MODIFICADAS COM NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINCO 74
Fernanda L. Migliorini, Rafaela C. Sanfelice, Luiza A. Mercante, Rafaela S. André, Luiz H. C. Mattoso e Daniel. S. Correa

FIBRAS ELETROFIADAS FUNCIONALIZADAS COM HÍBRIDO NANOCELULOSE/NANOPARTÍCULAS DE PRATA PARA APLICAÇÃO EM SENSORES E BIOSENSORES *Kelcilene B. R. Teodoro, Flávio M. Shimizu e Daniel S. Corrêa*	78
INVESTIGAÇÃO DA INFLUÊNCIA DE DIFERENTES COMPOSTOS ORGÂNICOS VOLÁTEIS NA CONFORMAÇÃO E SUPRESSÃO DA LUMINESCÊNCIA DE NANOFIBRAS DE PMMA_PFO *Idelma A. A. Terra, Rafaela C. Sanfelice, Gustavo T. Valente e Daniel S. Correa*	82
NANOFIBRAS CERÂMICAS DE ÓXIDO DE ZINCO PARA APLICAÇÕES EM SENSORES QUÍMICOS *Jéssica Claro Pereira; Rafaela da Silveira Andre; Luiza Amim Mercante e Daniel Souza Correa*	86
LÍNGUA ELETRÔNICA BASEADA EM NANOFIBRAS ELETROFIADAS DE POLIMERO CONDUTOR PARA DETECÇÃO DE TETRACICLINA *Vanessa P. Scagion, Luiza A. Mercante, Karine Y. Sakamoto, Juliano E. Oliveira, Fernando J. Fonseca, Luiz H. C. Mattoso, Marcos D. Ferreira e Daniel S. Correa*	90
ESTUDO SOBRE A QUALIDADE DO LEITE ATRAVÉS DE LÍNGUA ELETRÔNICA DE POLÍMEROS CONDUTORES *João Victor Genaro, Marina Hikari da Silva, Guilherme de Souza Braga e Fernando Josepetti Fonseca*	94
INFLUÊNCIA DOS PARÂMETROS DE DEPOSIÇÃO NA MORFOLOGIA DE FILMES BASEADOS EM POLÍMEROS COM IMPRESSÃO MOLECULAR *Isaac Teixeira e Sousa, Guilherme de Souza Braga e Fernando Josepetti Fonseca*	94
SENSOR ELETROQUÍMICO COM ÓXIDO DE FERRO E NANOTUBOS DE CARBONO PARA DETECÇÃO DE ÁCIDO SALICÍLICO *Camila de L. Ribeiro, João G. M. Santos, Jurandir R. de Souza e Leonardo G. Paterno*	102
NANOCOMPÓSITOS DE POLIAMIDA 6 E NEGRO DE FUMO PARA APLICAÇÃO COMO SENSOR TÊXTIL DE UMIDADE *Paula M. G. L. Ferreira, Midilane S. Medina, José M. Marconcini, Luiz H. C. Mattoso, Everaldo C. Venancio e Gerson L. Mantovani*	106
VALIDAÇÃO DE MÉTODO VOLTAMÉTRICO PARA A DETERMINAÇÃO DE COBRE EM CAFÉ UTILIZANDO ELETRODO DE OURO MODIFICADO COM PEPTÍDEO *Gabriella Magarelli, Jonatas G. da Silva, Magali A. Rodrigues, Jurandir R. de Souza, Pierre Marraccini, Clarissa S.P. de Castro e Marcelo P. Bemquerer*	110
PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOCOMPÓSITOS DE POLI(ÁLCOOL VINÍLICO) CONTENDO POLIANILINA E NANOESTRUTURAS DE CELULOSE *Cristine C. Fulchini, Rodrigo K. Oliveira, Luis M. G. Silva, Ana C. Corrêa, José M. Marconcini e Everaldo C. Venancio*	114
DESENVOLVIMENTO DE UM SISTEMA DE CONTROLE AUTÔNOMO DE IRRIGAÇÃO BASEADO EM MICROCONTROLADOR *M.T. Neiva e J.E. de Oliveira*	118
POLIANILINA POLIMERIZADA IN SITU COMO PLATAFORMA FLEXÍVEL E DESCARTÁVEL PARA DETECÇÃO DE AMÔNIA *Rafaela. S. Andre, Jun Chen, Dongwook Kwak, Daniel S. Correa, Luiz H. C. Mattoso e Yu Lei*	122

CAPÍTULO 3 – Processamento de filmes nanoestruturados para embalagens e conservação de alimentos

FILMES DE AMIDO DE AMÊNDOA DE MANGA COM NANOCRISTAIS DE AMIDO *Ana Vitória de Oliveira; Ana Priscila Monteiro da Silva; Men de Sá Moreira de Souza Filho; Morsyleide F. Rosa e Henriette M. Cordeiro de Azeredo*	129
FILMES COMESTÍVEIS À BASE DE CELULOSE BACTERIANA E PECTINA COM POLPAS DE FRUTAS *Rayra Melo Viana, Nádia Maria dos Santos Matos Sá e Henriette Monteiro Cordeiro de Azeredo*	133
PROPRIEDADES TÉRMICAS E DE BARREIRA DE FILMES NANOCOMPÓSITOS À BASE DE GELATINA	137

Pamela Freire de Moura Pereira, Fernando Teixeira Silva, Verônica Maria de Araújo Calado e Renata Valeriano Tonon

INFLUÊNCIA DA HEMICELULOSE NA REOLOGIA DE SUSPENSÕES DE NANOCELULOSE E NA FORMAÇÃO DE FILMES DE NANOFIBRILAS 141
Francine C. Claro, Mailson de Matos e Washington L. E. Magalhães

LOCALIZAÇÃO SELETIVA DE NANOPLATELETES DE GRAFENO NA BLENDA POLI(ÁCIDO LÁCTICO)/ POLI(E-CAPROLACTONA) 145
Jéssica de Aguiar, Wagner M. Pachekoski, Marindia Decol, Daniela Becker, Luiz Henrique C. Mattoso e José Manoel Marconcini

SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA EM FILMES DE NANOCELULOSE 149
Francine C. Claro e Washington L. E. Magalhães

DESENVOLVIMENTO DE REVESTIMENTOS COMESTÍVEIS A BASE DE KAFIRINAS PARA REVESTIMENTOS DE TOMATES CEREJA ORGÂNICOS 153
Mirella Rissi, Bruna Carolina Dorm, Avelino dos Santos Rodrigues, Rubens Bernardes Filho, Luiz Alberto Colnago e Lucimara Aparecida Forato

CARACTERIZAÇÃO MECÂNICA DE FILMES DE POLICAPROLACTONA ADTIVIDADOS COM METABISSULFITO DE SÓDIO 157
Luciana K. Buoso e Francys K. V. Moreira

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA-TPP COMO INIBIDORAS DO CRESCIMENTO FÚNGICO 161
Taís Téo de Barros-Alexandrino; Milena Martelli-Tosi e Odílio B. Garrido Assis

CARACTERIZAÇÃO MECÂNICA DE FILMES EXTRUDADOS DE POLI(ÁCIDO LÁTICO) ADITIVADOS COM SORBATO DE POTÁSSIO 165
Júlia L. Monti, Guilherme C. Dela Corte e Francys K. V. Moreira

ESTABILIDADE OXIDATIVA DE CARNE OVINA COM REVESTIMENTOS A BASE DE ZEÍNAS 169
Cecília de Souza Cordeiro, Lucimara Aparecida Forato, Rubens Bernardes Filho, Silviane Zanni Hubinger e Renata Tieko Nassu

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES EM FILMES POLIMÉRICOS 173
Sabrina da Costa Brito, Katia Sivieri e Marcos David Ferreira

ANALISES TÉRMICA E MECÂNICA DE FILMES DE QUITOSANA COM ADIÇÕES DE EXTRATO ETANÓLICO DE PEQUI 177
Caroline Alves Breda, Marta Cristina Teixeira Duarte e Odílio Benedito Garrido Assis

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE COBERTURAS DE DERIVADO HIDROSSOLÚVEL DE QUITOSANA SOBRE BROTOS DE FEIJÃO 181
Heloisa Delgado Paulo, Joana Dias Bresolin e Odílio Benedito Garrido Assis

ATIVIDADE INIBITÓRIA DA QUITOSANA E DE SEU DERIVADO QUATERNIZADO TMQ SOBRE O CRESCIMENTO DO FUNGO *Penicillium expansum* 184
Leila D. Mendes; Joana D. Bresolin; Odílio B. G. Assis e Douglas de Britto

COMPARAÇÃO ENTRE O USO NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA E NANOFIBRAS DE CELULOSE COMO MATERIAL DE REFORÇO EM FILMES A BASE DE POLPA DE FRUTAS 188
Taís Téo de Barros-Alexandrino, Milena Martelli-Tosi, Rubens Bernardes Filho e Odílio B. G. Assis

EFEITO DA ADIÇÃO DE PECTINA NAS PROPRIEDADES MECÂNICAS E DE PERMEAÇÃO AO VAPOR DE ÁGUA DE FILMES A BASE DE PURÊ DE MAMÃO 192
Taís Téo de Barros-Alexandrino, Milena Martelli-Tosi e Odílio B. G. Assis

NANOCOMPÓSITOS DE FILMES DE ACETATO DE CELULOSE E CLOISITE 20A 196
Wilson Alves Ribeiro Neto e José Manoel Marconcini

ESTUDO MORFOLÓGICO DA SUPERFÍCIE DE FILMES DE ZEÍNA ELABORADOS COM DIFERENTES SOLVENTES 201
L. G. C. de Araújo, E. S. Medeiros, J. E. Oliveira, O. B. G. Assis e C. V. B. Araújo

AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIMICROBIANO DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDOS METÁLICOS 205
Fernanda Elisa Arab; Elaine Cristina Paris; Clóvis Wesley Oliveira de Souza e Marcos David Ferreira

PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE BIONANOCOMPÓSITOS À BASE DE GELATINA E NANOCRISTAIS DE CELULOSE POR CASTING CONTÍNUO 209
Liliane Samara Ferreira Leite, Marcos Antônio Piza, Francys Kley Vieira Moreira e Luiz Henrique Capparelli Mattoso

ENCAPSULAÇÃO DO CARVACROL EM FILMES COMESTÍVEIS DE AMIDO DE MANDIOCA E GELATINA 213
Ana P. Romio, Alessandra M. Lunkes, Claiton Z. Brusamarello, Larissa C. Bertan, Luma Oliveira, Odílio B. Assis e Tais Téo

CAPÍTULO 4 – Processos de imobilização de biomoléculas e funcionalização em nanopartículas

ESTABILIZAÇÃO DE COR DE SUCO DE ACEROLA POR MONTMORILONITA 219
Hálisson Lucas Ribeiro; Ana Vitória de Oliveira; Edy S. Brito; Paulo R.V. Ribeiro; Men de sá M. Souza Filho e Henriette M. C. Azeredo

IMOBILIZAÇÃO DE β-GLICOSIDASE EM NANOPARTÍCULAS DE HIDROXIAPATITA 223
Thamara C. Coutinho, Mayerlenis J. Rojas, Elaine C. Paris e Cristiane S. Farinas

IMOBILIZAÇÃO DE FITASE EM NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA 227
Mayerlenis J. Rojas, Marina Momesso, Luiz H. C. Mattoso e Cristiane S. Farinas

INTERCALAÇÃO DE SULFADIAZINA DE PRATA EM HIDRÓXIDO DUPLO LAMELAR POR RECONSTRUÇÃO ESTRUTURAL 231
Davi R. Munhoz, Marcela P. Bernardo, Francys K.V. Moreira e Luiz H. C. Mattoso

ESTUDO DE PRÉ-FORMULAÇÃO DE NANOVACINA PARA TRATAMENTO DA DOENÇA DE NEWCASTLE EM AVES 235
Francisco Noé da Fonseca, Lana Flávia Baron, Iara Maria Trevisol, Ana Paula Bastos e Liana Brentano

EFEITO DO PH NO PROCESSO DE IMOBILIZAÇÃO DE LIPASE DE THERMOMYCES LANUGINOSUS EM HA:FE_3O_4 239
Hanna Gomes Tavares, Julianna dos Santos Viana, João Otávio D. Malafatti, Elaine Cristina Paris e Ana Iraidy Santa Brígida

MODIFICAÇÃO MECANOQUÍMICA DE NANOTUBOS DE CARBONO COM ÁCIDO HÚMICO: ECOTOXICIDADE E APLICAÇÃO EM REMEDIAÇÃO AMBIENTAL 243
Francine Côa, Mathias Strauss, Zaira Clemente, Laís L. Rodrigues Neto, Aline M.Z. Medeiros, Gabriela H. Silva, Fabrício Delite, Josias R. Lopes, Rafael S. Alencar, Antônio G. Souza Filho, Oswaldo L. Alves, Vera L. S.S. Lopes, Edison Barbieri e Diego S.T.Martinez

CAPÍTULO 5 – Tecnologias de micro e nanoencapsulação de princípios ativos

CITOTOXICIDADE E INTERNALIZAÇÃO CELULAR DE NANOCÁPSULAS POLIMÉRICAS CONTENDO CLOXACILINA BENZATINA PARA TRATAMENTO DA MASTITE BOVINA 249
Giani Martins Garcia, Raquel Silva Araújo, Izabel Cristina Trindade, Douglas Gualberto Sales Pereira, Humberto Melo Brandão e Vanessa Carla Furtado Mosqueira

ENCAPSULAMENTO DE ÁCIDO LINOLEICO COMO MODELO PARA ESTABILIZAÇÃO DE COMPOSTOS LIPOSSOLÚVEIS 253
Dirliane Santo Duarte, Natoniel Franklin de Melo e Douglas de Britto

AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE, EM MEIO AQUOSO, DE VITAMINAS NANOENCAPSULADAS 257
Douglas de Britto, Flávia G. Pinola e Odílio B.G. Assis

ESTUDOS PRELIMINARES APLICADOS AO NANOENCPSULAMENTO DE INSETICIDAS NEONICOTINÓIDES: TIAMETOXAM 261
Márcia R. Assalin, Débora C. S.Dutra, Maria A. Rosa, Rafaela C.R.M. Duarte, Patrícia Donaire e Nelson Duran

SÍLICA BIOGÊNICA COMO VEÍCULO NA LIBERAÇÃO CONTROLADA DE BIOCIDAS 265
Bruno D. Mattos, Tainise V. Lourençon e Washington L. E. Magalhães

CAPÍTULO 6 – Desenvolvimentos de nanocompósitos a partir de fontes renováveis

DESENVOLVIMENTO DE COMPÓSITOS BIODEGRADÁVEIS DE AMIDO DE MANDIOCA E RESÍDUO DA INDUSTRIA CERVEJEIRA *Juliana Farinassi Mendes, Luan Filipe Silva Moreira, Alfredo Rodrigues Sena Neto, Juliano Elvis Oliveira e Ana Carla Marques Pinheiro*	271
FILMES DE AMIDO DE AMÊNDOA DE MANGA: INFLUÊNCIA DE COMBINAÇÕES DE NANOCRISTAIS DE POLISSACARÍDEOS *Ana Priscila Monteiro da Silva; Sheyliane Maria Adriano Pontes; Henriette Monteiro Cordeiro de Azeredo; Morsyleide de Freitas Rosa e Men de sá Moreira de Souza Filho*	275
ESTUDO DA FOTODEGRADAÇÃO DE BIONANOCOMPÓSITOS PECTINA/PALYGORSKITA OBTIDOS POR CASTING CONTÍNUO *Laís B. Norcino, Marcela P. Bernardo, Luis C. Bertolino, Luiz H. C. Mattoso, Juliano E. De Oliveira e Francys K. V. Moreira*	279
PREPARAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E CITOCOMPATIBILIDADE DE FILMES NANOCOMPÓSITOS DE QUITOSNA E NANOFIBRAS DE CELULOSE *Rafaella Zanette, Leonara B.F. Almeida, Nelson L.G.D. Souza, Camila G. Almeida, Luiz F.C. Oliveira, Cauê R. Oliveira, Humberto M. Brandão e Michele Munk*	283
NANOFIBRAS DE CELULOSE VIA HIDRÓLISE ENZIMÁTICA EM REATOR DE TANQUE AGITADO *Thalita J. Bondancia, Luciano J. Côrrea, Antônio J. G. Cruz, Alberto C. Badino, Luiz Henrique C. Mattoso, José Manoel Marconcini e Cristiane S. Farinas*	287
BIONANOCOMPÓSITOS PRODUZIDOS A PARTIR DE AMIDO DE MANDIOCA E NANOWHISKERS DE CELULOSE DO MESOCARPO DO DENDÊ *Bruno R. Luchesi, Adriana de Campos, Alfredo R. de Sena Neto, Vanessa B. Rodrigues, Francys K. V. Moreira, Ana Carolina Correa, Luiz H. C. Mattoso e José M. Marconcini*	291
INFLUÊNCIA DA ADIÇÃO DE CARBOXIMETILCELULOSE NAS PROPRIEDADES MECÂNICAS E DE HIDROFOBICIDADE EM FILMES DE AMIDO DE MANDIOCA *Katiany Mansur Tavares; Adriana de Campos; Bruno Ribeiro Luchesi, Ana Angélica Resende e José Manoel Marconcini*	295
ESTABILIDADE DE FILMES COMESTÍVEIS NANOCOMPÓSITOS À BASE DE POLISSACARÍDEOS E VITAMINA C OBTIDA DE RESÍDUO AGROINDUSTRIAL *José Augusto de Almeida Nascimento, Dirliane Santos Duarte, Maria Auxiliadora Coelho de Lima e Douglas de Britto*	299
PRODUÇÃO DE CELULOSE BACTERIANA A PARTIR DE MELAÇO DE SOJA HIDROLISADO *Bruna S. Chagas, Helder L. S. Lima, Francisca A. E. de Brito, Érika P. C. Gomes, Mateus C. Leal, Maria F. F. Silva, Maria de F. Borges e Morsyleide de F. Rosa*	303
PROCESSAMENTO E ESTUDO DAS PROPRIEDADES MECÂNICAS E DA MORFOLOGIA DE BIOCOMPÓSITOS DE ACETATO DE CELULOSE REFORÇADOS COM FIBRA DE COCO *Guilherme B. Leal, Jéssica H.H. Rossato, Morsyleide F. Rosa, José M. Marconcini, Luiz H.C. Mattoso e Gerson L. Mantovani*	307
PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOCOMPÓSITOS DE AMIDO, GLICEROL E CELULOSE DE DENDÊ MICROFIBRILADA *Valérya Carneiro Teles, Larissa Andreani e Leonardo Fonseca Valadares*	311
AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE BRANQUEAMENTO DE FIBRAS DE MACAÚBA PARA OBTENÇÃO DE NANOCRISTAIS DE CELULOSE E NANOCOMPÓSITOS POLIMÉRICOS *Anderson F. Manoel, Pedro I.C. Claro, Fábio Galvani, Luiz H.C. Mattoso, José M. Marconcini e Gerson L. Mantovani*	315
ESTUDO DA FOTODEGRADAÇÃO DE BIONANOCOMPÓSITOS PECTINA/PALYGORSKITA OBTIDOS POR CASTING CONTÍNUO *Laís B. Norcino, Marcela P. Bernardo, Luis C. Bertolino, Luiz H. C. Mattoso, Juliano E. de Oliveira e Francys K. V. Moreira*	319
ESTUDO DO LIMITE DE INCORPORAÇÃO DE FIBRAS DE PODA DE CAJUEIRO (PC) E CASCA DE ARROZ (CA) EM POLIETILENO DE BAIXA DENSIDADE (PEBD)	323

POR MISTURA POR EXTRUSÃO *Jéssica A. Silva, Laurenice M. Pereira, Murilo J.P. Macedo, Adriano L.A. Mattos e Edson N. Ito*	
ANÁLISE POR AFM DA AÇÃO DO EXTRATOS DE PRÓPOLIS VERDE SOBRE AS MORFOLOGIAS DE BACTÉRIAS S*taphylococcos aureus e Escherichia coli* *Jessica Valéria de Campos, Odílio Benedito Garrido Assis e Rubens Bernardes Filho*	327
ESTUDO DAS PROPRIEDADES TÉRMICAS DE BLENDAS DE TPS/PCL PARA USO EM NANOCOMPÓSITOS POLIMÉRICOS *Anderson Felix Manoel, Pedro Ivo Cunha Claro, Luiz Henrique Capparelli Mattoso, José Manoel Marconcini e Gerson Luiz Mantovani*	331
PREPARO E CARACTERIZAÇÃO DE BIOFILMES COMESTÍVEIS A BASE DE NANOESTRUTURAS POLIMÉRICAS EM MATRIZES DE PECTINA *Vanessa S. Santos, Juliana R. Souza, Luiz H. C Mattoso, Fauze A. Aouada e Márcia R. de Moura*	335
NOVOS FILMES BIODEGRADÁVEIS À BASE DE GELATINA CONTENDO NANOEMULSÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE LIMÃO *Marcia R. de Moura, Juliana C. Nunes, Pamela T. S. Melo, Tiago. A. Lima e Fauze A. Aouada*	339
PREPARO DE FILMES COMESTÍVEIS CONTENDO GELATINA, EXTRATO DE CHÁ VERDE E ÓLEO ESSENCIAL DE LIMÃO *Juliana C. Nunes, Pamela T. S. Melo, Fauze A. Aouada e Marcia R. de Moura*	343
INFLUÊNCIA DA ADIÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA E POLPA DE CUPUAÇU NA PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA DE FILMES À BASE DE PECTINA *Pamela Thais S. Melo, Juliana C. Nunes, Marcos V. Lorevice, Juliana Reghine Souza, Luiz H. C. Mattoso, Fauze A. Aouada e Marcia R. de Moura*	347
EXTRAÇÃO DE NANOCRISTAIS DE CELULOSE BACTERIANA PRODUZIDA EM SUCO DE CAJU *José Aurélio Pinheiro, Nagila Freitas Souza, Ana Lídia de Almeida Castro, Morsyleide de Freitas Rosa e Maria Cléa Brito de Figueirêdo*	351
SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE COMPÓSITOS POROSOS A BASE DE ALGINATO HIDROXÂMICO/NANOTUBOS DE CARBONO. *Aline Margarete Furuyama Lima, Marcelo de Freitas Lima, Odílio Benedito Garrido Assis, Alice Raabe, Hemelen Caroline Amoroso, Vera Aparecida de Oliveira Tiera e Marcio José Tiera*	355
CARACTERIZAÇÃO POR DRX DE BIOCOMPÓSITOS A BASE DE PLA CARREGADOS COM RESÍDUOS DO CAROÇO DE MANGA E NANO-ORGANO-ARGILOMINERAL *Edla Maria Bezerra Lima, Antonieta Middea, Jessica Fernandes Pereira, Ingrid Cristina S. Pereira, Natália Rodrigues R. Santos, Renata Nunes Oliveira e Reiner Neumann*	359

CAPÍTULO 7 – Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio

ADSORÇÃO DE CONTAMINANTES ORGÂNICOS EM NANOFIBRAS COMPÓSITAS DE PMMA-ÓXIDO DE GRAFENO REDUZIDO *Luiza A. Mercante, Murilo H. M. Facure, Danilo A. Locilento, Rafaela C. Sanfelice, Fernanda L. Migliorini, Luiz H. C. Mattoso e Daniel S. Correa*	365
ESTUDO DE PARÂMETROS DA ELETROFIAÇÃO DE POLÍMERO BIODEGRÁDAVEL E FUTURAS APLICAÇÕES EM SISTEMAS DE LIBERAÇÃO DE FÁRMACO *Rodrigo Schneider e Daniel S. Correa*	369
FERTILIZANTE FOSFATADO DE LIBERAÇÃO CONTROLADA BASEADO EM HIDRÓXIDOS DUPLOS LAMELARES *Marcela P. Bernardo; Gelton G.F. Guimarães e Caue Ribeiro*	372
PRODUÇÃO DE MANTAS DE NANOFIBRAS DE POLI ÁCIDO LÁTICO COM INCORPORAÇÃO DE FITOATIVO PELO MÉTODO DE ELETROFIAÇÃO *Natália Galdorfini, Danilo A. Locilento e Daniel S. Correa*	376
CARACTERIZAÇÃO DAS PROPRIEDADES ÓPTICAS DE FILMES AUTOMONTADOS DE POMA/MOS_2 *Wania Ap. Christinelli, Murilo H. M. Facure, Idelma A. A. Terra, Daniel S. Correa e Luiz H. C.*	380

Mattoso

FOTOCATALISADORES DE ZnO:N UTILIZADOS EM FOTOSSÍNTESE ARTIFICIAL 383
Jéssica A. Oliveira, André E. Nogueira, Elaine C. Paris, Caue Ribeiro, Gael Y. Poirier e Tania R. Giraldi

NANOPARTÍCULAS DE PRATA BIOGÊNICAS PARA O CONTROLE DE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS 387
Mariana Guilger, Vitória A. N. Antunes, Leonardo Fernandes Fraceto e Renata Lima

ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR): UMA FERRAMENTA ANALÍTICA PARA ESTUDOS DE FOTOCATALISE. 391
Caroline Piza Maldi, Ailton José Moreira, Aline Cardoso Borges, Tania Regina Giraldi e Gian Paulo Giovani Freschi

CONFECÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE BRIQUETES DE RAÇÃO ANIMAL COM A ADIÇÃO DE NANOFIBRILAS DE CELULOSE 395
Mailson de Matos, Lucas F. Rodrigues, Geovane R. de Oliveira e Washington L. E. Magalhães

PRODUÇÃO DE NANOFIBRAS ELETROFIADAS DE POLI(ÁCIDO-LÁCTICO) VISANDO APLICAÇÕES EM SISTEMAS DE LIBERAÇAO CONTROLADA DE FÁRMACOS. 399
Paulo Augusto Marques Chagas e Daniel Souza Corrêa

EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE CUTINA DE CASCA DE MAÇÃ 402
Anny Manrich, Maria Alice Martins, Camila Pasqualoto e Luiz Henrique Capparelli Mattoso

CURATIVO BASEADO EM BIONANOCOMPÓSITO COM PROPRIEDADE ANTIBACTERIANA 406
Tiago A. Lima, Marcos V. Lorevice, Fauze Ahmad Aouada e Márcia Regina de Moura

AVALIAÇÃO REOLÓGICA DA CELULOSE DE EUCALIPTO EM PÓ REIDRATADA 410
Maraysa Rodrigues Furtado; Virgínia Martins da Matta; Carlos Wanderlei Piler de Carvalho; Luiz Fernando Menezes da Silva; Washington Luiz Esteves Magalhães e Renata Valeriano Tonon

REDUÇÃO FOTOCATALÍTICA DE CO_2: INFLUÊNCIA DO CARÁTER BÁSICO DO MgO 414
Juliana A. Torres, André E. Nogueira, Gelson T. S. T. da Silva e Caue Ribeiro

CARACTERIZAÇÃO REOLÓGICA DE GÉIS DE AMIDO RETICULADOS COM TRIPOLIFOSFATO DE SÓDIO 418
José Álvaro Previato Sardelli, Matheus Foloni Leite e Francys Kley Vieira Moreira

PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOFIBRAS DE POLIACRILONITRILA POR FIAÇÃO POR SOPRO EM SOLUÇÃO COMO PRECURSOR PARA NANOFIBRAS DE CARBONO 422
Lais A. de Camargo, Pierre-Louis F. H. Personnaz, José M. Marconcini e Luiz H. C. Mattoso

SÍNTESE DE $BiFeO_3$ E $LaFeO_3$ PELO MÉTODO DE COMBUSTÃO VISANDO APLICAÇÃO EM CÉLULAS SOLARES PARA USO *IN SITU* 426
Caio C. S. B. Alves; Ana C. F. Prado; Jeferson A. Dias e Márcio R. Morelli

MOLHABILIDADE SUPERFICIAL DE LÂMINAS DE MADEIRA TRATADAS POR PLASMA FRIO E SEU EFEITO DE ENVELHECIMENTO 430
Pedro Henrique Gonzalez de Cademartori; Silvana Nisgoski; Graciela Ines Bolzon de Muniz e Washington Luiz Esteves Magalhães

O PAPEL DO REVESTIMENTO POLIMÉRICO SOBRE A DISPONIBILIDADE DE FOSFATO: VISÃO DA LIBERAÇÃO DE P POR REVESTIMENTOS DE POLIURETANA USANDO ÓLEO DE MAMONA 434
Diego F. da Cruz; Ricardo Bortoletto-Santos; Gelton G. F. Guimarães; Wagner L. Polito e Caue Ribeiro

ESTUDO DA CINÉTICA DE LIBERAÇÃO DE FOSFATO EM FERTILIZANTE COMERCIAL REVESTIDO POR POLIURETANA À BASE DE ÓLEO DE MAMONA 438
Vanderlei Roncato Junior; Ricardo Bortoletto-Santos; Fábio Plotegher; Wagner L. Polito e Caue Ribeiro

SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS BIOGÊNICAS DE TITÂNIO UTILIZANDO *TRICHODERMA HARZIANUM* PARA APLICAÇÃO NO CONTROLE DE *SCLEROTINIA SCLEROTIORUM*. 442

Tatiane Pasquoto-Stigliani, Tais Germano da Costa, Mariana Guilger, Leonardo Fernandes Fraceto e Renata de Lima

IMOBILIZAÇÃO E REAPROVEITAMENTO DE SEMICONDUTORES A BASE DE ZnO PARA APLICAÇÃO EM FOTOCATÁLISE 446
Luiz Otavio Ottonicar Peçanha, Sylma Carvalho Maestrelly e Tania Regina Giraldi

UTILIZAÇÃO DE TiO_2 E TiO_2-N PARA DEGRADAÇÃO DA FLUOXETINA POR FOTOCATÁLISE 450
Shena Rafaela Rebouças Padilha, Ailton José Moreira, Gian Paulo Giovani Freschi e Tania Regina Giraldi

OBTENÇÃO DE FILMES FINOS DE ZNO E SUA APLICAÇÃO E REUTILIZAÇÃO EM FOTOCATÁLISE 454
Carly Mirela Baggio, Jéssica Ariane de Oliveira e Tania Regina Giraldi

ESTUDO DAS PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS EM DUAS COLETAS, DOS NOVOS CLONES RRIM 711, RRIM 926 E RRIM 937 458
Otávio Luiz dos Reis¸ Maycon Jhony Silva¸ Joyci Camila da Silva, Erivaldo J. Scaloppi Jr., Paulo de S. Gonçalves, Luiz Henrique Capparelli Mattoso e Maria Alice Martins

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE MATERIAIS À BASE DE $SrTiO_3$ E SUA APLICAÇÃO NA DEGRADAÇÃO DE POLUENTES ORGÂNICOS 462
Meiriele A. Ferreira, Andréa R. Malagutti, Osmando F. Lopes, Gelson T. S. T. da Silva, Cauê Ribeiro e Henrique A. J. L. Mourão

O USO DE NANOPARTÍCULAS PARA A LIBERAÇÃO CONTROLADA DE SEMIOQUÍMICOS DE INSETOS E PLANTAS. 466
Hassemer, M.J., Blassioli-Moraes, M.C., Borges, M., Laumann, R.A., Bemquerer, M., Rodrigues, M., Costa, E.S., Vaz Jr., S., Magalhães, D. M e Michereff, M.F.F.

LIBERAÇÃO CONTROLADA DE UREIA PROVENIENTE DE NANOCOMPÓSITOS REDUZ A VOLATILIZAÇÃO DE AMÔNIA E AUMENTA A EFICIÊNCIA DO USO DE NITROGÊNIO PELA PLANTA 471
Gelton G. F. Guimarães, Elaine I. Pereira, Ana Rita A. Nogueira, Camila C. T. Cruz, Milene M. Foschini, Alberto C. C. Bernardi e Caue Ribeiro

RECOBRIMENTO DE FERTILIZANTES: UMA ESTRATÉGIA PARA A VEICULAÇÃO E LIBERAÇÃO CONTROLADA DE NUTRIENTES. 475
Fábio Plotegher; Ricardo Bortoletto-Santos; Vanderlei Roncato; Rafaela Ferraz Majaron; Vinícius Ferraz Majaron, Wagner Luiz Polito e Caue Ribeiro

CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL E HIDROFILICAS DE HIDROGÉIS NANOESTRUTURADOS CONTENDO NANOARGILA PARA APLICAÇÃO NA AGRICULTURA 479
Uilian G. Yonezawa, Marcia R. de Moura e Fauze A. Aouada

PRODUÇÃO DE MEMBRANAS DE CELULOSE BACTERIANA USANDO MELAÇO DE SOJA 483
Erika F. Souza, Selma C. Terzi, Gabriela S. Santos, Sidinea C. Freitas, Otniel Freitas-Silva e Leda M.F. Gottschalk

SINTESE SONOQUÍMICA DE HETEROESTRUTURAS g-C_3N_4/Nb_2O_5: AVALIAÇÃO DA PERFORMANCE FOTOCATALÍTICA PARA DEGRADAÇÃO DE POLUENTES ORGÂNICOS 487
Gelson T. S. T. da Silva; Kele T. G. Carvalho, Osmando F. Lopes e Caue Ribeiro

FORMAÇÃO DE UM HÍBRIDO DE CELULOSE BACTERIANA E APATITA DOPADA COM ESTRÔNCIO: UMA PROPOSTA DE SISTEMA DE LIBERAÇÃO PARA REPARO ÓSSEO 491
LUZ, E. P. C. G., VIEIRA, R. S., PORTO, E. C. M., BORGES, M. F., ROSA, M. F. e SANTANA, B. C.

INFLUÊNCIA DA ACIDEZ SUPERFICIAL DA NIOBIA PARA O PROCESSO DE FOTORREDUÇÃO DE CO_2 495
Gelson T. S. T. da Silva; André E. Nogueira; Jessica A. Oliveira; Letícia V. Jodar; Juliana A. Torres e Caue Ribeiro

NANOCRISTAIS DE CELULOSE A PARTIR DE FIBRAS DE MESOCARPO DO DENDÊ (OPMF) POR HIDRÓLISE ÁCIDA E MICROFLUIDIZAÇÃO 499
Vanessa Bolzan Rodrigues, Adriana de Campos, Ana Carolina Correa e José M. Marconcini

DESENVOLVIMENTO DE SISTEMA PARA SÍNTESE HIDROTÉRMICA DO Nb_2O_5 E AVALIAÇÃO DE SEU POTENCIAL FOTOCATALÍTICO 504
Paulo Henrique Eleuterio Falsetti, Douglas Mendes da Silva Del Duque, Thaís Aparecida Rodrigues e Vagner Romito de Mendonça

LIBERAÇÃO LENTA/CONTROLADA DE NUTRIENTES POR MEIO DE HIDROGÉIS NANOCOMPÓSITOS MODIFICADOS COM ALTOS TEORES DE ARGILOMINERAL. 508
Adriel Bortolin, Fauze A. Aouada, Luiz H. C. Mattoso e Caue Ribeiro

INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DE NANOARGILA CLOISTA-NA^+ NA ESTABILIDADE TÉRMICA DE HIDROGÉIS NANOCOMPÓSITOS INTERCALADOS DE ALGINATO DE CÁLCIO 512
Renan S. Fernandes, Marcia R. de Moura e Fauze A. Aouada

PROPRIEDADES HIDROFÍLICAS E ESPECTROSCÓPICAS DE BIONANOCOMPÓSITOS FORMADOS POR NANOARGILA LAPONITA RD E HIDROGEL DE POLI(ÁCIDO METACRÍLICO) 516
Carlos R. F. Junior, Marcia R. de Moura e Fauze A. Aouada

NANOFIBRAS DE POLI(ε -CAPROLACTONA)/TIO_2 PREPARADAS PELA TÉCNICA DE FIAÇÃO POR SOPRO EM SOLUÇÃO 520
Rodrigo G. F. Costa, Caue Ribeiro e Luiz H. C. Mattoso

INFLUÊNCIA DO TEOR DE ZEÓLITA NA ESTABILIDADE TÉRMICA DE NANOCOMPÓSITOS AVALIADA POR ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA 523
Helena A. G. B. de Araujo, Adriel Bortolin, Márcia R. de Moura e Fauze A. Aouada

OBTENÇÃO E AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE ABSORÇÃO DE ÁGUA DE NOVOS BIONANOCOMPÓSITOS HÍBRIDOS 527
João Antonio F. Garcia, Uilian G. Yonezawa, Marcia R. de Moura e Fauze A. Aouada

RESULTADOS PRELIMINARES DE DESSORÇÃO DO FERTILIZANTE KH_2PO_4 POR MEIO DE NANOCOMPÓSITOS DE HIDROGÉIS DE POLISSACARÍDEO E ZEÓLITA 531
Fabrício N. Tanaka, Adriel Bortolin, Caue Ribeiro, Luiz H. C. Mattoso Marcia R. de Moura e Fauze A. Aouada

EFEITO DE ADIÇÃO DE ARGILA NA CAPACIDADE DE ABSORÇÃO DE ÁGUA EM HIDROGÉIS HÍBRIDOS NANOESTRUTURADOS 535
Denis Welton da Silva Nascimento, Luiz Henrique Capparelli Mattoso, Marcia Regina de Moura e Fauze Ahmad Aouada

AUMENTO DA SOLUBILIDADE DA HIDROXIAPATITA A PARTIR DO USO DE POLÍMEROS BIODEGRADÁVEIS À BASE DE AMIDO E PECTINA 539
Camila R. Sciena, Maria F. do Santos, Francys K. V. Moreira, José M. Marconcini e Elaine C. Paris

ENGENHARIA DE CRISTAIS DE SAIS ORGÂNICOS DE AMETRINA: UMA TECNOLIGIA EFETIVA PARA REDUÇÃO DE IMPACTOS AMBIENTAIS. 543
Paulo S. Carvalho Jr e Caue Ribeiro

SÍNTESE DE NANOESTRUTURAS DE ZNO PELOS MÉTODOS DE PRECIPITAÇÃO E HIDROTERMAL 547
Bárbara Alves Bernardi Pedreira, Tuany Chiliti e Elaine Cristina Paris

SÍNTESE DE ÓXIDO DE ZINCO PELO MÉTODO DOS PRECURSORES POLIMÉRICOS E AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS DE SÍNTESE NO CONTROLE DE FORMAÇÃO DE FASE 551
Tuany Chiliti, Bárbara Alves, Camila Rodrigues Sciena e Elaine Cristina Paris

IMOBILIZAÇÃO DE ZEÓLITA FAU EM FIBRAS POLIMÉRICAS PARA A ADSORÇÃO DE CORANTES 555
Bruno Cano Mascarenhas, Francine Aline Tavares e Elaine Cristina Paris

COMPÓSITO BACTERICIDA MAGNETITA:HIDROXIAPATITA:ÓXIDO DE CÚPRICO PARA TRATAMENTO DE POLUENTES EM ÁGUA 559
Lilian C. Santos, João O. D. Malafatti, Camila R. Sciena, Joana D. Bresolin e Elaine C. Paris

EXTRAÇÃO, PURIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE BIOPOLÍMEROS DE *S. aureus* COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO 563
Cynthia Penoni Volpi Abreu, Camila Guimarães de Almeida, Raimundo Vicente de Sousa e Humberto de Mello Brandão

SÍNTESE DE MATERIAIS À BASE DE TiO_2, ZnO E SiO_2 E AVALIAÇÃO DE SEU 568

POTENCIAL NA ADSORÇÃO DE Mn^{2+} *Patrícia Gonçalves, Roberto Bertholdo, Jéssica Ariane de Oliveira e Tania Regina Giraldi*	
ATIVAÇÃO BIOLÓGICA DA ROCHA FOSFÁTICA E EFEITO DO TAMANHO DE PARTÍCULA PARA OBTENÇÃO DE BIOFERTILIZANTE FOSFATADO *R. Klaic, F. Plotegher, C. Ribeiro, T.C. Zangirolami e C.S. Farinas*	572
SÍNTESE VERDE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA UTILIZANDO EXTRATOS VEGETAIS PARA O CONTROLE DE *Meloidogyne incognita* *Polez,V.L.P; Rocha,T.L; Jesus, K.R; Soll,C.B; Pupe,J; Vieira, R.F.; Silva, D.B; Alves, R.B. N, Costa,D.C, Abiorama,A.F; Bonatto,C.C e Silva,L.P*	577
OBTENÇÃO DE COMPÓSITO MAGNÉTICO À BASE DE ZEÓLITA FAU PARA ADSORÇÃO CONTAMINANTES *Oneide Chire Quispe; Henrique Cesar Musetti e Elaine Cristina Paris*	582
SÍNTESE QUÍMICA DE ZNO PARA APLICAÇÃO EM PROCESSOS DE FOTOCATÁLISE HETEROGÊNEA *Mateus Tofoli Corrêa, Rafaella Hissae, Douglas Mendes da Silva Del Duque e Vagner Romito de Mendonça*	586
CARACTERIZAÇÃO REOLÓGICA DE GÉIS DE AMIDO CATIÔNICO MODIFICADO COM ÁCIDOS ORGÂNICOS *Matheus Foloni Leite, José Álvaro Previato Sardelli e Francys Kley Vieira Moreira*	589
INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DE ARGILAS E DOS TIPOS DIFERENTES DE MODIFICADORES ORGÂNICOS NA PROPAGAÇÃO DE CHAMA EM COMPÓSITOS COM PMMA *Camilla T.A. Almeida, Laurenice M. Pereira, Murilo J.P. Macedo, Amanda M.D. Leite e Edson N. Ito*	593
USO DA VULCANIZAÇÃO INVERSA PARA A PRODUÇÃO DE FERTILIZANTES MULTIFUNCIONAIS DE ENXOFRE *Stella Fortuna do Valle, Amanda Soares Giroto e Caue Ribeiro*	597
DESENVOLVIMENTO DE SENSOR DE PRESSÃO POR MEIO DE UM COMPÓSITO DE PLASTISOL E NEGRO-DE-FUMO *M.T. Neiva, J. C. Ugucioni, A.R.S. Neto e J.E. de Oliveira*	601
DESENVOLVIMENTO DE COMPÓSITOS MAGNÉTICOS POROSOS VISANDO APLICAÇÕES EM ADSORÇÃO *Lilian C. Santos, Henrique C. Musetti, Oneide C. Quispe, Camila R. Sciena, João O. Malafatti e Elaine C. Paris*	605
SURFACE MODIFICATION ON CELLULOSE NANOCRYSTALS (CNC) TOWARDS ORGANIC REDOX - BATTERIES *Sebastian Raja e Luiz Henrique Capparelli Mattoso*	609
CARACTERIZAÇÃO DA ESTRUTURA E FORMA DE COMPÓSITOS DE FIBRAS DE PLA:AMIDO:Mn PARA LIBERAÇÃO DE MANGANÊS *João O. D. Malafatti, Vanessa P. Scagion, Camila R. Sciena, Wilson A. Ribeiro Neto e Elaine C. Paris*	613
O USO DE BIOFILMES COMO BARREIRA FÍSICA PARA A PROTEÇÃO DE CÉLULAS DE RIZÓBIOS EM SEMENTES DE SOJA PRÉ-TRATADAS COM FUNGICIDA. *Fábio Plotegher; Rafaela Ferraz Majaron; Mariangela Hungria e Caue Ribeiro*	617
OBTENÇÃO DE FIBRAS INORGÂNICAS DE Nb_2O_5 VIA ELECTROSPINNING & SOLUTION BLOW SPINNING *Edson Tobias de Jesus; Mayara Coelho Sá; Aline Aparecida Becaro; Edjane Rocha dos Santos e Elaine Cristina Paris*	621
SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE ÓXIDO DE ZINCO PELO METODO DE SOL-GEL *Victor Cunha Castro e Elaine Cristina Paris*	625
MOAGEM DE ÓXIDO DE ZINCO EM MOINHO ATRITTOR E AVALIAÇÃO DO CONTROLE DE MORFOLOGIA DE PARTÍCULA *Túlio Jardini Aímola e Elaine Cristina Paris*	629
USO DE NANOCOMPÓSITOS FERTILIZANTES PARA DISPONIBILIZAÇÃO	633

EFICIENTE DE FÓSFORO E NITROGÊNIO PARA O SOLO
Amanda S. Giroto, Gelton Geraldo Fernandes Guimarães e Caue Ribeiro

OBTENÇÃO DE NANOFIBRAS DE AMIDO POR ELETROFIAÇÃO 637
Mayara Coelho Sá; Edson Tobias de Jesus; Aline Aparecida Becaro; Edjane Rocha dos Santos e Elaine Cristina Paris

AVALIAÇÃO E IMOBILIZAÇÃO DE DIFERENTES FONTES DE SiO_2 NANOPARTICULADA PARA ADSORÇÃO DE FÁRMACOS 641
Edjane Rocha dos Santos, Francine Aline Tavares e Elaine Cristina Paris

DESENVOLVIMENTO DE TRAÇADORES PARA IDENTIFICAÇÃO DE FONTES DE SEDIMENTOS 645
João Marcos Villela, André Esteves Nogueira, Caue Ribeiro de Oliveira e Silvio Crestana

CAPÍTULO 8 – Cenários e avaliação dos riscos ambientais e sociais dos nanocompostos

AVALIAÇÃO DE RISCO AMBIENTAL ESTIMADO PELA EXPOSIÇÃO AO ÓXIDO DE GRAFENO 651
Vera L. Castro, Zaira Clemente, Claudio Jonsson, Mariana Silva, José Henrique Vallim, Aline Maria Zigiotto de Medeiros e Diego Stéfani T. Martinez

CITOTOXICIDADE CAUSADA POR NANOMATERIAIS: AVALIAÇÃO DO MICRONÚCLEO 655
Anny Manrich, Silviane Zanni Hubinger e Elaine Cristina Paris

AVALIAÇÃO DA NANOTOXICIDADE DE NANOESTRUTURAS DE ÓXIDO DE ZINCO VISANDO APLICAÇÃO EM FERTILIZANTES 659
Flávia Fontes Pereira; Elaine Cristina Paris; Marcos David Ferreira e Daniel Souza Corrêa

EFEITOS DE NANOTUBOS DE CARBONO NA GERMINAÇÃO DE *LACTUCA SATIVA* 663
Paula Ariane de Andrade, Michele Valquíria dos Reis, Renato Paiva, José Manoel Marconcini e Juliano Elvis Oliveira

AVALIAÇÃO DO CICLO DE VIDA DA PRODUÇÃO DE CELULOSE BACTERIANA 667
Ana Lídia de Almeida Castro, Matheus de Oliveira Barros e Maria Cléa Brito de Figueirêdo

DESENVOLVIMENTO DE ONTOLOGIAS E LINGUAGEM DE DOMÍNIO ESPECÍFICO PARA ANÁLISES DE COMPLEXIDADE SEMÂNTICA EM NANOTECNOLOGIA AGRÍCOLA 671
Katia Regina Evaristo de Jesus, João Pedro Santos de Moura, Wander Almeida Limeira, Sérgio Alves Torquato, Karen Cristina Massini, John Garavito, Leandro Valadão e Dilvan de Abreu Moreira

NANOECOTOXIDADE DO ÓXIDO DE GRAFENO: INFLUÊNCIA DO CÓRION DOS EMBRIÕES DE ZEBRAFISH (*DANIO RERIO*) E CO-EXPOSIÇÃO COM ÁCIDO HÚMICO 675
Aline M. Z. de Medeiros, Gabriela H. da Silva, Vera L. Castro, Regina T. R. Monteiro e Diego S. T. Martinez

CAPÍTULO 9 – Avaliação de Segurança de Nanoprodutos

ANÁLISE DA CITOTOXICIDADE *IN VITRO* DAS NANOFIBRAS DE CELULOSE DE ALGODÃO 681
Rafaella Zanette, Leonara B.F. Almeida, Camila G. Almeida, Cauê R. Oliveira, Humberto M. Brandão e Michele Munk

ESTUDO *IN VITRO* DA BIOCOMPATIBILIDADE DE NANOPARTÍCULAS DE TITANATO DE BÁRIO 685
Danielle L. A. S. do Amaral, Rafaella S. S. Zanette, Leonara B. Fayer, Humberto M. Brandão e Michele Munk

ESTUDO DA BIOCOMPATIBILIDADE DAS NANOPARTÍCULAS DE DIÓXIDO DE TITÂNIO EM FIBROBLASTOS BOVINOS 689
Leonara Beatriz Fayer de Almeida; Rafaella de Souza Salomão Zanette; Geovana Onorato; Jocarla Fregulia Santos; Humberto de Mello Brandão e Michele Munk

DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE PRATA EM LEITE RESULTANTE DA MIGRAÇÃO DE EMBALAGENS CONTENDO NANOPARTICULAS DO METAL. 692
Renison T. Vargas; Mônica M. O. P. Cerqueira; Alessandro S. Guimarães; Marília M. Melo; Camila G. Almeida; Juliana R. Guimarães, Cristiane V. G. Ladeira; Ricardo Campos; Antônio M. T. Fonseca e Humberto M. Brandão

SUBSÍDIOS TÉCNICOS PARA FORMULAÇÃO DO PROCESSO REGULATÓRIO DAS NANOTECNOLOGIAS NO BRASIL: CONSULTA A ESPECIALISTAS COMO UMA ABORDAGEM PRELIMINAR 696
Katia Regina Evaristo Jesus e Karen Cristina Massini

NANOPARTÍCULAS DE TITANATO DE BÁRIO: CARACTERIZAÇÃO E CITOCOMPATIBILIDADE EM FIBROBLASTOS BOVINOS 700
Onorato,G.C.; Zanette, R.S.S.; Fayer, L.B.A.; Munk, M.; Carvalho, W. A.; Gern, J.C. e Brandão, H.M

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO NANOMATERIAL HIBRIDO TIO_2@MWCNT EM EMBRIÕES DE ZEBRAFISH 704
Gabriela H. Silva, Zaira Clemente, Francine Coa, Lais L. R. Neto, Hudson W. P. Carvalho, Latif U. Khan, Vera L. Castro, Diego S. T. Martinez e Regina T. R. Monteiro

COMPARAÇÃO DE MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE CLOXACILINA BENZATINA NANOESTRUTURADA. 708
Fonseca, A.M.T.; Loures, M.D.A; Mosqueira, V.C.F.; Araujo, W. C.; Gern, J.C.; Pinto, D.S.C.; Andrade, P.D.; Reigosa, I.F.; Guimarães, A.S.; Varago, F. C. e Brandão, H.M.

MICROSCOPIA DE DESFOCALIZAÇÃO COMO UMA FERRAMENTA DE ESTUDO DE PROPRIEDADES MORFOLÓGICAS E MECÂNICAS DE ERITRÓCITOS 712
Paula M. S. Roma, Luiza C. Mourão, Marcelo P. Bemquerer, Erika M. Braga e Ubirajara Agero

CAPÍTULO 10 – Avaliação da percepção do consumidor em relação à nanotecnologia

PERCEPÇÃO DO CONSUMIDOR EM RELAÇÃO À NANOTECNOLOGIA – RESULTADOS PRELIMINARES 719
Gonçalves R.A.S.; Lima M. F.; Oliveira D. C. R. e Deliza R.

DESENVOLVIMENTO DE UM OPACITÔMETRO NACIONAL EM SUBSTITUIÇÃO A PRODUTO IMPORTADO 723
Hideraldo De Filippo, Humberto de Mello Brandão, Juliana C. Gerne, José Mauro Granjeiro, Michele Munk, Alexandre Balbinot

CAPÍTULO 1

Métodos e Processos para Aumento da Escala de Produção de Nanoprodutos de Interesse do Agronegócio

OTIMIZAÇÃO DAS POLPAÇÕES APLICADAS NAS FIBRAS DO MESOCARPO DO DENDÊ UTILIZANDO PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

Nagila F. Souza[1], Kilvia F. Alves[2], Renato Carrhá Leitão[3], Henriette M. C Azerêdo[4] and Morsyleide F. Rosa[5(*)]

[1,2]*Depatamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-CE, Brasil*

[3,4,5]*Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, Brasil*

[(*)]*Email : morsyleide.rosa@embrapa.br*

Classificação: métodos e Processos para Aumento da Escala de Produção de Nanoprodutos de interesse do Agronegócio.

RESUMO

As fibras vegetais, como as fibras da prensagem do mesocarpo do dendê (FPMD), podem ser excelentes fontes de lignina e celulose para serem utilizadas em várias aplicações. Neste estudo, o processo de explosão à vapor, bem como a polpação acetosolv e etanosolv, foram avaliadas como pré-tratamentos da FPMD para extração de lignina e celulose. Os efeitos das variáveis tempo e concentração de ácido acético (para polpação acetosolv) ou hidróxido de sódio (para polpação etanosolv) foram avaliados utilizando um planejamento experimental composto central rotacional (DCCR) para cada polpação. Adotou-se como resposta para cada planejamento a análise de número kappa, determinante para avaliar o teor de lignina residual presente nas fibras após cada polpação. Para o processo acetosolv foram definidas como as melhores condições, tempo 35 min e concentração de ácido acético 80,3%, resultando em 56% de extração de celulose e número Kappa de 19,8. Para a polpação etanosolv foram definidas as melhores condições, tempo de 60 min e NaOH 4%, produzindo 60% de celulose e um número Kappa de 25.

Palavras-chaves: Celulose; lignina; planejamento experimental.

Publicações relacionadas
(3rd International Conference on Natural Fibers, junho de 2017 em Portugal).

ABSTRACT

Vegetable fibers such as those from oil palm mesocarp (OPMF) may be excellent sources of lignin and cellulose to be used in various applications. In this study, steam explosion as well as acetosolv or ethanosolv pulping were evaluated as pretreatments of OPMF for lignin and cellulose extraction. The effects of time and concentration of acetic acid (for acetosolv pulping) or sodium hydroxide (for ethanosolv pulping) were evaluated by using a central composite design. For acetosolv pulping, 35 min at 80.3% were defined as the optimum conditions, resulting in 56% cellulose extraction and a Kappa number of 19.8. For ethanosolv pulping, 60 min at 4% NaOH were the best conditions, yielding 72% cellulose and a Kappa number of 25.

Keywords: Cellulose; lignin; experimental designer.

1.INTRODUÇÃO

Muitos subprodutos agroindustriais são compostos de materiais lignocelulósicos e são uma ampla fonte de biomacromoléculas como hemicelulose, lignina e celulose, despertando grande interesse devido às suas aplicações industriais potenciais (SHINOJ et al., 2011). A lignina e a celulose são constituintes de paredes celulares de plantas e compreendem cerca de 30% e 22%, respectivamente, de fibra da prensagem do mesocarpo de dendê (FPMD) (SOUZA et al., 2016).

A explosão de vapor, que consiste em vaporização a alta pressão seguida de descompressão rápida, é um dos métodos de pré-tratamento mais comuns (e mais rentáveis) para a biomassa lignocelulósica (ZHENG et al., 2009).

No processo organosolv, são utilizados solventes orgânicos como ácido acético, acetona ou etanol com ou sem ácidos fortes (ácido clorídrico ou ácido sulfúrico) ou álcalis como catalisadores para quebrar as ligações de lignina e hemicelulose, desconfigurando os componentes da biomassa (ZHANG et al., 2009).

2. MATERIAIS E MÉTODOS

No presente estudo, a polpa foi submetida à explosão a vapor (210 ° C e 3 min) antes dos tratamentos organosolvs. As condições da polpação acetosolv (variáveis: concentração de ácido acético entre 56,3 a 93% em peso e tempo de reação de 52 a 180 min) ou etanosolv (variáveis: concentração de solução de NaOH entre 2 e 16% e tempo de reação entre 60 e 180 min) sob pressão atmosférica foram otimizadas para a deslignificação das fibras naturais de dendê. O objetivo deste trabalho foi a otimização do processo acetosolv e do etanosolv, utilizando delineamento composto central para otimizar a extração de lignina e celulose das fibras naturais de dendê.

2.RESULTADOS E CONCLUSÕES

2.1. Polpação Acetosolv e Etanosolv

A Tabela 1 apresenta os modelos de regressão da superfície de resposta para o planejamento experimental das polpações acetosolv e etanosolv. Os modelos de polpações foram significativos, enquanto que o número kappa foi altamente significativo ($p < 0,01$) e mostraram os coeficientes de determinação satisfatórios (R^2).

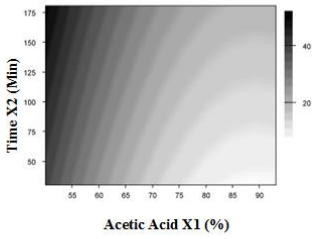
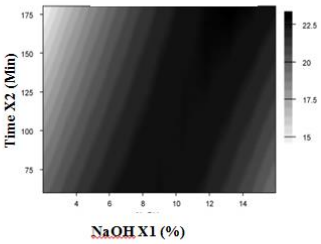
Pulping	Surface	F	R^2
Acetosolv		10.6 (p<0.010)	0.91
Ethanosolv		7.7 (p<0.012)	0.76

Tabela 1: Polpação Acetosolv (KP: número de kappa, concentração de ácido acético, tempo de reação) e polpação etanosolv (KP: número kappa, concentração de NaOH, tempo de reação).

Além disso, o número de kappa (78) da fibra explodida era visivelmente inferior ao da fibra não tratada (137), indicando que a explosão à vapor foi eficaz para auxiliar na redução do teor de lignina insolúvel de FPMD. A partir das regressões, as condições ideais para o processo acetosolv foram definidas como 35 min com ácido acético a 80,3% (m/m) resultando num número kappa de 19,8. As condições óptimas para o etanosolv foram definidas como 60 min com NaOH 4% (m/v), o que resultou num número kappa de 25.

Este estudo mostra que a explosão à vapor foi um pré-tratamento efetivo para os processos de obtenção de polpas submetidas a tratamentos organosolvs (acetosolv e etanosolv) aplicados as FPMD, separando parte da lignina presente na fibra não tratada da celulose.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Embrapa Agroindústria Tropical, a Fundação Cearense para o Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP), a Rede Agronano, a Coordenação para o Melhoramento do Pessoal de Ensino Superior (CAPES) e o Conselho Nacional de Desenvolvimento Tecnológico e Científico (CNPq) para o financiamento desta pesquisa.

REFERÊNCIAS

SOUZA, N.; JOSE, P.; BRÍGIDA, A.; MORAIS J, P, S.; FILHO, M, M, S.; ROSA, M, F. Fibrous residues of palm oil as a source of green chemical building blocks. Industrial Crops & Products, v. 94, p. 480–489, 2016.

SHINOJ, S.; VISVANATHAN, R.; PANIGRAHI, S.; KOCHUBABU, M. Oil palm fiber (OPF) and its composites: A review. Industrial Crops & Products, v. 33, p.7–22, 2011.

ZHANG, J.; SONG, H.; LIN, L.; ZHUANG, J.; PANG, C.; LIU, S.; Microfibrillated cellulose from bamboo pulp and its properties. Biomass and Bioenergy, v. 39, p.78–83, 2009.

VIABILIDADE ECONÔMICA DA PRODUÇÃO DE CELULOSE NANOFIBRILADA POR DESFIBRILAÇÃO MECÂNICA

Caroline Jordão[1], Francine C. Claro[2] e Washington L. E. Magalhães[3]

1 – Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Paraná, caroline.jordão@ufpr.br 2 - Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais, Universidade Federal do Paraná, cecconclaro@gmail.com 3 - Embrapa Florestas, washington.magalhaes@embrapa.br

Classificação: Métodos e Processos para Aumento da Escala de Produção de Nanoprodutos de interesse do Agronegócio

Resumo

Em diversos setores vem crescendo o interesse pela aplicação da celulose nanofibrilada (CNF) devido às suas propriedades físicas excepcionais: como alta resistência, baixa densidade e translucidez, além dos benefícios ecológicos. Entretanto a CNF ainda não é produzida em larga escala. O objetivo deste estudo foi mensurar a energia consumida na produção de celulose nanofibrilada (CNF) pelo método mecânico *grinding*, propondo um processo em escala comercial e avaliando a viabilidade econômica. Para a produção de CNF, suspensões de polpa de celulose foram submetidas ao processo de desfibrilação mecânica em moinho de pedras, sendo registrada a energia consumida durante o processo. Ao final do processo foi mensurado uma energia de 4 kW.h/kg de CNF (base seca). Para uma operação em larga escala foi estimado um custo de produção de US$ 3,9/kg, considerando matéria-prima e custos operacionais. Para análise de viabilidade econômica foi utilizada a ferramenta Valor Presente Líquido (VPL), sendo encontrado um VPL de US$ 86.000 para um valor de venda de US$ 11/kg. A produção de CNF em escala comercial é viável, considerando o baixo consumo de energia, além do valor positivo encontrado para o VPL.

Palavras-chave: Celulose nanofibrilada; Energia; Custos; Viabilidade Econômica

ECONOMIC FEASIBILITY OF NANOFIBRILLATED CELLULOSE PRODUCTION BY MECHANICAL DESFIBRILLATION

Abstract

In several sectors, the interest in the application of nanofibrillated cellulose (NFC) has been increasing due to its exceptional physical properties: high strength, low density and translucency, as well as ecological benefits. However, NFC is not produced on a large scale yet. The aim of this study was to measure the energy consumption during the production of nanofibrillated cellulose by the mechanical method grinding, propose a large-scale process and evaluate its economic feasibility. It was found at the end of the process an energy of 4kW.h/kg of NFC (dry basis). To a large scale operation, it was estimated a production cost of US$3,9/kg, considering raw materials and operational cost. The tool used for the analysis of the economic feasibility was the Net Present Value (NPV), for a selling price of US$ 11/kg, it was found a NPV of US$ 86.000. The study showed that commercial production of NFC is possible, due to the low energy consumption. Beside this, the project is viable, given the positive NPV found.

Keywords: Cellulose nanofibrillated; Energy; Cost; Economic Feasibility

1 INTRODUÇÃO

Os principais métodos de obtenção de celulose nanofibrilada (CNF) são tratamentos mecânicos, entre os quais se destacam homogeneização, microfluidização e *grinding.* O *grinding* tem como base o moinho *SuperMassColloider,* da marca Masuko Sangyi Co.® e vem sendo muito utilizado. O princípio deste método é passar a suspensão de celulose entre dois discos, sendo um estático e outro em rotativo. A força de cisalhamento resultante da rotação dos discos gera a desfibrilação da celulose (IWAMOTO et al, 2007). O maior desafio da produção de CNF através destes métodos é o grande consumo de energia envolvido. Tais processos consomem em média 20 – 30 kW.h/kg (SIRÓ e PLACKETT, 2010), até mesmo70 kW.h/kg (ERIKSEN, 2008).

Spence et al. (2011) desenvolveram um estudo detalhado comparando a energia consumida para os três principais métodos mecânicos. De acordo com o estudo, o processo mais eficiente em relação à energia foi o método *grinding,* apresentando um consumo de 1,55 kW.h/kg de celulose nanofibrilada. O método também apresenta a vantagem de não precisar de pré-tratamento.

Apesar dos extensos estudos sobre celulose nanofibrilada que datam desde a década de 80, não há nenhum estudo sobre a parte econômica da produção de CNF e a viabilidade da produção em larga escala. Na literatura são encontrados apenas dados das estimativas do custo de produção baseado apenas na matéria prima (SPENCE et al, 2011; JONOOBI; MATHEW; OKSMAN, 2012) e custos operacionais (CHAUVE; BRAS, 2014), porém nenhum apresenta um possível escalonamento do processo e a viabilidade econômica de uma planta industrial.

Este estudo tem como objetivo mensurar a energia consumida no processo *grinding* de desfibrilação da celulose em laboratório, e baseado nestes dados propor um escalonamento do processo e a viabilidade econômica em larga escala.

2 MATERIAL E MÉTODOS

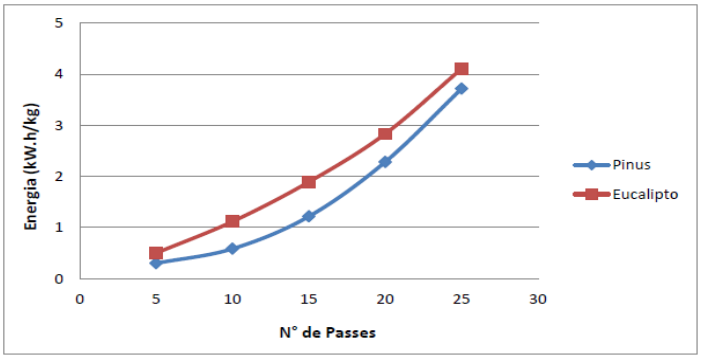
Para a avaliação do consumo de energia durante o processo de desfibrilação foram utilizadas polpas branqueadas de *Eucalyptus sp.* e *Pinus sp.* A polpa seca foi dispersa em água destilada em liquidificador laboratorial durante um minuto, gerando uma suspensão de fibras homogeneizadas na consistência de 3%. Tais amostras foram submetidas ao processo de desfibrilação mecânica no moinho coloidal *SuperMassColloider* MKCA6-2J da marca Masuko Sangyi Co. As suspensões de celulose foram submetidas ao moinho num total de 25 passagens, sendo cada passagem um ciclo completo da suspensão pelo moinho. Durante todo o processo registrou-se a energia consumida pelo medidor de grandezas elétricas Mult-K da marca Kron acoplado ao moinho. A frequência da rotação do disco do moinho foi controlada em 1500 rpm.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Consumo de energia e custo de produção

Os resultados do consumo de energia durante o processo de desfibrilação são mostrados na Figura 1. Os valores são dados em kW.h/kg de celulose nanofibrilada em base seca.

Figura 1. Consumo de energia na desfibrilação das polpas a 3%



Para a estimativa do custo de produção de celulose nanofibrilada foi utilizado como referência os resultados obtidos na desfibrilação de polpa ao final das 25 passagens. Tendo em vista os resultados obtidos, foi considerado um consumo de 4 kW.h/kg de celulose nanofibrilada.

A desfibrilação mecânica da polpa precisa de três entradas: celulose, água e energia. Para os custos destas entradas foram considerados US$ 0,55/ kg de celulose, US$ 2/m³ de água e US$ 0,13/kW.h para energia. A Tabela 1 mostra a quantidade necessária de cada entrada no processo para a produção de um quilograma de nanocelulose, o custo de cada entrada e o custo total.

Tabela 1. Custo de produção da celulose nanofibrilada

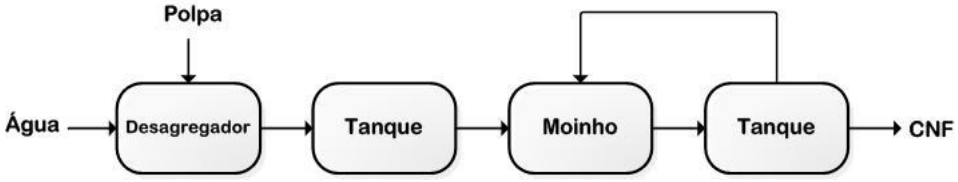
Entrada	Quantidade	Custo (US$)
Água (m³)	0,0320	0,064
Polpa (kg)	1,00	0,55
Energia (kW.h)	4,00	0,52
Custo Total (US$)		1,13

Spence et al. (2011) estimaram um custo de US$ 0,75/ kg, porém no estudo os pesquisadores consideraram uma energia de 1,5 kW.h/kg e um custo de energia elétrica de US$ 0,10/kW.h. Jonoobi, Mathew e Oksman chegaram a um custo de US$ 1,65/kg, para em consumo de energia de 1,7 kW.h/kg e um custo de US$ 1,5/kg de polpa seca.

3.4 Escalonamento e estimativa de custos do processo em larga escala

Com base no processo de produção de celulose nanofibrilada através do método *grinding* desenvolvido em laboratório, foi proposto um processo em escala piloto-industrial, o qual é mostrado na Figura 2.

Figura 2. Fluxograma para a produção de CNF em larga escala



Com base no projeto proposto, foi levantado o custo dos equipamentos do processo. O custo do moinho coloidal foi fornecido diretamente pelo fabricante, os custos do desagregador e das bombas foram levantados por valores médios de mercado, enquanto os custos dos tanques foram calculados por correlações especificas (SEIDER et al, 2004). O valor encontrado foi de US$ 230.000.

As estimativas dos custos operacionais levaram em conta a matéria-prima, a energia consumida, os custos de manutenção da planta, mão de obra, aluguel e depreciação. Como parâmetro para os custos operacionais foi considerado uma produção diária de 110 kg e uma planta operando 260 dias no ano. Os custos com matéria-prima e energia foram determinados usando os dados obtidos em laboratório e a produção estimada na planta, enquanto os custos de manutenção, mão de obra e de aluguel foram estimados. O valor encontrado para os custos operacionais foi US$ 112.000 anual.

O custo de produção final é dado pelos gastos operacionais e depreciação pela quantidade de produto produzido. Levando em conta todos os valores apresentados anteriormente o custo final do produto é de US$ 3,90/kg da suspensão de celulose nanofibrilada. Bras e Chauve (2014) estimaram um custo de US$ 7 – 12/kg de material seco, com custos de matéria-prima e operacionais.

3.5 Análise de viabilidade econômica

Para a análise econômica foi considerado um valor de venda do produto de US$ 11/kg (incluído impostos) e um período de 5 anos. A ferramenta utilizada na análise econômica foi o Valor Presente Líquido (VPL), onde o valor dos investimentos e do fluxo de caixa atual e futuro são

convertidos com valor equivalente atual. Se o VPL é positivo significa que o projeto é viável. A Equação 1 mostra como é feito o cálculo o VPL.

$$VPL = \sum_{t=1}^{n} \frac{FC_t}{(1+i)^t} \quad (1)$$

t = tempo (anos ou meses)
n = tempo total projeto
i = taxa de desconto
FC = fluxo de caixa

Na análise feita, foi considerada uma taxa de desconto de 12% ao ano. Aplicando a ferramenta no fluxo de caixa do projeto com a taxa citada, foi encontrado um VPL de US$ 86.000.

4 CONCLUSÃO

A produção da celulose nanofibrilada em escala comercial é uma realidade, se antes inviável pelo alto consumo de energia (20 – 30 kW.h/kg), hoje possível pelo método *grinding*, o qual reduz o consumo de energia consideravelmente (1,5 – 4 kW.h/kg), tornando o escalonamento do processo viável.

O desafio do método proposto no projeto é a limitação de produção do moinho. Apesar do *SuperMassColloider* ser um grande avanço na parte energética, ainda esbarra no quesito de produção. Porém, mesmo com a limitação do equipamento, é possível uma produção em escala comercial.

O projeto realizado se mostra muito vantajoso para empresas do setor de celulose. Visto que o custo de produção da celulose nanofibrilada depende basicamente da polpa celulósica e energia, se incorporada a uma planta industrial de celulose, o custo da produção de CNF poderá reduzir drasticamente, considerando que além da matéria-prima, a planta industrial de celulose também gera energia.

AGRADECIMENTOS

À EMBRAPA Florestas, a Universidade Federal do Paraná pelo apoio e incentivo ao desenvolvimento deste estudo e à CAPES pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

ERIKSEN, Ø.; SYVERUD, K..; GREGERSEN, Ø. The use of microfibrillated cellulose produced from kraft pulp as strength enhancer in TMP paper. Nordic Pulp Pap. Res. J., v.23, n.3, p. 299–304, 2008.

IWAMOTO, S.; NAKAGAITO, A. N.; YANO, H. Nano-fibrillation of pulp fibers for the processing of transparent nanocomposites. Appl. Phys. A, v. 89, n.2, p. 461–466, 2007.

SEIDER, W. D.; SEADER, J. D; LEWIN, D. R. Product and process design principles: synthesis, analysis, and evaluation. 2nd. ed.J.Wiley, c2004. xviii, 802 p

SIRO, I..; PLACKETT, D. Microfibrillated cellulose and new nanocomposite materials: a review. Cellulose, v.17 n.3, p.459–494, 2010.

SPENCE, K. L. et al. A comparative study of energy consumption and physical properties of microfibrillated cellulose produced by different processing methods. Cellulose, v.18, n. 4, p.1097–1111, 2011.

BRAS, J.; CHAUVE, G. Industrial Point of View of Nanocellulose Materilas and Their Possible Applications. In: OKSMAN et al. Handbook of Green Materials: Processing Technologies, Properties and Applications. World Scientific Publishing Company, Nova Jersey, 2014. p. 233–252.

BIONANOCOMPÓSITOS PECTINA/NANOFIBRILAS DE CELULOSE PRODUZIDOS POR CASTING CONTÍNUO

Caio M. Ferreira[1,2], Francys K. V. Moreira[2], Alessandra A. Lucas[2], Luiz H. C. Mattoso[1]

1 – Laboratório de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio (LNNA) - Embrapa instrumentação; 2 - Departamento de Engenharia de Materiais (DEMa) - UFSCar

Classificação: Métodos e Processos para Aumento da Escala de Produção de Nanoprodutos de interesse do Agronegócio

Resumo

O presente estudo descreve a preparação de plásticos biodegradáveis de pectina reforçados com nanofibrilas de celulose por *casting* contínuo. A caracterização das nanofibrilas por microscopia eletrônica de transmissão mostrou uma elevada razão de aspecto. Também foi notado que os filmes bionanocompósitos pectina/nanofibrila de celulose apresentam elevada transparência ótica independentemente da concentração de nanofibrilas. A resistência à tração e módulo elástico dos bionanocompósitos foram substancialmente aumentados, em torno de 100%, em relação ao filme de pectina puro, para concentração de nanofibrila de 1,5%. Os bionanocompósitos pectina/nanofibrila são, portanto, materiais de desempenho superior, o que lhes dão imenso potencial para aplicações tecnológicas, tais como revestimento e embalagens alimentícias, sendo possível notar-se também que o processamneto por *Casting* Contínuo foi adequado.

Palavras-chave: Filme Biodegradável; Produção Escalonada; Nanomateriais; Propriedades Mecânicas.

PECTIN/CELLULOSE NANOFIBRILS BIONANOCOMPOSITES PRODUCED BY CONTINUOUS CASTING

Abstract

This study describes the preparation of biodegradable pectin films reinforced with cellulose nanofibrils by continuous casting. Transmission electron Microscopy characterizations of cellulose nanofibrils revealed a large aspect ratio. It was also noted that pectin/cellulose nanofibrils bionanocomposite films were highly transparent regardless of cellulose nanofibril concentration. Tensile strength and elasticity of bionanocomposites were substantially increased, about 100%, in relation to pure pectin film, for cellulose nanofibrils concentrations of 1,5 %. Hence, pectin/cellulose nanofibrils bionanocomposites are mechanically superior materials with extended potential for technological applications including coating and food packaging materials.

Keywords: Biodegradable Film; Scaled-up Production; Nanomaterials, Mechanical Properties.

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos muita atenção tem sido dada aos tópicos de sustentabilidade e materiais ambientalmente saudáveis, incluindo o uso de biomassa como reforço em materiais compósitos (Khalil et.al, 2014). Além disso, a alta necessidade de substituir plásticos não biodegradáveis derivados do petróleo por aqueles considerados ecologicamente corretos também aumentou, pois assim várias preocupações seriam resolvidas, tais como a poluição gerada pelos plásticos comuns, a emissão de CO_2 e até questões referentes a sustentabilidade de grande parte dos materiais (Nechyporchuk, Belgacem & Bras, 2016).

Pectina é um dos polissacarídeos que tem se tornado cada vez mais relevante para o desenvolvimento de plásticos biodegradáveis, devido principalmente a sua abundância na natureza. Ela é um componente estrutural da parede celular das plantas sendo composta majoritariamente por cadeias de poli(ácido galacturônico). A pectina apresenta um enorme potencial para aplicações como fibras na indústria têxtil, produtos farmacêuticos, cosméticos e bioimplantes (Cabelo et.al 2015;

Cabelo et.al 2017). Contudo, para aplicação como plástico biodegradável, a pectina apresenta propriedades mecânicas limitadas, o que pode ser solucionado pela adição de agentes de reforço.

As nanofibrilas de celulose (NFC) são um tipo de nanomaterial que vem recebendo elevada atenção nas últimas décadas, por serem não tóxicas, biodegradáveis, estáveis e apresentarem baixo custo. Elas são as menores unidades estruturais das fibras vegetais, sendo constituídas por um feixe longo de cadeias de celulose, flexível e com diâmetro entre 1 a 100 nm, mas com comprimento micrométrico (Khalil et.al, 2014; Nechyporchuk, Belgacem & Bras, 2016). As NFC podem ser obtidas de diversas fontes, como folhas, madeira, flores e até cascas de semente mediante tratamentos mecânicos cisalhantes (Nechyporchuk, Belgacem & Bras, 2016). O uso de NFC como agente de reforço tem sido amplamente publicado na literatura, porém a adição de NFC em plásticos biodegradáveis de pectina mediante um método escalonado de produção em via aquosa ainda não investigado. A combinação pectina/NFC é então definida como um bionanocompósito, o qual pode apresentar inúmeras vantagens em comparação aos plásticos de pectina puros, a exemplo da maior resistência mecânica e melhores propriedades de barreira ao vapor de água (Khalil, Bhat & Yusra, 2012; Burgos-Mármol & Patti, 2017; Zare, 2015).

Este trabalho teve como objetivo a produção de bionanocompósitos pectina/NFC utilizando o casting contínuo, uma técnica de processamento em via aquosa emergente para obtenção escalonada de filmes biodegradáveis. As propriedades mecânicas dos bionanocompósitos foram avaliadas em função da concentração de NFC na matriz de pectina.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

As NFC de fibra de eucalipto foram gentilmente cedidas pela empresa Suzano Papel & Celulose. A amostra foi fornecida como uma suspensão aquosa com teor de sólidos de 13%. Foi utilizada uma pectina de grau alimentício (USP-B) adquirida da CP Kelco (Limeira, SP). Toda a parte experimental deste trabalho foi realizada utilizando exclusivamente água ultra-pura (ρ = 18.2 MΩ cm).

2.2 Preparação dos bionanocompósitos pectina/NFC

Quantidades desejadas de NFC foram adicionadas em 400 g de água ultra-pura e submetida à sonicação por 5 min com um equipamento Branson 450 operando com potência de 70%. As suspensões obtidas foram adicionadas com massa de pectina para resultar em solução do polímero com concentração de 6 %. A solução foi obtida em um misturador a vácuo operando a 2000 rpm e -400 mmHg por 1 h. A solução final foi imediatamente utilizada na preparação dos filmes para evitar re-aglomeração das NFC. A concentração de NFC nos bionanocompósitos foi variada entre 1, 1,5 e 2 % em relação à massa de pectina.

Os filmes bionanocompósitos foram preparados pelo método casting contínuo (CC) em uma unidade piloto de laminação KTF-B (Mathis, Suíça). O método consistiu no espalhamento ininterrupto das diferentes soluções em um substrato com a espessura da lâmina úmida de solução definida a 1,5 mm utilizando um dispositivo composto por uma Doctor Blade tipo B e um par de relógios comparadores de alta precisão (± 0.001 mm). Os filmes foram secados a temperaturas pré-estabelecidas a uma velocidade de 20 cm min^{-1}. Ao final do casting contínuo, os filmes bionanocompósitos foram bobinados e armazenados para futuras caracterizações.

2.3 Técnicas de caracterização

A morfologia da NFC foi observada por microscopia eletrônica de transmissão (MET) em modo varredura em com equipamento FEI Magellan 400 L. As amostras foram recobertas com uma fina película de ouro antes das medidas. As propriedades mecânicas dos bionanocompósitos foram determinadas em uma máquina universal de ensaios mecânicos Instron 5569 (Instron Corporation, EUA) equipada com uma célula de carga de 500 N. Os ensaios foram realizados de acordo com a norma ASTM D882-09. Foram testados, pelo menos, 5 corpos-de-prova por tipo de amostra e os valores médios de módulo elástico (E, MPa), resistência à tração (σ_T, MPa) e alongamento na ruptura (ε_B, %) foram calculados. A espessura dos plásticos foi previamente determinada com um micrômetro digital Mitutoyo (Mitutoyo Corp., Japão).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 mostra uma micrografia para a NFC onde é possível observar fibrilas longas, flexíveis e entrelaçadas. Em termos de dimensões, a NFC apresentou diâmetros (d) da ordem de 40 – 100 nm. O comprimento (L) não pode ser determinado devido ao entrelaçamento das fibrilas, porém é possível concluir que a NFC apresenta elevada razão de aspecto (L/d) em razão dos comprimentos superiores a10 µm.

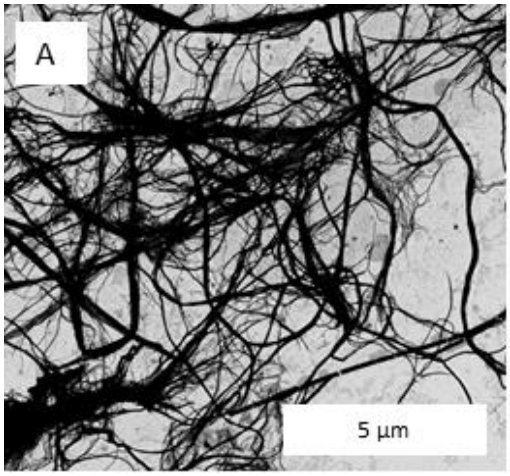


Figura 1. Micrografia de MET para a NFC obtida de fibras de eucalipto.

O processamento das soluções de pectina com fração mássica de 6% por CC foi acompanhado com a variação da concentração de NFC (0%, 1%, 1,5% e 2%). A Figura 2 ilustra o aspecto visual dos bionanocompósitos.

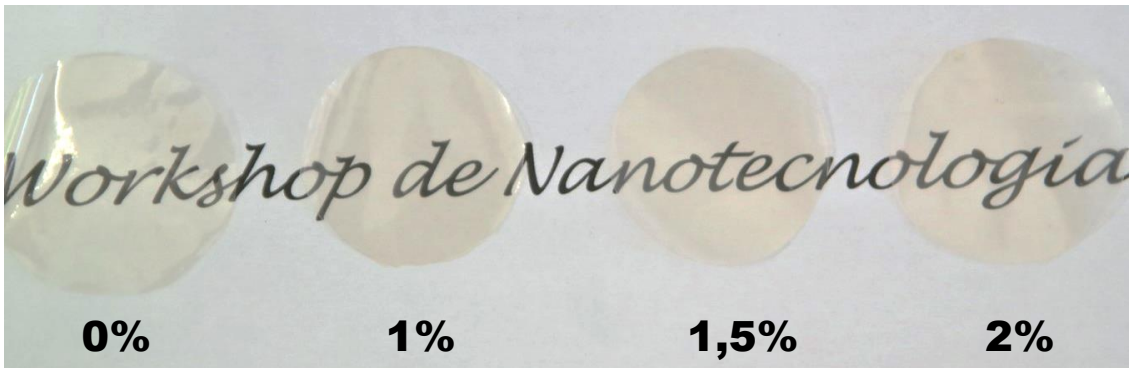


Figura 2. Imagem dos bionanocompósitos com diferentes concentrações de NFC.

Observa-se uma boa transparência dos filmes independente da concentração de NFC. Isto sugere uma que boa dispersão das nanofibrilas na matriz de pectina foi alcançada. A Tabela 1 apresenta as propriedades mecânicas E, σ_T e ε_B dos diferentes bionanocompósitos.

Tabela 1. Propriedades mecânicas de tração para bionanocompósitos pectina/NFC produzidos por CC.

VIII Workshop de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio			
NFC (%)	σ_T (MPa)	ε_B (%)	E (GPa)
0	36 ± 6	4,0 ± 1,4	1,4 ± 0,2
1	48 ± 12	1,8 ± 0,6	3,6 ± 0,5
1,5	64 ± 6	2,6 ± 0,9	4,4 ± 0,1
2	63 ± 4	3,4 ± 0,8	3,5 ± 0,5

Nota-se que há um aumento de σ_T conforme aumento da concentração de NFC, indicando que as nanofibrilas atuaram como um reforço sobre a matriz de pectina e consequentemente aumentando a resistência mecânica dos bionanocompósitos. Também se nota que o filme com 2% NFC apresentou σ_T similar ao filme com 1,5% NFC, isso ocorreu provavelmente devido à saturação do filme em relação à presença das nanofibrilas. Em paralelo houve uma ligeira redução no ε_B e aumento do E com o aumento da concentração de NFC nos bionanocompósitos. Em relação ao filme de pectina puro, a σ_T e E aumentaram em torno de 100% com adição de pelo menos 1,5% NFC. Isto reflete a boa compatibilidade química entre a NFC e a pectina aliada à boa dispersão das NFC que foi atingida *via* CC.

4 CONCLUSÃO

As NFC de eucalipto apresentaram características desejadas como agente de reforço uma vez que o MET possibilitou verificar uma alta razão de aspecto para esse nanomaterial. A resistência mecânica do filme de pectina foi substancialmente aumentada com adição de NFC, além do mais o processamento por *Casting* Contínuo foi satisfatório uma vez que permitiu filmes íntegros e com propriedades mecânicas adequadas. Os bionanocompósitos pectina/NFC produzidos por *Casting* Contínuo são, portanto, materiais de desempenho superior, o que lhes dão imenso potencial para aplicações tecnológicas, tais como revestimento e embalagens alimentícias

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao DEMa/UFSCar, SISNano/MCTI/CNPq (458763/2014-4), CAPES e EMBRAPA pelo apoio financeiro e à infraestrutura utilizada neste trabalho. C. M. Ferreira agradece a FAPESP (Processo n° 2016/20806-8) pela bolsa de iniciação científica.

REFERÊNCIAS

BURGOS-MÁRMOL, Javier; PATTI, Alessandro. “Unveiling the impact of nanoparticle size dispersity on the behavior of polymer nanocomposites.” Polymer, vol. 113, pp. 92104, 2017.

KHALIL, H.P.S. Abdul; BHAT, A.H., YUSRA, A.F. Ireana. “Green compsites from sustainable cellulose nanofibrils; A review.” Carbohydrate Polymers, vol. 87, pp. 963979, 2012.

KHALIL, H.P.S.Abdul; DAVOUDPOUR, Y; ISLAM Md.nazrul; et.al. “Production and modification of nanofibrillated cellulose using various mechanical processes: A review.” Carbohydrate Polymers, vol. 99, pp. 649-665, 2014.

NECHYPORCHUK, Oleksandr; BELGACEM, Mohamed Naceur; BRAS, Julien. “Production of cellulose nanofibrils: A review of recent advances.” Industrial Crops and Products, vol. 93, pp. 2-25; 2016.

ZARE, Yasser. “A simple technique for determination of interphase properties in polymer nanocomposites reinforced with spherical nanoparticles.” Polymer, vol. 72, pp. 93-97, 2015.

CABELLO, Pasini S. D.; TAKARA, E. A.; MARCHESE, J.; et.al. “Influence of plasticizers in pectin films: Microstructural changes”. Materials Chemistry na Physics, vol 162, pp 491-497, 2015.

CABELLO, Pasini S. D.; OCHOA, N. A.; TAKARA, E.; et.al. “Influence of Pectin as a green polymer electrolyte on the transport properties of Chitosan-Pectin membranes”. Carbohydrate Polymers, vol 157, pp 1759-1768, 2017.

ESTUDO DE ESCALONAMENTO NA SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS PARA ENCAPSUALMENTO DE PRINCÍPIOS ATIVOS

Dirliane Santos Duarte[1], José Augusto de Almeida Nascimento[2], Douglas de Britto[3]

[1]Instituto Federal do Sertão de Pernambuco - Campus Petrolina, PE; [2]Universidade Federal do Vale do São Francisco - PPG Ciência dos Materiais; [3]Pesquisador Embrapa Semiárido, Petrolina, PE. douglas.britto@embrapa.br

Classificação: Métodos e Processos para Aumento da Escala de Produção de Nanoprodutos de interesse do Agronegócio.

Resumo

Diante da potencialidade de nanopartículas (NP) para atuar como vetores de drogas, cosméticos e alimentos há interesse em aumento da produção. No entanto, tanto o processo de isolamento como o volume reacional podem influenciar as propriedades de NP obtida por gelificação ionotrópica, visto que o processo é heterogêneo. Para avaliar essa influência do escalonamento, este trabalho avaliou as propriedades de NP de quitosana em dois sistemas de encapsulamento: com vitamina C (extraída de subproduto do processamento de acerola) e polifenóis (subproduto do processamento da uva). As sínteses ocorreram a partir de três volumes diferentes: 0,1; 1,0 e 10 L, utilizando tripolifosfato como entrecruzante. As NP foram caracterizadas em termos de morfologia, rendimento, tamanho de partícula e eficiência de encapsulamento. No geral, o aumento de escala não influenciou no rendimento e eficiência de encapsulamento, no entanto, o tamanho, principalmente para o sistema NP branco (sem encapsulamento) variou entre 150-3400 nm. A razão rendimento por volume ficou em torno de 1,3 mg/mL. A análise morfológica não mostrou variação entre os volumes, apresentando estruturas esféricas uniformemente distribuídas. Assim, conclui-se que é possível escalonar a produção de NP, fazendo ajustes adequados na proporção do entrecruzante.

Palavras-chave: Quitosana; Vitamina C, Resíduo Agroindustrial; Acerola; Casca de uva

SCALE-UP IN THE SYNTHESIS OF NANOPARTICLES FOR ENCAPSULATION OF ACTIVE PRINCIPLES

Abstract

In view of the potentiality of nanoparticles (NP) to act as vectors of drugs, cosmetics and food, there is interest in increasing production. However, both the isolation process and the reactional volume may influence the properties of NP obtained by ionotropic gelation, since the process is heterogeneous. In order to evaluate this influence of the scale-up, this work evaluated the NP properties of chitosan encapsulated with vitamin C (extracted from by-product of the acerola processing) and polyphenols (by-product of grape processing). The syntheses occurred from three different volumes: 0.1; 1.0 and 10 L, using tripolyphosphate as crosslinker. The NP were characterized in terms of morphology, yield, particle size and encapsulation efficiency. In general, the increase in scale did not influence the yield and efficiency of encapsulation, however, the size, especially for the blank NP system (without encapsulation) varied between 150-3400 nm. The yield per volume ratio was about 1.3 mg / mL. The morphological analysis showed no variation between the volumes, presenting uniformly distributed spherical structures. Thus, it is concluded that it is possible to scale-up the NP production, making appropriate adjustments in the ratio of the crosslinker.

Keywords: Chitosan; Vitamin C; Agro-industrial byproducts; Acerola; Grape skin

Publicações relacionadas: BRITTO, D. et al. Entrapment characteristics of hydrosoluble vitamins loaded into chitosan and N,N,N-trimethy chitosan nanoparticles, Macromolecular Research, v. 22, p.1261-1267, 2014.

1 INTRODUÇÃO

Devido à sua biocompatibilidade, os polissacarídeos têm sido usados como matriz para preparar nanopartículas (NP) e encapsular proteína e diversas classes de materiais de aplicação potencial nas indústrias farmacológica e alimentícia (GEORGE e ABRAHAM, 2006). Particularmente, a quitosana tem sido estudada para a nanoencapsulação de compostos ativos com aplicação direta nas áreas alimentícias (ZHAO et al., 2011) e farmacológica (GARCIA-FUENTES e ALONSO, 2012) devido principalmente a suas propriedades quelantes e de entrecruzamento. A síntese de NP pode ser usada também para estabilizar e potencializar princípios ativos como, vitaminas, polifenóis e óleos essenciais, compostos sensíveis, mas que apresentam atividade antifúngica muito desejada em revestimento de frutas pós-colheita. Muitos desses compostos são abundantes em resíduos agroindustriais.

Alguns resíduos muito comuns no Vale do São Francisco são os de acerola (*Malpighia emarginata* D.C.), oriundo do processamento da polpa da fruta, e o bagaço de uva (*Vitis* ssp.), resultante do processamento da uva para produção de vinho e suco. No caso da acerola, estudo anterior mostrou que no resíduo do processamento ainda tem uma quantidade significativa de vitamina C residual (COSTA, 2012). Também, da mesma forma, após o processamento do vinho, ainda restam muitos compostos fenólicos nas cascas e semente da uva (SILVA et al., 2011). Estudos tem mostrado que esses rejeitos vinícolas apresentam atividade fungicida contra patógenos comuns na infecção de frutos pós-colheita como *Alternaria solani*, *Botrytis cinerea* e *Fusarium oxysporum* (FALCÃO et al., 2003).

Diante da potencialidade dessas substâncias, aliadas ao processo de formação de NP, é necessário analisar os parâmetros que influenciam ao aumentar o volume de produção. Assim, o objetivo desse trabalho foi verificar as principais propriedades das NP ao se variar o volume reacional.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo de escalonamento ocorreu a partir de três volumes diferentes, sendo o procedimento básico o obtido a partir de 50 mL de solução de quitosana (3 mg/mL) em ácido acético (HAc) a 0,5% (v/v) + 50 mL de solução de entrecruzante (1,2 mg/mL), gerando, portanto, 100 mL de volume final. O mesmo procedimento foi repetido para volumes finais de 1.000 mL e 10.000 mL (BRITTO et al., 2014). Essa suspensão tomada como branco foi denominada NP_{bco}.

O resíduo agroindustrial de acerola foi cedido pela empresa Niagro-Nichirei do Brasil Agrícola Ltda., em Petrolina, PE. A metodologia básica consiste em pesar 5 g do resíduo de acerola em tubo Falcon e submeter à extração com 50 mL de solução aquosa de quitosana (3 mg/mL) em HAc a 0,5% (v/v). Após agitação manual para dispersão do resíduo, a mistura foi centrifugada a 10.000 rpm por 5 min e 8 ºC para separação do resíduo sólido e obtenção do sobrenadante com vitamina C. Em seguida, este sobrenadante foi submetido ao processo de encapsulamento via gelificação ionotrópica com TPP (1,2 mg/mL). Para efeito de comparação, foi preparado também um sistema controle, contendo 30 mg de ácido ascórbico adicionado à 50 mL de solução de quitosana em HAc. As suspensões de NP foram denominadas NP_{ace} e NP_{vtc} respectivamente para NP obtidas a partir do resíduo de acerola e as obtidas a partir da vitamina C pura.

O resíduo agroindustrial de uva (*Vitis Vinifera*, variedade Egiodolla) foi cedido pela empresa ViniBrasil, em Petrolina, PE. A metodologia básica consiste em preparar inicialmente o extrato hidroalcoólico do resíduo rico em polifenóis, separando-se somente as cascas, e obter um material seco por liofilização. Em seguida, o extrato foi encapsulado nas seguintes condições: concentração de quitosana 3 mg/ml em HAc 0,5% e solução entrecruzante (80 mg de extrato seco + 50 ml de água + 50 mg de TPP) adicionada à solução anterior. A suspensão de NP foi denominada NP_{exv}.

As suspensões de NP foram analisadas quanto ao tamanho de partícula por DLS (Malven Instruments, modelo ZS Zen 3600) e morfologia (Microscopia Óptica, MO, Coleman N107T e Microscopia Eletrônica de Varredura, MEV, Tescan modelo Vega 3). Parte da suspensão de NP foi centrifugadas a 20.000 RPM por 20 minutos a 8°C, para determinação da Eficiência de Encapsulamento (EE) através da análise do sobrenadante por espectroscopia no UV-visível (ThermoScientific modelo MultiSkan GO). O precipitado obtido de NP foi liofilizado para cálculo de rendimento. A NP_{exv} foi avaliada também quanto ao perfil de liberação em solução de etanol e tampão

fosfato sob agitação orbital a 120 RMP. Em intervalos de tempo, alíquotas da solução foram analisadas por UV-Visível.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Eficiência de Encapsulamento e Rendimento em função do volume

De acordo com os parâmetros de concentração do sobrenadante, eficiência de encapsulamento e razão rendimento por volume final, os sistemas não apresentaram variações significativas (Tabela 1). Para NP_{ace} há um ligeiro aumento da concentração do sobrenadante em função do aumento de volume, indicando um ligeiro decréscimo da eficiência de encapsulamento em função do volume reacional. Para NP_{vtc} não há uma tendência em função do volume reacional, no entanto, para valores maiores de 1L e 10L o valor de EE aumentou. A suspensão de NP_{exv} do extrato de uva apresentou os melhores valores de eficiência de encapsulamento, não tendo, contudo, variações entre os três volumes estudados.

Outro dado importante na caracterização de NP é o rendimento expresso em termos de massa total recuperada após a centrifugação e separação do sobrenadante. De acordo com resultados, o valor dessa massa recuperada dividido pelo volume final (razão volume/rendimento) também não apresentou variações expressivas para os três volumes estudados (Tabela 1). Esses resultados indicam estabilidade do sistema ao variar-se o volume reacional.

Tabela 1. Dados da concentração de sobrenadante (CS, mg/mL), razão volume / rendimento (RV, mg/mL) e EE (%) para as suspensões de NP nos três volumes reacionais.

Amostras	Volumes finais								
	0,1L			1L			10L		
	CS	EE	RV	CS	EE	RV	CS	EE	RV
NP_{bco}	-	-	1,36	-	-	1,075	-	-	1,239
NP_{ace}	0,491	-	1,25	0,583	-	0,7	0,637	-	1,24
NP_{vtc}	0,322	7,065	1,36	0,307	2,45	1,08	0,318	6,98	1,22
NP_{exv}	0,262	67,2	1,35	0,274	65,7	1,54	0,256	68,0	-

3.2 Tamanho de Partícula em função do volume

O tamanho das NP medido por DLS apresentou variação significativa em função dos diferentes volumes reacionais (Tabela 2). O sistema sem encapsulamento (branco) foi o que apresentou maior variação de tamanho em função do volume, sendo que volumes maiores favoreceram formação de NP maiores e até mesmo saindo da escala nano. Por outro lado, para o sistema NP_{ace} a variação não foi tão significativa, sendo que o volume maior de 10L resultou no menor valor de NP. Da mesma forma, para NP_{exv}, houve uma tendência de diminuição de tamanho para volumes maiores. Os resultados estão de acordo com discutido no item 3.1, indicando estabilidade do sistema em função do volume, exceto para NP_{bco}. Esta variação de tamanho em função da presença de substância ativa encapsulada foi observada e discutida na literatura (BRITTO et al., 2014).

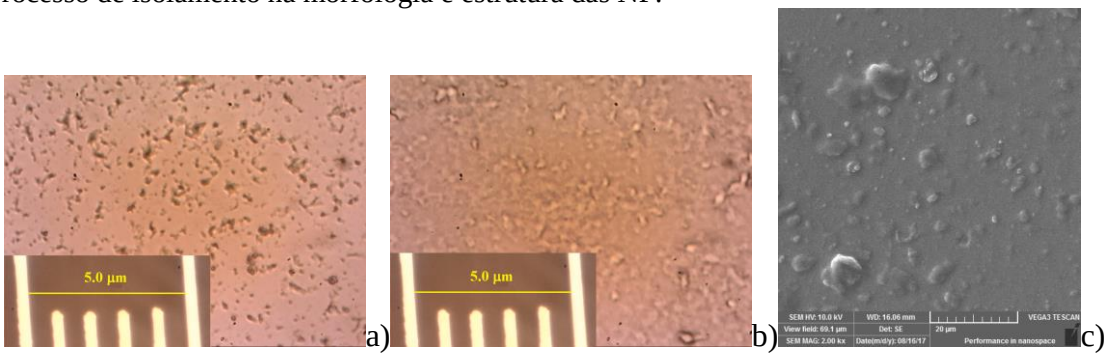
Tabela 2. Dados do tamanho de partículas (nm) medido por DLS para as suspensões de NP nos três volumes reacionais.

Amostras	Volumes finais		
	0,1L	1L	10L
NP_{bco}	155	850	3393
NP_{ace}	279	480	217
NP_{vtc}	-	-	-
NP_{exv}	1039	738	-

3.3 Morfologia

Análises prévias por MO mostram distribuição regular de NP em escala nano (Figura 1a,b). Estas análises foram úteis para se estabelecer protocolos de isolamento das NP por liofilização. Em seguida, a análise por MEV confirmou a distribuição regular de NP em escala nano (Figura 1c).

Algumas amostram não resultaram em imagens nítidas tanto por MO ou MEV, indicando interferência do processo de isolamento na morfologia e estrutura das NP.



a) b) c)

Figura 1. Imagens em MO para as amostras a) NP_{ace} em volume de 10L e b) NP_{exv} em volume de 1L; em MEV para NP_{exv} em volume de 0,1L.

3.4 Perfil de liberação da amostra NP_{exv}

O perfil de liberação da amostra NP_{exv}, avaliado em 24 horas, mostrou perfis semelhantes, contudo com diferentes valores absolutos de concentração. Isto indica que o processo de isolamento como centrifugação e liofilização podem influenciar nas propriedades das NP (BRITTO et al., 2014).

4 CONCLUSÃO

A aumento de escala não apresentou influência significativa na síntese NP encapsulada com princípios ativos (vitamina C de resíduo de acerola e polifenóis de resíduo de uva). A mudança mais marcante foi quanto ao tamanho, mas sendo relevante somente para o sistema NP branco (sem encapsulamento), o qual apresentou variação grande. Assim, conclui-se que é possível escalonar a produção de NP, fazendo ajustes adequados na proporção do entrecruzante.

AGRADECIMENTOS

FACEPE, Rede AgroNano, Laboratório Pós-colheita (CPATSA) e Adriana C. Thomazi (CNPDIA).

REFERÊNCIAS

BRITTO, D.; MOURA, M.R.; AOUADA, F.A.; PINOLA, F.G.; LUNDSTEDT, L.M.; ASSIS, O.B.G.; MATTOSO, L.H.C. Entrapment characteristics of hydrosoluble vitamins loaded into chitosan and N,N,N-trimethy chitosan nanoparticles, Macromolecular Research, v. 22, p.1261-1267, 2014.

COSTA, A.C.S. Qualidade e atividade antioxidante na porção comestível e resíduos do processamento de acerola produzida no submédio do Vale do São Francisco. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2012.

FALCÃO, L.D; BARROS, D.M; GAUCHE, C; LUIZ M.T.B. Copigmentação intra e intremolecular de antocianinas: uma revisão. CEPPA, v, 21, p. 351-366, 2003.

GARCIA-FUENTES, M.; ALONSO, M.J. Chitosan-based drug nanocarriers: Where do we stand? Journal of Controlled Release v. 161, p. 496-504, 2012.

GEORGE, M.; ABRAHAM, T.E. Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs: Alginate and chitosan – a review. Journal of Controlled Release v. 114, p. 1-14, 2006.

SILVA, M.S.; ALVES, R.E.; SILVA, S. M.; LIMA, M.A.C. Quantificação de antocianinas totais determinadas na casca e na polpa de uvas tintas destinadas à produção de vinhos. In: Anais do 3o. Simpósio Brasileiro de Pós-Colheita de Frutas, Hortaliças e Flores, p.816-819, Nova Friburgo, Embrapa Agroindústria Tropical, 2011.

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 Engineer v. 28, p. 353-362, 2011.

NANOFIBRAS DE CELULOSE DE DENDÊ OBTIDAS POR HIDRÓLISE ÁCIDA: USO DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (SEM) PARA A CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA

Larissa Andreani, Leonardo Fonseca Valadares

Embrapa Agroenergia, Parque Estação Biológica, SN, Final da W3 Norte, Asa Norte, Brasília/DF. leonardo.valadares@embrapa.br

Classificação: Métodos e Processos para Aumento da Escala de Produção de Nanoprodutos de interesse do Agronegócio.

Resumo
Aplicações que utilizem os cachos vazios de dendê, colaborando no tratamento deste passivo ambiental e adicionando valor à cadeia de produção do óleo de palma são necessárias. Além disso, é primordial o estabelecimento de um método confiável de caracterização morfológica das amostras de nanofibras com vistas a colaborar na ampliação da escala de produção destas nanoestruturas de forma eficiente e sem perder as características observadas em escala laboratorial. Este trabalho utiliza os cachos vazios de dendê para a preparação de nanofibras de celulose via hidrólise ácida utilizando condições estabelecidas em estudos anteriores (59% de H_2SO_4 por 30 minutos a 45 ºC) e caracteriza as nanoestruturas formadas por FEG-SEM sem coramento e com voltagem máxima de 30 kV. Este trabalho obteve 2 frações contendo nanofibras de celulose: a primeira, mais densa, com 61,6% de rendimento e espessura média das nanofibras de 21,87 nm; e a segunda, menos densa, com 12,5% de rendimento e 10,11 nm de espessura. Observou-se que a microscopia eletrônica possui resolução para a observação de nanofibras orgânicas e, mesmo sem coramento, é possível caracterizar a morfologia das amostras.
Palavras-chave: Nanofibras de celulose, microscopia eletrônica de varredura com fonte de elétrons por emissão por campo, cachos vazios de dendê, centrifugação.

CELLULOSE NANOFIBERS FROM OIL PALM USING ACID HYDROLYSIS: SCANNING ELECTRON MICROSCOPY FOR MORPHOLOGICAL CHARACTERIZATION.

Abstract
Applications using oil palm empty fruit bunches are necessary in order to treat this environmental passive and to add value to the palm oil production chain. In addition, it is of paramount importance to establish a reliable method of morphological characterization of nanofibers in order to collaborate in the efficient scale up process of nanostructures. This work uses the oil palm empty fruit bunches for the preparation of cellulose nanofibers via acid hydrolysis using conditions established in previous studies (59% H_2SO_4 for 30 minutes at 45 ºC) and characterizes the nanostructures by FEG-SEM with no staining and maximum voltage of 30 kV. We obtained 2 fractions containing cellulose nanofibers: the first, with higher density, presented 61.6% yield and nanofibers average thickness of 21.87 nm; and the second fraction, with lower density, resulted in 12.5% yield and 10.11 nm thickness. It was observed that the electron microscopy technique enables the observation of organic nanofibers with good resolution and, even with no staining, it is possible to characterize the morphology of the samples.
Keywords: Cellulose Nanofiber; Field Emission Scanning Electron Microscopy; Palm Oil Empty-Fruit-Bunch; Centrifugation.

Publicações relacionadas: RIBEIRO, R. S. S. et al. Cellulose purification and nanofiber extraction from empty fruit bunches of palm oil. In: XXIV Congresso da Sociedade Brasileira de Microscopia e Microanálise, 2013; RIBEIRO, R. S. S. et al. Purificação da celulose e extração das nanofibras de celulose de cachos vazios de dendê. In: VII Workshop de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio, 2013b.

1 INTRODUÇÃO

Os cachos vazios de dendê são resíduos gerados pela indústria de produção de óleo de palma em grande quantidade (FAHMA et al., 2010). Soluções que tratem este passivo ambiental e colaborem na redução do preço de produção do óleo de palma são necessárias. Dentre as alternativas estudadas, propõe-se a utilização destes resíduos para a geração de nanofibras de celulose, que possuem diversas aplicações tais como na preparação de nanocompósitos e como aditivos nas indústrias farmacêutica e alimentícia (LI et al., 2009). Vários métodos podem ser utilizados para a preparação de nanofibras de celulose, sendo que a hidrólise ácida foi o método escolhido neste trabalho, a exemplo do que já foi feito por outros grupos de pesquisa (CHEN et al., 2009; FAHMA et al., 2010; TAIPINA et al., 2012). Parâmetros – tais como o tempo, temperatura e concentração do ácido utilizado na hidrólise – influenciam no tamanho das nanofibras e suas propriedades e devem ser avaliadas e definidas. Estudos anteriores (RIBEIRO et al., 2013a, RIBEIRO et al., 2013b) definiram condições de hidrólise ácida capazes de produzir nanofibras de celulose a partir de engaço de dendê, e estas condições foram novamente utilizadas neste trabalho (condições detalhadas na seção 2).

O grande desafio que se apresenta para a utilização de nanofibras de celulose em escala industrial é a ampliação da escala de produção destas nanoestruturas de forma eficiente e sem perder as características observadas em escala laboratorial. Para tanto, um método confiável de caracterização morfológica das amostras de nanofibras é essencial para estabelecer condições para o escalonamento, no que tange o conhecimento do método e a infraestrutura instrumental.

Este trabalho mostra a viabilidade da utilização de microscopia eletrônica de varredura com fonte de elétrons por emissão por campo (FEG-SEM) e detector de elétrons transmitidos para a observação e medição da espessura das nanofibras geradas sem qualquer necessidade de coramento da amostra. Os autores deste estudo desconhecem a utilização de microscópio eletrônico de varredura (até 30 kV) para a observação de nanofibras de celulose sem coramento e consideram importante a divulgação desta técnica simples e que não utiliza reagentes tóxicos para a caracterização morfológica destas amostras.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Cachos de dendê pertencentes a cultivar 2301 Tenera foram coletados na Embrapa Cerrados e autoclavados para remover os frutos. O cacho vazio passou por processos de moagem, remoção de extrativos e purificação de celulose de acordo com Ribeiro et al. (2013a). Nanofibras de celulose foram produzidas por hidrólise ácida com o auxílio de um agitador magnético com aquecimento. Resumidamente, 1 g de celulose previamente purificada e liofilizada foi dispersa em 150 mL de solução de ácido sulfúrico (J. T. Baker) 59% (m/m) e mantida sob agitação a 45 ºC por 30 minutos. Decorrido o tempo de hidrólise, 200 mL de água gelada foi adicionada ao meio reacional para parar a reação e a suspensão resultante foi centrifugada a 9000 rpm por 15 minutos utilizando uma centrífuga Hettich modelo Universal 320. Após cada centrifugação, os sobrenadantes foram reservados e os precipitados foram ressuspensos e novamente centrifugados, até pH neutro. Ao final da etapa de lavagem, as nanofibras de celulose resultantes foram resuspendidas em água destilada e decantadas por 3 horas. O sobrenadante foi retirado e reservado e este procedimento foi repetido mais 3 vezes, visando obter 2 grandes frações de celulose hidrolisada: a 1a, mais densa, contendo majoritariamente fibras e microfibras (CHP); e a 2ª, menos densa, contendo majoritariamente nanofibras em suspensão (CHS). O rendimento das nanofibras de celulose foi determinado gravimetricamente, por meio da secagem em estufa de uma alíquota das amostras geradas a 105 ºC por 15 horas.

Alíquotas das frações obtidas foram diluídas em água destilada e uma gota de cada diluição foi depositada em uma tela de cobre recoberta com filme de formvar estabilizado com carbono (400 mesh TedPella). As nanofibras de celulose foram caracterizadas por microscopia eletrônica de varredura por emissão por campo (FEG-SEM) com detector de elétrons transmitidos em um microscópio Zeiss modelo Sigma HV. Medidas em ao menos 20 nanofibras foram utilizadas para a determinação da média e do desvio padrão da espessura das amostras.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O rendimento das nanofibras de celulose foi avaliado gravimetricamente por meio da secagem de alíquotas das frações CHP e CHS. A fração mais densa (CHP) apresentou rendimento de 61,6% e a fração menos densa (CHS) correspondeu a 12,5%, o que indica que 25,9% da massa de celulose inicialmente adicionada ao meio reacional foi provavelmente convertida a glicose. Acredita-se que a fração mais densa é composta majoritariamente de fibras e microfibras que foram pouco ou nada hidrolisadas no processo, enquanto a fração menos densa é constituída pelas nanofibras geradas durante a hidrólise. A microscopia eletrônica de varredura foi utilizada para verificar a morfologia das frações e caracterizar as nanoestruturas obtidas.

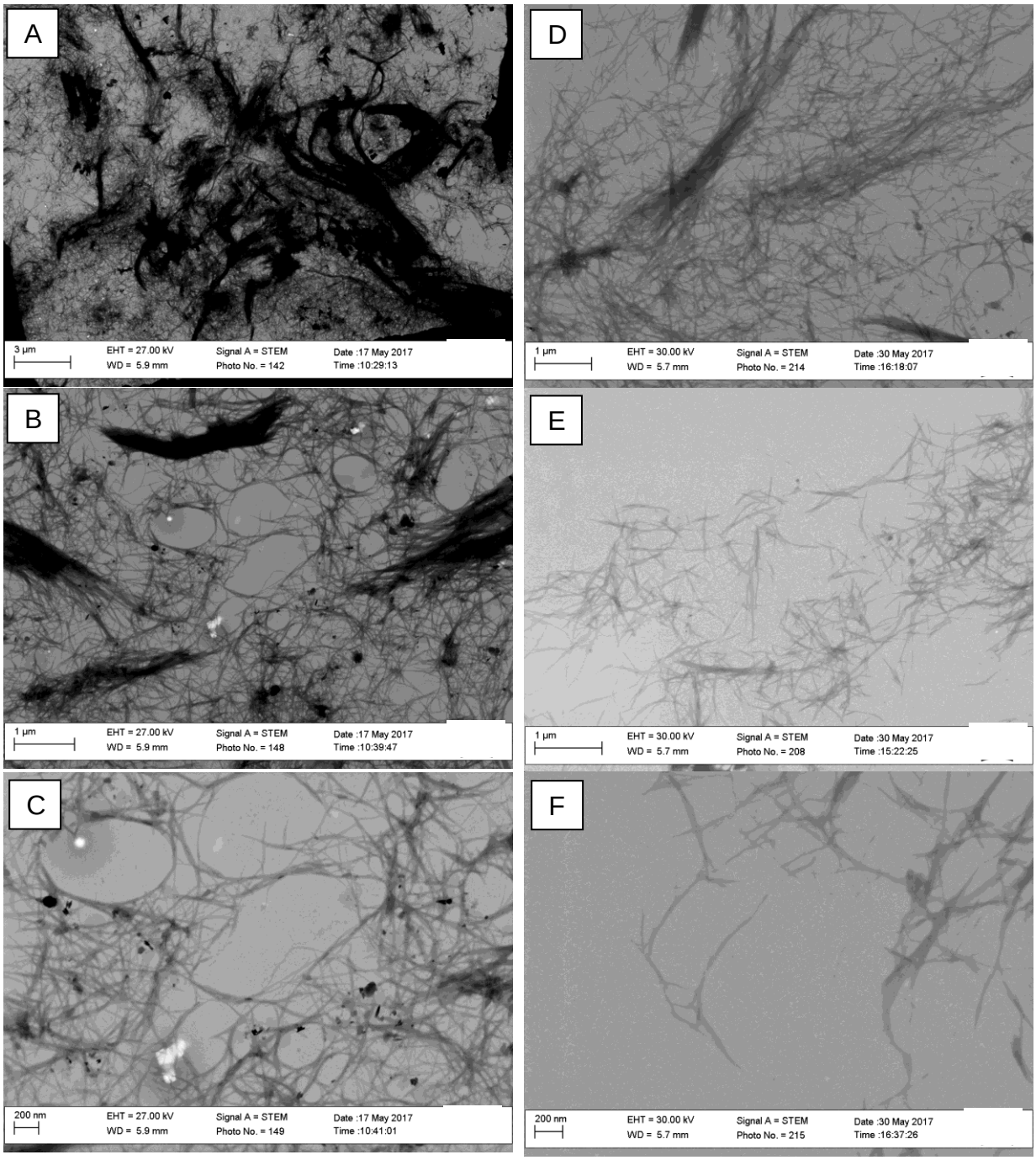


Figura 1. Micrografias eletrônicas mostrando as frações de celulose CHP (A, B e C) e CHS (D, E e F) em diferentes magnificações.

A Figura 1 apresenta as micrografias eletrônicas da fração CHP. É possível observar (Figura 1A) a presença de microfibras de celulose com espessura da ordem de 1,5 µm. Verifica-se que, neste caso, a hidrólise foi interrompida antes do total desprendimento das nanofibras, pois aparentemente as microfibras estão em processo de separação nas suas pontas, dando origem a nanoestruturas. A Figura 1B, feita na mesma amostra, porém com maior magnificação, demonstra que esta fração também possui grande quantidade de nanofibras que se mantêm unidas às fibras maiores, apesar de inicialmente acreditar-se que a CHP era composta por apenas por fibras e microfibras. As nanoestruturas podem ser observadas mais detalhadamente na Figura 1C. Sugere-se que essas nanofibras estão na fração mais densa por apresentarem-se na forma de emaranhados, e não na forma de nanofibras isoladas. Medidas indicam que a espessura média das nanofibras da fração CHP é de 21,87 ± 7,45 nm. Na Figura 1C é possível observar ainda estruturas escuras e de morfologia diferente das fibras, provavelmente relacionadas com nanopartículas de lignina residual.

As micrografias de transmissão eletrônica da fração CHS também estão apresentadas na Figura 1. Observa-se que, em comparação com a Figura 1A, a Figura 1D apresenta menos aglomerados de nanofibras e estes aglomerados possuem menor espessura, da ordem de 500 nm. Na Figura 1E observa-se que, de fato, as nanofibras de celulose obtidas estão mais isoladas ou, ao menos, em aglomerados menores quando comparados aos observados para a fração CHP. Algumas das nanofibras geradas podem ser observadas mais detalhadamente na Figura 1F. O cálculo da espessura média das nanofibras obtidas na fração CHS foi de 10,11 ± 3,28 nm. Diferente da Figura 1C, a Figura 1F não apresenta nanopartículas de lignina residual.

Este trabalho mostra que a microscopia eletrônica possui resolução para a observação de nanofibras orgânicas e, mesmo com baixo contraste, é possível caracterizar a morfologia das amostras. Para tanto é importante utilizar voltagem próxima de 30 kV para atingir a resolução necessária para as análises. Este trabalho sugere também a necessidade de estudos futuros com foco na centrifugação – ou em outras técnicas de separação – para a lavagem para a remoção do ácido, separação de fibras de acordo com suas dimensões e mesmo para remoção de partículas contaminantes.

4 CONCLUSÃO

As condições de hidrólise ácida utilizadas levaram a obtenção de duas frações contendo nanofibras de celulose: a fração CHP, com microfibras parcialmente hidrolisadas e nanofibras dispostas nas bordas dos grandes aglomerados; e a fração CHS, composta majoritariamente por nanofibras isoladas ou em pequenos aglomerados. O FEG-SEM mostrou-se uma ferramenta adequada para a observação das nanofibras de celulose, mesmo possuindo a voltagem máxima de 30 kV, e deve continuar a ser utilizado nas etapas futuras deste trabalho, que envolvem a ampliação da escala de produção.

REFERÊNCIAS

CHEN, Y. et al. Bionanocomposites based on pea starch and cellulose nanowhiskers hydrolysed from pea hull fibre: effect of hydrolysis time. Carbohydrate Polymers, v. 76, p. 607-615, 2009.

FAHMA, F. et al. Isolation, preparation, and characterization of nanofibers from oil palm empty-fruit-bunch. Cellulose, v. 17, p. 977-985, 2010.

LI, R. et al. Cellulose whiskers extracted from mulberry: A novel biomass production. Carbohydrate Polymers, v. 76, p. 94-99, 2009.

RIBEIRO, R. S. S. et al. Cellulose purification and nanofiber extraction from empty fruit bunches of palm oil. In: XXIV Congresso da Sociedade Brasileira de Microscopia e Microanálise, 2013a.

RIBEIRO, R. S. S. et al. Purificação da celulose e extração das nanofibras de celulose de cachos vazios de dendê. In: VII Workshop de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio, 2013b.

TAIPINA, M. O.; FERRAREZI, M. M. F.; GONÇALVES, M. C. Morphological evolution of curauá fibers under acid hydrolysis. Cellulose, v. 19, p. 1199-1207, 2012.

ESTUDO DA INFLUÊNCIA DA MOAGEM DE ALTA ENERGIA E LIXIVIAÇÃO ÁCIDA NA ATIVIDADE FOTOCATALÍTICA DO ÓXIDO DE ZINCO

***Ana Gabriela Storion[1], Tânia Regina Giraldi[1], Elíria Maria de Jesus Agnolon Pallone[2], Sylma Carvalho Maestrelli[1]**

[1]Universidade Federal de Alfenas -José Aurélio Vilela, 11999, Cidade Universitária, BR 267, km 533 CEP 37715-400, Poços de Caldas- MG - Brasil. [2]Universidade de São Paulo - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos - Av. Duque de Caxias Norte, 225, Jd. Elite, 13635900 - Pirassununga, SP – Brasil.
**gabiags@hotmail.com*

Classificação: Métodos e processos para aumento da escala de produção de nanoprodutos de interesse do agronegócio

Resumo
A área superficial de um fotocatalisador é de extrema importância, uma vez que os processos fotocatalíticos irão ocorrer na superfície do mesmo, o que faz com que sejam estudados diferentes processos de obtenção de pós em escala nanométrica. A moagem de alta energia (MAE) é uma técnica mecânica consolidada para obtenção de pós nanométricos e, apesar de apresentar algumas vantagens, pode contaminar os produtos obtidos devido ao desgaste do material constituinte dos meios de moagem. Este trabalho objetivou estudar a influência da MAE na atividade fotocatalítica do óxido de zinco (ZnO). A moagem foi realizada via moinho do tipo SPEX Mixer/ Mill com tempo de moagem de 1 e 5 horas, sob a proporção mássica de bola:material de 5:1. A descontaminação do ferro proveniente dos meios de moagem foi realizada por lixívia em ácido oxálico 0,5M. Os resultados indicam que a MAE apresenta grande potencial na diminuição do tamanho de partícula visto o alargamento dos picos difratados, no entanto o aumento da área superficial não foi suficiente para melhorar o potencial fotocatalítico.
Palavras-chave: Fotocatálise; Moagem de alta energia; Nanopartículas; Lixiviação; Óxido de zinco.

STUDY OF THE INFLUENCE OF HIGH ENERGY MILLING AND ACID LEACHING IN THE PHOTOCATALITIC ACTIVITY OF ZINC OXIDE

Abstract
The surface area of a photocatalyst is a factor of extreme importance, since the photocatalytic processes will activate and occur on its surface, which makes it interesting to study different processes of obtaining powders on a nanometric scale. High energy milling is a consolidated mechanical technique to obtain nanometric powders and, although it is easy to process, low cost and does not use toxic solvents, it can contaminate the products obtained due to the wear of the material constituting the grinding medium. This work aimed to study the influence of MAE on zinc oxide (ZnO) photocatalytic activity. The milling was carried out via SPEX Mixer / Mill type mill with a grinding time of 1 and 5 hours, with ball to powder weight ratio of 5: 1. The decontamination of the iron was carried out by 0.5M oxalic acid. The results indicate high energy milling presents great potential in the decrease of the particle size as the enlargement of the diffracted peaks; however the increase of the surface area was not enough to improve the photocatalytic potential.
Keywords: Photocatalysis; High energy milling; Nanoparticles; Acid leaching; Zinc oxide.

1 INTRODUÇÃO

Para realizar os tratamentos de águas convencionais são há muito tempo utilizados princípios cujas bases se dão em processos físico-químicos e biológicos. A utilização desses processos visa a remoção e a diminuição da concentração de poluentes orgânicos e sólidos suspensos em águas

residuais. No entanto não é sempre que esses métodos são eficazes em remover completamente alguns contaminantes por efeito de sua alta estabilidade e baixa biodegradabilidade (MURGOLO *et al.*, 2015). Quando se pensa em meios alternativos de tratamentos de poluentes de difícil biodegradabilidade, os Processos Oxidativos Avançados (POA) se configuram como uma opção. Um dos métodos de POA mais utilizados nesta área é a fotocatálise heterogênea, que faz uso de diversos semicondutores como TiO_2, ZnO, Fe_2O_3, CdS, GaP e ZnS, sendo que o TiO_2 e ZnO apresentam-se promissores em termos de degradação e estabilidade química (PETRONELLA et al., 2016).

Para a aplicação em processos fotocatalíticos, é desejável a obtenção de pós de elevada área superficial, uma vez que os processos de degradação ocorrem em sua superfície. Existem técnicas para a obtenção de pós em escala nanométrica - variando entre sínteses químicas, termofísica ou mecânicas (YOKOYAMA, 2008). Uma técnica consolidada dentre as rotas de obtenção de pós finos é a Moagem de Alta Energia (MAE). No entanto, no que diz respeito às aplicações em fotocatálise, sua viabilidade ainda se encontra em estudo. A MAE é uma técnica que irá resultar na diminuição do tamanho das partículas dos sólidos com um aumento do número de partículas em escala nanométrica, bem como a geração de maior área superficial até então não expostas, uma das propriedades mais importantes de se avaliar em amostras que passaram por processos de moagem (DUTKOVÁ, 2016).

Algumas vantagens são perceptíveis nos produtos obtidos por moagem de alta energia, como alto grau de homogeneidade e menores temperaturas de sinterização e tamanhos de partícula. Contudo, um dos maiores problemas provenientes de seu processamento é a natureza e a quantidade de impurezas que se aderem ao pó, devido aos processos de colisões entre o material, os corpos moedores, e as paredes do vaso. Este processo de contaminação ainda é facilitado devido ao tamanho diminuto das partículas do pó, com grande disponibilidade de área superficial (SURYANARAYANA, 2001). Uma alternativa muito utilizada para a solubilização de metais indesejados e sua posterior remoção é a lixiviação ácida. Dentre os reagentes lixiviantes mais comumente utilizados pode-se citar o ácido oxálico como o meio mais eficiente para remoção de ferro de materiais cerâmicos, além de apresentar baixo risco de contaminação dos materiais tratados após calcinação (LEE, 2007). Face ao exposto, o presente trabalho objetivou estudar a influência da MAE na atividade fotocatalítica do ZnO.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas como matérias-primas para o desenvolvimento do trabalho óxido de zinco (ZnO, 99% de pureza, MW: 81,38 g/mol – Synth®) e solução padrão de rodamina-B (RhB) (Synth®), como modelo de material orgânico para a simulação dos testes de degradação fotocatalítica. Os pós foram caracterizados antes e após moagem via difração de raios X. Para análise dos resultados, os óxidos tiveram os picos identificados por meio do programa computacional *Crystallographica Search Match*, versão 2.1.1.1, indexado ao banco de dados cristalográficos PDF 2003 da JCPDS-ICDD. A moagem dos pós precursores foi realizada em um moinho de alta energia do tipo *SPEX 8000 Mixer/ Mill*, cujo frasco e bolas são constituídos de aço endurecido. A proporção mássica de bola:material utilizada foi de 5:1. As moagens foram realizadas a seco, com tempos de moagem de 1 e 5 horas, sendo nomeados como Z1 e Z5 respectivamente, e após a lixívia recebem a nomenclatura L. A lixívia foi realizada em ácido oxálico 0,5M. Para os ensaios, utilizou-se a proporção de 3g do pó para 100 mL de solução. A mistura permaneceu sob agitação e aquecimento (aproximadamente 100ºC) por 4 horas, mantendo sempre o mesmo nível reacional. Este processo foi realizado três vezes. Após as lixívias, foram realizadas lavagens com água destilada até que o pH da solução estivesse em torno de sete. Após a última lavagem, adicionou-se álcool isopropílico e a suspensão foi deixada em agitação magnética novamente por trinta minutos. As amostras seguiram para desaglomeração em meio ao álcool isopropílico em sonda ultrassônica *Sanders* por 25 minutos, sendo posteriormente levadas à estufa para secagem lenta a 50ºC. Depois de seco, o pó foi passado em peneira de abertura de 45 µm.

A atividade fotocatalítica foi avaliada pelo emprego da espectrometria de absorção no UV-Vis, a fim de se determinar a degradação do corante Rh-B em presença dos óxidos preparados previamente, sob incidência de luz UV-C. Para tal, utilizou-se um reator fotoquímico, o qual se utiliza de quatro lâmpadas Philips Ultravioleta G15T8 de 15 W. Para o preparo das amostras, foram utilizados 10 mg de cada óxido, dispostos separadamente em béqueres contendo 50 mL de solução do corante RhB, previamente preparada a uma concentração de 5 $mg.L^{-1}$. Uma solução de igual teor de RhB foi preparada sem a presença dos óxidos para a utilização como branco, com finalidade de comparação.

Os ensaios no reator fotocatalítico tiveram início com 15 minutos de agitação no escuro para definição do ponto inicial e posteriores 120 minutos sob incidência de luz UV-C.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 representa a comparação dos difratogramas das amostras de óxido de zinco moídas por 1 e 5 horas e seu respectivo pó precursor. Todos os difratogramas tiveram a ficha de identificação corresponde apenas ao óxido de zinco, semelhante ao seu óxido precursor (Ficha PDF 2003 #36-1451). A diferenciação dos óxidos antes e pós moagem, como pode ser visualizado no difratograma, está relacionada ao alargamento dos picos difratados com relação ao considerado padrão. Analisando-se os difratogramas das amostras processadas percebe-se que, conforme o tempo de moagem aumenta, ocorre uma tênue diminuição na intensidade dos picos difratados, o que pode estar associado à perda de cristalinidade das amostras em decorrência do aumento do tempo de moagem e das deformações sofridas. A Figura 1 ainda ilustram as curvas de degradação construídas para as amostras submetidas à radiação UV-C, comparando-se sempre o sistema em questão com a amostra na ausência de fotocatalisador (branco). Pode-se notar que não houve variação significativa dentre os valores de degradação, enquadrando-se todos em valores entre 0 e 20% de degradação, sendo esta a mesma faixa de degradação que se encontra o branco, podendo justificar que nestes casos, uma parte da degradação ocorrente foi devido à fotólise direta do corante ao ser submetido à radiação luminosa UV-C. Estes valores, se comparado com a curva de degradação apresentada pelo ZnO padrão tornam-se insignificantes, visto que com 30 minutos decorridos do ensaio aproximadamente 95% do corante RhB já havia sido degradado, e com 45 minutos de reação obteve-se praticamente a degradação total do mesmo. Esta queda brusca de atividade fotocatalítica após o processamento adotado pode ser explicada pela contaminação do ferro proveniente da moagem, pela queda de cristalinidade, e demais interferentes do processo a serem investigados.

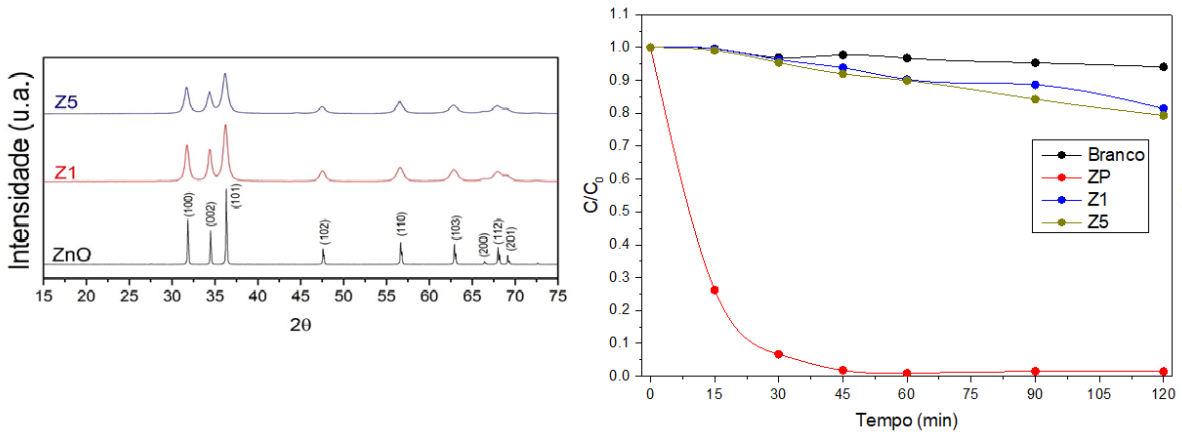


Figura 1: Difratograma do óxido de zinco antes e após moagem (a esquerda) e as respectivas curvas de degradação do processo fotocatalítico (a direita).

A Figura 2 ilustra a comparação dos difratogramas das amostras de óxido de zinco após o processo de lixívia e suas respectivas curvas de degradação. Em termos visuais a lixívia realizada foi eficiente na remoção da coloração acinzentada, retornando a coloração branca ao pó. Cabe salientar, todavia, que apenas a mudança da coloração é insuficiente para afirmar que o ferro contaminante foi eliminado do pó. Tal fato é corroborado pelos resultados apresentados pelos novos ensaios de fotocatálise realizados, cuja curva de degradação demonstra que o fotocatalisador ainda continua com baixa atividade. Buscando-se explicações no difratograma após lixívia, percebe-se que os demais difratogramas não mais apresentaram os picos correspondentes ao óxido de zinco. Todas as composições lixiviadas foram identificadas como oxalato de zinco hidratado ($ZnC_2O_4.2H_2O$), conforme ficha de identificação PDF 2003 #25-1029. Este fato evidencia que, durante o processo de lixívia, houve a interação entre o óxido lixiviado e ácido lixiviante, gerando a formação do composto identificado e justificando a ainda não atingida atividade fotocatalítica.

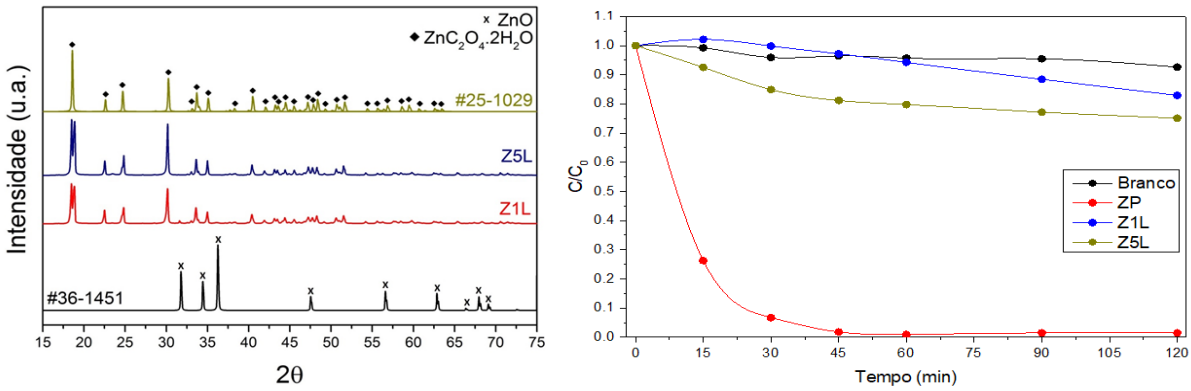


Figura 2: Difratograma do óxido de zinco antes e após moagem (a esquerda) e as respectivas curvas de degradação do processo fotocatalítico (a direita), cujas amostras passaram pelo processo de lixívia ácida.

4 CONCLUSÃO

Pode-se concluir que a moagem de alta energia impacta fortemente as propriedades do material. Os difratogramas evidenciaram o alargamento do pico, confirmando a diminuição do tamanho do cristalito que, no entanto, não foi suficiente para melhorar o potencial fotocatalítico. A lixívia realizada também não se mostrou eficiente na remoção dos contaminantes e acarretou na formação do oxalato de zinco, outro fator prejudicial na atividade fotocatalítica. Com relação ao potencial fotocatalítico, não é possível determinar uma amostra que apresente melhor resultado, visto que quando comparadas aos respectivos óxidos padrão, os resultados apresentados foram de maneira geral insatisfatórios. Estes fatores levam a buscar, em primeiro lugar, análises auxiliares para o entendimento dos fatores que levaram à perda do potencial fotocatalítico dos óxidos estudados.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o auxílio disponibilizado pela FAPEMIG e Capes para a realização deste trabalho e à profª. Eliria Pallone (USP – Pirassununga) pelo empréstimo do moinho de alta energia.

REFERÊNCIAS

DUTKOVÁ, E. *et al*. Synthesis and characterization of $CuInS_2$ nanocrystalline semiconductor prepared by high energy milling. Journal of Material Science, vol. 51, pág. 1978-1984, 2016.

LEE, K. M. *et al*. Recent developments of zinc oxide based photocatalyst in water treatment technology: A review. Water Research, v. 88, p.428-448, jan. 2016. Elsevier BV.

MURGOLO, S. *et al*. UV and solar-based photocatalytic degradation of organic pollutants by nano-sized TiO_2 grown on carbon nanotubes. Catalysis Today, vol. 240, pág. 114-124, 2015.

PETRONELLA, F.*et al*. Nanocomposite materials for photocatalytic degradation of pollutants. Catalysis Today, doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.cattod.2016.05.048, 2016.

SURYANARAYANA, C. Mechanical alloying and milling. Progress in Materials Science, vol. 46, p. 1-184, 2001.

YOKOYAMA, M. Obtenção e Caracterização de compósitos e nanocompósitos de alumina-diamante. 2008. 87f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Materiais) – Universidade São Francisco, Itatiba, 2008.

PRODUÇÃO EM FLUXO CONTÍNUO DE NANOCÁPSULAS DE PCL CONTENDO CLOXACILINA BENZATINA EM ESCALA SEMI-PILOTO PARA TRATAMENTO DE MASTITE BOVINA

Pereira, D. G. S.; Trindade, I. C.; Araújo, R. S.; Garcia, G. M.; Castanheira, R. G.; Brandão, H. M.; Mosqueira, V. C. F.

Laboratório de Desenvolvimento Galênico e Nanotecnologia, Cipharma, Escola de Farmácia, Universidade Federal de Ouro Preto e Embrapa Gado de Leite – Juiz de Fora.
E-mails:gualbertodsp@gmail.com; vamosqueira@gmail.com

Classificação: Métodos e Processos para Aumento da Escala de Produção de Nanoprodutos de interesse do Agronegócio

RESUMO

Este trabalho teve o objetivo de avaliar a produção em escala semi-piloto de nanocápsulas (NC) de poli-ε-caprolactona (PCL) contendo o antibiótico cloxacilina benzatina (Clox-B). Foi empregado método de fluxo contínuo, baseando-se no sistema FNPS (*Fluidic Nanoprecipitation System*), para produzir nanocápsulas e otimizar as condições, pelo método de nanoprecipitação. As condições de variação de fluxo da fase aquosa, proporção entre fase orgânica /aquosa e aumento da concentração de fármaco foram avaliadas comparando-se esses resultados aos obtidos pelo método de produção convencional por batelada. As NC foram caracterizadas em relação ao diâmetro médio, índice de polidipersão, potencial zeta, porcentagem e eficiência de encapsulação. A otimização da produção em fluxo contínuo originou NCPCL-CloxB que mantiveram características de sistemas coloidal com redução do tamanho da nanopartícula em relação a produção em batelada. A redução do volume da fase orgânica pela metade gerou NCPCL-CloxB com diâmetro médio e índice de polidispersão de 208 nm e 0,219, respectivamente.
Palavras chave: Nanocápsulas poliméricas; Mastite bovina; Escalonamento; Cloxacilina benzatina; Antibiótico

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the production on a semi-pilot scale of nanocapsules (NC) of poly-ε-caprolactone (PCL) containing the antibiotic cloxacillin benzathine (Clox-B). A continuous flow method was used, based on the FNPS (Fluidic Nanoprecipitation System), to produce nanocapsules and optimize conditions by the nanoprecipitation method. The conditions of aqueous phase flow variation, organic/aqueous phase ratio and increase in drug concentration were evaluated and this results were compared with those obtained by conventional batch production method. The NC were characterized in relation to mean diameter, polydipersion index, zeta potential, percentage and encapsulation efficiency. The optimization of the continuous flow production resulted in NCPCL-CLoxB that maintained characteristics of colloidal systems with reduction of nanoparticle size in relation to batch production The reduction of the volume of the organic phase in half generated NCPCL-CLoxB with average diameter and podispersion index of 208 nm and 0.219, respectively.
Keywords: Polymeric nanocapsules; Bovine mastitis; scale-up; cloxacillin benzathine; antibiotic

1 INTRODUÇÃO

Nanopartículas poliméricas são extensivamente usadas em pesquisas na área da saúde humana e nos últimos anos vem ganhando destaque também na medicina veterinária. Nanoformulações estão sendo estudadas para uso no tratamento de doenças que causam grande impacto econômico no agronegócio como a mastite bovina (HILL e LI, 2017). A vetorização de antibióticos é uma estratégia

com grande potencial para tratamento de doenças infecciosas uma vez que aumenta a entrega do fármaco no sítio alvo, melhorando a eficiência terapêutica (GAO et al., 2011). Nosso grupo de pesquisa desenvolveu formulações de nanocápsulas de PCL veiculando o antibiótico cloxacilina benzatina (Clox-B) que foram patenteadas por Mosqueira e colaboradores em 2011 (WO/2011/054999). Testes em reduzido número de animais demonstraram melhorias na eficiência do tratamento da mastite bovina. Apesar dos resultados satisfatórios, a introdução de formulações nanoparticuladas no mercado farmacêutico torna-se limitada devido à necessidade da realização de testes clínicos em maior número de animais. Para que esta etapa seja viabilizada, é de suma importância o escalonamento do processo de produção, uma vez que os aparatos e equipamentos geralmente utilizados em laboratório são de produção por batelada e de baixa capacidade volumétrica. Diante disso, torna-se necessário estudos para aplicação e otimização de sistemas para produção de nanopartículas em maior escala mantendo-se as características da formulação desenvolvida. O presente trabalho tem por objetivo aplicar e otimizar as condições de produção em fluxo contínuo de nanocápsulas de PCL contendo cloxacilina benzatina em escala semi-piloto.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Materiais

Acetona e metanol (grau analítico) foram adquiridos da Vetec, Brasil. Poli-ε-caprolactona (PCL, 65000 g/mol), Span® 80 (monooleato de sorbitano 80), Pluronic® F-68 (polioxietileno-polioxipropileno) foram obtidos da Sigma-Aldrich, Brasil. Miglyol® 812N (triglicerídeo de ácido cáprico (C8)/caprílico (C10) (Sasol Gmbh ,Alemanha) e cloxacilina benzatina foram cedidos pela EMBRAPA GADO DE LEITE (Juiz de Fora – MG). Água ultrapura foi obtida por osmose reversa (MilliQ, Millipore, USA).

2.2 Metodologia

As nanocápsulas foram preparadas pelo método de deposição interfacial de polímero pré-formado, previamente descrito por Fessi et al. (1989).

2.2.1 Batelada

Para o preparo das nanocápsulas solubilizou-se 60 mg de PCL, 50 mg de Span 80, 250 µL de Miglyol, 5 mg de cloxacilina benzatina em 10 mL mistura de acetona/metanol (7:3) a 40ºC. Para a produção de NC cuja proporção entre fase orgânica (F.O) e fase aquosa (F.A) foi de 1:4, preparou-se a fase orgânica com uma mistura de 3,5 mL de acetona e 1,5 mL de metanol. A solução orgânica foi injetada com o auxílio de uma seringa em 20 mL de água ultrapura contendo 75 mg de Pluronic F68. Essa mistura foi mantida em agitador magnético por 10 minutos e evaporada sob pressão reduzida (Buchi V-700, Suíça) para remoção dos solventes e parte da água até o volume final de 10 mL.

2.2.2 Fluxo contínuo

O sistema foi montado baseando-se no método *Fluidc Nanoprecipitation System* descrito por Xie e Smith (2010). Utilizou-se uma bomba peristáltica para a fase aquosa e uma bomba de pistão para a transferência do conteúdo da fase orgânica. O acionamento das bombas promoveu a mistura das soluções orgânica e aquosa e a precipitação imediata do polímero na superfície das gotículas de óleo formadas resultando na formação das nanocápsulas. Em seguida a dispersão coloidal foi evaporada sob pressão reduzida até o volume final de 10 mL.

As soluções da fase orgânica e aquosa foram preparadas da mesma forma descrita no processo em batelada. O fluxo da fase aquosa de 77 mL/min foi determinado de acordo com estudos de otimização realizados previamente. Foi avaliada a variação da proporção entre fase orgânica e fase aquosa de 1:2 (10 mL/20 mL) para 1:4 (5 mL/20mL) no processo de produção das nanocápsulas.

2.2.3 Aumento da concentração de cloxacilina benzatina

Avaliou-se a capacidade das NC de PCL em encapsular Clox-B pelo processo de produção em fluxo contínuo, sob a condição otimizada de fluxo (77 mL/min) e proporção F.O/F.A de 1:4, usando-se concentrações de 0,5, 1,0 e 2,0 mg/mL de fármaco e determinou-se eficiência e porcentagem de encapsulação das formulações.

Os parâmetros diâmetro médio, índice de polidispersão (I.P) e potencial zeta das NCPCL-CLoxB foram determinados utilizando Zetasizer (Malvern, Nano ZS, Inglaterra). As medidas foram realizadas em triplicata e os resultados obtidos expressos em média e desvio padrão.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pelo sistema de produção em fluxo contínuo foi possível obter NCPCL-CloxB de diâmetros e índice de polidispersão menores aos obtidos pelo processo de produção convencional em batelada, havendo diferença de 112 nm, em média, quando comparados aqueles produzidos na proporção de 1:2 (Tabela 1). Quando avaliou-se a proporção F.O/F.A de 1:4 em batelada, houve a formação de formulação instável com presença de precipitados. Já em relação aquelas produzidas na mesma proporção pelo processo em fluxo contínuo, obteve-se formulação estável, monodispersa (I.P<0,3) e de diâmetro satisfatório. Analisando a variação da proporção F.O/F.A, na condição de fluxo contínuo, observou-se aumento em média de 24 nm do diâmetro das nanocápsulas produzidas em 1:4 em relação à 1:2. Apesar da pequena variação do diâmetro, houve aumento do índice de polidispersão, entretanto, ainda inferior à 0,3. Limayem-Blouza e colaboradores (2006), avaliaram os efeitos da formação de nanocápsulas de PCL empregando proporções de F.O/F.A de 1:2, 1:3 e 1:4, observando aumento do tamanho das NC em 60% daquelas produzidas em 1:4, quando comparadas à 1:2 utilizando o sistema "*membrane contactor*". Este aumento de diâmetro e IP, tanto no que se refere aos processos de produção, quanto às proporções F.O/F.A, podem ser explicados pelo efeito Marongoni, devido à variação da taxa de difusão da fase orgânica na fase aquosa e, também, pelo efeito Ouzo, (BECK-BROICHSITTER et al., 2010).

Tabela 1. Comparação entre nanocápsulas produzidas nas proporções F.O/F.A 1:2 e 1:4 pelo sistema em fluxo contínuo e batelada

Processo	Proporção F.O/F.A	Diâmetro	I.P
Batelada	1-2	296 ± 50	0,220
	1-4	643 ± 130	0,674
Contínuo	1-2	184 ± 1	0,148
	1-4	208 ± 3	0,206

Com o processo de produção em fluxo contínuo foi possível produzir nanocápsulas como propriedades físico-químicas satisfatórias. Mesmo com o aumento da concentração de CloxB na formulação não houveram alterações significativas de diâmetro, que manteve-se em aproximadamente 200 nm, I.P menores que 0,3 e potencial zeta acima de -30 mV (Tabela 2). Comparando com os resultados publicados em patente (WO/2011/054999) por Mosqueira e colaboradores (2011), podemos considerar que houveram melhorias no que se refere às propriedades físico-químicas utilizando o aparato montado em nosso laboratório LDGNano. Adicionalmente, foi possível produzir formulações contendo concentrações maiores que 0,5 mg/mL de CloxB, o que no método convencional em batelada ainda não foi obtido devido à problemas de instabilidade da formulação.

Os melhores resultados de eficiência de encapsulação e porcentagem de encapsulação ocorreram nas formulações cuja concentração de CloxB foi de 1,0 mg/mL. Quando comparados tais parâmetros, entre fluxo contínuo e batelada, observou-se menor eficiência e porcentagem de encapsulação em relação ao método convencional de produção em batelada. A baixa eficiência de encapsulação no sistema de produção em fluxo contínuo indica perdas significativas de fármaco nas tubulações e vidrarias do aparato. Já a porcentagem de encapsulação, está mais relacionada ao processo em desenvolvimento.

Tabela 2. Avaliação das propriedades das formulações produzidas em processo de fluxo contínuo e batelada em diferentes concentrações de CloxB

Sistema de produção	Proporção F.O/F.A	CloxB $_{mg/mL}$	Diâmetro (nm)	IP	Potencial Zeta	E.E	% E
Fluxo contínuo	1:4	0,5	217 ± 11	0,255	-38	18,9	31,4
		1	209 ± 2	0,259	-36	22,3	51,6
		2	207 ± 9	0,248	-35	9,8	31,7
Batelada/Patente*	1:2	0,5	309 ± 8	NA	-30	34	67

4 Conclusão

O uso do sistema de fluxo contínuo (FNPS) para produção de nanocápsulas contendo Clox-B têm gerado resultados satisfatórios e apresentou-se adequado ao escalonamento do processo de produção da presente formulação que foi desenvolvida para o tratamento de mastite bovina. O sistema apresenta vantagens como facilidade de montagem e uso, baixo custo do sistema e acessórios, baixo consumo de energia, fácil limpeza e manutenção e diâmetro de tubulações que previnem indesejável obstrução dos canais por polímeros. Além disso, com as condições testadas no sistema é possível alcançar volume considerável de formulação, tendo fluxo total de aproximadamente 100 mL/min. Estudos complementares estão sendo realizados para otimização das condições de processo e melhorias do produto final.

Agradecimentos

Agradecemos à Capes, Cnpq e Fapemig pelo financiamento e aos colaboradores e parceiros Cetec-MG, Rede Nanobiomg e Embrapa Gado de Leite – Juiz de Fora.

Referências bibliográficas

BECK-BROICHSITTER, M. et al. Preparation of nanoparticles by solvent displacement for drug delivery: A shift in the "ouzo region" upon drug loading. **Eur. J. Pharm. Sci**, v. 41, p. 244–253, 2010.

European Patent Application (FRANÇA). MOSQUEIRA, V. C. F.; BRANDÃO, H. M.; ARAUJO, R. S. Nanoparticulate composition containing antibiotics for intramammary administration in animals. WO 2011/150481, 1 Jun., 2011, 10 Abr. 2013.

FESSI, H.; PUSIEUX, 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.

GAO, P. et al. Recent advances in materials for extended-release antibiotic delivery system. **The J. Antibiotics**, v. 64, p. 625-634, 2011.

HILL, E. K.; LI, J. Current and future prospects for nanotechnology in animal production. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 8, p. 26, 2017.

LIMAYEM BLOUZA, I. et al. Preparation and characterization of spironolactone-loaded nanocapsules for pediatric use. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 325, n. 1–2, p. 124–131, 2006.

XIE, H.; SMITH, J. W. Fabrication of PLGA nanoparticles with a fluidic nanoprecipitation system**. J. Nanobiotech.**, v. 8, p. 18, 2010.

PROPRIEDADES MECÂNICAS E ANTI-UV DE FILMES DE ALGINATO PRODUZIDOS POR CASTING CONTÍNUO

Kawany M. B. Shimomura[1], Davi R. Munhoz[2], Marcela P. Bernardo[2], Francys K.V. Moreira[1*], Luiz H. C. Mattoso[2]

*[1] Departamento de Engenharia de Materiais, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, Brasil. *moreira.fkv@dema.ufscar.br.*
[2]Laboratório Nacional de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio, Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP, Brasil.

Classificação: Métodos e Processos para Aumento da Escala de Produção de Nanoprodutos de interesse do Agronegócio

Resumo
Este trabalho foi dedicado à produção de filmes plastificados de alginato por *casting* contínuo. Soluções aquosas de alginato a 10 % foram preparadas e convertidas em filmes a uma velocidade de 15 cm min^{-1}. O comportamento mecânico dos filmes foi avaliado em função do teor de glicerol e sorbitol (10 e 30%) em umidade relativa de 50% utilizando ensaios de tração. As propriedades ópticas e de barreira anti-UV dos filmes em função do teor de glicerol e sorbitol também foram determinadas. Foi verificado que o glicerol é um plastificante mais eficiente, em relação ao sorbitol, para esses filmes de alginato produzidos por *casting* contínuo. Os filmes foram em geral bastante transparentes na região do visível, porém com boas propriedades de barreira contra radiação UV.
Palavras-chave: Curativo Regenerativo; Propriedades Mecânicas; Barreira Anti-UV.

MECHANICAL AND ANTI-UV PROPERTIES OF ALGINATE FILMS PRODUCED BY CONTINUOUS CASTING

This study was dedicated to the production of alginate films by continuous casting. 10 wt.% alginate solutions were prepared and converted into films at a rate of 15 cm min^{-1}. The mechanical behavior of the films was evaluated based on the contents of glycerol and sorbitol (10 and 30%) at 50% relative humidity using tensile tests. The optical and anti-UV barrier properties of the plasticized alginate plastics were also determined. It was found that glycerol is a more efficient plasticizer for alginate plastics rather than sorbitol. Alginate films were very transparent in the visible region, but with good barrier properties against UV radiation.
Keywords: Regenerative dressing; Mechanical properties, anti-UV barrier.

1 INTRODUÇÃO

Alginato (ALG), ou ácido algínico, é um polissacarídeo encontrado em algas marinhas e micro-organismos. O ALG é atóxico, biocompatível, biodegradável além de não alérgico. Do ponto de vista molecular, o ALG é descrito como um copolímero polianiônico formado por meros de ácidos manurônico (bloco M) e gulurônico (bloco G) distribuídos em proporções variadas de blocos aleatórios do tipo MM, GG e MG. Recentemente, o ALG tem sido aplicado em diversas áreas de desenvolvimento de materiais como imobilização de células, liberação controlada de fármacos, engenharia de tecidos e desenvolvimento de peles artificiais (PATHARE et al., 2013; VENKATESAN et al., 2015; GONG et al., 2016).

Estudos visando utilizar o alginato como matriz de adesivos e películas regenerativas têm sido realizados (SHAO et al., 2015). Para atingir as propriedades mecânicas necessárias de um curativo antimicrobiano e/ou uma película, esses filmes são dependentes da coesão advinda de agentes plastificantes. Glicerol e sorbitol são os plastificantes mais utilizados para elaboração de películas tendo amido e/ou pectina como matriz (MULLER et al., 2008). Portanto, essa pesquisa objetivou

desenvolver películas de alginato incorporadas com esses agentes em diferentes concentrações, visando analisar e comparar suas propriedades mecânicas e óticas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Preparação dos filmes de alginato

Primeiramente, a solução de alginato foi produzida mediante solubilização do polímero em água a uma concentração de 10%. Glicerol ou sorbitol foram adicionados na concentração de 10 e 30% (em relação à massa de alginato) previamente no volume da solução. As misturas foram homogeneizadas em um misturador à vácuo composto por um agitador mecânico operando com rotação de 2000 rpm e uma bomba aplicando vácuo simultaneamente ao nível mínimo de – 300 mm Hg.

Os filmes de alginato foram preparadas por *casting* contínuo (CC) em uma unidade piloto de laminação KTF-B (Mathis, Suíça). O método consistiu no espalhamento ininterrupto das soluções sobre um substrato poliéster com a espessura da lâmina úmida definida a 1,5 mm utilizando um dispositivo de laminação composto por uma Doctor Blade tipo B e um par de relógios comparadores de alta precisão (± 0.001 mm). Com relação à velocidade de processamento, foi estabelecido que 0,15 m min^{-1} poderia ser considerada a velocidade ideal para a formação das películas. Neste caso, visando maior produtividade, essa velocidade foi estabelecida como velocidade padrão para todas as amostras.

2.2 Técnicas de caracterização

As propriedades mecânicas dos filmes de alginato foram determinadas em uma máquina universal de ensaios mecânicos EMIC DL3000 (EMIC Equipamentos e Sistemas de Ensaio Ltda, PR, Brasil) equipada com célula de carga de 10 kgf (98,06 N). Os experimentos foram realizados seguindo a norma ASTM D882-09 utilizando corpos de prova tipo II (ASTM D638-09), velocidade de estiramento de 10 mm min^{-1} e separação inicial entre garras de 100 mm. As amostras foram pré-condicionadas sob umidade relativa de 50% durante 48 horas antes dos experimentos. Para cada elaboração filmogênica, no mínimo 10 corpos de prova foram utilizados.

Os atributos mecânicos (módulo elástico E, resistência à tração real σ_T, e elongação na ruptura real ε_B) dos filmes comestíveis foram calculadas a partir de diferentes curvas tensão (σ) – deformação (ε). A σ_T teve seus valores baseados na fórmula $\sigma_T = \sigma\,\lambda$, onde σ é a resistência à tração de engenharia dada pela fórmula $\sigma = F_b/S$, onde (F_b) representa a força aplicada na ruptura e S é a área da secção transversal do corpo-de-prova. Já a variável λ da fórmula anterior é a razão extensional, definida como $\lambda = L/L_0$, onde L e L_0 são os comprimentos finais e iniciais do corpo-de-prova, respectivamente. A alongamento (ε_B) foi calculada como sendo $\varepsilon_B = ln\ \lambda$. Por fim, o módulo E foi calculado a partir da regressão linear das curvas $\sigma - \varepsilon$ no limite $\sigma = \varepsilon = 0$ ($[d\sigma/d\varepsilon]_{\varepsilon=0}$). Essa regressão contou com 50 pontos e os valores de módulo foram considerados satisfatórios para valores de $R^2 \geq 0{,}97$.

A caracterização da transparência ótica das películas por espectroscopia UV-Vis foi medida por análise em espectrofotômetro UV-Vis Lambda 25 (PerkinElmer Inc., Waltham, EUA). Amostras de películas foram fixadas diretamente no orifício de passagem do feixe de luz, para se obter a transmitância na região espectral do UV e do visível (λ = 190 e 700 nm). Tais experimentos foram realizados em duplicata.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização das películas de alginato

As propriedades mecânicas resistência a tração real (σ_T), alongamento na ruptura real (ε_B), e módulo elástico (E), são reportadas na Tabela 1. Tratando-se de filmes incorporados com diferentes concentrações de plastificantes, a questão fundamental foi comparar o efeito destes sobre a matriz de alginato.

Tabela 1. Propriedades mecânicas de tração para filmes de alginato fabricados por *casting* contínuo (UR = 50%)

Plastificante (%)	σ_T (MPa)	ε_B (%)	E (MPa)
Glicerol			
10	30 ± 6	6 ± 3	1856 ± 460
30	8 ± 2	7 ± 3	299 ± 71
Sorbitol			
10	28 ± 5	2 ± 1	1327 ± 564
30	33 ± 5	3 ± 1	2016 ± 595

É possível comparar o efeito plastificante entre o sorbitol e o glicerol em ambas concentrações. Embora, a adição de 30% de glicerol não tenha acentuado o alongamento na ruptura real em relação a 10%, esse plastificante denotou-se como mais efetivo para plásticos de alginato quando comparado com sorbitol. Isso pode ser observado pelos menores valores de resistência à tração e módulo elástico. Esses resultados podem ser explicados pelo fato de o glicerol apresentar menor tamanho molecular e maior polaridade quando comparado ao sorbitol.

O comportamento ótico dos filmes foi avaliado por espectroscopia UV-Vis. A Figura 1 ilustra os perfis de transmitância dos filmes para a região do UV (190 – 400 nm) e do visível (400 – 700 nm). É possível verificar que as películas de alginato apresentaram valores de transmitância elevados, entre 65% e 85%, na região do visível, o que denota elevada transparência para estes materiais. O aumento da concentração de glicerol de 10 para 30% reduziu ligeiramente a transmitância na região do visível, porém aumentou na região do UV. O comportamento oposto foi observado em relação ao sorbitol.

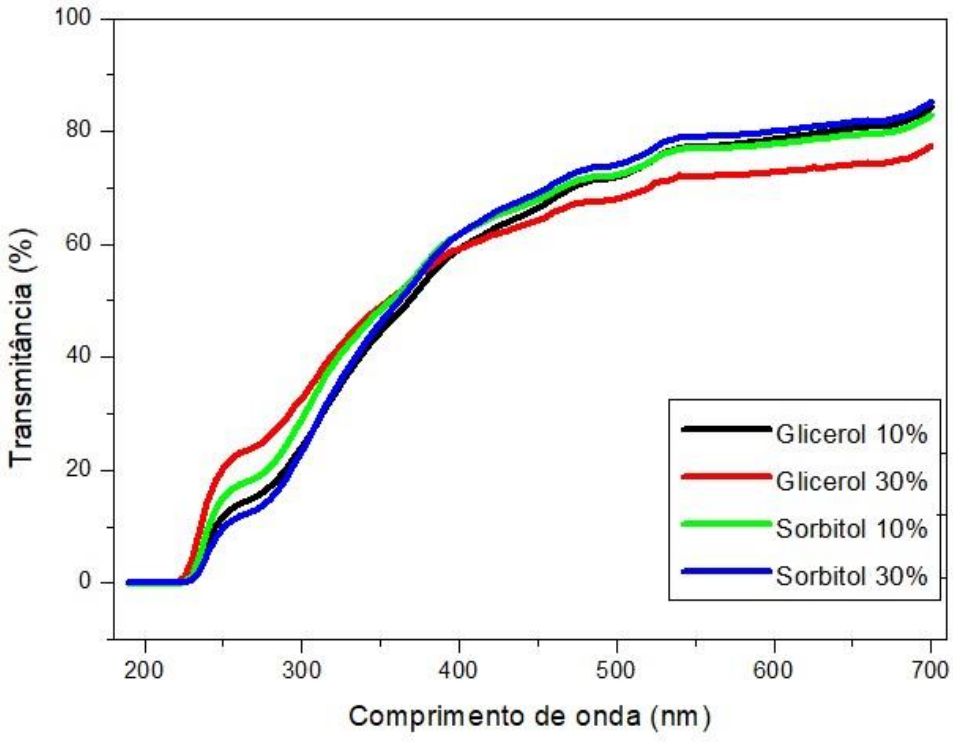


Figura 1: Perfil de transmitância dos filmes de alginato incorporados com plastificantes em função do comprimento de onda na região do UV (190 – 400 nm) e do visível (400 – 700 nm).

Em geral, a Figura 1 revela uma baixíssima transmitância dos filmes de alginato na região do UV (190 – 400 nm), 0 – 60%. Os resultados sugerem que os filmes de alginato plastificados com sorbitol e glicerol têm boa propriedades anti-UV, característica positiva para aplicação desses materiais como curativos generativos para, por exemplo, tratamento de queimaduras.

4 CONCLUSÃO

O método *casting continuo* mostrou-se eficiente para produção de filmes plastificados de alginato com produtividade de 15 cm plástico min^{-1}. O glicerol se apresentou como plastificante mais eficiente em relação ao sorbitol para filmes de alginato produzidos através dessa técnica. Por fim, os filmes de alginato contendo plastificantes, no geral, denotaram efeito anti-UV significativo.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Embrapa Instrumentação, DEMa/UFSCar SISNano/MCTI e CNPq-PIBIC (Processo CNPQ n° 145851/2016-8) pela infraestrutura e apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

GONG, Y. et al. Preparation of alginate membrane for tissue engineering. Journal of Polymer Engineering, v. 36, n. 4, p.363–370, 2016.

Müller, C. et al. Evaluation of the effects of glycerol and sorbitol concentration and water activity on the water barrier properties of cassava starch films through a solubility approach. *Carbohydrate Polymers*. v.72, n.1, p. 82-87, 2008.

PATHARE, Y. S. et al. Polymers used for Fast Disintegrating Oral Films: A Review, International Journal of Pharmacy Science, v. 21, n. 1, p. 169-178, 2013.

SHAO, W. et al. Development of silver sulfadiazine loaded bacterial cellulose/sodium alginate composite films with enhanced antibacterial property. *Carbohydrate polymers* v.132, p. 351-358, 2015.

VENKATESAN, A. et al. Alginate composites for bone tissue engineering: A review, International Journal of Biological Macromolecules, v. 72, p. 269 – 281, 2015.

OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE OBTENÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA-TPP PELO MÉTODO DE GELIFICAÇÃO IONOTRÓPICA

Daniel Aparecido Lopes Vieira da Cunha[1]; Taís Téo de Barros-Alexandrino[2,3]; Odílio Benedito Garrido Assis[3]

[1]Graduação em Engenharia de Materiais e Manufatura, USP, São Carlos. daniel.aparecido.cunha@usp.br
[2]Programa de Pós Graduação em Biotecnologia, UFSCar, São Carlos. tais.teo@hotmail.com
[3] Embrapa Instrumentação, Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, São Carlos, SP. odilio.assis@embrapa.br

Classificação: Métodos e Processos para Aumento da Escala de Produção de Nanoprodutos de interesse do Agronegócio.

Resumo
A gelificação ionotrópica é um processo que tem por base a capacidade que os polieletrólitos apresentam de entrecruzarem na presença de contra-íons e formarem estruturas gelatinosas também denominadas de "gelisferas". A consolidação no estado semissólido ou sólido, quase sempre se dá no formato esférico. Para um efetivo entrecruzamento e subsequente formação de micro e nanoesferas, diversos parâmetros devem ser ajustados em função dos polímeros envolvidos e o objetivo do presente trabalho é o de avaliar parâmetros e procedimentos relacionados ao processo de gelificação ionotrópica na síntese de nanopartículas do sistema Quitosana-Tripolifosfáto (QUI-TPP). Inicialmente estamos avaliando parâmetros experimentais que interferem no tamanho das partículas como a altura do gotejamento e a velocidade de agitação do meio. Os resultados indicam que nanopartículas com menores tamanhos são obtidas quando o gotejamento se dá a 8,0 cm de altura do meio reativo e a uma velocidade de agitação de 1500 rpm. Esses resultados preliminares indicam que tais parâmetros, normalmente menosprezados experimentalmente, são determinantes na síntese de nanopartículas do sistema Quit-TPP e que é possível otimizar o processo adequando-o para a síntese de partículas com tamanho desejado.
Palavras-chave: gelificação ionotrópica; nanopartículas; quitosana; tripolifosfato, entrecuzamento.

OTIMIZATION OF THE PROCESS OF OBTAINING CHITOSAN-TPP NANOPARTICLES BY IONOTROPIC GELIFICATION

Abstract
The ionotropic gelification consists in a process which has the capability of polyelectrolits to crosslink in the presence of counter-ions forming gelatinous structures. The consolidation of these interactions in a semi-solid or solid state frequently occurs in a spherical format, being named "gelispheres". For an effective cross-linking and subsequence formation of micro and nanospheres, several parameters should be adjusted in function of the type of the reacted polymers and the aim of the present study is to evaluate some parameters related to the ionotropic gelification process in the chitosan-thripolyphosfate system (Chi-TPP). First, we will evaluate experimental conditions that interfere in the size of the formed particles as the height of dropping and the speed of the reactive medium. The results show that the process results in smaller particles when the dropping is at 8.0 cm from the medium and at agitation of 1500 rpm. These are preliminary results, despite such parameters are often neglected, though determinants in the synthesis of nanoparticles from the system Chi-TPP. Additionally, such parameters can be optimized for obtaining particles with required sizes.
Keywords: ionotropic gelification; nanoparticles; chitosan; tripoliphosphate; crosslinking.

1 INTRODUÇÃO

A "gelificação iônica" ou "gelificação induzida por íon" ou ainda "gelificação ionotrópica" consiste na formação de estruturas gelatinosas, geralmente de formato esférico, que ocorre em consequência do intercruzamento de polieletrólitos com cargas opostas, ou seja, na presença de contra-íons. Os compósitos formados por esses entrecruzamentos tendem a formar estruturas, geralmente em dimensões nanométrica, de elevada área superficial, além de apresentar afinidade por uma série de compostos que apresentam grupos polares ou terminais carregados (PATIL et al., 2012). Essas nanoestruturas (nanopartículas) têm sido indicadas para emprego como agentes ativos, seja na ação direta ou como material de encapsulação em função da capacidade de intumescimento, que regida pela relaxação polimérica, permite a liberação reduzida ou controlada do composto encapsulado.

A utilização da quitosana e do tripolifosfato de sódio (TPP) no processo de gelificação iônica tem atraído considerável atenção por se tratar de um processo atóxico, livre de solventes orgânicos. Neste sistema, a gelificação ocorre pela interação entre grupos fosfatos negativamente carregados, presentes na estrutura do TPP com os grupos amino protonados da quitosana, segundo modelo apresentado por Yang et al., 2009 e ilustrado na Figura 1.

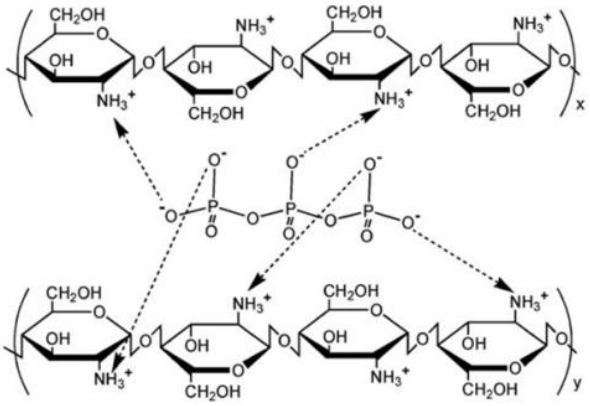


Figura 1. Mecanismo ideal de interação entre quitosana e TPP, baseado na dissociação dos fosfatos em ânions $P_3O_{10}^{5-}$, segundo modelo apresentado por Yang et al., 2009.

Na unidade da Embrapa Instrumentação temos avaliado o sistema Quit-TPP na formação de nanopartículas com atividade antimicrobiana (PILON et al., 2015), como carregadores de nutrientes em alimentos (BRITTO et al., 2012), como material de revestimento para encapsulação de vitaminas (BRITTO et al., 2016) e atualmente avaliando a atividade de nanopartículas Quit-TPP contra diversos fungos de interesse alimentício (BARROS-ALEXANDRINO, 2017).

Embora na prática o processo de produção dessas nanopartículas aparente ser relativamente simples, diversos parâmetros experimentais atuam significativamente na alteração dos resultados, e o objetivo desse trabalho é o de avaliar, com rigor estatístico, alguns desses parâmetros com o objetivo de otimizar e definir um procedimento que seja padrão e repetitivo.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Síntese das suspensões de Nanopartículas de Quitosana-TPP

A nanopartículas de quitosana (Aldrich) foram inicialmente obtidas pelo procedimento padrão de gelatinização ionotrópica, no qual o gel de quitosana 1g/L foi preparado por solubilização em ácido acético a 1 %, sob agitação intensa ao longo de 6 horas. Em seguida, o TPP (tripolifosfato de sódio) (Aldrich) foi dissolvido em água destilada em uma concentração de 0,5g/L, e adicionado ao gel por via *drop wise* (gotejamento controlado e contínuo na razão de 1 $mL.min^{-1}$), como mostrado na Figura 2. O entrecruzamento em meio aquoso e a suspensão reativa de quitosana e TPP centrifugada por 10 minutos a 5000 rpm, segundo procedimento adotado (BRITTO et al., 2012). Alíquotas das etapas do processo de síntese foram reservadas para comparação de seus tamanhos: (i) pré-centrifugação; (ii) sobrenadantes pós-centrifugação e (iii) partículas ressuspendidas.

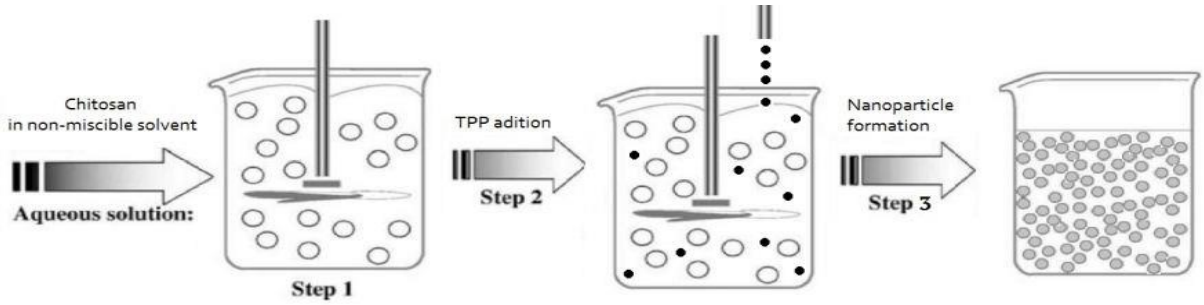


Figura 2. Aparato Experimental utilizado para a síntese de Nanopartículas de Quitosana-TPP.

2.1.2 Variação dos parâmetros experimentais

A altura do gotejamento de TPP (5 e 8 cm) e velocidade de agitação do meio reativo (600; 1050 e 1500 rpm) foram variados visando a comparação entre os tamanhos das partículas resultantes de cada síntese. A vazão e o tamanho das gotas foram mantidos os mesmos.

2.2 Determinação do Potencial Zeta e Tamanho de Partícula

As dimensões das nanopartículas resultantes das diversas condições e seu o correspondente Potencial Zeta foram obtidas em medida no sistema Zeta Potencial Analyser Zetasizer Nano ZS ZEN 36000 (Malvern Instruments).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Tamanho de partícula e Potencial Zeta

Os dados experimentais indicam que partículas de menores dimensões são conseguidas conforme altura do gotejamento do TPP elevou-se de 5 para 8 centímetros com relação a superfície aquosa do meio com quitosana. Em algumas amostras foram obtidos aglomerados de quitosana, resultando em tamanhos acima de 1.000 nm, especialmente com menores velocidades de agitação do meio e provenientes da etapa pré-centrifugação. A tendência de redução do tamanho de partícula também foi observada quando consideramos o parâmetro velocidade de agitação, considerando que as medidas indicam que a distribuição de tamanhos diminui com o aumento da velocidade de agitação do meio, de 600 para 1050 e, posteriormente, para 1500 rpm. As partículas provenientes do sobrenadante apresentaram os menores tamanhos, possivelmente pelo fato de que, na etapa de centrifugação, as partículas maiores são sedimentadas. Foram obtidos valores de Potencial Zeta dentro da faixa de variação esperada para este tipo de material. A Tabela 1 apresenta os valores numéricos relacionados a estas variáveis, segundo dados obtidos até o momento.

Tabela 1. Comparação das nanopartículas obtidas pelo sistema Quit-TPP*.

	Pré-centrifugação		Sobrenadante		Ressuspendidas	
Amostras**	Tamanho (nm)	Zeta (mV)	Tamanho (nm)	Zeta (mV)	Tamanho (nm)	Zeta (mV)
H5_V600	8.581	16,1	987,6	13,7	1.730	14,45
H5_V1050	8.635	8,02	3.319	7,43	6.209	19,6
H5_A1500	6.679	14,7	2.739	14,2	3.267	26,9
H8_V600	6.593	12,7	1.454	9,59	2.587	-12,5
H8_V1050	329,5	20,4	257,7	20,8	722,7	29,3
H8_V1500	141,8	26,9	126,2	27,4	347,9	41,4

**Comparação de tamanhos (nm) e potencial zeta (mV) das nanopartículas em diferentes etapas do processo de síntese.*
***Código de identificação utilizado: H (altura de gotejamento, em centímetros) e V (velocidade de gotejamento, em rpm).*

Com essas análises preliminares vemos que as alterações são significativas, indicando que

parâmetros aparentemente negligenciados são importantes na definição de um procedimento padrão. Concentração dos polímeros, acidez e temperatura do meio estão correntemente em análise e permitirão a aplicação de estatística multivariada para definir as condições otimizadas do processo.

4 CONCLUSÃO

As análises realizadas sugerem que os parâmetros altura de gotejamento e velocidade de agitação têm influência direta na formação das micro e nanopartículas no sistema Quit-TPP, segundo valores numéricos obtidos em cada uma das etapas de síntese. Os dados indicam que é possível otimizar o processo e adequá-lo para o estabelecimento de um procedimento experimental adequado na obtenção de partícula com características desejadas para diferentes aplicações.

AGRADECIMENTOS

Os autores são gratos ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia da UFSCar, a CAPES pela concessão de bolsa e a Rede AgroNano por auxílios recebidos.

REFERÊNCIAS

BARROS-ALEXANDRINO, T.T. Síntese e caracterização de Nanopartículas de Quitosana-TPP e seu potencial como antifúngico natural, Tese de Doutorado, Universidade Federal de São Carlos, UFSCar, São Carlos, 2017 (em andamento).

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.

BRITTO, D.; PINOLA, F.G.; MATTOSO, L.H.C.; ASSIS, O.B.G. Analysis of thermal and aqueous suspension stabilities of chitosan based nanoencapsulated vitamins. Química Nova, v.39, n.9, p.1126-1130, 2016.

PILON, L.; SPRICIGO, P.C.; MIRANDA, M.; MOURA, M.R.; ASSIS, O.B.G.; MATTOSO, L.H.C.; FERREIRA, M.D. Chitosan nanoparticle coatings reduce microbial growth on fresh-cut apples while not affecting quality attributes. International Journal of Food Science & Technology, v. 50, n. 2, p. 440-448, 2015.

PATIL, P.; CHAVANKE, D.; WAGH. M. A review on ionotropic gelation method: novel approach for controlled gastroretentive gelispheres. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. v.4, n. 4, p. 27-32, 2012.

PROPRIEDADES MECÂNICAS E ANTI-UV DE PLÁTICOS DE GELATINA PRODUZIDOS POR CASTING CONTÍNUO

Flávia B. Junqueira[1], Luiz H. C. Mattoso[2], Francys K. V. Moreira[1]*

*1 - Departamento de Engenharia de Materiais (DEMa), Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), São Carlos, SP, Brasil. *moreira.fkv@dema.ufscar.br*
2 – Laboratório Nacional de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio (LNNA), Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP, Brasil.

Classificação: Métodos e Processos para Aumento da Escala de Produção de Nanoprodutos de interesse do Agronegócio

Resumo
O presente trabalho descreve a fabricação de plásticos de gelatina por *casting* contínuo. Soluções aquosas de gelatina a 20 % foram preparadas e convertidas em plástico a uma velocidade de 10 cm min^{-1} com tempo de secagem de 7 min. O comportamento mecânico dos plásticos foi avaliado em função do teor de glicerol e sorbitol (10 – 30%) em umidade relativa de 57% utilizando ensaios de tração. As propriedades óticas e de barreira anti-UV dos plásticos em função do teor de glicerol e sorbitol também foram determinadas. Foi verificado que o glicerol é um plastificante mais eficiente, em relação ao sorbitol, para os plásticos de gelatina. A faixa mais apropriada para aditivação com esses plastificantes foi de 10 – 20% e 20 – 30%, respectivamente. Os plásticos de gelatina foram em geral bastante transparentes na região do visível, porém com boas propriedades de barreira contra radiação UV, especialmente UVB e UVC.
Palavras-chave: Plástico Biodegradável: Processamento Escalonado; Barreira Anti-UV.

MECHANICAL AND UV-BARRIER PROPERTIES OF GELATIN FILMS PRODUCED BY CONTINUOUS CASTING

Abstract
The present study describes the manufacture of gelatin plastics by continuous casting. 20 wt.% gelatin solutions were prepared and converted into plastic at a rate of 10 cm min^{-1} and drying time of 7 min. The mechanical behavior of the plastics was evaluated based on the contents of glycerol and sorbitol (10 - 30%) at 57% relative humidity using tensile tests. The optical and anti-UV barrier properties of the plasticized gelatin plastics were also determined. It was found that glycerol is a more efficient plasticizer for gelatin plastics rather than sorbitol. The most suitable ranges for plasticization were 10-20% and 20-30%, respectively. Gelatin plastics were quite transparent in the visible spectral region, but with good barrier properties against UV radiation, especially UVB and UVC.
Keywords: Natural polymer; biodegradable plastic, scaled-up processing; anti-UV barrier.

1 INTRODUÇÃO

A fabricação de plásticos biodegradáveis a partir de polímeros naturais com o intuito de substituir plásticos sintéticos não biodegradáveis em aplicações de curto prazo é um marco em pesquisa dos últimos anos. Dentre os polímeros naturais, a gelatina tem especial importância devido à sua abundância, baixo custo, capacidade filmogênica excelente e fácil biodegradação (LIU et al., 2017; YAO et al., 2017; ETXABIDE et al., 2016). A gelatina é um hidrocolóide extraído do colágeno fibroso oriundo dos resíduos da indústria de produtos cárneos e pescados (SCHMIDT et al., 2016). É constituída por sequências distintas de α-aminoácidos com altas concentrações de prolina, glicina e hidroxiprolina (KUZEMA et al., 2015).

Em geral, plásticos de gelatina são produzidos a partir de soluções aquosas por *casting* em batelada (LIU et al., YAO et al., 2017; ETXABIDE et al., 2016; SCHMIDT et al., 2016), o que resulta em plásticos de elevada transparência. Esta técnica, porém, apresenta baixa produtividade, uma vez que o tempo necessário para evaporação do solvente (água) varia de horas até dias. Neste sentido, se

faz importante desenvolver técnicas de processamento para gelatina que resultem, com alta produtividade, em plásticos de boa qualidade estética e que permita o ajuste das propriedades físicas do plástico para diversas aplicações, por exemplo, como curativos regenerativos na medicina.

O presente estudo descreve a fabricação de plásticos de gelatina de forma escalonada utilizando o *casting* contínuo. O efeito da aditivação dos plásticos de gelatina com os plastificantes glicerol e sorbitol foi avaliado. As propriedades de barreira anti-UV dos plásticos também foram caracterizadas visando a aplicação desses materiais como curativos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Materiais

Gelatina bovina (180 Bloom Mesh 30) foi gentilmente cedida pela Gelco Gelatina do Brasil Ltda (Pedreira, SP, Brasil). Glicerol (n° CAS 56-81-5) e sorbitol (n° CAS 50-70-4) foram comprados da Synth (Diadema, SP, Brasil). Todas as soluções foram preparadas utilizando exclusivamente água deionizada (resistividade de 18,2 MΩ cm).

2.2 Preparação de soluções de gelatina e fabricação de plásticos por casting contínuo

A gelatina foi inicialmente hidratada por 5 min no volume de água da solução previamente adicionado com plastificante (glicerol ou sorbitol). A mistura foi então aquecida em banho-maria a 80 – 85 °C por 15 min, sem agitação, para completa solubilização do polímero. A solução formada foi resfriada até a temperatura de 45 °C e imediatamente submetida ao *casting* contínuo. A concentração de gelatina foi de 20 % em massa para todas as soluções. A concentração de glicerol e de sorbitol foi variada em 10, 20 e 30 % em relação à massa de gelatina.

Os plásticos foram produzidos por um método de *casting* contínuo implementado em um equipamento KTF-B (Werner Mathis AG, Suíça). O equipamento foi alimentado com as soluções de gelatina a 40 °C as quais foram laminadas a uma espessura de 1,0 mm (doctor blade tipo B) sobre um suporte transportador movido a uma velocidade de 0,10 m min^{-1}. A lâmina úmida foi transportada por duas câmaras de convecção de ar quente. Os plásticos secos foram bobinados ao final e acondicionados em umidade relativa (UR) de 57% para caracterizações posteriores.

2.3 Técnicas de Caracterização

As propriedades mecânicas dos plásticos foram determinadas em uma máquina universal de ensaios mecânicos Instron 5569 (Instron Corporation, EUA) equipada com célula de carga de 500 N. Os testes foram realizados seguindo a norma ASTM D882-09. Os valores médios de módulo elástico (E, MPa), resistência à tração (σ_T, MPa) e alongamento na ruptura (ε_B, %) foram calculados. A espessura dos plásticos foi determinada em três pontos com um micrômetro digital Mitutoyo (Mitutoyo Corp., Japão). As propriedades óticas dos plásticos de gelatina foram determinadas em um espectrofotômetro 50 Probe Varian. A transmitância das amostras foi varrida na faixa de comprimento de onda de 190 a 700 nm em duplicata. A espessura dos plásticos foi previamente determinada em três pontos aleatórios com um micrômetro digital Mitutoyo (Mitutoyo Corp., Japão).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As propriedades mecânicas dos plásticos de gelatina são mostradas na Tabela 1. Não foi possível obter plásticos de gelatina sem plastificante devido ao comportamento frágil do material após secagem, o que levou ao trincamento do mesmo ainda sobre o suporte transportador do equipamento de laminação. A aditivação com sorbitol a 10% também não alterou o comportamento frágil do plástico de gelatina, enquanto a aditivação com glicerol a 30% foi excessiva; os plásticos tiveram textura pegajosa e foram de difícil manuseio.

Os dados mostrados na Tabela 1 indicam o efeito plastificante do sorbitol e do glicerol sobre a matriz de gelatina, como esperado. No caso dos plásticos aditivados com glicerol, é observada uma

maior dispersão dos valores de propriedades mecânicas, sugerindo um menor controle sobre o comportamento mecânico desses materiais quando produzidos por *casting* contínuo.

Tabela 1 - Propriedades mecânicas para plásticos de gelatina fabricados por *casting* contínuo (UR = 57%).

Plastificante (%)	σ_T (MPa)	ε_B (%)	E (GPa)
Sorbitol			
10	n.d.*	n.d.	n.d.
20	27 ± 6	8 ± 4	1,0 ± 0,2
30	23 ± 3	13 ± 2	0,8 ± 0,3
Glicerol			
10	19 ± 7	4 ± 3	1,1 ± 0,2
20	11 ± 8	20 ± 13	0,8 ± 0,5
30	n.d.	n.d.	n.d.

* n.d. = não determinado.

É possível comparar o efeito plastificante entre o sorbitol e o glicerol para a concentração de 20%. Neste caso, observa-se que os plásticos de gelatina plastificados com sorbitol são mais resistentes do que aqueles aditivados com glicerol, ou seja, que o glicerol é um plastificante mais efetivo para plásticos de gelatina. Isto pode ser explicado pela maior hidrofilicidade, menor tamanho molecular e menor densidade do glicerol em relação ao sorbitol [8].

O comportamento ótico dos plásticos de gelatina foi avaliado por espectrofotometria UV-Vis. A Figura 2a e 2b mostram espectros representativos dos plásticos adicionados com 10% e 30% de glicerol e sorbitol, respectivamente. Para efeito de interpretação os espectros foram segmentados na região do visível (400 – 700 nm), UVA ou luz negra (400 – 320), UVB (320 – 280 nm) e UVC ou germicida (280 – 190 nm).

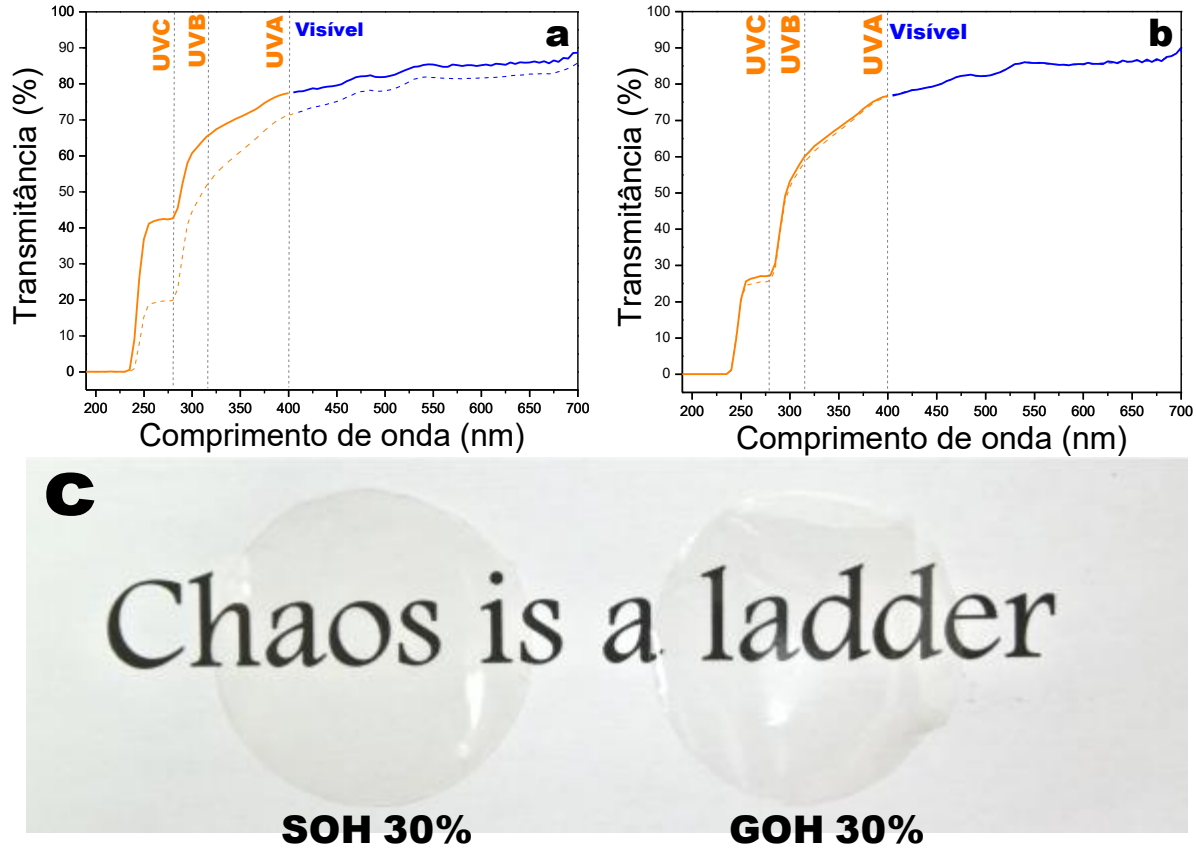


Figura 2 – Espectros UV-Vis de plásticos de gelatina produzidos por casting contínuo aditivados com glicerol (a) e sorbitol (b). (linha cheia – 10% plastificante; linha pontilhada – 30% de plastificante. (c) Ilustração da transparência dos plásticos de gelatina plastificados com 30% sorbitol (SOH) e glicerol (GOH).

Os plásticos de gelatina apresentaram boa transparência na região do visível, o que é indicado pelos valores de transmitância geralmente superiores a 70%. Uma ilustração desse comportamento ótico é mostrada na Figura 2c, para os plásticos de gelatina com 30% de glicerol e sorbitol.

Em relação à região do UV, os plásticos de gelatina denotaram uma capacidade de bloquear a transmissão de radiação UVA em 25 – 40%, radiação UVB em 35 – 80% e radiação UVC em 60 – 100%. Este comportamento está associado à absorção da radiação UV pelas funções carbonilas (C=O) presentes nos resíduos de hidroxiprolina, glicina e prolina das cadeias macromoleculares da gelatina (KUZEMA et al., 2015). Neste caso, os plásticos de gelatina apresentam boa capacidade de barreira contra radiação UV, especificamente UVB e UVC. Uma possível aplicação onde estas propriedades de barreira seriam relevantes seria no uso dos plásticos de gelatina como curativos para tratamento de queimaduras.

4 CONCLUSÃO

Plásticos de gelatina plastificados com glicerol e sorbitol foram produzidos a partir de um método de *casting* contínuo com produtividade de 10 cm plástico min^{-1}. O tempo de secagem no *casting* foi reduzido para 7 min, tempo este bastante curto em relação os tempos de casting descritos na literatura. Além disso, foi verificado que o glicerol é um plastificante mais eficiente, em relação ao sorbitol, para os plásticos de gelatina. A faixa mais apropriada para aditivação com esses plastificantes é 10 – 20% e 20 – 30%, respectivamente. Os plásticos de gelatina apresentaram elevada propriedade de barreira contra radiação UVB e UVC.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao DEMa/UFSCar, Embrapa, SISNano/MCTI/CNPq (458763/2014-4), CAPES e FAPESP (processos n° 2010/11584-5 e n° 2012/21867-0) pelo apoio financeiro e infraestrutura utilizada neste trabalho.

REFERÊNCIAS

1. LIU, F. et al. Study of combined effects of glycerol and transglutaminase on properties of gelatin films, Food hydrocolloids, v. 65, p. 1-9, 2017.

2.YAO, Y. et al. Antibacterial Activity and Physical Properties of Fish Gelatin-Chitosan Edible Films Supplemented with D-Limonene, International Journal of Polymer Science, v. 17, p. 1-9, 2017.

3. ETXABIDE, A. et al. Control of cross-linking reaction to tailor the properties of thin films based on gelatin, Materials letter, v. 185, p. 366, 2016.

4. SCHMIDT, M. M. et al. Collagen extraction process, International Food Research Journal v. 23(3), p. 913-922, 2016.

5. KUZEMA, P. O. et al. Thermogravimetric study of water affinity of gelatin materials, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, v.122, p.1231-1237, 2015.

AVALIAÇÃO REOLÓGICAS DE FORMULAÇÕES AMIDO/NANOCRISTAIS DE CELULOSE PARA APLICAÇÃO EM CASTING CONTÍNUO

Rodrigo Ambrosio Rodrigues de Carvalho[1,2], Francys K.V. Moreira[2], Luiz H. C. Mattoso[1]

*[1]Laboratório Nacional de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio, Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP, Brasil. *luiz.mattoso@embrapa.br.*
[2]Departamento de Engenharia de Materiais, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, Brasil.

Classificação: Métodos e Processos para Aumento da Escala de Produção de Nanoprodutos de interesse do Agronegócio

Resumo
Este trabalho buscou avaliar o comportamento reológico de formulações de amido incorporadas com nanocristais de celulose comerciais para fabricação de plásticos biodegradáveis por *casting* contínuo. Soluções de amido de milho foram preparadas por gelatinização do polímero a 85 °C e incorporadas com 1 e 2 % de nanocristais de celulose. As amostras foram caracterizadas por difratometria de raios X (DRX) e determinações de viscosidade. Os nanocristais de celulose apresentaram uma estrutura cristalina bifásica composta por celulose tipo I e II. A formulação de amido com 1 % de nanocristais de celulose apresentou viscosidade de 100 Pa s, adequada para o processo de *casting*, porém a incorporação dos nanocristais a 2 % e abaixo do limiar de percolação (~5%) reduziu a viscosidade da formulação. Portanto, os parâmetros do *casting* contínuo devem ser ajustados para compensar o efeito de afinamento imposto pelos nanocristais à formulação de amido.
Palavras-chave: Plástico Biodegradável; Processamento; Viscosidade; Limiar de Percolação.

RHEOLOGICAL EVALUATION OF STARCH/CELLULOSE NANOCRYSTALS FORMULATIONS INTENDED FOR CONTINUOUS CASTING
This study was aimed at evaluating the rheological behavior of starch formulations incorporated with commercial cellulose nanocrystals for biodegradable plastics production by continuous casting. Corn starch solutions were prepared by gelatinizing the polymer at 85 °C and incorporated with cellulose nanocrystals at 1 and 2 %. Samples were characterized by X-ray diffractometry (XRD) and viscosity determinations. The cellulose nanocrystals presented a biphasic crystalline structure composed of cellulose type I and II. The starch formulation with 1 wt.% cellulose nanocrystals had a viscosity of 100 Pa s, which is suitable for continuous casting process, however incorporation of nanocrystals at 2% and below the percolation threshold (~ 5%) reduced the viscosity of the formulation. Therefore, the continuous casting parameters should be adjusted to balance the thinning effect imposed by nanocrystals.
Keywords: Biodegradable Plastic; Processing; Viscosity; Percolation Threshold.

1 INTRODUÇÃO

O amido é um material biodegradável e promissor para a fabricação de plásticos para embalagem, afinal, além de baixo custo de produção e abundância, ele apresenta o caráter sustentável tão pesquisado atualmente (THIRE et al., 2004). Os plásticos produzidos com amido ainda apresentam algumas restrições, tais como permeabilidade relativamente alta ao vapor d'água (MALI et al., 2004). Essa interação com a água é um fator limitante para a sua comercialização e um problema a solucionar, uma vez que as propriedades mecânicas do filme são alteradas pela umidade relativa do ar e, portanto, prejudicando a estocagem e inclusive no uso de certos produtos (THIRE et al., 2004; LOURDIN et al., 1997).

Uma alternativa para solucionar as limitações dos plásticos de amido consiste na incorporação de nanocristais de celulose (NCC) e formação de um nanocompósito (LEE et al. 2014). Os nanocristais de celulose (NCC) são estruturas cristalinas em formato de agulha com diâmetro variando na faixa de 4 a 20 nm e comprimento variando entre 100 a 1000 nm, além de apresentarem uma elevada cristalinidade. Eles podem ser isolados a partir das nanofibrilas de celulose, encontradas em algas, fibras vegetais e animais marinhos, por meio de processos químicos como a hidrólise ácida ou oxidação (TAIPINA; FERRAREZI & GONÇALVES, 2011). Tais NCC apresentam propriedades térmicas, óticas, químicas e mecânicas específicas, baixa densidade e grande área superficial, além de serem biodegradáveis, características fundamentais para utilização em nanocompósitos e plásticos biodegradáveis (LEE et al., 2014).

Estudos focados na obtenção de nanocompósitos amido/NCC vêm utilizando a extrusão como método de preparação (LEITE et al. 2016), porém ainda são problemáticos porque a dispersão dos NCC na matriz não é efetiva, o que causa aglomerações e assim não reforça o nanocompósito como um todo. Um método alternativo seria o *casting* contínuo, pois este seria capaz de produzir filmes de amido de forma escalonada a partir de soluções aquosas. Neste caso, as formulações aquosas amido/NCC precisam ser caracterizadas quanto ao seu comportamento reológicos de forma a viabilizar os parâmetros do *casting* contínuo.

O objetivo do presente estudo foi caracterizar reologicamente formulações de amido incorporados com NCC para posterior fabricação de plásticos biodegradáveis por *casting* contínuo. O efeito da inclusão de NCC em soluções concentradas de amido foi avaliado por medidas de viscosidade dinâmica em função da concentração de NCC.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Materiais

Foram utilizados amido de milho (teor de amilose de 28%; teor de amilopectina 72%) e NCC comercial (número CAS 9004-34-6) (diâmetro 5 – 20 nm, comprimento 150 – 200 nm) adquiridos da Ingrediam e University of Maine, respectivamente. Todas as amostras foram preparadas utilizando exclusivamente água deionizada (ρ = 18,2 MΩ cm).

2.2 Preparação de formulações amido/NCC

As formulações amido/NCC preparadas pela gelatinização do polímero a 85 °C. Inicialmente, massas precisas de NCC foram adicionadas em água, seguido pelo tratamento da suspensão com ultrassom de ponteira por 5 min. A suspensão foi então aquecida à 70 – 80°C e o amido foi adicionado a uma concentração de 7%. O aquecimento foi mantido sob agitação 1000 rpm por 30 min para completar a gelatinização do polímero. Finalmente, a solução foi resfriada e imediatamente submetidas a ensaios reológicos. As concentrações de NCC foram de 1 e 2 %.

2.3 Técnicas de caracterização

A estrutura dos NCC foi caracterizada por difratometria de raios X (DRX) utilizando um equipamento XRD 6000 (Shimadzu Corporation) operando com radiação Cu K_α (λ = 1,5405 Å) monocromatizada com um filtro de Ni. O ânodo de cobre foi excitado com uma tensão de 30 kV e corrente de 30 mA. A intensidade do feixe difratado foi coletada à 25°C na faixa de ângulos de Bragg de 5 – 45º utilizando uma velocidade de varredura de 2º min^{-1}. A viscosidade dinâmica (η) das formulações amido/NCC foi determinada em um reômetro rotacional ARES (Rheometrics) operado pelo Software RSI, utilizando geometria de cilindros concêntricos. Os perfis de viscosidade foram registrados na temperatura de 25 °C variando a taxa de cisalhamento (γ) entre 0,01 e 100 s^{-1}.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente, o NCC comercial utilizado neste estudo teve sua estrutura caracterizada por DRX, Figura 1. Pode-se observar picos de difração por volta de 12,0º de 2θ (pico característico da

celulose tipo II) e em 14,9º, 16,6º, 20,1º, 22,4º e 34,5º de 2θ (picos característicos da celulose tipo I) (KHANJANZADEH et al. 2017). Dependendo do tratamento a que a celulose nativa for submetida - químico e/ou térmico - há diferentes alterações nas dimensões da cela unitária e, consequentemente, na sua estrutura cristalina, o que resulta nos diferentes polimorfos da celulose (SILVA & D'ALMEIDA, 2009). Neste caso, o NCC utilizado neste trabalho apresenta uma estrutura cristalina bifásica composta por celulose tipo I e II.

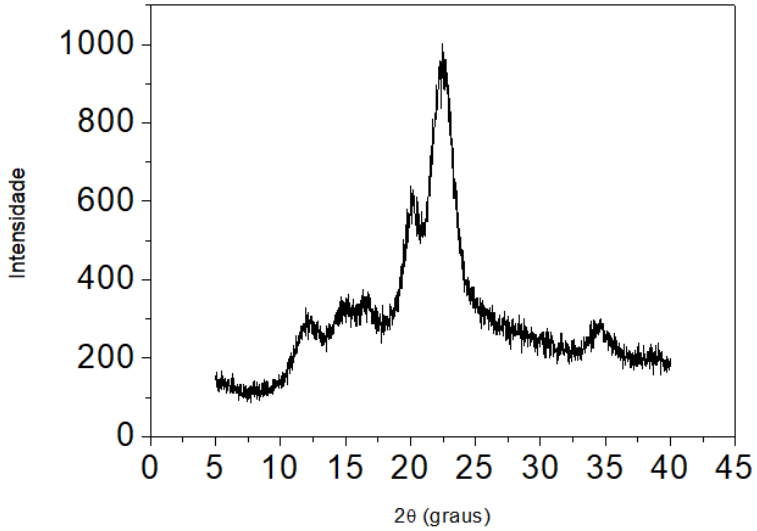


Figura 1: Perfil de DRX para NCC comercial.

A Figura 2 apresenta a caracterização reológica das formulações de amido contendo 1 e 2 % NCC. A Figura 2a mostra que para ambas formulações a tensão de cisalhamento (σ) segue uma tendência aproximadamente linear com relação à taxa de cisalhamento (γ), comportamento típico de fluído newtoniano. Uma vez que o caráter pseudoplástico das soluções de amido é amplamente conhecido, os resultados da Figura 1 podem ser explicado pelo fato de que as formulações foram analisadas logo após a gelatinização, logo sofreram o fenômeno de afinamento devido à agitação mecânica imposta no processo. O comportamento viscosimétrico das formulações é ilustrado nos perfis de viscosidade dinâmica (η) em função da taxa de cisalhamento (γ), Figura 2b.

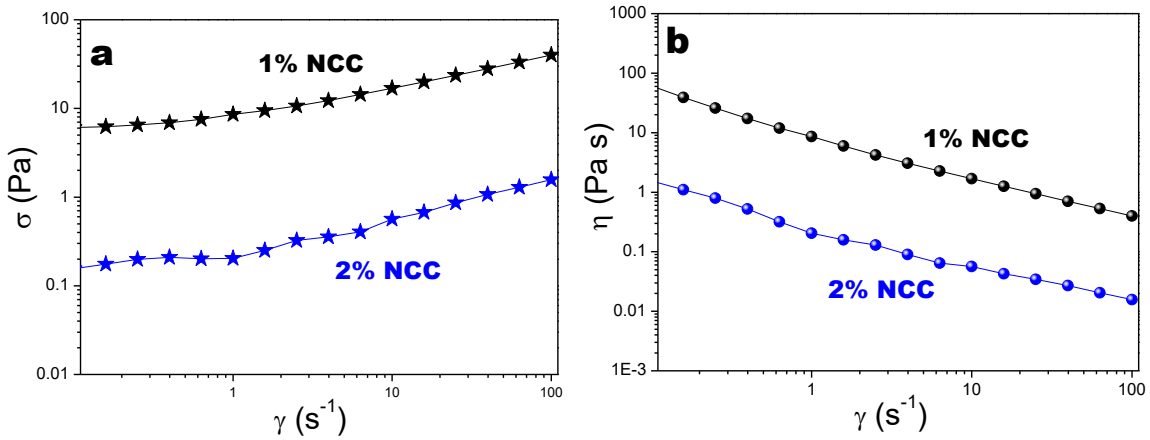


Figura 2: (a) tensão de cisalhamento (σ) vs. taxa de cisalhamento (γ) (25 °C) e (b) viscosidade dinâmica (η) em vs. taxa de cisalhamento (γ) (25 °C) para formulações de amido (7%) contendo 1 e 2 % NCC.

Pode ser notado que as formulações ainda apresentaram redução da viscosidade, logo pseudoplasticidade, mesmo sob efeito de afinamento, para ambas as concentrações de NCC. Além disso, nota-se que o aumento da concentração de NCC tende a reduzir a viscosidade da formulação de amido. Isto é explicado pela interferência dos NCC sobre a rede tridimensional formada pelas

moléculas solubilizadas de amido. É amplamente conhecido que os NCC também apresentam a capacidade de estabelecer uma rede tridimensional de percolação cujo o limiar é dado por χ_c = 0,7/(*L/D*), onde L seria o comprimento médio e D o diâmetro médio dos nanocristais (Favier, Chanzy & Cavaillé, 1995). Considerando as dimensões dos NCC utilizados neste estudo, o limiar de percolação é em torno de 5%, abaixo da concentração mais alta avaliada nos ensaios reológicos. Logo, o uso dessa NCC até não alteraria a viscosidade da formulação de amido.

No contexto do *casting* contínuo, as soluções aquosas devem apresentar viscosidade mínima de 100 Pa s (100.000 cP) para garantir a produção de plásticos monocamada com bom controle de espessura. Com adição do NCC, as condições do *casting* contínuo deverão ser otimizadas a rigor para compensar a queda de viscosidade. Os experimentos relacionados à produção de filmes nanocompósitos amido/NCC por *casting* contínuo estão em andamento.

4 CONCLUSÃO

Formulações de amido incorporadas com nanocristais de celulose comerciais foram caracterizadas reologicamente para posterior fabricação de plásticos por *casting* contínuo. A formulação de amido pura com concentração polimérica de 7% apresenta viscosidade adequada para o processo de *casting*, porém a incorporação de nanocristais de celulose abaixo do limiar de percolação reduz a viscosidade dessa formulação. Os parâmetros do *casting* contínuo, como por exemplo, temperatura de secagem e velocidade devem ser ajustadas neste caso. Uma outra alternativa, seria aumentar a concentração de amido na solução de forma a compensar o efeito de afinamento imposto pelos nanocristais.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Embrapa Instrumentação, DEMa/UFSCar SISNano/MCTI e CNPq pela infraestrutura e apoio financeiro. Rodrigo A. R. De Carvalho agradece à FAPESP (Processo nº 2017/10023-9) pela bolsa de iniciação científica.

REFERÊNCIAS

Favier V, Chanzy H., Cavaillé J. Y. Polymer nanocomposites reinforced by cellulose whiskers. Macromolecules 28:6365-6367, 1995.

LEE, K.-Y. et al. On the use of nanocellulose as reinforcement in polymer matrix composites. Composites Science and Technology, V. 105, P. 15–27, 2014.

LEITE, L. S. F., BATTIROLA, L. C., DA SILVA, L. C. E., GONÇALVES, M. C. Morphological investigation of cellulose acetate/cellulose nanocrystal composites obtained by melt extrusion. Journal of applied polymer science, v. 133, p. 44201, 2016.

LOURDIN, D.; COIGNARD, L.; BIZOT, H.; COLONNA, P. Influence of equilibrium relative humidity and plasticizer concentration on the water content and glass transition of starch materials. Polymer. v. 38, n. 21, p. 5401-5406, 1997.

Khanjanzadeh, H. et al. Surface chemical functionalization of cellulose nanocrystals by 3-aminopropyltriethoxysilane. International Journal of Biological Macromolecules. 2017.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F., Filmes de amido: produção, propriedades e potencial de utilização**.** Semina. Ciências Agrárias (Impresso), v. 31, p. 137-156, 2010.

TAIPINA, M.O.; FERRAREZI, M.M.F.; GONÇALVES, M.C. Whiskers de celulose: Preparação, Caracterização e Modificação de superfície. In: **Congresso Brasileiro de Polímeros**, 11º. 2011. Campos do Jordão, SP.

THIRE, Rossana M. S. M. et al. Redução da hidrofilicidade de filmes biodegradáveis à base de amido por meio de polimerização por plasma. Polímeros: Ciência e Tecnologia, São Carlos, v. 14, p. 57-62, 2004

CAPÍTULO 2

Desenvolvimento de sensores e biossensores nanoestruturados

NANOFIBRAS ELETROFIADAS DE PVP/QUITOSANA/ ÓXIDO DE GRAFENO REDUZIDO PARA APLICAÇÃO EM BIOSSENSORES

Adriana Pavinatto[1,2], Luiza A. Mercante[1], Murilo H.M. Facure[1,3], Luiz H.C. Mattoso [1,3], Daniel S. Correa[1,3]

[1]Nanotechnology National Laboratory for Agriculture (LNNA), Embrapa Instrumentation, São Carlos, SP, Brazil.
[2]Science and Technology Institute of Brazil University, Brazil University, São Paulo, SP, Brazil.
[3]PPGQ, Department of Chemistry, Center for Exact Sciences and Technology, Federal University of São Carlos (UFSCar), São Carlos, SP, Brazil.
adrianapavinatto@universidadebrasil.edu.br

Classificação: desenvolvimento de sensores e biossensores nanoestruturados.

Resumo
O presente trabalho teve como principal objetivo o desenvolvimento de uma plataforma sensorial baseada em nanofibras poliméricas eletrofiadas para uso como biossensor eletroquímico através da imobilização da enzima Lacase. Esta enzima catalisa o processo de oxidação do hormônio sintético 17α-Etinilestradiol (EE2) que é analito alvo, resultando num sinal elétrico mensurável. As nanofibras eletrofiadas foram formadas pelos polímeros poli(vinil pirrolidona) (PVP) e quitosana (Qui) com óxido de grafeno reduzido (GOr) e caracterizadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). A enzima Lacase foi imobilizada na plataforma através de *cross-linking* promovido por glutaraldeído e caracterizada por medidas de impedância eletroquímica e voltametria cíclica. Resultados preliminares mostram que a nova plataforma sensorial desenvolvida é promissora na detecção de EE2.
Palavras-chave: Óxido de grafeno reduzido; Nanofibras eletrofiadas; PVP; Quitosana; Biossensor.

ELECTROSPUN NANOFIBERS OF PVP/CHITOSAN/ REDUCED GRAPHENE OXIDE FOR APLICATION IN BIOSENSORS

Abstract
The present work aims the development of a sensorial platform based on polymeric nanofibers for use as electrochemical biosensor through the immobilization of the enzyme Lacase. This enzyme catalyzes the oxidation process of the synthetic hormone 17α-Ethinylestradiol (EE2), which is the target analyte, resulting in a measurable electrical signal. The nanofibers was formed by Poly(vinylpyrrolidone) (PVP) and chitosan (Chi) polymers with reduced graphene oxide (GOr) and characterized by scanning electron microscopy (SEM) and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). The enzyme Lacase was immobilized on the platform through cross-linking promoted by glutaraldehyde and characterized by electrochemical impedance and cyclic voltammetry measurements. Preliminary results showed that the novel sensory platform developed is promising for EE2 detection.
Keywords: Reduced graphene oxide, Electrospun nanofibers; PVP; Chitosan; Biosensor.

1 INTRODUÇÃO

A escolha e emprego de materiais que constituem a plataforma sensorial no desenvolvimento dos biossensores, tem papel fundamental no seu desempenho. Sendo assim, diferentes nanomateriais vêm sendo amplamente estudados e empregados no desenvolvimento de sensores eletroquímicos, inclusive para detecção de contaminantes químicos (GOVINDHAN et al., 2014). Tais materiais são utilizados em conjunto e atuam em sinergia para eficácia da imobilização do componente biológico e detecção de analitos alvo, atuando como meio eletroativo. Além dos nanomateriais, as técnicas de nanoestruturação empregadas para formação da plataforma sensorial, como a de eletrofiação (BHARDWAJ et al., 2010) por exemplo, configuram importante ferramenta na formação da

plataformas adequadas. Nanofibras poliméricas tem sido utilizadas na modificação de eletrodos por apresentarem excelentes propriedades para o sensoriamento. Dentre as propriedades, destacam-se a elevada razão área superficial/volume das fibras, e possibilidade de funcionalização química com materiais eletroativos e condutores, etc. incluindo a adsorção de nanopartículas e/ou funcionalização com componente biológico (enzimas, antígenos, etc.) podendo assim atuar como biossensores. Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de plataforma sensorial para biossensor utilizando a técnica de eletrofiação na produção da plataforma híbrida de PVP/quitosana/óxido de grafeno para posterior imobilização da enzima Lacase e detecção do hormônio sintético EE2.

2 MATERIAL E MÉTODOS

As nanofibras eletrofiadas foram produzidas a partir de soluções poliméricas de PVP em etanol (4% m/v), quitosana em solução aquosa de ácido acético e GOr. A obtenção das nanofibras e os parâmetros de eletrofiação foram otimizados e o diâmetro médio calculado através das imagens de MEV e software Image J (100 fibras aleatórias). Espectros FTIR foram adquiridos espectrômetro da Bruker Vertex 70 na região espectral entre 4000 e 800 cm^{-1} e um total de 64 varreduras por espectro foram coletados com resolução de 2 cm^{-1}. A enzima Lacase foi imobilizada sobre as nanofibras através de gotejamento de 20 µL de solução da enzima em tampão fosfato salino pH 7,0 (0,1M). A imobilização da enzima foi confirmada através de caracterização eletroquímica.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Imagens de MEV das nanofibras produzidas, apresentadas na Figura 1, mostraram a formação de nanofibras homogêneas, sem porosidade e defeitos superficiais, com diâmetro médio de 210 ± 20 nm para PVP e 179 ± 25 nm para PVP/Qui. Espectros FTIR obtidos apresentaram as principais bandas de deformação dos materiais impregnados confirmando a presença de ambos na composição da mesma. Medidas de impedância eletroquímica, mostradas na Figura 2, comprovam a imobilização da enzima. O diâmetro do semicírculo formado nos gráficos de Nyquist é igual a resistência à transferência de carga (Rct) do eletrodo. Assim, o menor valor Rct foi para a placa de FTO (27Ω) por se tratar de vidro recoberto com um óxido condutor. Para os eletrodos modificados, observou-se que a adição das nanofibras de PVP ao eletrodo aumentou a resistência para 331Ω devido à sua natureza isolante. Já a adição de quitosana resultou em uma diminuição da resistência devido ao seu caráter de polieletrólito (107Ω) e redução ainda maior foi observada ao se adicionar as placas de GOr (40Ω), devido a maior facilidade no transporte de elétrons. Após a imobilização da Lacase observou-se o aumento na resistência (74Ω) à transferência de carga devido à presença da enzima, que dificulta o processo de difusão de íons entre a interface do eletrodo e a solução. Tal aumento evidencia a imobilização da enzima na plataforma do biossensor. Medidas de voltametria cíclica também confirmaram a presença da enzima nas nanofibras sendo possível observar o par redox do centro metálico de cobre da enzima.

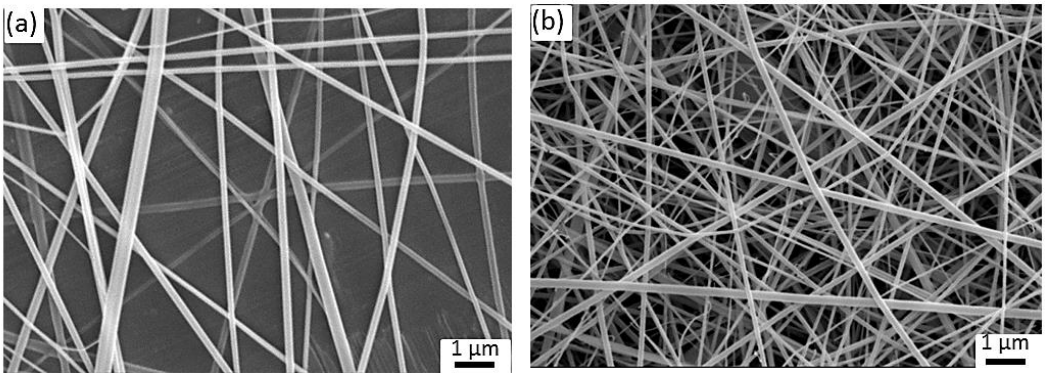


Figura 1. Imagens de MEV para as nanofibras de PVP (a) e PVP/Qui (b).

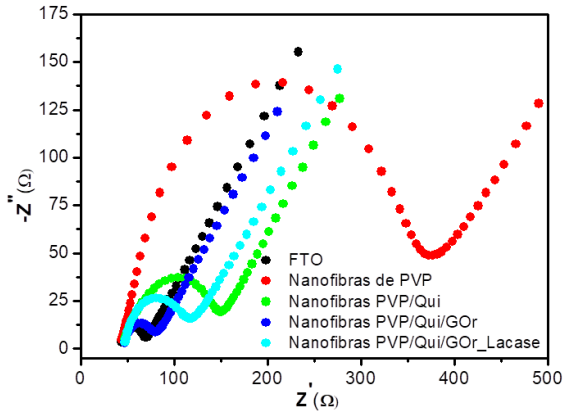


Figura 2. Gráficos de Nyquist para o eletrodo de FTO, nanofibras de PVP, PVP/Qui, PVP/Qui/GOr e de PVP/Qui/GOr_Lacase em solução de 5 mmol L^{-1} $[Fe(CN6)]^{3-/4-}$ contendo 0,1 mol L^{-1} de KCl.

4 CONCLUSÃO

Neste trabalho foi desenvolvida nova plataforma (bio)sensorial através da formação de nanofibras eletrofiadas dos polímeros PVP/Quitosana e óxido de grafeno reduzido (GOr). As fibras mostraram-se homogêneas e adequadas para imobilização da enzima Lacase através de ligações cruzadas entre os grupamentos hidroxila do grafeno e os amina da enzima. Medidas de voltametria cíclica e impedância eletroquímica confirmaram a imobilização da enzima na plataforma sensorial, a qual será empregada para detecção do hormônio EE2.

AGRADECIMENTOS

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

REFERÊNCIAS

GOVINDHAN, M.; ADHIKARI, B.; CHEN, A. Nanomaterials-Based Electrochemical Detection of Chemical Contaminants. RSC Advances, v. 4, p. 63741–63760, 2014.

BHARDWAJ, N.; KUNDU, S. C. Electrospinning: A Fascinating Fiber Fabrication Technique. Biotechnology Advances, v. 28, n. 3, p. 325–347, 2010.

DESENVOLVIMENTO DE BIOSENSOR PARA A DETECÇÃO DE UREIA BASEADO EM NANOFIBRAS CONDUTORAS MODIFICADAS COM NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINCO

Fernanda L. Migliorini [1], Rafaela C. Sanfelice [2], Luiza A. Mercante [1,3], Rafaela S. André [1], Luiz H. C. Mattoso [1,3] and Daniel. S. Correa [1]

[1] LNNA, Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP, Brasil.
[2]Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), Uberaba, MG, Brasil.
[3] PPGCEM, DEMA, Universidade Ferderal de São Carlos (UFSCar), São Carlos, SP, Brasil
fernandamigliorini@yahoo.com.br

Classificação: Desenvolvimento de sensores e biossensores nanoestruturados.

Resumo
O uso de técnicas analíticas confiáveis para avaliação de produtos lácteos, são de extrema importância para garantir a segurança alimentar contra contaminantes. Entre as possíveis substâncias empregadas como adulterantes no leite, a ureia causa profunda preocupação devido aos seus efeitos deletérios para a saúde do consumidor. No presente estudo, desenvolveu-se uma nova plataforma para detecção eletroquímica de ureia. A plataforma desenvolvida baseia-se em eletrodos convencionais de óxido de estanho dopado com flúor (FTO), modificados com nanofibras poliméricas de poliamida 6 (PA6) e polipirol (PPy) modificadas com nanopartículas de óxido de zinco (ZnO). Além disso, foi realizada a imobilização da enzima urease na superfície da nanofibra modificada a partir das excelentes característica das nanopartículas de ZnO para imobilização eletrostática da enzima. Os resultados impedimétricos do biossensor (FTO/ PA6/ PPy /ZnO /Urease) mostraram uma alta sensibilidade para a detecção de ureia visando aplicações em biossensores de produtos lácteos.

Palavras-chave: Detecção eletroquímica; Ureia; Biossensor; Nanofibras poliméricas; Nanopartículas ZnO.

DEVELOPMENT OF BIOSENSOR FOR DETECTION OF UREIA BASED ON MODIFIED CONDUCTIVE NANOFIBRAS WITH ZINC OXIDE

Abstract
The use of reliable analytical techniques for the evaluation of dairy products is extremely important to ensure food safety against contaminants. Among the possible substances used as adulterants in milk, urea causes deep concern due to its deleterious effects on consumer health. In the present study, a new platform for electrochemical detection of urea was developed. The developed platform is based on conventional fluorine doped tin oxide (FTO) electrodes modified with polymeric electrospun nanofibers of polyamide 6 (PA6) and polypyrrole (PPy), which were further modified with zinc oxide nanoparticles (ZnO). In addition, immobilization of the urease enzyme on the surface of the modified nanofiber was performed due to the excellent characteristics of the ZnO nanoparticles for electrostatic immobilization of the enzyme. The impedimetric results (FTO/ PA6/ PPy/ ZnO/ Urease) showed a high sensitivity for the detection of urea, evidencing the great potential of the platform developed for applications in dairy biosensors.
Keywords: Electrochemical detection; Urea; Biosensor; Polymeric nanofibers; ZnO nanoparticles.

1 INTRODUÇÃO

A indústria de produtos lácteos busca o desenvolvimento de análises precisas e em tempo real com o objetivo de garantir a segurança alimentar dos consumidores finais. Desta forma, as técnicas para monitorar a quantidade de ureia é uma ferramenta altamente valiosa para o controle do teor de ureia em amostras de leite. A ureia pode ser utilizada para adulterar o leite e assim modificar o teor de

proteína existente na amostra (KUMAR et al., 2015). No entanto, além de um certo limite, a ureia tem efeitos deletérios sobre a saúde humana, pois pode causar indigestão, insuficiência renal, obstrução do trato urinário, sangramento gastrointestinal e câncer (NIKOLELI et al., 2010). Portanto, o desenvolvimento de uma plataforma de detecção de ureia com maior precisão é de extrema importância.

Neste trabalho, desenvolvemos uma plataforma impedimétrica para a detecção de ureia usando nanofibras eletrofiadas de poliamida 6 (PA6) e polipirrol (PPy) modificadas com nanopartículas de óxido de zinco (ZnO). A Urease foi imobilizada na superfície das nanofibras modificadas com nanopartículas de ZnO usando processo eletrostático.

2 MATERIAL E MÉTODOS

A solução de PA6/ PPy (7:1 w/w) foi preparada em ácido fórmico numa concentração otimizada de 10% (w/v) e submetida a agitação vigorosa durante 4h à temperatura ambiente. As nanofibras eletrofiadas foram coletadas diretamente nos substratos de FTO obtendo os eletrodos (FTO/ PA6/ PPy). As nanopartículas de ZnO (1 mg mL^{-1}) foram dispersas em água destilada contendo 0.5% (w/w) de Liosperse 511 no ultra-som a 20 kHz durante 5 min. Em seguida, as nanofibras eletrofiadas foram imersas na dispersão de ZnO durante 24 h e após enxaguadas com água destilada e secas em temperatura ambiente. A imobilização da enzima urease no eletrodo FTO/ PA6/ PPy/ ZnO foi realizada através da adsorção eletrostática entre a urease e o ZnO. A enzima foi imobilizada por imersão do eletrodo FTO/ PA6/ PPy/ ZnO numa solução de tampão fosfato (PBS) contendo 1 mg mL^{-1} de urease por 4 h. O biossensor FTO/ PA6/ PPy/ ZnO/ Urease foi então lavado em solução de tampão fosfato e mantido em PBS (pH 7,4) refrigerado a 4 °C até à sua utilização. Para avaliar a morfologia das nanofibras, utilizou-se Microscopia Eletrônica de varredura (MEV (JEOL 6510)). A adsorção das nanopartículas de ZnO na superfície das nanofibras foi confirmada por espectroscopia de fotoelétrons de raio X (XPS) usando um sistema XPS de ScientaOmicron, ESCA +. Todos os experimentos eletroquímicos foram realizados utilizando um potenciostato (PGSTAT30 Autolab (Metrohm)) controlado pelo software nova. As medidas eletroquímicas foram realizadas por voltametria cíclica (VC) e espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resultado de caracterização morfológica através de imagens de MEV confirmou um revestimento eficiente da superfície das nanofibras com as nanopartículas de ZnO. A estabilidade da camada modificadora foi testada através de várias etapas de lavagem (com água destilada), confirmando a forte adsorção de ZnO na superfície das nanofibras. Na Figura 1 está sendo apresentado uma imagem das nanofibras PA6/ PPy modificadas com as nanopartículas de ZnO.

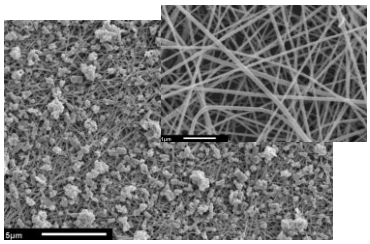


Figura 1. Imagem MEV do FTO/ PA6/ PPy/ ZnO após 24h de imersão na dispersão de ZnO. A inserção mostra as nanofibras antes da modificação.

Através dos resultados de XPS foi possível confirmar a adsorção das nanopartículas de ZnO na superfície das nanofibras devido a presença dos picos atribuídos ás bandas Zn 2p, O 1s e C 1s. Através das caracterizações eletroquímicas foi possível verificar a influência das nanopartículas de ZnO e da enzima nas propriedades condutoras das nanofibras. Os resultados de VC e EIS mostram a melhor condutividade do eletrodo depois da modificação com as nanopartículas de ZnO (associado às

propriedades condutoras das nanopartículas de ZnO) e a diminuição da condutividade do eletrodo após a imobilização da enzima (associado às características isolantes da urease).

A resposta impedimétrica do biossensor desenvolvido foi analisada em função da concentração de ureia. A Figura 2 (a) mostra o aumento da resistência à transferência de carga (Rct) em função do aumento da concentração de ureia e a Figura 2 (b é a curva de calibração obtida para os valores de Rct em função do log da concentração de ureia).

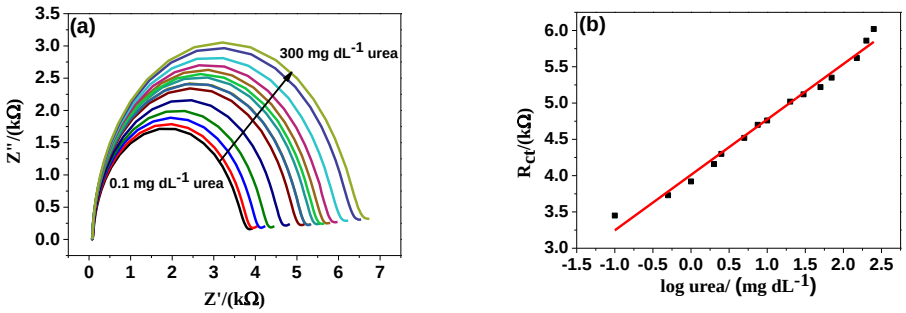


Figura 2. (a) Espectros de impedância em função do aumento de concentração da ureia . b) Curva de calibração obtida para os valores de Rct em função do log da concentração de ureia.

O limite de detecção (LD) para o biossensor desenvolvido foi determinado como 0.011 mg dL^{-1}. O sensor eletroquímico desenvolvido apresenta desempenho semelhante ou melhor em comparação com outros sensores baseados em ZnO relatados na literatura. A seletividade do biossensor para a determinação de ureia também foi estudada. Observou-se uma interferência máxima de 8% na presença de ácido úrico, revelando a alta seletividades da plataforma desenvolvida para a detecção de ureia. Além disso, também foi realizado análises em amostras reais (dois tipos de leite bovino) indicando que o biossensor desenvolvido pode ser utilizado para a determinação precisa de ureia em análises de amostras reais.

4 CONCLUSÃO

Um novo biossensor de ureia impedimétrico foi desenvolvido com base em eletrodos convencionais de óxido de estanho dopado com flúor (FTO) modificados com nanofibras poliméricas eletrofiadas de poliamida 6 (PA6) e polipirrol (PPy), modificadas com nanopartículas de óxido de zinco (ZnO) e urease. O biossensor apresentou alta sensibilidade, um baixo limite de detecção de 0.011 mg dL^{-1} para uma faixa linear de detecção de 0.1 a 250 mg dL^{-1}. Além disso, a plataforma de detecção revelou-se ser útil para detectar ureia em amostras reais de leite e mostrou um bom desempenho para a detecção seletiva da mesma na presença de compostos interferentes. Assim, a plataforma eletroquímica desenvolvida pode ser considerada uma alternativa potencial para monitorar produtos lácteos (como o leite) em relação à contaminação por ureia.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi apoiado financeiramente pela FAPESP (Números de Subsídios: 2014 / 16789-5; 2016 / 23793-4), CNPq, CAPES (PNPD20131474 - 33001014004P9), MCTI-SisNano e Rede Agronano (EMBRAPA) do Brasil..

REFERÊNCIAS

KUMAR, P.; RAMULU, L. P.; KUMAR, N. Non-enzymatic detection of urea using unmodified gold nanoparticles based aptasensor. Biosensors and Bioelectronics, v. 72, p. 340–347, 2015.

NIKOLELI, G.P.; NIKOLELIS, D.P.; METHENITIS, C. Construction of a simple optical sensor based on air stable lipid film with incorporated urease for the rapid detection of urea in milk. Analytica Chimica Acta, v. 675, p. 58–63, 2010.

FIBRAS ELETROFIADAS FUNCIONALIZADAS COM HÍBRIDO NANOCELULOSE/NANOPARTÍCULAS DE PRATA PARA APLICAÇÃO EM SENSORES E BIOSENSORES

Kelcilene B. R. Teodoro[1,2*], Flávio M. Shimizu[1], Daniel S. Corrêa[1,2]

[1]Laboratório Nacional de Nanotecnologia ao Agronegócio, Embrapa Instrumentação, São Carlos-SP
[2]Programa de Pós Graduação em Química - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos – SP
**kbr.teodoro@gmail.com*

Classificação: Desenvolvimento de sensores e biosensores nanoestruturados

Resumo
O uso de materiais nanoestruturados com elevada área superficial aplicados à funcionalização de eletrodos possibilita o desenvolvimento de dispositivos capazes de alcançar menores limites de detecção. Neste trabalho, eletrodos de FTO (*fluorine doped tin oxide*) foram recobertos com fibras poliméricas eletrofiadas e com híbrido de nanocelulose/nanopartículas de prata. A análise morfológica dos filmes resultantes foi realizada aplicando-se as técnicas de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia de energia dispersiva (EDS). A habilidade de transferência de carga deste material foi analisada por meio da técnica de espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS), cujos valores de impedância foram próximos ao do eletrodo não-funcionalizado, o que se deve à homogênea distribuição das nanoestruturas sobre o filme.

Palavras-chave: Fibras eletrofiadas; Nanocelulose; Nanopartículas de prata; Funcionalização de eletrodos; Sensores.

ELECTROSPUN FIBERS FUNCTIONALIZED WITH NANOCELLULOSE/SILVER NANOPARTICLES HYBRID FOR USE IN SENSORS AND BIOSENSORS

Abstract
The use of nanostructured materials with high surface area applied to electrode functionalization allows the development of devices able to reach lower detection limits. In this work, FTO electrodes (fluorine doped tin oxide) were covered with electrospun fibers and nanocellulose/silver nanoparticles hybrid. The morphological analyses of the resultant films was performed by scanning electron microscopy (SEM) and energy dispersive spectroscopy (EDS). The capacity of charge transference was analyzed using the technique of electrochemical impedance spectroscopy (EIS), which values of electrochemical impedance were similar to bare electrode owing to the homogeneous distribution of nanostructures onto the film.
Keywords: Electrospun fibers; Nanocellulose; Silver nanoparticles; Electrodes functionalization; Sensors.

1 INTRODUÇÃO

Eletrofiação é um método de processamento aplicado a polímeros que permite a obtenção de fibras poliméricas de diferentes morfologias, dimensões e funcionalidades, a partir do controle das condições experimentais. As fibras poliméricas resultantes desta técnica vêm sendo aplicadas na funcionalização de sensores devido à sua habilidade em formar mantas porosas e com elevada área superficial. Esta característica morfológica pode resultar em aumento da sensibilidade de plataformas sensoriais (Costa et al. 2012).

Visando a aplicação destas fibras em sensores elétricos ou eletroquímicos, e considerando-se que os polímeros convencionalmente utilizados comportam-se como isolantes elétricos, torna-se conveniente a associação destas à materiais condutores como polieletrólitos, nanotubos de cabono, grafeno e nanopartículas metálicas (Oliveira et al. 2012; Mercante et al. 2015). Nanocelulose tem sido

utilizadas como *template* para deposição de nanopartículas metálicas, visando garantir a dispersão das mesmas, explorando assim a elevada razão de aspecto proveniente de sua morfologia acicular e dimensões nanométricas. A interação electrostática das AgNPs com as hidroxilas da celulose possibilita a constituição de um híbrido de pequenas dimensões, elevado grau de hidratação e intumescimento, biocompatibilidade *in vivo* e *in vitro*, propriedades condutoras, ópticas e também antimicrobianas (Dong et al. 2013; Shi et al. 2013). Sendo assim, neste trabalho, nanopartículas de prata (AgNPs) presentes em um material hibrido a base de nanocelulose/AgNPs foram aplicadas com o objetivo de fornecer condutividade ao filme. As AgNPs encontram-se dispersas ao longo de estruturas nanocelulósicas.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Obtenção de nanocelulose (Nc)

A extração de nanocelulose (Nc) ocorreu via tratamento químico-mecânico com hidrólise ácida de fibras de algodão comercial. A metodologia e condições reacionais aplicadas foram baseadas nos estudos de (Teixeira et al. 2010). A hidrólise de 5 g de fibra de algodão ocorreu empregando-se 100 mL de solução de ácido sulfúrico (H_2SO_4 60% (v/v)), à temperatura constante de 45°C durante 75 minutos, sob agitação constante e vigorosa (aproximadamente 3500 rpm). A suspensão aquosa resultante foi submetida à centrifugação (10.000 rpm durante 10 minutos) e diálise em água corrente até atingir-se pH neutro. Em seguida, a suspensão foi ultrassonificada (BRANSON 450) durante 5 minutos, congelada e liofilizada.

2.2. Síntese do híbrido NcAg

Em um sistema de refluxo, foram adicionados 200 mL de solução aquosa de $AgNO_3$ ($1{,}0\times 10^{-3}$ $mol.L^{-1}$), preparada com água deionizada. Ao iniciar o refluxo, foram adicionados 2 mL de solução aquosa de borohidreto de sódio (9.0×10^{-5} $mol.L^{-1}$) e 20 mL da suspensão aquosa de nanocelulose (5,0 $g.mL^{-1}$). O sistema reacional permaneceu em refluxo e em constante agitação durante 40 minutos.

2.3. Obtenção das mantas de fibras eletrofiadas

O procedimento de produção das fibras poliméricas deu-se a partir de uma solução polimérica contendo 10% (m/v) de poliamida 6 (PA6). O processo de eletrofiação desta solução poliméricas foi realizado em um aparato experimental típico de eletrofiação, constituído de uma seringa de vidro, bomba, fonte de alta tensão, capilar e o coletor aterrado. Os parâmetros experimentais aplicados foram: taxa de injeção de solução de 10 μL/min, campo elétrico de 20 mV, distância de trabalho entre a ponta do capilar e o coletor de 5,0 cm.

Para produção da amostra (PA6:NcAg), promoveu-se a modificação superficial das fibras eletrofiadas por meio da imersão em suspensões aquosas contendo o híbrido NcAg. Para produção deste nanocompósito, as fibras de PA6 foram depositadas sobre eletrodos de FTO, durante 30 minutos, e imerso na solução de Nc/AgNP durante 60 minutos.

2.4. Análise morfológica por microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (MEV-FEG)

As morfologias das mantas foram caracterizadas pela técnica de microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (MEV-FEG). A análise foi realizada em um microscópio JEOL-JSM 6701F FEG-SEM. Amostras das mantas foram acopladas ao porta-amostras do equipamento com auxílio de fita de carbono, e recobertas com uma fina camada de carbono.

2.5. Determinação da presença das nanopartículas de prata por espectroscopia de energia dispersiva (EDS)

As mantas foram caracterizados por EDS com o intuito de verificar a presença e dispersão das AgNps. As análises foram realizadas com um microanalisador de raios-X da ThermoScientific (modelo 6742A) acoplado ao microscópio SEM da Jeol.

2.6. Caracterização eletroquímica dos eletrodos modificados com as mantas eletrofiadas

As medidas foram realizadas em célula eletroquímica convencional, constituída de três eletrodos (eletrodos de referência Ag/AgCl (RE), contra-eletrodo de platina (CE), e eletrodo de trabalho (WE) modificado om material em análise) e conectadas a um potenciostato AutoLab PGSTAT 204 (Metrohm). Foi utilizada uma solução de 5 mM de $[Fe(CN)6]^{3-/4-}$ em 0.1 M de tampão fosfato. Aplicou-se uma voltagem de 10 mV, em faixa de frequencia de 0,1 Hz a 10 kHz, em OCP (open circuit potencial).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Análise morfológica dos filmes

A morfologia do híbrido NcAg, bem como dos filmes produzidos com fibras de PA6 e o híbrido Nc/AgNps foram analisadas segundo técnicas de MEV-FEG e EDS. Na figura 1 encontram-se imagens obtidas por meio destas técnicas. Na figura 1a observa-se o híbrido NcAg, no qual as nanopartículas de prata encontram-se distribuídas ao longo das estruturas aciculares de Nc. A morfologia da manta de PA6 puro é mostrada na figura 1b, por meio da qual verifica-se a não homogeneidade da manta em relação à dimensão dos diâmetros das fibras.

Observou-se, para a manta de PA6:NcAg, que as fibras de PA6 encontram-se recobertas por pelo híbrido NcAg. Isto se deve à característica da celulose em aglomerar-se e formar filmes (Habibi et al. 2009). É possível localizar as AgNp presentes na superfície deste filme (Figura 1c), e o mapeamento obtido por EDS (Figura 1d) para este elemento mostra que estas encontram-se dispersas de forma homogênea sobre toda a superfície da manta, mantendo a dispersão verificada no próprio híbrido NcAg (Figura 1a) e a ausência de aglomerados.

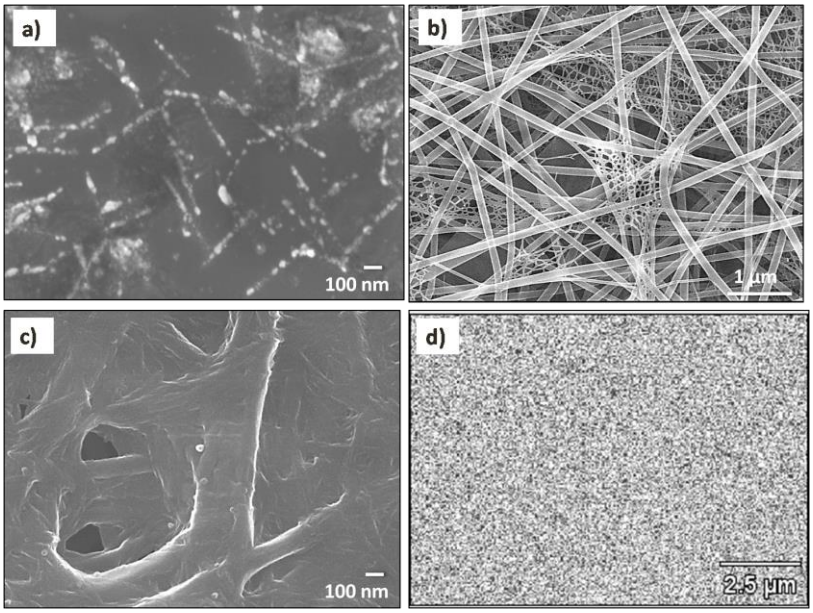


Figura 1. Micrografias do híbrido Nc:Ag (a), das mantas de PA6 puro (b) e da manta de PA6:NcAg (c), aplicando-se aumentos de 50.000x, 20.000x e 80.000x, respectivamente. Em (d) encontra-se o mapeamento para prata obtido por EDS das regiões representativas da manta de PA6:NcAg.

As mantas PA6 e PA6:NcAg foram caracterizadas eletroquimicamente por meio da técnica de espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS). Por meio das figuras apresentadas a seguir (diagrama de Nyquist), é possível visualizar os espectros de impedância resultantes das análises. Os maiores valores de impedância foram relacionados à manta de PA6, uma vez que esta é constituída apenas de material isolante. Verifica-se que a presença do híbrido NcAg sobre a manta de PA6 resultou na diminuição da impedância eletroquímica da manta de fibras eletrofiadas, auxiliando na transferência de carga. Isto se deve à homogênea distribuição das AgNps presentes no híbrido NcAg e ausência de aglomerados, o que possibilita explorar-se a elevada área superficial oferecida pelas nanopartículas metálicas.

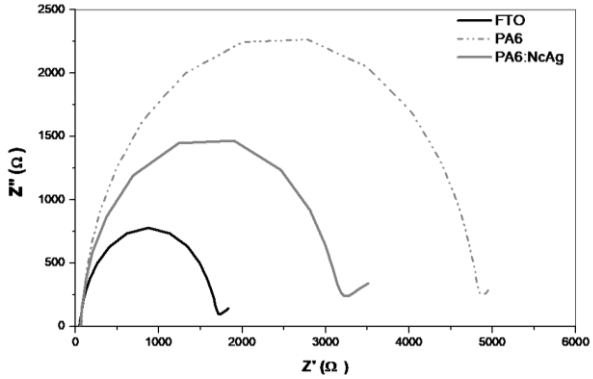


Figura 2. Espectros de impedância eletroquímica (digrama de Nyquist) das mantas de PA6 e PA6:NcAg.

4 CONCLUSÃO

Foram obtidas mantas resultantes da combinação de fibras eletrofiadas de poliamida 6, nanocristais de celulose e nanopartículas de prata, por meio da técnica de eletrofiação. Verificou-se, para estas mantas, homogênea dispersão das nanopartículas de prata em função do recobrimento das fibras pelo híbrido NcAg. A incorporação do híbrido resultou em menores valores de impedância, indicando que este material auxilia na transferência de carga entre as fibras poliméricas,sugerindo que este material pode auxiliar na composição de sensores e biosensores eletroquímicos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq, FAPESP (2014/21184-5), Capes e EMBRAPA pelo apoio financeiro e infraestrutura fornecida para realização desta pesquisa.

REFERÊNCIAS

COSTA, R. G. F. et al. Eletrofiação de Polímeros em Solução. Parte II: Aplicações e Perspectivas. Polímeros, v.22, n. 2, p.178–185, 2012.

DONG, H. et al. Hydrogel, aerogel and film of cellulose nanofibrils functionalized with silver nanoparticles. Carbohydrate Polymers, v. 95, n.2, p. 760–767, 2013.

MERCANTE, L. A. et al. Electrospun Polyamide 6 / Poly(allylamine hydrochloride) Nanofibers Functionalized with Carbon Nanotubes for Electrochemical Detection of Dopamine. ACS Applied Matererials Interfaces, v. 7, n. 8, p. 4784-4790, 2015.

OLIVEIRA, J. E. et al. 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, 171-172: 249, 2012.

SHI, Z.; PHILLIPS, G. O.; YANG, G. Nanocellulose electroconductive composites. Nanoscale v.5, n.8, p. 3194–3201, 2013.

INVESTIGAÇÃO DA INFLUÊNCIA DE DIFERENTES COMPOSTOS ORGÂNICOS VOLÁTEIS NA CONFORMAÇÃO E SUPRESSÃO DA LUMINESCÊNCIA DE NANOFIBRAS DE PMMA_PFO

Idelma A. A. Terra[1], Rafaela C. Sanfelice[2], Gustavo T. Valente[3], Daniel S. Correa[1]

[1]Nanotechnology National Laboratory for Agriculture (LNNA), Embrapa Instrumentação, São Carlos
[2]Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG
[3]São Carlos Institute of Physics, University of São Paulo, São Carlos, SP, Brazil.
iaterra@yahoo.com.br

Classificação: Desenvolvimento de sensores e biossensores nanoestruturados

Resumo
Materiais poliméricos com propriedades elétricas e/ou ópticas superiores são fundamentais para o desenvolvimento de sensores ópticos de gás, onde os polímeros conjugados desempenham um papel importante devido à sua conjugação eletrônica. Neste trabalho, relatamos uma via simples para desenvolver nanofibras eletrofiadas altamente fluorescentes de Polimetilmetacrilato (PMMA) contendo baixas concentrações de Polifluoreno (PFO). As nanofibras PMMA_PFO foram caracterizadas por análise de microscopia eletrônica, termogravimétrica (TGA) e espectroscopia óptica. As alterações das propriedades de luminescência foram avaliadas expondo as nanofibras de PMMA_PFO à compostos orgânicos voláteis distintos (COVs). As alterações nas propriedades da luminescência foram analisadas em termos de mudanças conformacionais de fase amorfa para fase β do PFO quando as nanofibras foram expostas aos COVs. Os resultados sugerem que as nanofibras produzidas são altamente potenciais para aplicações de sensores de gás óptico baseadas em e supressão da luminescência.

Palavras-chave: Polímero conjugado; Eletrofiação; Compostos Orgânicos Voláteis; Sensor de gás óptico; Supressão da luminescência.

INVESTIGATION OF THE INFLUENCE OF DIFFERENT VOLATILE ORGANIC COMPOUNDS IN THE CONFORMATION AND LUMINESCENCE QUENCHING OF PMMA_PFO NANOFIBERS

Abstract
Polymeric materials with superior electrical and/or optical properties are highly demanded for designing optical gas sensors, where conjugated polymers play an important role due to their π-electron conjugation. In this work, we report on a simple route to develop highly fluorescent electrospun nanofibers of poly (methyl methacrylate) (PMMA) containing low contents of Polyfluorene (PFO). The PMMA_PFO nanofibers were characterized by SEM, Thermogravimetric analysis (TGA), and optical spectroscopic optical. The variation in luminescence properties were evaluated by exposing the PMMA_PFO nanofibers to distinct volatile organic compounds (VOCs). The changes in luminescence properties, of PMMA_PFO nanofibers were analyzed in terms of conformational changes from glassy-phase to *β*-phase of PFO when the nanofibers were exposed to the VOCs. The results suggest the PMMA_PFO electrospun nanofibers are potential materials for optical gas sensor applications based on luminescence quenching.

Keywords: Conjugated polymer; Electrospinning; Volatile organic compounds; Optical gas sensor; Luminescence quenching.

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, estudos extensivos baseados em polímeros conjugados possibilitaram o desenvolvimento de diversas áreas, incluindo sensores (Correa et. al. 2014). Entre os diferentes polímeros conjugados, o polifluoreno (PFO) vem se destacando devido à sua morfologia e propriedades foto-físicas, tais como fotoluminescência, mobilidade portadora de carga, e alto ganho óptico (Palacios et. al. 2010) (Perevedentsev et. al. 2016). Outra característica importante do PFO está relacionada à sua conformação, uma vez que apresentam duas fases distintas: uma fase α amorfa (vítrea) e uma fase β (Ariu et. al. 2003). A estrutura conformacional depende das condições de síntese e também do ambiente que envolve, incluindo a temperatura e o tipo de Compostos Orgânicos Voláteis (COVs) que o polímero está exposto, tornando-se um potencial candidato como plataforma ativa para aplicações de sensores.

Neste contexto, desenvolvemos nanofibras de Polimetilmetacrilato (PMMA) e Polifluoreno (PFO) eletrofiadas, e investigamos como uma plataforma sensorial para COVs. A eletrofiação (Mercante et. al. 2017) é uma técnica de formação de nanofibras de baixo custo que permite obter estruturas morfologia flexível, leve e com grande relação superfície/volume. O PMMA foi utilizado como matriz devido à sua elevada janela de transmissão espectral e resistência mecânica. A influência de distintos COVs sobre a conformação e as propriedades fotoluminescentes das nanofibras PMMA_PFO foi investigada. As características morfológicas e espectroscópicas das nanofibras foram investigadas por várias técnicas físico-químicas: SEM, TGA e espectroscopia de fluorescência. A plataforma nanoestruturada demonstrou potencial para aplicação como sensor óptico para a detecção de COVs com base na supressão da fluorescência.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Materiais

Polimetilmetacrilato (PMMA), MM=350.000 $g.mol^{-1}$ comprado da Sigma-Aldrich. Agente dispersante, Brometo de hexadeciltrimetilamónio (CTAB) comprado pela Miracema-Nuodex. Poli (9,9 dioctilfluoreno) (ADS 129BE) (PFO) comprada da American Dye Source. Compostos químicos etanol, tolueno, tetrahidrofurano, acetona, diclorometano e clorofórmio foram comprados da Synth.

2.2 Métodos

2.2.1 Síntese das nanofibras de PMMA_PFO

Inicialmente, 5% de PMMA (m/v em relação ao solvente), 10% de CTAB (m/v em relação ao PMMA) a e x% (x = 0.0, 0.1, 0.25, 0.5, 1.0 e 2.0%) de PFO (m/v em relação ao PMMA), foram dissolvidos em clorofórmio (solvente) e agitados por 12hs à temperatura ambiente. Em seguida, as nanofibras de PMMA_x%PFO (concentração de PMMA foi mantida fixa) foram obtidas usando um aparato para eletrofiação (não comercial).

2.2.2 Caracterização morfológica e físico química

A morfologia das nanofibras de PMMA e PMMA_0.5%PFO foram analisadas usando o microscópio eletrônico de varredura (SEM, JEOL 6510) operando em 10 kV, e os diâmetros das mesmas foram estimados usando o programa de análise de imagem (Image J, National Institutes of Health, USA).

2.2.3 Caracterização espectroscópica

Os espectros de fotoluminescência (FL) foram obtidos usando um fluorimetro Shimadzu RF-5301 PC no intervalo espectral de 400-550 nm com excitação em 390 nm. Todas as medidas espectroscópicas foram realizadas à temperatura ambiente. A detecção dos COVs foi analisada pelas respostas de FL das nanofibras de PMMA/PFO após exposição aos COVs.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização físico-química e morfológica

As Figuras 1 (a) e 1 (b) mostram as imagens de MEV das nanofibras de PMMA e PMMA_0,5%PFO, respectivamente, e a distribuição de tamanho dos diâmetros das nanofibras. O diâmetro médio da nanofibra de PMMA e PMMA_0,5% PFO foram 540 ± 85 e 650 ± 152 nm, respectivamente, indicando que não há diferenças significativas entre os diâmetros das nanofibras. As superfícies de ambas nanofibras têm uma forma uniforme, que indica uma síntese bem controlada das mesmas.

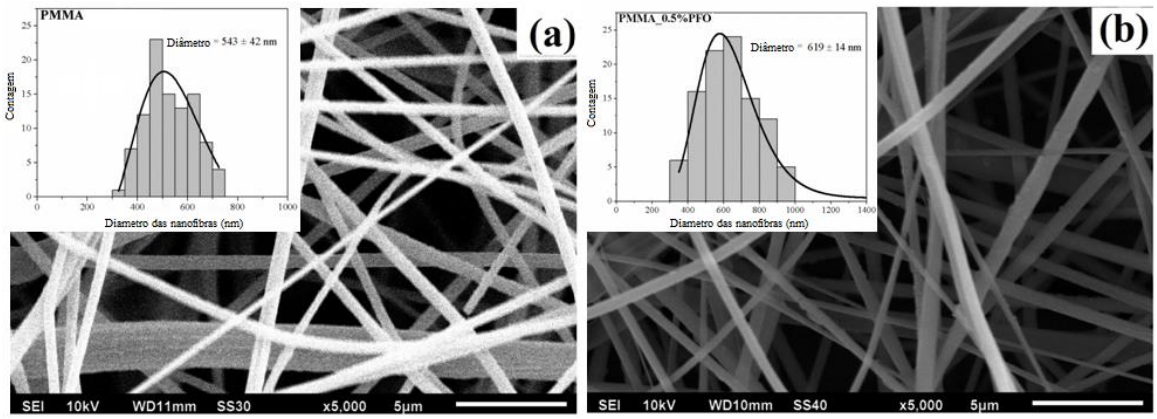


Figura 1. Imagens de MEV e histogramas das nanofibras (a) PMMA e (b) PMMA_0.5%PFO.

3.2 Caracterização espectroscópica e detecção dos COVs

Na figura 2 apresentamos o espectro normalizado da luminescência das nanofibras de PMMA_0.25%PFO obtido sob excitação em 390 nm (linha na cor preta). A forma da linha e a posição dos comprimentos de onda são similares a resultados reportados na literatura(Kuo, Lin, and Chen 2007). É possível observar as bandas de emissão centradas em 420, 440 e 465 nm. A banda de emissão em torno de 420 nm é atribuída à transição $S_1 \rightarrow S_0$ (0-0 transição) do PFO em estado amorfo, enquanto a emissão da banda em 440 nm é referente à transição 0-0 na morfologia da fase β do PFO(Ariu et al. 2003). Estes resultados revelam as características de fotoluminescência de ambas as fases na nanofibra PFO PMMA_0.25%, acima 440 nm a emissão é resultado da sobreposição espectral da transição eletrônica com o acoplamento de fônons.

Uma das formas de induzir a formação de fase β no PFO é modificar as condições do ambiente. Com este intuito, as nanofibras PMMA_PFO foram expostas a diferentes compostos orgânicos voláteis (COVs) considerados solventes bons ou pobres. A Figura 2 mostra o espectro de FL normalizado das nanofibras PMMA_0,25% PFO, na faixa de 400-550 nm usando sob excitação em 390 nm, após a exposição das nanofibras, durante 5 minutos em: etanol, tolueno, tetrahidrofurano, acetona, diclorometano ou clorofórmio. É possível observar a diminuição da luminescência da banda centrada em 420 nm (conformação amorfa) após a exposição aos COVs, enquanto se observa um aumento da intensidade das bandas em 440, 465 e 495 nm, o que surege a formação da fase β nas nanofibras. Especificamente, a intensidade da faixa de emissão a 420 nm é reduzida em um fator de 7% e 41% quando exposto à etanol e tolueno, respectivamente, os quais são considerados solventes pobres. No entanto, quando as nanofibras foram expostas a bons solventes, incluindo tetrahidrofurano, acetona, diclorometano ou clorofórmio, as intensidades de FL em 420 nm foram drasticamente reduzidas em 72%, 87%, 100% e 100%, respectivamente, indicando que uma grande parte das macromoléculas PFO das nanofibras mudou a morfologia para conformação de fase β.

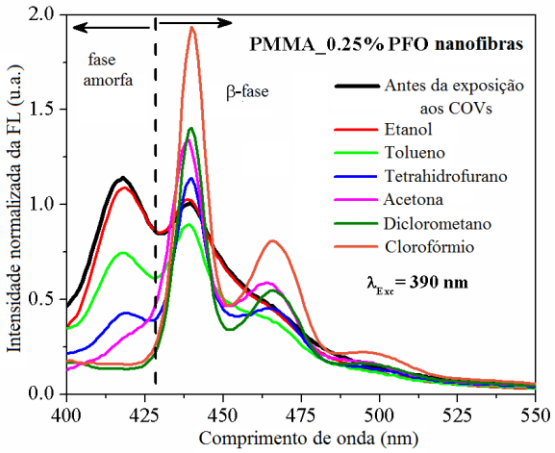


Figura 2. Espectro de intensidade de luminescência normalizado das nanofibras PMMA_0.25%PFO sob excitação em λ_{Exc}=390nm após exposição (5 minutos) a diferentes vapores de COVs.

4 CONCLUSÃO

Neste trabalho estudamos a propriedades físico-química das nanofibras de PMMA_PFO obtidas pelo método de eletrofiação, as quais mostraram morfologia uniforme e intensa luminescência. Os resultados indicaram que as propriedades fluorescentes das nanofibras de PMMA_PFO são fortemente influenciadas pela presença de diferentes COVs, devido à mudança de fase amorfa para fase β do PFO. As fases amorfas e β coexistente nas nanofibras eletrofiadas, entretanto, a exposição das mesmas a um gás especifico tende a aumentar a presença de fase β nas nanofibras. Os resultados sugerem que as nanofibras de PMMA_PFO tem um forte potencial para serem usadas como material de detecção em sensores ópticos de gás baseado em supressão da luminescência.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o suporte financeiro da FAPESP, CNPq, CAPES, MCTI-SisNano and Embrapa - Rede Agronano from Brazil.

REFERÊNCIAS

ARIU, M et. al. Exciton Migration in β-Phase Poly 9,9-Dioctylfluorene. Physical Review B v.67, n.19, p. 195333-1-195333-11 ,2003.

CORREA, D S et. al. Nanostructured conjugated polymers in chemical sensors: Synthesis, Properties and Applications. Journal of Nanoscience and Nanotechnology, v.14, n.9, p. 6509–6527, 2014.

GOLDEN, R J et. al. Chloroform mode of action: Implications for cancer risk assessment. Regulatory Toxicology and Pharmacoloogy, v.26, p.142–155, 1997.

Kuo, C.; Chia-Hung, L.; Wen-Chang, C. Morphology and photophysical properties of light-emitting electrospun nanofibers prepared from Poly(fluorene) derivative/PMMA Blends. Macromolecules, v. 40, n.19, p. 6959–6966, 2007.

Mercante, L. A. et al. 2017. Electrospinning-based (Bio)sensors for food and agricultural applications: A review. Trends in Analytical Chemistry, v.91, p. 91–103, 2017.

Palacios, R. et. al. Phase morphology in ordered Poly(9,9-Dioctylfluorene) nanopillars by template wetting method. Nanoscale Research Letters, v. 6 n. 1, p. 1–5, 2010.

Perevedentsev, A. et. al. Spectroscopic properties of Poly (9,9-Dioctylfluorene) thin films possessing varied fractions of β-Phase chain segments: Enhanced Photoluminescence Efficiency via Conformation Structuring. Journal of Polymer Science, Part B: Polymer Physics, v.54 n. 16, p. 1995–2006, 2016.

NANOFIBRAS CERÂMICAS DE ÓXIDO DE ZINCO PARA APLICAÇÕES EM SENSORES QUÍMICOS

Jéssica Claro Pereira[1,2]; Rafaela da Silveira Andre [2]; Luiza Amim Mercante [2]; Daniel Souza Correa[2]

[1] Departamento de Engenharia de Materiais e Manufatura, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP. jeeh.cp@gmail.com.
[2] Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio (LNNA) - Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP.

Classificação: Desenvolvimento de sensores e biossensores nanoestruturados.

Resumo
Dentre os diversos tipos de nanomateriais que vem sendo estudados atualmente, nanofibras cerâmicas tem se destacado por apresentarem excelentes propriedades como transdutores em sensores químicos. Neste contexto, neste trabalho foram obtidas e caracterizadas nanofibras cerâmicas de ZnO a partir de uma solução contendo 14% (m/v) de Poli(vinilpirrolidona) (PVP) e 50% (m/m) de nitrato de zinco ($Zn(NO_3)_2.6H_2O$) em dimetilformamida (DMF). Os parâmetros de eletrofiação foram otimizados de modo a produzir fibras uniformes. As fibras foram coletadas em papel alumínio e em seguida submetidas ao tratamento térmico (calcinação) em mufla a 500°C por 4 horas, para remoção da matriz polimérica e cristalização da fase inorgânica. A análise morfológica das nanofibras foi realizada por microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (MEV-FEG) e de transmissão (MET) e a análise de difração de raios X confirmou a obtenção das fases de interesse.
Palavras-chave: Eletrofiação; Nanofibras cerâmicas; Óxido de zinco; Sensores.

CERAMIC NANOFIBER BASED ON ZINC OXIDE FOR CHEMICAL SENSOR APPLICATIONS

Abstract
Nanomaterials, including ceramic nanofibers, have been extensively studied due to their outstanding properties for sensing applications. In this context, ceramic nanofibers based on ZnO were prepared using a dimethylformamide (DMF) solution containing 14 % (w/v) Poly(vinylpirrolidone) (PVP) and 50% (w/w) zinc nitrate (Zn(NO3)2.6H2O). The electrospinning parameters were optimized in order t produce uniform nanofibers. The nanofibers were collected on aluminum foil and then submitted a heat treatment (calcination) at 500 °C for 4 hours, in order to remove the polymeric matrix and crystalize the inorganic phase. The obtained nanofibers were characterized by scanning electron microscopy (SEM) and transmission electron microspopy (TEM). The long range order was characterized by X ray diffraction to confirm the zinc oxide formation.
Keywords: Electrospinning; Ceramic Nanofibers; Zinc oxide; Sensor.

1 INTRODUÇÃO

Durante os últimos anos tem se observado um crescente aumento nas pesquisas visando o desenvolvimento de materiais em escala nanométrica. Devido ao seu tamanho reduzido, estes materiais apresentam comportamentos e/ou propriedades diferentes daquelas que geralmente são observadas em escala macroscópica, o que os torna atraentes para aplicações em diversas áreas, como em eletrônica, energia e biomedicina (HANDFORD et al., 2014; NATIONAL CANCER INSTITUTE, 2017).

Dentre as técnicas empregadas para obtenção desses materiais nanoestruturados, a técnica de eletrofiação se destaca pela sua facilidade de processamento, possibilidade de funcionalização química, custo relativamente baixo, além da possibilidade de obtenção de uma grande variedade de materiais. Nanofibras inorgânicas também podem ser fabricadas por meio do processo de eletrofiação seguido de tratamento térmico. Soluções contendo diferentes polímeros e precursores inorgânicos

podem ser eletrofiadas, gerando nanofibras compósitas, e posteriormente calcinadas, a fim de remover o polímero, fase orgânica, e obter fibras cristalinas inorgânicas, em particular, de óxidos metálicos (DAI et al., 2011). Durante a calcinação, os componentes orgânicos se decompõem, enquanto que os precursores inorgânicos se oxidam e cristalizam, formando nanopartículas de óxidos metálicos, alinhadas ao longo da estrutura da nanofibra (BRATAKOU et al., 2016).

Atualmente há uma grande preocupação com o aumento de contaminações por emissões industriais e urbanas, devido a fatores tais como o uso indiscriminado de insumos agrícolas e as condições inadequadas de saneamento e higiene. Deste modo, é importante criar e aprimorar métodos analíticos e eletroanalíticos para o controle de qualidade de águas, solos e alimentos (JANATA, 2009; JOÃO DE MENDONÇA NAIME et al., 2014; DAIKUZONO et al., 2015; CAO et al., 2016; CORREA et al., 2016). Neste contexto, plataformas sensoriais a base de nanofibras cerâmicas tem-se mostrado como uma estratégia promissora para o desenvolvimento de sensores químicos de alta performance.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Para obtenção das nanofibras de ZnO, foram preparadas soluções contendo 14% (m/v) de Poli(vinilpirrolidona) e 50% (m/m) de Nitrato de Zinco em dimetilformamida (DMF). A solução foi submetida à agitação magnética a temperatura ambiente até completa homogeneização da mesma. Os parâmetros da eletrofiação foram otimizados visando à obtenção de mantas espessas e homogêneas. As fibras compósitas resultantes foram coletadas na folha de papel alumínio, e levadas imediatamente do sistema de eletrofiação para tratamento térmico em mufla a 500°C.

Para caracterização das nanofibras, foi utilizada a técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura com Fonte de Emissão de Campo (MEV-FEG, JEOL-JSM 6701F). O diâmetro médio das fibras foi analisado pelo software analisador de imagens Image J (National Institutes of Health, USA). A imagem de MET das nanofibras de ZnO foi obtida utilizando-se o microscópio eletrônico FEI TECNAI G² F20 do Laboratório de Caracterização Estrutural (LCE) do Departamento de Engenharia de Materiais (DEMa) - Universidade Federal de São Carlos (UFSCar). As medidas de difração de raios X (DRX) foram realizadas no difratômetro XRD-6000 da Shimadzu, e radiação de Cu Kα (λ = 1,5418 A). As medidas foram feitas com uma tensão de 30 kV e uma corrente de 30 mA.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nanofibras de PVP contendo nitrato de zinco foram analisadas pela técnica de MEV-FEG e observou-se nanofibras com morfologia homogênea e superfície lisa e contínua. A manta polimérica contendo os íons de Zn^{2+} foi submetida ao tratamento térmico em mufla para remoção da fase orgânica e cristalização do óxido de zinco (ZnO). As imagens de MEV-FEG da amostra calcinada comprovaram que a estrutura de nanofibras é mantida após a calcinação, e diâmetro médio das nanofibras foi estimado em 52±16 nm, copmo pode ser observado na Figura 1. A amostra calcinada também foi analisada por microscopia eletrônica de transmissão onde pode-se observar que as nanofibras são constituídas por nanopartículas esféricas coalescentes de óxido de zinco.

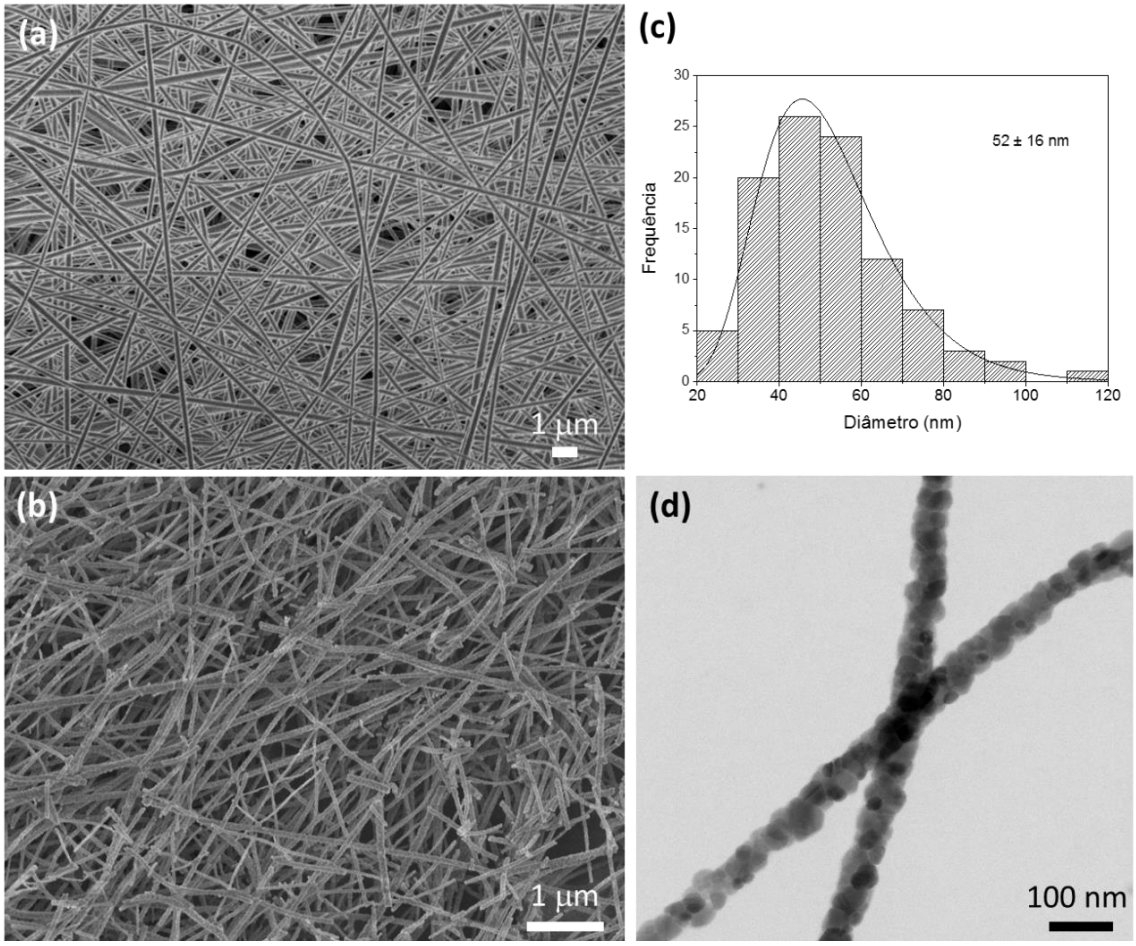


Figura 1. Imagens de MEV das nanofibras (a) antes e (b) após o tratamento térmico. (c) Histrograma de distribuição do diâmetro das nanofibras de ZnO. (d) Imagem de MET das nanofibras de ZnO.

A Figura 2 apresenta o difratograma de raios X das nanofibras de ZnO. O tratamento térmico resultou na formação da fase hexagonal com estrutura do tipo wurtzita (grupo espacial P63mc) de acordo com a ficha cristalográfica PDF 36-1451. Todos os planos cristalinos foram atribuídos a fase wurtzita não havendo formação de fase secundária.

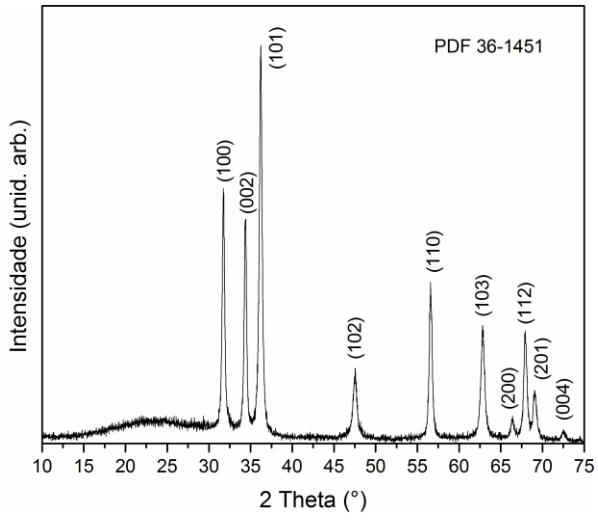


Figura 2. Difratograma de raios X das nanofibras de ZnO.

4 CONCLUSÃO

As nanofibras de ZnO foram obtidas com sucesso pela técnica de eletrofiação, após otimização das concentrações dos precursores, que interferiram diretamente na morfologia e qualidade das fibras. Após a calcinação das fibras compósitas, observou-se a permanência da estrutura de fibras nas amostras, bem como as fases referentes aos óxidos esperados na estrutura final. Como etapas futuras, pretende-se caracterizar as propriedades óticas e elétricas das nanofibras cerâmicas, com a finalidade de avaliar a performance destes materiais como sensores químicos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio financeiro da FAPESP, CAPES, do CNPq (107914/2017-4 e 4022987/2013-4), SISNANO/MCTI, FINEP e a rede de pesquisa Embrapa AgroNano.

REFERÊNCIAS

BRATAKOU, S. et al. Electrochemical Biosensor for Naphthalene Acetic Acid in Fruits and Vegetables Based on Lipid Films with Incorporated Auxin-binding Protein Receptor Using Graphene Electrodes. **Electroanalysis**, v. 28, n. 9, p. 2171–2177, 2016.

CAO, X. et al. Electrochemical determination of sulfide in fruits using alizarin-reduced graphene oxide nanosheets modified electrode. **Food Chemistry**, v. 194, p. 1224–1229, 2016.

CORREA, D. S. et al. Chemical Sensors based on hybrid nanomaterials for food analysis. In: **Nanobiosensors**. [s.l: s.n.]p. 205–244.

DAI, Y. et al. Ceramic nanofibers fabricated by electrospinning and their applications in catalysis, environmental science, and energy technology. **Polymers for Advanced Technologies**, v. 22, n. 3, p. 326–338, 2011.

DAIKUZONO, C. M. et al. Microfluidic electronic tongue. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 207, n. PB, p. 1129–1135, 2015.

HANDFORD, C. E. et al. Implications of nanotechnology for the agri-food industry: Opportunities, benefits and risks. **Trends in Food Science and Technology**, v. 40, n. 2, p. 226–241, 2014.

JANATA, J. **Principles of Chemical Sensor**. 2. ed. [s.l.] Springer Science, 2009.

MATTOSO, L. H. C. et al. **Conceitos e aplicações da instrumentação para o avanço da agricultura**. [s.l: s.n.]

NATIONAL CANCER INSTITUTE. **Understanding Nanotechnology: the size of things.** Disponível em: <http://nano.cancer.gov/learn/understanding/>. Acesso em: 1 set. 2017.

LÍNGUA ELETRÔNICA BASEADA EM NANOFIBRAS ELETROFIADAS DE POLIMERO CONDUTOR PARA DETECÇÃO DE TETRACICLINA

Vanessa P. Scagion [1,2],Luiza A. Mercante[1], Karine Y. Sakamoto[1,2], Juliano E. Oliveira[3], Fernando J. Fonseca [4], Luiz H. C. Mattoso[1,2], Marcos D. Ferreira [1,2]e Daniel S. Correa [1,2]

[1] Laboratório Nacional de Nanotecnologia no Agronegócio (LNNA), Embrapa Instrumentaçao, 13560-970, São Carlos, SP, Brasil.
[2] Centro de Ciências Exatas e Tecnologia, Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), 13565-905, São Carlos, SP, Brasil.
[3] Engenharia de Materiais, Departamento de Engenharia, Universidade Federal de Lavras (UFLA), 37200-000, Lavras, MG, Brasil.
[4] Escola Politécnica, Universidade de São Paulo (EPUSP), 05508-010, São Paulo, SP, Brasil.
**vanessa.scagion@gmail.com*

- **Classificação:** Desenvolvimento de sensores e biossensores nanoestruturados

.

Resumo

O desenvolvimento de novos e portáteis sensores químicos voltados para a indústria de alimentos é de primordial importância para questões de segurança alimentar, e a escolha cuidadosa do material de detecção é essencial para a obtenção de sensores de alto desempenho, como as empregadas em línguas eletrônicas (e-tongue). Neste trabalho, desenvolveu-se uma e-tongue impedimétrica baseada em microeletrodos interdigitados de ouro (IDEs) modificados com nanofibras eletrofiadas de poliamida 6 / polianilina (PA6 / PANI) usadas para detectar resíduos de tetraciclina (TC) em amostras de leite integral e desnatado. Ao analisar os dados de resistência elétrica coletados pela e-tongue, e tratados pela Análise de Componentes Principais (PCA), a língua eletrônica foi capaz de identificar a presença de resíduos TC (de 1 a 300 ppb) em amostras de leite com diferentes teores de gordura, sem pré-tratamento prévio.

Palavras-chave: Leite; Língua eletrônica; Nanofibras; Eletrofiação.

AN ELECTRONIC TONGUE BASED ON CONDUCTING ELECTROSPUN NANOFIBERS FOR DETECTING TETRACYCLINE IN MILK SAMPLES

Abstract

The development of novel and portable chemical sensors aimed at the food industry is of prime importance for food safety issues, and the careful choice of the sensing material is essential for achieving high performance sensor arrays, such as those employed in nanostructured electronic tongues (e-tongues). In the current work, an impedimetric e-tongue based on gold interdigitated microelectrodes (IDEs) modified with polyamide 6/polyaniline (PA6/PANI) electrospun nanofibers was developed and used to detect tetracycline (TC) residue in fat and skimmed milk samples. By analyzing the electrical resistance data collected by the e-tongue, which were treated by Principal Component Analysis (PCA), the e-tongue was able to identify the presence of TC residues (from 1 to 300 ppb) in fat and skimmed milk samples without any prior pre-treatment.

Keywords: Milk; Electronic tongue; Naofibers; Electrospinning.

Publicações relacionadas: Scagion, V. P; Mercante, L. A.; Sakamoto, K. Y.; Oliveira, J. E.; Fonseca, F. J.; Mattoso, L. H. C.; Ferreira, M. D. e Correa, D. S. An electronic tongue based on conducting electrospun nanofibers for detecting tetracycline in milk samples. (DOI: 10.1039/C6RA21326J (Paper) *RSC Adv.*, 2016, **6**, 103740-103746).

1 INTRODUÇÃO

Os problemas de segurança alimentar, especialmente aqueles causados pela contaminação dos alimentos, receberam grande atenção dos pesquisadores, decorrente de seus efeitos deletérios à saúde humana. Por exemplo, a presença de resíduos de antibióticos nos gêneros alimentícios gera um risco potencial ao consumidor e, pode causar várias consequências como a resistência bacteriana e casos alérgicos. As tetraciclinas (TC), uma classe de antibiótico eficaz e de amplo espectro de abrangência, são constantemente empregadas na medicina e decorrente disso, ela vem se tornando uma das maiores preocupações em relação aos contaminantes de alimentos.[1] Atualmente, uma variedade de métodos analíticos foram desenvolvidos para a detecção de resíduos de TC em leite, como cromatografia líquida de alto desempenho.[2] No entanto, alguns desses métodos são demorados e exigem aparelhos caros. Portanto, o desenvolvimento de métodos simples, de baixo custo, sensíveis e rápidos para detectar resíduos de TC em leite é um requisito importante para o monitoramento de segurança alimentícia.

A língua eletrônica (e-tongue) vem sendo utilizada para avaliar a qualidade de uma variedade de alimentos,[5] sendo composta por uma matriz de sensores não específicos ou de baixa seletividade (unidades sensoriais) que exibem alta sensibilidade cruzada. Na última década, materiais e metodologias inovadoras foram propostas para essa tarefa, dentre elas destacamos a modificação das superfícies eletrodos com nanofibras[2]. A notável área de superficial e a grande porosidade tornam as nanofibras eletrofiadas altamente atraentes para o design sensores ultra-sensíveis. Em particular, nanofibras baseadas em polímeros condutores são candidatos potenciais para aplicações em dispositivos de sensoriamento,[3] devido à sua alta condutividade elétrica. Dentre os polímeros condutores destaca-se a polianilina (PANI) devido à sua facilidade de síntese, estabilidade ambiental e reação redox intrínseca. Já como polímero de suporte, destaca-se a poliamida 6 (PA6), a qual forma nanofibras uniformes e de fácil obtenção. Sendo assim o uso de ambos os polímeros é uma excelente estratégia para a obtenção de nanofibras por meio da eletrofiação. Assim, neste trabalho, relatamos o desenvolvimento de um conjunto de microeletrodos interdigitados (IDEs) de ouro com nanofibras de PA6 e PA6 / PANI, que foi usado como um sistema de e-tongue impedimétrica. Os dados experimentais foram tratados por meio da técnica estatística de analise de componentes principais (PCA), o que permitiu a identificação de resíduos de TC leites UHT com diferentes teores de gordura.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Tetraciclina 98% (TC), polianilina (PAni) (base de esmeralda, M=20 000 $g.mol^{-1}$), Poliamida 6 (PA6, M=20 000 $g.mol^{-1}$) e 1,1,1,3,3,3-hexa-uoro-2-propanol (HFIP) foram adquiridos da Sigma-Aldrich. Os microeletrodos interdigitados de ouro (IDEs) foram fabricados por fotolitografia convencional na Escola Politécnica da Universidade de São Paulo (EPUSP).

As soluções de PA6 e PA6 / PANI foram preparadas por dissolução dos polímeros em HFIP sob agitação durante 5 h, à temperatura ambiente. A solução de PA6 foi preparada em concentrações de 5% (m/v em relação ao solvente), enquanto as soluções de PA6 / PANI foram preparadas usando 5% de PA6 (m/v em relação ao solvente) e concentrações distintas de PANI: 0,25, 0,5, 1, 2,5 e 5% (m/m em relação a PA6), produzindo as amostras denominadas PA6 / PANI. As nanofibras foram obtidas por meio da técnica de eletrofiação usando uma taxa de alimentação de 0,01 $mL.h^{-1}$, tensão elétrica de 16 kV, à uma distância de trabalho de 5 cm. As nanofibras foram depositadas aleatoriamente na superfície dos IDEs à uma velocidade rotativa de 300 rpm, com um tempo de coleta otimizado de 45s.

Leites UHT com diferentes teores de gordura (desnatados e gordurosos) foram comprados de um fornecedor local. As amostras de leite foram preparadas diluindo 25 mL de cada amostra de leite em 100 mL de água destilada. A contaminação das amostras de leite foi realizado misturando quantidades adequadas de TC nas amostras de leite, atingindo concentrações mássicas de 1, 5, 25, 50, 100, 200 e 300 ppb.

A língua eletrônica foi composto por sete unidades de sensoriais: um IDE sem nenhuma modificação, um IDE com nanofibras de PA6 e o restante dos IDEs com nanofibras dde PA6 / PANI 0,25%, PA6 /PANI 0,5%, PA6 / PANI 1,0%, PA6 / PANI 2,5%, PA6 / PANI 5,0%, respectivamente. Para medição das amostras de leite não contaminadas e contaminadas, os eletrodos ficaram submersos

nas respectivas soluções por 10 minutos, para garantir a estabilização deste no meio e após esse tempo iniciou-se a aquisição de dados.

A avaliação das amostras de leite com diferentes teores de gordura (desnatadas e integrais) e contendo distintas concentrações de TC (1-300 ppb) foi realizada por meio de medidas de impedância elétrica e os dados de resistência elétrica foram coletados a 1 kHz.O tratamento desses dados foi realizado por meio da PCA, que converte um grupo de observações de provável variáveis correlacionadas em um grupo de valores de variáveis linearmente não-correlacionadas (chamadas componentes principais).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os gráficos de PCA obtidos a partir das medidas com as unidades sensoriais modificadas para amostras de leite integral são apresentadas na Figura 1 (a). Nessa é possível perceber que houve, claramente, a distinção entre as soluções contaminadas e não contaminadas, mesmo em concentrações muito baixas (1 ppb). Por exemplo, pode-se observar que a amostra de leite puro está localizada no lado positivo do PC1 e no lado negativo do PC2. As amostras contaminadas com TC estão correlacionadas com o PC2, onde as amostras contaminadas com altos níveis de TC estão localizadas no lado negativo do PC2, enquanto as amostras com baixas concentrações de TC são agrupadas no lado positivo do PC2. A variação de dados foi, em grande parte, contabilizada pelo PC1 + PC2 (80%).

A Figura 1 (b) mostra o gráfico PCA obtido para amostras de leite desnatado. Os gráficos para cada amostra de leite indicaram que a amostra não contaminada também pode ser distinguida das amostras contaminadas. Além disso, as amostras podem ser separadas pela concentração, indicando que o conjunto proposto de sensores não se limita a um único tipo de leite. Além disso, o a variação de dados foi contabilizada principalmente pelos dois componentes principais, onde (PC1 + PC2) correspondem a 83% da informação total coletada. (Figura 1).

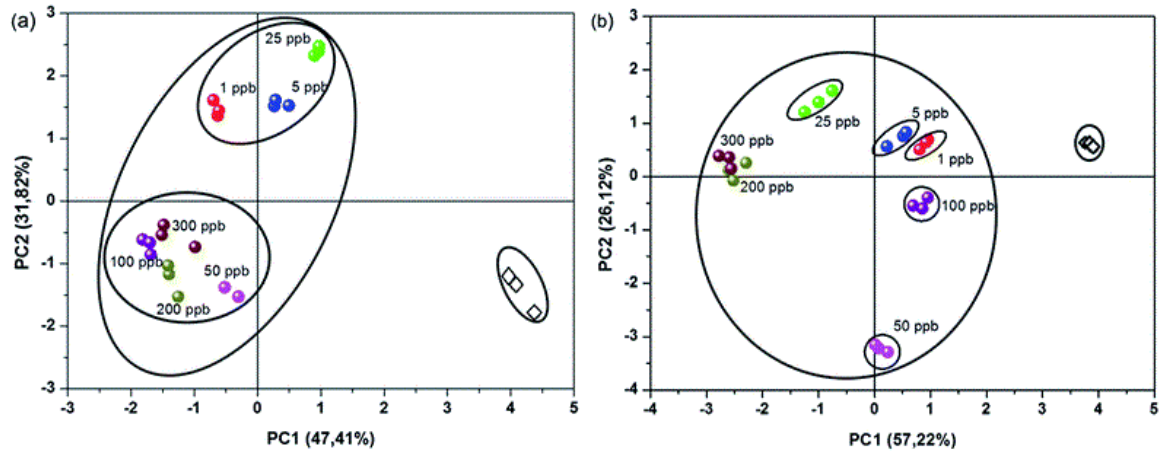


Figura 1. Gráficos de PCA obtidos a partir de valores de resistência elétrica a 1 kHz e 200 mV para amostras de leite: (a) integral e (b) desnatado não contaminado (losango aberto) e contaminado com TC em diferentes concentrações - de 1 a 300 ppb (círculos coloridos). A variável de dados para PC1 e PC2 está incluída na figura. Figura adaptada de Scagion, V. P et al, 2016 – Fig.5).

Portanto, pode-se concluir que a língua eletrônica proposta foi capaz de distinguir amostras de leite com diferentes concentrações de tetraciclina. Esta matriz de sensores mostra uma alta sensibilidade, capaz de detectar concentrações de 1 ppb de tetraciclina, que é comparável aos resultados alcançados por outras técnicas analíticas sofisticadas, como HPLC.[4]

4 CONCLUSÃO

Uma nova plataforma nanoestruturada com base em nanofibras eletrofiadas de PA6 / PANI foi elaborada de maneira satisfatória em IDEs e, utilizados como unidades sensoriais de uma língua

eletrônica impedimétrica, visando análises de amostras de leite. A detecção de tetraciclina em leites integrais e desnatados, em níveis de concentração abaixo do máximo permitido para TC (100 ppb) pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Brasil (ANVISA)[12] foi devidamente demonstrada.

AGRADECIMENTOS

Agradecimento ao apoio financeiro da FAPESP (2014 / 16789-5 e 2012 / 23880-3), CNPq, CAPES, MCTI-SisNano, Rede Agronano e Embrapa do Brasil.

REFERÊNCIAS

ENGTSSON, B. et al. Antimicrobial susceptibility of udder pathogens from cases of acute clinical mastitis in dairy cows. Veterinary Microbiology, v.136, p.142–149, 2009.

OLIVEIRA, J. E. et al. 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, v.171–172, p. 249–255, 2012.

MERCANTE, L. A. et al. Electrospinning-based (bio)sensors for food and agricultural applications: A review. Trac-trends in Analytical Chemistry, v. x, p. 1-13, 2017.

MARTINS-JUNIOR, Helio A. et al. A rapid method to determine antibiotic residues in milk using liquid chromatography coupled to electrospray tandem mass spectrometry. Journal of the Brazilian Chemical Society, v. 18, n. 2, p. 397-405, 2007

ESTUDO SOBRE A QUALIDADE DO LEITE ATRAVÉS DE LÍNGUA ELETRÔNICA DE POLÍMEROS CONDUTORES

João Victor Genaro, Marina Hikari da Silva, Guilherme de Souza Braga, Fernando Josepetti Fonseca

Departamento de Engenharia de Sistemas Eletrônicos,
Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil
e-mail: fjfonseca@usp.br

Classificação: Desenvolvimento de sensores e biossensores nanoestruturados.

Resumo
O trabalho apresenta os resultados obtidos com um arranjo de sensores químicos (Língua Eletrônica) fabricados com polímeros condutores na análise da qualidade de amostras de leite produzidas a partir de leite em pó. Foram estudados os processos de limpeza a fim de verificar a reversibilidade do sinal dos sensores. Os sensores foram submetidos sucessivamente a amostras de leite e de água ultrapura. Os dados obtidos apresentam boa perspectiva para o seu uso em medidas *in loco* sem diluição.
Palavras-chave: Leite; Língua Eletrônica; Polímeros Condutores; Nanotecnologia; Sensores

STUDY OF MILK QUALITY USING AN ELECTRONIC TONGUE MADE OF CONDUCTING POLYMERS

Abstract
This work shows the results obtained with an array of chemical sensors (electronic tongue) made of conducting polymers in the analysis of milk samples quality produced with powder milk. The cleaning process was evaluated for sensors' signal reversibility. The sensors were submitted successively to milk and ultrapure water samples. The collected data shows a good perspective for their use in loco measurements without dilution.
Keywords: Milk; Electronic Tongue; Conducting Polymer; Nanotechnology; Sensors.

1 INTRODUÇÃO

O leite é um alimento rico em proteínas, carboidratos, lipídios, sais minerais e vitaminas, e amplamente usado na alimentação humana. Além de suas propriedades nutricionais o leite apresenta elementos que previnem o câncer como os ácidos linoleico conjugado e butírico, β caroteno, vitaminas A e D, sendo também fonte de fósforo e cálcio (PLANO, 2017).

No Brasil, o consumo *per capita* de produtos lácteos é de 170 litros/ano, sendo 60 litros/habitante/ano o consumo de leite (ZOCCAL, 2017). A produção nacional de leite em 2015, estimada em 34 bilhões de litros, colocava o Brasil em quarto lugar no ranking mundial dos países produtores. No entanto, "o País ainda importa lácteos para abastecer o mercado interno. De janeiro a julho de 2016 importamos 130,2 mil t de produtos, volume que equivale a 1,1 bilhão de litros de leite. Já as exportações ficaram bem abaixo, somando 25,9 mil toneladas. No setor primário são 1,3 milhão de propriedades produzindo leite distribuídas por todo o território. Há registro da atividade leiteira em 99% dos municípios brasileiros, com um rebanho de 23 milhões de vacas ordenhadas. O constante monitoramento da qualidade do leite produzido é essencial, evitando que leite impróprio para consumo humano seja distribuído à população. A ingestão de leite estragado ou adulterado pode causar sérios riscos à saúde dos consumidores, além de gerar prejuízos econômicos.

De modo geral o controle da qualidade do leite é definido por parâmetros de composição química, características físico-químicas e higiene, de modo a prevenir a adulteração do leite cru (MULLER, 2002). Contudo, esse problema tem se tornado cada vez mais frequente no Brasil, visando aumentar a durabilidade do leite (com a adição de formol e soda caustica com pureza e quantidades inadequadas) ou o volume transportado, aumentando o lucro dos envolvidos (adição de água e ureia), por exemplo (GLOBO, 2017).

Atualmente, para se testar a qualidade do leite, além dos testes organolépticos, diferentes parâmetros precisam ser analisados, como densidade, teores de gordura e proteínas, contagem de bactérias, entre outros. Para tanto são necessários diferentes equipamentos de medição (citômetros de fluxo, cromatógrafos, ultrassom, entre outros), além de pessoal especializado para realizar as análises e pré-tratamento das amostras (CIOSEK, 2006). Adicionalmente, esses equipamentos são caros e não são portáteis, impossibilitando o monitoramento da qualidade do leite *in loco*.

Alternativamente, arranjos de sensores químicos não-específicos, também conhecidos como língua eletrônica (HA, 2015), vem sendo usados cada vez mais na análise de bebidas (MARTINA, 2007). Além de não apresentarem as desvantagens mencionadas anteriormente, esses sistemas também possibilitam uma análise mais rápida e *in loco* da qualidade do leite.

Nesse sentido, o Grupo de Eletrônica Molecular (GEM) da Escola Politécnica da Universidade de São Paulo (EPUSP), vem desenvolvendo e aplicando arranjos de sensores químicos não-específicos, baseados em medidas de impedância e fabricados com polímeros condutores, na análise de soja (ZOLDAN, 2014), água (BRAGA 2012), combustíveis (WIZIACK, 2009), leite (TORRES, 2011), entre outros. Contudo, o maior obstáculo encontrado em trabalhos prévios na realização de análises de leite foi a contaminação destes sensores químicos com leite após algumas imersões, inviabilizando seu uso.

Uma Língua Eletrônica é um arranjo de sensores que tenta copiar a ação da língua humana. A Língua Eletrônica utilizada neste trabalho foi desenvolvida pela EMBRAPA em conjunto com a Escola Politécnica e utiliza sensores químicos fabricados com filmes poliméricos nanométricos.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Materiais

Os sensores utilizados foram feitos de polianilina (PANI, Mw 10,000 g mol^{-1}), hidrocloreto de poli(alilamina) (PAH, Mw 56.000 g.mol^{-1}), poli(estireno-sulfonato de sódio) (PSS, Mw 70,000 g mol^{-1}), polipirrol (PPI, Mw 67.089 g.mol^{-1}) e ftalocianina tetrasulfonada de níquel (NiTsPc, Mw 571,22 g mol^{-1}), comprados da Aldrich Co (EUA) e usados como recebidos. Lignosulfonato de sódio desaçucarado (LS, Mw 2000 g.mol^{-1}) foi fornecido pela Melbar Produtos de Lignina SA (Brasil). 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 MΩ 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. Eles foram recobertos com um filme polimérico ultrafino depositados pela técnica de automontagem via atração eletrostática (LVOV; DECHER, 1994) com o auxílio de um sistema de deposição automatizado (Haubenteuer, V Company do Brasil), descrito na literatura (BRAGA, 2008). Para as deposições, soluções aquosas de PANI, PAH, PSS, LS, NiTsPc foram preparadas com a mesma concentração (1 g.L^{-1}) e pH (2,7). Para preparar a solução de PPI, dilui-se o composto comercial em água ultrapura na proporção de 1:10 v/v. Os sensores fabricados são apresentados na Tabela 1. Todas as deposições foram feitas em temperatura ambiente (25ºC).

2.3. Amostras de leite

Amostras de leite integral em pó foram preparadas conforme as instruções do fabricante. Assim várias amostras foram preparadas diluindo-se 2,6 g de leite em pó em 20 mL de água ultrapura.

2.4. Medições

A resposta elétrica (capacitância) de cada sensor foi medida em 1kHz, usando um analisador de impedâncias (INSTEK 819). O sistema estava conectado a um computador através de um

multiplexador de 10 canais. As medições e aquisições de dados foram feitas usando uma plataforma criada no programa LabView.

Foram realizadas 14 medições alternadas, ao longo de 3 dias não consecutíveis, entre água ultrapura e leite, de modo a se verificar a reversibilidade e estabilidade das medidas. Após a análise de cada amostra de leite, os sensores eram limpos em água ultrapura (30 segundos), seguido de limpeza com a solução comercial para remoção de proteinas (7073, HANNA Instruments Brasil, 4 minutos) e novamente em água ultrapura (30 segundos).

Tabela 1. Relação dos 1sensores fabricados. Entre parênteses é apresentado o número de bicamadas depositadas.

Posição	Sensor
S01	Sem filme
S02	PANI/PSS (3 bi)
S03	PANI/PSS (5 bi)
S04	PANI/PSS (7 bi)
S05	PANI/PSS (10 bi)
S06	PANI/LS (10 bi)
S07	PANI/NiTsPc (10 bi)
S08	PANI/PPi (10 bi)
S09	PAH/LS (10 bi)
S10	PAH/Ni-Ts-Pc (10 bi)

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os sensores apresentaram boa reversibilidade e estabilidade de sua resposta elétrica ao longo das medições, como pode ser observado na Figura 1. A boa reversibilidade é indicada pela recuperação do valor de capacitância de referência (água ultrapura) após a medição de cada amostra de leite. Além disso os sensores apresentaram alta estabilidade indicada pela pequena variação na resposta elétrica tanto para as amostras de leite (medições ímpares da Figura 1) como para as amostras de água ultrapura (medições pares da Figura 1).

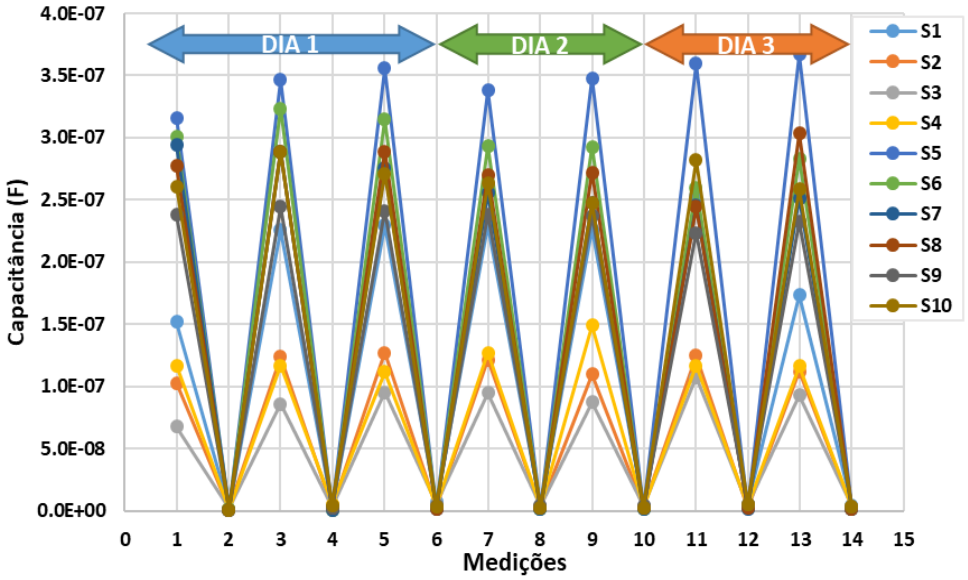


Figura 1. Resposta elétrica dos sensores após medições em amostras de leite integral e água ultrapura. Valores ímpares do eixo X correspondem as amostras de leite e os valores pares as amostras de água ultrapura.

Entretanto, a estabilidade dos sensores é melhor visualizada na Figura 2, em que são apresentados os valores de capacitância médios obtidos com cada sensor para cada tipo de amostra. A pequena dispersão dos dados indicada pelas respectivas barras de erros, corrobora a alta estabilidade da resposta elétrica dos sensores, principalmente para as amostras de leite. Embora a dispersão seja maior entre as amostras de água ultrapura, elas não diferem muito da dispersão obtida quando esses mesmos sensores foram submetidos sucessivamente a amostras de água ultrapura e sal (0,5 mM).

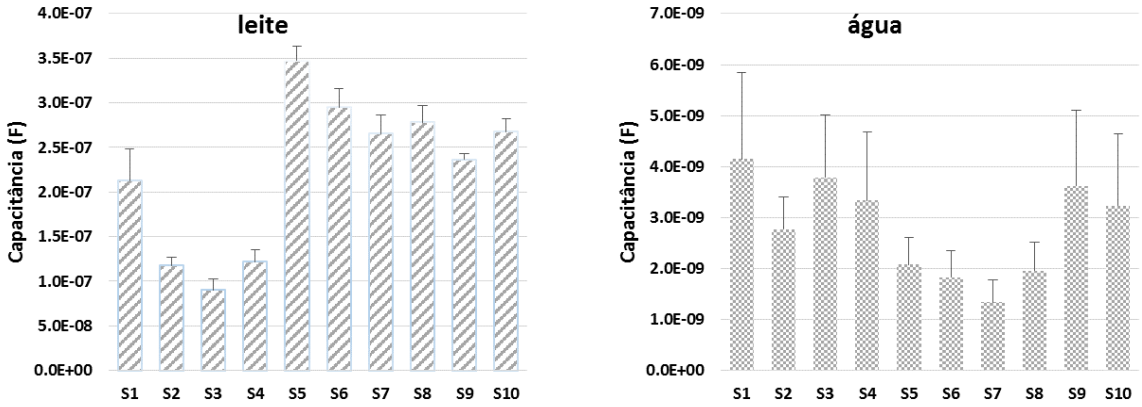


Figura 2. Valores de capacitância médios obtidos para cada sensor para as amostras de leite integral e água ultrapura.

4 CONCLUSÃO

Os resultados parciais obtidos até o momento na análise de leite em pó integral são bastante promissores devido a reversibilidade e estabilidade da resposta elétrica dos sensores. Também indicam a possibilidade de se usar os sensores para medir amostras de leite in loco, já que não é necessário diluir o leite integral antes de medí-lo com a língua eletrônica.

AGRADECIMENTOS

Os autores gostariam de agradecer o suporte financeiro da FAPESP (2013/19421-6), da EMBRAPA e do CNPq (bolsa PIBIC 2016-3192).

REFERÊNCIAS

BRAGA, G.S., 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, p. 555-562, 2008.
BRAGA, G.S., et al.; *Performance of an electronic tongue during monitoring 2- metilisoborneol and geosmin in water samples*; Sensors and Actuators B 171-172 p. 181- 189, 2012.
CIOSEK, P., et al.; *Milk classification by means of an electronic tongue and support vector machine neural network;* Meas. Sci. Technol. 17, p. 1379-1384, 2006.
GLOBO http://g1.globo.com/sc/santa-catarina/noticia/2014/08/4-lotes-de-leite-com-formol-e-soda-caustica-sao-retirados-de-circulacao.html visitado em 20/01/2017.
HA, D. et al. *Recent achievements in electronic tongue and bioelectronics tongue as taste sensors*, Sens and Act B: Chemical 207, p. 1136-1146, 2015.
LVOV, Y.M., DECHER, G.; *Assembly of Multilayer Ordered Films by Alternating Adsorption of Oppositely Charged Macromolecules;* Crystallography Reports,39, 4, p. 628-647, 1994.
MARTINA, V. et al.; *Development of an electronic tongue based on a PEDOT-modified voltammetric sensor*, Anal Bioanal Chem 387, p. 2101–2110, 2007.
MÜLLER, E.E.; Qualidade do leite, células somáticas e prevenção da mastite; In: Simpósio sobre sustentabilidade da pecuária leiteira na Região Sul do Brasil, Paraná, Brasil, 2002, p. 206-217.
PLANO Mais Pecuária do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Assessoria de Gestão Estratégica – Brasília: MAPA/ACS, 2014, 32p.
TORRES, D.S., VERONEZ, D.M., SANTOS, P.C'A.B.; *Detecção de alterações Biológicas no leite causadas por bactérias*, EPUSP, São Paulo, 2011.
WIZIACK, N.K.L., et al; *A sensor array based on mass and capacitance transducers for the detection of adulterated gasolines*; Sensors and Actuators B 140 p. 508-513, 2009.
ZOCCAL, R. Alguns números do leite - Site Balde Branco http://www.baldebranco.com.br/alguns-numeros-do-leite/, visitado em 20/01/2017.
ZOLDAN, et al.; *Electronic tongue system to evaluate flavor of soybean (glycine max (L.) Merril) genotypes*; Braz. Arch. Biol. Technol. 57 (5), p. 797-802, 2014.

INFLUÊNCIA DOS PARÂMETROS DE DEPOSIÇÃO NA MORFOLOGIA DE FILMES BASEADOS EM POLÍMEROS COM IMPRESSÃO MOLECULAR

Isaac Teixeira e Sousa, Guilherme de Souza Braga, Fernando Josepetti Fonseca

Escola Politécnica da Universidade de São Paulo
gbraga@lme.usp.br

Classificação: Desenvolvimento de sensores e biosensores nanoestruturados

Resumo
Neste trabalho propôs-se o desenvolvimento de sensores químicos específicos, baseados em polímeros com impressão molecular (MIP) para detectar isoborneol (ISO) em meio aquoso. Na técnica de impressão molecular, o polímero é polimerizado na presença da molécula alvo. Quando polimerizado, remove-se a molécula alvo, criando cavidades específicas em sua estrutura. Neste trabalho, avaliou-se como os parâmetros de deposição influem nas características morfológicas dos filmes poliméricos nanoestruturados depositados. Os parâmetros avaliados foram o tempo de pré-polimerização, a velocidade de rotação durante a deposição do filme por *spin coating*, a temperatura de polimerização e o método de polimerização (via aquecimento ou radiação UV). Os filmes baseados em MIP para ISO que apresentaram a melhor uniformidade e a ausência de aglomerados foram obtidos utilizando 20 μL de solução pré-polimerizada por 4:30 horas com 300 RPM de agitação à 60º C, depositados por *spin coating* a 1500 RPM, seguido de polimerização por radiação UV ou por aquecimento a 30 ºC.
Palavras-chave: Sensores químicos específicos; Polímeros com impressão molecular; Filmes nanoestruturados; Isoborneol; Ácido metacrílico.

INFLUENCE OF THE DEPOSITION PARAMETERS ON THE MORPHOLOGY OF MOLECULARLY IMPRINTED POLYMER BASED FILMS

Abstract
In this work is proposed the development of specific chemical sensors, based on molecularly imprinted polymers (MIP) to detect isoborneol (ISO) in aqueous mean. At molecularly imprinting technique, the polymer is polymerized in the presence of the target molecule. Once polymerized, the target molecule is removed creating specific cavities within polymer matrix. We have evaluated the influence of the deposition parameters on the morphological characteristics of the deposited nanostructured polymeric films. It has been evaluated the time used during the pre-polymerization, time and rotation speed during spin coating the film, polymerization temperature and method (via heating or UV light). Films based in MIPs for ISO that exhibited the best uniformity and the lowest polymeric agglomeration were deposited by spin coating ((1500 RPM) 20 μL of the pre-polymerized solution (4:30 hours, 300 RPM at 60ª C), followed by UV light polymerization or heat at 30 ºC.
Keywords: Specific chemical sensors; Molecularly imprinted polymer; Nanostructured films; Isoborneol; Methacrylic acid.

Publicações relacionadas: BRAGA, G.S.; LIEBERZEIT, P.A. ; FONSECA, F.J. . Molecularly Imprinted Polymer Based Sensor to Detect Isoborneol in Aqueous Samples. Procedia Engineering, v. 168, p. 448-451, 2016.

1 INTRODUÇÃO

Sensores baseados em polímeros com impressão molecular (MIP) são altamente seletivos e comumentemente chamados de sensores biomiméticos porque seu funcionamento é muito similar ao encontrado em materiais biológicos, como substrato-enzima e anticorpo-antígeno. MIPs apresentam vantagens em relação aos materiais biológicos como maior tempo de vida devido a maior força e

resistência dos polímeros e maior resistência a condições ambientais extremas de temperatura e umidade (HUSSAIN, 2013).

Na síntese dos MIPs, a polimerização ocorre na presença da molécula alvo. Após o endurecimento da matriz polimérica, remove-se o alvo com o solvente apropriado, criando-se cavidades altamente seletivas em sua estrutura (BRAGA et al, 2016). O efeito de re-ligação é baseado em interações reversíveis (e seletivas) entre o MIP e o alvo e pode ser detectado usando medidas de impedância, óticas entre outras.

Neste trabalho buscou-se avaliar como os parâmetros de deposição influem nas características morfológicas dos filmes baseados em MIPs para encontrar uma condição ótima de deposição. Os parâmetros avaliados foram o tempo de pré-polimerização, a velocidade de rotação durante a deposição do filme por *spin coating*, a temperatura de polimerização e o método de polimerização (via aquecimento ou radiação UV

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Solução de MIP e NIP

132 μL ácido metacrílico (MAA – monômero), 400 μL etileno glicol dimetacrilato (EGDMA – agente de ligação cruzada), 400 μL 2,2-azobis-isobutironitrilo (AIBN, iniciador), 400 μL hexano (HEX – solvente) e 40 mg isoborneol (ISO – molécula alvo) foram usados no preparo das soluções de MIP e NIP (BRAGA e BRAGA et al., 2016). Para preparar a solução de MIP, diluí-se o ISO no MAA, com agitação por 4 horas, para a formação do complexo ISO-MAA. Após esse período são adicionados EDGMA, HEX e AIBN a essa solução e deixa-se em agitação (300 RPM, 60ºC) por cerca de 4 horas, para que ocorra a pré-polimerização. Nesse processo, as soluções que eram inicialmente translúcidas se tornam progressivamente opacas, até obter um tom branco-amarelado, o que indica uma pré-polimerização bem sucedida (PHAN et al., 2014). Adicionalmente, essa etapa melhora a adesão do polímero na superfície do substrato (PHAN et al., 2014). A solução de NIP é preparada de modo análogo a de MIP na ausência da molécula alvo.

2.2 Fabricação dos filmes de MIP e NIP

20 μL das soluções pré-polimerizadas são depositados por *spin coating* sobre substratos de vidro ótico (BK7, 12,7 mm^2) e então são polimerizados com aquecimento ou com irradiação de luz UV. Dentre os parâmetros de deposiçao avaliados estão: (i) a velocidade de rotação do *spinner*; (ii) a temperatura de polimerização (30, 40, 50 e 60 ºC); (iii) o tempo de pré-polimerização (3, 3,5, 4, 4,5 e 5 horas); e (iv) o método de polimerização (radiação UV ou aquecimento).

2.3 Análise óticas dos filmes depositados

Os filmes de MIP e NIP depositados foram analisados por espectroscopia de ultravioleta visível (UV-vis, modelo 1650 PC, Shimadzu) e por microscopia ótica (USB Digital Microscope, VKTECH). Com estas técnicas pode-se monitorar a quantidade de material depositado nos substratos de vidro, observar o grau de polimerização e verificar se o filme depositado era contínuo e homogêneo.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Análise da velocidade de rotação da deposição

A variação da velocidade de rotação do *spin coater* possui um efeito na quantidade de material depositado nos substratos de vidro, em que quanto maior a velocidade de rotação, menor a quantidade de MIP ou NIP depositado. Como pode ser visto na Figura 1, á medida que aumenta-se a velocidade de rotação de 500 RPM até 1500 RPM, a quantidade de material depositado diminui, como indicado pela diminuição do valor de absorbância dos respectivos filmes. As imagens de microscopia ótica desses filmes (dados não mostrados), indicaram que nenhum filme era contínuo e todos apresentaram

aglomerados. De todos esses filmes o que apresentou menos aglomerados e uma deposição um pouco mais uniforme foi o de 1500 RPM. Assim fixou-se essa velocidade de rotação para a deposição do restante dos filmes estudados neste trabalho. Uma hipóstese para a má qualidade dos filmes fabricados foi o uso de uma temperatura de polimerização muito elevada (estufa a 60 ºC), que provocaria uma evaporação muito rápida do solvente resultando em aglomerados e "trincas" no filmes.

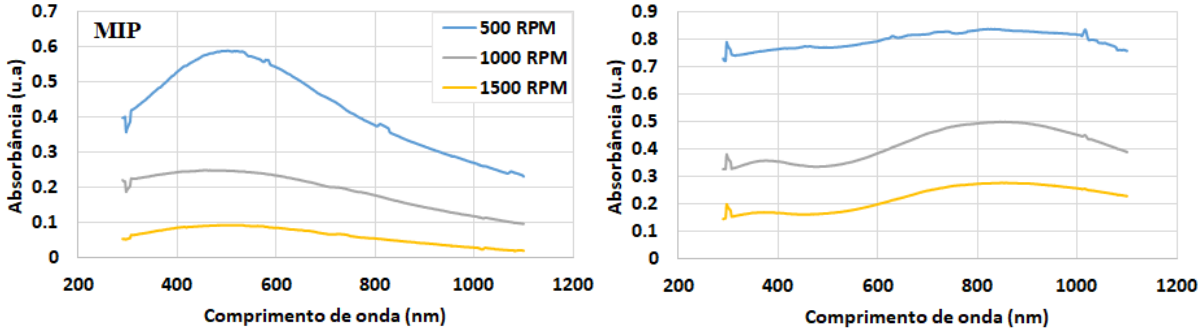


Figura 1. Espectros de absorbância dos filmes de MIP e NIP depositados por *spin coating* sobre vidro com diferentes velocidades de rotação, como indicado na legenda. Polimerização a 60 ºC

3.2 Efeito da temperatura de polimerização

À medida que se reduz a temperatura empregada na polimerização dos filmes, reduz-se a quantidade de aglomerados e aumenta-se a uniformidade dos filmes fabricados. Contudo, a variação da temperatura de polimerização não influi na quantidade de material adsorvido, como pode ser visto na Figura 2, em que os espectros de absorbância obtidos para filmes polimerizados à 30, 40, 50 e 60 ºC é muito similar. Contudo, analisando as imagens de microscopia ótica observa-se que com o emprego de temperatura de polimerização menor (30 ºC), o filme depositado fica mais homegêneo e sem a presença de aglomerados, ao contrário do oberservado quando se polimeriza o filme à 60 ºC.

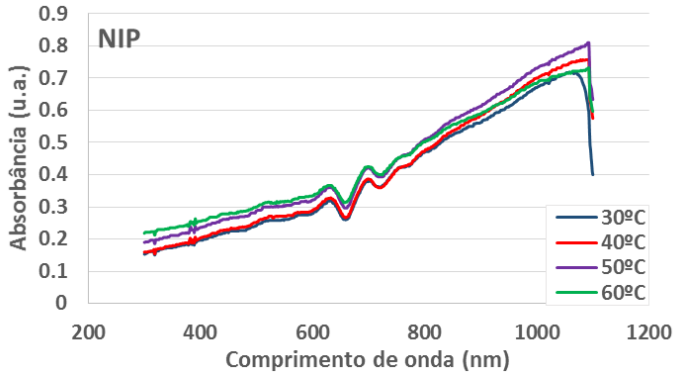


Figura 2. Espectros de absorbância dos filmes de NIP polimerizados em diferentes temperaturas, como indicado.

3.3 Efeito do tempo de pré-polimerização

Os tempos de pré-polimerização avaliados foram de 3 horas até 5 horas com incrementos de 30 minutos, com uma velocidade de agitação de 300 RPM e à 60 ºC. Esse intervalo foi determinado pelas características da própria polimerização. Para tempos menores que 3 horas a solução ainda se encontra translúcida, indicando que a polimerização ainda não se iniciou, e a partir de 5 horas já é possível observar a formação de sólidos dentro do frasco. Na Figura 3 são mostrados os espectros de absorbância dos diferentes filmes NIP depositados. Como se pode notar, para uma pré-polimerização de 5 horas, o espectro de absorbância é bem distinto dos demais, apresentando uma curvatura entre 800 e 1100 nanometros que os demais filmes não possuem. Esta curvatura é um indicativo que a solução já estava muito polimerizada antes da deposição no substrato de vidro. Adicionalmente, esse filme era visulamente diferente dos demais, apresentando uma coloração esbranquiçada enquanto os outros são translucidos. Com exceção do filme obtido a partir da solução pré-polimerizada por 3 horas,

os demais apresentaram um aumento na absorbância à medida que aumentava o tempo de pré-polimerização. Imagens de microscopia ótica demonstraram que os filmes obtidos com as soluções pré-polimerizadas por 4,5 horas apresentaram a melhor uniformidade, sem a presença de aglomerados e são contínuos, como demonstrado pelo risco feito na superfície do filme (Figura 3). Contudo para tempos inferiores a 4 horas, os filmes obtidos não eram uniformes e o filme preparado com a solução pré-polimerizada por 5 horas apresentou alta concentração de aglomerados em sua superfície.

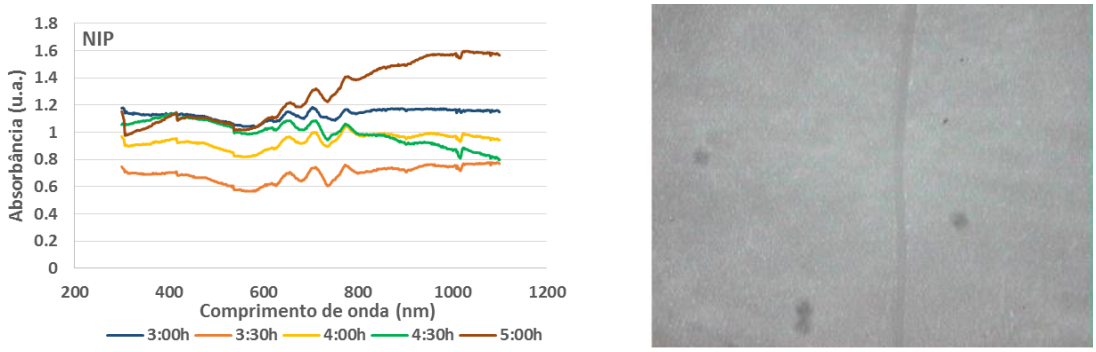


Figura 3. Direita: Espectros de absorbância dos filmes NIP depositados usando soluções pré-polimerizadas por diferentes tempos, como indicado. Esquerda: imagem de microscopia ótica do filme pré-polimerizado por 4,5 horas. Risco feito para demonstrar que o filme é contínuo.

3.5 Efeito do método de polimerização

Realizar a polimerização via radiação UV produziu filmes similares aos obtidos usando a radiação por aquecimento à 30 ºC. Para este experimento usou-se uma solução pré-polimerizada por 4,5 horas. A única vantagem deste método em relação ao anterior é o menor tempo necessário para polimerizar o filme, pois a polimerização é induzida pela irradiação UV e, ao mesmo tempo, por aquecimento já que ocorre a temperatura ambiente, muito similar a empregada no outro método, acelerando o processo de polimerização.

4 CONCLUSÃO

Neste trabalho foram apresentados como os parâmetros de deposição dos filmes com impressão molecular influem nas características morfológicas dos filmes depositados sobre substratos de vidro. Os melhores filmes, isto é, com maior uniformidade, ausência de aglomerados e conínuos foram obtidos depositando uma solução pré-polimerizada por 4,5 horas (agitação 300 RPM à 60 ºC), por *spin coating* (1500 RPM), seguida de polimerização por radiação UV ou aquecimento a 30 ºC.

AGRADECIMENTOS

Os autores gostariam de agradecer ao suporte financeiro da FAPESP (projetos 2013/19421-6, 2013/50440-7 e 2016/13710-4).

REFERÊNCIAS

BRAGA, G.S.; LIEBERZEIT, P.A. ; FONSECA, F.J. . Molecularly Imprinted Polymer Based Sensor to Detect Isoborneol in Aqueous Samples. Procedia Engineering, v. 168, p. 448-451, 2016.

BRAGA, G.S.; Desenvolvimento de sensores específicos baseados em impressão molecular. Relatório técnico de projeto de pós-doutorado, documento privado, 2016.

HUSSAIN, M; WACKERLIG, J.; LIEBERZEIT, P.A.; Biommimetic strategies for sensing biological species; Biosensors 3, p. 89-107, 2013.

PHAN, N.V.H.; SUSSITZ, H.F.; LIEBERZEIT, P.A.; Polymerization parameters influencing the QCM response characteristics of BSA MIP; Biosensors 4, p. 161-171, 2014.

SENSOR ELETROQUÍMICO COM ÓXIDO DE FERRO E NANOTUBOS DE CARBONO PARA DETECÇÃO DE ÁCIDO SALICÍLICO

Camila de L. Ribeiro*, João G. M. Santos, Jurandir R. de Souza, Leonardo G. Paterno

Universidade de Brasília, Instituto de Química, Brasília DF 70910-900, Brasil
**camiladelima.eng@gmail.com*

Classificação: Desenvolvimento de sensores e biossensores nanoestruturados.

Resumo
Neste trabalho, a detecção de ácido salicílico (AS) foi realizada com eletrodos de vidro condutor (ITO) modificados com filmes automontados (LbL) de hidrocloreto de poli(dialil dimetilamônio) (PDAC), nanotubos de carbono aniônicos (CNT-PABS) e nanopartículas catiônicas de óxido de ferro (MAGNP). Resultados de voltametria cíclica mostram que o substrato de ITO não modificado é insensível à AS, enquanto os modificados por filmes (PDAC/CNT-PABS/MAGNP) o oxidam de forma irreversível. A corrente de oxidação do AS aumenta com o número de tetracamadas no filme. Os parâmetros analíticos com os eletrodos modificados foram avaliados com voltametria de pulso diferencial e mostram coeficiente de variação de 3% para 7 medidas consecutivas, faixa linear de trabalho de 0,6 a 46,3 μmol L^{-1} e limite de detecção e quantificação de 0,02 μmol L^{-1} e 0,07 μmol L^{-1}, respectivamente. Portanto, o eletrodo modificado é eficiente na detecção de AS e pode ser aplicado na quantificação desse composto em diferentes matrizes de interesse alimentar, farmacêutico e químico.
Palavras-chave: Voltametria; Ácido salicílico; Nanotubos de carbono; Nanopartículas de óxido de ferro.

ELECTROCHEMICAL SENSOR WITH IRON OXIDE AND CARBON NANOTUBES FOR DETECTION OF SALICYLIC ACID

Abstract
In this work the detection of salicylic acid (SA) was carried out with conducting glass electrodes (ITO) modified with layer-by-layer (LbL) films of poly(dialyl dimethylammonium hydrochloride) (PDAC), anionic carbon nanotubes (CNT-PABS) and cationic iron oxide nanoparticles. Cyclic voltammetry shows that bare ITO substrates are insensitive to SA, while those modified with (PDAC/CNT-PABS/MAGNP) oxidize SA in an irreversible way. The oxidation current scales with the number of film tetralayers. The analytical parameters were assessed with differential pulse voltammetry and show a coefficient of variation of 3% for 7 consecutive measurements, a linear range of 0.6 to 46.3 μmol L^{-1} and limit of detection and quantification of 0.02 μmol L^{-1} and 0.07 μmol L^{-1} respectively. Therefore, the modified electrode showed efficacy in the detection of SA and can be applied for its quantification in different matrices of alimentary, pharmaceutical and chemical interest.
Keywords: Voltammetry, Salicylic acid, Carbon nanotubes, Iron oxide nanoparticles.

Publicações relacionadas: RIBEIRO, C. L.; SANTOS, J. G. M.; SOUZA, J. R. e Paterno, L. G. Electrochemical oxidation of salicylic acid at ITO substrates modified with layer-by-layer films of carbon nanotubes and iron oxide nanoparticles. Journal of Electroanalytical Chemistry, doi.org/10.1016/j.jelechem.2017.09.063.

1 INTRODUÇÃO

O ácido salicílico (AS) ou o ácido 2-hidroxibenzoico é um metabólito secundário encontrado em várias espécies de plantas, incluindo muitas do consumo humano e também apresenta atividades bactericida e fungicida que o tornam um ingrediente-chave nos produtos de cuidados da pele. Além disso, AS é um metabólito da aspirina (MADAN; LEVITT, 2014; SZOSTEK et al., 2017). Portanto, a detecção de AS é um assunto atraente do ponto de vista botânico, ambiental e medicinal.

A detecção e quantificação de AS tem sido realizada por métodos analíticos convencionais, incluindo eletroforese capilar, cromatografia líquida de alta eficiência entre outros (CARDOSO et al.,

2014; BARRIENTOS et al., 2016). O uso de sensores eletroquímicos também ganhou interesse, devido à sua rápida resposta, precisão, baixo limite de detecção e baixo custo. A oxidação eletroquímica de AS é um processo irreversível em diferentes tipos de eletrodos modificados, por exemplo, com grafeno e nanotubos de carbono ou com nanocompósito de ouro e magnetita (LU et al., 2014; SUN et al., 2013). Diante disso, este trabalho tem como objetivo a modificação dos substratos de ITO com filmes ultrafinos de CNT-PABS, np-MAG e PDAC para eletroquímica oxidação e detecção de AS.

2 MATERIAL E MÉTODOS

A suspensão de CNT-PABS foi preparada com 50 mg de CNT-PABS adicionado a 100 mL de água ultrapura em disruptor ultrassônico (Branson 450, 250 W, 1h, pulsado: 1s ligado, 1s desligado). Após essa etapa, a amostra resultante foi centrifugada a 4500 rpm por 10 minutos para remoção de material insolúvel. O preparo das nanopartículas de óxido de ferro foi realizado por co-precipitação de íons Fe (II) e Fe (III) em NaOH, conforme descrito na literatura (KANG et al., 1996).

Como forma de aumentar a resistência mecânica dos filmes, camadas do polieletrólito catiônico hidrocloreto de poli(dialildimetil amônio) (PDAC, 450.000 g mol^{-1}) foram introduzidas entre os nanomateriais. Em essência, o substrato de ITO foi imerso, sequencialmente, na solução de PDAC (1 g L^{-1}), seguido das suspensões de CNT-PABS e np-MAG. O tempo de imersão em cada material foi de 3 minutos enquanto o tempo de enxágue foi de 20 segundos. Água ultrapura foi usada no enxágue após a deposição de PDAC e CNT-PABS enquanto uma solução pH 4 de $HClO_4$ foi empregada no enxágue após a camada de np-MAG. Ainda, após cada camada depositada e enxágue, o substrato modificado foi seco com jato de ar comprimido.Ao término de cada ciclo foi obtido um filme com estrutura de tetracamadas (PDAC/CNT-PABS/np-MAG/CNT-PABS)n com n = 1, 3, 5, 7 e 10. A área de cada eletrodo foi delimitada com fita adesiva do tipo Scotch. Os eletrodos preparados são apresentados na Figura 1.

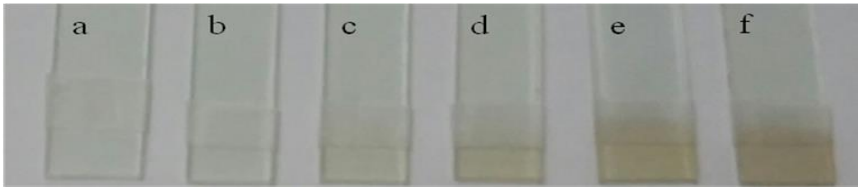


Figura 1. Eletrodos modificados com (a)Substrato ITO (b)1 (c)3 (d) 5 (e) 7 (f) 10 tetracamadas de (PDAC/NT-PABS/np-MAG/NT-PABS).

As medidas eletroquímicas foram realizadas em um potenciostato Autolab modelo PGSTAT302N da Metrohm, usando uma cela com eletrodo de referência de Ag/AgCl (KCl saturado), contra eletrodo de platina e o eletrodo proposto neste trabalho. Devido à contaminação do eletrodo com produtos formados na oxidação do ácido salicílico foi necessário condicionamento antes das leituras com metanol: água (1:10) e potencial de -1 V por 60 segundos. O padrão certificado de ácido salicílico (Sigma Aldrich) foi preparado em água ultrapura na concentração de 1 g/L.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A voltametria cíclica de AS apresentada na Figura 2(a) foi realizada com diferentes eletrodos de trabalho, para avaliar como a resposta dos eletrodos depende do número de tetracamadas do filme. Observa-se que no substrato ITO sem filme o AS não é detectado. No ITO modificado com as tetracamadas, o principal pico de oxidação do AS é óbvio em + 1,14 V, decorrente de uma reação irreversível, da fração fenólica presente no AS (TORRIERO et al., 2004). Quanto à variação de densidade de corrente nos filmes, é demonstrado que a densidade de corrente aumenta até 7-T, então nesse número de tetracamadas a superfície do eletrodo é totalmente revestida pelo filme modificador, seu desempenho atinge um máximo e não pode ser melhorado ainda mais. Entre todos os eletrodos modificados preparados, o 3-T é de menor custo comparado com aqueles com maior número de tetracamadas e sensibilidade muito maior em relação ao eletrodo 1-T. Portanto, o eletrodo 3-T foi escolhido para os estudos posteriores. Os voltamogramas na Figura 2(b) confirmam que a oxidação

eletroquímica AS é controlada por difusão, com densidade de corrente de pico (J) em + 1,14 V aumentado linearmente com $v^{1/2}$ (r^2 = 0,995).

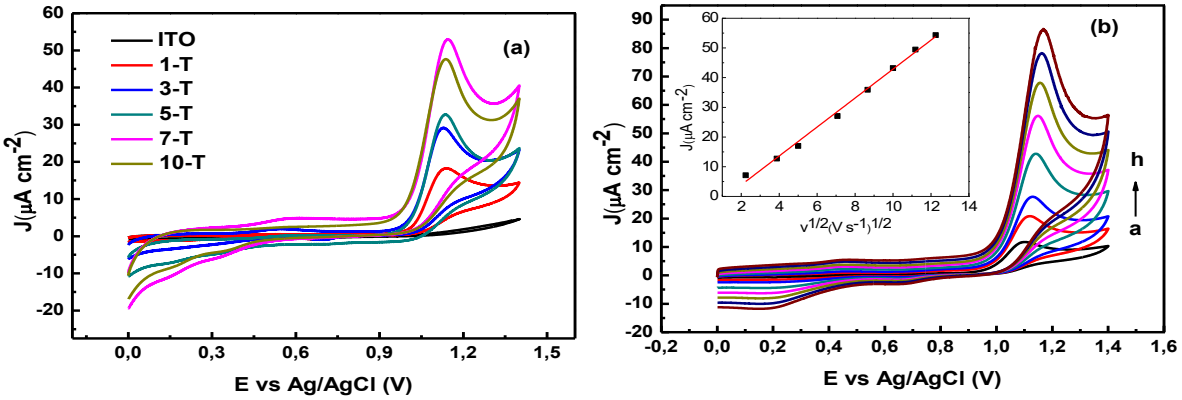


Figura 2. Voltamogramas cíclicos de 50 µmol L^{-1} de AS em ácido acético de 0,1 mol L^{-1} (a) com velocidade de varredura de 25 mV s^{-1} adquirida com ITO e ITO modificados com números diferentes de (PDAC/CNT-PABS/np-MAG/CNT-PABS) tetracamadas e (b) com diferentes velocidades de varredura (5-150 mV s^{-1}), inserido o gráfico J *versus* $v^{1/2}$.

Os voltamogramas de pulso diferencial e a curva analítica das diferentes concentrações de AS são mostrados na Figura 3. Nessa faixa, observa-se duas regiões lineares, a primeira entre as concentrações de 0,6 a 2,9 µmol L^{-1} com r^2= 0,996 e a segunda entre as concentrações de 2,9 e 46,3 µmol L^{-1}, r^2= 0,995. A sensibilidade atribuída ao método foi obtida da inclinação da reta da primeira faixa linear, portanto 0,64 µA cm^{-2}/ µmol L^{-1}. O limite de detecção foi de 0,02 µmol L^{-1} e de quantificação 0,07 µmol L^{-1}, obtidos pela relação $3S_b/b$ e $10S_b/b$ respectivamente em que S_b é o desvio padrão do branco e b a inclinação da curva analítica (INMETRO, 2016).

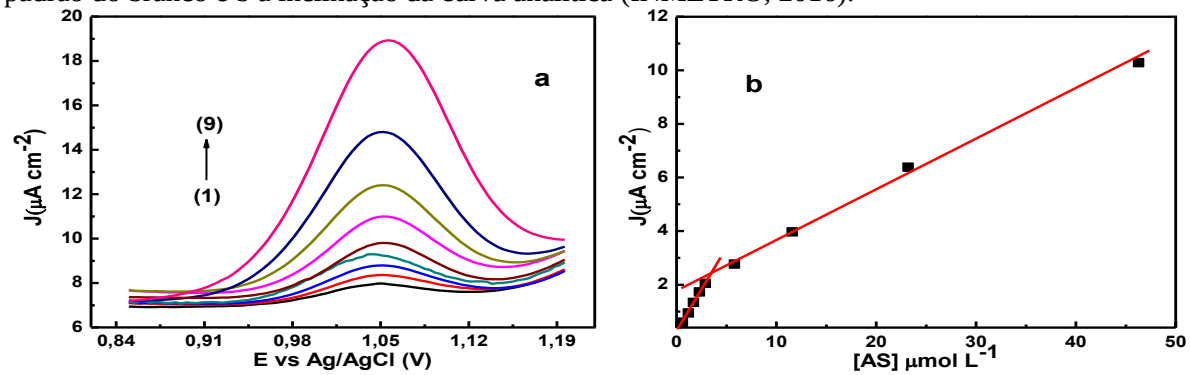


Figura 3. (a)Voltamograma de pulso diferencial do ácido salicílico (1) 0,6 (2) 1,2 (3) 1,7 (4) 2,3 (5) 2,9 (6) 5,8 (7) 11,6 (8) 23,2 (9) 46,3 µmol L^{-1} em ácido acético 0,1 mol L^{-1}, amplitude de pulso de 50 mV e velocidade de varredura 5 mV s^{-1}. (b) Curva analítica (densidade de corrente de pico *versus* concentração de ácido salicílico).

Na Tabela 1 é apresentada uma comparação do limite de detecção e da faixa linear de trabalho de eletrodos modificados com diferentes materiais descritos na literatura.

Tabela 1. Comparação de parâmetros analíticos de eletrodos modificados para a detecção de ácido salicílico

Eletrodo modificado	Método	Limite de detecção (µmol L^{-1})	Faixa linear de trabalho (µmol L^{-1})
CFE (PARK e EUN, 2016)	DPV	1,68	2,0 to 3000
Au@Fe_3O_4-CS-GCE (SUN et al., 2013)	DPV	0,1	1,0 to 1200
GO/MWCNTs (LU et al., 2014)	DPV	0,03	0,08 to 150
$(EBT/LDH)_6$ UTFs (WANG et al., 2017)	Amperometry	0,003	0,01 to 100
Este trabalho	DPV	0,02	0,6 to 46,3

Estes resultados mostram que apesar da faixa de trabalho não ser tão ampla quanto as dos demais eletrodos, com exceção do $(EBT/LDH)_6$ UTFs, o eletrodo desenvolvido neste trabalho apresenta melhor limite de detecção. As medidas realizadas com o eletrodo desenvolvido apresentou coeficiente de variação de 3% para 7 leituras consecutivas.

4 CONCLUSÃO

O eletrodo desenvolvido apresentou eficácia na oxidação de ácido salicílico, sendo esse um processo irreversível controlado por difusão. O método proposto tem baixo custo é rápido e sensível com limite de detecção comparável ao da literatura, podendo ser aplicado na quantificação desse composto em diferentes matrizes de interesse alimentar, farmacêutico e químico.

AGRADECIMENTOS

Ao apoio financeiro da UnB, CNPq, CAPES, FAP-DF e FINEP.

REFERÊNCIAS

MADAN, R. K.; LEVITT, J. A review of toxicity from topical salicylic acid preparations. J. Am. Acad. Dermatol, v. 70, n. 4, p. 788-792, 2014.

SZOSTEK J. H. et al. Update in General Internal Medicine: Evidence Published in 2016. Ann Intern Med., v. 166, p. W11-W15, 2017.

CARDOSO M. et al. Ultra-fast determination of caffeine, dipyrone, and acetylsalicylic acid by capillary electrophoresis with capacitively coupled contactless conductivity detection and identification of degradation products. J Chromatogr A, v. 1327, p. 149-154, 2014.

BARRIENTOS, M. O.; BATISTA A. D.; ROCHA,F. R. P. Fast and environmentally friendly determination of salicylic acid in plant materials by sequential injection chromatography. Anal. Methods, v. 8, p. 6398-640, 2016.

LU, L. et al. Graphene Oxide/Multiwalled Carbon Nanotubes Composites as na Enhanced Sensing Platform for Voltammetric Determination of Salicylic Acid. Int. J. Electrochem. Sci., v. 9, p. 8057-8066, 2014.

SUN, L. et al. Electrocatalytic activity of salicylic acid on Au@Fe3O4 nanocomposites modified electrode and its detection in tomato leaves infected with Botrytis cinerea. Journal of Electroanalytical Chemistry, v. 706, p. 127-132, 2013.

KANG, Y. et al. Synthesis and Characterization of Nanometer-Size Fe3O4 and γ-Fe2O3 Particles. Chem. Mater., v. 8, p. 2209-2211, 1996.

TORRIERO, A. et al.Voltammetric determination of salicylic acid in pharmaceuticals formulations of acetylsalicylic acid. Talanta, v. 62, p.247-254, 2004.

INMETRO, Instituto Nacional de Metrologia. Orientação Sobre Validação de Métodos Analíticos.DOQ-CGCRE-008 – Revisão 05, Rio de Janeiro, 2016.

PARK, J.; Eun, C. Electrochemical Behavior and Determination of Salicylic Acid at Carbon-fiber Electrodes. Electrochim. Acta, v. 194, p. 346–356, 2016.

WANG, C. et al. Facile preparation of multilayer ultrathin films based on eriochrome black T/NiAl-layered double hydroxide nanosheet, characterization and application in amperometric detection of salicylic acid. J Electroanal Chem., v. 785, p.131–137, 2017.

NANOCOMPÓSITOS DE POLIAMIDA 6 E NEGRO DE FUMO PARA APLICAÇÃO COMO SENSOR TÊXTIL DE UMIDADE

Paula M. G. L. Ferreira[1], Midilane S. Medina[1], José M. Marconcini[2], Luiz H. C. Mattoso[2], Everaldo C. Venancio[1] e Gerson L. Mantovani[1]

[1] Universidade Federal do ABC – UFABC, Santo André, SP.
[2] Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP.
(e-mail: gerson.mantovani@ufabc.edu.br)

Classificação: Desenvolvimento de sensores e biossensores nanoestrurados.

Resumo
Neste trabalho foram obtidos nanocompósitos poliméricos condutores de eletricidade de poliamida 6 com negro de fumo condutor, por solução. Interações entre as partículas de negro de fumo e a matriz de poliamida 6 foram estudadas por espectroscopia Raman, foi observado deslocamentos para baixas frequências (*red-shift*) e para altas frequências (*blue-shift*) atribuídos às vibrações do grupo amida. Nas morfologias dos nanocompósitos, estudadas por MEV, observou-se uma distribuição das estruturas nas dimensões das partículas do negro de fumo com o aumento do negro de fumo na composição. O limite de percolação elétrica nos nanocompósitos obtidos, estudado pelo método de quatro pontas, foi de 12% vol. de nefro de fumo na composição dos nancompósitos.
Palavras-chave: Tecidos inteligentes; Nanocompósitos; Poliamida 6; Negro de fumo.

NANOCOMPOSITES OF POLYAMIDE 6 WITH CARBON BLACK FOR APPLICATION AS HUMIDITY TEXTILE SENSOR

Abstract
In this work, conductive polymer nanocomposites of polyamide 6 with conductive carbon black were obtained by casting method. Interactions between carbon black particles and polyamide 6 matrix were studied by Raman spectroscopy, shifts to lower frequencies (red-shift) and high frequencies (blue-shift), attributed to the vibrations of the amide group, were observed. In the morphologies of the nanocomposites, studied by SEM, a distribution of the structures in the dimensions of the carbon black particles was observed with increasing carbon black in the composition. The electrical percolation limit in the obtained nanocomposites, studied by the four-point method, was 12% vol. of carbon black in the composition of nanocomposites.
Keywords: Smart textiles; Nanocomposites; Polyamide 6; Carbon black.

1 INTRODUÇÃO

Nanocompósitos poliméricos condutores de eletricidade (NCPCEs) podem ser definidos como a combinação de uma matriz polimérica com uma fase dispersa composta por nanocargas condutoras (LENG et al., 2010). Este tipo de material é especialmente adequado para a obtenção de sensores devido à variação volumétrica da matriz polimérica. Quando um solvente se difunde na matriz polimérica do NCPCE, a expansão resultante induz um aumento na distância entre as nanocargas condutoras e consequentemente aumenta a resistividade elétrica do nanocompósito. Este aumento é proporcional à quantidade de solvente e mudanças de temperatura ou de tensão (VILLMOW, T. et al., 2011). A eletrofiação é uma técnica utilizada para a fabricação de micro/nanofibras. As fibras obtidas por este processo possuem elevada área superficial em relação ao volume (BHARDWAJ, N; KUNDU, S.C., 2010). Esta característica confere a estes materiais tempo de resposta rápido e a capacidade de atuar como sensores cíclicos, fazendo com que os NCPCEs eletrofiados sejam materiais promissores para detecção de vazamento (VILLMOW, T. et al., 2011). A poliamida 6 (PA6) tem a habilidade de inchamento da matriz pela absorção de umidade (MONSON et al., 2008). As propriedades elétricas da PA6 podem ser melhoradas pela incorporação de nanocargas de materiais carbonáceos. Dentre os materiais carbonáceos, o negro de fumo condutor (NFC) é um material de baixo custo que vem sendo

bastante utilizado para obtenção de materiais para sensores de gás (CHEN, J.; TSUBOKAWA, N., 2000; CHEN, S. et al., 2004; LI et al., 2003). Neste trabalho foram obtidos NCPCEs de PA6/NFC com várias concentrações de NFC, por solução, com o objetivo principal de se determinar o limite de percolação dos nanocompósitos.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Materiais

O negro de fumo condutor VXC72R foi fornecido pela Cabot com tamanho de partícula de 30 nm, com área superficial específica de 250 m^2g^{-1} e número de absorção de 175 mL/100g. A poliamida-6, RADILON S27 100 NT foi adquirida da Radici, possui índice de viscosidade 1,384 dL/g (ASTM D789-07), índice de fluidez de 28,70 g/10 min (235 ^oC/2,16 Kg) (ASTM D1238-73); grupos terminais amina de 58,09 meq/Kg e grupos terminais carboxilas de 54,82 meq/Kg derteminados por titulação potenciométrica.

2.2 Métodos

2.2.1 Obtenção do nanocompósito poliamida 6 com negro de fumo condutor (PA6/NFC): os nanocompósitos foram obtidos por solução. Os *pellets* de PA6 foram secados em uma estufa a vácuo a 100 ºC por 24 horas. Em seguida, o polímero foi dissolvido em ácido fórmico e foi mantido sob agitação mecânica durante 1 hora. Após a completa dissolução da PA6 no ácido fórmico, foi adicionado o NFC nesta solução e mantida sob agitação por 1 hora. O nanocompósito obtido foi colocado em formas de silicone e mantido na capela com exaustão por 24 horas para a evaporação total do solvente.
2.2.2 Espectroscopia Raman: os experimentos de Raman foram realizados no espectrômetro micro-Raman T64000 da Horiba Jobin-Yvon. Utilizou-se a linha 532 nm de um laser de íon Laser Verdi G5 (Coherent Inc.) com a lente objetiva de 50 x e 10 mW de potência. Foram realizadas 5 medidas de cada espectro com o tempo de incidência do laser na amostra de 120 s.
2.2.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV): os experimentos de microscopia eletrônica foram realizados no Microscópio Eletrônico de Varredura FEI Quanta 250. Os filmes dos nanocompósitos de PA6/NFC foram colocados em nitrogênio líquido por aproximadamente 5 min; após este tempo de resfriamento cada amostra foi fraturada com o auxílio de uma espátula; as superfícies foram recobertas com uma camada 10 nm de espessura de ouro.
2.2.4 Condutividade Elétrica - Método Padrão Sonda de Quatro Pontas: a condutividade elétrica foi medida usando o método padrão de quatro pontas; a corrente aplicada e o monitoramento da tensão foram realizados utilizando um sourcemeter (Keithley, modelo 2400C).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A espectroscopia Raman é uma técnica sensível à estrutura secundária dos polímeros. Na Figura 1 são apresentados os espectros obtidos para a PA6 e os nanocompósitos PA6/NFC com 5, 12 e 15% vol. de NFC. Com a adição do NFC na PA6 observou-se deslocamentos de 3 cm^{-1} para baixas frequências (*red-shift*) nos modos em 1128 e 1447 cm^{-1}, referentes as vibrações $\nu(C{-}C)$ e $\beta(CH^2)$, respectivamente (Figura 1-a). E um deslocamento de 2 cm^{-1} para altas frequências (*blue-shift*) no modo em 1637 cm^{-1} que é a assinatura do $\nu(C = O)$ do grupo amida na PA6 (Figura 1-b) (BELLAN et al., 2008). Esse deslocamento indica a formação de ligações entre a PA6 e o NFC.

Na Figura 2 são mostradas as micrografias obtidas por MEV dos filmes; na Fig. 2(a) do filme de PA puro e, nas demais, Fig. 2 (b) à (f), a morfologia dos filmes dos nanocompósitos com o aumento do NFC na composição. Observa-se que à medida que o NFC é acrescentado ao nanocompósito, a morfologia dos filmes muda para estruturas com dimensões próximas das partículas de NFC, sendo que possivelmente a matriz polimérica fica envolta ao redor destas estruturas. Como já foi discutido nos resultados obtidos por Raman, parece haver uma boa interação entre a poliamida e a estrutura do NFC. Isso também pode ser verificado quando observamos o limite de percolação mostrado na

Figura 3, sendo que a morfologia está diretamente relacionada com a conduditividade elétrica dos nanocompósitos.

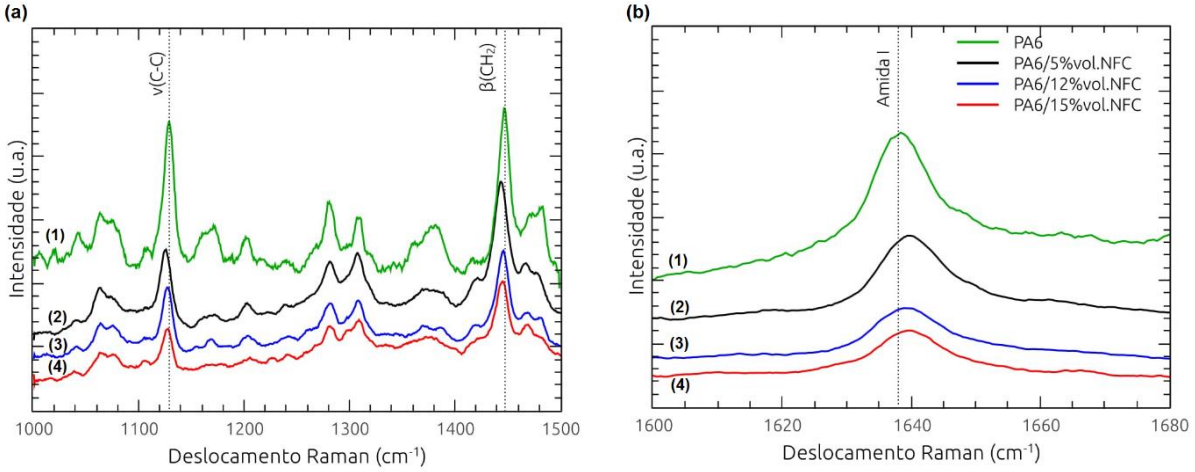


Figura 1. Espectros Raman para (1) PA6 e dos nanocompósitos de PA6/NFC (2) com 5, (3) 12 e (4) 15 % vol. de NFC na região de **(a)** 1000 à 1500 cm^{-1} e **(b)** 1600 à 1680 cm^{-1}

Nas Figuras 2 (a)-(f) são apresentadas as micrografias obtidas da (a) PA6 e dos nanocompósitos de PA6/NFC com (b) 5, (c) 12, (d) 15, (e) 27 e (f) 37 % vol. de NFC.

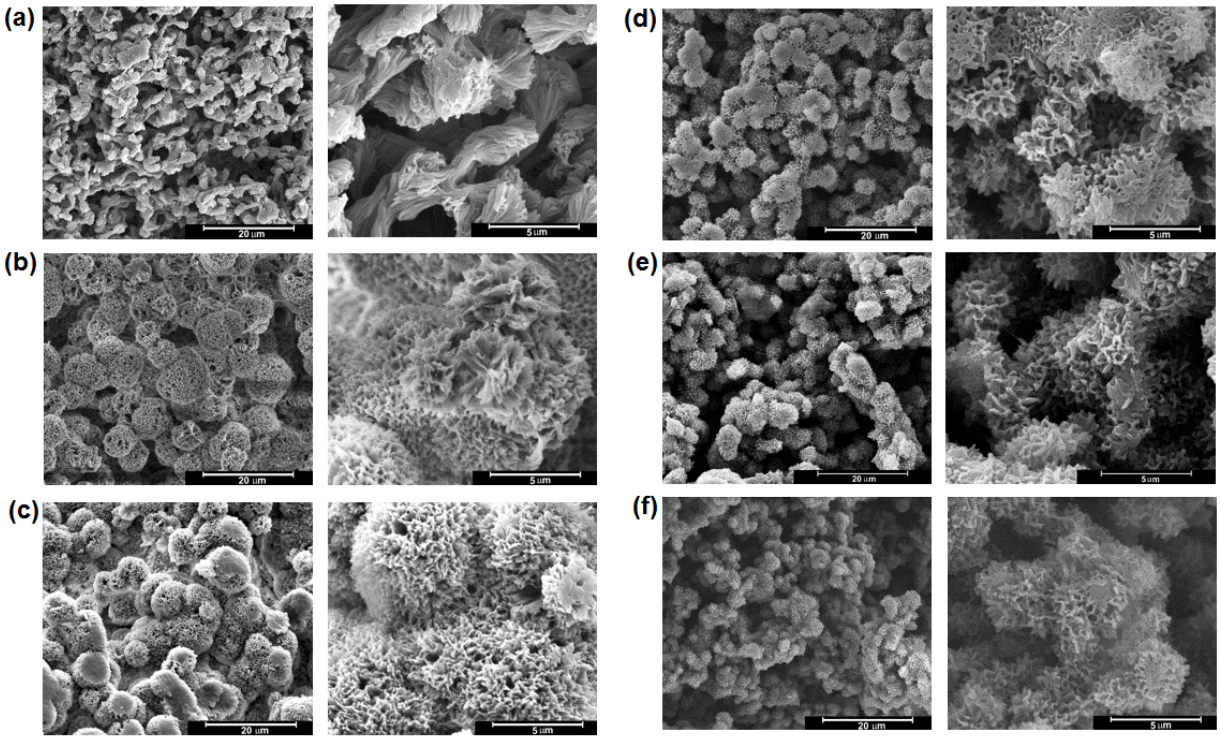


Figura 2. Micrografias obtidas por MEV da (a) PA6 e dos nanocompósitos de PA6/NFC com (b) 5, (c) 12, (d) 15, (e) 27 e (f) 37 % vol. NFC.

A condutividade do nanocompósito PA6/NFC depende da quantidade, do grau de dispersão do NFC e da morfologia. Na Figura 3 são mostrados os resultados obtidos para a condutividade elétrica em função da quantidade de negro de fumo (% vol. de NFC). Observa-se que quando a concentração em % vol. de NFC passa de 5 para 12 há um aumento da condutividade de cerca de 6 ordens de grandeza. Isto implica em uma mudança súbita do estado de dispersão das partículas condutoras que, a partir desta concentração, são capazes de formar redes que facilitam a condução elétrica dentro da matriz polimérica (BRIGANDI et al, 2014).

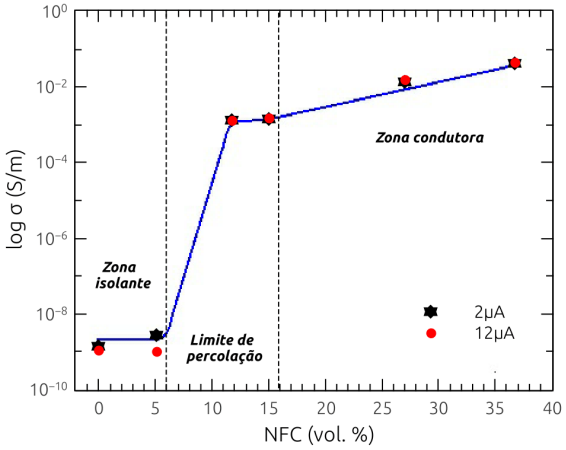


Figura 3. Condutividade elétrica da PA6 e dos nanocompósitos PA6/NFC em função da % vol. de NFC.

4 CONCLUSÃO

Observou-se que o limite de percolação do nanocompósito PA6/NFC foi de 12 % vol de NFC este valor está bem abaixo do reportado na literatura de 30% vol. de NFC obtido por polimerização *in situ* da PA6 com o NFC presente no meio reacional. A morfologia e condutividade estão fortemente correlacionadas, foi observado que a morfologia dos nanocompósitos é constituída basicamente por estruturas esféricas e à medida que o material torna-se mais condutor é observado que há diminuição das dimensões destas estruturas. Portanto o método de obtenção por solução diminui a concentração crítica para a formação de redes condutoras dentro da matriz tornando-se mais interessante para o processo de eletrofiação.

AGRADECIMENTOS

Os autores são gratos ao suporte dado a este trabalho, à Rede AgroNano, à CAPES, ao CNPq, à FAPESP e à Central Multiusuário da UFABC. Este trabalho se insere no projeto de cooperação técnico-científico celebrado entre a Universidade Federal do ABC e a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, processo número 23006.001234/2014-23.

REFERÊNCIAS

BELLAN, L. M.; H. G. CRAIGHEAD, H. G. Molecular orientation in individual electrospun nanofibers measured via polarized Raman spectroscopy, Polymer, v. 49, n. 13, p. 3125–3129, 2008.

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

BRIGANDI, P. J., COGEN, J. M. and PEARSON, R. A. Electrically conductive multiphase polymer blend carbon-based composites, Polymer Engineering & Science, v. 54, n. 1, p. 1–16, 2014.

CHEN, J.; TSUBOKAWA, N. Novel gas sensor from polymer-grafted carbon black: Vapor response of electric resistance of conducting composites prepared from poly (ethylene-block-ethylene oxide)-grafted carbon black. Journal of Applied Polymer Science, v. 77, n. 11, p. 2437-2447, 2000.

CHEN, S. G. et al. Gas sensitivity of carbon black/waterborne polyurethane composites. Carbon, v. 42, n. 3, p. 645-651, 2004.

LENG J.; LAU, A. K. Multifunctional polymer nanocomposites. CRC press, 2010.

LI, J. R. et al. Carbon black/polystyrene composites as candidates for gas sensing materials. Carbon, v. 41, n. 12, p. 2353-2360, 2003.

LIU, Y. et al. Polyamide 6/modified carbon black nanocomposites prepared via in situ polymerization, Journal of Macromolecular Science, Part B, v. 54, n. 4, p. 469–480, 2015.

MONSON, L.; BRAUNWARTH, M.; EXTRAND, C. W. Moisture absorption by various polyamides and their associated dimensional changes. Journal of Applied Polymer Science, v. 107, n. 1, p. 355-363, 2008.

VILLMOW, T. et al. Liquid sensing: smart polymer/CNT composites. Materials Today, v. 14, n. 7, p. 340-345, 2011.

VALIDAÇÃO DE MÉTODO VOLTAMÉTRICO PARA A DETERMINAÇÃO DE COBRE EM CAFÉ UTILIZANDO ELETRODO DE OURO MODIFICADO COM PEPTÍDEO

Gabriella Magarelli[1], Jonatas G. da Silva[2], Magali A. Rodrigues[3], Jurandir R. de Souza[4], Pierre Marraccini[1], Clarissa S.P. de Castro[1], Marcelo P. Bemquerer[1]

[1]Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, [2]Universidade Católica de Brasília, [3]Universidade de São Paulo, [4]Universidade de Brasília. gabriella.magarelli@embrapa.br

Classificação: Desenvolvimento de sensores e biossensores nanoestruturados.

Resumo

Um biossensor voltamétrico contendo um peptídeo derivado do príon (H-CVNITKQHTVTTT-NH_2) como um elemento de reconhecimento de íons metálicos foi construído para a determinação de Cu(II) em amostras de café. A construção do biossensor foi realizada por automontagem da molécula contendo um grupo sulfidrila em eletrodo de Au. A técnica de voltametria de pulso diferencial (VPD) utilizando o biossensor mostrou um sinal de corrente de redução de cobre bastante sensível, o que possibilitou sua utilização na determinação de cobre em amostras de café. As figuras analíticas de mérito do método foram as seguintes: precisão intra-dia (desvio padrão relativo (DPR= 13-14%); precisão inter-dia (DPR= 14-18%); linearidade (r= 0,9995); faixa de trabalho (1,0 x 10^{-7} a 1,0 x 10^{-6} mol.L^{-1}); limite de detecção (8,0 x 10^{-8} mol.L^{-1}); limite de quantificação (1,0 x 10^{-7} mol.L^{-1}) e recuperação (95-117%). Observou-se que os íons metálicos Zn(II), Fe(II), Cd(II) e Ni(II) não interferiram nos sinais de Cu(II) na faixa de trabalho estudada.

Palavras-chave: Biossensor voltamétrico; Peptídeo (H-CVNITKQHTVTTT-NH_2); Cobre; Café.

VALIDATION OF VOLTAMETRIC METHOD FOR DETERMINATION OF COPPER IN COFFEE USING PEPTIDE MODIFIED GOLD ELECTRODE

Abstract

A voltammetric biosensor, containing a prion peptide fragment (H-CVNITKQHTVTTT-NH2), as a metal ion recognition element was constructed for determination of Cu(II) metal ions in coffee samples. The biosensor construction was performed by self-assembly of the molecule containing a sulfhydryl group onto Au electrode. The differential pulse voltammetry (DPV) technique using the biosensor showed a very sensitive copper reduction current signal, which allowed its use in the determination of copper in coffee samples. The analytical figures of merit presented the following results: intra-day precision (relative standard deviation (RSD)= 12-14%); inter-day precision (RSD= 14-18%); linearity (r= 0.995); working range (from 1.0 x 10^{-7} to 1.0 x 10^{-6} mol L^{-1}); detection limit (8.0 x 10^{-8} mol L^{-1}); quantification limit (1.0 x 10^{-7} mol L^{-1}) and recovery (95-117%). An investigation of the biosensor selectivity in the presence of other metal ions such as Zn(II), Fe(II), Cd(II) and Ni(II) was carried out, and it was observed that these metal ions did not interfere in the Cu(II) in the working range studied.

Keywords: Voltammetric biosensor; Peptide (H-CVNITKQHTVTTT-NH_2); Copper; Coffee.

Publicação relacionada: SILVA, J.G.; MAGARELLI, G.; FREITAS, T.V.; SILVA, L.P.; SOUZA, J.R.; BEMQUERER, M.P.; De Castro, C.S.P. Utilização do eletrodo de ouro modificado com peptídeo da proteína príon para a determinação voltamétrica de Cu(II). In: VI Workshop da Rede de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio, 2012, Fortaleza-CE. Anais do Workshop da Rede de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio. São Carlos-SP: Embrapa Instrumentação, 2012. p. 1-530

1 INTRODUÇÃO

A utilização de fertilizantes cúpricos, que ainda é empregada em cultivos como o café, a uva e o cacau, pode levar a um aumento dos níveis toleráveis deste íon metálico causando efeitos tóxicos. Os íons metálicos estão presentes nos tecidos vegetais na ordem de nmol.L^{-1} a pmol.L^{-1}, sendo que valores insuficientes ou excessivos podem levar à toxicidade e à alteração na fisiologia da planta. Existem diversos esforços na literatura para a utilização de íons metálicos como indicadores de qualidade e de origem geográfica de produtos como o café e o vinho (MUÑIZ-VALENCIA *et al*., 2013). Desta forma, a quantificação de íons metálicos em produtos de origem vegetal é um problema técnico-científico com impacto na produção agrícola. Uma das estratégias analíticas para a determinação de íons metálicos em tecidos é a utilização de biossensores, que apresentam biomoléculas como estruturas de detecção do composto alvo e como transmissores de sinais ópticos ou eletroquímicos. A detecção eletroquímica apresenta a vantagem de permitir a obtenção de uma resposta rápida, seletiva e sensível. Especialmente para a determinação de íons metálicos, ela é apropriada devido aos potenciais específicos de óxido-redução de cada íon metálico. A possibilidade de miniaturização e portabilidade de biossensores torna-os uma ferramenta importante em agricultura de precisão, permitindo a detecção precoce de contaminantes como pesticidas e íons metálicos (SEKHON, 2014). A aplicação de peptídeos para a construção de eletrodos para a detecção de íons metálicos tem sido investigada, uma vez que eles possuem uma variedade de átomos doadores de elétrons que podem ligar-se seletivamente aos íons metálicos (LILLO; GALÁN-MASCAROS, 2014). Eletrodos de Au têm sido muito utilizados devido a facilidade de imobilização de biomoléculas por meio de automontagem de grupamentos sulfidrila (SAPSFORD et al., 2013). Peptídeos podem ser ligados à superfície de Au pelos seus resíduos de cisteína ou por espaçadores contendo o grupamento sulfidrila (CHOW et al., 2005). Neste trabalho, foi proposta a validação do método voltamétrico para a determinação de Cu(II) em amostras de café utilizando um biossensor contendo um peptídeo como elemento de reconhecimento. Os parâmetros de validação investigadas foram a precisão, a linearidade, a exatidão e a seletividade do biossensor frente a outros íons metálicos. O peptídeo escolhido é uma molécula com afinidade elevada ao Cu(II), derivado de um dos sítios de ligação a Cu(II) do príon. A construção do biossensor ocorreu por automontagem de molécula contendo um resíduo adicional de cisteína sobre eletrodos de Au.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O peptídeo H-CVNITKQHTVTTTT-NH_2 foi sintetizado por síntese em fase sólida com estratégia Fmoc (9-fluorenilmetiloxicarbonila),foi purificado por cromatografia líquida de fase reversa (RP-HPLC) e as frações cromatográficas atribuídas ao peptídeo foram verificadas por espectrometria de massa (MALDI-ToF/MS). A concentração da solução aquosa do peptídeo foi determinada por um método empírico, por medidas de absorbância (205, 215, 225 nm). As medidas voltamétricas foram realizadas em triplicata, utilizando-se o analisador voltamétrico 797 VA Computrace (Metrohm) e uma célula eletroquímica composta pelos seguintes eletrodos: ouro (Au, Φ 2mm) (trabalho), Ag/AgCl (referência) e platina (auxiliar). Antes de iniciar as medidas voltamétricas, o eletrodo de Au foi polido em suspensão aquosa de alumina 1,0 µm, limpo em acetona e em seguida etanol no ultrassom em banho por 10 minutos, posteriormente, limpo eletroquimicamente, em H_2SO_4 1 mol L^{-1}, por 10 ciclos no intervalo de potencial de -0,300 V (potencial inicial, Ei) e 1,500 V (potencial de inversão, Ew) e υ= 100 mV s^{-1}. O eletrodo de Au foi transferido para uma célula eletroquímica contendo 1,0 x 10^{-5} mol.L^{-1} do peptídeo dissolvido em tampão fosfato, 0,2 mol.L^{-1}, pH 7,0, sem agitação (30 min). A acumulação do Cu(II), no eletrodo, foi realizada em 10 mL de tampão fosfato, 0,2 mol.L^{-1}, pH 7,0, sob agitação durante 60 s. A regeneração do eletrodo foi realizada em solução de ácido perclórico 1,0 x 10^{-1} mol.L^{-1} (30 s), potencial de 0,5 V, sob agitação. O Cu(II) foi determinado utilizando a técnica de voltametria de pulso diferencial com os seguintes parâmetros: velocidade de varredura de 50 mV s^{-1}, amplitude de pulso de 50 mV, potencial inicial (E_i)= 0,6V, potencial final (E_f)= -0,6V, eletrólito: tampão fosfato 0,2 mol.L^{-1}, pH 7,0. O método foi validado (INMETRO) e os parâmetros determinados foram linearidade, faixa de trabalho, repetitividade (intra-dia), precisão intermediária (inter-dia), recuperação, limite de detecção, limite de quantificação e seletividade frente a Zn(II), Fe(II), Cd(II), Ni(II). A curva analítica foi obtida por meio de seis adições de 10 µL de Cu(II) 1,0 x 10^{-4} mol.L^{-1}. O método foi aplicado em amostras de grãos de café proveniente da Embrapa, variedade Catiguá MG2. Os frutos de café foram

despolpados, as sementes foram lavadas, secas à temperatura ambiente e guardadas em freezer. Os grãos foram torrados em estufa (200 ^{o}C, 1h) e pulverizados. Pesou-se 1 g do pó da semente em cadinho de porcelana para queima em mufla (570 ^{o}C, 14 h). O resíduo foi dissolvido com HCl suprapuro, e depois o ácido foi evaporado até quase secura. O resíduo foi diluído em 10 mL de água Milli-Q. O cobre foi determinado nas amostras de café pelo método de adição padrão (3 adições de 10 µL de Cu a 1,0 x 10^{-4} mol.L^{-1}).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os estudos da caraterização da interação do Cu(II) com o peptídeo H-CVNITKQHTVTTTT-NH_2 por voltametria cíclica e voltametria de redissolução anódica foram realizados em etapa anterior (SILVA, J.G. *et al*., 2012). Nesta nova etapa do projeto, foram estudadas e obtidas as condições analíticas ideais para a aplicação do biossensor na determinação de Cu(II) nas amostras de café, incluindo a validação do método. Após a otimização dos parâmetros eletroquímicos, a curva analítica de Cu(II) foi obtida utilizando a técnica de voltametria de pulso diferencial. Nos voltamogramas (Figura 1) obtidos para o Cu(II), em tampão fosfato, pH 7,0, observa-se sinal em 0,20 V, correspondente à sua redução no eletrodo de ouro modificado com o peptídeo. Este sinal pode ser utilizado na detecção e quantificação de Cu(II) em matrizes diversas. A curva analítica apresentou a equação Ipc (µA)= 0,57 + 6,0 x 10^{6} [Cu(II)] (r = 0,999), linearidade de 1,0 x 10^{-7} a 1,0 x 10^{-6} mol L^{-1} com limite de detecção (LD)= 8,0 x 10^{-8} mol L^{-1} e limite de quantificação (LQ)= 1,0 x 10^{-7} mol L^{-1}.

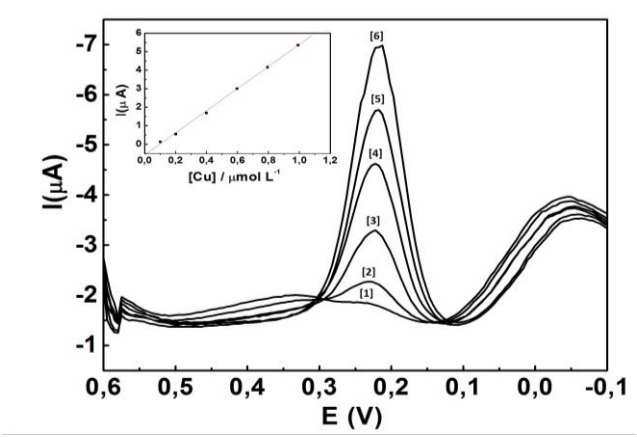


Figura 1: Voltamogramas de pulso diferencial [1] à [6] em 10 mL de tampão fosfato, 0,2 mol L^{-1}, pH 7,0, de seis adições sucessivas de 10, 20, 40, 60, 80, 100 µL de solução padrão de Cu(II) 1,0 x 10^{-4} mol L^{-1}. Ei= 0,60 V; Ef= -0,10 V, amplitude de pulso= 50 mV, velocidade de varredura (υ)= 50 mV s^{-1}, eletrodo de trabalho: eletrodo de ouro modificado com o peptídeo, eletrodo de referência: Ag/AgCl (3 mol L^{-1}). Eletrodo auxiliar: platina.

O estudo da variação do sinal de redução do cobre utilizando o biossensor após sete repetições no mesmo dia, em três níveis de concentração, apresentou um desvio padrão relativo (DPR) de 12-14%, e em dias diferentes apresentou DPR entre 14 e 18%. A precisão do biossensor foi considerada aceitável, visto que, a cada medida realizada no mesmo dia, a superfície do eletrodo é regenerada para a retirada do cobre e nova imobilização do peptídeo ocorre. Para medidas realizadas em dias diferentes, um biossensor novo é construído. No estudo da seletividade, observou-se que a presença dos íons metálicos Zn(II), Fe(II), Cd(II), Ni(II) não interferiu de forma significativa sobre a curva analítica do cobre (Figura 2). O desvio padrão relativo referente aos coeficientes angulares das curvas analíticas foi de 7%, mostrando a seletividade elevada do método na determinação de Cu(II). A figura 3 mostra o voltamograma da amostra de café com adições sucessivas de padrão de cobre. Nas condições otimizadas, a amostra apresentou sinal detectável de cobre, livre de interferentes, no potencial de estudo (0,2 V) e dentro da faixa de trabalho, o que mostrou a eficácia do método de preparo de amostras e a eficiência do biossensor. No estudo da exatidão do método, a taxa de recuperação de cobre adicionado sobre a amostra variou de 95-117% para três níveis de concentração.

A concentração de cobre encontrada na amostra de café proveniente da Embrapa Hortaliças (DF) cultivar CATIGUA MG2, foi de 6,7 ± 1,2 µg g^{-1} (n= 3), o que está coerente com dados da literatura para grãos de café (MARTÍN et al., 1999). O método será aplicado para amostras provenientes da Embrapa Cerrados, que sofreram tratamento com fertilizantes cúpricos.

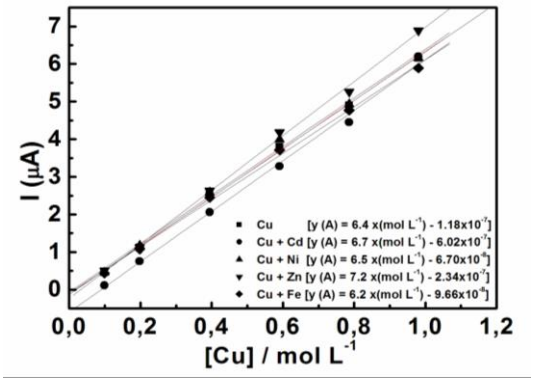


Figura 2: Curvas analíticas obtidas para adições padrão de Cu(II) ($1,0 \times 10^{-4}$ mol L^{-1}) em 10 mL de tampão de fosfato 0,2 mol L^{-1}, pH 7,0, na presença de Cd(II), Zn(II), Ni(II) e Fe(II) a $1,0 \times 10^{-5}$ mol L^{-1}.

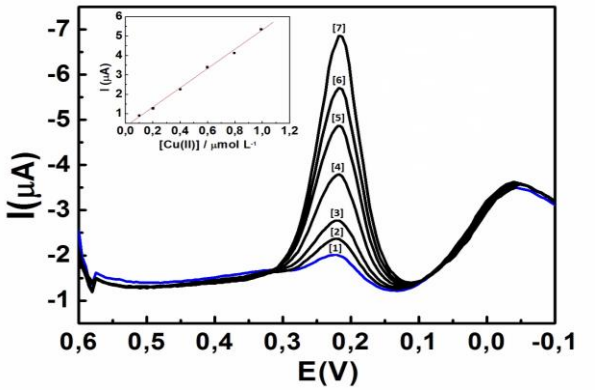


Figura 3: Voltamogramas de pulso diferencial obtidos de 200 μL de amostra de café (CATIGUA MG2) [1], em 10 mL de tampão de fosfato 0,2 mol L^{-1}, pH 7,0, com seis adições padrão de 10 μL de Cu(II) a $1,0 \times 10^{-4}$ mol L^{-1} [2] à [7]. (Ei) = 0,6 V, (Ef) = -0,1 V, amplitude do pulso = 50 mV, velocidade de varredura (υ) = 50 mV s^{-1}, eletrodo de trabalho: eletrodo de ouro modificado com o peptídeo, eletrodo de referência: Ag/AgCl (KCl 3 mol L^{-1}), eletrodo auxiliar: fio de platina.

4 CONCLUSÃO

A metodologia mostrou-se de boa precisão e exatidão e limites baixos de detecção e quantificação. Estudos de seletividade do biossensor por análise de cobre na presença de Cd(II), Zn(II), N(II) e Fe(II) mostraram que estes íons metálicos não causaram interferência significativa na faixa analítica de Cu(II) pelo biossensor. Os resultados apresentados mostraram a eficiência do biossensor peptídico na determinação de Cu(II) em amostras de café.

AGRADECIMENTOS
Embrapa, Capes, CNPq.

REFERÊNCIAS

CHOW, E. *et al*. Electrochemical detection of lead ions via the covalent attachment of human angiotensin I to mercaptopropionic acid and thioctic acid self-assembled monolayers. Analytica Chimica Acta, v.543, n.1-2, p.167-176, julho 2005.

INMETRO. DOC-CGECRE-008. Orientação sobre validação de métodos analíticos, Revisão 5, 2016.

LILLO, V. *et al*. Transition metal complexes with oligopeptides: single crystals and crystal structures. Dalton Transactions, v.43, n.26, p.9821-9833, julho 2014.

MARTÍN, M. J. *et al*. Characterization of arabica and robusta roasted coffee varieties and mixture resolution according to their metal content. Food Chemistry, v.66, n.3, p.365-370, agosto 1999.

MUÑIZ-VALENCIA, R. *et al*. Geographical differentiation of green coffees according to their content by means of supervised patttern recognition techniques. Food Analytical Methods, v.6, n.5, p.1271-1277, outubro 2013.

SAPSFORD, K E. *et al*. Functionalizing nanoparticles with biological molecules: Developing chemistries that facilitate nanotechnology. Chemical Reviews, v.113, n.3, p.1904-2074, março 2013.

SEKHON, B.S. *et al*. Nanotechnology in agri-food production: an overview. Nanotechnology, Science & Applications, v.7, n.31, p.31-53, maio 2014.

PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOCOMPÓSITOS DE POLI(ÁLCOOL VINÍLICO) CONTENDO POLIANILINA E NANOESTRUTURAS DE CELULOSE

Cristine C. Fulchini[1], Rodrigo K. Oliveira[1], Luis M. G. Silva[1], Ana C. Corrêa[2], José M. Marconcini[2], Everaldo C. Venancio[1]

[1] Centro de Engenharia, Modelagem e Ciências Sociais Aplicadas (CECS), Universidade Federal do ABC, Santo André, SP, Brasil.
cristine.fulchini@ufabc.edu.br
[2] Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP, Brasil.

Classificação: desenvolvimento de sensores e biosensores.

Resumo
Os benefícios ambientais alcançados pelo emprego de fibras naturais somado as possíveis propriedades concedidas por estas conduzem ao crescente interesse pelo emprego destas como reforço em materiais compósitos. Da mesma forma, os polímeros condutores vêm atraindo crescente interesse de pesquisadores por possuírem propriedades singulares. Diante disso, o objetivo deste trabalho é obter sistemas multifásicos compostos de poli(álcool vinílico) (PVOH), celulose, e polianilina (PANI) a partir das técnicas de eletrofiação e *casting*. Através das imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi observado que a massa molar do polímero, a concentração deste na solução polimérica, a tensão aplicada durante o processo de eletrofiação, dentre outros fatores, influenciam diretamente na morfologia e propriedades dos filmes obtidos. Por meio da técnica de difração de raios-X (DRX) foi possível caracterizar a celulose como sendo do tipo I.

Palavras-chave: Nanocompósitos; Poli(álcool vinílico), Polianilina, Celulose, Eletrofiação.

PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF POLY(VINYL ALCOHOL) NANOCOMPOSITES CONTAINING POLYANILINE AND CELLULOSE NANOSTRUCTURES,

Abstract
The environmental benefits achieved by the use of natural fibers and the possible properties granted by them lead to the increasing interest in their use as reinforcement in composite materials. Similarly, conductive polymers have been getting the researchers' interest because of their unique properties. Therefore, the objective of this work is to obtain multiphase systems composed of poly(vinyl alcohol) (PVA), cellulose, and polyaniline (PANI) from the electrospinning and casting techniques. By scanning electron microscopy (SEM), it was observed that the molar mass of the polymer, its concentration in the polymer solution, and the voltage applied during the electrospinning process, among other factors, influence the morphology and properties of the films obtained. By X-ray diffraction (XRD) technique, it was possible to characterize cellulose as being type I.
Keywords: Nanocomposites; Poly(vinyl alcohol); Polyaniline; Cellulose; Electrospinning.

Publicações relacionadas: Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) - Universidade Federal do ABC. Em andamento.

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, os nanocompósitos de matriz polimérica têm atraído a atenção de pesquisadores de diversos campos devido às propriedades únicas por eles apresentadas. Tais propriedades dependem da natureza de cada um dos componentes, bem como da interação existente entre eles. Melhorias nas propriedades mecânicas, térmicas, elétricas, magnéticas, entre outras, podem ser alcançadas através da combinação de dois ou mais materiais.

Dentre os polímeros utilizados como matriz no fabrico de materiais compósitos, o poli(álcool vinílico) (PVOH) destaca-se por ser solúvel em água, por apresentar excelentes propriedades adesivas, resistência a solventes, boas propriedades interfaciais e mecânicas, resistência a passagem de gases, biodegrabilidade, etc (ARANHA; LUCAS, 2001).

A polianilina (PANI) destaca-se entre os polímeros intrinsicamente condutores por apresentar baixo custo, facilidade de preparação, estabilidade, e também por suas propriedades elétricas, o que faz com que suas principais aplicações estejam voltadas para sensores e dispositivos eletrônicos. No entanto, a PANI apresenta dificuldade de processamento, baixa resistência mecânica na forma de filme, e é insolúvel ou possui baixa solubilidade na maioria dos solventes (HE, 2016). Devido a isso, a PANI é comumente combinada com outros polímeros, formando um compósito funcional com melhores propriedades físicas.

Também é recorrente o emprego de fios e fibras sintéticas como reforço em materiais compósitos visando melhoria nas características mecânicas. No entanto, a grande disponibilidade das fibras vegetais, a baixa densidade e as boas propriedades mecânicas fornecidas por elas, são motivos que levaram à crescente aplicação destes materiais em compósitos como substituintes das fibras sintéticas (BLEDZKI; GASSAN, 1999). Dentre as possíveis fontes de fibras vegetais, a celulose vem recebendo atenção especial não somente devido à sua abundância, mas também por possuir propriedades mecânicas, óticas, e boa adesão, o que é interessante, principalmente, para aplicações em dispositivos eletrônicos.

Neste sentido, estes sistemas demonstram ser uma excelente opção para aplicações na área da eletrônica. Adicionalmente, a obtenção e o estudo das propriedades de sistemas multifásicos compostos de PVOH, PANI e nanocelulose torna-se também interessante devido às propriedades que estes podem vir a apresentar.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os reagentes foram utilizados no seu estado de fornecimento. A anilina (99,0 % p.a.), o hidróxido de amônio (27,0 % p.a.) e o persulfato de amônio (≥ 98,0 % p.a.) foram fabricados pela Synth®. O ácido clorídrico (≥ 37 % p.a.) foi adquirido da Sigma-Aldrich. O ácido docecilbenzeno sulfônico (~90 % p.a.) foi adquirido da marca Fluka. O poli(álcool vinílico) Elvanol® 51-05 é proveniente da DuPont, poli(álcool vinílico) Celvol® 523 da Basf, e a nanocelulose foi cedida pela Embrapa.

A polianilina foi sintetizada utilizando-se as condições de concentração molar de anilina e APS na razão de 4:1, a qual é utilizada no método de síntese química convencional, desenvolvido por MacDiarmid. Uma solução de 0,05% de celulose dispersa em água destilada foi preparada com o auxílio do processador ultrassônico Sonics Vibra-Cell^{TM}, modelo VCX 750, sendo a temperatura empregada no processo de 40°C, a amplitude da ponta da sonda manteve-se constante em 40%.

As soluções de PVOH, PANI e celulose foram preparadas através de agitação magnética e em seguida foram utilizadas para a obtenção das amostras por *casting* e eletrofiação. As composições estão descritas na Tabela 1.

Tabela 1. Composições das amostras utilizadas neste estudo

Amostra	PVOH (%)	PANI (%)	Celulose (%)
PVOH	100	0	0
PVOH/PANI (1)	80	20	0
PVOH/PANI (2)	60	40	0
PVOH/CnF (1)	99	0	1
PVOH/CnF (2)	98	0	2
PVOH/PANI/CnF (1)	79	20	1
PVOH/PANI/CnF (2)	59	40	1
PVOH/PANI/CnF (3)	78	20	2
PVOH/PANI/CnF (4)	58	40	2

Os parâmetros de eletrofiação empregados foram: tensão 23 KV, distância de trabalho 10 cm, vazão 0,5 $mL.h^{-1}$.

As amostras recobertas com ouro foram caracterizadas morfologicamente utilizando-se um microscópio eletrônico de varredura compacto modelo JSM-6010 (JEOL). O potencial de aceleração do feixe de elétrons aplicado foi de 10 KV e 20 KV.

O difratograma de raio X da amostra de celulose foi obtido por meio do difratômetro de raio X (D8 Focus, Bruker). No ensaio foi utilizada tensão de 40 KV, corrente de 40 mA, radiação CuKα (λ = 1,5406 Å) e com ângulos de difração 2Θ entre 10° e 50° (2° min^{-1}).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi estudada a influência dos parâmetros de trabalho sobre o processo de eletrofiação. A Figura 1 ilustra a influência da massa molar sobre o processo de conversão das soluções poliméricas em fibras.

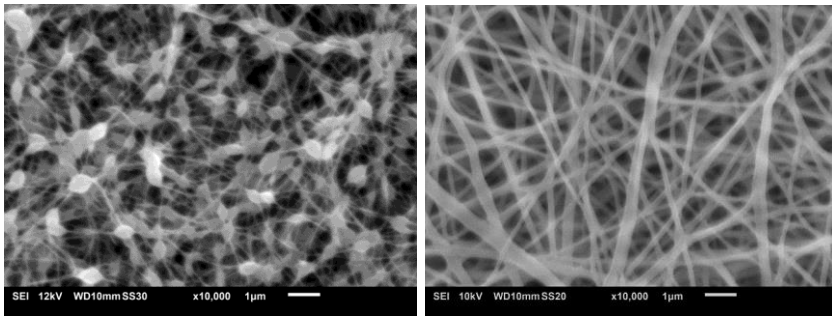


Figura 1. MEV da amostra de PVOH Elavnol 51-05 (esq.) eletrofiada com vazão de 0,5 $mL.h^{-1}$, distância de trabalho de 10 cm, tensão aplicada de 15 KV; e da amostra de PVOH Celvol 523 (dir.) eletrofiada com vazão de 0,5 $mL.h^{-1}$, distância de trabalho de 10 cm, tensão aplicada de 23 KV.

A morfologia dos compósitos também foi analisada com auxílio de imagens obtidas por MEV.

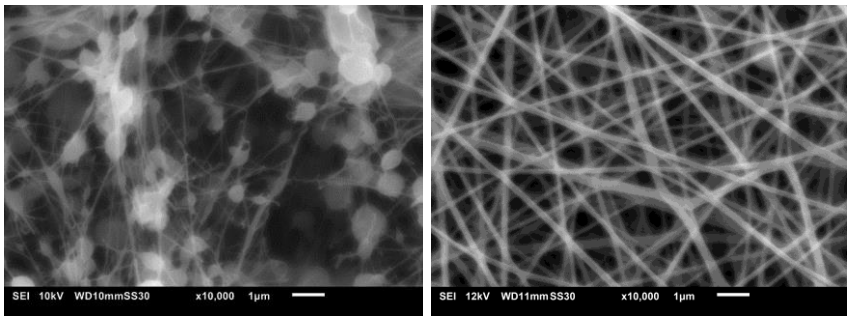


Figura 2. MEV da amostra de PVOH Elvanol 51-05 + 40% PANI (esq.) eletrofiada com vazão de 0,5 $mL.h^{-1}$, distância de trabalho de 10 cm, tensão aplicada de 20 KV; e de PVOH Celvol 523 + 40% PANI (dir.) eletrofiada com vazão de 0,5 $mL.h^{-1}$, distância de trabalho de 10 cm, tensão aplicada de 23 KV.

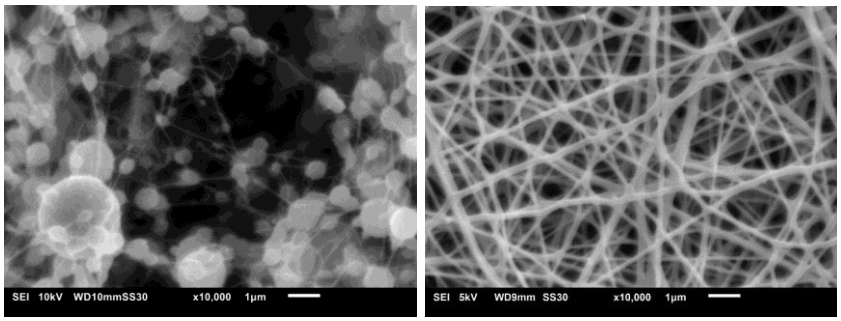


Figura 3. MEV da amostra de PVOH Elvanol 51-05 + 2% CnF (esq.) eletrofiada com vazão de 0,5 $mL.h^{-1}$, distância de trabalho de 10 cm, tensão aplicada de 20 KV; e de PVOH Celvol 523 + 2% CnF (dir.) eletrofiada com vazão de 0,5 mL.h-1, distância de trabalho de 10 cm, tensão aplicada de 23 KV.

Analisando as imagens obtidas por MEV é possível concluir que o emprego do PVOH Celvol permite a obtenção de um material com melhores propriedades mecânicas, uma vez que se observa a formação de fibras e raras contas, enquanto que no PVOH Elvanol se observa a formação de fibras curtas e finas com a presença inúmeras contas, indicando fragilidade do material obtido.

Foi realizada DRX da celulose (Figura 4) conforme recebida, a fim de classificá-la quanto ao seu tipo.

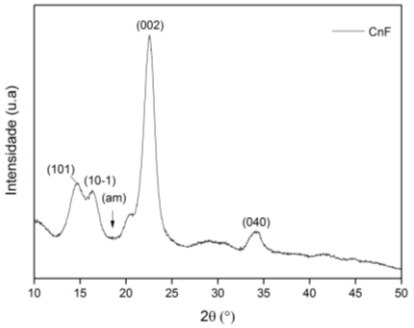


Figura 4. Difratograma de raios X da celulose.

No difratograma de raio X da celulose podem ser observados três picos principais, localizados próximos a 2Θ = 15°, 22° e 35°, que correspondem aos planos cristalográficos (101), (002) e (040), respectivamente. Como a fração cristalina está localizada entre $22° \leq 2\Theta \leq 23°$ e a fração amorfa entre $18° \leq 2\Theta \leq 22°$, trata-se da celulose I.

4 CONCLUSÃO

A obtenção de nanofibras foi possível por meio da técnica de eletrofiação. No entanto, conforme esperado, verificou-se que os parâmetros de trabalho exercem grande influência na conversão das soluções poliméricas em nanofibras. Foi evidente a influência da massa molar do polímero tanto durante o processo de eletrofiação em si, quanto nas propriedades dos filmes obtidos, uma vez que o PVOH de baixa massa molar ofereceu dificuldades durante a eletrofiação, gerando um filme de baixa resistência mecânica, enquanto que o PVOH Celvol (de massa molar maior) apresentou melhores propriedades mecânicas.

Através da análise de DRX foi possível verificar que a celulose utilizada no trabalho é tipo I.

Espera-se que a adição de PANI ao material conduza a obtenção de um material com propriedades elétricas, e que a adição de celulose leve a melhoria das propriedades mecânicas. Algumas caracterizações, que não foram aqui mencionadas, já foram realizadas, no entanto, para que seja possível chegar a tais conclusões é necessário que caracterizações adicionais sejam realizadas.

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais da UFABC (bolsa de mestrado). À Embrapa Instrumentação (J. M. Marconcini, A. C. Corrêa, L. H. C. Mattoso) por cederem a nanocelulose utilizada neste trabalho.

REFERÊNCIAS

ARANHA, I. B.; LUCAS, E. F., Poli(Álcool Vinílico) Modificado com Cadeias Hidrocarbônicas: Avaliação do Balanço Hidrófilo/Lipófilo. Polímeros, v. 11, n. 4, 2001.

HE, W; et. al., Characterization and Properties of Cellulose Nanofiber/Polyaniline Film Composites Synthesized through in Situ Polymerization. BioResouces, v. 11, n. 4, p. 8535-8547. 2016.

BLEDZKI, A. K.; GASSAN, J. Composites reinforced with cellulose based fibres. Progress in Polymer Science, v. 24, n. 2, p. 221-274, 1999.

DESENVOLVIMENTO DE UM SISTEMA DE CONTROLE AUTÔNOMO DE IRRIGAÇÃO BASEADO EM MICROCONTROLADOR

M.T. Neiva[1]*, J.E. de Oliveira[1]

[1]Departamento de Engenharia - Universidade Federal de Lavras.
**matheusneiva@engautomacao.ufla.br*

Classificação: Desenvolvimento de sensores e biossensores nanoestruturados.

Resumo
O presente trabalho teve como objetivo, desenvolver um sistema de irrigação autônomo, afim de otimizar o manejo de água e energia elétrica no campo. A partir do uso de microcontroladores, sensores e atuadores, pode-se viabilizar a aplicação da fórmula de cálculo de evapotranspiração de Penman-Monteith. Desenvolveu-se um protótipo eletrônico para o controle dos atuadores do sistema, com o qual foi possível acionar contatores industriais, os quais são utilizados para o acionamento de válvulas e motores, os quais são os principais atuadores dos sistemas de irrigação atuais. Além disto, foi feito o depósito de uma patente de invenção no INPI de número BR 10 2017 013619 1.
Palavras-chave: Penman-Monteith; Autônomo; Irrigação; Microcontroladores

AUTONOMOUS IRRIGATION CONTROL SYSTEM DEVELOPING MICROCONTROLLER BASED

Abstract
This work´s goal is the development of an autonomous irrigation system, to optimize the water and electric energy usage in the crop. By using microcontrollers, sensors and actuators, the use of the Penman-Monteith evapotranspiration equation is possible. An electronic prototype was developed to control of actuators of system, with which it is possible to visualize industrial contacts, which are used for the drive of valves and motors, which are the main actuators of the current irrigation systems. Besides that, a patent of invention has been deposited on INPI number BR 10 2017 013619 1.
Keywords: Penman-Monteith; Autonomous; Irrigation; Microcontrollers.

Publicações relacionadas: Patente de Invenção BR 10 2017 013619 1.

1 INTRODUÇÃO

O setor agrícola é hoje o maior consumidor de recursos hídricos no Brasil. Visto isto, iniciou-se o desenvolvimento de um sistema de irrigação autônomo, o qual utilizaria a equação de cálculo de evapotranspiração de Penman-Monteith como base para conseguir verificar o exato valor de espessura da lâmina d'água a ser aplicada. (MOREIRA, 2002).

Para conseguir se aplicar esta lâmina, é necessário que o sistema consiga controlar bombas, válvulas e outros diversos equipamentos de potência de um sistema de irrigação. Para isto, é necessário o uso de relés. Com isto, viu-se a necessidade de otimizar o uso dos pinos do microcontrolador, visto que um sistema de irrigação possui diversos atuadores, além de diversas variáveis necessitarem de monitoramento para conseguir aplicar a equação de Penman-Monteith. (BERGAMASCHI, 1992).

Neste contexto, desenvolveu um controlador de atuadores, que consegue receber um sinal serial de 3 fios e controlar teoricamente infinitos atuadores.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Materiais

Para o desenvolvimento do protótipo, foi escolhida a plataforma Arduino, devido a sua facilidade de desenvolvimento e implementação. Utilizou-se o Arduino MEGA 2560, o qual tem como base, o microcontrolador Atmel ATmega2560. Este dispositivo possui memória flash de 256 kBytes, arquitetura AVR de 8-bit, 86 pinos I/O de uso geral, conversor ADC de 16 canais, clock de 16 MHz, 32 portas de interrupção externa e duas interfaces de comunicação serial. (ATMEL, 2014).

No desenvolvimento das PCBs, utilizou-se o software Proteus para o design e simulação, devido a facilidade de utilização das ferramentas.

2.2 Métodos

Para reduzir otimizar o uso das portas do microcontrolador, utilizou-se o circuito integrado (CI) 74HC595, um Shift Register, o qual tem 3 pinos de entrada e 9 de saída de dados. Pelos pinos de entrada recebem os dados em um formato serial de 8 bits e os transformam para paralelo. Pode-se também ligar vários CIs em série, podendo utilizar os mesmos 3 pinos de entrada e controlar teoricamente infinitos pinos de saída. (TEXAS INSTRUMENTS, 2015).

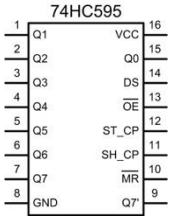


Figura 1. Pinagem do Shift Register 74HC595.

Os pinos de entrada deste CI são Data ou DS, Latch ou ST_CP e Clock ou SH_CP. O pino Data recebe os dados em formato serial. O pino Clock, recebe o Clock de sincronia dos dados. Já o pino Latch serve como gatilho para dizer ao CI que os dados começaram a ser enviados naquele instante.

Os pinos de saída deste CI são Q0, Q1, Q2, Q3, Q4, Q5, Q6, Q7 e Q7'. Os pinos Q0 a Q7, são os pinos de saída em paralelo. Cada pino representa um bit do dado serial. O pino Q7' é um pino de saída de dados serial, o qual vai ligado ao pino data do próximo CI (quando houver).

Devido ao fato dos sinais de saída do 74HC595 ser muito fraco, necessita-se de uma amplificação. Para isto, utilizou-se o CI ULN2803, o qual consiste em 8 transistores darlington com sinal de até 1A. (TEXAS INSTRUMENTS, 2017).

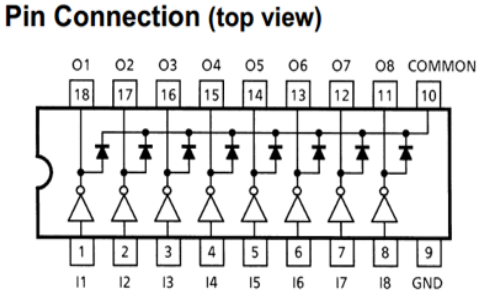


Figura 2. Pinagem do ULN2803.

Os pinos I1 a I8, consistem nas entradas do sinal e os pinos O1 a O8 são as saídas. Este CI, chaveia o GND (terra) do mesmo, ou seja, quando há um sinal de entrada lógico 1, ele conecta o respectivo pino de saída ao GND. (TEXAS INSTRUMENTS, 2017).

Com isto, foi possível acionar relés, os quais acionam os contatores industriais usados para acionar as diversas cargas utilizadas nos sistemas de irrigação existentes, como exemplo motores trifásicos.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A simulação realizada funcionou como esperado, visto que foi possível acionar os relés como programado no código do microcontrolador. Isto pode ser visto na Figura 3 abaixo.

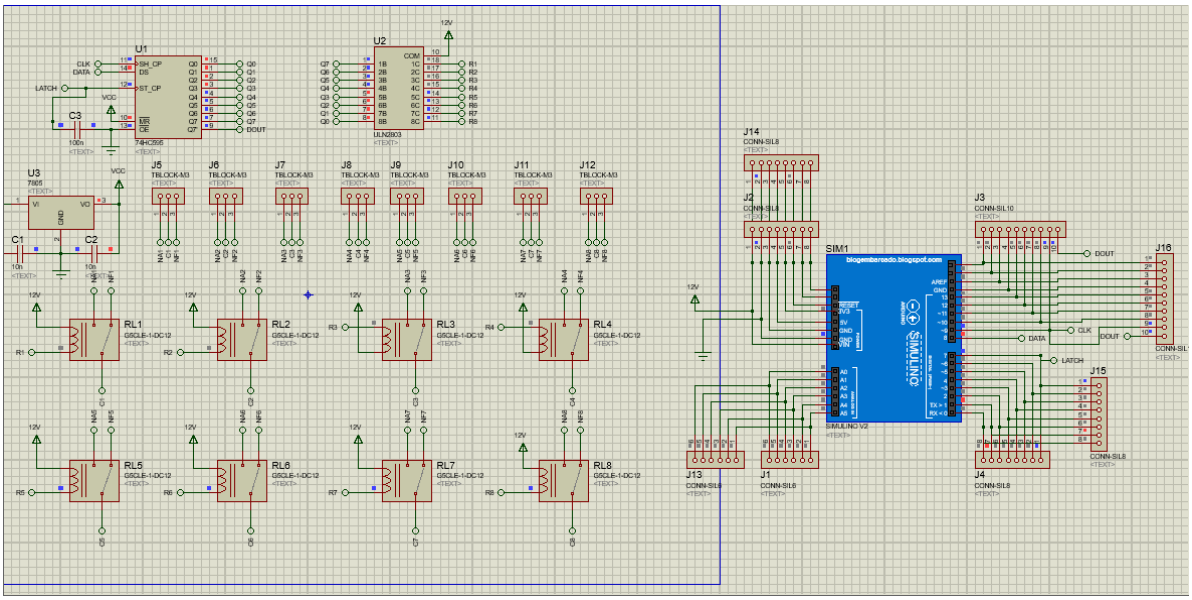


Figura 3. Simulação do circuito.

Pode ser percebido na Figura 3 o acionamento dos relés por meio da comunicação serial do microcontrolador com o 74HC595. Os quadrados ao lado dos pinos indicam o estado lógico em que eles se encontram naquele instante. A cor vermelha representa 1, ou seja, tem um valor de 5V ou 12V. A cor azul representa o valor lógico 0, ou seja, ele está conectado ao GND (terra), que apresenta 0V. A cor cinza representa que o pino não está conectado a nada.

Foi realizada também uma simulação no ambiente real, com somente um relé. Neste ambiente, o circuito também funcionou como esperado, sendo possível armar o relé sem dificuldades. Abaixo, Figuras 4 e 5 com o circuito projetado e real respectivamente.

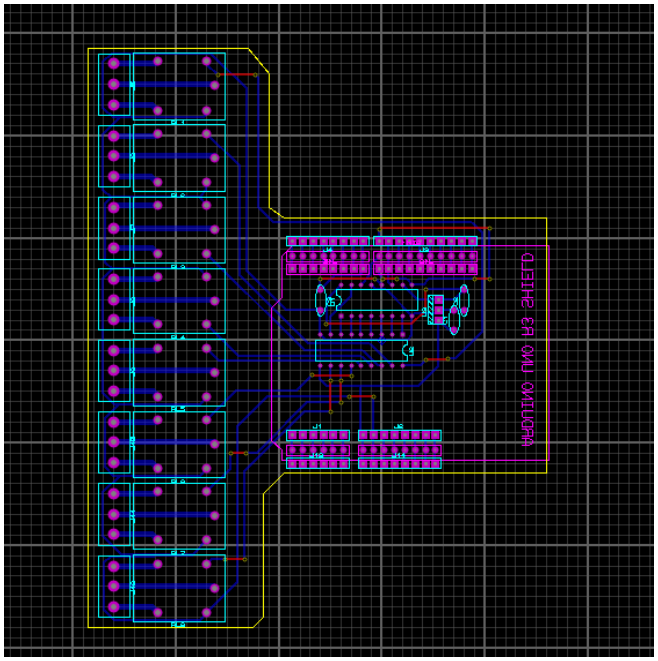


Figura 4. Circuito projetado.

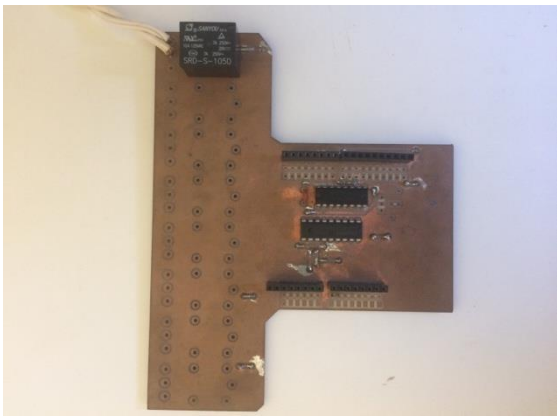


Figura 5. Circuito real.

As próximas ações a serem feitas são o desenvolvimento da interface dos sensores para que se possa ler dados do ambiente, aplica-los na equação Penman-Monteith e acionar os atuadores para que seja feita a irrigação e fertirrigação de forma sustentável. Neste ponto insere-se o uso da nanotecnologia, utilizando sensores nanoestruturados para a detecção dos macronutrientes do solo e com isto, ser possível reduzir os impactos do mau uso de fertilizantes no campo.

4 CONCLUSÃO

Tendo em vista os resultados obtidos até o presente momento, foi possível produzir um controlador de atuadores funcional e de baixo custo. Estas características são essenciais para um produto comercial, visto que oferecem competitividade ao produto.

REFERÊNCIAS

BERGAMASCHI, H. Agrometeorologia aplicada à irrigação. 1ª ed. Porto Alegre: Ed. Universidade / UFRGS, 1992. 125 p.

MOREIRA, H. M. Desempenho de métodos de manejo de irrigação para a cultura do tomateiro cultivado em campo e em casa de vegetação. Tese Mestrado em Engenharia Agrícola – Universidade Federal de Viçosa, UFV, Viçosa, 2002.

ATMEL. Datasheet ATmega2560 – Rev: Feb 2014. Disponível em: < http://www.atmel.com/Images/Atmel-2549-8-bit-AVR-Microcontroller-ATmega640-1280-1281-2560-2561_datasheet.pdf>. Acesso em: 14 set. 2017.

TEXAS INSTRUMENTS. Datasheet 74HC595 – Rev: Sep 2015. Disponível em: <http://www.ti.com/lit/ds/symlink/sn74hc595.pdf>. Acesso em: 14 set. 2017.

TEXAS INSTRUMENTS. Datasheet ULN2803 – Rev: Feb 2017. Disponível em: <http://www.ti.com/lit/ds/symlink/uln2803a.pdf>. Acesso em: 14 set. 2017.

POLIANILINA POLIMERIZADA *IN SITU* COMO PLATAFORMA FLEXÍVEL E DESCARTÁVEL PARA DETECÇÃO DE AMÔNIA

Rafaela. S. Andre[1,2,3], Jun Chen[4], Dongwook Kwak[5], Daniel S. Correa[2,3], Luiz H. C. Mattoso[2,3] and Yu Lei[1]

[1]*Departamento de Engenharia Química e Biomolecular, Universidade de Connecticut, CT, USA.*
[2] *Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio (LNNA) - Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP.*
[3] *Centro de Ciências Exatas e da Terra, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP*
[4] *Departamento de Engenharia Biomédica, Universidade de Connecticut, CT, USA*
[5] *Departamento de Engenharia e Ciência de Materiais, Universidade de Connecticut, CT, USA*

Classificação: Desenvolvimento de sensores e biossensores nanoestruturados.

Resumo
Amônia é um gás encontrado em ambientes como granjas de frango e áreas de confinamento de gado. Resultante da decomposição de compostos nitrogenados, em altas concentrações a amônia é prejudicial ao crescimento dos animais e à produção resultando em prejuízo para o produtor. Neste trabalho, foi desenvolvido um dispositivo flexível e descartável à base de papel com *coating* de polianilina com ótimo desempenho para detecção de baixas concentrações de amônia em temperatura ambiente. O dispositivo apresentou limite de detecção de 125 ppb e sensibilidade de 0,97% por ppm de amônia, características que aliadas ao baixo custo do dispositivo, indicam o seu alto potencial para monitoramento de emissão de amônia.

Palavras-chave: Polianilina; Polimerização *in situ*; Dispositivo flexível; Descartável; Sensor de amônia.

POLYANILINE *IN SITU* POLYMERIZED AS FLEXIBLE AND DISPOSEABLE SENSOR FOR AMMONIA DETECION

Abstract
Ammonia is a gas found in environments such as chicken farms and livestock confinement areas. Resulting from nitrogenated compounds decomposition, ammonia emission can reach toxic concentrations, leading to problems in poultry growth and money loss to the farmer. Here, it was developed a flexible and disposable paper based device coated with polyaniline, which showed an outstanding performance as ammonia sensor, capable of detecting low concentrations of ammonia at room temperature. The device showed a detection limit of 125 ppb and a sensitivity of 0.97% per ppm of ammonia, characteristics that, along with the low cost, indicate its high potential for ammonia emission monitoring.

Keywords: Polyaniline; *In situ* polymerization; Flexible device; Disposable device; Ammonia sensor.

Publicações relacionadas: Andre, Rafaela. S. et al. A flexible and disposable poly(sodium 4-styrenesulfonate)/ polyaniline coated glass microfiber paper for sensitive and selective detection of ammonia at room temperature. **Synthetic Metals,** v. 233, p. 22–27, nov. 2017.

1 INTRODUÇÃO

O Brasil ocupa atualmente a terceira colocação mundial na produção de aves de corte, o que representa uma parcela muito significativa da economia. Assim, é de grande interesse o controle e o monitoramento da qualidade dos ambientes para criação e engorda das aves, principalmente com relação à emissão de amônia. Esta amônia é proveniente da decomposição de compostos nitrogenados provenientes dos dejetos animais e pode prejudicar o crescimento das aves ou ainda levar a morte

dependendo da concentração. Atualmente, as práticas gerais para controlar os níveis de amônia nas granjas de frango incluem boa limpeza doméstica, gerenciamento de lixo e sistemas contínuos de ventilação (ZHAO et al., 2015). Assim, é de grande interesse o desenvolvimento de sensores de baixo custo, sensíveis e seletivos, para monitorar a concentração de amônia, maximizando assim a eficiência das práticas acima mencionadas no controle do nível de amônia nas granjas de frango.

Ao longo dos últimos anos, vários sensores de amônia foram desenvolvidos (CHRISTIE et al., 2003; LI et al., 2011; KUMAR et al., 2014). Uma ampla variedade de materiais funcionais tem sido empregada como plataformas de detecção de NH_3 incluindo óxidos inorgânicos, nanotubos de carbono, polímeros condutores e materiais compósitos (GHOSH et al., 2015; BOZETINE et al., 2016; GUO et al., 2016; ANDRE et al., 2017b; LUO et al., 2017). A polianilina (PANI) é um polímero condutor largamente empregado em plataformas sensoriais, geralmente aliada a eletrodos interdigitados, produzidas por rota simples e econômica, com boa flexibilidade mecânica apresentando potencial para a detecção de baixas concentrações de amônia a temperatura ambiente (BASAK et al., 2013; XU et al., 2013; ZHANG et al., 2014).

Neste trabalho, um substrato de papel a base de microfibra de vidro (GFP) foi empregado como suporte para preparar um sensor flexível, descartável e de baixo custo para detecção de NH_3 a temperatura ambiente. O substrato foi revestido com PANI, polimerizada *in situ* a partir do monômero anilina, e poliestireno sulfonato de sódio (PSS). O recobrimento polimérico foi caracterizado por diferentes técnicas, incluindo medidas de condutividade, microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia na região do infravermelho (FTIR). A plataforma GFP@PSS/PANI foi então empregada para fabricação de um sensor do tipo resistivo para monitoramento e detecção de NH_3. Após a exposição à amônia, o sensor desenvolvido mostrou baixos tempos de resposta, alta sensibilidade, reversibilidade e com boa seletividade quando testado para outros interferentes comuns em granja de frango, como dióxido de nitrogênio e monóxido de carbono. Por fim, foi proposto um mecanismo de detecção para ilustrar o excelente desempenho da plataforma otimizada GFP@PSS/PANI.

2 MATERIAL E MÉTODOS

As plataformas flexíveis foram fabricadas a partir da técnica de *drop-casting* seguida por um processo de polimerização *in situ* da PANI. O papel de fibra de vidro (Whatman™ 934-AH™) foi adquirido da GE Healthcare Bio-Sciences Corp. A anilina ($C_6H_5NH_2$, 99,5%), persulfato de amônia (APS - $(NH_4)_2S_2O_8$, 99,99%) e o poliestireno sulfonato de sódio (PSS - Mw ~1,000,000) foram comprados da Sigma Aldrich.

Os dispositivos foram preparados a partir de uma solução 0,04 mol.L^{-1} de anilina, 0,05 mol L^{-1} de APS e uma 0,1 mol L^{-1} de PSS. Em seguida, as três soluções foram adicionadas ao substrato GFP em diferentes sequências para preparar diferentes dispositivos sensores. Essa variação da ordem de adição foi empregada para comparar o desempenho de cada camada para detecção de amônia gasosa e assim otimizar o procedimento de fabricação. O volume de solução de PSS, anilina e APS adicionados foi de 50 mL cada. Os dispositivos foram secos sob condições ambientais durante 12 horas.

Para confirmar o recobrimento do substrato de papel com PANI e PSS as amostras foram caracterizadas por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) utilizando-se um espectrômetro Nicolet Magna-IR 560. A homogeneidade da superfície e a uniformidade do revestimento polimérico foram caracterizadas por microscopia eletrônica de varredura (JEOL 6335F) (MEV-FEG). A resposta do sensor (variação da corrente) foi monitorada continuamente usando um analisador de impedância eletroquímico modelo CHI 660D (CH Instruments Inc., EUA). A corrente do sensor foi medida continuamente durante os diversos ciclos de fluxo de gás. A resistência elétrica do sensor foi calculada pela aplicação da Lei de Ohm (R = V/I) e a variação de resistência observada poderia estar diretamente relacionada à concentração de amônia e normalizada como $\Delta R / R_0\% = [(R_0 - R_g) / R_g] \times 100\%$, onde R_0 é a resistência elétrica do sensor em ar sintético e R_g é a resistência medida em NH_3.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste trabalho foram obtidas plataformas flexíveis e descartáveis a base de papel com *coating* de PANI e PSS. Para melhor entendimento da performance do dispositivo, a ordem das camadas de *coating* foi variada, sendo obtidas plataformas com PSS tanto sob quanto sobre a camada de PANI. A polimerização in situ da PANI pode ser acompanhada pela mudança de cor do substrato. No entanto, tanto o *coating* de PANI quanto o de PSS foram confirmados para todas as configurações por espectroscopia na região do infravermelho. As morfologias do papel de microfibra de vidro revestido com as diferentes camadas de polímero foram caracterizadas por MEV-FEG. Pode-se observar que o papel de microfibra de vidro é constituído por numerosas microfibras aleatoriamente orientadas com morfologia e tamanho relativamente uniformes, além disso, o revestimento sequencial de PSS e PANI não alterou a estrutura fibrosa do substrato. A amostra GFP@PSS/PANI apresentou-se altamente flexível, podendo ser dobrado em até 90° sem perda de propriedade mecânica, demonstrando sua excelente flexibilidade mecânica.

As amostras obtidas foram testadas quanto a sua sensibilidade frente a 100 ppm de amônia. As plataformas foram expostas repetidas vezes a mesma concentração de amônia para confirmar a performance. Como pode-se observar na Figura 1a, a amostra GFP@PSS/PANI foi a configuração que apresentou melhor desempenho com rápido tempo de resposta e boa reversibilidade. O ar foi escolhido como gás carregador nos experimentos para simular o ambiente real de detecção. A curva de calibração correspondente do sensor baseado em composto GFP@PSS/PANI em relação a concentração de NH_3 é apresentada na Figura 1b. A resposta apresentou boa reprodutibilidade frente a três ciclos "on-off" da mesma concentração de NH_3 com 29% de variação para apenas 10 ppm de amônia. A sensibilidade, determinada a partir da inclinação do intervalo linear, foi de 0,977% por ppm e limite de detecção de 125 ppb de amônia (S/N=3). O limite de detecção encontrado é significativamente inferior ao valor limite recomendado de 25 ppm para exposição humana. O bom desempenho e a resposta rápida podem ser atribuídos à estrutura altamente porosa e a camada de revestimento ultrafina de PSS/PANI, em que a estrutura porosa permite o acesso livre de moléculas de NH_3 ao material de detecção, enquanto a camada PSS/PANI ultrafina reduz consideravelmente a resistência à difusão.

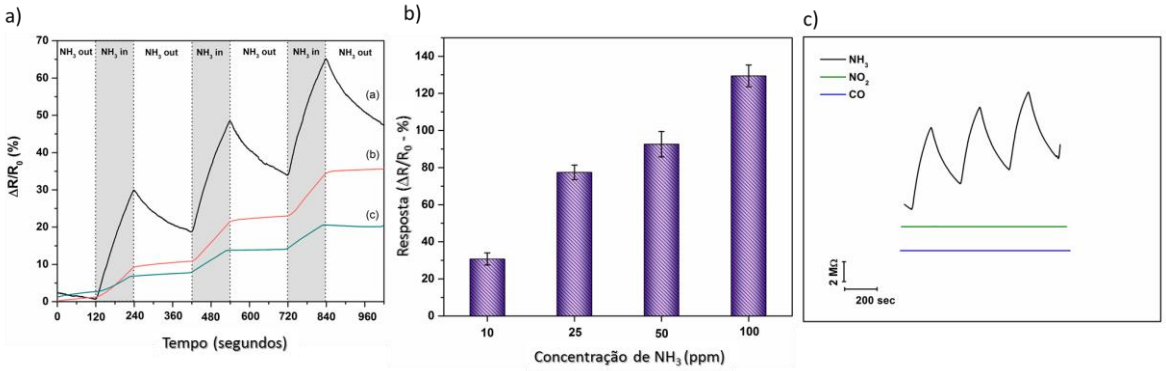


Figura 1: a) Resposta típica para as plataformas I) GFP@PSS/PANI, II) GFP@PANI/PSS e III) GFP@PANI quando expostas a 100 ppm NH_3, b) resposta da plataforma GFP@PSS/PANI para diferentes concentrações de NH_3. Figura adaptada de (ANDRE et al., 2017)

Em geral, os mecanismos de detecção de amônia indicam que a resposta é decorrente da interação entre a amônia e a camada sensível. No caso da PANI, as moléculas de NH_3 interagem com cadeias de polianilina e, assim, promovem a desdopagem das cadeias de PANI. A performance observada para a plataforma GFP@PSS/PANI podem ser atribuídas ao efeito sinérgico entre a densidade de portadores de carga na interface PSS/ PANI e a interação direta entre NH_3 e PANI.

4 CONCLUSÃO

Um dispositivo de baixo custo, flexível e descartável para monitoramento e detecção de amônia gasosa foi desenvolvido com sucesso. O sensor consiste em um papel de microfibra de vidro revestido sequencialmente com poli (4-estirenossulfonato de sódio) e polianilina através de moldagem

por gota e polimerização in situ, respectivamente. Após a exposição à amônia, o dispositivo sensor desenvolvido mostra uma resposta rápida, sensível e reversível com limite de detecção de 125 ppb (S / N = 3) e excelente seletividade contra outros interferentes comuns em granja de frango, como dióxido de nitrogênio e monóxido de carbono. Este estudo fornece uma plataforma simples com alta sensibilidade e com excelente desempenho para detecção e monitoramento NH_3 à temperatura ambiente, indicando o seu grande potencial para diversas aplicações.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio financeiro da CAPES (99999.006608/2015-09), CNPq (402.287/2013-4; 303.796/2014-6), FAPESP, SISNANO/MCTI, FINEP e a rede de pesquisa Embrapa AgroNano.

REFERÊNCIAS

ANDRE, R. S.; CHEN, J.; KWAK, D.; CORREA, D. S.; MATTOSO, L. H. C.; LEI, Y. A flexible and disposable poly(sodium 4-styrenesulfonate)/polyaniline coated glass microfiber paper for sensitive and selective detection of ammonia at room temperature. **Synthetic Metals**, v. 233, p. 22–27, nov. 2017.

ANDRE, R. S.; SHIMIZU, F. M.; MIYAZAKI, C. M.; RIUL, A.; MANZANI, D.; RIBEIRO, S. J. L.; OLIVEIRA, O. N.; MATTOSO, L. H. C.; CORREA, D. S. Hybrid layer-by-layer (LbL) films of polyaniline, graphene oxide and zinc oxide to detect ammonia. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 238, p. 795–801, jan. 2017b.

BASAK, S. P.; KANJILAL, B.; SARKAR, P.; TURNER, A. P. F. Application of electrical impedance spectroscopy and amperometry in polyaniline modified ammonia gas sensor. **Synthetic Metals**, v. 175, p. 127–133, jul. 2013.

BOZETINE, H.; WANG, Q.; BARRAS, A.; LI, M.; HADJERSI, T.; SZUNERITS, S.; BOUKHERROUB, R. Green chemistry approach for the synthesis of ZnO-carbon dots nanocomposites with good photocatalytic properties under visible light. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 465, p. 286–294, dec. 2016.

CHRISTIE, S.; SCORSONE, E.; PERSAUD, K.; KVASNIK, F. Remote detection of gaseous ammonia using the near infrared transmission properties of polyaniline. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 90, n. 1–3, p. 163–169, abr. 2003.

GHOSH, R.; NAYAK, A. K.; SANTRA, S.; PRADHAN, D.; GUHA, P. K. Enhanced ammonia sensing at room temperature with reduced graphene oxide/tin oxide hybrid films. **RSC Adv.**, v. 5, n. 62, p. 50165–50173, may 2015.

GUO, Y.; WANG, T.; CHEN, F.; SUN, X.; LI, X.; YU, Z.; WAN, P.; CHEN, X. Hierarchical graphene–polyaniline nanocomposite films for high-performance flexible electronic gas sensors. **Nanoscale**, v. 8, n. 23, p. 12073–12080, jan. 2016.

KUMAR, N.; SRIVASTAVA, a K.; NATH, R.; GUPTA, B. K.; VARMA, G. D. Probing the highly efficient room temperature ammonia gas sensing properties of a luminescent ZnO nanowire array prepared via an AAO-assisted template route. **Dalton Transactions**, v. 43, n. 15, p. 5713, jun. 2014.

LI, C.; SOLOMON, V. C.; DURIS, P. D.; WANG, L.; WANG, L. Synthesis and characterization of ZnO-In2O3 junction structure. **Materials Letters**, v. 65, n. 1, p. 113–115, jan. 2011.

LUO, C. S.; WAN, P.; YANG, H.; SHAH, S. A. A.; CHEN, X. Healable Transparent Electronic Devices. **Advanced Functional Materials**, v. 27, n. 23, p. 1606339, jun. 2017.

XU, D.-M.; GUAN, M.-Y.; XU, Q.-H.; GUO, Y. Multilayer films of layered double hydroxide/polyaniline and their ammonia sensing behavior. **Journal of Hazardous Materials**, v. 262, p. 64–70, nov. 2013.

ZHANG, Y.; KIM, J. J.; CHEN, D.; TULLER, H. L.; RUTLEDGE, G. C. Electrospun Polyaniline Fibers as Highly Sensitive Room Temperature Chemiresistive Sensors for Ammonia and Nitrogen Dioxide Gases. **Advanced Functional Materials**, v. 24, n. 25, p. 4005–4014, jul. 2014.

ZHAO, Y.; SHEPHERD, T. A.; LI, H.; XIN, H. Environmental assessment of three egg production systems– Part I: Monitoring system and indoor air quality. **Poultry Science**, v. 94, n. 3, p. 518–533, mar. 2015.

CAPÍTULO 3

Processamento de filmes nanoestruturados para embalagens e conservação de alimentos

FILMES DE AMIDO DE AMÊNDOA DE MANGA COM NANOCRISTAIS DE AMIDO

Ana Vitória de Oliveira[1]; Ana Priscila Monteiro da Silva[1]; Men de sá Moreira de Souza Filho[2]; Morsyleide F. Rosa[2]; Henriette M. Cordeiro de Azeredo[2,*]

1 Universidade Federal do Ceará ; 2 Embrapa Agroindústria Tropical
** henriette.azeredo@embrapa.br*

Classificação: Processamento de filmes nanoestruturados para embalagens e conservação de alimentos.

Resumo

O processamento de manga gera 40-45% de subprodutos de alto valor potencial agregado. A amêndoa da semente (13% da massa do fruto) contém mais de 50% de amido. Apesar das vantagens do amido (abundância, renovabilidade e biodegradabilidade), filmes de amido têm limitadas propriedades de barreira e mecânicas, que podem ser melhoradas pela incorporação de nanocristais de amido (NCA). O objetivo foi desenvolver filmes bionanocompósitos de amido de amêndoa de manga incorporados com diferentes teores de NCA (0-10% m/m), comparando-os com filmes correspondentes de amido comercial de milho. A adição de NCA aumentou a resistência à tração e o módulo de Young, e reduziu a permeabilidade ao vapor de água, mas prejudicou a transparência e elongação. Os filmes de amido de manga apresentaram propriedades comparáveis às de filmes de amido comercial, com maiores valores de resistência à tração, módulo de Young e opacidade.
Palavras-chave: Biorrefinaria, Nanoamido, Filmes biodegradáveis.

MANGO KERNEL STARCH FILMS WITH STARCH NANOCRYSTALS Abstract

Mango processing generates 40–45% potencially value-added by-products. The seed kernels (13% of the fruit weight) contain more than 50% of starch. Despite starch advantages (abundance, renewability, and biodegradability), starch films have limited barrier and mechanical properties, which may be improved by incorporation of starch nanocrystals (SNC). The objective of this study was to develop bionanocomposite films from mango kernel starch with different SNC contents (0–10 wt%), and to compare them with their counterparts obtained from commercial maize starch. SNC addition resulted in improved tensile strength and modulus, and reduced water vapor permeability, but impaired film transparency and elongation. The films from mango kernel starch presented properties comparable to those of commercial starch, with higher tensile strength, modulus, and opacity.
Keywords: Biorefinery, Nanostarch, Biodegradable films.

1 INTRODUÇÃO

A manga é uma das principais frutas produzidas no Brasil, e seu processamento resulta na geração de 40-45% de subprodutos (casca e semente) (PLANTOGRAM, 2015).

Dentro do conceito de biorrefinaria, uma abordagem recente é processar esses subprodutos de forma a fracionar seus componentes de alto valor comercial, transformando resíduos em produtos de interesse industrial, com base na minimização de impactos ambientais e maximização do uso do recurso.

Os subprodutos de manga são fontes de vários compostos de alto valor comercial. As amêndoas das sementes, por exemplo, têm mais de 50% de amido (CORDEIRO, 2013), que pode ser usado para a obtenção de vários produtos de interesse industrial, destacando-se materiais biopoliméricos para embalagem ou revestimento de alimentos, de alto apelo comercial devido à biodegradabilidade e renovabilidade.

As indústrias produtoras de amido têm interesse em amidos alternativos, preferencialmente de fontes não alimentares, especialmente para desenvolvimento de materiais (aplicações não alimentares) (Santos et al, 2013).

Por outro lado, o uso de biomacromoléculas para embalagem de alimentos encontra alguns obstáculos, como as propriedades mecânicas e de barreira inferiores aos dos polímeros convencionais derivados de petróleo. Para contornar esses obstáculos, muitos trabalhos têm usado a estratégia de incorporar nanoestruturas de reforço, formando bionanocompósitos.

Os nanocristais de amido (NCA) podem ser prontamente obtidos por diferentes técnicas, destacando-se a hidrólise ácida (KIM et. al 2015). O objetivo do trabalho foi desenvolver filmes bionanocompósitos de amido de amêndoa de manga incorporados com diferentes teores de NCA, comparando-os com filmes obtidos de amido comercial de milho.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção do amido de amêndoa de manga

A metodologia de extração de amido da manga foi adaptada de Cordeiro (2013). As amêndoas foram cortadas em pedaços pequenos e imersas em solução a 0,2% (m/v) de metabissulfito de sódio por 48 h (proporção 2:1 v/m). As amêndoas foram drenadas e trituradas em água destilada, em UltraTurrax T50 (proporção 1:1 v/m) por 5 min a 5000 rpm, e submetidas a extração aquosa a frio, sob agitação, para decantação da fração amilácea, a qual foi colocada em béquer e adicionada de solução de NaOH 0,2% (m/v), em proporção 2:1(v/v), sob agitação por 2 h. O pH foi ajustado para 6 com HCl 0,5% (v/v) sob agitação. A mistura foi centrifugada (20000 g, 4ºC, 20 min), o precipitado foi recolhido, e separada a fração escura da clara (contendo amido). A fração amilácea foi repetidamente suspensa em água destilada e centrifugada até pH 7. Em seguida, foram adicionados 200 mL de etanol absoluto para cada 100 mL de solução de amido, sob agitação (200 rpm) por 1 h. A suspensão foi deixada para decantar por 2 h a 25 ºC. O amido decantado foi lavado com água destilada por filtração a vácuo. Finalmente, o amido foi seco em estufa a 40°C por 24 h e moído com moinho analítico.

Obtenção dos nanocristais de amido (NCA)

A produção de NCA iniciou-se com hidrólise ácida, adaptada a partir da metodologia de Angellier et al (2004). 147 g de amido foram colocados em 1 L de mistura ácida (volumes iguais de soluções 3,16 M de HCl e H_3PO_4) a 40ºC em banho de silicone, sob agitação por 5 dias. O hidrolisado foi então submetido a ciclos de neutralização: 1) centrifugação (20 min, 20000 g, 4 ºC) e descarte do sobrenadante; 2) homogeneização do decantado em Mixer por 1 min; 3) ultrassonicação em desruptor de células por 20 min e medição do pH. Ao final de 6 ciclos, o pH atingiu o valor de 5 e a solução foi dialisada até pH 7, homogeneizada em UltraTurrax T50 (5000 rpm, 5 min), colocada em frascos Scott, acrescentada de 0,01% clorofórmio (para evitar crescimento microbiano) e armazenada a 4 ºC.

Elaboração dos filmes

Dispersões de amido (5%) foram aquecidas até 95ºC sob agitação por 30 min para gelatinização do amido. Ainda sob agitação, adicionou-se glicerol (25% m/v), mantendo a mistura a 60-65 ºC por 15 min. A mistura foi então homogeneizada em Ultra-Turrax T25 a 10000 rpm por 15 min. Paralelamente, os NCA foram submetidos a 5 ciclos de 1 min de ultrassonicação, com intervalo de 30 s entre ciclos. Quando a dispersão filmogênica atingiu 40 ºC, foram adicionados os NCA (0%, 2,5%, 5% e 10%, com base no amido), mantendo a agitação por mais 30 min. A dispersão filmogênica foi desgaseificada a vácuo. Os filmes foram depositados sobre placas de vidro revestidas com Mylar®, à espessura de 1,5 mm, e secospor 24 h a 24°C. Dez filmes foram produzidos: cinco a partir de amido comercial, e cinco a partir de amido de amêndoa de manga, cada um com diferentes concentrações (0%, 2,5%, 5%, 7,5% e 10%) de NCA.

Análises nos filmes

As propriedades mecânicas foram medidas (com cinco replicatas) em corpos de prova nas dimensões 125 mm x 12,5 mm, acondicionados de acordo com método D882-01 (ASTM, 2001).

A permeabilidade a vapor de água (P_{VA}) foi medida com oito replicatas, com base no método E96-00 (ASTM, 2000) a 25°C, usando sílica gel como dessecante em dessecador vertical Arsec DCV040, e água dentro das células de permeação.

A opacidade foi medida por espectrofotometria (Gontard et al., 1992), com base na absorção entre 400 a 800 nm.

Para cada tipo de amido/NCA, foram realizados testes de Tukey (Minitab 16) para definição de significância de diferenças entre os tratamentos contendo diferentes teores de NCA. Para estabelecer a significância das diferenças entre os filmes com diferentes tipos de amido (comercial ou de manga),

foram feitos testes t pareados, considerando, para cada propriedade dos filmes, todos os valores obtidos para todas as replicatas, para todos os tratamentos (todos os teores de NCA).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A resistência à tração de ambos os tipos de filmes tendeu a aumentar com o aumento do teor de NCA. O aumento foi significativo a 10% de NCA para filmes de amido comercial, e a partir de 5% de NCA para filmes de amido de manga. Os nanocristais atuam como preenchimento dos interstícios da matriz polimérica, aumentando a resistência do compósito (Angellier *et al*, 2006). A elongação diminuiu com o aumento do teor de NCA (a 10% para filmes de amido comercial, a partir de 7,5% para filmes de amido de manga), devido à rigidez dos nanocristais (Piyada *et al*, 2013). O módulo de Young aumentou com a adição de NCA. Para os filmes de amido comercial, o aumento foi significativo a partir de 7,5% NCA, até um máximo a 10% NCA. Para os filmes de amido de manga, o aumento foi significativo a partir de 5% NCA, atingindo o máximo a 7,5% NCA, e reduzindo novamente a 10%. Os valores globais de resistência e módulo (Tab. 1) foram maiores para os filmes de amido de manga que para os de amido comercial.

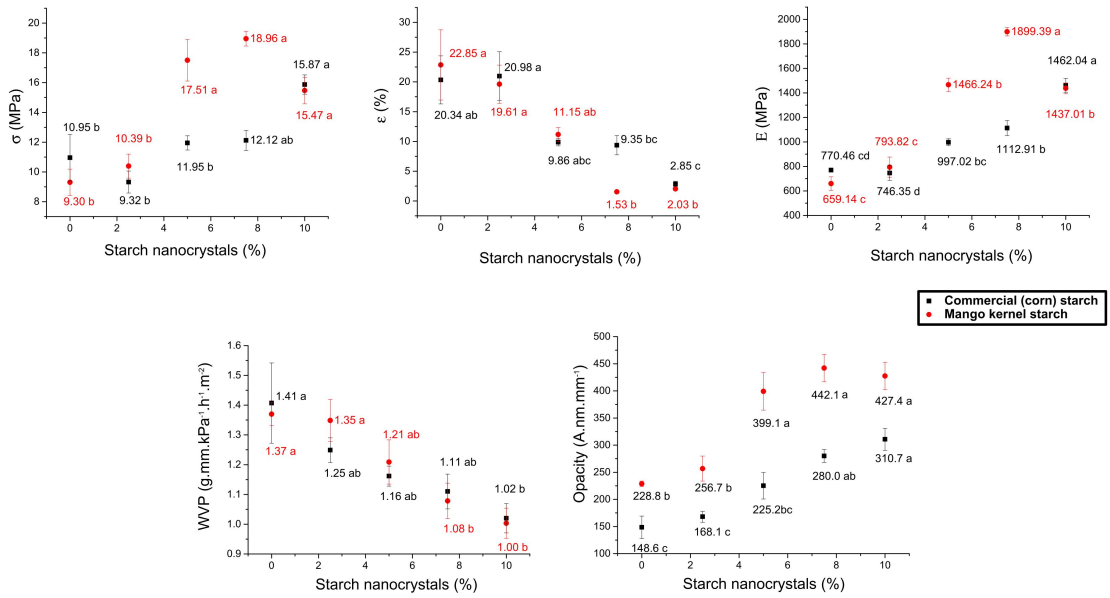


Figura 1. Propriedades dos filmes de amido comercial e de amêndoa de manga. Valores na mesma sequência seguidos da mesma letra não diferem significativamente entre si (p>0,05).

Tabela 1. Testes t pareados para diferenças entre propriedades de filmes de amido comercial e filmes de amido de amêndoa de manga.

Propriedades	Médias globais*		T	p
	Filmes de amido comercial	Filmes de amido de manga		
σ (MPa)	12,06	14,98	-3,56	<0,01
ε (%)	11,52	11,02	0,29	0,78
E (MPa)	1055	1318	-3,13	<0,01
P_{VA} (g.mm.kPa^{-1}.h^{-1}.m^{-2})	1,194	1,203	-0,24	0,81
Opacidade (A.nm.mm^{-1})	226,5	350,8	-10,04	<0,01

*Médias de todas as replicatas de todos os tratamentos..

A permeabilidade dos filmes a vapor de água (P_{VA}) diminuiu gradativamente com a adição de NCA (Fig. 1), sendo significativamente reduzida por 10% NCA (no caso dos filmes de amido comercial) e de 7,5% NCA (no caso dos filmes de amido de manga), o que pode ser atribuído ao aumento da tortuosidade do caminho do permeante. As médias globais (Tab. 1) entre os dois tipos de filmes não diferiram significativamente.

A adição de NCA resultou em aumento de opacidade dos filmes (Fig. 1). O aumento foi significativo a partir de 7,5% de NCA para os filmes de amido comercial e 5% para os filmes de amido de amêndoa de manga. Os filmes de amido de amêndoa de manga apresentaram uma cor amarelada quando comparada aos de amido comercial, o que corrobora a maior opacidade global dos filmes de amido de manga (Tab. 1).

4 CONCLUSÃO

Foi possível elaborar filmes bionanocompósitos a partir de amido e nanocristais de amido, ambos obtidos de amêndoa de manga, agregando valor a este resíduo agroindustrial. A incorporação de nanoamido aos filmes melhorou as propriedades mecânicas e de barreira. Os filmes de amido de amêndoa de manga apresentaram propriedades comparáveis às de filmes de amido comercial, possuindo inclusive melhores características mecânicas, apesar de maior opacidade.

AGRADECIMENTOS

Embrapa (02.14.04.002.00.00); CAPES (1376677); CNPq (305504/2016-9, 302381/2016-3).

REFERÊNCIAS

ANGELLIER, H., CHOISNARD, L., MOLINA-BOISSEAU, S., OZIL, P., DUFRESNE, A. (2004). Optimization of the preparation of aqueous suspensions of waxy maize starch nanocrystals using a response surface methodology. Biomacromolecules, 5, 1545–1551.

ANGELLIER, H., MOLINA-BOISSEAU, S., DOLE, P., DUFRESNE,A. (2006). Thermoplastic Starch-Waxy Maize Starch Nanocrystals Nanocomposites (2006). Biomacromolecules, vol. 7, p. 531-539.

ASTM. (2000). Standard test method for water vapor transmission of materials. E96-00. In Annual Book of ASTM Standards. Philadelphia: American Society for Testing and Materials. p. 907-914.

ASTM. (2001). Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. D882-01. In Annual Book of ASTM Standards. Philadelphia: American Society for Testing and Materials. p. 162-170.

CORDEIRO, E. M. S. (2013). Biocompósitos poliméricos obtidos a partir da fração lignocelulósica e amilácea do caroço de manga (*Mangifera indica*), Tommy atkins. 136 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais). Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2013.

GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J-L. Edible Wheat Gluten Films: Influence of the main process variables on film properties using response surface methodology. Journal of Food Science, v.57, n.1, p.190-195, 1992.

KIM, H. Y.; PARK, S. S.; LIM, S.T. (2015). Preparation, characterization and utilization of starch nanoparticles. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, v. 126, p. 607-620.

PIYADA, K., WARANYOU, S. AND THAWIEN, W. (2013). Mechanical, thermal and structural properties of rice starch films reinforced with rice starch nanocrystals. International Food Research Journal, 20, 439-449.

PLANTOGRAM (2015). Mango tree Tommy Atkins variety grafted. Disponível em: https://plantogram.com/product /mango_tommy_atkins/. Acesso em 15 de julho de 2015.

SANTOS, L.S.; BONOMO, R. C. F.; FONTAM, R. C. I.; BONOMO, P.; LEITE, C. X. S.; SANTOS, D. O.(2013) Efeito dos métodos de extração na composição, rendimento e propriedades da pasta de amido obtido de semente de jaca. Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, Campina Grande, v.15, n.3, p. 255-261, 2013.

SILVA, GAS, CAVALCANTI, MT, ALMEIDA, MCBM, ARAÚJO, AS, CHINELATE, GCB, FLORENTINO, ER (2013). Utilização do amido da amêndoa da manga Tommy Atkins como espessante em bebida láctea. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, v. 17, p.1326-1332.

FILMES COMESTÍVEIS À BASE DE CELULOSE BACTERIANA E PECTINA COM POLPAS DE FRUTAS

Rayra Melo Viana[1], Nádia Maria dos Santos Matos Sá[1], Henriette Monteiro Cordeiro de Azeredo[2,*]

*[1]Universidade Federal do Ceará; [2]Embrapa Agroindústria Topical.*henriette.azeredo@embrapa.br*

Classificação: Processamento de filmes nanoestruturados para embalagens e conservação de alimentos.

Resumo
Filmes comestíveis contendo polpas de frutas têm sido apresentados como produtos promissores para uso em embalagem ou como *snacks*. A presença de polpas de frutas torna os filmes mais atraentes ao consumidor, por conferir propriedades sensoriais e nutricionais/funcionais das frutas. Adicionalmente, os polissacarídeos presentes nas frutas participam na formação de filmes, e os açúcares atuam como plastificantes. Este estudo teve por objetivo estudar comparativamente as propriedades de filmes com dois tipos de polpas de frutas (manga e goiaba) e com duas matrizes (celulose bacteriana nanofibrilada, CBNF, e pectina, PEC) em diferentes proporções. Os filmes com maior resistência e módulo foram aqueles com matriz compósita, especialmente com razão CBNF:PEC de 75:25. A elongação, por outro lado, tendeu a aumentar em função dos teores de CBNF, especialmente para os filmes com polpa de goiaba. Todos os filmes apresentaram alta permeabilidade a vapor de água, que foi um pouco reduzida com a predominância de CBNF na matriz. Quando comparados em termos globais, os filmes com polpa de manga apresentaram maior resistência à tração que os com polpa de goiaba, enquanto estes exibiram melhor barreira quando comparados aos com polpa de manga.
Palavras-chave: Biopolímeros; Polissacarídeos; Frutas tropicais.

EDIBLE FILMS BASED ON BACTERIAL CELLULOSE AND PECTIN WITH FRUIT PUREES

Abstract
Edible films with fruit purees have been presented as promising products for use as packaging materials or snacks. The presence of fruit purees make the films more attractive by conferring sensory and nutritional/functional properties from fruits. Moreover, the fruit polysaccharides participate in film formation, and the sugars act as plasticizers. The objective of this study was to study properties of films made from two kinds of fruit puree (mango and guava) and two matrices (nanofibrillated bacterial cellulose, NFBC, and pectin, PEC) in different proportions. The films with highest tensile strength and modulus were those with composite matrix, especially the one with NFBC:PEC ratio of 75:25. The elongation, on the other hand, was favored by increasing NFBC contents, especially for guava-containing films. All the films presented high water vapor permeability, which was a bit reduced when NFBC was the predominant matrix. When globally compared, the films with mango puree exhibited higher tensile strength than those with guava puree, whereas the latter presented better barrier properties than those of mango puree-containing films.
Keywords: Biopolymers; Polysaccharides; Tropical fruits.

1 INTRODUÇÃO

Materiais plásticos à base de petróleo são os mais utilizados na produção de embalagens de alimentos por serem baratos, possuírem boa processabilidade, diversidade de materiais e formatos (RHIM et al., 2013). Porém, este tipo de material causa poluição no ambiente, por sua resistência à biodegradação, acumulando-se em aterros sanitários e afetando os ecossistemas (NESIC *et al*., 2017). Assim, uma das alternativas estudadas para minimizar o impacto ambiental desses polímeros convencionais é a utilização de polímeros biodegradáveis, a maioria dos quais renováveis.

A Celulose Bacteriana (CB) é sintetizada por algumas espécies de bactérias a partir da fermentação de substratos ricos em açúcares, formando uma película de celulose de alta pureza, com potencial para várias aplicações, incluindo a produção de filmes comestíveis (SHI *et al*, 2014). A pectina, por sua vez, é um dos principais componentes da parede celular de plantas, contribuindo para a integridade e rigidez dos tecidos. É um polissacarídeo renovável, atóxico e biodegradável, constituído por cadeias de ácido D-galacturônico unidas por ligações α- 1→4 (MOHNEN, 2008).

Uma grande vantagem do uso de filmes comestíveis é que diversos compostos sensorialmente desejáveis podem ser incorporados à matriz polimérica e consumidos com o alimento, podendo melhorar os atributos funcionais (ROJAS-GRAU *et al*., 2009), como é o caso das polpas de frutas que incorporam atributos sensoriais como cor e sabor.

O objetivo deste trabalho foi o de avaliar a influência da composição da matriz (em termos de proporções entre celulose bacteriana nanofibrilada e pectina) e do tipo de polpa de fruta (goiaba ou manga) sobre as propriedades de barreira e mecânicas de filmes.

2 MATERIAL E MÉTODOS

A celulose bacteriana (CB) foi produzida por fermentação de suco de caju suplementado com extrato de levedura e peptona, submetida a oxidação pelo radical 2,2,6,6-tetrametilpiperidina-1-oxil (TEMPO) segundo metodologia descrita por SAITO et al.(2007) e desintegrada em liquidificador de alta potência (VITAMIX) por 30 min a 2300 rpm, formando a celulose bacteriana nanofibrilada (CBNF). Os filmes foram preparados com 950 g de polpa de fruta (maga ou goiaba) e 5,7 g de matriz, a matriz variando em termos de proporções CBNF: pectina, entre 0:100 e 100:0. O teor de sorbitol (plastificante) foi de 20% em relação à massa seca da matriz. Os componentes dos filmes foram homogeneizados em liquidificador de alta potência (VITAMIX) a 23000 rpm por 10 min. As dispersões foram então desgaseificadas em bomba a vácuo. A formação dos filmes se deu por deposição (*casting*) sobre filmes de Mylar® fixados sobre formas de Pyrex e secos em estufa de circulação de ar por 24h a 50ºC. Os filmes foram armazenados em sacos de polipropileno.

A permeabilidade a vapor de água (P_{VA}) foi determinada a 25ºC, utilizando sílica gel como dessecante em dessecador vertical. Foram realizadas 8 pesagens por 24 h, com intervalo mínimo de 1 h entre pesagens. As propriedades mecânicas foram medidas em máquina Emic DL-3000 Universal Testing Machine com célula de carga de 10 N, separação inicial entre as garras de 100 mm e velocidade de deformação de 12.5 mm/min. Os filmes foram observados em um microscópio eletrônico de varredura Quanta 450 FEG-FEI; uma amostra do filme foi depositada em um stub, recoberta com ouro e visualizada sob uma voltagem de aceleração de 5 KV.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os filmes com matrizes compósitas (especialmente o filme com razão CBNF:PEC de 75:25) apresentaram melhores propriedades de resistência e módulo em comparação aos filmes com matriz única, enquanto a elongação foi claramente favorecida (aumentada) pela matriz de CBNF, especialmente para os filmes de goiaba (Fig. 1). A permeabilidade dos filmes diminuiu com o aumento dos teores de CBNF na matriz, indicando que a CBNF favoreceu a barreira. Ainda assim, observa-se que os filmes apresentaram valores muito altos de permeabilidade, o que provavelmente se deve à composição altamente hidrofílica não apenas da matriz, mas das polpas de frutas, que, por terem sido adicionadas em grandes quantidades, diminuíram a concentração da matriz polimérica, enfraquecendo as interações entre as cadeias poliméricas, aumentando o volume livre e a mobilidade das moléculas, enfraquecendo os filmes, mas melhorando a extensibilidade (AZEREDO *et al*., 2016).

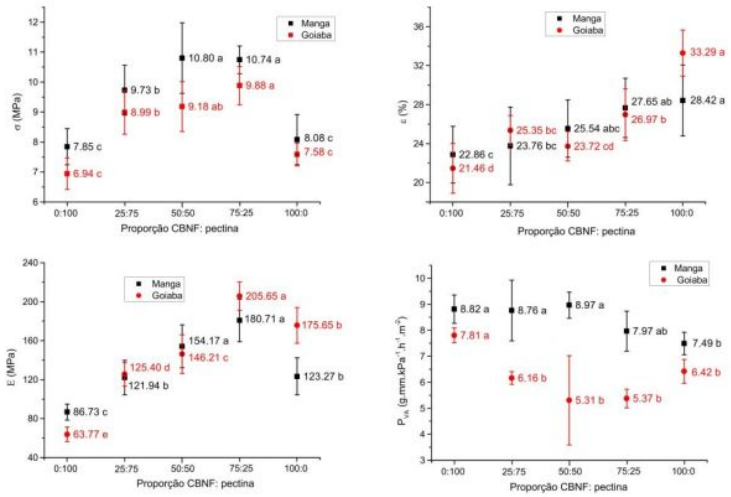


Figura 1. Propriedades dos filmes adicionados de polpas de manga e goiaba. Valores seguidos da mesma letra na mesma sequência não diferem significativamente (Tukey, p<0,05).

Em termos globais, os filmes de goiaba apresentaram melhor barreira (menor permeabilidade) ao vapor de água, enquanto os de manga apresentaram maior resistência à tração (Tab. 2).

As micrografias (Fig. 2) revelam que os filmes apresentaram superfície heterogênea, o que provavelmente se deve à presença de partículas fibrosas das polpas.

Tabela 1. Médias globais de filmes de goiaba e manga.

Respostas	Médias globais		t	P
	Manga	Goiaba		
P_{VA}	8,309	6,236	8,11	<0,01
σ (MPa)	9,45	8,55	3,13	<0,01
ε (%)	25,55	26,29	-0,83	0,41
E (MPa)	124,2	141,6	-1,66	0,10

Valores de médias globais seguidos da mesma letra na mesma linha não diferem significativamente (Tukey, p<0,05).

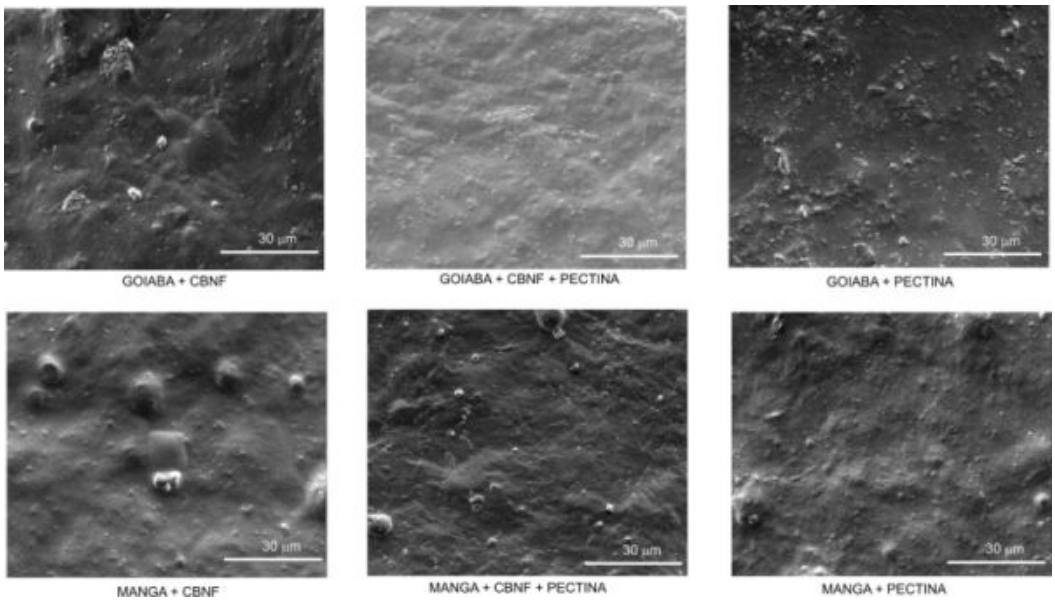


Figura1 . Microscopia Eletrônica de Varredura dos filmes.

4 CONCLUSÕES

Os filmes contendo polpas de frutas apresentaram alta permeabilidade ao vapor de água. A combinação CBNF-pectina favoreceu a resistência e rigidez dos filmes, enquanto a CBNF favoreceu a elongação. Os filmes de manga foram mais resistentes que os de goiaba, e estes, menos permeáveis a vapor de água.

AGRADECIMENTOS

Embrapa (03.14.04.007.00.00); Funcap (BMD-0008-00640.01.05/15).

REFERÊNCIAS

AZEREDO, H.M.C. et al. Development of pectin film with pomegranate juice and citric acid. Food Chemistry, v.198, p.101-106, 2016.

ESPITIA, P. J. P. et al. Physical and antimicrobial properties of açaí edible films formulated with thyme essential oil and apple skin polyphenols. Journal of Food Science, v.79, p.M903- M910, 2014.

MOHNEN, D. Pectin structure and biosynthesis. Current Opinion in Plant Biology, v.11, p.266-277, 2008.

NESIC, A. et al. Pectin-polyvinylpyrrolidone films: A sustainable approach to the development of biobased packaging materials. Composites B, v.110, p. 56-61, 2017.

RHIM, J., PARK, H.; SIK HA, C. Bio-nanocomposites for food packaging applications. Progress in Polymer Science, v.38, p.1629–1652, 2013.

ROJAS-GRAU, M.A., SOLIVA-FORTUNY, R., MARTÍN-BELLOSO, O. Edible coatings to incorporate active ingredients to fresh-cut fruits: a review. Trends in Food Science &Technology, v.20, p.438–447, 2009.

SAITO, T. et al. Cellulose Nanofibers Prepared by TEMPO- Mediated Oxidation of native Cellulose. Biomacromolecules, v.8, p. 2485-2491, 2007.

SHI, Z. et al. Utilization of bacterial cellulose in food. Food Hydrocolloids, v. 35, p. 539–545, 2014.

PROPRIEDADES TÉRMICAS E DE BARREIRA DE FILMES NANOCOMPÓSITOS À BASE DE GELATINA

[1]*Pamela Freire de Moura Pereira, [2]Fernando Teixeira Silva, [3]Verônica Maria de Araújo Calado, [2]Renata Valeriano Tonon

[1]Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, Instituto de Química - UFRJ. [2]Embrapa Agroindústria de Alimentos. [3]Escola de Química - UFRJ.
**pamelafrr@gmail.com*

Classificação: Processamento de filmes nanoestruturados para embalagens e conservação de alimentos

Resumo
O desenvolvimento de materiais híbridos orgânicos/inorgânicos é uma alternativa a superar as limitações de desempenho dos materiais oriundos de polímeros naturais. No presente estudo, o efeito do teor de ZnO e a concentração de polietilenoglicol sobre a permeabilidade ao vapor de água e o perfil de decomposição térmica de filmes de gelatina foram analisados por meio de planejamento fatorial 2^2. Os resultados de PVA variaram entre $6{,}3x10^{-11}$ $g.s^{-1}.m^{-1}.Pa^{-1}$ e $9{,}8^{-11}$ $g.s^{-1}.m^{-1}.Pa^{-1}$. A incorporação de ZnO provocou uma redução da permeabilidade ao vapor de água dos filmes de gelatina e melhoria da estabilidade térmica. Os resultados opostos das propriedades foram observados para a incorporação do plastificante.
Palavras-chave: Filmes nanocompósitos; ZnO; PEG; Permeabilidade ao vapor de água; Estabilidade térmica.

THERMAL AND BARRIER PROPERTIES OF GELATIN-BASED NANOCOMPOSITES FILMS

Abstract
Development of organic/inorganic hybrid materials is an alternative to overcome the performance limitations from natural biopolymeric films. In this study, the effect of ZnO content and polyethyleneglycol composition under the water vapor permeability and thermal stability of gelatin films were analyzed by a 2^2 factorial design. The WVP ranged from $6{,}3x10^{-11}$ $g.s^{-1}.m^{-1}.Pa^{-1}$ to $9{,}8^{-11}$ $g.s^{-1}.m^{-1}.Pa^{-1}$. The ZnO incorporation reduced the water vapor permeability property and improved the thermal stability of gelatin films. On the other hand, the increase of PEG amount induced to an opposite results for both analyzed properties.
Keywords: Nanocomposites films; ZnO; PEG; Water vapor permeability; Thermal stability.

1 INTRODUÇÃO

O interesse no desenvolvimento de materiais biodegradáveis para aplicações em embalagens de alimentos tem se intensificado nos últimos anos, sobretudo em função da natureza ambientalmente amigável. Nesse sentido, diversos biopolímeros naturais têm sido amplamente estudados devido à versatilidade de aplicações. Dentre esses, as proteínas são macromoléculas que apresentam grande potencial para aplicação no desenvolvimento de novos materiais. Em particular, a gelatina, um biopolímero obtido da hidrólise do colágeno, é uma macromolécula que vem sendo amplamente estudada na elaboração de filmes, principalmente devido à sua biocompatibilidade e renovabilidade (MEKONNEN et al, 2013).

A aplicação de nanopartículas metálicas e óxidos tem sido utilizada no desenvolvimento de filmes híbridos (orgânico/inorgânico) com o objetivo de melhorar, principalmente, as propriedades mecânicas, térmicas e de barreira aos filmes de biopolímeros, além de atribuir características adicionais, como é o caso da aplicação para filmes ativos e inteligentes (ARFAT et al., 2017). Dessa forma, a aplicação de nanopartículas em materiais biopoliméricos representa uma grande

potencialidade para superar suas limitações de desempenho. Dentre as nanopartículas, o óxido de zinco (ZnO) é considerado como uma das melhores e mais seguras soluções para aplicações em materiais para alimentos (MARRA et al., 2016).

Tal como a incoporação de nanopartículas, a adição de plastificantes a filmes de biopolímeros se faz necessária para melhoria das propriedades mecânicas dos filmes, sobretudo diminuindo a fragilidade, e com isso, melhorando a flexibilidade do material (CAO, YANG e FU, 2009).

Diante do exposto, o presente estudo teve como objetivo investigar o efeito simultâneo da incorporação de polietilenoglicol como plastificante e de ZnO sobre a permeabilidade ao vapor de água e estabilidade térmica de filmes de gelatina.

2 MATERIAL E MÉTODOS

As nanopartículas de óxido de zinco (ZnO) foram sintetizadas de acordo com o processo hidrotérmico descrito por Pourrahimi et al. (2014). Os filmes compósitos de Gelatina/ZnO foram obtidos pela técnica de *casting,* a partir de um planejamento fatorial 2^2, tendo como variáveis independentes as concentrações de plastificante (PEG) e de nanopartículas (ZnO). As nanopartículas de ZnO sob diferentes concentrações (0, 3 e 6% g/100 g de gelatina) foram primeiramente dispersas em água deionizada por 60 minutos sob agitação magnética e, posteriormente por 30 minutos em banho ultrassom (Branson Ultrasonics, Danbury, USA). Em seguida, a gelatina bovina (Tipo A) a uma concentração de 10% (m/v) foi adicionada à dispersão de ZnO e submetida à agitação e aquecimento (55ºC) por 30 min. Polietilenoglicol (PEG 400) foi utilizado como plastificante sob diferentes concentrações (0, 15 e 30% g/100 g de gelatina). Alíquotas de 5 g foram vertidas em placas de polietileno e deixadas sob secagem em temperatura ambiente por 48 h.

A permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos filmes foi determinada gravimetricamente, segundo o método padrão proposto pela ASTM (2016) a 23ºC. Os filmes foram selados em uma célula de permeação de poliestireno, a qual continha água destilada (UR = 100%). As células foram colocadas em dessecador contendo sílica em gel (UR = 0%) e pesadas periodicamente. A estabilidade térmica dos filmes foi analisada pela técnica de termogravimetria, conduzida em um TGA, Perkin-Elmer, modelo Pyris 1. A faixa de temperatura utilizada foi de 22ºC a 700ºC, sob atmosfera de nitrogênio a uma taxa de aquecimento de 10 ºC/min.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados para a permeabilidade ao vapor de água dos filmes estão dispostos na Tabela 1. Os filmes nanocompósitos de gelatina/ZnO apresentaram uma PVA variável entre $6{,}3x10^{-11}$ $g.s^{-1}.m^{-1}.Pa^{-1}$ e $9{,}8^{-11}$ $g.s^{-1}.m^{-1}.Pa^{-1}$. Resultados similares de PVA foram reportados por Nafchi et al. (2014).

Tabela 1. Matriz do delineamento fatorial 2^2 adotado no desenvolvimento dos filmes nanocompósitos Gelatina/ZnO e resultados de permeabilidade ao vapor de água (PVA) e de temperatura de degradação (T_{onset}).

Ensaios	PEG (%)	Teor de ZnO (%)	PVA $x10^{-11}$ ($g.m^{-1}.Pa^{-1}.s^{-1}$)	T_{onset} (ºC)
1	0	0	8,3±0,9	298,41
2	30	0	9,8±3,8	283,97
3	0	4	6,3±1,3	302,25
4	30	4	8,4±1,5	289,41
5	15	2	8,6±0,1	296,52
6	15	2	8,7±0,4	295,25
7	15	2	8,5±0,2	296,64

Sob as condições experimentais investigadas, foi possível constatar que a curvatura da resposta PVA foi estatisticamente significativa, indicando que a dependência quadrática em relação aos fatores analisados deve ser investigada posteriormente.

A PVA dos filmes nanocompósitos foi estatisticamente influenciada pela concentração de polietilenoglicol, que teve efeito positivo e significativo ($p < 0{,}05$) sobre a variável. Dessa forma, o

aumento da concentração de plastificante induziu a um aumento da PVA dos filmes. Esse comportamento pode ser resultante da natureza hidrofílica do PEG, a qual favorece a difusão do vapor de água pela matriz polimérica. Além disso, o aumento do volume livre na rede proteica, resultante da interação entre o biopolímero com o plastificante pode ter contribuído para o aumento da propriedade (CAO et al., 2009). A mesma tendência de aumento da PVA em filmes proteicos com o acréscimo da concentração de plastificantes já foi reportada previamente na literatura (CIANNAMEA, STEFANI e RUSECKAITE, 2015).

O teor de nanopartículas também afetou significativamente ($p < 0,05$) a PVA dos filmes, tendo um efeito negativo sobre a resposta. Assim, o aumento do teor de ZnO provocou uma redução da PVA. O decréscimo da PVA em função do aumento do teor de ZnO pode ser associado à formação de uma matriz mais compactada, criando um caminho tortuoso, o que dificulta a difusão do vapor de água. Os resultados estão condizentes com os observados previamente na literatura (NAFCHI et al., 2014). A redução da PVA é interessante para aplicações dos filmes como embalagens para produtos alimentícios que requerem um baixo valor da propriedade.

A estabilidade térmica dos filmes foi analisada pela técnica de termogravimetria (TGA). Os perfis de degradação térmica dos filmes elaborados estão apresentados na Figura 1. A temperatura de degradação dos filmes variou entre 283,41ºC e 302,25ºC. Os filmes demonstraram dois eventos principais de perda de massa. O primeiro evento de perda de massa até, aproximadamente, 150ºC, associada à dessorção de umidade. O evento entre 150ºC e 450ºC, está relacionado à degradação térmica do PEG 400 (Tonset = 263,47ºC) e também da matriz biopolimérica.

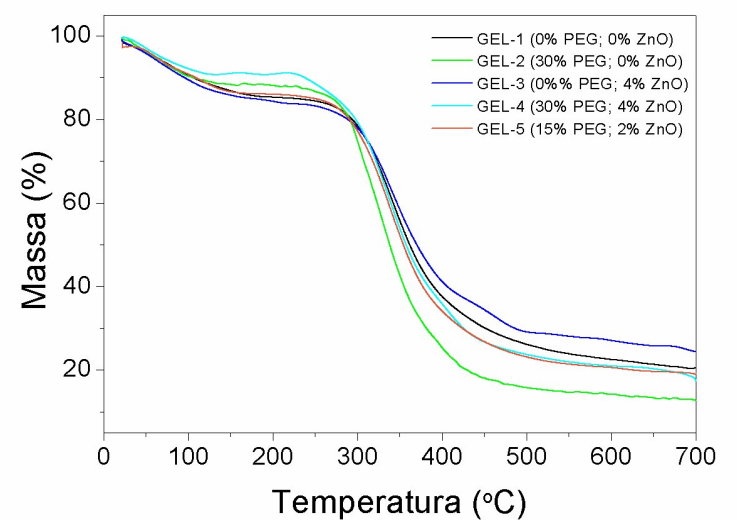


Figura 1. Termogramas para os diferentes filmes de gelatina.

De acordo com as condições experimentais propostas, apenas a concentração de plastificante foi significativa ($p < 0,05$) sobre a estabilidade térmica do filme, apresentando um efeito negativo. Dessa forma, o aumento da concentração de plastificante provoca uma redução da estabilidade térmica dos filmes comparado aos materiais não plastificados. Aparentemente, a incorporação de PEG parece afetar a interação proteína-proteína, responsável pela manutenção da ordem das cadeias poliméricas. Assim, o aumento da concentração de PEG reduz a temperatura de degradação térmica dos filmes sob as condições estudadas (BARRETO et al., 2003).

Para a temperatura inicial de degradação (T_{onset}), a curvatura também apresentou significância estatística, o que indica que os termos quadráticos devem ser considerados em estudos futuros.

A incorporação de ZnO foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$) sobre a estabilidade térmica dos materiais, apresentando um efeito positivo sobre a temperatura de degradação dos filmes. Assim, o aumento do teor de nanopartículas na matriz polimérica induziu a um aumento da estabilidade térmica dos filmes. Esse resultado pode estar associado à ação isolante das nanopartículas de óxidos metálicos sobre a matriz polimérica, o que provoca um pequeno atraso na temperatura inicial de degradação térmica dos materiais (ARFAT et al., 2017).

4 CONCLUSÃO

Filmes nanocompósitos de gelatina/ZnO foram preparados por *casting* com sucesso. O efeito da incorporação de polietilenoglicol e de ZnO sobre a permeabilidade ao vapor de água e estabilidade térmica dos filmes foi investigado. A incorporação de ZnO reduziu significativamente a permeabilidade ao vapor de gases nos filmes de gelatina, enquanto o efeito inverso foi observado para a incorporação de plastificante. A estabilidade térmica dos filmes foi afetada significativamente pela incorporação do plastificante e também pelo teor de nanopartículas. A incorporação de ZnO na matriz polimérica originou filmes mais estáveis termicamente. Esses resultados sugerem que os filmes nanocopósitos de gelatina/ZnO apresentam potencialidade para aplicações como embalagens para alimentos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à CAPES pelo suporte financeiro.

REFERÊNCIAS

ASTM. Standard test method for water vapor transmission of materials (E96M-16). ASTM International, West Conshohocken, PA, 2016.

ARFAT, Y., A. et al. Thermo-mechanical, rheological, structural and antimicrobial properties of bionanocomposite films based on fish skin gelatin and silver-copper nanoparticles. Food Hydrocolloids, v.62, p.191-202, 2017.

BARRETO, P. L. M. et al. Thermal degradation of edible films based on milk proteins and gelatin in inert athmosphere. Polymer Degradation and Stability 79 (2003) 147–152

CAO, N.; YANG, X.; FU, Y. Effect of various plasticizers on mechanical and water vapor barrier properties of gelatin film. Food Hydrocolloids, v.23, p.729-735, 2009.

CIANNAMEA, E. M.; STEFANI, P. M.; RUSECKAITE, R. A. Storage-induced changes in functional properties of glycerol plasticized – Soybean protein concentrate films produced by casting. Food - Hydrocolloids, v. 45, p. 247-255, 2015.

NAFCHI, A. M. et al. Effects of nanorod-rich ZnO on rheological, sorption isotherm, and physicochemical properties of bovine gelatin films. LWT- Food Science and Technology, v.58, n.1, p.142-149, 2014.

MARRA, A. et al. Polylactic acid/zinc oxide biocomposite films for food packaging application. International Journal of Biological Macromolecules, v.88, p.254-262, 2016.

MEKONNEN, T. et al. Progress in bio-based plastics and plasticizing modifications. Journal of Materials Chemistry A, v.1, p. 13379-13398, 2013.

POURRAHIMI, A. M. et al. Water based synthesis and cleaning methods for high purity ZnO nanoparticles comparing acetate, chloride, sulphate and nitrate zinc salt precursors. RSC Advances, v.4, n.67, p.35568-35577, 2014.

INFLUÊNCIA DA HEMICELULOSE NA REOLOGIA DE SUSPENSÕES DE NANOCELULOSE E NA FORMAÇÃO DE FILMES DE NANOFIBRILAS

Francine C. Claro[1], Mailson de Matos[2] e Washington L. E. Magalhães[3]

1 - Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais, Universidade Federal do Paraná (UFPR), cecconclaro@gmail.com; 2 - Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais, Universidade Federal do Paraná (UFPR), mailsondematos@gmail.com; 3 – Embrapa Florestas, Colombo, PR, washington.magalhaes@embrapa.br

Classificação: Processamento de filmes nanoestruturados para embalagens e conservação de alimentos.

Resumo

É crescente o desenvolvimento de filmes nano-estruturados para uso em embalagens. Nesse contexto, a utilização de celulose nanofibrilada é interessante devido às suas propriedades físicas: como alta resistência, baixa densidade e translucidez, além dos benefícios ecológicos. A polpa celulósica utilizada no processo de obtenção da nanofibrilas apresenta cerca de 15% em massa de hemicelulose, portanto é importante compreender qual o efeito da hemicelulose nas propriedades dos filmes de nanofibras. Para isso, foram produzidas suspensões de nanocelulose uma com hemicelulose e outra na qual a hemicelulose foi extraída com tratamento alcalino. As suspensões foram obtidas pelo método mecânico de desfibrilação. Os filmes foram produzidos com gramaturas de 40 e 50 g/m². O comportamento reológico mostrou que a extração da hemicelulose exclui a necessidade de uma tensão inicial para escoamento. A extração da hemicelulose causou a aglomeração das nanofibrilas, bem como reduziu as tensões de tração e arrebentamento em 80%. A extração da hemicelulose também faz com que o filme deixe de ser impermeável ao ar, além de torná-lo opaco. Portanto, a hemicelulose atua como um inibidor da coalescência das microfibrilas, proporcionando adesão e aumento das propriedades mecânicas.

Palavras-chave: Hemicelulose; Reologia; Nanofibras; Resistência à tração; Permeabilidade ao ar.

INFLUENCE OF HEMICELLULOSE IN THE REOLOGY OF NANOCELLULOSE SUSPENSIONS AND THE FORMATION OF NANOFIBRILS FILMS

Abstract

The development of nano-structured films for packaging is growing. In this context, the use of nanofibrillated cellulose is interesting due to its physical properties: as high strength, low density and translucency, besides the ecological benefits. The cellulosic pulp used in the process of obtaining the nanofibrils has about 15% by mass of hemicellulose, so it is important to understand the effect of hemicellulose on the properties of nanofibres. For this, suspensions of one nanocellulose with hemicellulose were produced and another in which the hemicellulose was extracted with basic treatment. Suspensions were obtained by the mechanical defibrillation method. The films were produced with weights of 40 and 50 g / m². The rheological behavior showed that the extraction of the hemicellulose excludes the necessity of an initial tension for flow. Removal of the hemicellulose caused the agglomeration of the nanofibrils, as well as reducing tensile and burst tensions by 80%. The extraction of the hemicellulose also causes the film to no longer be impermeable to air, and makes them opaque. Therefore, hemicellulose acts as an inhibitor of the coalescence of microfibrils, providing adhesion and increase of the mechanical properties.

Keywords: Hemicellulose; Rheology; Nanofibers; Tensile strength; Air permeability.

1 INTRODUÇÃO

A celulose sendo o polímero natural de maior abundância terrestre possui diversas aplicações industriais sendo a mais comum a produção de papel (HOENICH, 2006). Devido a crescentes preocupações ambientais veem aumentando o interesse por polímeros naturais como substituintes de

polímeros sintéticos, principalmente para a produção de embalagens para alimentos (CARVALHO et al., 2009). Após o processo industrial de branqueamento de madeira, a polpa celulósica produzida, possui cerca de 15% em massa de hemicelulose. O termo hemicelulose é utilizado para denominar grupos distintos de polissacarídeos de cadeia ramificada e de baixa massa molecular, constituídos por açúcares pentoses e/ou hexoses, ácidos urônicos e grupos acetil (CARVALHO et al., 2009).

Novas maneiras de utilizar a celulose surgiram nas últimas décadas, como o uso da nanotecnologia potencializando propriedades físicas e químicas obtendo a celulose microfibrilada (CMF) (KAMEL, 2007). A CMF, apresenta até vários micrômetros de comprimento e o diâmetro na escala nano (VARTIAINEN et al., 2011). A CMF apresenta a tendência de formar estruturas de rede contínuas e emaranhadas em suspensões aquosas (KARPPINEN et al., 2012). Devido a esta propriedade, a CMF é obtida como uma suspensão de água diluída normalmente abaixo de 3% em massa de conteúdo sólido. Devido à sua microestrutura particular, a CMF tem propriedades reológicas específicas em ambientes aquosos. As microfibrilas de celulose estão estreitamente ligadas, as hemiceluloses, através de múltiplas ligações de hidrogênio que enchem o espaço entre as microfibrilas e atuam como uma barreira física que inibe a agregação de nanofibras e facilita a nanofibrilação (IWAMOTO; ABE; YANO, 2008).

Neste trabalho, prepararam-se suspensões de nanofibrilas de celulose com e sem hemicelulose a fim de avaliar a influência das polioses na reologia das suspensões e a caracterização das nanofibrilas obtidas, bem como a influência das hemiceluloses nos filmes produzidos com essas nanofibras.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Extração da hemicelulose e preparo das suspensões de nanofibras

Foram adicionados 300 mL de NaOH (17,5%) a 60 g da polpa celulósica de *pinus sp*., foram realizadas mais 3 adições de 150 mL de NaOH (17,5%) a cada 5 min. A mistura foi mantida em reação por 30 min. Sob adição foram adicionados 990 mL de água destilada e mantido em repouso por 1 h. A mistura então foi filtrada e lavada com 3 L de NaOH (8,3%) e água destilada quente. O material foi imerso em 450 mL de ácido acético 10% por 3 min, em seguida lavado com água destilada até pH 7.

A polpa celulósica foi dispersa em água destilada e homogeneizada em liquidificador, para obtenção de uma pasta com concentração de 2% em massa. Em seguida essa mistura foi submetida a um processo mecânico de desfibrilação, em um moinho de pedras rotativas *Super Masscoloider Masuko Sangyo*, sob rotação de 1500 rpm e 20 passes. Este procedimento foi realizado para a polpa com hemicelulose (PCH) e para a polpa sem hemicelulose (PSH).

2.2 Produção e caracterização dos filmes de nanofibrilas

Filmes com gramaturas de 40 e 50 g/m^2 foram produzidos por filtração com membranas de nylon de abertura de 22 μm. As massas da suspensão necessária para obter os filmes foram diluídas em água destilada até uma concentração de 3 x 10^{-3} g.mL^{-1}, as misturas foram agitadas durante 1 min até completa homogeneização. Depois de serem filtrados em membrana de nylon de 22 μm, suportada em peneiras de 60 mesh. Os filmes foram secos sob pressão a 60 °C/24 h.

Os filmes de nanofibras foram caracterizados por: absorção de água; Permeabilidade da passagem de ar; Teste de tração; Teste de arrebentamento; MEV. O comportamento reológico das suspensões foi avaliado utilizando-se *Reômetro HAAKE Rheo stress 600*.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Comportamento reológico das suspensões

Avaliando as variações da tensão de cisalhamento versus a taxa de cisalhamento aplicada as suspensões de nanocelulose (Figura 1B), observa-se que a relação entre elas é não linear, portanto o fluido é classificado como não-newtoniano. Como ocorre a redução da viscosidade com o aumento da

taxa de cisalhamento aplicada, esses fluidos são classificados como pseudoplásticos (SCHRAMM, 2006). Observa-se na Figura 1B que a suspensão de PCH necessita de uma tensão maior que 100 Pa para iniciar o escoamento. Essa tensão inicial elevada não é observada para a suspensão de PSH. Portanto, a suspensão de PSH é um fluido pseudoplástico puro e a suspensão de PCH é um fluido pseudoplástico de Herschel-Bulkley, devido à necessidade da tensão inicial para o escoamento.

Tanto a suspensão de polpa com hemicelulose e a suspensão de polpa sem hemicelulose apresentaram comportamento de fluido não newtoniano do tipo tixotrópico (Figura 1A), uma vez que houve a redução da viscosidade em função do tempo (SCHRAMM, 2006). Isso ocorre em razão do enfraquecimento das interações existentes entre as moléculas, fenômeno conhecido por histerese.

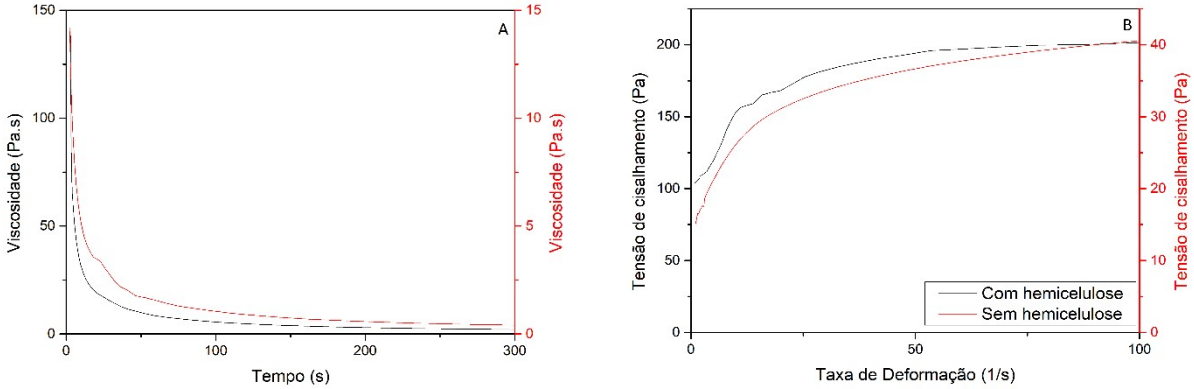


Figura 1. Comportamento reológico das suspensões de nanocelulose.

3.2 Caracterização dos filmes

O filme com hemicelulose é homogêneo e translúcido. A diferença com o papel comum é largura das fibras formadoras e o tamanho das cavidades intersticiais. Se as nanofibrilas de celulose estão densamente próximas e os interstícios entre as fibras são pequenos o suficiente para evitar espalhar a luz, o material celulósico torna-se translúcido (Figura 2A). Isto é evidenciado nas micrografias de microscopia eletrônica de varredura (MEV) (Figura 2B), que mostra a superfície uniforme, não porosa e compacta. Após o tratamento da polpa celulósica para a extração da hemicelulose em meio alcalino, foram obtidos filmes de nanofibrilas de celulose. Os filmes obtidos eram visivelmente não uniformes e menos resistentes em comparação aos filmes obtidos a partir da polpa bruta. As micrografias do filme sem hemicelulose (Figura 2C) mostram a superfície não uniforme e altamente porosa.

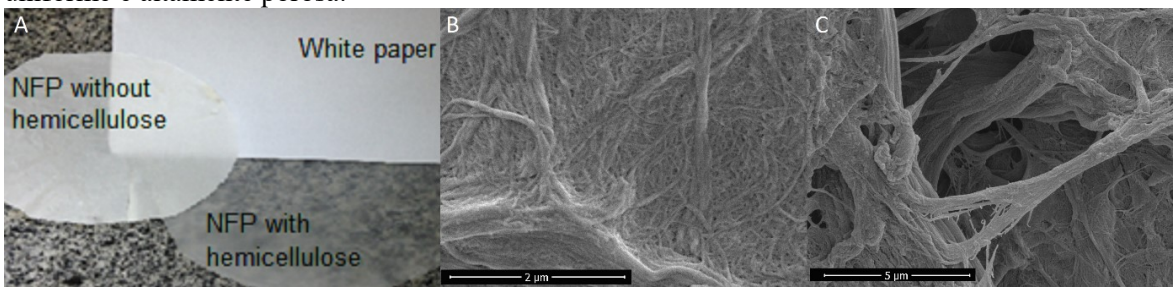


Figura 1. A) Filme sem hemicelulose, papel branco, filme com hemicelulose; B) Micrografias do filme com hemicelulose, ampliação: 30kX; C) Micrografias do filme sem hemicelulose, ampliação: 10kX

A presença de hemicelulose no processo de desfibrilação mecânica permitiu uma melhor união e melhor rearranjo das nanofibrilas, formando uma estrutura mais uniforme e compacta, reduzindo a espessura do filme. Nos filmes da polpa tratada, a coalescência das nanofibrilas faz com que a superfície do filme não seja uniforme e compacta apresentando maior espessura. A estrutura compacta e de baixa porosidade reduz a capacidade de penetração da água. Um maior número de fibrilas devido a uma gramatura produz filmes mais compactos, com menor porosidade devido à maior área de contato das fibrilas e maior interação entre elas, o que leva a uma menor capacidade de penetração de água e menor absorção de água em relação ao filme de menor gramatura. O filme sem hemicelulose possui alta porosidade que permite uma maior penetração e retenção da água e, consequentemente,

maior absorção de água. A morfologia compacta, muito densa e de baixa porosidade cria uma resistência à passagem de ar nos filmes da PCH, no entanto, a ausência de hemicelulose gera grandes cavidades na morfologia do filme que permitem a passagem do ar após um certo tempo.

Tabela 1. Propriedades físicas dos filmes de nanofibras

Amostra	Espessura (µm)	Absorção de água - Cobb ($g.m^{-2}$)	Permeabilidade ao ar - Gurley ($s.100\ cm^3$)	Resistência à Tração (MPa)	Resistência ao arrebentamento (KPa)
FCH40	45 ± 3 a	63 ± 9 a	0	47 ± 6 a	400 ± 20 a
FCH50	45 ± 6 a	34 ± 5 b	0	63 ± 2 b	580 ± 30 b
FSH40	80 ± 11 b	(13 ± 2).10 c	(20 ± 9).10 a	11 ± 1 c	80 ± 10 c
FSH50	90 ± 20 c	(13 ± 2).10 c	(4 ± 1).100 b	10,4 ± 0,7 c	117 ± 8 d

FCH40: Filme com hemicelulose de 40 g/m²; FCH50: Filme com hemicelulose de 50 g/m²; FSH40: Filme sem hemicelulose de 40 g/m²; FSH50: Filme sem hemicelulose de 50 g/m². Os indicies "a", "b", "c", e "d" indicam valores estatisticamente distintos para um nível de confiança de 95 %.

As propriedades mecânicas dependem das ligações das fibras e os filmes porosos possuem um número menor de ligações de interface e menores índices de resistência mecânica. Filmes com diferentes porosidades possuem diferentes propriedades mecânicas. O maior número de poros gera uma menor resistência à tração (ZHU et al., 2014). Folhas com maior teor de hemicelulose apresentaram maior rigidez e resistência à tração (MOLIN; TEDER, 2002). As polioses na superfície das fibras da polpa aderem às fibras no filme, inibindo a deformação. Portanto, as hemiceluloses contribuem para a adesão entre as nanofibrilas no estado seco, levando a uma melhora na rigidez e resistência (IWAMOTO; ABE; YANO, 2008).

4 CONCLUSÃO

A remoção da hemicelulose causa perda de translucidez, bem como redução drástica das propriedades mecânicas. Logo, não é interessante a retirada da hemicelulose para a confecção de filmes de nanofibras.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária e à Universidade Federal do Paraná, pela disponibilização de seus laboratórios e à CAPES pelas bolsas de estudo.

REFERÊNCIAS

CARVALHO, W. et al. Uma visão sobre a estrutura, composição e biodegradação da madeira. Quim. Nova, v. 32, n. 8, p. 2191–2195, 2009.

HOENICH, N. Cellulose for medical applications: Past, Presente and Future. BioResources, v. 1, n. 2, p. 270–280, 2006.

IWAMOTO, S.; ABE, K.; YANO, H. The Effect of Hemicelluloses on Wood Pulp Nanofibrillation and Nanofiber Network Characteristics. Biomacromolecules, v. 9, n. 3, p. 1022–1026, 2008.

KAMEL, S. Nanotechnology and its applications in lignocellulosic composites: A Mini Review. Polymer Letters, v. 1, n. 9, p. 546–575, 2007.

KARPPINEN, A. et al. Flocculation of microfibrillated cellulose in shear flow. Cellulose, v. 19, n. 6, p. 1807–1819, 2012.

MOLIN, U.; TEDER, A. Importance of cellulose/hemicellulose-ratio for pulp strength. Pulp Pap Res J Nord, v. 17, p. 14–28, 2002.

SCHRAMM, G. Reologia e Reometria – Fundamentos Teóricos. São Paulo: Editora Artliber LTDA, 2006.

VARTIAINEN, J. et al. Health and environmental safety aspects of friction grinding and spray drying of microfibrillated cellulose. Cellulose, v. 18, n. 3, p. 775–786, 2011.

ZHU, H. et al. Transparent paper: fabrications, properties, and device applications. Energy Environ. Sci., v. 7, n. 1, p. 269–287, 2014.

LOCALIZAÇÃO SELETIVA DE NANOPLATELETES DE GRAFENO NA BLENDA POLI(ÁCIDO LÁCTICO)/ POLI(E-CAPROLACTONA)

Jéssica de Aguiar[1*], Wagner M. Pachekoski[2], Marindia Decol[3], Daniela Becker[3], Luiz Henrique C. Mattoso[4], José Manoel Marconcini[4]

[1] PPGCEM, UFSCar, São Carlos, SP; [2] UFSC, Joinville, SC; [3] PGCEM, UDESC, Joinville, SC; [4]LNNA, Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP
**jessicadeaguiar@gmail.com*

Classificação: Processamento de filmes nanoestruturados para embalagens e conservação de alimentos.

Resumo
Neste trabalho, nanoplateletes de grafeno (NG) foram adicionados por mistura em estado fundido à blenda poli (ácido láctico) (PLA) e poli (ε-caprolactona) (PCL) por meio de diferentes sequências de mistura. O coeficiente de molhabilidade foi utilizado para determinar a localização seletiva dos NG. A dispersão dos NG nas amostras foi observada utilizando Microscopia Eletrônica de Varredura de Efeito de Campo (MEV-FEG). A predição termodinâmica indicou que os NG possuem localização seletiva na fase PCL, mas nas imagens MEV-FEG foi observado que o NG pode ter sua localização modificada dependendo da sequência de mistura adotada. Assim, é possível afirmar que existe uma competição entre fator termodinâmico e cinético na localização das nanopartículas.

Palavras-chave: Poli (ácido láctico); Poli (ε-caprolactona); Nanoplateletes de grafeno.

SELECTIVE LOCALIZATION OF GRAPHENE NANOPLATELETS IN POLY (LACTIC ACID)/POLY (Ε-CAPROLACTONE)/ BLEND

Abstract
In this work, graphene nanoplatelets (NG) were added by melt blending to poly (lactic acid) (PLA) and poly (ε-caprolactone) (PCL) blends by means of different blending sequences. The wettability coefficient was used to determine the selective location of NG. The dispersion of NG in the samples was observed using a Field Effect Scanning Electron Microscopy (SEM-FEG). The thermodynamic prediction indicated that the NGs have selective localization in the PCL phase, but in the MEV-FEG images it was observed that the NG may have its localization modified depending on the mixture sequence adopted. Thus, it is possible to affirm that there is a competition between thermodynamic and kinetic factors in the location of nanoparticles.
Keywords: Poli(lactic acid); Poli(ε-caprolactone); Graphene nanoplatelets.

Publicações relacionadas: AGUIAR, J. Influência da sequência de mistura na localização seletiva de nanopartículas de carbono na blenda PLA/PCL. Dissertação de Mestrado, Universidade do Estado de Santa Catarina, UDESC, Joinville, 2017.
AGUIAR, J. et al. Selective localization of carbon nanotube in poly (lactic acid)/poly (ε-caprolactone) blend. In: BRAZILIAN CONFERENCE ON COMPOSITE MATERIALS - BCCM-3, 2016.

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, tem aumentado a demanda por embalagens produzidas a partir de materiais biodegradáveis, sendo inclusive provenientes de fonte renováveis, como por exemplo, os biopolímeros. Com o propósito de expandir a aplicação dos polímeros biodegradáveis, trabalhos estudam a modificação das propriedades através de blendas poliméricas e/ou adição de nanopartículas. Neste contexto, o desenvolvimento de blendas poliméricas e/ou nanocompósitos é apresentado como uma alternativa efetiva para obtenção de materiais com diferentes propriedades sem a necessidade de síntese de novos polímeros (THOMAS; SHANKS, CHANDRAN, 2013).

Além da possibilidade de obter sistemas multifuncionais, dependendo da localização das nanopartículas na mistura de polímeros, a nanopartícula também pode estabilizar a morfologia das fases entre os dois polímeros, atuando como compatibilizante. Diferentes aspectos são responsáveis pela localização das nanopartículas em blendas poliméricas, entre eles pode-se destacar fatores termodinâmicos, reológicos, cinéticos (TAGUET; CASSAGNAU; LOPEZ-CUESTA, 2014).

As blendas de poli (ácido láctico) (PLA) / poli (ε-caprolactona) (PCL) são principalmente utilizadas em aplicações biomédicas (HUGHES et al., 2012). No entanto, o desenvolvimento de blendas PLA / PCL com nanoplateletes de grafeno pode proporcionar novas propriedades à blenda permitindo ampliar suas áreas de aplicação, como por exemplo, a produção de embalagens. Neste contexto, este trabalho tem como objetivo estudar a localização seletiva de NG em misturas PLA / PCL por meio da análise de fatores termodinâmicos e cinéticos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os materiais utilizados foram o PLA Ingeo 3251D produzido pela Nature Works LLC, o PCL Capa 6500 da Perstorp e os NG com código 06-0220 fabricados pela Strem Chemicals Inc.

Para a composição das amostras foi adotada uma proporção (m/m%) de 80% de PLA e 20% de PCL. Os NG foram adicionados em uma proporção (m/m%) de 0,5% em relação à massa total da blenda. Antes do processamento, o PLA foi seco em estufa a vácuo a 70 ºC durante 24 h. As blendas e os sistemas ternários foram preparados por mistura mecânica no estado fundido em um misturador de câmara interna acoplado a reômetro de torque (Thermo Scientific Haake Rheomix 600), equipado com rotores de mistura do tipo roller. As amostras foram processadas durante 6 minutos a uma temperatura de 175°C e com rotação de 100 rpm. Foram realizadas variações na sequência de adição dos componentes dos sistemas ternários, sendo que algumas das amostras foram preparadas em duas etapas: adição inicial de dois componentes e após dois minutos de processamento adição do terceiro componente. As sequências de misturas para a preparação de cada amostra bem como a nomenclatura utilizada na discussão de todo o trabalho são apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Sequência de misturas das amostras

Nomenclatura	Mistura base	Adição
PLA/PCL/NG	PLA/PCL/NG	-
PLA/PCL + NG	PLA/PCL	NG
PLA/NG + PCL	PLA/NG	PCL
PCL/NG + PLA	PCL/NG	PLA

A localização dos NG na blenda PLA/PCL foi prevista por meio do cálculo do parâmetro de molhabilidade (ω_{AB}), de acordo com a equação de Young (Equação 1), onde γ_{NB}, γ_{NA} e γ_{AB} representam respectivamente a tensão interfacial entre a partícula e o polímero B, a partícula e o polímero A e entre os dois polímeros A e B. De acordo com Sumita et al. (1991) se $\omega_{AB}>1$, as partículas estão presentes apenas no polímero A; se $\omega_{AB}<-1$, as partículas estão presentes apenas no polímero B e se $-1< \omega_{AB} <1$, as partículas estão situadas na interface dos polímeros.

$$\omega_{AB} = \frac{\gamma_{NB} - \gamma_{NA}}{\gamma_{AB}} \quad (1)$$

As tensões interfaciais entre os componentes dos nanocompósitos γ_{NB}, γ_{NA} e γ_{AB} foram estimados pelo uso do método harmônico (WU, 1971), representado na Equação 2. Onde γ^d e γ^p são respectivamente as componentes dispersiva e polar das energias de superfície.

$$\gamma_{12} = \gamma_1 + \gamma_2 - 4\left(\frac{\gamma_1^d\gamma_2^d}{\gamma_1^d + \gamma_2^d} + \frac{\gamma_1^p\gamma_2^p}{\gamma_1^p + \gamma_2^p}\right) \quad (2)$$

A energia de superfície dos polímeros PLA e PCL puros foi realizada por meio da técnica de ângulo de contato. Foi utilizado o método da gota séssil à temperatura ambiente (~25 °C) com o auxílio de um goniômetro Ramé-hart. Foram depositadas sobre diferentes regiões da superfície dos

polímeros puros 6 gotas com aproximadamente 3 mL de cada um dos líquidos (água deionizada e diiodometano). As energias de superfície a 175 °C foram calculadas teoricamente usando os coeficientes de temperatura de 0,06 mJ/m².k e 0,058 mJ/m².k para o PLA e PCL, respectivamente (WU et al., 2011).

A dispersão e a localização seletiva dos NG foram observadas utilizando um Microscopia Eletrônica de Varredura de Efeito de Campo (MEV-FEG), modelo JEOL JSM6701F. As amostras foram submetidas a fratura criogênica e revestidas com ouro.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As energias de superfície dos polímeros utilizados neste trabalho foram determinadas através do método da gota séssil a temperatura ambiente (~25° C) e extrapoladas matematicamente para a obtenção das energias de superfície a mesma temperatura que as amostras foram processadas (175° C). As variações causadas pela temperatura na energia de superfície dos NG foram consideradas nulas, sendo utilizada para o estudo a energia de superfície determinada por Huang et al. (2016) à temperatura ambiente. Todas as energias de superfície são listadas na Tabela 2.

Tabela 2. Energias de superfície calculadas para PLA e PCL e retirada da literatura para NG

Amostra	Energia de superfície (mJ.m^{-2})			Ref.
	γ_s^d	γ_s^p	γ_s	
PLA	30,42 / 19,84[a)]	7,56 / 3,90[a)]	45,98 / 23,75[a)]	
PCL	40,85 / 20,42 [a)]	5,06 / 2,53 [a)]	45,91 / 22,95[a)]	
NG	19,49	3,27	22,76	Huang et al. (2016)

a) valores a 175 °C, obtidos através da extrapolação dos valores experimentais (25 °C)

As energias de superfície de cada material foram utilizadas para calcular as tensões interfaciais (γ_{12}) entre os pares de componentes dos sistemas ternários PLA/PCL com NG (Tabela 3). Na sequência, calculou-se o coeficiente de molhabilidade para o sistema ternário. Obteve-se o valor -2,73 para o coeficiente de molhabilidade, sugerindo uma afinidade das nanopartículas de NG com o PCL.

Tabela 3. Valores calculados das tensões interfaciais para os pares de componentes.

Componente A	Componente B	Tensão interfacial entre A e B (mJ.m^{-2})
PLA	PCL	0,19
PLA	NG	0,82
PCL	NG	0,30

A morfologia e a dispersão das nanopartículas nos sistemas ternários foram analisadas por MEV-FEG. As micrografias MEV-FEG para os diferentes sistemas ternários com NG podem ser observadas na Figura 1. Em todas as amostras foram observadas a formação de fases aproximadamente esféricas de PCL (região escura) dispersas em uma fase contínua de PLA (região clara). Em todas as amostras é possível observar NG dispersos na fase PCL, corroborando com a análise termodinâmica. Além do fator termodinâmico outro mecanismo que pode ter contribuído para este resultado pode ser a diferença de viscosidade dos polímeros (AGUIAR et al., 2016). Ainda, para o caso específico das amostras PLA/PCL/NG e PCL/NG + PLA, a localização na fase PCL pode ser facilitada pelo fator cinético, uma vez que durante a preparação destas amostras a sequência de mistura adotada permite que as cargas entrem em contato primeiramente com o PCL (TAGUET; CASSAGNAU; LOPEZ-CUESTA, 2014). Em contrapartida, na amostra PLA/NG+PCL (Figura 1 (c)), onde a sequência de mistura possibilitou que os NG entrassem em contato primeiramente com o PLA, os NG também ficaram dispersos na fase PLA, indicando uma competição entre os fatores cinéticos e termodinâmicos.

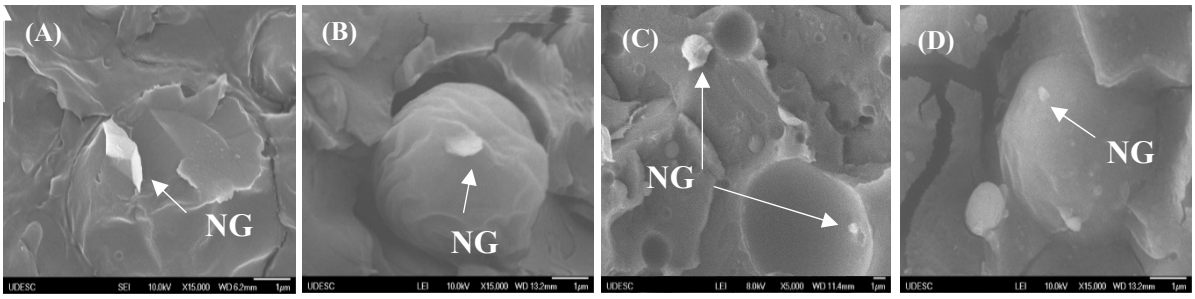


Figura 1. Micrografias MEV-FEG a) PLA/PCL/NG, b) PLA/PCL+NG, c) PLA/NG+PCL e d) PCL/NG+PLA

4 CONCLUSÃO

O objetivo deste artigo foi investigar a influência dos fatores cinéticos (diferentes seqüências de misturas) e dos fatores termodinâmicos na localização seletiva de nanoplateletes de grafeno em blendas de PLA / PCL. As amostras PLA/PCL/NG, PLA/PCL+NG e PCL/NG + PLA apresentaram uma morfologia similar, com NG preferencialmente localizados na fase PCL, corroborando com às previsões teóricas. Na amostra PLA/NG+PCL puderam ser observados NG em ambas as fases PLA e PCL. É possível afirmar que existe uma competição entre o fator termodinâmico e o cinético na localização seletiva das nanopartículas nas blendas PLA/PCL.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio da CAPES, FAPESC, EMBRAPA-INN, CNPq e MCTI/SISNANO

REFERÊNCIAS

AGUIAR, J. et al. Selective localization of carbon nanotube in poly (lactic acid)/poly (ε-caprolactone) blend. In: BRAZILIAN CONFERENCE ON COMPOSITE MATERIALS - BCCM-3, 2016.

HUGHES, J. et al. Improved flexibility of thermally stable poly-lactic acid (PLA). Carbohydrate polymers, v. 88, n. 1, p. 165-172, 2012.

SUMITA, M. et al. Dispersion of fillers and the electrical conductivity of polymer blends filled with carbon black. Polymer bulletin, v. 25, n. 2, p. 265-271, 1991.

TAGUET, A.; CASSAGNAU, P.; LOPEZ-CUESTA, J.-M. Structuration, selective dispersion and compatibilizing effect of (nano) fillers in polymer blends. Progress in Polymer Science, v. 39, n. 8, p. 1526-1563, 2014.

THOMAS, S.; SHANKS, R.; CHANDRAN, S. Nanostructured polymer blends. Oxford: William Andrew, 2013.

WU, D. et al. Selective localization of nanofillers: effect on morphology and crystallization of PLA/PCL blends. Macromolecular Chemistry and Physics, v. 212, n. 6, p. 613-626, 2011.

HUANG, J. et al. Massive enhancement in the thermal conductivity of polymer composites by trapping graphene at the interface of a polymer blend. Composites Science and Technology, v. 129, p. 160-165, 2016.

WU, S. Calculation of interfacial tension in polymer systems. Journal of Polymer Science, n.34, p. 19-30, 1971.

SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA EM FILMES DE NANOCELULOSE

Francine C. Claro[1], Washington L. E. Magalhães[2]

1 Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais, Universidade Federal do Paraná, cecconclaro@gmail.com
2 Embrapa Florestas, Colombo-PR. washington.magalhaes@embrapa.br

Classificação: Processamento de filmes nanoestruturados para embalagens e conservação de alimentos.

Resumo
O setor de embalagens busca materiais que protejam e conservem os alimentos visando manter sua qualidade. Sendo a celulose o polímero natural mais abundante na Terra, com regeneração via fotossíntese, uma alternativa promissora. O uso da nanocelulose ainda agrega características de alta e resistência e translucidez ao material. Estudos mostram que as nanopartículas de prata (NPs Ag) agem contra mais de 650 agentes patogênicos sem desenvolver resistência. A síntese de nanopartículas de prata (NPs Ag) em filmes de nanocelulose combinam as propriedades de resistência e biodegradabilidade da nanocelulose com a ação antibacteriana da NPs Ag. Para isso foram sintetizadas NPs Ag pelo método de reagente de Tollen na superfície de filmes de nanocelulose de *pinus sp* em duas concentrações. As NPs Ag foram caracterizadas por difração de raios-X e microscopia eletrônica de varredura. Os filmes obtidos apresentaram concentração de 32 e 89 mg de NPs Ag por kg de nanocelulose. A síntese da NPs Ag foi um processo eficiente sendo necessário testes *in vitro* para avaliar a ação antibacteriana do material.
Palavras-chave: Nanopartículas de prata; Nanocelulose; Embalagens; Bactericida.

SYNTHESIS OF SILVER NANOPARTICLES IN NANOCELLULOSE FILMS
Abstract
The packaging industry looks for materials that protect and conserve the food in order to keep your quality. Natural polymer cellulose being the most abundant on Earth, with regeneration by way of photosynthesis, a promising alternative. The use of nanocellulose still adds high features and resistance and translucency to the material. Studies show that silver nanoparticles (NPs Ag) act against more than 650 pathogens without developing resistance. Synthesis of silver nanoparticles (NPs Ag) in nanocellulose films combine the properties of resistance and biodegradability of nanocellulose with the antibacterial action of the NPs Ag. For that NPs Ag were synthesized by the method of reagent Tollen's in surface of nanocellulose films of *pinus sp* in two concentrations. The NPs Ag were characterized by x-ray diffraction and scanning electron microscopy. The films obtained presented 32 and 89 mg of NPs Ag per kg nanocellulose. The NPs Ag synthesis was an efficient process being necessary *in vitro* tests to assess the antibacterial action of the material.
Keywords: Silver Nanoparticles; Nanocellulose; Packing; Bactericidal

1 INTRODUÇÃO

Veem crescendo o interesse na substituição de polímeros sintéticos por polímeros naturais, principalmente na produção de embalagens para alimentos (CARVALHO et al., 2009). A celulose é o polímero natural mais abundante na Terra, com uma elevada taxa de regeneração via fotossíntese (HOENICH, 2006).

A nanotecnologia permite potencializar propriedades físicas e químicas resultante de uma área superficial elevada, maior grau de dispersão e funcionalidades, possibilitando maior eficiência e desempenho de materiais já conhecidos, neste caso a nanocelulose e a nanopartícula de prata (KAMEL, 2007).

Os nanomateriais celulósicos possuem grande área superficial e a capacidade de formar ligações de hidrogênio, o que permite criar uma rede forte e densa, tornando-se excelente material para aplicações como barreiras, além das propriedades únicas como baixa expansão térmica, transparência óptica, biodegradabilidade, baixo custo e baixa toxicidade (FERRER; PAL; HUBBE, 2017; SACUI et al., 2014).

Estudos mostram que as nanopartículas de prata (NPs Ag) agem contra mais de 650 agentes patogênicos sem desenvolver resistência (MONTAZER et al., 2012). A ação bactericida das NPs Ag está relacionada aos danos causados no processo de respiração celular e permeabilidade ao entrarem em contato com a membrana celular dos micro-organismos. Apesar da grande atividade bactericida os íons de prata não apresentam perigo para células humanas, em determinado limite de concentração (LEVIN et al., 2009; MANEERUNG; TOKURA; RUJIRAVANIT, 2008; MONTAZER et al., 2012; MORONES; ELECHIGUERRA, J.L. CAMACHO; RAMIREZ, 2005).

Neste trabalho foram desenvolvidos e caracterizados filmes de nanocelulose vegetal impregnados com nanopartículas de prata para potencial uso em embalagens de alimentos, combinando as propriedades de resistência e biodegradabilidade da nanocelulose com a ação antibacteriana da NPs Ag.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Obtenção das nanofibrilas de celulose e dos filmes de nanocelulose

Para obtenção da celulose nanofibrilada, a polpa celulósica branqueada foi dispersa em água destilada e homogeneizada em liquidificador laboratorial, para obtenção de uma pasta. Para o processo mecânico de desfibrilação a pasta, na concentração de 3 % em base seca, foi inserida no moinho Super Masscoloider Masuko Sangyo, sob rotação de 1500 rpm e 20 passes, sendo o passe um ciclo completo de moagem da pasta.

As massas de suspensão necessárias para obter cada filme (20 g/m^2) foram diluídas em água destilada até concentração de 3 x 10^{-3} $g.mL^{-1}$, as misturas foram agitadas por 1 min até completa homogeneização. Após foram filtradas em membrana de nylon 22 μm suportada em peneira de 60 Mesh. As suspensões foram prensadas com placa de vidro para a retirada do excesso de água, em seguida o conjunto peneira, material e placa de vidro foram colocados em estufa a 60 ºC para secagem por 24 h.

2.2 Síntese das nanopartículas de prata

As nanopartículas de prata foram sintetizadas pelo método de reagente de Tollen. Uma solução de nitrato de prata ($AgNO_3$) 0,5 $mol.L^{-1}$ foi misturada com hidróxido de sódio (NaOH) 0,5 $mol.L^{-1}$ formando um precipitado de óxido de prata (Ag_2O). O precipitado foi decantado e centrifugado (10 min e 3000 rpm) e lavado. Em seguida foi adicionado lentamente uma solução de amônia 2% (m:v), solubilizando o óxido de prata e formando o complexo $[Ag(NH_3)_2]^+$. Para a impregnação, os filmes foram imersos na solução do complexo $[Ag(NH_3)_2]^+$ em banho de aquecimento a 80 ºC por 30 min. Após foram lavados com água destilada e secos em câmara climática 20 ºC e umidade relativa de 50% . Foram preparadas soluções de Ag_2O em amônia nas concentrações de 10 e 35 ppm (MONTAZER; SHAMEI; ALIMOHAMMADI, 2012).

2.3 Caracterização

A concentração de prata depositada nos filmes de nanocelulose foi determinada por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES). O espectrômetro utilizado foi o ICP OES modelo Vista - Pró simultâneo com observação axial Varian.

As sínteses das nanopartículas de prata foram confirmadas pelo método de difração de raios-X utilizando difratômetro de Raios-X XRD 7000 da SHIMADZU. Operando a 40 kV com uma corrente 20 mA e velocidade de 2 º.min^{-1} usando radiação de Cu-Kα com comprimento de onda de 0,15418 nm. As micrografias foram obtidas por Microscópio Eletrônico de Varredura FEI Quanta 450 FEG.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Quantificação das nanopartículas de prata

Os filmes de nanocelulose impregnados com nanopartículas de prata sintetizadas a partir de 10 ppm de Ag_2O apresentaram uma concentração média de (32 $\pm$ 16) mg de prata por kg de nanocelulose. As NPs sintetizadas a partir de 35 ppm de Ag_2O apresentaram concentração média de (89 $\pm$ 3) mg por kg de nanocelulose. Os valores foram quantificados por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado.

3.2 Difração de raios-X

A análise de difração de raios-X foi utilizada para confirmar a formação das nanopartículas de prata e a sua estrutura cristalina.

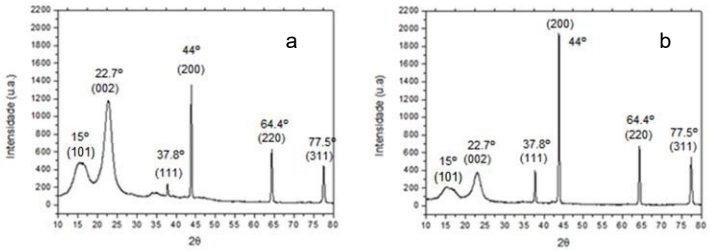


Figura 1. Difratogramas de raios-X dos filmes de nanocelulose impregnados com nanopartículas de prata a) 32 mg/kg b)89 mg/kg.

Os picos largos apresentados na Figura 1 são referentes a celulose que apresenta picos cristalinos em aproximadamente 15º e 22,7º, referente aos planos cristalinos (101) e (002) respectivamente.

As duas amostras apresentaram os quatro picos característicos da prata metálica em 2 θ = 37,8º, 44,0º, 64,4º e 75,5º correspondentes aos planos cristalinos (111), (200), (220) e (311) da estrutura cúbica de face centrada (fcc), indicando a redução do reagente de Tollen para prata metálica.

Resultados semelhantes foram encontrados por Montazer et al., (2012) na síntese de nanopartículas de prata em algodão e por Maneerung, Tokura e Rujiravanit, (2008) na impregnação de nanopartículas em celulose bacteriana.

3.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Através das micrografias da microscopia eletrônica de varredura (Figura 2) foi possível confirmar a deposição das nanopartículas de prata na superfície dos filmes de nanocelulose e observar a morfologia das mesmas.

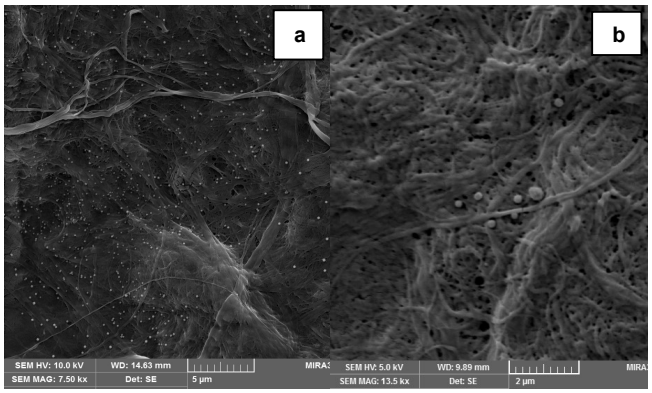


Figura 2. Micrografia dos filmes de nanocelulose impregnados com nanopartículas de prata a) 32 mg/kg magnificação 7,5 kX b) 89 mg/kg magnificação 13,5 kX.

As nanopartículas de prata de 32 mg/kg (Figura 2a) apresentaram diâmetro variando entre 109 – 151 nm e formato cúbico, formato diferente do convencional esférico (MONTAZER et al., 2012). A formação de nanopartículas cúbicas está relacionada à alta concentração de Ag_2O, onde ocorre uma rápida nucleação e consequentemente o rápido crescimento das partículas. As nanopartículas de prata de 89 mg/kg (Figura 2b) apresentaram diâmetro variando entre 152 – 189 nm e majoritariamente formato cúbico, devido à rápida nucleação (MONTAZER et al., 2012; NERSISYAN et al., 2003).

O processo de síntese das nanopartículas, apesar de ocorrer em meio básico, não danificou as fibrilas de celulose, permanecendo um filme denso e não poroso.

4 CONCLUSÃO

A síntese de nanopartículas de prata em filmes de nanocelulose mostrou-se um processo eficiente em diferentes concentrações, podendo ser aplicado para embalagens e conservação de alimentos, entretanto ainda são necessários testes *in vitro* para avaliar ação bactericida destes filmes.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária e à Universidade Federal do Paraná, pela disponibilização de seus laboratórios e à CAPES pela bolsa de estudo.

REFERÊNCIAS

CARVALHO, W. et al. Uma visão sobre a estrutura, composição e biodegradação da madeira. Quim. Nova, v. 32, n. 8, p. 2191–2195, 2009.

FERRER, A.; PAL, L.; HUBBE, M. Nanocellulose in packaging: Advances in barrier layer technologies. Industrial Crops and Products, v. 95, p. 574–582, 2017.

HOENICH, N. Cellulose for medical applications: Past, Presente and Future. BioResources, v. 1, n. 2, p. 270–280, 2006.

KAMEL, S. Nanotechnology and its applications in lignocellulosic composites: A Mini Review. Polymer Letters, v. 1, n. 9, p. 546–575, 2007.

LEVIN, S. C. et al. Magneticplasmonic core-shell nanoparticles. American Chemical Society - ACS Nano, v. 3, p. 379–1388, 2009.

MANEERUNG, T.; TOKURA, S.; RUJIRAVANIT, R. Impregnation of silver nanoparticles into bacterial cellulose for antimicrobial wound dressing. Carbohydrate Polymers, v. 72, n. 1, p. 43–51, 2008.

MONTAZER, M. et al. In situ synthesis of nano silver on cotton using Tollens' reagent. Carbohydrate Polymers, v. 87, n. 2, p. 1706–1712, 2012.

MONTAZER, M.; SHAMEI, A.; ALIMOHAMMADI, F. Synthesizing and stabilizing silver nanoparticles on polyamide fabric using silver-ammonia/PVP/UVC. Progress in Organic Coatings, v. 75, n. 4, p. 379–385, 2012.

MORONES, J. R.; ELECHIGUERRA, J.L. CAMACHO, A.; RAMIREZ, J. T. The bacterial eff ect of silver nanoparticles. Nanotechnology, v. 16, p. 2346–2353, 2005.

NERSISYAN, H. H. et al. A new and effective chemical reduction method for preparation of nanosized silver powder and colloid dispersion. Materials Research Bulletin, v. 38, n. 6, p. 949–956, 2003.

SACUI, I. A. et al. Comparison of the properties of cellulose nanocrystals and cellulose nanofibrils isolated from bacteria, tunicate, and wood processed using acid, enzymatic, mechanical, and oxidative methods. ACS Applied Materials and Interfaces, v. 6, n. 9, p. 6127–6138, 2014.

WU, J. et al. Silver nanoparticle/bacterial cellulose gel membranes for antibacterial wound dressing: investigation in vitro and in vivo. Biomedical materials (Bristol, England), v. 9, n. 3, p. 35005, 2014.

DESENVOLVIMENTO DE REVESTIMENTOS COMESTÍVEIS A BASE DE KAFIRINAS PARA REVESTIMENTOS DE TOMATES CEREJA ORGÂNICOS

Mirella Rissi[1], Bruna Carolina Dorm[2], Avelino dos Santos Rodrigues[3], Rubens Bernardes Filho[4], Luiz Alberto Colnago[4], Lucimara Aparecida Forato[4]

*[1]Departamento de Química – Universidade Federal de São Carlos; *mirella_rissi@hotmail.com*
[2]Departamento de Biologia - Universidade Federal de São Carlos;
[3]Embrapa Milho e Sorgo;
[4]Embrapa Instrumentação

Classificação: Processamento de filmes nanoestruturados para embalagens e conservação de alimentos.

Resumo
As kafirinas são proteínas de reserva do sorgo sacarino, classificadas em frações proteicas como α, β, γ e δ. A fração α pode ser extraída em soluções etanol/água, sendo essas frações correspondentes a 66-84% das kafirinas totais. Desta forma, o presente trabalho tem como objetivo a extração das kafirinas a partir dos grãos de sorgo sacarino BR-501, bem como caracterizar tais proteínas pela técnica de espectroscopia na região do infravermelho e obter revestimentos comestíveis para proteger tomates cereja orgânicos, a fim de aumentar seu tempo de prateleira. Cinco formulações foram desenvolvidas, variando-se a porcentagem de proteína e de plastificante utilizado. Dentre as formulações utilizadas, uma apresentou menor perda de massa e inibiu a proliferação de fungos.
Palavras-chave: Kafirinas; Revestimentos comestíveis; Tomates cereja.

DEVELOPMENT OF EDIBLE COATINGS BASED ON KAFIRINAS FOR COATING OF ORGANIC CHERRY TOMATOES

Abstract
The kafirins are the storage proteins of sweet sorghum, classified in protein fractions as α, β, γ and δ. The α fraction a can be extracted in ethanol/water solutions, these fractions corresponding to 66-84% of total kafirins. Thus, the present paper has the aim of extracting the reserve proteins from BR-501 sweet sorghum grains, as well as characterizing the proteins by Fourier Transform infrared spectroscopy (FTIR) and obtaining edible coatings for organic cherry tomatoes, in order to increase your shelf time. Five formulations were developed, varying the percentage of protein and plasticizer used. Among the formulations, one of them showed lower weight loss and inhibited the proliferation of fungi.
Keywords: Kafirins; Edible coatings; Cherry tomatoes.

1 INTRODUÇÃO

O consumidor avalia alguns aspectos na hora da escolha e compra de um fruto, que varia desde o valor nutritivo até a aparência, textura e cor do alimento. Esses últimos podem variar dependendo das condições em que o fruto esteve desde a colheita até chegar à prateleira.

Filmes e revestimentos agem como barreiras que controlam a transferência de umidade, oxigênio, dióxido de carbono, óleos e gorduras, e compostos voláteis, a fim de prevenir contra a deterioração e aumentar o tempo de prateleira dos produtos (HERNANDEZ-MUNÕZ, *et al.,* 2004).

Os principais materiais utilizados atualmente para revestimentos de frutos são proteínas, polissacarídeos e lipídios, devido serem biodegradáveis e poderem ser ingeridos, sendo atóxicos (ZHANG, 2010).

As proteínas de reserva (prolaminas) se encontram em todos os cereais, sendo estas conhecidas no grão de sorgo como kafirinas. Essas proteínas são hidrofóbicas e com isso, são capazes

de formar filmes protetores que podem aumentar a durabilidade de alimentos, protegendo-os da umidade e oxigênio (SCRAMIM, 2013). Filmes com apenas proteínas são quebradiços e pouco flexíveis, e necessitam então de adição de plastificantes, que podem ser glicerói ou ácidos graxos.

No presente trabalho, o fruto escolhido para revestimento foi o tomate cereja (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme),* que apresenta alta perecilidade devido à sua pele fina e fragilidade (SÃO JOSÉ, 2013). Assim, o uso de revestimentos sobre tomates cereja pode ser útil para aumentar o seu tempo de armazenamento.

O desenvolvimento de revestimentos a base de kafirinas extraídas do sorgo sacarino BR-501 e caracterizadas por FTIR, para obtenção de filmes comestíveis, foi o enfoque principal deste trabalho.

2 MATERIAL E MÉTODOS

As kafirinas utilizadas foram obtidas inicialmente triturando os grãos de sorgo sacarino e montando um sistema Soxlet, onde o sorgo permaneceu em presença de hexano por 24 horas. Em seguida agitou-se a massa residual em solução de bissulfito de sódio 100mmol/L por três horas. Filtrou-se, lavou-se e posteriormente, a massa residual foi agitada em solução de cloreto de sódio 1,25 mol/L por seis horas. Filtrou-se a massa residual e lavou-se. Após, agitou-se a massa residual em etanol 70% por 24 horas e filtrou-se. Ao final, o solvente foi rotaevaporado e liofilizou-se o precipitado.

Para caracterizar as kafirinas obtidas, foi utilizada a técnica de FTIR com o espectrômetro Vertex 70 – Bruker. Os espectros foram obtidos na região de 4000 a 400 cm^{-1}, com 32 varreduras e 4 cm^{-1} de resolução. As amostras foram preparadas com 100 mg de KBr e 1 mg da proteína, na forma de pastilhas.

Os plastificantes utilizados foram óleo de pimenta rosa e óleo de abacate em diferentes concentrações. Aos óleos foram adicionados 15 mL de soluções aquosas de etanol a 70%, com kafirinas em diferentes concentrações em massa/massa. As soluções filmogênicas foram preparadas seguindo as seguintes formulações: F50: 2% de kafirina e 0,5% de óleo de abacate; F51: 2% de kafirina e 1,0% de óleo de abacate; F52: 24de kafirina, 0,5% de óleo de abacate e 0,2% de óleo de pimenta rosa; F53: 4% de kafirina, 1,0% de óleo de abacate e 0,4% de óleo de pimenta rosa; F54: 4% de kafirina e 0,2% de óleo de pimenta rosa.

Os tomates cereja (Cultivar Carolina) foram adquiridos da Associação de Produtores Rurais Nova Santa Helena, de São Carlos–SP, um assentamento da reforma agrária na modalidade de desenvolvimento sustentável (PDS) do INCRA. Os mesmos foram higienizados, secos e imersos nas soluções precursoras dos revestimentos descritos acima por 5 segundos, colocados em suporte e então secos em temperatura ambiente, para cura do revestimento a 26,3℃ com 53% de umidade relativa. Após, foram feitas pesagens dos tomates durante oito dias para avaliar a perda de massa e medidas de colorimetria foram realizadas para tomates revestidos, utilizando o modelo ANOVA para análise dos dados.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Análise das kafirinas por espectroscopia na região do infravermelho (FTIR)

Na Figura 1 está o espectro de FTIR obtido para as kafirinas extraídas. Nesta Figura observa-se as bandas típicas de proteínas (amida A, I, II e III), no entanto, no espectro das kafirinas também foi observada a presença de lipídeos, os quais foram posteriormente removidos por agitação em clorofórmio. Pode-se dizer que o procedimento de extração foi bem sucedido.

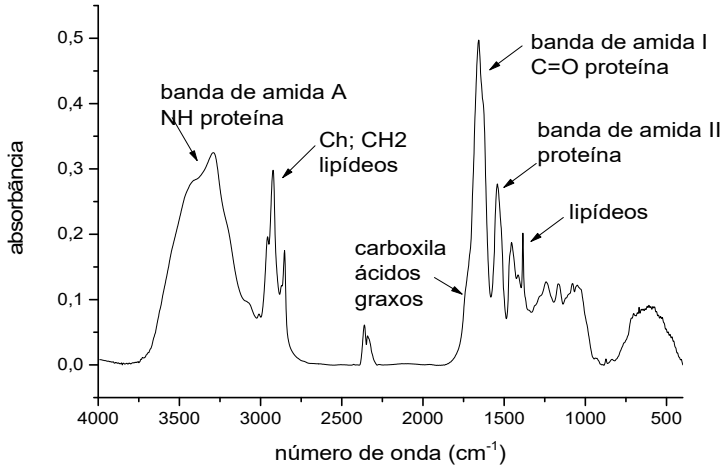


Figura 1. Espectro na região do infravermelho para kafirinas extraídas

3.2 Perda de massa

Na Figura 2 encontra-se o gráfico de perda de massa dos tomates com e sem revestimento. Foram revestidos cinco frutos para cada formulação e cinco frutos analisados como controle, sem revestimento (SR).

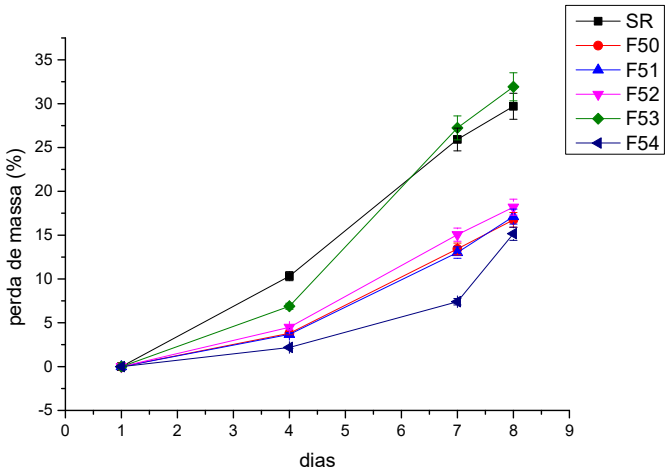


Figura 2: Gráfico de perda de massa para a média de 5 frutos;
Tomates cereja sem revestimento (SR) – preto, revestidos com F50 – vermelho, revestidos com F51 – azul, revestidos com F52 – magenta, revestidos com F53 – verde e revestidos com F54 – azul escuro. Foi aplicado teste ANOVA, $p<0,05$.

Pela Figura 2, pode-se observar que os tomates sem revestimentos e revestidos com F53 foram os que apresentaram maior perda de massa ao final dos experimentos. O uso das formulações F50, F51, F52 e F54 em perda de massa reduzida para os frutos.

Com exceção dos tomates da formulação F54, todos os demais, no oitavo dia de revestimento, apresentaram presença de fungos. A ausência de fungos nos tomates revestidos com F54 pode ser devido ao uso do óleo de pimenta rosa.

3.3 Colorimetria

Na Tabela 1 encontram-se os valores de a*, b* e os valores do ângulo de Hue calculados pela equação (1) para os tomates sem revestimento e revestidos com as formulações utilizadas.

$Hue=\tan^{-1}(b^*/a^*)$, quando $a^*>0$ e $b^*=0$ (1)

$Hue=180 + \tan^{-1}(b^*/a^*)$, quando $a^*<0$ (2)

Tabela 1. Valores obtidos pelo colorímetro, bem como o cálculo do ângulo Hue para os tomates com e sem revestimento do experimento 1. Os valores apresentados foram obtidas pela média de cinco tomates para cada tratamento. p>0,05.

	Dia	SR	F50	F51	F52	F53	F54
a*	**1**	21,35	16,87	22,174	21,972	24,426	22,532
a*	**8**	24,82	14,58	20,678	21,546	24,472	26,452
b*	**1**	14,65	23,97	14,882	15,714	15,598	16,474
b*	**8**	14,61	20,20	15,452	16,196	15,866	17,822
L*	**1**	**34,03**	38,87	36,792	37,548	37,048	**38,282**
L*	**8**	40,02	**38,55**	39,482	39,66	37,346	39,522
ângulo de Hue	**1**	34,6	35,12	33,86	35,58	32,54	36,15
ângulo de Hue	**8**	30,48	35,81	36,73	36,89	32,94	30,65

Os valores apresentados foram obtidos pela média de cinco tomates para cada tratamento. p>0,05.

Na Tabela 1, pode-se observar a variação de L* que é relativa à luminosidade e pode variar de 0 (preto) a 100 (branco). Os valores de L* aumentaram para todas as amostras. No sistema CIELAB, o valor a* varia do verde (-a) ao vermelho (+a); b* varia do azul (-b) ao amarelo (+b) e L* varia do branco (+L) ao preto (-L) e indicam a claridade (Moretti, 2006). A partir destes valores foram calculados o ângulo de Hue, que é o tom da cor. O ângulo de Hue = 0º significa vermelho e ângulo de Hue = 90º significa amarelo. No entanto, como não houve diferença significativa (p>0,05) entre os obtidos pela análise colorimétrica pode-se afirmar que os revestimentos a base de kafirinas não interferiram na cor do epicarpo dos tomates.

4 CONCLUSÃO

Com os resultados aqui apresentados pode-se concluir que o revestimento F54 foi o mais eficaz no experimento, uma vez que inibiu a proliferação de fungos, bem como apresentou uma perda de massa satisfatória, menor do que os frutos não revestidos. Pelos resultados de colorimetria pôde-se observar que os revestimentos a base de kafirinas não interferiram na coloração dos frutos.

AGRADECIMENTOS

EMBRAPA / Rede AgroNano, SisNano, CNPQ (bolsa PIBIC concedida a aluna Bruna Carolina Dorm)

REFERÊNCIAS

HERNANDEZ-MUÑOZ, P., VILLALOBOS, R., CHIRALT, A. Effect of cross-linking using aldehydes on properties of glutenin-rich films. **Food Hydrocolloids**, v.18, p.403-411, 2004.

SÃO JOSÉ, JACKLINE FREITAS BRILHANTE DE, Caracterização físico-química e microbiológica de tomate cereja (*Lycopersicum esculentum* var. cerasiforme) minimamente processado submetido a diferentes tratamentos de sanitização. **Dissertação de Mestrado**, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 141 p., 2013.

SCRAMIN, J.A. Desenvolvimento e avaliação toxicológica de filmes comestíveis hidrofóbicos com incorporação de nanopartículas de quitosana. **Tese de Doutorado**, Universidade Federal de São Carlos, UFSCar, São Carlos, 122p, 2013.

ZHANG, H.; MITTAL, G. Biodegradable Protein-Based films from Plant Resources. A Review. **Environmental Progress & Sustainable Energy**. V. 29, n.2, p. 203-220, 2010.

CARACTERIZAÇÃO MECÂNICA DE FILMES DE POLICAPROLACTONA ADTIVIDADOS COM METABISSULFITO DE SÓDIO

Luciana K. Buoso[2,*], Francys K. V. Moreira[2]

*1 – Departamento de Engenharia de Materiais (DEMa), Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), São Carlos (SP). *lucianakuraba@gmail.com*

Classificação: Processamento de filmes nanoestruturados para embalagens e conservação de alimentos.

Resumo
Esse trabalho descreve o processamento de filmes biodegradáveis de policaprolactona aditivados com metabisulfito de sódio, um agente antioxidante de amplo uso na indústria de alimentos. Filmes de policaprolactona contendo diferentes concentrações de metabissulfito de sódio (0 – 2,5 %) foram produzidos por extrusão e posteriormente caracterizados quanto às propriedades mecânicas de tração e comportamento ótico. Altas concentrações de metabissulfito de sódio (acima de 2,5%) podem reduzir a resistência mecânica à tração e transmitância à luz visível de filmes de PCL, ao mesmo tempo em que aumenta seu alongamento na ruptura. Concentrações menores não alteraram o comportamento mecânico e ótico, estando os parâmetros próximos àqueles do filme puro.

Palavras-chave: Embalagem Funcional; Processamento; Comportamento Mecânico.

MECHANICAL CHARACTERIZATION OF POLYCAPROLACTONE FILMS LOADED WITH SODIUM METABISULFITE

Abstract
This study describes the processing of biodegradable polycaprolactone films loaded with sodium metabisulfite, an antioxidant agent of broad use in the food industry. Polycaprolactone films containing different sodium metabisulfite concentrations (0-2.5%) were obtained by extrusion and subsequently characterized with respect to their mechanical and optical properties. High concentrations of sodium metabisulfite (above 2.5%) may reduce tensile strength and visible light transmittance of polycaprolactone films, while increasing their elongation at break. Minor concentrations did not change the mechanical and optical behavior of polycaprolactone films, thus sodium metabisulfite may be used in polycaprolactone films at low concentrations for other purposes without affecting the physical properties of this biodegradable material.

Keywords: Functional Packaging; Processing; Mechanical Properties.

1 INTRODUÇÃO

O contexto atual de desenvolvimento de novas tecnologias de embalagens concentra sua atenção na substituição de embalagens não biodegradáveis (SIRVIÖ et al., 2013). Dentre os plásticos biodegradáveis com potencial de uso no setor de embalagens, pode-se citar a policaprolactona (PCL), um poliéster alifático, hidrofóbico e semicristalino, podendo ser lentamente bioassimilado por microrganismos presentes no solo (CORDI, 2008). O PCL é aprovado pela *United States Food and Drug Administration* (FDA) em diversas aplicações e tem sido amplamente utilizada devido à sua boa compatibilidade, baixa toxicidade, alta taxa de biodegradação e boas propriedades reológicas e viscoelástica (Hager et al., 2015). Contudo, o uso do PCL como embalagem pode requerer ajustes de formulações, de forma que a embalagem de PCL seja eficiente, especialmente na conservação de alimentos.

Diversas substâncias têm sido utilizadas como aditivos em embalagens de forma que objetivem maior qualidade e segurança aos produtos alimentícios. O metabissulfito de sódio (MNa),

um agente redutor, tem se destacado pelo seu uso como agente anticloro, antioxidante e agente de sulfonação, propriedades essas que resultam em sua ampla utilização como conservante pelo setor alimentício e como antioxidante em cosméticos e vários produtos farmacêuticos (Zhang et al., 2015). Logo, o MNa apresenta bom potencial como aditivo para embalagens baseadas em PCL.

Assim, o presente trabalho buscou desenvolver filmes biodegradáveis de PCL aditivados com antimicrobiano MNa, utilizando o processo de extrusão e visando aplicação como filmes antioxidantes. Especificamente, o comportamento mecânico e ótico dos filmes extrudados foram avaliados em função de diferentes concentrações de MNa.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Materiais

Foram utilizados neste trabalho PCL (CAPA® 6500, M_w = 84,500 g mol^{-1}) o qual foi secado em estufa de circulação de ar por 24 h à 40 °C antes do uso. O metabissulfito de sódio (97%) foi adquirido da Synth e utilizado sem prévia purificação.

2.2 Produção dos filmes PCL/MNa por extrusão

Os filmes PCL/MNa foram produzidos utilizando a estratégia de diluição de um concentrado (masterbach) de MNa em PCL via processo de extrusão. Os concentrados de MNa foram obtidos através da termo-prensagem do MNa com PCL à temperatura de 75 °C e pressão de 2 toneladas. Utilizou-se quantidades de MNa nos concentrados suficientes para resultar em concentrações finais de 1,0 e 2,5% nos filmes de PCL. Os concentrados foram cortados em pequenas frações e diluídos no PCL antes do processo de extrusão do mesmo, em extrusora rosca dupla corrotacional B$P Process Equipament and Systems, Modelo MP19-TC (L/D = 25 e d = 19 mm), à 70°C em cinco zonas distintas de aquecimento. A velocidade de rotação da rosca foi ajustada para 60 rpm. O extrudado foi perfilado em uma matriz planar aquecida a 60 °C. Os filmes foram estirados a uma velocidade constante e resfriados com um fluxo de ar comprimido na saída da matriz.

2.3 Técnicas de caracterização

As propriedades mecânicas dos filmes PCL/MNa foram determinadas em uma máquina de ensaios mecânicos Instron Modelo 5569 equipada com célula de carga de 500 N. Os testes de tração foram realizados mediantes especificações da norma ASTM D882-09 utilizando corpos de prova tipo II (ASTM D638-09) e velocidade de estiramento de 25 mm min^{-1}. As amostras foram pré-condicionadas sob umidade relativa de 50% durante 48 horas antes dos experimentos. Para cada elaboração filmogênica, no mínimo 10 corpos de prova foram utilizados. As propriedades óticas dos filmes foram obtidas em um espectrofotômetro Varian com varreduras no modo transmitância entre 400 – 700 nm com três repetições por amostra.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Comparação PCL puro e PCL aditivado

O efeito da adição de MNa sobre o comportamento mecânico do PCL foi avaliado por ensaios uniaxias de tração.

Tabela 1. Valores médios de módulo elástico, resistência à tração e alongamento na ruptura para PCL com diferentes concentrações de Metabissulfito de sódio (%)

MNa (%)	E (MPa)	σ_T (MPa)	ε_B (%)
0	441 ± 88	14 ± 2	8 ±4
0,5	475 ± 25	16± 2	7 ± 2
1	458 ± 42	14 ± 2	11 ± 11
2,5	396 ± 47	12 ± 2	13 ± 8

Módulo elástico (E), Resistência à tração (σT) e Alongamento na ruptura (εB)

Observa-se que σ_T do filme com 1 % MNa foi similar ao do filme puro, enquanto que para 2,5 % MNa a σ_T foi ligeiramente reduzida, embora de forma não significativa. O filme com 2,5 % MNa também apresentou menor módulo elástico, indicando que a partir dessa concentração, o MNa começa a inteferir no comportamento mecânico do filme extrudado de PCL. Isto pode estar relacionado à diminuição das interações intermoleculares entre cadeias de PCL devido à presença do MNa, reduzindo consequentemente o grau de cristalinidade do material. Isto pode também estar relacionada a uma dispersão ruim do MNa na matriz de PCL.

3.1.2 Comportamento Óptico

O comportamento ótico dos filmes de PCL aditivados com MNa foi avaliado por espectrofotometria UV-Vis. As Figuras 1 e 2 ilustram o perfil de transmitância em função do comprimento de onda (λ) na região do visível (400 – 700 nm) para o filme de PCL puro e com 2,5 % MNa, respectivamente.

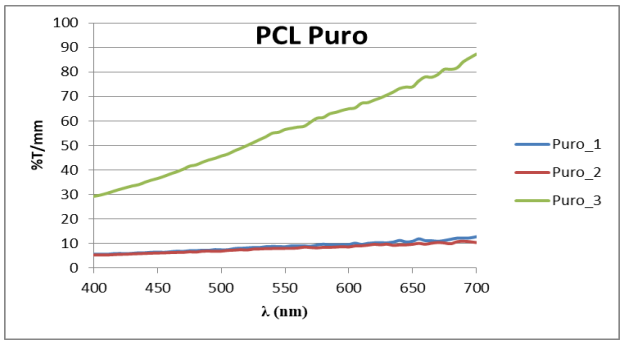


Figura1. Transmitância de filme de PCL puro em função do comprimento de onda na região do visível

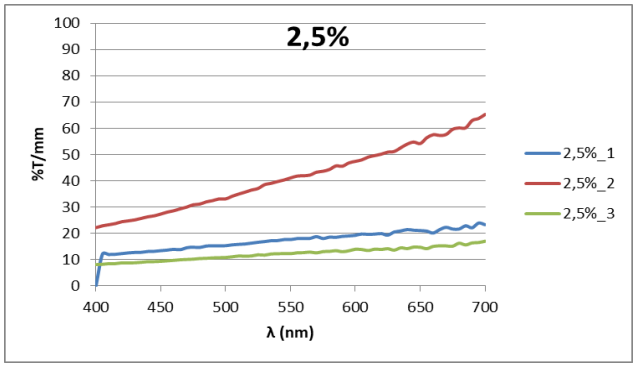


Figura 2. Transmitância de filme de PCL/MNa 2,5% em função do comprimento de onda na região do visível

O PCL, devido ao seu alto grau de cristalinidade, provoca intenso espalhamento de luz (a luz é dispersa em seu interior), o que o torna translúcido ou opaco. De modo geral, a adição de MNa ao filme de PCL (2,5%) ocasionou diminuição da transmitância, em particular para a região espectral acima de 500 nm. Algumas variações também são observadas, mas com relação à espessura. Na figura 1, o corpo-de-prova 1 (espessura = 0,091 mm) apresentou maior valor de transmitância, se comparado com os demais, assim como também o corpo-de-prova 2 da figura 2 (espessura = 0,088 mm). Filmes com menor espessura foram os que demonstraram maiores valores de transmitância, sendo este parâmetro significativo para o comportamento ótico do filme de PCL.

4. CONCLUSÃO

A partir de caracterizações mecânicas e ópticas, conclui-se que grandes quantidades (acima de 2,5%) de MNa podem reduzir a resistência mecânica à tração e transmitância à luz visível do filme de PCL, ao mesmo tempo em que aumentam seu alongamento na ruptura. Concentrações menores não

alteraram o comportamento mecânico e ótico do filme de PCL, estando os parâmetros próximos àqueles do material puro. As próximas etapas do trabalho consistirão na avaliação da atividade antioxidantes dos filmes PCL/MNa.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao DEMa/UFSCar, CNPq, FAPESP e PIBITI/CNPq pelo apoio financeiro. Os autores agradecem também Osvaldo J. Correa, Fernando Passareli e Osvaldo F. S. Júnior pelo apoio laboratorial no processo de extrusão dos filmes e nos ensaios de tração.

REFERÊNCIAS

ZHANG, Q. et al. The molecular mechanisms of sodium metabisulfite on the expression. of KATP and L-Ca 2+ channels in rat hearts, Regulatory Toxicology and Pharmacology, v. 72, p. 440-446, 2015.

SIRVIÖ, J. et al. Biocomposite cellulose-alginate films: promising packaging materials, Food Chemistry, v. 151, p. 343-351, 2014.

MARIANI, P. D. S. C. Estudo da Biodegradação da blenda de poli (ε-caprolactona) e amido modificado em meios sólido e líquido. 2005. 77f., Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) Faculdade de Engenharia Química, UNICAMP, Campinas, SP, 2005.

WOODRUFF, M.A.; HUTMACHER, D.W. The return of a forgotten polymer—Polycaprolactone in the 21st century, Progress in Polymer Science 35, p. 1217–1256, 2010.

HAGER, M.D. et al. Shape memory polymers: past, present and future developments, Prog. Polym. Sci., v. 49, p. 3–33, 2015.

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA-TPP COMO INIBIDORAS DO CRESCIMENTO FÚNGICO

Taís Téo de Barros-Alexandrino[1,3]; Milena Martelli-Tosi[2]; Odílio B. Garrido Assis[3]

[1]Programa de Pós Graduação em Biotecnologia, UFSCar, São Carlos. tais.teo@hotmail.com
[2]Departamento de Engenharia de Alimentos, FZEA-USP, Pirassununga.
[2]Embrapa Instrumentação, Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, São Carlos, SP. odilio.assis@embrapa.br

Classificação: Processamento de filmes nanoestruturados para embalagens e conservação de alimentos.

Resumo
A contaminação por patógenos é um problema global e está relacionada a aproximadamente 25% das perdas totais de frutas e hortaliças. Os antimicrobianos sintéticos empregados com o objetivo de minimizar essas perdas podem gerar problemas ambientais indesejáveis e observa-se paralelamente um aumento pela preferência por alimentos saudáveis ausentes de contaminantes químicos. Uma alternativa para atender essas demandas é o desenvolvimento de fungicidas naturais, biodegradáveis, que possam atuar de maneira satisfatória. Neste contexto, a quitosana tem sido considerada como uma alternativa viável para o desenvolvimento de antimicrobianos, principalmente por ser um material biodegradável e oriundo de fontes naturais. No presente trabalho, o potencial de suspensões de nanopartículas do sistema Quitosana-Tripolifosfato (Qui-TPP) é avaliado como antifúngico natural para aplicação tópica em frutas via *spray*, considerando que quanto maior a área, maior será a interação superficial entre a quitosana e os patógenos. As nanopartículas foram sintetizadas pelo método de gelatinização ionotrópica e avaliadas nas concentrações de 2 e 10g/L e ensaios preliminares conduzidos *in vitro* pela análise da inibição do fungo *Penicillium expansum* inoculados em meio PDA. As partículas obtidas apresentaram formato esférico, com aspecto homogêneo e organizadas em aglomerados, no caso das amostras pré-centrifugação e com boa dispersão, no caso das amostras pós-centrifugação. Partículas com menores tamanhos foram encontrados no sobrenadante tanto na concentração de 2g/L como na de 10g/L: 140 e 760 nm, respectivamente. Os ensaios microbiológicos indicaram um menor crescimento fúngico na presença das nanopartículas na maior concentração avaliada em comparação com o controle, indicando o potencial do uso de quitosana na forma de spray como antifúngico natural contra o *Penicillium expansum*.
Palavras-chave: anti-fúngico; *P. expansum;* coberturas protetoras; perdas pós-colheita; quitosana.

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF CHITOSAN-TPP NANOPARTICLES AS AND THEIR POTENTIAL AS A NATURAL ANTIFUNGAL AGENT

Abstract
The food contamination by pathogen is a problem in worldwide scale. It is related to approximately 25% of the total losses of fruits and vegetables. The synthetic antimicrobials ordinary used to reduce such losses can generate environmental impacts which along with an increasing by the consumers options for healthy food, without chemical have move up the search for new natural antimicrobials. An alternative for these demands is the development of non-aggressive agents which can act on satisfactory way. In such context, the chitosan has been considered as a feasible material. In the present study, a nanoparticle suspension from the chitosan tripolyphosfate (Chit-TPP) system is evaluated as antifungal agent. The nanoparticles were produced by the ionotropic gelatinization process and evaluated at concentration of 2 and 10 g/L and *in vitro* analyses were carried out against the fungi *Penicillium expansum* in PDA medium. The particles have spherical format, with homogeneous size distribution, in agglomerated form when in pre-centrifuged and well dispersed in pos-centrifuged condition. Smaller sized particles were attained in the supernatant either in the concentration of 2 and 10 g/L. The microbial essays indicated an inferior growth in the medium with

nanoparticles, showing the potential of using chitosan nanoparticles is spray form as natural agent against *Penicillium expansum.*
Keywords: antifungal; protective coatings; post-harvest losses; chitosan.

1 INTRODUÇÃO

O Brasil perde cerca de 22% das 41 milhões de toneladas de sua produção anual de frutas e hortaliças. Estima-se que do total das perdas 25% sejam consequência da contaminação por patógenos de origens diversas (GUSTAVSSON et al., 2011). Um dos fungos de maior incidência e que contribui para esses altos índices de perdas são os do gênero *Penicillium sp.*. Estes constituem em fungos oportunistas os quais não somente são responsáveis pela podridão de frutas e hortaliças, como o bolor azul (Blue mold), mas também produzem metabólitos tóxicos como micotoxinas, com potenciais efeitos à saúde humana e animal como doenças hepáticas e neurais e alterações mutagênicas (NARAYANASAMY, 2005).

Para o combate deste problema, há diversos antifúngicos sintéticos como o tiabendazol, o benomil e o iprodione. Embora eficientes, estes agentes podem gerar problemas ambientais de difícil remediação, havendo assim uma pressão para o desenvolvimento de alternativas que sejam menos agressivas (TRIPATHI, 2004). Neste contexto, a quitosana tem sido considerada como ideal para o desenvolvimento deste tipo de material, considerando sua origem natural e abrangente atividade antimicrobiana (GOY et al., 2009). A quitosana é um polímero considerado seguro ao consumo humano - GRAS e tem sido largamente explorada, principalmente como agente protetor, seja na formação de coberturas comestíveis (BRITTO et al., 2012) ou na produção de nanopartículas de reforço (MARTELLI et al., 2013) ou para o encapsulamento de vitaminas (BRITTO et al., 2014).

Por ser a atividade antifúngica uma ação basicamente de interação superficial: os sítios eletricamente carregados das lipoproteínas presentes na parede celular dos microrganismos interagem com os grupos protonados das cadeias da quitosana (GOY et al., 2009), quanto maior a área superficial maior será a intensidade dessas reações. Ou seja, a quitosana na forma de nanopartículas apresenta uma maior atividade antimicrobiana que se empregada na forma de filme. A formação de suspensão de nanopartículas de quitosana como agente antimicrobiano em alimentos já foi testado com resultados promissores (PILON et al., 2015).

A produção de nanopartículas pelo sistema Quit-TPP e sua avaliação, neste momento *in vitro*, de sua capacidade inibitória contra fungos *Penicillium expansum* é o principal objetivo deste trabalho, que tem como meta a busca de formulações, com partículas e concentrações adequadas, para o desenvolvimento de incipientes para aplicação tópica na formação de coberturas protetoras em frutas e hortaliças.

2 MATERIAL E MÉTODOS

A nanopartículas de quitosana (Aldrich) foram inicialmente obtidas pelo procedimento padrão de gelatinização ionotrópica, no qual os géis de quitosana, nas concentrações 2 e 10g/L, foram preparados por solubilização em ácido acético a 1 %, sob agitação intensa ao longo de 6 horas. Em seguida, o TPP (tripolifosfato de sódio) (Aldrich) foi dissolvido em água destilada, e adicionado ao gel por via *drop wise* (gotejamento controlado e contínuo na razão de 1 $mL.min^{-1}$). O entrecruzamento se deu em meio aquoso e a suspensão reativa de quitosana e TPP centrifugada por 10 minutos a 5000 rpm, segundo procedimento adotado (BRITTO et al., 2012). Alíquotas das etapas do processo de síntese foram reservadas para comparação de seus tamanhos: (i) pré-centrifugação; (ii) sobrenadantes pós-centrifugação e (iii) partículas ressuspendidas..

As dimensões das nanopartículas e seu potencial Zeta foram obtidos em sistema Zeta Potencial Analyser (Malvern Instruments). As medidas foram realizadas em triplicata a 25 ºC.

As suspensões foram submetidas a banho ultrassônico por 15 minutos, e diluídas em água deionizada, depositadas em lâmina de silício e secas espontaneamente na temperatura ambiente. Após 48h foram analisadas por Microscopia Eletrônica de Varredura (FEG - Jeol, USA).

Para a avaliação do crescimento radial, seguiu-se procedimento similar ao descrito em Mendes et al., 2016, ou seja, meio sólido de cultura BDA foi preparado em placas de Petri nos quais alíquotas de nanopartículas foram adicionadas em ambas concentrações avaliadas. Poços de 6 mm foram

puncionados em cada placa e preenchidos com 10 μL da solução de esporos. A cepa de P. *expansum* cultivada é de origem do banco de microrganismos da Embrapa Instrumentação. O crescimento se deu na temperatura ambiente e registrado ao longo de uma semana. O mesmo procedimento foi repetido sem a adição dos polímeros. O crescimento foi registrado diariamente ao longo de 7 dias.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Tamanho de partícula e potencial Zeta

Na Tabela 1 estão dispostos os tamanhos das partículas (Quit-TPP) e os respectivos valores de potenciais Zeta nas diversas condições de amostragem.

Tabela 1. Comparação de tamanhos (nm) e potencial zeta (mV) de nanopartículas de Quitosana-TPP em concentrações de diferentes de quitosana e em etapas distintas do processo de síntese

Concentração de Quitosana	Pré-centrifugação		Sobrenadante		Ressuspendidas	
	Tamanho (nm)	Zeta (mV)	Tamanho (nm)	Zeta (mV)	Tamanho (nm)	Zeta (mV)
2g/L	712,9	22,8	139,8	16,6	626,3	31,8
10g/L	4619	15,06	760,1	9,89	1142	18,3

As análises realizadas em diferentes etapas de síntese avaliadas indicam distintos tamanhos, sendo as menores dimensões de partículas obtidas no sobrenadante e na menor concentração de quitosana entrecruzada. A uma clara tendência de redução de dimensões quando se considera as amostras pré-centrifugação, ressuspendidas e no sobrenadante, independente da concentração avaliada. Como o objetivo é a produção de partículas de menores dimensões (alta área superficial e consequentemente maior interação), as amostras do sobrenadante mostraram-se adequadas ao uso direto na elaboração de incipientes para aspersão (uso na forma de spray). As partículas na condição pré-centrifugação apresentam dimensões além das desejadas, e a separação do meio não reagido (no qual supõe-se que não houve o entrecruzamento dos grupos entre a quitosana e o tripolifosfato), ou seja, ressuspendidas após a centrifugação, também não foi efetiva na consolidação de partículas de dimensões nanométricas desejáveis.

3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura com Emissão de Campo (FEG)

Os aspectos microscópicos das nanopartículas de quitosana, obtidas nas diferentes etapas de síntese, estão organizados na Figura 1 para diferentes ampliações. Para as nanopartículas analisadas a partir das amostras na condição pré-centrifugação, são observados a formação de grandes aglomerados e estruturas esparsas, possivelmente quitosana não solubilizada. Nas amostras colhidas diretamente do sobrenadante e após a ressuspensão das amostras centrifugadas, são observadas nanopartículas de formatos esféricos, com aspecto homogêneo e dispersão regular. Com base no formato e observação de distribuição dentro das escalas de ampliação, as imagens são compatíveis com os resultados obtidos via análises por Zeta-sizer.

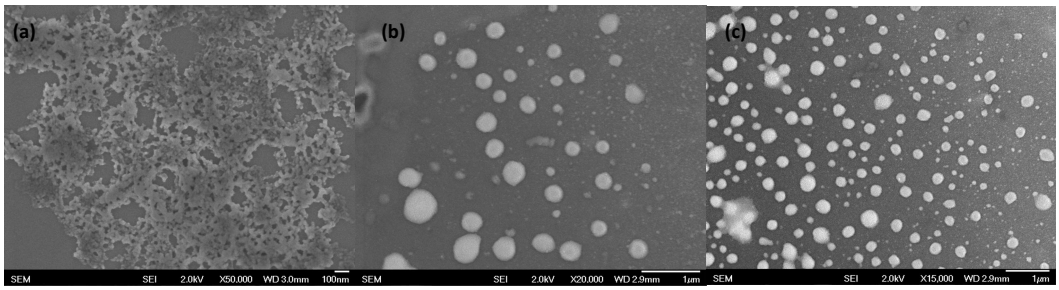


Figura 1. Imagens de MEV-FEG de nanopartículas de quitosana em diferentes etapas de síntese: (a) amostra pré-centrifugação; (b) no sobrenadante e (c) ressuspensas.

3.3 Ensaio de crescimento fúngico

Os ensaios preliminares de acompanhamento do crescimento do fungo *Penicillium expansum,* na presença ou não de nanopartículas está ilustrado na Figura 2. A presença de nanopartículas mostrou

efeito positivo na inibição do crescimento, no caso da solução de nanopartículas com concentração de 10g/L o que pode ser observado visualmente (em comparação com o controle), indicando a efetividade da aplicação da quitosana na forma de nanopartículas. Medidas de mínima concentração inibitória estão em curso para definir concentrações otimizadas no desenvolvimento da aspersão para aplicação *in vivo*.

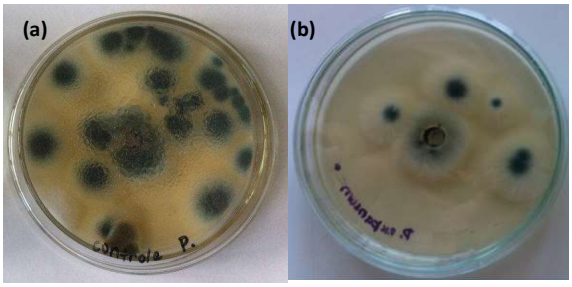


Figura 2. Ensaio preliminar da atividade antifúngica da quitosana na condição particulada em relação ao microrganismo *Penicillium expansum:* (a) Controle; (b) Placa com nanopartículas de quitosana (10g/L).

4 CONCLUSÃO

As análises preliminares indicam a síntese de nanopartículas no sistema Quit-TPP resulta em tamanhos diferentes nas diferentes etapas do processo, sendo as menores, e em principio, as mais efetivas do ponto de vista microbiológico, aquelas formadas diretamente no meio reativo (sobrenadante), sem a necessidade de centrifugação e ressuspensão. Nos testes realizados *in vitro* em meio de cultura sólido, o crescimento do fungo *P. expansum* foi claramente inibido na presença das nanopartículas, provendo indícios para futuras formulação de incipientes de aplicação tópica.

AGRADECIMENTOS

Os autores são gratos ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia da UFSCar, a CAPES pela concessão de bolsa e a Rede AgroNano por auxílios recebidos.

REFERÊNCIAS

GOY, R.C.; BRITTO, D.; ASSIS, O.B.G A review of the antimicrobial activity of chitosan. Polímeros: Ciência e Tecnologia, v. 19, n.3, p. 241-247, 2009.

GUSTAVSSON, J.,CEDERBERG, C.; SONESSON, U.; VAN OTTERDIJK, R.; MEYBECK, A. Global food losses and food waste. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Roma, Iatly, 29p. 2011

NARAYANASAMY, P. Postharvest Pathogens and Disease Management. Wiley-Interscience Inc. Hoboken, N. Jersey. 1st ed. 592p. 2005 .

TRIPATHI, P. Exploitation of natural products as an alternative strategy to control postharvest fungal rotting of fruit and vegetables. Postharvest biology and Technology, v. 32, n.3, p. 235-245. 2004.

BRITTO, D.; SANTOS, M.F.; ASSIS, O.B.G. Evaluation of chitosans with different degrees of acetylation as fungicide coating on cut apples. Alimentos e Nutrição, v. 23, n. 1, p. 16-21, 2012.

MARTELLI, M.; BARROS, T.T.; MOURA, M.R.; MATTOSO, L.H.C.; 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, n.1, p. N98-N104, 2013.

MENDES, L.D.; BRESOLIN, J.D.; ASSIS, O.B.G.; BRITTO, D. avaliação in vitro da ação da quitosana e de seu derivado quaternizado na inibição do crescimento do fungo *penicillium expansum.* Revista Brasileira de Engenharia de Biossistemas, v.10, n.1, p.116-128, 2016.

CARACTERIZAÇÃO MECÂNICA DE FILMES EXTRUDADOS DE POLI(ÁCIDO LÁTICO) ADITIVADOS COM SORBATO DE POTÁSSIO

Júlia L. Monti[1], Guilherme C. Dela Corte[1], Francys K. V. Moreira[1,*]

*1 – Departamento de Engenharia de Materiais (DEMa), Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), São Carlos, SP, Brasil, *moreira.fkv@dema.ufscar.br*

Classificação: Processamento de filmes nanoestruturados para embalagens e conservação de alimentos.

Resumo
O presente estudo buscou avaliar o comportamento mecânico de filmes biodegradáveis de poli(ácido lático) aditivado com sorbato de potássio, um conservante de amplo uso na indústria de alimentos. Filme de poli(ácido lático) contendo 5 % em massa de sorbato de potássio foi preparado por extrusão e caracterizado por espectroscopia ATR-FTIR e ensaios uniaxiais de tração. O resultados de ATR-FTIR indicaram que o sorbato de potássio foi eficientemente incorporado ao filme de poli(ácido lático), sem sofrer degradação termo-mecânica. Os ensaios de tração revelaram que o sal não produziu alterações significativas na resistência à tração, módulo elástico e alongamento na ruptura do filme de poli(ácido lático). Tais filmes apresentam potencial de uso como embalagem biodegradável e sem comportamento mecânico comprometido pela migração do sorbato de potássio resultante do contato com um alimento.

Palavras-chave: Migração; Contato Embalagem-Alimento; Embalagem Biodegradável.

MECHANICAL CHARACTERIZATION OF EXTRUDED POLY(LACTIC ACID) FILMS ADDICTIVADED WITH ORGANIC SALTS

Abstract
This study aimed to evaluate the mechanical behavior of biodegradable poly(lactic acid) films loaded with potassium sorbate, an additive of broad use in the food industry. Poly(lactic acid) film containing 5 wt.% potassium sorbate was prepared by extrusion and characterized by ATR-FTIR spectroscopy and uniaxial tensile tests. ATR-FTIR results indicated that the potassium sorbate was efficiently incorporated within the poly(lactic acid) film without suffering thermo-mechanical degradation. Tensile tests showed that the salt did not produce significant changes in tensile strength, elastic modulus and elongation at break of the poly(lactic acid) film. Such films thus exhibit potential to be used as a biodegradable packaging without having their mechanical behavior affected by migration of potassium sorbate as a result of contacting food products.
Keywords: Migration; Food-Package contact; Biodegradable packaging.

1 INTRODUÇÃO

O poli(ácido lático) ou PLA é um poliéster termoplástico produzido por síntese química a partir do ácido lático, que advém da conversão de açúcar ou amido de fonte renovável usando principalmente fermentação de bactérias (RASAL, JANORKAR e HIRT, 2010). Esse polímero é considerado uma alternativa promissora para embalagens dado sua biodegradabilidade e propriedades mecânicas comparáveis àquelas de vários plásticos *commodities*. Na última década, a redução do custo produtivo do poli(ácido lático) aliado ao melhoramento em suas técnicas de polimerização permitiram uma produção em massa economicamente viável do PLA de alto peso molecular, permitindo mais aplicações na área de embalagens e na indústria têxtil (CHEN et al. 2016).

Alguns trabalhos recentes reportam a adição isolada ao PLA de sais orgânicos e óxidos (BURGOS et al. 2017; TORRES et al. 2017; ZHANG et al. 2017). Todavia, a incorporação desses agentes ao PLA pode oferecer vantagens e desvantagens, a saber, segundo Rasal, Janorkar e Hirt

(2010), modificações para aumento da tenacidade do PLA causam diminuição da resistência à tração e módulo de elasticidade. Porém, pouco se sabe sobre a influência de conservantes alimentícios sobre as propriedades físicas do PLA, haja vista que alguns conservantes podem migrar para a embalagem de PLA quando em contato com algum produto alimentício.

O objetivo deste estudo foi analisar a influência da aditivação de sais orgânicos sobre as propriedades mecânicas de filmes biodegradáveis de PLA obtidos por extrusão. Para tanto, foi selecionado como composto modelo o sorbato de potássio (SK), o qual é amplamente utilizado como conservante na indústria de alimentos. É um sal de fácil obtenção, sendo produto da reação do ácido sórbico com hidróxido de potássio, o que explica seu baixo custo. A possível degradação do SK foi estudada através da espectroscopia FTIR. As propriedades mecânicas dos filmes de PLA foram estudadas a partir de ensaios de tração.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

Poli(ácido lático) ou PLA (2003D, NatureWorks Ingeo) e SK (Reipu Qingdao) de alta pureza foram utilizados como matéria-prima no desenvolvimento dos plásticos aditivados.

2.2 Preparação de masterbatch PLA/SK

A preparação da masterbatch ocorreu por termo-prensagem em uma prensa hidráulica MA098/A (Marconi), operada sob pressão de 0,5 ton a 180 °C por 5 min. Em seguida, o masterbatch foi secado em estufa por um período mínimo de 12 h antes da extrusão. Quantidades precisas de SK foram incorporadas ao PLA para resultar na concentração final de 5% no filme após extrusão.

2.3 Processamento por extrusão

A extrusão dos filmes de PLA/SK foi realizada uma extrusora dupla rosca corrotacional MP19-TC (B&P ProcessEquipment and Systems) com L/D = 25 e D = 19 mm, operando com temperatura de 180 °C em cinco zonas de aquecimento. A velocidade de rotação da rosca foi ajustada para 80 rpm. O extrudado foi conformado em filmes monocamada em uma matriz matriz plana (Chillroll 16, AX Plasticos). Os filmes foram estirados a uma velocidade constante e resfriados com um fluxo de ar comprimido na saída da matriz. Os filmes foram armazenados em sacos plásticos antes das caracterizações.

2.4 Técnicas de caracterização

Os espectros na região do infravermelho médio (FT-IR) foram obtidos com um espectrofotômetro Nicolet 6700 (ThermoScientific) utilizando uma acumulação de 64 varreduras com resolução de 2 cm^{-1}. Os espectros foram coletados no modo reflectância total atenuada (ATR). Ensaios mecânicos de tração foram realizados seguindo a norma ASTM D882-09 em uma máquina universal de ensaios mecânicos 5569 (Instron Corporation). Todos os corpos-de-prova foram pré-condicionados sob umidade relativa de 54% por no mínimo 48 horas antes dos testes, os quais foram realizados a uma velocidade de 10 mm min^{-1} com 5 repetições por amostra.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 mostra os espectros de ATR-FTIR para os filmes de PLA puro, filme PLA/SK 5% e para o SK puro. Os espectros para os filmes PLA puro e PLA/SK 5% apresentam as bandas vibracionais típicas da estrutura molecular do PLA, especialmente aquelas relacionadas ao estiramento C=O de grupos ésteres em 1750 cm-1 (MULLER, GONZÁLEZ-MARTÌNEZ & CHIRALT, 2017). No espectro do filme PLA/SK é possível observar também a banda vibracional entre 3200 - 3700 cm-1 relacionada ao estiramento simétrico de grupos O-H. A presença desta banda apenas no espectro do

filme PLA/SK pode estar relacionada à absorção de umidade pela amostra devido ao caráter hidrofílico do SK.

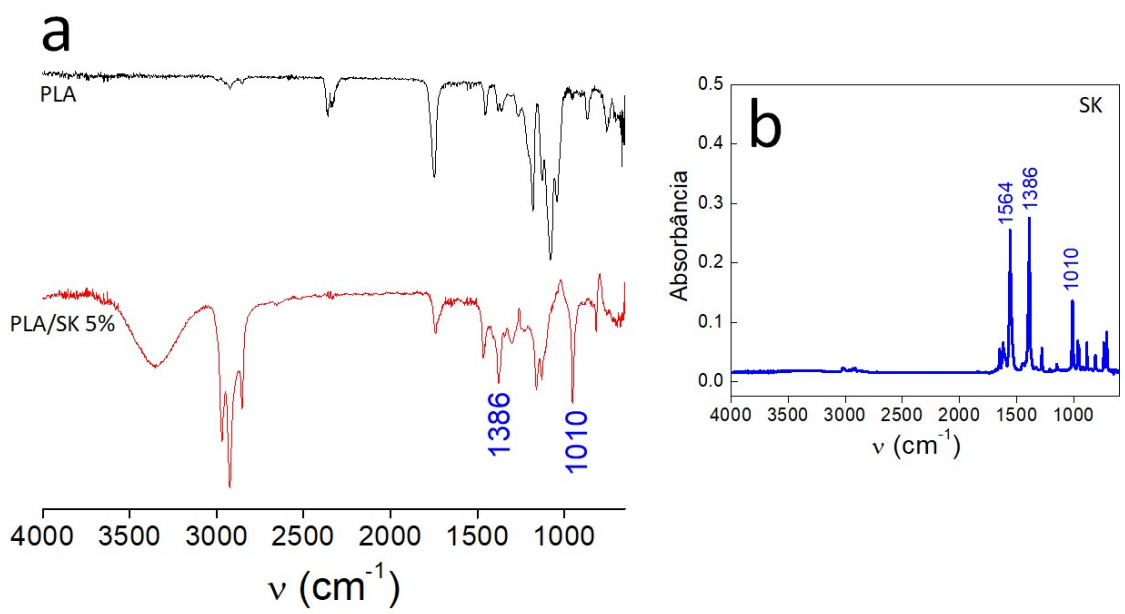


Figura 1. Espectros de ATR-FTIR para (a) filme de PLA puro e aditivado com 5% SK e (b) SK puro.

É possível observar ainda no espectro do filme PLA/SK a presença de bandas vibracionais em 1386 e 1010 cm-1 características de estiramento de grupos COO- (PRANOTO, RAKSHIT & SALOKHE, 2005), as quais podem ser atribuídas ao SK por comparação com o espectro do composto puro que é mostrado na Figura 1b. Tal resultado sugere que o SK foi incorporado com sucesso ao filme de PLA. Sugere também que o SK não degradou quimicamente em decorrência do tratamento termo-mecânico imposto pela extrusão.

As propriedades mecânicas de tração do filme de PLA puro e com 5% de SK são apresentadas na Tabela 1. Observa-se que a adição de SK, mesmo na concentração de 5%, não produziu mudanças significativas nos parâmetros mecânicos da matriz de PLA.

Tabela 1. Propriedades mecânicas dos filmes de PLA e PLA + SK (5% m)

SK (%)	**Resistência**	**Alongamento**	**Elasticidade**
0	35 +- 8	2,2 +- 0,9	2,7 +- 0,3
5	33 +- 13	1,6 +- 0,5	2,8 +- 0,3

Esse resultado garante que, durante o processo de extrusão, o sal orgânico não induziu degradação termomecânica no polímero. Assim, suas características mecânicas não foram alteradas. Isso também mostra que nas menores concentrações, o comportamento do material aditivado seria o mesmo do filme de PLA puro.

4 CONCLUSÃO

Foi possível obter filmes de PLA com a adição de sorbato de potássio por meio do processo de extrusão. O sal, por sua vez, não produz alterações no comportamento mecânico do polímero; garantindo que o produto final pode ser usado nas mesmas aplicações que o PLA puro.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq, CAPES, FAPESP (Processo No. 2017/09007-9) e UFSCar pelo suporte patrimonial, financeiro e bolsas de estudo. Os autores agradecem também Osvaldo J. Correa, Fernando Passareli e Osvaldo F. S. Júnior pelo apoio laboratorial no processo de extrusão dos filmes e nos ensaios de tração.

REFERÊNCIAS

BURGOS, N. et al. Functional Properties of Plasticized Bio-Based poly(Lactic acid)-poly(Hydroxybutyrate) (PLA_PHBV) Films for Active Food Packaging. Food and Bioprocess Technology, v. 10, p. 770-780, 2017.

CHEN, Y. et al. Review of Multifarious Applications of Poly (Lactic Acid). Polymer-Plastics Technology and Engineering, v. 55, n. 10, p. 1057-1075, 2016.

MULLER, J.; GONZÁLEZ-MARTÌNEZ, C.; CHIRALT, A. Poly(lactic) acid (PLA) and starch bilayer films, containing cinnamaldehyde, obtained by compression moulding, European Polymer Journal, 95, 56-70, 2017.

PRANOTO, Y.; RAKSHIT, S. K.; SALOKHE, V. M. Enhancing antimicrobial activity of chitosan films by incorporating garlic oil, potassium sorbate and nisin, LWT, 859 – 865, 2005.

RASAL, R. M.; JANORKAR, A. V.; HIRT, D. E. Poly(lactic acid) modifications, Progress in Polymer Science, 35, 338-356, 2010.

TORRES, A. et al. Effect of processing conditions on the physical, chemical and transport properties of polylactic acid films containing thymol incorporated by supercritical impregnation. European Polymer Journal, v. 89, p. 195-210, 2017.

ZHANG, H. et al. ZnO-PLA nanocomposite coated paper for antimicrobial packaging application. Food Science and Technology. v. 78, p. 250-257, 2017.

ESTABILIDADE OXIDATIVA DE CARNE OVINA COM REVESTIMENTOS A BASE DE ZEÍNAS

Cecília de Souza Cordeiro[1], Lucimara Aparecida Forato[2], Rubens Bernardes Filho[2], Silviane Zanni Hubinger[2], Renata Tieko Nassu[3]

[1] Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP, Rodovia Araraquara - Jaú, Km 1, C.P. 502 CEP 14800-903, Araraquara SP; [2] Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro, 1452, Centro, CEP 13560-970, São Carlos - SP; [3]Embrapa Pecuária Sudeste, Rodovia Washington Luiz, km 234, C. P. 339 - CEP 13560-970, São Carlos - SP. email: ceciliaengalimentos@gmail.com

Classificação: Processamento de filmes nanoestruturados para embalagens e conservação de alimentos

Resumo

O consumo de carne ovina ainda é limitado em comparação a outros produtos, devido à falta de hábito do consumidor, irregularidade de oferta, falta de padrão e apresentação comercial. Para uma maior extensão da vida de prateleira e manutenção de suas propriedades físico-químicas e sensoriais, a combinação da embalagem tradicional a vácuo com revestimentos comestíveis é uma alternativa. O objetivo deste estudo foi avaliar a estabilidade oxidativa de carne ovina com revestimentos comestíveis à base de zeínas em combinação com diferentes plastificantes (ácido oléico, óleos de: pimenta rosa, alecrim, coco e azeite). Foi utilizado o músculo *longissimus* com os diferentes revestimentos, embalado à vácuo e armazenado à temperatura 5±1°C. Foi realizada a análise de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) a cada sete dias, no período de 36 dias. Os revestimentos contendo os plastificantes óleo de alecrim, azeite + óleo de alecrim e óleo de pimenta rosa foram mais promissores pelo seu poder antioxidante.

Palavras-chave: Carne Ovina; Oxidação; Plastificantes; Revestimento.

OXIDATIVE STABILITY OF LAMB MEAT WITH ZEIN-BASED COATINGS

Abstract

Lamb meat consumption is limited in comparison to other products, due to lack of consumers´ habit, no standards and commercial presentation. For a longer shelf life and for mantaining physico-chemical and sensory properties, the combination between vacuum- packaging and use of edible coatings is an alternative. The aim of this study was to evaluate the oxidative stability of lamb meat with zeins-based edible coating combined with different plasticizers (oleic acid, pink pepper oil, rosemary oil, coconut and olive oil). Vacuum-packaged *longissimus* muscle with the different coatings was stored at 5±1°C. The Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARS) analysis was performed each seven days, for 26 days. Coatings containing rosemary oil, olive oil + rosemary oil and pink pepper oil were the most promising for their antioxidant properties.

Keywords: Lamb meat; Oxidation; Plasticizers; Coating.

1 INTRODUÇÃO

No mercado brasileiro, a cadeia da ovinocultura vem ganhando destaque como uma atividade em expansão dentro do agronegócio (SEBRAE-SP, 2013). Porém, o consumo de carne ovina ainda é limitado em comparação a outros produtos de origem animal.

O aspecto da carne fresca afeta diretamente a decisão de compra do produto. Uma maior vida útil permite responder ao intervalo de tempo entre a produção e a distribuição dos produtos para atender a mercados mais distantes, reduzir perdas econômicas e compensar flutuações da demanda. Sendo

assim, a embalagem é um importante fator que influencia a qualidade e a durabilidade de carnes frescas, pois altera o ambiente ao redor do produto, criando condições que retardam as reações de deterioração (SARANTÓPOULOS; ANTÔNIO, 2006).

A estabilidade de um produto depende de suas características e pode ser mensurada por meio de análises microbiológicas, físico-químicas e sensoriais. Dentre os fatores não microbiológicos envolvidos na deterioração da carne durante o armazenamento refrigerado, a oxidação lipídica se destaca, pois induz alterações dos lipídios do músculo, afetando as propriedades sensoriais e nutricionais das carnes e derivados, devido a inúmeras reações em cadeia favorecidas pela luz e oxigênio (INSANI et al. 2008). Na oxidação lipídica ocorre degradação de ácidos graxos insaturados em aldeídos, cetonas, álcoois, ácidos e hidrocarbonetos (HERAS et al.; 2003), implicando no processo de rancidez que causa sabores indesejáveis na carne (SANTOS, 2011).

Uma alternativa para aumentar a vida de prateleira em carnes é o uso de revestimentos comestíveis, como as zeínas, proteínas de reserva do milho, as quais estão contidas no endosperma do grão e podem ser obtidas a partir do subproduto da moagem úmida, o glúten do milho (FERNANDES et al.; 2011). As zeínas são consideradas de alto grau de polimerização e propriedades isolantes, destacando-se sua aplicação na elaboração de revestimentos para conservação de alimentos altamente perecíveis e microcápsulas na indústria farmacêutica (FORATO et al., 2013). De um modo geral, filmes à base de zeínas apresentam também uma boa barreira ao transporte de oxigênio, dióxido de carbono e demais compostos voláteis (HERNANDEZ-MUÑOZ, 2004). Zeínas podem apresentar filmes frágeis e com baixa flexibilidade, tomando-se quebradiços principalmente com alterações de umidade e temperatura. Para melhorar suas propriedades, pode-se adicionar plastificantes, que são compostos orgânicos adicionados a materiais poliméricos, estes tem alto ponto de fusão e baixa volatibilidade (VIECELLI, 2011). Plastificantes são importantes na formação dos filmes e revestimentos, pois quando adicionados a outro material tem a capacidade de mudar propriedades físicas e ou mecânicas devido suas características (BANKER, 1966).

Estudos da aplicação de revestimentos comestíveis para carnes ovinas são escassos. Tendo em vista que a oxidação de lipídios pode alterar a qualidade do produto durante sua vida-de-prateleira, este trabalho tem como objetivo estudar a estabilidade oxidativa de carne ovina com revestimentos à base de zeínas adicionados de diversos plastificantes.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Para este estudo foi utilizado o músculos *longissimus* de ovinos machos inteiros, do mesmo grupo genético, que recebem a mesma dieta e foram abatidos na mesma idade. Os animais são oriundos da Embrapa Pecuária Sudeste - São Carlos - SP. Após o abate em frigorífico comercial as carcaças foram identificadas e armazenadas em câmaras frias por 24 horas. As amostras foram transportadas para o Laboratório de Carnes da EMBRAPA Pecuária Sudeste - São Carlos - SP onde foi feito o estudo. O porcionamento foi feito em corte transversal para obtenção de bifes de 2,5 cm de espessura.

Foram preparadas sete diferentes soluções filmogênicas contendo 4% de zeínas em combinação com diferentes plastificantes (ácido oléico, óleos de: pimenta rosa, alecrim, coco e azeite). As substâncias foram solubilizadas em etanol 70%. As misturas foram homogeneizadas em béquer, com auxílio de um agitador magnético, a 50 °C por 2h.

Para aplicação do revestimento, foi utilizada a técnica de imersão na solução filmogênica (diping) Cardoso et al. (2015). Os bifes foram imersos por 5 segundos na solução filmogênica e em seguida colocados em grades por 30 minutos em câmara climática tipo BOD a 4-6°C até a secagem parcial do revestimento de modo que fiquem homogêneos. Após esse período os bifes foram embalados à vácuo em sacos termoencolhíveis em equipamento próprio para este fim. A determinação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico foi realizada para descrever a extensão da oxidação lipídica nas amostras de carne com ácido tricloroacético (TCA) e 2-ácido tiobarbitúrico (TBA), segundo Vyncke (1970; 1975). Os resultados foram expressos em mg malonaldeído/kg de amostra.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Produtos finais de oxidação lipídica são considerados responsáveis pelo desenvolvimento do ranço em carnes durante o armazenamento (LINARES et al.,2007). De acordo com Limbo et al.

(2010) valores de TBARS superiores a 1,0 mg malonaldeído kg^{-1} de carne podem ser considerados oxidados. Verificou-se que os valores médios de TBARS nas amostras ao longo do tempo foram todos abaixo de 0,2 mg MDA kg^{-1} de amostra, portanto as amostras foram consideradas dentro do parâmetro aceitável, Tabela 1. A carne de ovinos tem menor propensão à oxidação lipídica por ser rica em ácidos graxos saturados e ter um baixo ter de poli-insaturados (ELLIS & BERTOL, 2001; SINCLAIR, 2007) fator que justifica os baixos teores de oxidação lipídica encontrado na carne.

No geral, as amostras tenderam a ter um aumento no valor de TBARS ao longo do tempo, atingindo maiores valores no T5 e apresentando uma queda no T6, o que pode indicar degradação dos compostos de oxidação. No dia T1 de armazenamento, amostra COCO apresentou maior oxidação (0,082 mg de MDA kg^{-1}). No tempo T5, foram observados os maiores valores de TBARS, sendo que o tratamento AZ apresentou maior valor se comparado com AL, AZAL e PIM, indicando que estes últimos oxidaram menos em relação aos outros.

Tabela 1. ***Valores médios de TBARS (mg malonaldeido/kg de amostra) para bifes obtido de longissimus de ovino revestidos com diferentes formulações à base de zeínas estocado a 4-6°C por 36 dias***

	CONT	AL	AO	AZ	AZAL	AZPIM	COCO	PIM
T1	$0,057^{cAB}$	$0,048^{cB}$	$0,039^{dB}$	$0,057^{dAB}$	$0,059^{cAB}$	$0,060^{bAB}$	$0,082^{cA}$	$0,051^{cB}$
T2	$0,079^{cBC}$	$0,071^{bcBC}$	$0,070^{cBC}$	$0,120^{bA}$	$0,082^{bcB}$	$0,061^{bC}$	$0,086^{cB}$	$0,067^{cBC}$
T3	$0,060^{cC}$	$0,040^{cD}$	$0,084^{cA}$	$0,088^{cA}$	$0,064^{cBC}$	$0,038^{bD}$	$0,082^{cAB}$	$0,072^{bcABC}$
T4	$0,068^{cD}$	$0,086^{bC}$	$0,106^{bC}$	$0,085^{cCD}$	$0,115^{abAB}$	$0,127^{aA}$	$0,101^{bcBC}$	$0,115^{aAB}$
T5	$0,178^{aAB}$	$0,099^{bD}$	$0,164^{aABC}$	$0,184^{aA}$	$0,128^{aBCD}$	$0,153^{aABC}$	$0,169^{aAB}$	$0,114^{aCD}$
T6	$0,116^{bABC}$	$0,134^{aAB}$	$0,104^{bBC}$	$0,130^{bAB}$	$0,149^{aA}$	$0,143^{aA}$	$0,132^{bAB}$	$0,092^{abC}$

[A-C] Valores na linha seguidos de diferentes letras subscritas maiúsculas diferem estatisticamente ($p<0,05$), teste de Tukey

[a-c] Valores na coluna seguidos de diferentes letras subscritas minúsculas diferem estatisticamente ($p<0,05$), teste de Tukey

CONT= controle; AO= ácido oleico; PIM= óleo de pimenta rosa; AL= óleo de alecrim; AZ= azeite; COCO= óleo de coco; AZAL= azeite + óleo de alecrim; AZPIM= azeite + óleo de pimenta rosa.

T1= 1 dia de armazenamento; T2= 8 dias; T3= 15 dias; T4= 22 dias; T5= 29 dias; T6= 36 dias.

4 CONCLUSÃO

O revestimento a base de zeínas combinado com óleos de alecrim, azeite + alecrim e pimenta rosa apresentaram maior estabilidade oxidativa para carne ovina, sendo promissores para sua utilização como plastificantes neste tipo de revestimento para maior conservação do produto.

AGRADECIMENTOS

RedeAgroNano, SISNANO**,** à equipe de laboratório da Embrapa Pecuária Sudeste e Instrumentação, ao CNPq e Embrapa pelo suporte financeiro.

REFERÊNCIAS

BANKER, G. S. Film coating – theory and practice. Journal of Pharmaceutical Science. Kidlington Oxford, v. 55, n. 1, p. 81-89, 1966.

ELLIS, M.; BERTOL, T.M. Efeitos do peso de abate sobre a qualidade de carne suína e da gordura. In: CONFERÊNCIA INTERNACIONAL VIRTUAL SOBRE QUALIDADE DE CARNE SUÍNA, 2., 2001, Concórdia, SC. Anais. Concórdia: EMBRAPA Suínos e Aves, 13p. p.236, 2001.

FERNANDES, C. P.; CORRÊA, T. R. A; FILHO, R. B. Preparação de filmes de zeína com adição de nanofibras de celulose. In: III Jornada Científica - Embrapa São Carlos; 2011; São Carlos. São Carlos: Anais da III Jornada Científica; 2011. p. 68.

FORATO, L.A.et al. Propriedades mecânicas e molhabilidade de filmes de zeínas extraídas de glúten de milho. Polímeros, v. 23, n. 1, p. 42-48, 2013.

HERAS, A. et al. Comparison of methods for determining malonaldeehyde in dry sausages by HPLC and the classic TBA test. European Food Research and Technology, New York, v. 217, p. 180-184, 2003.
HERNANDEZ-MUÑOZ, P.; VILLALOBOS, R.; CHIRALT, A. Effect of thermal treatments on functional properties of edible films made from wheat gluten fractions. Food Hydrocolloids, v. 18, n. 4, p. 647-654, 2004.
INSANI, E.M. et al. Oxidative stability and its relationship with natural antioxidants during refrigerated retail display of beef produced in Argentina. Meat Science, v. 79, n. 3, p. 444–452, 2008.
LIMBO, S. et al. Evaluation and predictive modeling of shelf life of minced beef stored in high-oxygen modified atmosphere packaging at different temperatures. Meat Science, v. 84, n. 1, p. 129-136, 2010.
LINARES, M.B. et al. Lipid oxidation in lamb meat: Effect of the weight, handling previous slaughter and modified atmospheres. Meat Science, v. 76, p. 715–720, 2007.
SANTOS, P. R. Qualidade dos músculos *Longissimus thoracis* e *lumborium* de bovinos machos inteiros e fêmeas de descarte: influência da estocagem na atmosfera modificada e vácuo. 2011. 168 f. Dissertação (Ciência e Tecnologia de Alimentos) Escola Superior de Agricultura Luiz Queiroz, Piracicaba SP. 2011.
SARANTÓPOULOS, C.I.G.L.; ANTÔNIO, J.T. Embalagem para carnes in natura. In: CASTILLO, C.J.C. (Ed). Qualidade da carne. São Paulo: Varela, p. 173-184, 2006.
SEBRAE-SP Produção de carne ovina pode ser mais rentável que bovina. 2013. Disponível em:< http://www.sebraesp.com.br/index.php/165-produtos-online/administracao/publicacoes/artigos/8030-producao-de-carne-ovina-pode-ser-mais-rentavel-que-bovina>. Acesso em 22 agost. 2016.
SINCLAIR, L.A. Nutritional manipulation of the fatty acidcomposition of sheep meat: a review. Journal of AgriculturalScience, Cambridge, v.145, n.5, p.419-434, 2007.
VIECELLI, N.C. et al. Quantitative analysis of plasticizers in a wastewater treatment plant: influence of the suspended solids parameter. *J. Braz. Chem. Soc,* v. 22, n. 6, p. 1150 -1155, 2011.
VYNCKE, B.W. Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloracetic acid extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. Fette Seifen Anstrichmittel, Leinfelden-Echterdingen, v. 72, p. 1084-1087, 1970.
VYNCKE, B.W. Evaluation of direct thiobarbituric acid extraction method for determining oxidative rancidity in mackerel (*Scomber scombrus L.*) Fette Seifen Anstrichmittel, Leinfelden-Echterdingen, v. 72, p. 239-240, 1975.

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES EM FILMES POLIMÉRICOS

***Sabrina da Costa Brito[1], Katia Sivieri[1]**
Marcos David Ferreira[2]

[1]Universidade Estadual Paulista "Júlio Mesquita Filho", Araraquara, São Paulo.[2]Embrapa Instrumentação, São Carlos, São Paulo.
**scbrito@yahoo.com.br*

Classificação: *Processamento de filmes nanoestruturados para embalagens e conservação de alimentos.*

Resumo:
É estimado que cerca de 54% do desperdício de alimentos no mundo ocorra na produção, manipulação pós colheita e durante o armazenamento dos produtos e os 46% restantes é por meio do processamento e durante a distribuição, além disso, microrganismos deteriorantes e patogênicos também contribuem para incrementar as perdas de produtos alimentícios. Dentre as ações que podem ser desenvolvidas para reduzir o desperdício de alimentos está a inovação tecnológica em embalagens eficientes, com o propósito de prevenir contaminações físicas, químicas e biológicas, como a incorporação de nanopartículas de prata (NPsAg) em filmes poliméricos. Este trabalho teve como objetivo investigar a eficácia antimicrobiana dos filmes polietileno de baixa densidade (PEBD) contendo NPsAg com carregador de sílica (SiO_2), em diferentes concentrações (ppm) por filme em determinados patógenos. A análise microbiológica foi realizada por meio do teste de atividade microbiana por contato nas bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Os resultados obtidos mostram que os filmes nanoestruturados apresentam ação biocida contra os microrganismos estudados, sendo que a ação antimicrobiana foi maior em Gram negativas do que as Gram positivas.
Palavras – chave: Nanotecnologia; Nanopartículas de prata; Antimicrobianas; Embalagens ativas.

EVALUATION OF THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF SILVER NANOPARTICLES WITH DIFFERENT CONCENTRATIONS IN POLYMERIC FILMS

Abstract:
It is estimated that about 54% of the world's food waste occurs in the production, post-harvest handling and produce storage and the remaining 46% is through the processing and distribution; deteriorating and pathogenic microorganisms also contribute to incresase waste losses. Among the actions that can be developed to reduce food waste would be the technological innovations in efficient packaging with the purpose of preventing physical, chemical and biological contaminations, such as the incorporation of silver nanoparticles (NPsAg) in polymer films. This work aimed to investigate the antimicrobial efficacy of low density polyethylene (LDPE) films containing NPsAg with silica loader (SiO2) in different concentrations (ppm) per film in certain pathogens. The microbiological analysis was carried out by means of the test of microbial activity by contact in the bacteria Staphylococcus aureus and Escherichia coli. The results show that the nanostructured films present biocidal action against the microorganisms studied and the antimicrobial action was higher in Gram negative than Gram positive.
Keywords: Nanotechnology; Silver nanoparticles; Antimicrobials; Packaging.

1.INTRODUÇÃO

Baseando-se no relatório da Food and Agriculture Organization of the United Nations (2013), estima-se que anualmente cerca de 1,3 bilhão de toneladas de alimentos são desperdiçados no mundo, sendo que em países em desenvolvimento como o Brasil as causas do desperdício de alimentos estão associadas a limitações financeiras, deficiências de gestão e de técnicas na produção da colheita de

produtos, nas dificuldades de armazenamento, embalagens ineficientes e nas deficientes estruturas de comercialização, além destes fatores o desperdício de alimentos também está associado com contaminações microbiológicas. Os microrganismos, deteriorantes ou patogênicos, promovem alterações da qualidade dos alimentos, incluindo características nutricionais e sensoriais (oxidação, sabor e odor desagradável e alterações indesejáveis na textura e cor) (ESPITIA; BATISTA, 2016; PEIXOTO; PINTO, 2016). A aplicação de embalagens eficientes podem prevenir contaminações físicas, químicas e biológicas. A inclusão da nanotecnologia em embalagens para alimentos oferece soluções que até então eram consideradas obstáculos, como o curto tempo de prateleira, e devido a isso uma nova geração de embalagens para produtos alimentícios vem sendo apresentada, como as embalagens com NPSAg, que visa a diminuição microbiana em alimentos (PEIXOTO; PINTO, 2016; JOKAR *et al.*, 2012; IMRAN *et al.*, 2010). Este trabalho objetivou avaliar a ação antimicrobiana de filmes PEBD com NPsAg em diferentes concentrações por ppm em *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.

2.MATERIAIS E MÉTODOS

Neste trabalho foram utilizados filmes PEBD com NPsAg e carregador de SiO_2 e filmes PEBD sem adição de nanopartículas, sendo este o controle. Para o preparo dos filmes PEBD+NPsAg, nas concentrações 15,00 e 75,00 ppm, foi incialmente preparado uma mistura de prata (Ag) e SiO_2, para serem posteriormente incorporadas em masterbatchs. Na preparação dos filmes os masterbatchs foram homogeneizados com pelletes de PEBD puro, para depois serem processados em extrusora de filme balão.

Na análise microbiológica as bactérias foram inoculadas em caldo de soja tripcaseína (TSB) e incubados, 37°C por 24 horas, após este período cada microrganismo foi centrifugado, e o sobrenadante foi descartado para em seguida as células serem ressuspensas em solução salina (0,9%). Para o ensaio, cada inóculo de microrganismo foi ajustado em solução salina na concentração 10^5. Os filmes com NPsAg e o filme controle foram cortados em quadrados de dimensões de (4 cm x 4 cm) 16 cm^2 e acomodados na parede interna de tubos eppendorf, para seguidamente serem adicionados 500µL de suspensão microbiana e incubados em agitação suave na incubadora rotativa por 24 horas a temperatura ambiente (±25°C). Posteriormente em cada tubo foi retirado uma alíquota da suspensão microbiana, para em seguida obter diluições seriadas em solução salina, sendo cada diluição vigorosamente misturada. De cada diluição 10 µL da solução microbiana foram semeadas no meio ágar triptona de soja (TSA) estas foram incubadas a 37°C por 24h (PAGNO *et al.*, 2015).

As células viáveis em cada uma das placas inoculadas com microrganismos foram contadas quantificando a formação de colônias (UFC/ml) (PAGNO *et al.*, 2015).

3.RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos pela atividade microbiana por contato mostraram que os filmes nanoestruturados exibiram ações antimicrobianas contra os microrganismos estudados, , como pode ser observado na Tabela 1.

Tabela 1. Distribuição dos valores relativos à média e ±desvio padrão de contagens (UFC/ml) de *S. aureus* e *E.coli,* em relação aos corpos de prova controle e nanoestruturados (ppm), Embrapa Instrumentação, São Carlos/SP, 2017.

Concentrações (ppm)	***S.aureus*** (UFC/ml)	***E.coli*** (UFC/ml)
Controle	162,2±68,3	157,6±21,0
15,00	65,8±3,6	38,7±8,2
75,00	48,1±2,5	1,9±1,1

O que pode ser verificado neste estudo é que com o aumento da concentração (ppm) de NPsAg menor é a formação UFC/ml, sugerindo que concentrações maiores de NPsAg são mais eficazes na ação antimicrobiana, além disso, foi observado uma inibição maior na *E. coli*.

A inibição microbiana pelo acréscimo de NPsAg está relacionada a uma maior formação de rupturas na parede celular dos microrganismos, e portanto aumentando a permeabilidade da membrana, resultando na morte celular, além disso, sugerem que o efeito antimicrobiano das NPsAg pode estar associado com as características de certas espécies de bactérias; já que Gram positivas e Gram negativas apresentam diferenças na estrutura da membrana (KIM; LEE;RYU, 2011; MIRZAJANI *et al.*, 2011; RUPARELIA *et al.*, 2008; KIM *et al.*, 2007).

Na Tabela 2 foi realizada uma comparação entre o limite de tolerância de microrganismos em frutas e hortaliças de acordo com a RDC n°212 do Brasil, com a inibição dos corpos de prova nanoestruturados com o microrganismo estabelecido na legislação (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA; 2001).

Pode ser verificado de acordo com a Tabela 6, que para todos os alimentos selecionados, os filmes ao serem comparados com a tolerância bacteriana da legislação apresentaram $\log_{10}$ UFC/ml menor, ou seja, em todas as concentrações estudadas nesta pesquisa houve uma inibição para *E.coli* tolerável para o consumo destes alimentos.

Tabela 2. Distribuição dos dados de limite máximo aceitável de microrganismo por alimento ($\log_{10}$ UFC/ml), de acordo com RDC n°12, e inibição em $\log_{10}$ UFC/ml dos corpos de prova nanoestruturados (ppm) com os respectivos microrganismos, Embrapa instrumentação, São Carlos/SP, 2017.

Alimentos	**Microrganismo e sua Tolerância para Amostra Representativa** ($\log_{10}$ UFC/ml)		**Microrganismos e concentrações**	
			(ppm)	($\log_{10}$ UFC/ml)
Frutas frescas "in natura", preparadas (descascadas ou selecionadas ou fracionadas), sanificadas, refrigeradas ou congeladas, para consumo direto.	*E.coli*/g	3,30	15,00 75,00	*E.coli* 0,81 0,04
Hortaliças e legumes "in natura" preparados (descascadas ou selecionadas ou fracionadas), sanificadas, refrigeradas ou congeladas, para consumo direto.	*E.coli*/g	2,30	15,00 75,00	*E.coli* 0,56 0,03

4.CONCLUSSÃO

Os filmes nanoestruturados apresentaram ação antimicrobiana promissora com os microrganismos estudados, e, portanto filmes poliméricos antimicrobianos tem potencial para uso em embalagens alimentícias, auxiliando na diminuição de desperdício de alimentos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Capes pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Resolução RDC no12, de 02 de Janeiro de 2001. v.53, n.9, p.1689–99, 2001.

ESPITIA, P.J.P.; BATISTA, R.A. Non-thermal food preservation: control of food borne pathogens through active food packaging nanotechnology. In: RAVISHANKAR, K.V. Advances in Food Biotechnology. Chichester: Wiley blackwell, 2016.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Food wastage footprint: Impacts on natural resources [Internet]. 2013 [Acesso em: 20 de julho de 2017]. Disponível em: http://www.fao.org/docrep/018/i3347e/i3347e.pdf.

IMRAN, M.; REVOL-JUNELLES, A.M.; MARTYN, A.; TEHRANY, E.A.; JACQUOT, M.; LINDER, M.; DESOBRY, S. Active food packaging evolution: transformation from micro- to nanotechnology. Food Sci Nutr.; v. 50, n. 9, p. 799-821, 2010.

JOKAR, M.; RAHMAN, R.A.; IBRAHIM, N.A.; ABDULLAH, L.C.; TAN, C.P. Melt production and antimicrobial efficiency of low- density polyethylene (ldpe)-silver nanocomposite film. Food Bioproc Tech., v. 5, p. 719-728, 2012.

KIM, J.S.; KUK, E.; YU, K.N.; KIM, J.H.; PARK, S.J.; LEE, H.J. Antimicrobial effects of silver nanoparticles. Nanomedicine Nanotechnology, Biol Med. v.3, n.1,p. 95–101, 2007.

KIM, S.; LEE, H.; RYU, D. Antibacterial activity of silver-nanoparticlesagainst Staphylococcus aureus and Escherichia coli. Korean JMicrobiol.,v.39, n.1, p.77–85, 2011.

MIRZAJANI, F.; GHASSEMPOUR, A.; ALIAHMADI, A.; ESMAEILI, M.A. Antibacterialeffect of silver nanoparticles on Staphylococcus aureus. Res Microbiol., v.162, n.5, p.542–9, 2011

PAGNO, C.H.; COSTA, T.M.H.; MENEZES, E.W.; BENVENUTRI, E.V.; HERTZ, P.F.; MATTE, C.R.; TOSATI, J.V.; MONTEIRO, A.R.; RIOS, A.O.; FLÔRES, .S.H. Development of active biofilms of quinoa (Chenopodium quinoa W.)starch containing gold nanoparticles and evaluation of antimicrobial activity. *Food Chem.* v.173, p.755- 762, 2015

PEIXOTO, M.; PINTO H.S. Desperdício de alimentos: Questões socioambientais, econômicas e regulatórias [Internet]. Boletim Legislativo n°41. 2016 [acesso em: Acesso em: 20 de julho de 2017]. Disponível em: https://www12.senado.leg.br/publicacoes/estudoslegislativos/tipos-de-estudos/boletins-legislativos/bol41.

RUPARELIA, J.P.; CHATTERJEE, A.K.; DUTTAGUPTA, S.P.; MUKHERJI, S. Strain specificity in antimicrobial activity of silver and copper nanoparticles. Acta Biomater.,v.4, n.3, p.707–16, 2008.

ANALISES TÉRMICA E MECÂNICA DE FILMES DE QUITOSANA COM ADIÇÕES DE EXTRATO ETANÓLICO DE PEQUI

Caroline Alves Breda[1,2], Marta Cristina Teixeira Duarte[1], Odílio Benedito Garrido Assis[2]

[1]Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, Engenharia de Alimentos, Campinas, SP.
[2]Embrapa Instrumentação, Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio - LNNA, São Carlos, SP. odilio.assis@embrapa.br

Classificação: Processamento de filmes nanoestruturados para embalagens e conservação de alimentos.

Resumo
Quitosana consiste em um polissacarídeo com excelente capacidade de formação de filmes, sendo largamente avaliado como material apropriado à confecção de embalagens ativas e coberturas comestíveis. De um modo geral, a quitosana apresenta elevada atividade antimicrobiana na forma de gel, mas quando em estado sólido (na forma de filmes) uma redução dessa atividade pode ocorrer em função do rearranjo espacial de suas cadeias na matriz polimérica. Nestas condições, pequenas adições de demais compostos naturais podem ser empregadas com o objetivo de elevar suas propriedades biológicas. Um desses compostos é o extrato da casca do pequi, que forma blenda homogênea com a quitosana e tem comprovada atividade antimicrobiana. A inserção de extratos contudo, pode alterar as propriedades físico-químicas do filmes como estabilidade térmica e resistência mecânica. Nas análises realizadas neste estudo, a adição de extrato na concentração final de 4,0 gl^{-1} promoveu redução da cristalinidade e abaixamento na temperatura correspondente ao inicio da degradação térmica.
Palavras-chave: blendas de quitosana; *Caryocar brasiliense*; extratos de plantas; filmes de polissacarídeos; análise estrutural.

THERMAL AND MECHANICAL ANALYSIS OD CHITOSAN FILMS WITH ETHANOLICA PEQUI EXTRACT INCORPORATION

Abstract
Chitosan is a polysaccharide with excellent film forming ability widely evaluated as active packaging and edible coatings. Chitosan has good antimicrobial activity in gel form, however when in solid state (film format), a reduction in this activity can occur due to spatial arrangement of the chains in the polymer matrix. Small amounts of natural compounds could then be added to the film formulations to improve both antifungal and antibacterial properties. One possible additive is the "pequi" (*Caryocar brasiliense* Comb.) peel ethanolic extract (PPE), which forms homogenous blend with chitosan and has proved antimicrobial activity. In this study the preparation of chitosan-PPE was evaluated concerning the effect promoted in the films structure due PPE incorporation. Films processed by casting were analyzed by infra-red spectroscopy (FTIR), microscopy, X-ray diffraction, mechanical and thermal properties, water vapor permeability (WVP) and surface wettability. FTIR analysis indicates interactions between the phenolic compounds in the extract and the hydroxyl and amine groups present in the chitosan structure, by establishing a possible ester bonding between constituents. The presence of PPE resulted in a decrease of WVP and an increasing in hydrophobicity. The extract addition also reduced the film's crystallinity along with a slight decreasing of plasticity and lowering of the initial polymeric degradation temperatures. However the blend is characterized by a homogeneous matrix with smooth topography. The results suggest that PPE has good compatibility with chitosan, introducing small changes that do not alter the potential for medical or foodstuff applications.
Keywords: chitosan blends, *Caryocar brasiliense*, plant extracts, polysaccharide film, structural analysis.

Publicações relacionadas: BREDA, C.A.; MORGADO, D. L.; ASSIS, O.B.G.; DUARTE, M.C.T. Effect of chitosan coating enriched with pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) peel extract on quality

and safety of tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Mill.) during storage. Journal of Food Processing and Preservation, publicado on-line Doi: 10.1111/jfpp.13268, 2017.
BREDA, C.A.; MORGADO, D. L.; ASSIS, O.B.G.; DUARTE, M.C.T. Processing and characterization of chitosan films with incorporation of ethanolic extract from "Pequi" peels. Macromolecular Research, v. 25, publicado on-line Doi: 10.1007/s13233-017-5143-4, 2017.

1 INTRODUÇÃO

Formulações filmogênicas baseadas em quitosana têm sido largamente avaliadas e consideradas efetivas na formação de filmes flexíveis e coberturas comestíveis protetoras (ASSIS & LEONI, 2003). Estudos avaliando as atividades dessas formulações, na forma de filmes, têm indicado que a eficiência das atividades antimicrobianas é reduzida quando comparadas a mesma composição na forma de gel, o que tem sido interpretado em função de restrições espaciais impostas pelo rearranjo das cadeias que ocorre no estado sólido, limitando o acesso aos grupos funcionais ativos (GOY e ASSIS, 2014). Neste sentido as características funcionais dos filmes podem ser melhoradas pela incorporação de compostos que formam blendas com a quitosana e que podem oferecer uma ação sinérgica contra infestação de patógenos.

Um interessante material para este objetivo é o extrato hidro-alcoólico da casca de "pequi" (*Caryocar brasiliense* Camb.), uma fruta nativa do cerrado brasileiro. O extrato de pequi é rico em compostos fenólicos, principalmente ácidos gálico, quínico e elágico que associados a glucogalina e corilagina são responsáveis pela alta ação antimicrobiana (BREDA et al., 2016). A incorporação de extratos de pequi em coberturas a base de quitosana já foi testada recentemente pela Embrapa/Unicamp, mostrando-se eficaz na redução de infestações microbianas diversas sobre tomates frescos (BREDA et al., 2017)

No presente estudo filmes compostos de quitosana com extrato hidro-etanólico de casca de pequi foram preparadas por *casting* e as alterações decorrentes da incorporação do extrato nas propriedades térmicas e mecânicas avaliadas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Frutos de pequi foram coletados no distrito de Itahum, município de Dourados, Mato Grosso do Sul. As cascas foram removidas e secas ao ar reduzidas a pó em liquidificador. O extrato etanólico bruto foi inicialmente obtido pela mistura de 10g do pó em 500 mL etanol absoluto (LabSynth) sob agitação por 3h e então filtrado. A fração para adição nos filmes (EEP) foi preparada pela solubilização do extrato bruto em água destilada na razão de 2000 µg/mL (w/v). O gel de quitosana (Quit – da Aldrich) foi obtido em solubilização em ácido acético a 0,5% na concentração de 4.0 g/L sob agitação moderada por 18h a 25°C. A formulação filmogênica de Quit-EEP foi preparada na proporção de 1:1 m/m tendo por bases dados de atividade previamente caracterizada (BREDA et al., 2017). Os filmes foram obtidos por *casting* sobre placas de acrílico. As analises térmicas foram conduzidas por TG e DSC, ambos em sistemas da TA Instruments. O intervalo de temperatura foi de 40-800 ºC para o TG e de −10 a 300 ºC para o DSC. As propriedades mecânicas foram obtidas por ensaios de DMA (Dynamic Mechanical Analysis) em amostras nas dimensões de 15 x 6 mm.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O comportamento térmico dos filmes avaliados esta representado nas curvas na Figura 1 e 2. As curvas sólidas (identificadas como TG) expressam à leitura direta da massa na temperatura de ensaio e a curva pontilhada DTG a derivada que permite a identificação de eventuais alterações estruturais nas amostras. Ambos os materiais apresentam os mesmo comportamento com desidratação inicial seguido por processo intenso de decomposição.

Para os filmes de quitosana o primeiro evento ocorre no intervalo de 30-100 °C, com intensidade máxima em 61 °C, relacionado à sorção de água ligada principalmente nos grupos amino e hidroxilas da quitosana. O Segundo evento, com inicio em 254 °C e máximo em 294 °C, corresponde a reações termo-oxidativas que resultam na despolimerização e decomposição pirolítica com formação de água, dióxido de carbono, metano e amônia (ZOHURIAAN e SHOKROLAHI, 2004).

Com respeito ao comportamento da blenda Qui-EEP, ligeiras alterações ocorrem podendo ser identificado a desidratação atingindo um máximo em 88 °C, temperatura superior à lida para a quitosana revelando um interação mais forte do compósito com a água com grupos hidrofílicos do extrato. A blenda, contudo apresenta uma matriz menos estável com início de decomposição em 191 °C com máximo em 273 °C, i.e., 21 °C inferior ao medido para o filme de quitosana (Quit).

Os gráficos de DSC estão na Figura 3 e indicam picos relacionados a evaporação de água (111 °C para a Quit e 100 °C para a blenda). As áreas sob os picos endotérmicos representam o valor da entalpia relativa, associada a capacidade de reter água e a presença de compostos estáveis no EEP. Para a Quit o intervalo endotérmico se estende de 59 à 159 °C correspondendo a um valor de entalpia de ΔH = 370 J/g, enquanto para a blenda a entalpia nesta transição (40 à 151 °C) é de 381 J/g.

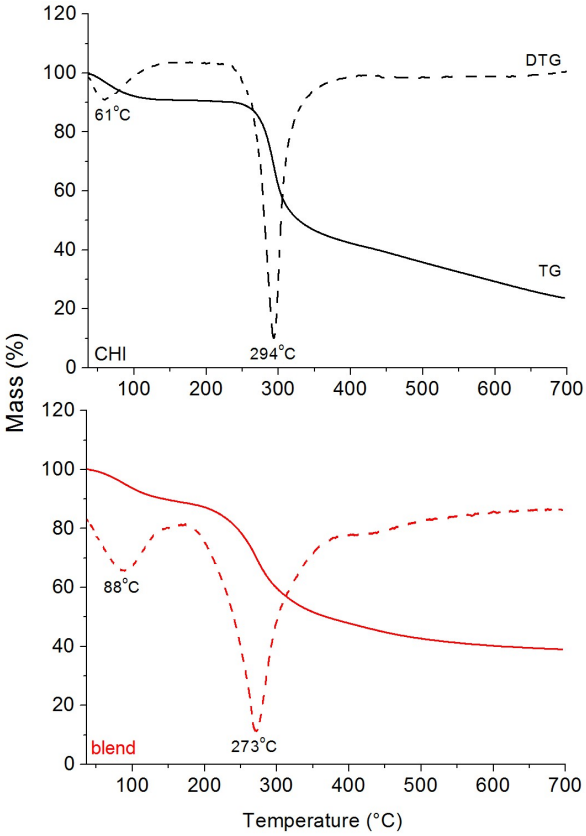


Figura 1. Perfis de TG e DTG da Quit (CHI) e do filme com extrato (blenda).

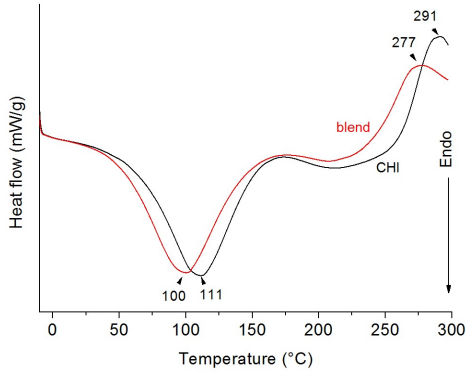


Figura 2. Curvas de DSC para a quitosana e para a blenda (N_2 e taxa de aquecimento de 10°C/min).

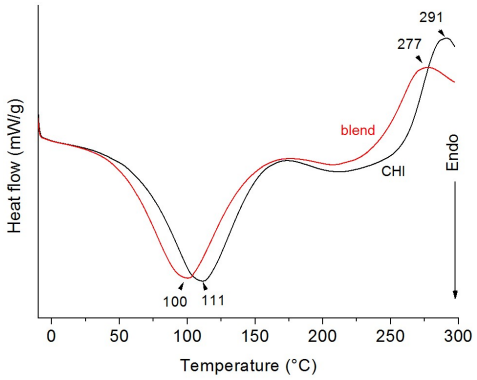


Figura 3. Curvas de DSC para as amostras.

O Segundo evento térmico ao redor de 270-290 °C, é atribuído a decomposição estrutural normalmente relacionadas a degradação das unidades de glucosaminas na estrutura da quitosana (MARTINS et al., 2016) e o desvio deste evento para temperaturas mais baixas confirma a redução da estabilidade estrutural promovida pela incorporação do extrato de Pequi.

Na Figure 4 temos as curvas de tensão deformação nas quais ambos materiais apresentam comportamento semelhantes. Observa-se um aumento inicial da elongação com o aumento da carga com a definição de uma clara região elástica.

Uma maior plasticidade fica evidente para o filme de Quit o que pode ser expresso pela maior elongação ocorrida a valores inferiores de tensão aplicada, da ordem de 37% superiores a da blenda. Ou seja, a incorporação de EEP leva a uma ligeira redução plasticidade embora eleve (aproximadamente em 5%). O aumento da tensão de ruptura associado a uma redução na elongação na presença de aditivos em filmes biopoliméricos tem sido interpretado como efeito de antiplastificação e registrado na formação de blendas que tem por base a quitosana como material principal (SUYATMA et al., 2005).

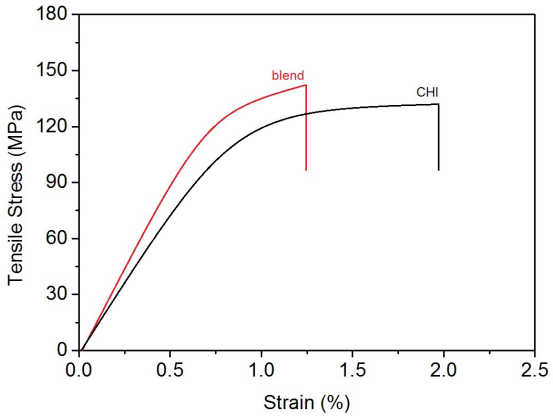


Figura 1. Curvas tensão X deformação para os filmes de Quit (CHI) e blenda Quit-EEP.

4 CONCLUSÃO

Neste estudo processou-se com sucesso filmes de blendas compostas por quitosana e extrato etanólico de pequi na proporção de 1:4 m/m. Nas análises realizadas nas propriedades térmicas e mecânicas, não foi constatado alterações estatísticas significantes na tensão de ruptura com a incorporação do extrato, contudo foi confirmando uma redução na elongação indicando que as interações decorrentes da presença do extrato levam a perda da plasticidade. As interações entre Quit-EEP também levam a uma maior absorção de água e compostos polares na matriz e uma redução da estabilidade térmica, principalmente com um abaixamento da temperatura de inicio da degradação e despolimerização térmica.

AGRADECIMENTOS

Os autores são gratos ao Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos da UNICAMP, à CAPES pela concessão de bolsa e a Rede AgroNano por auxílios recebidos.

REFERÊNCIAS

ASSIS, O.B.G.; LEONI, A.M. Filmes comestíveis de quitosana: Ação biofungicida sobre frutas fatiadas. Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento, v. junho, n.30, p. 33-38, 2003.

BREDA, C.A.; GASPERINI, A.M.; GARCIA, V.L.; MONTEIRO, K.M.; BATAGLION, G.A.; EBERLIN, M.N.; DUARTE, M.C.T. Phytochemical analysis and antifungal activity of extracts from leaves and fruit residues of Brazilian savanna plants aiming its use as safe fungicides. Natural Products and Bioprospecting, v. 6, n. 4, p. 195-204, 2016.

BREDA, C.A.; MORGADO, D. L.; ASSIS, O.B.G.; DUARTE, M.C.T. Effect of chitosan coating enriched with pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) peel extract on quality and safety of tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Mill.) during storage. Journal of Food Processing and Preservation, publicado on-line Doi: 10.1111/jfpp.13268, 2017.

GOY, R C.; ASSIS, O.B.G. Antimicrobial analysis of films processed from chitosan and *N,N,N*-trimethylchitosan. Brazilian Journal of Chemical Engineering, v. 31, n. 3, p. 643-648, 2014.

MARTINS, C.S.; MORGADO, D.L.; ASSIS, O.B.G. Cashew gum-chitosan blended films: Spectral, mechanical and surface wetting evaluations. Macromolecular Research, v. 24 b, 8, p. 691-697, 2016.

SUYATMA, N.E.; TIGHZERT. L.; COPINET. A.; COMA, V. Effects of hydrophilic plasticizers on mechanical, thermal, and surface properties of chitosan films. Journal of Agricutural and Food Chemistry, v. 53, n.10, p. 3950-395, 2005..

ZOHURIAAN, M.J; SHOKROLAHI, F. Thermal studies on natural and modified gums. Polymer Test, v. 23, n. 5, p.575-579, 2004.

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE COBERTURAS DE DERIVADO HIDROSSOLÚVEL DE QUITOSANA SOBRE BROTOS DE FEIJÃO

Heloisa Delgado Paulo[1,2], Joana Dias Bresolin[2], Odílio Benedito Garrido Assis[2]

[1]Universidade Federal de São Carlos, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde. – UFSCar
[2]Embrapa Instrumentação, Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, São Carlos, SP. odilio.assis@embrapa.br

Classificação: Processamento de filmes nanoestruturados para embalagens e conservação de alimentos

Resumo
O objetivo deste trabalho foi a avaliação preliminar do potencial uso do derivado de quitosana (*N,N,N*-trimetilquitosana) na formação de coberturas ativas sobre brotos de feijão. Este derivado apresenta boas características filmogênicas e formação de géis na concentração de 2 gL^{-1} foram preparados em meio neutro e associados à extratos etanólicos de canela e gengibre. As quantidades de extratos adicionados tiveram por base a determinação prévia dos MICs realizada *in vitro* conta cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Ambos os extratos apresentaram atividade antimicrobiana com melhor eficiência obtida para o de canela tanto para os ensaios *in vitro* como *in vivo*. As coberturas foram caracterizadas por microscopia eletrônica de varredura, cujas imagens sugerem a ocorrência de certa imiscibilidade entre os compostos, principalmente para a adição de extrato de gengibre a 12 gL^{-1}. Os ensaios de germinação indicaram que, independente da composição, não há efeito das coberturas sobre o vigor das sementes apesar destas comprovadamente ter atividade na redução das contaminações totais. A porcentagem de extrato adicionada na cobertura mostrou-se ser fundamental na redução da contaminação dos grãos.
Palavras-chave: coberturas protetoras; antimicrobiano natural; *N,N,N*-trimetilquitosana; extratos etanólicos de plantas.

EVALUATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF HIDROSOLUBLE CHITOSAN COATINGS ON MUNG BEANS

Abstract
The aim of this work was to conduct a preliminary evaluation of the potential use of a water-soluble derivative from chitosan (*N,N,N*-trimethylchitosan) in the formation of an antibacterial active coatings on mung beans. The derivative turns into gel easily and has good film forming ability. Formulations at a concentration of 2 gL^{-1} were prepared in neutral medium and associated to cinnamon and ginger ethanolic extracts. The amounts of extracts added (6 and 12 gL^{-1}) were based on MIC determinations as *in vitro* measurements performed against *Escherichia coli* (Gram-negative) and *Staphylococcus aureus* (Gram-positive) strains. Both extracts when incorporated in the coating presented antimicrobial activities with better efficiency for cinnamon either in vitro and in vivo analysis. The coatings on mung beans were characterized by scanning electronic microscopy, which images suggest some immiscibility between compounds, mainly when ginger extract is added. Germination tests indicated that, independent of the coating composition, there was no interference on beans vigor. The percentage of extract added in the coating showed to be fundamental in reducing total bacterial contamination.
Keywords: protective seed dressing; natural antimicrobial; *N,N,N*-trimethylchitosan; plant ethanolic extracts.

1 INTRODUÇÃO

O termo "quitosana" refere-se a uma família de polímeros resultantes da reação de desacetilação, total ou parcial, da quitina que é considerada o segundo biomaterial mais disponível na

natureza (somente inferior a celulose). A quitosana contudo, é solúvel somente em meio ácido (pH inferior a 6,4) como consequência da protonação dos grupos aminos em sua estrutura. Quando a quitosana é submetida a processo intensivo de metilação (adição de grupos metil – CH_3 no anel glucosamina), um derivado é gerado em consequência da quaternização dos grupos $–NH_2$. A este derivado damos o nome de *N,N,N*-trimetilquitosana ou TMQ, que apresenta cargas positivas permanentes sendo assim caracterizado como um polímero catiônico, que diferente da quitosana de origem pode ser solubilizada em uma ampla faixa de pHs, inclusive em meio neutro (BRITTO e ASSIS, 2007).

Esse derivado tem características antimicrobianas sendo compatível com a formação de blendas e compostos com demais agentes ativos, sendo já avaliado como coberturas de frutos e grãos (BADAWY e RABEA, 2011) e na encapsulação de nutrientes de interesse alimentar (BRITTO et al., 2012). Coberturas ativas e comestíveis são de particular interesse para aplicações em produtos que são consumidos crus como lentilhas, grãos e brotos de alfafa e feijão por exemplo. Segundo o US Center for Disease Control and Prevention, a cada ano cerca de 48 milhões de pessoas no mundo são infectadas pelo consumo de produtos *in natura* contaminados, sendo o broto de feijão um dos principais responsáveis por infecções de origem bacteriana (CDCP, 2011).

No presente estudo o derivado TMQ foi empregado como matriz de cobertura e avaliado isolado e com adições de extratos hidro-alcoólicos de canela e gengibre como meio de prevenção ao crescimento microbiano sobre brotos de feijão.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os extratos foram obtidos a partir de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) e gengibre (*Zingiber officinale*) disponíveis comercialmente. O processo de extração foi em meio etanólico 70%, conforme procedimentos descritos por Azwanida, 2015. O derivado TMQ foi preparado a partir de quitosana da Aldrich, de média massa molecular, segundo síntese descrita por Britto e Assis, 2007. As coberturas foram conduzidas por imersão em gel preparados na concentração de 2 gL^{-1} de TMQ em meio água deionizadas com adições de cada extrato separadamente adicionados. As concentrações finais de extrato foram de 6, 25 gL^{-1} e 12 gL^{-1}, segundo dados previamente obtidos por análise de mínima concentração inibitória (MIC). Brotos de feijão (*Vigna radiata*) foram incialmente inoculados com *E.coli* e *S.aureus* e depois recobertos com as formulações. Avaliou-se a germinação dos brotos (em papel filtro umedecido) e a ação sobre o crescimento total de bactérias (por crescimento em meio ágar M-H). Os ensaios foram realizados em triplicata e analisados pelo software Bioestat 5.0.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise da germinação não revelou variação significativa ($p<0,05$) nas amostras indicando que as coberturas não tem efeito no vigor das sementes, conforme visualmente ilustradas na Figura 1 e dados numéricos da Figura 2.

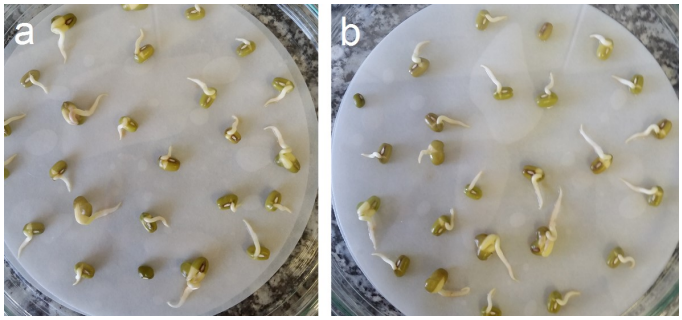


Figura 1. Aspecto dos brotos germinados: (a) sem cobertura. (b) com cobertura de TMQ a 2gL^{-1}

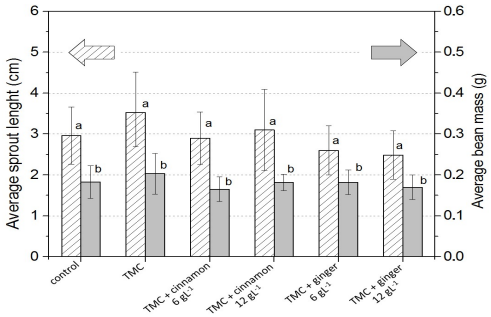


Figura 2. Análise de vigos dos diversos tratamentos

Quando observado sobre microscopia eletrônica foi possível identificar que as superfícies das coberturas formadas não são homogêneas ou planas, sugerindo irregularidades decorrentes de separação de fases ou precipitação de componentes, principalmente com a adição do extrato de

gengibre, indicando possível imiscibilidade entre os componentes. Contudo as coberturas geram proteção antimicrobiana efetiva, como as apresentadas pela contagem de colônias formadas após a deposição, e expressas graficamente na Figura 3 onde é possível observar uma tendência de redução linear no número de contagem bacteriana com o aumento do teor de extrato na cobertura.

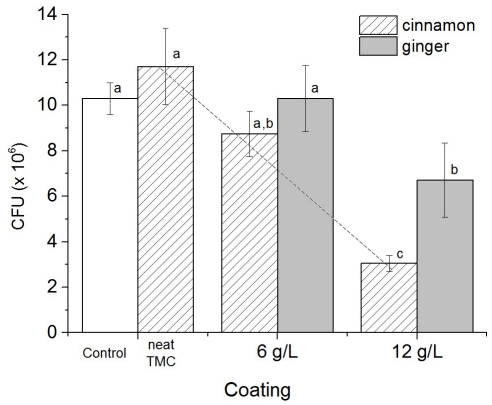


Figura 3 . Contagem de colonias bacterianas em meio de cultura de acordo com inoculação após seis dias de germinação. (Controle = grãos não revestidos). Diferentes letras indicam signficancia estatística a 5%.

Os resultados das análises microbianas indicam que as coberturas com a presença de extrato de canela são mais efetivas na redução do crescimento total, com uma tendência de redução linear (linha pontilhada, Fig. 3). O ligeiro aumento no número de colônias nos grão cobertos com somente com TMQ puro é observado e resultados parecidos são encontrados em estudos similares, o e tem sido interpretado pelo fato de quitosana em pequenas quantidades tem ação maior como nutriente do que agente antimicrobiano, resultando em acréscimo na carga bacteriana (ADEKUNLE et al., 2015)

4 CONCLUSÃO

O derivado hidrossolúvel de quitosana TMQ em associação com extratos etanólicos de canela e gengibre apresenta potencial para a formação de coberturas adequadas ao revestimento de grãos. Em particular o extrato de canela apresenta uma melhor atividade conforme análises realizadas contra E. *coli* e S. *aureus in vitro*. As coberturas não alteraram o padrão de germinação quando aplicadas sobre brotos de feijão.

AGRADECIMENTOS

Os autores são gratos ao CNPq (PIBIC), processo 116812/2015 e a Rede AgroNano por auxílios recebidos.

REFERÊNCIAS

AZWABIDA, N.N. A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. Medicine and Aromatic Plants, v.4, n.3, p.1-6, 2015.

BADAWY, M.; RABEA, E. A biopolymer chitosan and its derivatives as promising antimicrobial agents against plant pathogens and their applications in crop protection. International Journal of Carbohydrate Chemistry. v. 2011, Article ID 460381, 29p (2011).

BRITTO, D.; ASSIS, O.B.G. (2007). A novel method for obtaining a quaternary salt of chitosan. Carbohydrate Polymers, v.69, n.2, p.305-310, 2007.

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.

CDCP - Centers for Disease Control and Prevention. Estimates of foodborne illness in the United States: 2011 analyses. Disponível em: <http://www.cdc.gov/foodborneburden/#>. Acesso em 04 fev 2017.

ATIVIDADE INIBITÓRIA DA QUITOSANA E DE SEU DERIVADO QUATERNIZADO TMQ SOBRE O CRESCIMENTO DO FUNGO *Penicillium expansum*

Leila D. Mendes[1]; Joana D. Bresolin[2]; Odílio B. G. Assis[2]; Douglas de Britto[3]

[1]Universidade de São Paulo – IQSC, São Carlos, SP
[2]Embrapa Instrumentação, LNN, São Carlos, SP – odilio.assis@embrapa.br
[3]Embrapa Semiárido – Petrolina, PE – douglas.britto@embrapa.br

Classificação: Processamento de filmes nanoestruturados para embalagens e conservação de alimentos.

Resumo
Quitosana comercial de média massa molar e seu derivado quaternizado hidrossolúvel *N,N,N*-trimetilquitosana foram avaliados *in vitro*, como agentes inibidores do crescimento de *Penicillium expansum*. Formulações nas concentrações de 0,1; 1,0; 5,0 e 10,0 gL^{-1} de cada polímero foram preparadas e adicionados em meio de cultura BDA sólido e aquoso. O fungo foi isolado de frutas contaminadas, cultivado e inoculado nos meios contendo os polímeros. Análises foram conduzidas por medida do crescimento de colônias em meio sólido e por contagem de esporos germinados em meio líquido indicaram eficiência na redução da infestação por ambos os polímeros. A quitosana apresentou elevada eficiência em meio líquido enquanto seu derivado foi eficaz na redução do crescimento em meio de cultura sólido, ambos em baixas concentrações (0,1 e 1,0 gL^{-1}).
Palavras-chave: quitosana; antifúngico natural; bolor azul; biopolímeros; *P. expansum*.

INHIBITORY ACTIVITY OF CHITOSAN AND ITS QUATERNIZED DERIVATIVE ON THE *Penicillium expansum* GROWTH

Abstract
Chitosan of medium molar weight and its quaternized water-soluble derivative *N,N,N*-trimethylchitosan were evaluated *in vitro,* in laboratorial analyses scale, as inhibitors agents of *Penicillium expansum* growth. Formulations with polymer concentrations of 0.1; 1.0; 5.0 and 10.0 gL^{-1} were prepared and added to PDA solid and aqueous culture medium. The fungus strain was collected from decay fruits, harvested and inoculated in the medium with the polymers. Measurement of colony size growth (in solid medium) and germinated spore's counting in liquid medium indicated that both polymers act efficiently in reducing infestation. The chitosan showed high efficiency in liquid medium while the derivative was more effective in solid medium, both at low concentrations (0.1 e 1.0 gL^{-1}).
Keywords: chitosan; natural antifungal; blue mold; biopolymers; *P. expansum.*

Publicações relacionadas: Mendes, L.D.; Bresolin, J.D.; Assis, O,B,G.; Britto, D. *In vitro* evaluation of chitosan and its quaternized derivative on the inhibition of *penicillium expansum* growth. Brazilian Journal of Biosystem Engineering, v.10, n.1, p.116-128, 2016.

1 INTRODUÇÃO

O bolor azul é um dos maiores responsáveis por perdas ocasionadas por podridão não somente na condição pós-colheita como também de incidência comum na indústria de processamento de sucos. O agente responsável pelo aparecimento do bolor azul é o fungo *Penicillium expansum*, patógeno necrotrófico bastante agressivo que infecciona pontos de ferimentos, lesões ou pequenas fissuras na epiderme ou na região do pedúnculo, encontrando assim condições adequadas para a germinação de seus esporos. As perdas de maçãs decorrentes da ação do *P. expansum* são da ordem de 90% com respeito às ocorrências totais de podridão (BLUM et al., 2004), e estimada como superior a 40% na incidência em peras e pêssegos (NARAYANASAMY, 2005).

Diversos compostos antifúngicos alternativos aos comerciais (usualmente tiabendazol, benomil e iprodione) têm sido avaliados no controle do bolor azul, como fosfitos, ácidos fenólicos, ácido acético e benzaldeídos, com variáveis graus de eficiência. A quitosana, um polissacarídeo obtido pela desacetilação parcial da quitina e seus derivados, tem sido também indicada como antimicrobiano natural com atividade satisfatória na inibição de uma série de patógenos de ocorrência pós-colheita. A atividade antifúngica da quitosana é bem documentada na literatura sendo o modelo mais aceito o relacionado à natureza policatiônica que estabelece interação com sítios aniônicos presentes nas paredes celulares dos microrganismos. Tal interação ocorre preferencialmente entre os grupos NH_2 protonados da quitosana e os resíduos negativos das lipoproteínas que constituem a parede celular, causando danos estruturais que geram alterações na permeabilidade das membranas, levando consequentemente a uma instabilidade osmótica (GOY et al., 2009).

A quitosana é considerada segura ao consumo humano, sendo classificada como GRAS (*generally recognized as safe*) pelo FDA e neste trabalho avaliamos o potencial da quitosana comercial e de seu derivado quaternizado *N,N,N*-trimetilquitosana como agentes inibidores do crescimento de *Penicillium expansum* em ensaios *in vitro*, objetivando potencial aplicação como antifúngico tópico no controle do bolor azul.

2 MATERIAL E MÉTODOS

As soluções de quitosana comercial de média massa molar (400.000 g mol^{-1}) e com grau de acetilação médio entre 68-75% (Sigma-Aldrich), e seu derivado quaternizado foram preparados por dissolução em solvente ácido acético a 1% e água destilada respectivamente, nas concentrações 0,1; 1,0; 5,0 e 10,0 gL^{-1} para cada polímero. O derivado quaternizado, identificado como TMQ (*N,N,N*-trimetilquitosana) foi obtido a partir de reações específicas da quitosana comercial com dimetilsulfato e NaOH conforme processo desenvolvido pela Embrapa e descrito em Britto e Assis, 2007.

O fungo P. *expansum* foi isolado de frutas contaminadas e replicado em placa de Petri com o meio de cultura BDA (batata-dextrose-agar). Os esporos foram incubados a 26°C até o crescimento visual do microrganismo. A partir desta cultura foram preparadas as suspensões em soluções esterilizadas de Tween 80 (0,1% v/v) na qual foram adicionados os fungos já crescidos. A concentração dos esporos foi determinada em câmara de Neubauer. Para o teste utilizou-se uma concentração inicial de 1,0 x 106 esporos mL^{-1} segundo determinação prévia por densidade ótica por espectroscopia UV no comprimento de onda de 530 nm (UV-vis Spectrum series SP-2000UV).

Para a avaliação do crescimento radial em meio sólido, meio de cultura BDA foi preparado em placas de Petri adicionados a 15,0 mL de solução inibidora. O mesmo procedimento foi repetido nas amostras controle, embora sem a adição dos polímeros. O crescimento foi registrado fotograficamente, diariamente ao longo de 6 dias e o diâmetro medido diretamente sobre as placas. Para a análise de germinação em meio líquido, foram preparadas suspensões em tubos de ensaio vedados. A incubação se deu por 26 h na temperatura de 25°C sob agitação orbital de 120 RPM fazendo uso de uma incubadora modelo TE-4200 (Tecnal). A contagem dos fungos germinados foi realizada diretamente nas imagens e expressas em percentagem em relação aos não germinados. As análises foram consideradas para nível de significância de $p< 0,05$ (Tukey) empregando o programa Bioestat 5.0.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 1 temos dispostas imagens típicas do crescimento das colônias de P. *expansum* em meio de cultura DBA sólido, para diversas concentrações de quitosana e TMQ, sendo possível um acompanhamento visual do crescimento fúngico com o tempo. Fica evidente, através da comparação entre as placas, que o derivado TMQ apresenta uma maior atividade antifúngica que a quitosana, principalmente para adições em baixas concentrações. Esse resultado pode ser melhor depreendido através da comparação da evolução dos valores numéricos do crescimento radial, plotados para a quitosana e para a TMQ na Figura 2.

A diferença entre as medidas do crescimento radial das colônias no meio controle e com quitosana, embora ligeiramente menor, não evidencia um ação intensa. O aumento da concentração de polímero no meio também não resultou em um aumento proporcional da atividade. Contudo, deve-se levar em consideração que a atividade antifúngica da quitosana é fortemente influenciada por diversos

fatores físico-químicos, como a massa molar polimérica, pH do meio, grau de acetilação, e composição do meio de cultura e da temperatura em que as interações ocorrem (BRITTO et al., 2012; SZYMAŃSKA & WINNICKA, 2015).

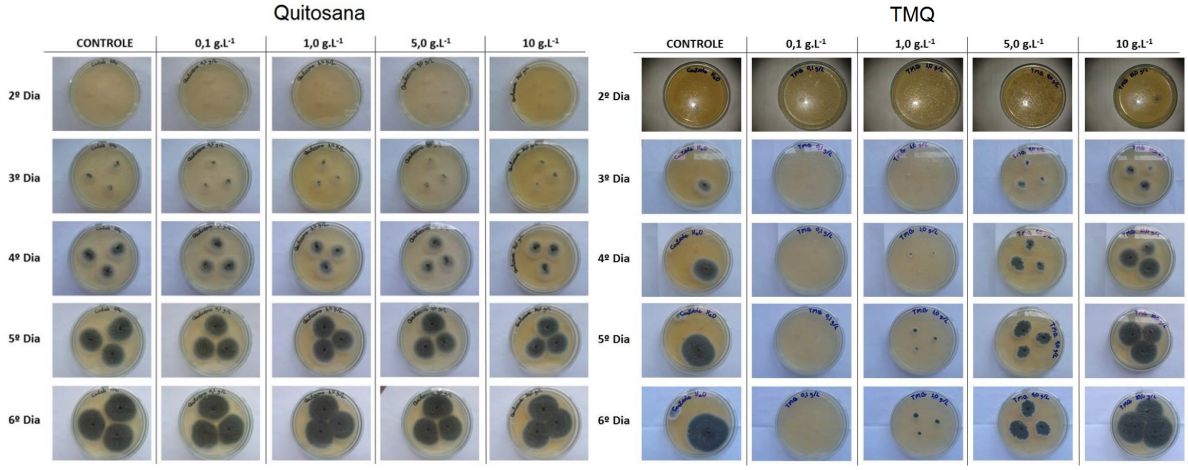


Figura 1. Montagem fotográfica representativa do crescimento radial das colônias de fungo *P. expansum* em meio sólido DBA, sem (controle) e com adições de TMQ.

Nos ensaios realizados com a TMQ, as medidas do crescimento das colônias em meio sólido indicam que este derivado apresenta atividade antifúngica consideravelmente superior a da quitosana comercial, principalmente para as diluições em baixas concentrações (0,1 e 1,0 gL^{-1}). Nestas concentrações o efeito inibidor foi máximo, não sendo possível visualizar crescimento ao longo dos dias observados.

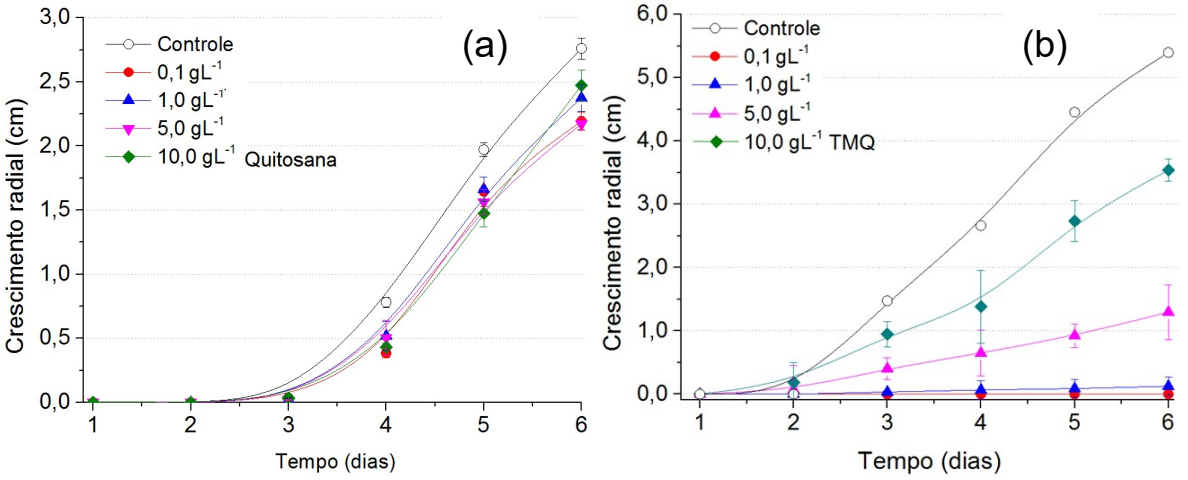


Figura 2. Crescimento radial das colônias do fungo *P. expansum* para ensaios realizados com adição de quitosana (a) e do derivado TMQ (b), em diversas concentrações ao longo do tempo.

O efeito da concentração de quitosana e TMQ na inibição do crescimento do *P. expansum* tem comportamento similar aos registrados em testes conduzidos para bactérias gram-positivas e gram-negativas, em ensaios com os polímeros na forma de gel nos quais menores concentrações proporcionaram uma maior atividade antibacteriana (GOY et al., 2016). Este fenômeno tem sido interpretado em termos do arranjo espacial que as cadeias poliméricas assumem em solução: em baixas concentrações de polímeros, menor é o número de interações intercadeias, o que facilita os acoplamentos dos grupos funcionais laterais com os fosfolipídeos da parede celular dos fungos.

Com o aumenta da concentração, há um aumento proporcional do volume hidrodinâmico por unidade de massa molar. Isto implica em uma elevação no número de cadeias poliméricas por volume o que favorecendo as trocas iônicas entre os grupos carregados, levando a uma configuração espacial

de densa estrutura sobreposta. Esse efeito tem papel relevante na atividade da quitosana e derivados conforme comprovado em estudos realizados por Goy et al., (2016) e Mendes et al., (2016).

4 CONCLUSÃO

Quitosana de média massa molar e seu derivado quaternizado TMQ apresentaram atividade satisfatória na inibição do crescimento de colônias do fungo *P. expansum* em testes realizados *in vitro*. A quitosana apresentou um melhor desempenho quando dispersa em meio aquoso, reduzindo totalmente a germinação dos esporos. Efeito semelhante foi observado para o ácido acético, aqui tomado como referência considerando que este foi empregado como solvente da quitosana. Independente da concentração adicionada, o derivado quaternizado não foi efetivo na redução do crescimento em meio aquoso. Em meio de cultura sólido contudo, a TMQ tem boa atividade e apresenta uma melhor eficiência quando adicionado em baixas concentrações (0,1 e 1,0 gL^{-1}). Os dados foram discutidos considerando os mecanismos aceitos de ação antimicrobiana da quitosana e de seu derivado em meio sólido e aquoso. Dos resultados gerais depreende-se que ambos os polímeros apresentam ações inibidoras conta P. *expansum*, necessitando serem definidos critérios mais específicos, como concentração, tempo de interação, acidez e meio de solubilização para a definição de aplicação tópica in vivo que resulte em boa eficiência na redução do crescimento fúngico.

AGRADECIMENTOS

Os autores são gratos ao apoio financeiro do CNPq (Universal processo 475509/2013-7) e da Rede AgroNano (Embrapa).

REFERÊNCIAS

BLUM, L.E.B; AMARANTE, C.V.T.; VALDEBENITO-SANHUEZA, R.M.; GUIMARÃES, L.S.; DEZANET, A.; HACK NETO, P. *Cryptococcus laurentii* aplicado em pós-colheita reduz podridões em maçãs. Fitopatologia Brasileira, v.29, n.4, p. 433-436, 2004.

BRITTO, D.; ASSIS, O.B.G. A new method for obtaining of quaternary salt of chitosan. Carbohydrate Polymers. v.69, n.2, p.305-310, 2007.

BRITTO, D.; SANTOS, M.F.; ASSIS, O.B.G. Evaluation of chitosans with different degrees of acetylation as fungicide coating on cut apples. Alimentos e Nutrição**,** v.23, n.1, p. 16-21, 2012.

MANIVASAGAN, P.; SENTHILKUMAR, K.; VENKATESON, J., KIM, S-E. Biological applications of chitin, chitosan, oligosaccharides and their derivatives. In: Chitin and Chitosan Derivatives. Kim, S-K. Ed., CRP Press, Boca Raton, FL., pp. 243-260. 2014.

MENDES, L.D.; BRESOLIN, J.D.; ASSIS, O.B.G.; BRITTO, D. avaliação in vitro da ação da quitosana e de seu derivado quaternizado na inibição do crescimento do fungo *penicillium expansum.* Revista Brasileira de Engenharia de Biossistemas, v.10, n.1, p.116-128, 2016.

GOY, R.C.; BRITTO D.; ASSIS O.B.G. A review of the antimicrobial activity of chitosan. Polímeros: Ciência e Tecnologia, v.19, n.3, p.241-247. 2009.

GOY, R.C.; MORAIS, C.T.B.; ASSIS, O.B.G. Evaluation of the antimicrobial activity of chitosan and its quaternized derivative on E. *coli* and S. *aureus* growth. Revista Brasileira de Farmacognosia, v.26, n.1, p. 122-127, 2016.

SZYMAŃSKA, E.; WINNICKA, K. Stability of chitosan - A Challenge for pharmaceutical and biomedical applications. Marine Drugs, v.13, n.4, p.1819-1846, 2015.

COMPARAÇÃO ENTRE O USO NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA E NANOFIBRAS DE CELULOSE COMO MATERIAL DE REFORÇO EM FILMES A BASE DE POLPA DE FRUTAS

Taís Téo de Barros-Alexandrino[1,2], Milena Martelli-Tosi[3], Rubens Bernardes Filho[1], Odílio B. G. Assis[1]

[1]Embrapa Instrumentação, Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, São Carlos, SP. odilio.assis@embrapa.br
[2]PPG Biotecnologia – UFSCar, São Carlos, SP. tais.teo@hotmail.com
[2]Departamento de Engenharia de Alimentos, FZEA, USP, Pirassununga, SP

Classificação: Desenvolvimentos de nanocompósitos a partir de fontes renováveis.

Resumo
A produção de filmes biodegradáveis baseados em recursos renováveis, fazendo uso de matrizes biopoliméricas de baixo custo, vem aumentando consideravelmente. Os purês de frutas (ou polpa) representam uma alternativa viável para a obtenção destas matrizes, podendo ser empregados a própria fruta ou rejeitos provenientes de seu processamento. Dentre os frutos adequados para este fim está o mamão papaia (*Carica papaya*). Embora os filmes processados a partir de purê de frutas apresentem limitações mecânicas e de permeabilidade, estas características podem ser minimizadas pela formação de compósitos através da inserção de nanoestruturas de reforço e/ou sua associação com outros biopolímeros com características filmogênicas. Assim, avaliar o uso de polpas de mamão papaia, em adiantado estado de maturação, no processamento de filmes em Sistema Mathis (no modo batelada) e o efeito da inserção de estruturas de reforço para as composições de 15% de massa seca de purê, foram os principais objetivos deste trabalho. Ambos os preenchimentos resultaram em melhoras nas propriedades contudo os melhores resultados foram obtidos com incorporação de nanofibras de celuloses, o que é discutido em termos de sua razão de aspecto e dispersividade na matriz.
Palavras-chave: filmes biodegradáveis; filmes comestíveis; nanopartículas de quitosana; nanofibras de celulose.

COMPARARISON OF CHITOSAN NANOPARTICLES AND CELLULOSE NANOFIBRES AS REINFORCEMENT MATERIALS IN FRUIT PUREE BASED FILMS

Abstract
The production of biodegradable films based on renewable low cost resources has increased considerably. The fruit purees (or pulp) represent an alternative for obtaining these low-cost arrays. It can be obtained from the fruit itself or from its processing wastes. Amongst the suited fruits for this purpose is the papaya (*Carica papaya*). Although the films prepared from fruit puree lacks in mechanical and permeability properties, such features may be minimized by the addition of nanofillers associated to film forming biopolymers. Thus, the evaluation of papaya puree, in over-ripe stage, as raw material for film processing using a Mathis System (in batch mode) with reinforced nanostructure into filmogenic formulations at 15%wt of dry-basis puree mass, were the main aim of this study. Both fillers resulted in improvement of the films properties, the better results however, were attained by the incorporation of cellulose nanofibers, what is discussed in terms of aspect ratio and dispersivity in the matrix.
Keywords: biodegradable films; edible films; chitosan nanoparticles; cellulosic nanofibers.

Publicações relacionadas: BARROS, T.T Produção e caracterização de filmes de polpa de mamão com adições de nanoestruturas, processados em modo batelada. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de São Carlos, UFSCar, São Carlos, 2016.
MARTELLI-TOSI, M.; TORRICILLAS, M.S.; MARTINS, M.A.; ASSIS, O.B.G.; TAPIA-BLACIDO, D.R. Using commercial enzymes to produce cellulose nanofibers from soybean straw. Journal of Nanomaterials, v. 2016, Article ID 8106814, p. 1-10, 2016.

1 INTRODUÇÃO

Filmes processados a partir de purê de frutas, seja de polpas industrializadas ou de resíduos do processamento e/ou descarte, têm se mostrado como uma tecnologia amigável e com potencial para a produção de membranas de uso rápido e de alta biodegradabilidade com potencial para substituição dos plásticos convencionais em usos específicos, principalmente na área de alimentos.

A tecnologia para este processamento teve seu inicio de desenvolvimento nos EUA a partir dos trabalhos realizados junto ao Departamento de Agricultura Americano, ARS-USDA, coordenados por McHugh e colaboradores em 1996, através do processamento de membranas elaboradas a partir da polpa de maçãs descartadas após o processamento de sucos. A Embrapa através de intercâmbio com o ARS-USDA introduziu este processo como linha de pesquisa em sua unidade de Instrumentação na cidade de São Carlos, SP, com foco no aproveitamento de rejeitos de frutas sobremaduras tropicais, principalmente aquelas de elevada perecibilidade, que quando inapropriadas ao consumo possam servir de matéria prima na confecção de filmes delgados de interesse à indústria de embalagens (SILVEIRA, 2016).

Os filmes a base de polpa ou purê de frutas, apesar de apresentarem boa barreira ao O_2, são caracterizados por terem alta permeação ao vapor de água e baixas propriedades mecânicas (BARROS, 2016). Uma possível maneira de melhorar essas propriedades tem sido pela incorporação de reforços nanoestruturados na matriz. Neste contexto, nanofibras de celulose (AZEREDO et al., 2009) e nanopartículas de quitosana (MARTELLI et al., 2013) têm sido as incorporações mais usuais.

No presente trabalho, nanopartículas de quitosana produzidas pela técnica de gelatinização ionotrópica e nanofibras de celulose extraídas por hidrólise ácida foram empregadas como reforços em filmes processados a partir de polpa de mamão na condição sobremadura e avaliados com relação às propriedades mecânicas e de barreira ao vapor de água.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Mamões do cultivar papaia (*Carica papaya* L.) em avançado de maturação (estágio 5) foram empregados para o preparo do purê. As frutas foram higienizadas e, em seguida, as cascas e as sementes foram removidas e descartadas. A polpa foi obtida por redução mecânica em liquidificador durante 3 minutos. A cada 750 g de polpa, adicionou-se 250 g de água e 0,2 % (m/m) de ácido ascórbico e 0,2 % (m/m) de ácido cítrico. Após a mistura, o purê foi centrifugado por 5 minutos a 12.000 rpm e o sobrenadante removido. Na sequência, o purê foi autoclavado a 115 ºC por 1 minuto, embalado a vácuo e preservado a -20 ºC.

As nanopartículas de quitosana/sódio tripolifosfato (TPP) foram obtidas pelo método de gelatinização ionotrópica, seguindo a metodologia proposta por Koukaras, 2012. A consolidação das nanopartículas ocorre pelo entrecruzamento dos grupos negativos do TPP (OH^-, $P_3O_{10}^{5-}$) com os grupos aminos positivamente carregados da quitosana (NH^{3+}).

As nanofibras de celulose foram extraídas de palha de soja segundo procedimento descrito em Martelli-Tosi et al., 2016. Os filmes foram produzidos em batelada fazendo uso de sistema de processamento da Mathis (MARTELLI et al., 2015). As formulações foram preparadas a partir de 15% em peso de massa de purê com 5% (w/w) de glicerol como plastificante e incorporações de nanopartículas (Np) e de fibras (Nf), em base seca, conforme concentrações dispostas na Tabela 1.

Tabela 1. Formulações para o processamento de filmes de purê de papaia

Filme	Np (%wt)	Nf (%wt)
M15	0	0
M15_Np0.1	0.1	0
M15_Np0.2	0.2	0
M15_Nf0.1	0	0.1
M15_Nf0.2	0	0.2

As propriedades mecânicas foram obtidas por deformação uniaxial em texturômetro TA.XT Plus e os valores de permeação ao vapor de água determinados pelo método do copo segundo a norma ASTM E96-92. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 1 estão representados de forma gráfica os valores de tensão de ruptura e de elongação conforme obtidos nos ensaios de tração realizados nos filmes deste trabalho. A formulação de 15% de polpa sem aditivos mostrou-se extremamente frágil impossibilitando qualquer medida mecânica. A incorporação de nanoreforços (na concentração de 0.1 e 0.2% em base seca) conferiu manuseabilidade com pouca alteração, contudo, na plasticidade (% de elongamento) Para adições de 0.2%, observa-se uma tendência de aumento da plasticidade contudo dentro de alto desvio de resultados. O aumento do teor de nanofibras resulta em uma melhora nas tensões de ruptura, a despeito de uma redução na elongação. Análises microscópicas indicam que tanto as nanopartículas de quitosana como as nanofibras e celulose apresentam boa dispersividade, com fortes interações com a matriz celulósica em função de suas similaridades estruturais (BARROS, 2016).

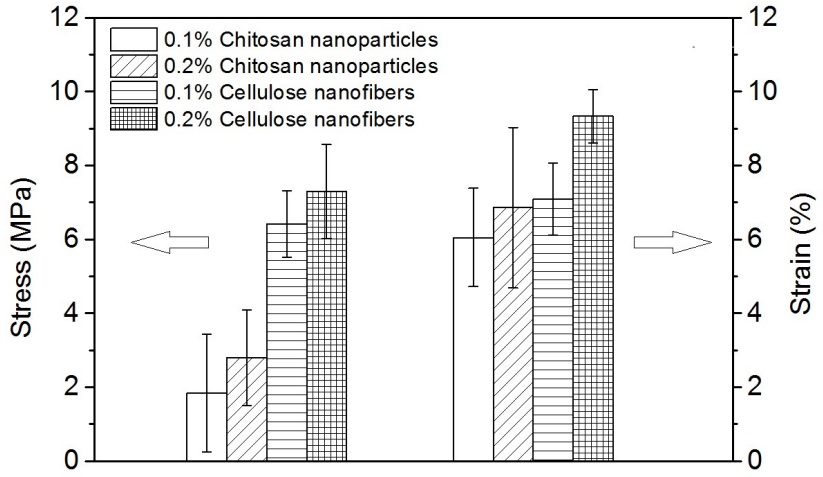


Figura 1. Valores de tensão e deformação para as diferentes concentrações de nanoreforços adicionados ao filme de polpa de mamão.

Com respeito à redução da permeação ao vapor de água, as fibras se mostraram mais eficientes que as nanopartículas para uma mesma quantidade de adição. O melhor desempenho foi obtido para a incorporação de 0.2% de nanofibras resultando em uma redução superior a 60% (de 3,50 para 1,38 gmm/m^{2}hkPa) com respeito às medidas nos filmes sem reforços. Essa redução é atribuída ao aumento da tortuosidade decorrente da distribuição isotrópica das fibras, associado a uma maior razão de aspecto.

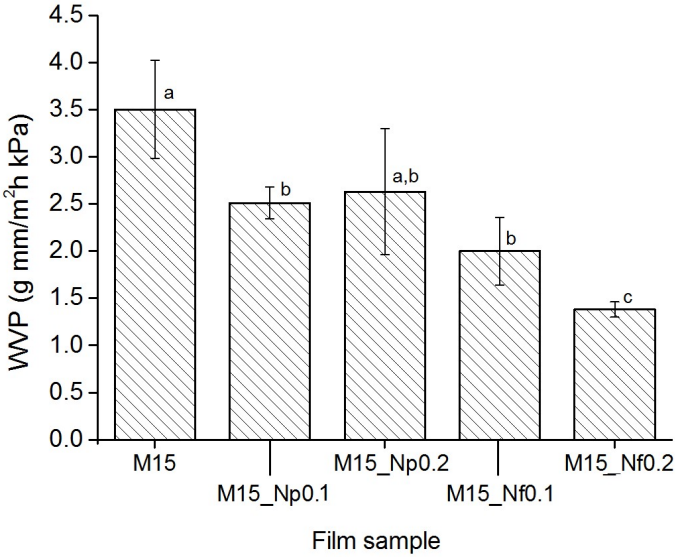


Figura 2. Medidas de permeabilidade ao vapor de água (WVP) em função do tipo e concentração do nanoreforço adicionado.

4 CONCLUSÃO

Com base nas medidas realizadas neste trabalho, podemos concluir que:

- Os dois preenchimentos avaliados (nanoparticulas e fibras) melhoram as propriedades mecânicas, mas as fibras apresentam-se mais eficientes no aumento da resistência à tração, além de conferir certa plasticidade nos filmes a base de polpa de mamão;

- As fibras também se mostraram mais eficiente na redução dos valores de permeação ao vapor de água (WVP), com significativa redução quando comparado aos valores medidos para filmes sem incorporação dos nanoreforços. As nanopartículas de quitosana embora também confiram uma redução nos valores de permeação, estes são inferiores aos medidos para as mesmas concentrações de nanofibras.

AGRADECIMENTOS

Os autores são gratos ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia da UFSCar, à CAPES pela concessão de bolsa e a Rede AgroNano por auxílios recebidos.

REFERÊNCIAS

AZEREDO, H.M.C., MATTOSO, L.H.C., WOOD, D., WILLIAMS, T.G., AVENA-BUSTILLOS, R.J, MCHUGH, T.H. Nanocomposite edible films from mango puree reinforced with cellulosenNanofibers. Journal of Food Science, v.74, n.5, p.N31-N35, 2009.

BARROS, T.T Produção e caracterização de filmes de polpa de mamão com adições de nanoestruturas, processados em modo batelada. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de São Carlos, UFSCar, São Carlos, 2016.

KOUKARAS, E.N. Insight on the formation of chitosan nanoparticles through ionotropic gelation with tripolyphosphate. Molecular Pharmaceutics, v.9, n.10, p. 2856-2862, 2012.

MARTELLI, M.R., BARROS, T.T., MOURA, M.R., MATTOSO, L.H.C., 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, n.1, p.N98-N104, 2013.

MARTELLI, M.R.; BARROS, T.T.; ASSIS, O.B.G. Produção de filmes plásticos a partir de polpa de frutas sobremaduras. Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, v. 17, n. 3, p. 301-308, 2015.

MARTELLI-TOSI, M.; TORRICILLAS, M.S.; MARTINS, M.A.; ASSIS, O.B.G.; TAPIA-BLACIDO, D.R. Using commercial enzymes to produce cellulose nanofibers from soybean straw. Journal of Nanomaterials, v. 2016, Article ID 8106814, p. 1-10, 2016.

SILVEIRA, E. Embalagens verdes. Pesquisa FAPESP, n. 242, edição de abril, pp. 73-75, 2016.

EFEITO DA ADIÇÃO DE PECTINA NAS PROPRIEDADES MECÂNICAS E DE PERMEAÇÃO AO VAPOR DE ÁGUA DE FILMES A BASE DE PURÊ DE MAMÃO

Taís Téo de Barros-Alexandrino[1,2], Milena Martelli-Tosi[3], Odílio B. G. Assis[1]

[1]Embrapa Instrumentação, Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, São Carlos, SP. odilio.assis@embrapa.br
[2]PPG Biotecnologia – UFSCar, São Carlos, SP. tais.teo@hotmail.com
[2]Departamento de Engenharia de Alimentos, FZEA, USP, Pirassununga, SP

Classificação: Processamento de filmes nanoestruturados para embalagens e conservação de alimentos.

Resumo
Purês preparados a partir de mamões na condição sobremadura foram empregados no processamento de filmes fazendo uso de um sistema de laminação laboratorial (Mathis). Os filmes foram preparados na concentração de 15% (wt) (em massa seca) de purê com adições de pectina e glicerol, em pequenas concentrações, como plastificantes. Nanopartículas de quitosana e nanofibras de celulose foram igualmente adicionadas na proporção de 0,2% em massa como materiais de reforço. As propriedades mecânicas e a permeação ao vapor de água foram caracterizadas. Tanto a pectina quanto o glicerol demostraram importante participação nas propriedades, promovendo a elongação e a manuseabilidade, como era esperado. A incorporação de pectina promoveu considerável melhora nas propriedades de barreira com redução significativa da permeação ao vapor de água em valores superiores a 77% quando comparados com o filme controle (sem adições de pectina ou nanoestruturas)
Palavras-chave: purê de mamão; pectina; propriedades mecânicas; permeação ao vapor de água; filmes comestíveis.

THE EFFECT OF PECTIN ADDITION ON MECHANICAL AND WATER VAPOR PERMEATION PROPERTIES OF PAPAYA PUREE BASED FILMS

Abstract
Puree prepared from over-ripe peeled papaya was used as raw material for films processing in a laboratory padder (Mathis). The films were prepared in a concentration of 15% wt (dry weight basis) of puree with pectin and glycerol as plasticizer was added in small concentrations. Chitosan nanoparticles and cellulose nanofibers were also incorporated at 0.2% (w/w) as reinforcement materials. The mechanical properties and the water vapor transmission were characterized. Both pectin and glycerol demonstrated an important role in promoting elongation and film handability as expected. The incorporation of pectin promoted noticeable improvement in the barrier properties by reducing significantly the water vapor permeation rate, by more than 77% for films processed with pectin when compared to the control (puree films with no pectin and nanostructures additions).
Keywords: papaya puree; pectin; mechanical properties; water vapor permeability; edible films.

Publicações relacionadas: BARROS, T.T Produção e caracterização de filmes de polpa de mamão com adições de nanoestruturas, processados em modo batelada. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de São Carlos, UFSCar, São Carlos, 2016.

1 INTRODUÇÃO

Há uma busca, em escala mundial, por novos materiais biodegradáveis que apresentem qualidades mínimas necessárias para substituir os plásticos sintéticos derivados do petróleo. A este fator, soma-se a demanda por alimentos frescos e saudáveis por uma parcela cada vez maior de consumidores, aspectos estes que estimulam as pesquisas por novos materiais que agreguem valor a

resíduos agroindustriais. Uma alternativa neste sentido é o desenvolvimento de filmes comestíveis a base de purê de frutas. Os purês (ou polpa) de frutas representam uma alternativa para o desenvolvimento de filmes biodegradáveis, podendo estes serem obtidos a partir da própria fruta ou provenientes de rejeitos de seu processamento. Por terem em sua composição substâncias celulósicas, os purês apresentam capacidade de agregação e, por estabelecerem interações entre seus compostos, tem propriedades filmogênicas naturais (EMBUSCADO & HUBER, 2009). Além disso, atributos sensoriais provenientes do fruto como aroma, cor e sabor podem ser preservados e, em determinadas aplicações, serem atrativos adicionais para o consumidor.

Os filmes a base de frutas, no entanto, apresentam em seu estado natural baixas propriedades mecânicas e de permeação e, além de da incorporação de nanoestruturas como reforço, adições de pectina têm se mostrado como um agente coadjuvante na melhoria das características mecânicas (MARTELLI et al., 2013).

A pectina consiste em um polissacarídeo altamente filmogênico, antioxidante e promotor de plasticidade. Trata-se de um polímero natural de cadeia linear composto por monômeros de ácido D-galacturônico unidos por meio de ligações do tipo α (1→4). Monômeros como D-galactose e L-arabinose também podem estar presentes na cadeia. Sua estrutura e distribuição de grupos funcionais (Figura 1) favorece a interação com matrizes de base celulósica resultando em um plastificante altamente eficiente.

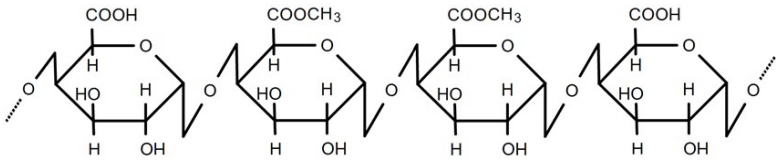


Figura 1. Estrutura química da pectina.

Assim, no presente trabalho filmes foram processados, em modo batelada, a partir de polpas de mamão papaia em adiantado estado de maturação. Diversas concentrações de polpa e com pequena adição de pectina foram avaliadas com o objetivo de estabelecer sua influencia sobre as propriedades mecânicas e de permeação ao vapor de água nesse tipo de filme, visando caracterizações úteis para potenciais aplicações como embalagens descartáveis biodegradáveis.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Mamões do cultivar papaia (*Carica papaya* L.) em avançado de maturação (estágio 5) foram empregados para o preparo do purê. As frutas foram higienizadas e, em seguida, as cascas e as sementes foram removidas e descartadas. A polpa foi obtida por redução mecânica em liquidificador durante 3 minutos. A cada 750 g de polpa, adicionou-se 250 g de água e 0,2 % (m/m) de ácido ascórbico e 0,2 % (m/m) de ácido cítrico. Após a mistura, o purê foi centrifugado por 5 minutos a 12.000 rpm e o sobrenadante removido. Na sequência, o purê foi autoclavado a 115 ºC por 1 minuto, embalado a vácuo e preservado a -20 ºC.

A concentração de purê testada foi de 15% em massa seca (M15), com e sem adições de 0,2% de nanopartículas de quitosana (ch0,2) e 0,2% de nanofibras de celulose (nf0,2). A adição de pectina (CP Kelco, Limeira, SP) foi de 0,5 g por 100 g de solução total (pec0,5) e de glicerol em 5 g por 100 g de massa seca de purê (gli). Os filmes foram processados em sistema Mathis no modo batelada segundo sequencia de operação descrita em Martelli et al., 2015.

As propriedades mecânicas foram obtidas por tração uniaxial em texturômetro TA.XT Plus e os valores de permeação ao vapor de água determinados pelo método do copo segundo a norma ASTM E96-92 modificada. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A concentração de pectina utilizada (0,5% de concentração final) teve como referência o trabalho desenvolvido por Martelli et al., 2013, no qual a adição resultou em melhoras significativas nas propriedades mecânicas de filmes processados a partir de polpas de banana em condições

similares. Os valores comparativos com demais filmes com 15% de massa de purê (M15) estão dispostos na Tabela 7.

Tabela 1. Propriedades mecânicas de filmes com nanoestruturas e pectina. Espessura, deformação máxima (ε_{max}) e tensão máxima (σ_{max}) de filmes com 15% de purê e com adições de nanopartículas de quitosana, nanofibras de celulose e pectina. Gli corresponde a 0,5% de glicerina adicionada como plastificante.

Filmes	Espessura (mm)	Deformação máxima: ε_{max} (%)	Tensão máxima: σ_{max} (MPa)
M15_gli	0,05 ± 0,01 $^{b, c}$	10,07 ± 1,02 ^{b}	1,18 ± 0,31 ^{b}
M15_ch0,2	0,19 ± 0,012 ^{a}	5,59 ± 4,28 $^{b, c}$	3,70 ± 2,28 ^{b}
M15_ch0,2_gli	0,05 ± 0,005 ^{c}	7,38 ± 4,37 ^{a}	5,93 ± 0,76 ^{a}
M15_nf0,2	0,07 ± 0,005 $^{b, c}$	9,33 ± 0,722 ^{b}	7,30 ± 2,27 ^{b}
M15_pec0,5	0,06 ± 0,007 $^{b, c}$	1,47 ± 0,740 ^{c}	14,14 ± 3,15 ^{a}
M15_pec0,5_gli	0,082 ± 0,0005 ^{b}	10,97 ± 2,01 ^{b}	5,15 ± 0,85 ^{b}

Letras diferentes na mesma coluna indicam que há diferença estatisticamente significativa (Tukey, p <0,05).

Pode-se observar que a pectina (M15_pec0,5) tem efeito significativo na redução da deformação máxima dos filmes (elongação) na ordem de 6,3 e 3,8 vezes em relação à amostra com nanofibras (M15_nf0,2) e à com adição de quitosana (M15_ch0,2), respectivamente. Seu maior efeito, contudo, foi em estabilizar a estrutura quanto a tensão de deformação, elevando significativamente os valores de tensão de ruptura, que podem ser visualmente comparados pela distribuição apresentada na Figura 2. Esses dados permitem concluir que o glicerol tem efeito plastificante otimizado quando associado à pectina, promovendo grande elasticidade, ou seja, ε_{max} de 1,47 ± 0,74% para o filme com pectina para 10,97 ± 2,01% para o mesmo filme com adição de 5% de glicerol, correspondendo a um aumento da ordem de 7,5 vezes na deformação até que ocorra a ruptura.

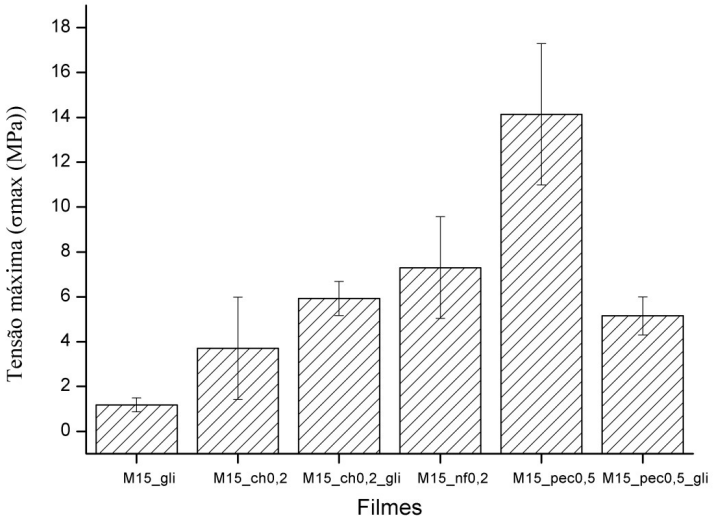


Figura 2. Tensão máxima na ruptura para filmes com quitosana, nanofibras e pectina. Na identificação dos filmes foram utilizados M (polpa de mamão em massa seca); ch (nanopartículas de quitosana); gli (glicerol); pec (pectina) e nf (nanofibras de celulose) seguidos de algarismos referentes às respectivas concentrações avaliadas.

Na Figura 3, compara-se o efeito dos reforçadores avaliados (quitosana, nanofibras de celulose e pectina) nas taxas de permeabilidade ao vapor de água (WVP) dos filmes à base de polpa de mamão, evidenciando a maior eficiência da pectina em reduzi-las. A adição de pectina em 0,5% foi suficiente para uma redução superior a 77% da permeação quando comparado com o filme processando somente com purê (M15), seu efeito também é numericamente significativo quando na presença dos demais nanofillers. Este resultado pode ser entendido em termos de uma elevada afinidade entre a pectina e os componentes constituintes da polpa, o que gera a formação de uma rede de interação tridimensional resultando em a uma alta densificação da matriz (ZSIVANOVITS et al., 2004).

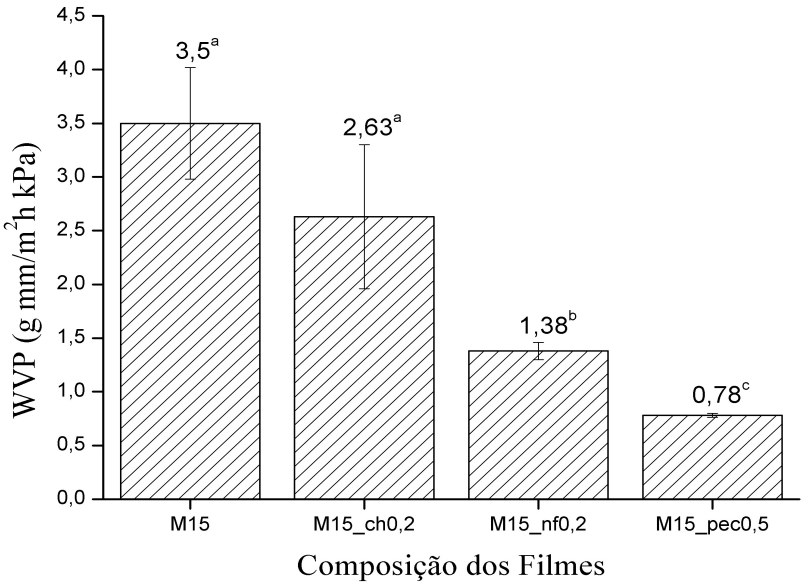


Figura 2. Comparação das taxas de permeabilidade ao vapor de água (WVP**)**. Todos os filmes foram compostos por 15 % de polpa (d.b.). Letras diferentes indicam que há diferença estatisticamente significativa (Tukey, p <0,05). No código de identificação dos filmes foram utilizados M (polpa de mamão em massa seca); ch (nanopartículas de quitosana); pec (pectina) e nf (nanofibras de celulose) seguidos de algarismos referentes às respectivas concentrações avaliadas.

4 CONCLUSÃO

Polpas de mamão na condição sobremadura podem ser satisfatoriamente empregadas como matéria prima básica na produção de filmes biodegradáveis. Adições de pectina na proporção de 0,5% (w/w) promovem significativa melhora, principalmente na elongação, o que significa uma maior plasticidade e manuseabilidade, que são propriedades desejáveis em filmes e atua significativamente na redução da permeação ao vapor de água (também altamente desejável), o que é atribuído a fortes interações com os componentes constituintes da matriz biopolimérica.

AGRADECIMENTOS

Os autores são gratos ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia da UFSCar, à CAPES pela concessão de bolsa e a Rede AgroNano por auxílios recebidos.

REFERÊNCIAS

EMBUSCADO, M.E.; K.C. HUBER, Edible films and coatings for food applications. 2009: Springer., N.York, 403p., 2009

MARTELLI, M.R., BARROS, T.T., MOURA, M.R., MATTOSO, L.H.C., 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, n.1, p. N98-N104, 2013.

MARTELLI, M.R.; BARROS, T.T.; ASSIS, O.B.G. Produção de filmes plásticos a partir de polpa de frutas sobremaduras. Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, v. 17, n. 3, p. 301-308, 2015.

ZSIVANOVITS, G.; MACDOUGALL, A.J; SMITH, A.C.; RING, S.G. Material properties of concentrated pectin networks. Carbohydrate Research, v.339, n.7, p.1317-1322, 2004

NANOCOMPÓSITOS DE FILMES DE ACETATO DE CELULOSE E CLOISITE 20A

Wilson Alves Ribeiro Neto[1]; José Manoel Marconcini [2]

[1] *Bolsista Capes, Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP; neto.wr@gmail.com*
[2] *Pesquisador da Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP*

Classificação: Processamento de filmes nanoestruturados para embalagens e conservação de alimentos.

Resumo
Este trabalho teve como objetivo a produção de nanocompósitos de filmes acetato de celulose (AC) e cloisite 20A (CL20A) com melhores propriedades de barreira em relação a matriz polimérica pura. Os filmes foram elaborados com AC, CL20A e acetona e processados utilizando o método casting em placas de petri. As amostras obtidas foram caracterizadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia por disperção de energia (EDS), difração de raio x (DRX), espectroscopia na região do infra vermelho (FTIR) e ensaios de permeabilidade ao vapor de água (PVA). As análises de MEVe EDS mostraram boa distribuição e disperção da nanocarga, o DRX e FTIR comprovaram a presença da CL20A nos filmes e com a amostra AC5A obteve-se o melhor resultado nos ensaios de PVA.
Palavras-chave: Nanocompósitos; Filmes; Acetato de celulose; Cloisite 20A; Embalagem alimentícia

NANOCOMPOSITES OF CELULOSE ACETATE FILMS AND CLOISITE 20A

Abstract
The objective of this work was the production of nanocomposites of cellulose acetate (AC) and cloisite 20A films (CL20A) with better barrier properties than the pure polymer matrix. The films were made with AC, CL20A and acetone and processed using the casting method in petri dishes. The samples obtained were characterized by scanning electron microscopy (SEM), energy dispersion spectroscopy (EDS), X-ray diffraction (XRD), infrared spectroscopy (FTIR) and water vapor permeability tests. SEM and EDS analyzes showed good distribution and dispersion of the nanofiller, the XRD and FTIR proved the presence of CL20A in the films and with the AC5A sample the best result was obtained in the PVA assays.
Keywords: Nanocomposites; Films; Cellulose acetate; Cloisite 20A; Food packaging

1 INTRODUÇÃO

A principal função da embalagem alimentícia é manter a qualidade e a segurança dos produtos alimentares durante o armazenamento e o transporte e prolongar a vida útil dos alimentos, evitando fatores ou condições desfavoráveis, contaminantes químicos, oxigênio, umidade, luz. A embalagem deve dificultar o ganho ou a perda de umidade, prevenir a contaminação microbiana e atuar como uma barreira contra a permeação do vapor de água, oxigênio, dióxido de carbono e outros compostos voláteis (RHIM et al., 2013). Segundo Azeredo (2009) a maioria dos materiais atualmente utilizados para embalagens de alimentos não são degradáveis, gerando problemas ambientais. Vários biopolímeros são estudados para desenvolver materiais para embalagens de alimentos que sejam biodegradáveis deixando menos detritos no meio ambiente. No entanto, o uso de biopolímeros tem sido limitado por causa de suas propriedades mecânicas e de barreira geralmente não satisfatórias, o que pode ser melhorado pela adição de reforços, formando compósitos. Nanocomposites são uma classe de materiais compósitos que utilizam polímeros na presensa de partículas (nanocargas) em que pelo menos uma dimensão das partículas dispersas está na faixa nanométrica (ALEXANDRE; DUBOIS, 2000). Na preparação de nanocompósitos poliméricos, tem sido muito investigada a argila montmorilonita (MMT). No entanto, para garantir uma boa compatibilidade entre o polímero e a

MMT em compósitos, este silicato é geralmente modificado com sais de amônio quaternário ou fósforo com longas cadeias para produzir argilas modificadas organicamente. Entre os derivados da celulose, o acetato de celulose (AC) é de particular interesse porque é um polímero biodegradável e possui excelente clareza óptica e alta tenacidade, podendo portanto produzir filmes através da técnica "solvent casting" (RODRÍGUEZ et al., 2012). A MMT é o silicato mais utilizado devido à sua ocorrência natural e algumas propriedades excelentes, como alta capacidade de troca de cátions, elevada área superficial e relação de aspecto. A amostra de nanocompósito que mostrou melhores propriedades de barreira foi a AC5A, com 0,831 g-mm/kPa-h-m^2 de PVA, enquanto todas outras amostras com valores próximo ao do filme puro de AC.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os materiais utilizados nesse estudo foram o acetato de celulose fornecido pela Rhodya/Solvay com 40% em massa de celulose e peso molecular de 30,0 g/Mol, argila cloisite 20A e acetona P.A. (Synth). Os Nanocompositos foram preparados por meio da técnica de "casting" usando acetona como solvente. Todos os filmes de nanocompositos possuem concentração de AC de 0,05 g/mL, e 1, 3, 5 e 7% de CL20A em relação a % em peso AC. Para as soluções AC/CL20A, uma quantidade predeterminada de argila foi dispersa em 25 mL de acetona a qual manteve-se em contacto por 24h. Posteriormente as dispersões foram misturadas sob agitação constante por mais 24h. Paralelamente, foi preparada uma solução contendo 5,0 g de AC em 75 mL de acetona a qual permaneceu por 24h sob agitação. As suspensões de CL20A/acetona foram sonicadas durante 40 min e depois foram adicionadas a soluções AC/acetona. As soluções resultantes foram agitadas vigorosamente à temperatura ambiente durante 24h e foram vertidas em uma placa de vidro Petri para permitir que o solvente evaporasse gradualmente sob condições ambiente. Depois de 24h os filmes foram retirados das placas utilizando água destilada. As amostras foram chamadas de AC, AC1A, AC3A, AC5A e AC7A para os filmes de AC puro e com adições de 1, 3, 5 e 7% de CL20A respectivamente.

A microscopia eletrônica de varredura e de energia dispersiva (EDS) foram feitas em equipamento JEOL/JSM-6510 com voltagem de 15KV.

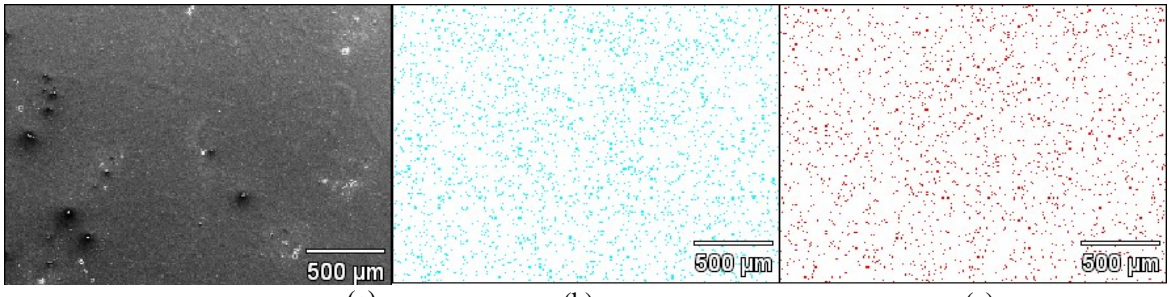
As análises de difração de raios x (DRX) forma realizadas em um equipamento Shimadzu XRD-6000 com radiação Cu Kα (λ= 0.1540 nm) a 30KV e 30mA. A varredura utilizada foi de 1°/min entre 3°-15°.

Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR) foi realizada em espectrômetro da Bruker, modelo Vertex-70 em modo ATR a 32 varreduras/s com resolução de 4,0cm^{-1} e número de onda entre 400-4000 cm^{-1}.

A permeabilidade ao vapor de água (PVA) foi medida utilizando um método modificado baseado na ASTM E96-80 (LOREVICE et al., 2016).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A figura 1 mostra a micrografia da amostra AC5A e a disperção e distribuição (EDS) da CL20A no filme.



(a) (b) (c)

Figura 1. MEV do filme: (a) AC5A; mapeamento por EDS das partículas de Si (b) e Al (c).

Observa-se que as partículas de sílica (Si) e alumínio (Al) presentes na CL20A estão bem dispersas e distribuidas por toda a área do filme, mostrando que o metodologia utilizada para o preparo das amostras foi adequada. Para um ganho de propriedades, a disperção e distrição da nanocarga no nanocompósito é de extrema importância.

Segundo Rhim et al. (2013), nenhum nanocompósito é formado se não houver intercalação do polímero nas galerias da argila. A figura 2 mostra os picos de difração das amostras de nanocompósitos assim como do filme puro de AC e da CL20A. O principal pico (d_{001}) da CL20A aparece em 2θ = 4,04°, o que corresponde a um espaçamento basal de 2,21 nm. Nas amostras com adições de 3, 5 e 7% de CL20A esse pico esta deslocado para ângulos de menor valor, 2θ= 3,74° correspondendo a um d_{001}= 2,41° o que mostra um pequeno aumento do espaçamento basal das galerias mostrando que houve a intercalação do AC com a argila CL20A.

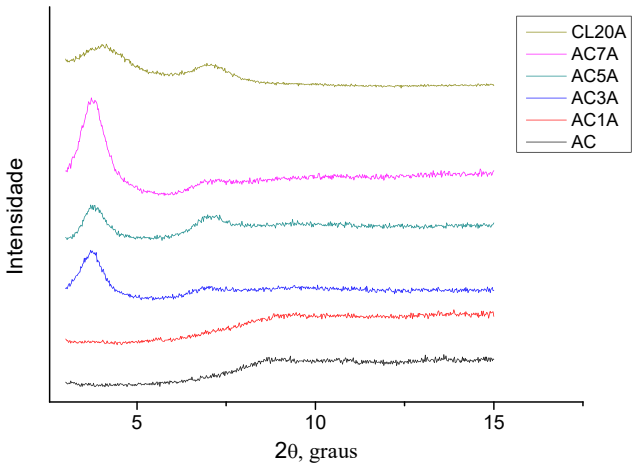


Figura 2. DRX dos nanocompósitos, filme puro de AC e CL20A

Com o espectro de FTIR apresentado na figura 3 pode se notar, dentre as bandas que não se sobrepõe ou estão na mesma região do espectro, duas bandas em 460 cm^{-1} e 520 cm^{-1} que são características da ligação Si-O-Al. Segundo Zhou et al. (2012), são vibrações de deformação e estiramento do Si-O-Al. Confirmando a presença da CL20A nos filmes de AC.

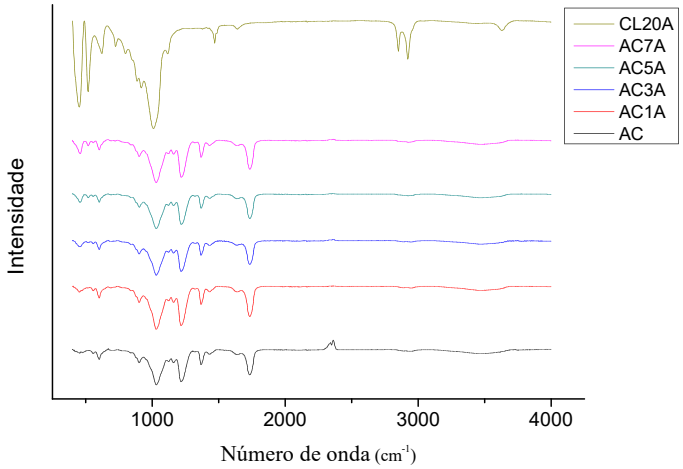


Figura 3. FTIR dos nanocompósitos, filme puro de AC e CL20A

A tabela 1 mostra os resultados dos ensaios de PVA do filmes de AC puro e nanocompósitos.

A adição de nanocargas a uma matriz polimérica dificultam a via de migração de moléculas de água através do filme levando assim a uma diminuição nos valores de PVA.

Tabela 1: Permeabilidade ao Vapor de água

Amostras	PVA (g-mm/kPa-h-m^2)	RH(%)
AC	1,726 ± 0.283^a	72,03 ± 3.27^a
AC1A	1,400 ± 0.285^a	68,29 ± 3.33^{ab}
AC3A	1,694 ± 0.621^a	65,10 ± 2.54a^b
AC5A	0,831 ± 0.040^a	68,45 ± 1.50^b
AC7A	1,479 ± 0.1401^b	63,13 ±0.416^b

^{a,b} indicam significância do desvio padrão nas medidas. Mesmas letras subscritas indicam valores que não são diferentes (p>0,05)

Dentre as amostras estudas a AC5A foi a com menor valor na PVA indicando que a adições acima desse valor não se tem uma disperção e distribuição adequada da CL20A enquanto valores abaixo de 5% não são tão efetivos para tal propósito.

4 CONCLUSÃO

Com os resultados apresentados pode-se concluir que o método de preparação dos nanocompósitos foi adequado, sendo comprovado pelo EDS realizado onde observou-se as partículas de Si e Al com boa disperção e distribuição. As análises de DRX mostraram que houve a intercalação do polímero na CL20A devido ao aumento do espaçamento basal observado. Com exceção da amostra AC1A o FTIR mostrou a banda caracteristica em 460 e 520 cm^{-1} o que confirma a presença da CL20A nos filmes. Nos ensaios de PVA, adições acima de 5% de argila não mostraram diferença significativa comparada ao filme de AC puro, assim como adições de 1 e 3% não são suficientes para a melhora nas propriedades de barreira dos filmes.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Embrapa e a CAPES pelo auxílio fornecido.

REFERÊNCIAS

ALEXANDRE, M.; Dubois, P. Polymer-layered silicate nanocomposites: preparation, properties and uses of a new class of materials. Materials Science and Engineering, v. 28, p. 1-63, 2000.

AZEREDO, H. M. C. Nanocomposites for food packaging applications. Food Research International, v. 42, p. 1240-1253, 2009.

LOREVICE, M. V. et al. Chitosan nanoparticles on the improvement of thermal, barrier, and mechanical properties of high- and low-methyl pectin films. Food Hydrocolloids, v. 52, p. 732-740, 2016.

RHIM, J. W.; PARK, H. M.; HA, C. S. Bio-nanocomposites for food packaging applications. Progress in Polymer Science, v. 38, p. 1629-1652, 2013.

RODRÍGUEZ, F. J. et al. Modification of cellulose acetate films using nanofillers based on organoclays. Journal of Food Engineering, v. 110, p. 262-268, 2012.

ZHOU, C. H. et al. Paper-like composites of cellulose acetate–organo-montmorillonite for removal of hazardous anionic dye in water. Chemical Engineering Journal, v. 209, p. 223-234, 2012.

ESTUDO MORFOLÓGICO DA SUPERFÍCIE DE FILMES DE ZEÍNA ELABORADOS COM DIFERENTES SOLVENTES

L. G. C. de Araújo[1], E. S. Medeiros[2], J. E. Oliveira[3], O. B. G. Assis[4], C. V. B. Araújo[5]

1 (UFRPE), CODAI, São Lourenço da Mata – PE.
2 (UFPB), Centro de Tecnologia (CT), (DEMat), (PPCEM), João Pessoa – PB.
3 (UFLA), (DEG), Engenharia de Materias, Lavras - MG.
4 Embrapa Instrumentação Agropecuária, (LNNA), São Carlos-SP.
5 Engenheiro Ambiental, João Pessoa – PB.
e-mail de contato: luanacodai@gmail.com

Classificação: Processamento de filmes nanoestruturados para embalagens e conservação de alimentos.

Resumo
Propriedades de superfície dos filmes de zeína foram avaliadas qualitativamente e quantitativamente através da utilização de microscopia de força atômica e um software dedicado para calcular a rugosidade da superfície. Verificou-se que a utilização de diferentes solventes (etanol, metanol, isopropanol e hidróxido de sódio) tem influência sobre as estruturas de superfície dos filmes. Os filmes que foram produzidos com etanol, metanol e álcool isopropílico apresentaram valores mais altos de rugosidade.
Palavras-chave: Zeína; Solventes; Morfologia; Rugosidade; Microscopia de força atômica.

MORPHOLOGICAL SURFACE STUDY OF ZEÍNA FILMS PREPARED WITH DIFFERENT SOLVENTS

Abstract
Surface properties of zein films were assessed qualitatively and quantitatively through the use of atomic force microscopy and dedicated software to calculate surface roughness. It has been found that the use of different solvents (ethanol, methanol, isopropanol and sodium hydroxide) has influence on the surface structures of the films. The films that were produced with ethanol, methanol and isopropyl alcohol presented higher values of surface roughness.
Keywords: Zein; Solvents; Morphology; Roughness; Atomic force microscopy.

Publicações relacionadas:
Efeito de diferentes solventes sobre as propriedades cristalográficas dos filmes de zeína.
Effect of solvent on the determination of the mechanical properties of the films of zein by nanoindentation.

1 INTRODUÇÃO

Zeina é uma proteína encontrada no endosperma do milho e é o subproduto principal da indústria de bioetanol (SHI et al., 2009). Esta proteína natural está contida na farinha de glúten e é produzida como um subproduto do processo de moagem úmida. Zeínas podem ser transformadas em revestimentos transparente, flexível e resistente à água, dissolvendo-a em um solvente hidratado orgânico, tal como etanol ou acetona, e depois submetida à secagem. No entanto, os revestimentos de zeína preparado a partir de etanol aquoso tendem a desintegrar quando entram em contato com a água (YAMADA et al., 1995). Além disso, as zeínas formam filmes com elevada resistência à tração e baixa permeabilidade a vapores de água em comparação com outras proteínas empregadas na produção de filmes. Ela também tem uma propriedade desejável de isolamento térmico (LAI; PADUA, 1997). Por fim, as zeínas são insolúveis em água. A insolubilidade em água é devido ao baixo teor de aminoácidos polares e um elevado teor de aminoácidos não polares (CHO et al., 2002).

A técnica de Microscopia de Força Atômica (AFM) é uma ferramenta poderosa para o estudo de superfícies e tem sido utilizado para fornecer informação qualitativa e quantitativa sobre biopolímeros em escala nanométrica que muitas vezes é inacessível por qualquer outra técnica experimental (ELOFSSON et al., 1997).

Avaliações feitas por AFM podem ser úteis para identificar diferenças estruturais em filmes preparados por diferentes métodos. Medições em escala manométrica, efetuadas por AFM, permitem a quantificação da influência de diferentes fatores como, elasticidade, dureza e a permeabilidade das superfícies (HERRMANN et al., 2004).

Neste trabalho, a morfologia da superfície dos filmes preparados a partir de zeína utilizando misturas de solventes como Etanol (EtOH), Álcool isopropílico (IPA), Metanol (MeOH) e Hidróxido de sódio (NaOH) foram estudados através da microscopia de força atômica (AFM).

2 MATERIAL E MÉTODOS

Zeínas foram obtidas da Aldrich (CAS Number Z3625). O Álcool etílico absoluto P.A. e o Álcool metílico P.A. foram obtidos da FMAIA. Álcool isopropílico P.A. (IPA) foi adquirido da CINÉTICA. Hidróxido de sódio (NaOH) foi adquirido da VETEC. Todas as soluções foram preparadas com água destilada.

A zeína foi dissolvida numa mistura de solvente/água 80:20 (v/v) por agitação mecânica a temperatura ambiente. Foram preparadas quatro soluções de zeína para estudar os efeitos dos diferentes solventes nas propriedades de superfície dos filmes. Todas as soluções foram agitadas por 30 min até total solubilização da zeína. Os filmes foram obtidos segundo a técnica de casting que consiste na preparação da solução filmogênica e aplicação da mesma em um suporte. As quatro soluções foram depositadas em placas de teflon e deixadas à temperatura ambiente por 24h para evaporação do solvente.

A Microscopia de Força Atômica (AFM) foi utilizada para fornecer imagens topográficas e de rugosidade de amostras digitalizadas. A morfologia da superfície dos filmes foi analisada usando o modo de aquisição dinâmico SPM (Scanning Probe Microscope, Série SPM-9600, SHIMADZU), com tamanho de digitalização de 30μm × 30μm. As imagens foram analisadas usando o software Gwyddion-2.29-1.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A morfologia (parâmetro qualitativo) e a rugosidade média (parâmetro quantitativo) dos filmes de zeína foram analisadas por AFM. A Figura 1 mostra a morfologia dos filmes de zeína em diferentes tipos de solventes.

A imagem topográfica do filme de zeína mostrou a formação de uma superficial irregular, revelando características irregulares (imagem ilustrada, na Figura 1a). Para o filme produzido com IPA, a superfície apresentou uma matriz contínua homogênea. Foram observados poros arredondados em toda superfície (Figura1b). O filme produzido com MeOH mostrou uma superfície irregular com presença de alguns poros (Figura 1c). Visualmente o filme zeínas/MetOH é muito frágil e fragmentado. Já o filme produzido com NaOH mostrou uma matriz contínua com presença de irregularidades (Figura 1d).

As diferenças morfológicas apresentadas nos diferentes filmes podem ser explicadas segundo Selling et al., (2007) que estudou o efeito de diferentes solventes nas estruturas secundárias e terciárias da zeína, mostrando que a adição de álcool isopropílico (IPA), metanol (MeOH) e hidróxido de sódio (NaOH) alteravam sua estrutura.

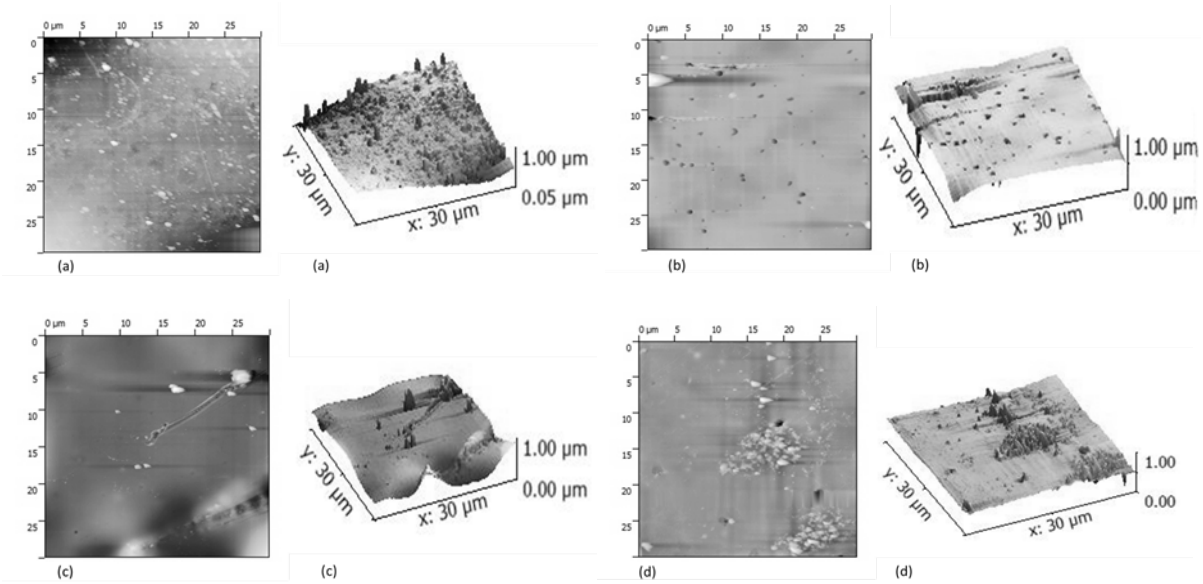


Figura 1. Imagens de AFM dos diferentes filmes de zeína em 30µm x 30µm de tamanho de digitalização: a) EtOH, b) IPA, c) MeOH e d) EtOH/NaOH.

Os valores médios de rugosidade foram utilizados para analisar quantitativamente as estruturas que ocorreram na superfície dos filmes de zeína. Ele é a média aritmética dos valores absolutos dos desvios de superfície, a altura medida a partir de um valor médio sobre a linha. O valor médio é normalmente pré-determinada pelo software de AFM. A Tabela 1 resume o parâmetro de rugosidade média Ra dos diferentes filmes de zeína.

Tabela 4. Comparação dos valores Ra obtidos a partir das imagens de AFM de diferentes filmes

Filme	Ra (nm)	
Zeína + EtOH	20,83 ± 11,2	a
Zeína + MeOH	36,95 ± 6,0	ba
Zeína + IPA	19,74 ± 9,7	cba
Zeína + EtOH/NaOH	7,49 ± 3,0	aca

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não são estatisticamente diferentes entre si pelo teste t, a um nível de significância de 5%.

Os resultados da análise de variância para o teste de rugosidade dos filmes, incluídos na Tabela 1, demonstram que houve diferenças significativas, entre os diferentes solventes utilizados.

Verificou-se que a rugosidade média das superfícies dos filmes se apresentaram relativamente alta, com exceção do filme produzido com NaOH que apresentou rugosidade baixa.

As propriedades de superfície dos filmes como a rugosidade e morfologia superficial irão afetar a adesão destes em superfície de interesse como frutas e hortaliças.

4 CONCLUSÃO

Os filmes de zeína produzidos com diferentes solventes modificaram as propriedades de superfície dos filmes. A análise de AFM mostrou que os filmes de zeína contendo EtOH, MeOH e NaOH tiveram superfícies mais irregulares e menos porosas do que o filme contendo IPA.

AGRADECIMENTOS

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

REFERÊNCIAS

SHI, K.; KOKINI, J. L.; HUANG, Q. Engineering Zein Films with Controlled Surface Morphology and Hydrophilicity. J. Agric. Food Chem., v. 57, n. 6, p. 2186–2192, 2009.
YAMADA, K.; H. TAKAHASHI; NOGUCHI, A. Improved Water Resistance in Edible Zein Films and Composites for Biodegradable Food Packaging, Int. J. Food Sci. Technol. v. 30 p. 599–608, 1995.
LAI, H. M.; PADUA, G. W. Properties and Microstructure of Plasticized Zein Films Cereal Chem. v. 74, p. 771, 1997.
CHO, S.Y.; PARK, J.W.; RHEE, C. Properties of laminated films from whey powder and sodium caseinate mixtures and zein layers. Lebensm. Wiss. Technol. v. 35, p. 135-139, 2002.
ELOFSSON, C.; DEJMEK, P.; PAULSSON, M.; BURLING, H. Atomic force microscopy studies on whey proteins. Int. Dairy J. v. 7, p. 813-819, 1997.
HERRMANN, P. S. P.; YOSHIDA, C.M.P.; ANTUNES, A.T.; MARCONDES, J.A. Surface evaluation of whey protein films by atomic force microscopy and water vapour permeability analysis Packag. Technol. Sci. v.17, p. 267-273, 2004.
SELLING, G. W.; HAMAKER, S. A. H.; SESSA, D. J. Effect of Solvent and Temperature on Secondary and Tertiary Structureof Zein by Circular Dichroism. v. 84, n. 3, 2007.

AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIMICROBIANO DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDOS METÁLICOS

(Fernanda Elisa Arab[1,2]; Elaine Cristina Paris[2]; Clóvis Wesley Oliveira de Souza[1]; Marcos David Ferreira[1,2])

[1]PPG Biotecnologia – UFSCar, São Carlos, SP. fee.arab@gmail.com
[2]Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP.

Classificação: processamento de filmes nanoestruturados para embalagens de alimentos

Resumo
Muitas doenças são transmitidas através de alimentos contaminados por microrganismos patogênicos, podendo repercutir grande impacto, como exemplo, os surtos alimentares que afetam a população. Os avanços atuais no campo da nanobiotecnologia, particularmente a capacidade de desenvolver nanomateriais de óxido metálico de tamanho e forma específicos, provavelmente levarão ao desenvolvimento de novos agentes antibacterianos. As atividades funcionais das nanopartículas são influenciadas em grande parte pelo tamanho das partículas. Desta forma, o objetivo principal desse trabalho foi sintetizar, pelo método de precipitação, nanopartículas de óxido de zinco e óxido de cobre e testar a atividade antimicrobiana dessas nanopartículas inorgânicas contra bactérias presentes em alimentos, como a *Staphylococcus aureus* e a *Salmonella*. Para ambas as nanopartículas foram observadas as formações dos halos de inibição para a bactéria *S. aureus* (Gram – positiva), porém a inibição não ocorreu para a *Salmonella* (Gram – negativa). Tal fato pode estar relacionado a diferença da parede celular dos dois grupos de bactérias.
Palavras-chave: Alimentos; Bactérias; Embalagens; Inibição; Nanomateriais.

Evaluation of the antimicrobial effect of metal oxides

Abstract
Many diseases are transmitted through contaminated food with pathogenic microorganisms, which can have a great impact, such as, food outbreaks affecting the population. Current advances in the field of nanobiotechnology, particularly the ability to develop metal oxide nanomaterials of specific size and shape, will likely lead to the development of new antibacterial agents. The functional activities of the nanoparticles are influenced to a great extent by the size of the particles. Therefore, the main objective of the work was to synthesize by the precipitation method nanoparticles of zinc oxide and copper oxide and to test the antimicrobial activity of these inorganic nanoparticles against bacteria present in foods, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella*. For both nanoparticles, the formation of the inhibition halo was observed for the bacteria *S. aureus* (Gram - positive), but inhibition didn´t happen for *Salmonella* (Gram - negative). This fact can be related to the difference in the cell wall of the two groups of bacteria.
Keywords: Foods; Bacteria; Packaging; Inhibition; Nanomaterials

1 INTRODUÇÃO

Anteriormente, para a conservação de alimentos observava-se mais a aparência, tamanho e integridade das embalagens, todavia, atualmente ocorre um maior enfoque em promover a qualidade e a segurança alimentar. Para isso, o uso de antimicrobianos em embalagens de alimentos vem ganhando destaque devido ao grande interesse pelas indústrias (CHA; CHINNAN, 2004). O uso de antimicrobianos em embalagens são eficazes para inibir ou retardar o crescimento de microrganismos, assim como estender o prazo de validade dos alimentos (ASSIS, 2012; LACOSTE et al., 2005). A utilização da nanotecnologia como alternativa na melhoria da vida útil dos alimentos é muito promissora, como no caso da fabricação de embalagens ativas (PUTI, et al., 2015).

Durante o transporte e armazenamento os alimentos são expostos a condições que podem alterar sua qualidade. A causa mais comum de sua deterioração é o crescimento de microrganismos na

superfície dos alimentos (ORTS et al., 2005). O crescimento microbiano pode ser controlado por meio da incorporação de agentes antimicrobianos nas embalagens, como exemplo, a incorporação de nanopartículas em filmes.

O efeito bactericida das nanopartículas metálicas tem sido relacionada ao seu pequeno tamanho e elevada relação superfície/volume, permitindo interagir com as membranas microbianas. Estudos com nanopartículas de óxido de cobre mostraram-se favoráveis como agentes bactericidas (RUPARELIA, et al., 2008). Vale ressaltar, no entanto no risco de exposição dos consumidores à migração dessas nanopartículas para os alimentos (BECARO, et al., 2015). Primeiros estudos com o óxido de zinco (ZnO) como agente antimicrobiano começou na década de 1950, sendo atualmente um dos cinco compostos de zinco listados como reconhecidamente seguro pela *U.S. Food and Drug Administration*. O óxido de zinco é um antimicrobiano promissor devido à sua atividade contra uma vasta gama de microrganismos (ESPITIA, et al., 2012).

Neste contexto, o objetivo do presente trabalho foi o de sintetizar essas nanopartículas (ZnO e CuO) e avaliar o efeito antimicrobiano de cada uma delas contra bactérias Gram-positiva e Gram-negativa, com o propósito de investir em processos que retardam/inibem o crescimento de microrganismos, como o desenvolvimento de embalagens antimicrobianas. Dentre as principais contribuições desse desenvolvimento estão as estratégias nanotecnológicas para melhorar a conservação de frutas e hortaliças, aumentando sua vida útil; assegurar a qualidade do produto; minimizar perdas de alimentos; melhorar a aparência; aumentar a comercialização devido um consumidor mais satisfeito, proporcionando ganhos para a cadeia produtiva e de consumo.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Ambas as sínteses foram realizadas pelo método de precipitação com base em alguns trabalhos na literatura (BURDA, et al., 2005; KOUTSOPOULOS, 2002; ZHU, et al., 2004).

Para a síntese de ZnO foram utilizados o nitrato de zinco como precursor e o hidróxido de potássio como agente redutor, sendo uma quantidade suficiente para produzir 1g de ZnO. Para isso, foi preparado em um béquer de 250ml, uma solução de 50ml de água Mili-Q e 3,68g de Zn $(NO_3)_2$, mantidos sob agitação. Em seguida, 10ml de solução de KOH 6M foi vertida aos poucos no béquer até atingir o pH 14, e assim foi mantido sob agitação por 1h. Após transcorrido o tempo, transferiu-se a solução para tubos Falcon de 50ml. Para que os tubos tivessem o mesmo peso acrescentou-se água Mili-Q. Os tubos foram centrifugados a 7 °C, a 11000 rpm por 15 minutos. Após centrifugar, descartou-se o sobrenadante e o precipitado branco ficou no fundo dos tubos. Novamente acrescentou-se água Mili-Q até aproximadamente 40ml e realizou-se o mesmo procedimento de pesagem dos tubos e centrifugou-se. Esse processo foi repetido até a solução atingir o pH 7. Quando isso ocorre, centrifuga-se mais uma vez nas mesmas condições. No caso foi realizado 3 centrifugações até atingir o pH desejado. Após a última centrifugação, o sobrenadante foi descartado e o sólido branco foi disperso com etanol. A suspensão de etanol e ZnO foi transferida para uma placa de petri coberta com papel alumínio com alguns furos e colocada na estufa a 60°C *overnight*. No dia seguinte, a placa de petri foi retirada da estufa e o pó formado (coloração branca) foi macerado para desaglomerar. A amostra foi guardada em um tubo Eppendorf.

O procedimento para a síntese de CuO foi praticamente o mesmo, apenas alterando os agentes, que foram o hidróxido de sódio e o nitrato de cobre. Os parâmetros utilizados foram iguais ao da síntese de ZnO até a etapa de retirar o pó da estufa. Após isso, a amostra foi colocada na mufla a 300°C por 2 horas a uma velocidade de 10°C/min. Quando o processo terminou, a amostra, agora com coloração escura, foi retirada da mufla e macerada no almofariz e então guardada em um tubo Eppendorf.

Para o teste de difusão, este trabalho teve como base a metodologia de Bauer et al. (1996). O teste foi realizado com bactérias Gram-positiva, a *Staphylococcus aureus* e Gram-negativa, a *Salmonella*. Inicialmente, foram preparados os meios de cultura: 1) Müller-Hinton Agar para as placas de petri; 2) Müller-Hinton Broth depositado em tubos Falcon para o posterior crescimento das bactérias. Ambos os meios foram autoclavados. Posteriormente, foram inoculadas as bactérias no meio Müller-Hinton Broth que foram preparados em tubos Falcon e incubados *overnight* na estufa a 35 ºC. No dia seguinte, com base na escala McFarland 0,5, a concentração de células bacterianas de cada tubo foi ajustada por diluições sequenciais até uma concentração final de 10^{-6} UFC/mL. Na sequência,

100 µL das amostras diluídas foram colocadas na placa de petri e espalhadas com o auxílio da alça de drigalski, e depois as nanopartículas foram depositadas nas placas. Todas as placas foram feitas em triplicata. As placas controle foram realizadas para ambas as bactérias. As placas foram deixadas na estufa em temperatura de 35 ± 0,5ºC, por um período de aproximadamente 24 horas. Após esse período os resultados da formação dos halos foram visualizados. Os halos de inibição foram medidos em relação ao seu diâmetro com o auxílio de um paquímetro.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados para a formação do halo de inibição foram positivos para a bactéria *S.aureus* para as duas nanopartículas testadas. Porém, não houve visualização do halo para a *Salmonella* em nenhum dos casos, como podemos observar na Figura 1. Os diâmetros medidos podem ser visualizados na Tabela 1.

ZnO CuO

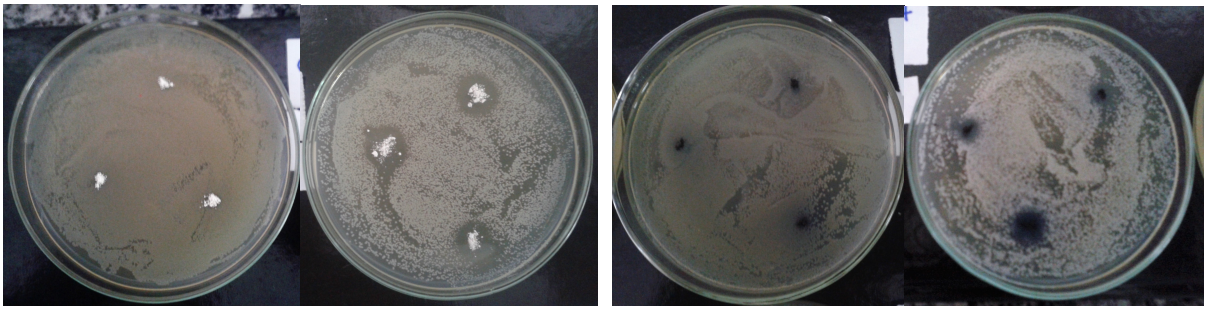


Figura 1. Resultado do teste de difusão. Ambas as imagens à esquerda se referem a *Salmonella* e à direita se referem a *S.aureus*

Tabela 1. Valores dos diâmetros dos halos de inibição referentes a bactéria *S.aureus*

	S. aureus	
Nanopartículas	ZnO	CuO
Diâmetro	14,2mm+/-0,05mm	6,2mm+/-0,05mm
	14,5mm+/-0,05mm	8,5mm+/-0,05mm
	13,3mm+/-0,05mm	11,6mm+/-0,05mm

A atividade bactericida de tais nanopartículas depende, em parte, do tamanho, da estabilidade e da concentração no meio de crescimento, bem como da CFU de bactérias usadas nos experimentos. O crescimento da população bacteriana pode ser inibido por interações específicas de nanopartículas (RAGHUPATI; KOODALI; MANNA, 2011). Segundo estudos os mecanismos de ação inibitória das nanopartículas podem estar relacionados com a perda da capacidade de replicação do DNA da bactéria e a inativação das proteínas celulares. Acredita-se também na ação das nanopartículas na atividade da desidrogenase da cadeia respiratória das bactérias (GOMAA, 2016). As espécies reativas de oxigênio (ROS) são produtos naturais do metabolismo de organismos respiradores. Enquanto níveis pequenos podem ser controlados pelas defesas antioxidantes das células, um excesso da produção de ROS pode conduzir a um estresse oxidativo. A adição de radicais livres pode atacar lipídios da membrana e ocasionar uma quebra desta, prejudicando a função mitocondrial ou ocasionando danos ao DNA (GOMAA, 2016; NEL et al., 2006). Em estudos de Russell (2003), as bactérias Gram-negativas mostraram-se menos sensíveis às espécies reativas de oxigênio em relação as Gram-positivas. Um dos principais motivos apontado para a maior resistência seria a diferença estrutural na membrana bacteriana de ambos os grupos.

4 CONCLUSÃO

O ensaio realizado para avaliação do potencial antimicrobiano das nanopartículas foram satisfatórios, pois podemos confirmar o efeito inibitório das amostras sintetizadas contra uma das bactérias. Porém, os resultados foram baseados em uma análise qualitativa (ensaio prévio), ou seja, se houve ou não a inibição, apesar das medidas dos diâmetros. Observamos que de forma geral a bactéria *S. aureus* foi inibida por todas as nanopartículas, mas a *Salmonella* não foi inibida por nenhuma. Mas

é necessário a realização de uma avaliação quantitativa, como a curva de crescimento bacteriano para monitorar o tempo e a concentração inibitória das nanopartículas em relação a curva de crescimento padrão. O resultado foi positivo para a bactéria Gram – positiva, em decorrência, provavelmente, das diferenças na composição das paredes celulares entre os grupos.

AGRADECIMENTOS

À Embrapa Instrumentação por toda estrutura proporcionada para a realização do meu projeto e à CAPES pela bolsa de estudo.

REFERÊNCIAS

ASSIS, L. Revisão: Características de nanopartículas e potenciais aplicações em alimentos. Brazilian Journal of Food Technology. Campinas, v. 15, n. 2, p. 99-109, 2012.
BAUER A.W. et al. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am J Clin Pathol. 1966 Apr;45(4):493-6.
BECARO, A. A. et al. Postharvest quality of fresh-cut carrots packaged in plastic films containing silver nanoparticles. Food Bioprocess Technol. Volume 9, Issue 4, pp 637–649, 2015.
BURDA, C. et al. Chemistry and properties of nanocrystals of different shapes. Chem. Rev., 2005. 105(4): p. 1025-1102.
CHA, D. S.; CHINNAN, M. S. Biopolymer-based antimicrobial packaging: a review. Critical Review Food Science and Nutrition. United Kingdom, v 44, n 4, p 223-37, 2004.
ESPITIA, P. J. P. et al. A. Zinc oxide nanoparticles: synthesis, antimicrobial activity and food packaging applications. Food Bioprocess Technol. 5:1447-1464, 2012.
GOMAA, E. Z. Silver nanoparticles as an antimicrobial agent: A case study on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* as models for Gram-positive and Gram-negative bacteria. J. Gen. Appl. Microbiol. Mar, 17;63(1):36-43. 2017.
KOUTSOPOULOS, S. Synthesis and characterization of hydroxyapatite crystals: A review study on the analytical methods. J. Biomed. Mater. Res., 2002. 62(4): p. 600-612.
LACOSTE, A. et al. Advancing controlled release packaging through smart blending. Packaging Technology and Science, Inglaterra, v. 18, n. 2, p. 77-87, 2005.
NEL, A. et al. Toxic potential of materials at the nanolevel. Science, 311, 622–627 (2006).
ORTS, W. J. et al. Application of cellulose microfibrils in polymer nanocomposites. Journal of Polymers and the Environment, 13(4): 301,2005.
PUTI, F. C. et al. Polyethylene films containing silver nanoparticles for applications in food packaging: characterization of physico-chemical and anti-microbial properties. Journal of Nanoscience and Nanotechnology. V 15, 2148-2156, 2015.
RAGHUPATI K.R.; KOODALI R.T.; MANNA A.C. Size-dependent bacterial growth inhibition and mechanism of antibacterial activity of zinc oxide nanoparticles. Langmuir. 2011; 27:4020–4028.
RUPARELIA, J. P. et al. Strain specificity in antimicrobial activity of silver and copper nanoparticles. Acta Biomater. 4(3):707-16, 2008.
RUSSELL, A. D. (2003). Similarities and differences in the responses of microorganisms to biocides. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 52(5), 750–763.
ZHU, J. et al. “Highly dispersed CuO nanoparticles prepared by a novel quick-precipitation method”. Mater. Lett., 58 (26): 3324, 2004.

PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE BIONANOCOMPÓSITOS À BASE DE GELATINA E NANOCRISTAIS DE CELULOSE POR CASTING CONTÍNUO

(Liliane Samara Ferreira Leite1, Marcos Antônio Piza2, Francys Kley Vieira Moreira3, Luiz Henrique Capparelli Mattoso4)

*(*1PPG/CEM - *Universidade Federal de São Carlos, 2DQ-Universidade Federal Tecnológica do Paraná, 3DEMa-Universidade Federal de São Carlos, 4Embrapa Instrumentação)*
lilianesamara@gmail.com

Classificação: processamento de filmes nanoestruturados para embalagens e conservação de alimentos.

Resumo
Proteínas podem ser usadas como matriz polimérica na produção de filmes para embalagens comestíveis e biodegradáveis. No entanto, somente o uso de proteínas não é capaz de produzir filmes com propriedades mecânicas e de barreira satisfatória para uso como embalagem de alimentos. Uma alternativa bastante estudada nos últimos anos, como forma de aumentar as propriedades destes filmes, é o uso de nanocristais de celulose (CNC) como reforço. O objetivo desse trabalho foi produzir e caracterizar filmes à base de gelatina e CNC obtidos pelo método casting contínuo. Soluções filmogênicas foram produzidas pela solubilização de gelatina em água ultra pura a 85 °C. Glicerol e CNC foram adicionados como plastificante e reforço, respectivamente. Filmes de gelatina foram obtidos a partir do método de transporte contínuo implementado em unidade de coating KTF-S da Mathis. Os filmes produzidos por casting contínuo se apresentaram transparentes e contínuos. Ensaios mecânicos mostraram que adição de 0,5% CNC à matriz de gelatina levou a um aumento na resistência a tração e no módulo de Young e redução no alongamento máximo quando comparados com os filmes de gelatina sem adição de CNC. Esses resultados demonstram uso promissor de filmes de gelatina reforçados com CNC para aplicações como embalagens.
Palavras-chave: Gelatina; Nanocristais de celulose; Casting Contínuo; Filmes comestíveis; Propriedades mecânicas.

PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF BIONANOCOMPOSITES BASED ON PROTEIN AND CELLULOSE NANOCRYSTALS BY CONTINUOUS CASTING

Abstract
Proteins can be used as a polymer matrix for the production of edible and biodegradable packaging. However, using only proteins is not enough for producing films with satisfactory mechanical and barrier properties for food packaging usage. An alternative studied as a way to increase the properties of these films is the use of cellulose nanocrystals (CNC) as reinforcement. The aim of this study was to produce and characterize films based on gelatin and CNC obtained by the continuous casting method. Filmogenic solutions were produced by the solubilization of gelatin in ultra pure water at 85 °C. Glycerol and CNC were added as plasticizer and reinforcement, respectively. Gelatin films were obtained by continuous casting on a KTF-B labcoater unit. The gelatin films produced by continuous casting displayed homogeneous and transparent aspect. Tensile test showed that addition of 0.5 wt% CNC improved tensile strength and Young's modulus and decreased the elongation at break when compared with gelatin films without CNC. These results showed the promising use of gelatin films reinforced with CNC for applications such as packaging.
Keywords: Gelatin; Cellulose nanocrystals, Continuous casting, Edible films, Mechanical properties.

1 INTRODUÇÃO

As últimas décadas foram marcadas pelo crescente interesse em pesquisas sobre o desenvolvimento de embalagens poliméricas biodegradáveis e/ou comestíveis, que sejam tão eficientes e baratas quanto às embalagens obtidas a partir de materiais derivados de petróleo (MALI et al., 2006). Nesse contexto, destacam-se materiais com propriedades formadoras de filme, como as proteínas, mais especificamente a gelatina.

A gelatina é uma proteína solúvel extraída de tecidos conjuntivos, ossos e pele de animais por dissociação térmica ou química das cadeias polipeptídicas do colágeno animal (SANTOS et al., 2014). É uma matéria-prima produzida no Brasil em abundância e a baixo custo. As propriedades dos filmes de gelatina incluem alta transparência, além de eficiente barreira contra óleos e lipídios (DUVAL et al., 2013). No entanto, filmes de gelatina, sem qualquer aditivo, tendem a ser quebradiços e difíceis de manusear. A adição de plastificantes aumenta a flexibilidade dos filmes (SCHROOYEN et al., 2001), todavia, diminui as propriedades mecânicas de tração e reduz a barreira à gases e ao vapor de água.

O emprego de reforços nanométricos nesse sentido pode aumentar a resistência mecânica, tenacidade, estabilidade térmica e as propriedades de barreira de biopolímeros. Nanocristais de celulose (CNC) possuem domínios cristalinos na forma de agulhas que podem ser isolados por clivagem hidrolítica em meio ácido das ligações glicosídicas de fibras celulósicas. Os CNC têm sido incorporados como reforço em filmes para embalagens de alimentos, principalmente em função de sua grande área superficial e ótimas propriedades mecânicas (REID et al., 2016).

Uma técnica emergente para produção de filmes biodegradáveis é o processo de transporte contínuo (casting contínuo). Esta é uma técnica que possui enorme potencial de aplicação em um cenário industrial, é de baixo custo, alta produtividade e permite o uso de soluções ou dispersões a base de água, sem a necessidade de empregar aditivos de processamento.

Os esforços atuais estão voltados para a otimização das condições de processamento, com a finalidade de minimizar efeitos de degradação termomecânica dos nanocompósitos e maximizar a dispersão dos CNC pela matriz polimérica de gelatina. Assim sendo, esse trabalho visa o preparo de bionanocompósitos comestíveis na forma de filmes, obtidos por casting contínuo, a partir de matriz polimérica de gelatina com nanocristais de celulose.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Materiais

Para a obtenção dos filmes de gelatina, utilizou-se gelatina bovina 180 Bloom, 30 mesh, tipo B, na forma de pó, livre de plastificantes e aditivos da Gelco Indústria e Comércio; glicerol da Dinâmica Química e nanocristais de celulose de eucalipto na forma de suspensão aquosa (3,5% em massa), produzidos na Embrapa Instrumentação.

2.2 Preparo dos filmes à base de gelatina e nanocristais de celulose

As soluções filmogênicas de gelatinas foram preparadas com concentração de 20% de gelatina por 100 g de água deionizada e 20% de glicerol, com base na massa seca de gelatina. Os CNC foram adicionados nas concentrações de 0, 0,5, 1, e 2,5 g/100 g de gelatina. Para a preparação da solução filmogênica, a gelatina foi hidratada em temperatura ambiente por 5 minutos e então, aquecida até 80 ± 5 °C por 15 minutos. No fim deste período, foi adicionado o glicerol e a solução de gelatina/glicerol foi homogeneizada em UltraTurrax IKA T25 a 12000 rpm por 10 min. Os CNC foram adicionados à solução filmogênica durante a etapa de homogeneização. Por fim, a solução resultante passou por degasagem em bomba de vácuo durante 30 minutos para retirar bolhas de ar.

Os filmes de gelatina foram produzidos a partir do método de transporte contínuo implementado em unidade de *coating* KTF-S da Mathis (Werner Mathis AG, Zürich, Switzerland). A unidade Mathis foi alimentada com soluções filmogênica na temperatura de 30 °C em um dispositivo de coating onde a espessura da lâmina úmida de solução foi ajustada para 1 mm. Para realizar o *casting* dos filmes, a lamina úmida foi primeiramente transportada através de um pré-secador infravermelho e, em seguida, transportada através da câmara de secagem por convecção de ar

configurada a temperatura de 80 °C. Na saída da câmara os filmes secos foram bobinados automaticamente e armazenados.

2.2.1 Ensaio de tração

Cada filme foi cortado em pelo menos 10 corpos de prova de acordo com a ASTM D882-12 (ASTM, 2012). Estes foram tracionados a 10 mm·min^{-1} por duas garras inicialmente separadas por 100 mm, em máquina universal de ensaios mecânicos, modelo DL3000 - EMIC Equipamentos e Sistemas de Ensaio Ltda, equipada com célula de carga de 10 kgf.

O efeito do CNC sobre as propriedades mecânicas dos filmes foi avaliado utilizando o Teste Tukey, com nível de significância de 95%.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A investigação das propriedades mecânicas de materiais apresenta grande interesse tecnológico, devido às características exigidas para a aplicação dos materiais. Parâmetros referentes às propriedades mecânicas, tais como resistência à tração, alongamento máximo e módulo de Young podem servir como base para a avaliação dos efeitos decorrentes da adição de CNC como agente de reforço.

Os resultados dos ensaios de tração para os filmes de gelatina com CNC são apresentados na Figura 1. O módulo de Young é o parâmetro mais sensível à dispersão das nanopartículas na matriz e à presença de interações interfaciais em compósitos (SCHAEFER et al 2007). Portanto, espera-se um aumento nesse parâmetro em sistemas contendo partículas de alto módulo e com distribuição uniforme na matriz polimérica.

Os resultados obtidos mostraram que a adição de 0,5% em massa de CNC aumentou a resistência à tração e o módulo de Young em 3,0 e 3,5 vezes, respectivamente, e redução de 70% no alongamento máximo quando comparados aos filmes de gelatina sem adição de CNC. Azeredo et al. (2009) avaliaram as propriedades mecânicas de filmes comestíveis de purê de manga com nanofibras de celulose em diferentes concentrações, preparados por solvent-casting. Os resultados mostram que filmes contendo 10% em massa de nanofibras apresentam aumento de duas vezes o valor do módulo de Young, quando comparados ao polímero puro.

Para os filmes de gelatina com 1,0 e 2,5% CNC não se observou variações significativas no módulo de Young e alongamento máximo, em relação à composição com 0,5% CNC, indicando que o sistema atingiu a saturação.

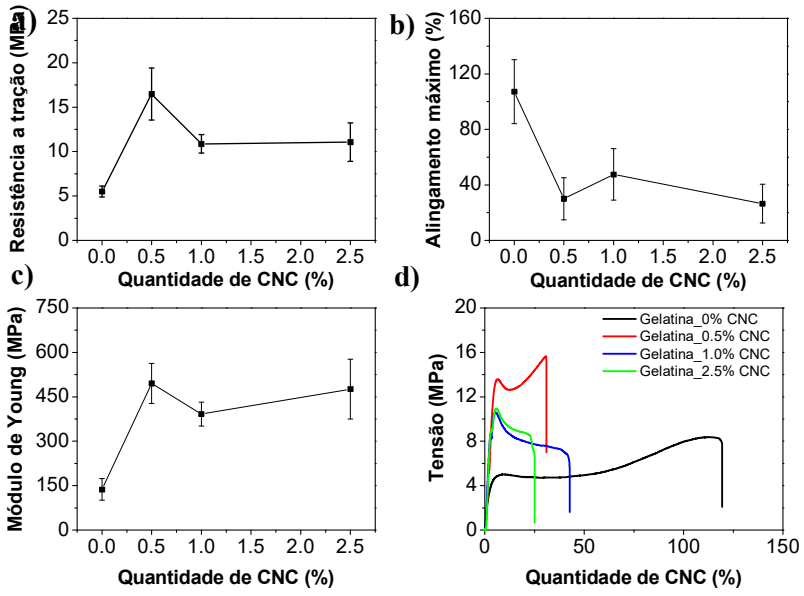


Figura 1: (a) Módulo de Young, (b) Resistência à tração, (c) alongamento máximo e (d) curvas de tensão-deformação para os filmes de gelatina com nanocristais de celulose.

4 CONCLUSÃO

Os filmes produzidos por casting contínuo se apresentaram transparente, contínuos, sem fraturas após a secagem e com ausência de partículas insolúveis na sua superfície. Ensaios mecânicos relevaram que adição de 0,5% CNC à matriz de gelatina levou a um aumento de 3,0 vezes na resistência a tração e no 3,5 vezes no módulo de Young e redução de 70% no alongamento máximo quando comparado aos filmes de gelatina sem adição de CNC. De maneira geral, esses resultados mostraram o uso promissor do método de casting contínuo para obtenção de filmes de gelatina com propriedades ópticas e mecânicas interessantes para aplicações como embalagens.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio financeiro fornecidos pelo CNPq (402287/2013-4), SISNANO/MCTI, FINEP, pela rede de pesquisa Embrapa AgroNano, e a FAPESP (processo nº2016/03080-3).

REFERÊNCIAS

MALI, S. et al. Effects of controlled storage on thermal, mechanical and barrier properties of plasticized films from different starch sources. Journal of Food Engineering. v. 75, n. 4, 453–460, 2006.

SANTOS, T. M. et al. Fish gelatin films as affected by cellulose whiskers and sonication. Food Hydrocolloids. v. 41, 113–118, 2014.

DUVAL, A.; MOLINA-BOISSEAU, S.; CHIRAT, C. Comparison of Kraft lignin and lignosulfonates addition to wheat gluten-based materials: Mechanical and thermal properties. Industrial Crops and Products, v. 49, 66–74, 2013.

SCHROOYEN, P. M. M. et al. Partially carboxymethylated feather keratins. 2. thermal and mechanical properties of films. Journal of Agricultural and Food Chemistry. v. 49, n. 1 221–230, 2001.

REID, M. S.; VILLALOBOS, M.; CRANSTON, E. D. Benchmarking cellulose nanocrystals: from the laboratory to industrial production. Langmuir. v.33, n. 7, 1583-1598, 2017.

AZEREDO, H. M. C. et al. Nanocomposite Edible Films from Mango Puree Reinforced with Cellulose Nanofibers. Journal of Food Science. v. 74, n; 5, 31–35, 2009.

ENCAPSULAÇÃO DO CARVACROL EM FILMES COMESTÍVEIS DE AMIDO DE MANDIOCA E GELATINA

***Ana P. Romio[1], Alessandra M. Lunkes[1], Claiton Z. Brusamarello[1], Larissa C. Bertan[3], Luma Oliveira[1], Odílio B. Assis[2], Tais Téo[2]**

[1] Universidade Tecnológica Federal do Paraná - Campus Francisco Beltrão. [2] Embrapa Instrumentação. [3] Universidade Federal da Fronteira Sul - Campus Laranjeira do Sul.
**anaromio@utfpr.edu.br*

Classificação: Processamento de filmes nanoestruturados para embalagens e conservação de alimentos

Resumo
O objetivo do trabalho foi incorporar o carvacrol na matriz do filme composto de amido de mandioca/gelatina. O filme comestível obtido pelo método *casting* foi caracterizado por microscopia eletrônica de varredura e suas propriedades mecânicas avaliadas no texturometro. A incorporação do carvacrol reduziu ligeiramente a resistência mecânica dos filmes, justificando um possível efeito plastificante na matriz, e os tornou mais elásticos. A partir das análises microscópicas foi possível observar uma estrutura contínua e homogênea com a presença de partículas esféricas (200 a 800 nm) onde possivelmente o carvacrol estava encapsulado na matriz densa e dúctil.
Palavras-chave: Filme comestível; encapsulação; carvacrol; amido mandioca; gelatina.

ENCAPSULATION OF CARVACROL IN EDIBLE FILMS OF CASSAVA STARCH AND GELATIN

Abstract
The aim of the work was to incorporate the carvacrol into the matrix of the composite film of cassava starch/gelatin. The edible film obtained by the casting method was characterized by scanning electron microscopy and its mechanical properties were evaluated in a texturometer. The incorporation of carvacrol slightly reduced the mechanical resistance of the films, justifying a possible plasticizing effect in the matrix, and made them more elastic. From the microscopic analysis it was possible to observe a continuous and homogeneous structure with the presence of spherical particles (200 to 800 nm) where possibly the carvacrol was encapsulated into the dense and ductile matrix**.**
Keywords: Edible film; encapsulation; carvacrol; cassava starch; gelatin.

1 INTRODUÇÃO

Os filmes comestíveis têm sido usados como uma barreira alternativa que visa melhorar a qualidade e a segurança dos produtos alimentares. Esta tecnologia protege o alimento da desidratação, além de regular a troca gasosa do produto com o meio externo. Além disso, podem servir de veículo de compostos ativos com ação antioxidante e antimicrobiana, e assim retardar a taxa de deterioração e prolongar a vida útil dos alimentos (QUIRÓS- SAUCEDA et al., 2014).

Um dos biopolímeros mais estudados para a elaboração de filmes comestíveis, devido à abundância e baixo custo, é o amido de mandioca. Ele exibe propriedade termoplástica quando um plastificante, como o glicerol ou sorbitol, é adicionado na formulação. Os filmes proteicos são mais resistentes e menos permeáveis ao vapor de água do que aqueles produzidos a partir de polissacarídeos. A gelatina é um hidrocolóide de alta solubilidade em água que produz filmes com boa resistência mecânica. No entanto, uso de coberturas hidrofílicas, como os amidos e as proteínas, tem limitações quanto a propriedades de barreira ao vapor d'água. Essa propriedade pode ser modificada pela adição de ácidos graxos às formulações.

A incorporação de compostos naturais, como o carvacrol, componente majoritário do óleo essencial de orégano (OEs), é uma alternativa promissora para reduzir a incidência de microrganismos indesejáveis na superfície de alimentos (PALOU et al., 2016). Estudos relatam que a incorporação de carvacrol em alguns polímeros, produziram filmes ativos que apresentaram atividade antifúngica

(TASTAN et al., 2016). Os óleos essenciais têm baixa solubilidade em água, o que limita sua dispersão em produtos à base de água. Assim, nanoemulsões estão sendo cada vez mais utilizadas para encapsular, prolongar e liberar compostos lipofílicos para alimentos (BHARGAVA et al., 2015).

Sabendo que a combinação dos biopolímeros tem como vantagem agregar os pontos positivos de cada um dos constituintes utilizados, o objetivo deste trabalho foi incorporar o carvacrol na matriz do filme composto de amido de mandioca/gelatina. Para produzir uma emulsão estável foi utilizado lecitina como surfactante e Miglyol 812 como hidrófobo, e assim foi avaliada as propriedades mecânicas e as microestruturas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O amido de mandioca foi adquirido da Pinduca Alimentos (Araruna-PR, Brasil). A gelatina tipo A foi fornecida pela Gelita (Brasil, LTDA). O glicerol foi adquirido com grau analítico (Synth) com 99% de pureza. O carvacrol foi adquirido da Sigma-Aldrich (Brasil, LTDA) com grau de pureza > 98%. O hidrófobo Miglyol 812, uma mistura de triglicerídeos caprílico (50-65%) e cáprico, foi adquirido Sasol Germany (GmbH). A lecitina foi adquirida da Alfa Aesar, de massa molar média ponderal de 734 g/mol.

Para a elaboração do filme composto (FC), primeiramente a gelatina tipo A (GEL) foi hidratada com água destilada em temperatura ambiente, sob agitação magnética. Após a solução foi aquecida à 75 °C e o glicerol (GLI) foi adicionado. Simultaneamente, o amido de mandioca foi gelificado à 75 °C, sob agitação mecânica. Após o processo de geleificação a temperatura da solução de gelatina foi reduzida à 40 °C e o carvacrol juntamente com o Miglyol 812 e a lecitina (20% lecitina em relação ao Miglyol+carvacrol) foram adicionados e está homogeneizada usando Ultra Turrax D500 (DragonLab, China). Por fim, a nanoemulsão resultante foi misturada na solução do amido termoplástico (ATP). Os géis foram preparados segundo as formulações dispostas na Tabela 1.

Tabela 1. Formulações empregadas no processamento dos filmes (quantidade em 100 mL de água)

Formulação[a]	ATP (g)	GEL (g)	GLI (g)	CA (g)	Miglyol (g)
ATP/GLE 1	1,5	2,5	0,40	0	0
ATP/GLE 2	1,5	2,5	0,40	0,6	0,6
ATP/GLE 3	1,5	2,5	0,40	0,8	0,8
ATP/GLE 4	1,5	2,5	0,40	1,0	1,0

[a] *ATP/GEL (filme composto de amido termoplástico e gelatina), GLI (glicerol), CA (carvacrol).*

Os filmes foram produzidos pela técnica de *casting* e a sua secagem foi efetuada em estufa durante 24 horas à 25 °C. As propriedades mecânicas e espessuras dos FC´s foram realizadas segundo método descrito por Fakhouri et al. (2015). As imagens microscópicas foram realizadas em microscópio eletrônico de varredura (MEV) Joel JSM-6510 LV, em tiras recobertas com ouro sob a voltagem de 2,5 kV. Além disso, o filme foi fraturado em nitrogênio líquido, e as fraturas foram fixadas em *stubs* recobertas com ouro. O programa Statistica® (StatSolf, USA) foi usado para avaliar se existe diferenças significativas entre as propriedades de todos os filmes, no intervalo de 95% de confiança.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Propriedades Mecânicas

Filmes compostos de ATP/GLE 3 e ATP/GLE 4 apresentaram valores similares para a resistência máxima à tensão ($p<0,05$) em relação ao filme padrão (ATP/GLE 1, sem adição de CA). A adição do carvacrol nos filmes compostos, reduziu ligeiramente a resistência mecânica dos filmes, e os tornou mais elásticos (Tabela 2). Comportamento semelhante foi observado Pelissari et al. (2009) que relatou a diminuição da resistência mecânica à tração e aumento da elongação em filmes de amido e quitosana adicionados de óleo essencial de orégano. De fato, neste trabalho o óleo apresenta efeito plastificante, reduzindo assim, as forças interatômicas da matriz biopolimérica. Consequentemente, quando1 g de carvacrol foi incorporada no filme composto este produziu o menor modulo de elasticidade.

Tabela 2. Espessura e propriedades mecânicas dos filmes compostos ATP/GLE.

Formulação	CA (g)	Espessura (mm)[a]	Resistência máxima à ruptura (MPa)[a]	Elongação (%)[a]	Modulo de Elasticidade (MPa)
ATP/GLE 1	0	0,057[a]	34,19[a]	3,24[b]	1767,10
ATP/GLE 2	0,6	0,062[a]	29,45[ab]	19,43[a]	1591,98
ATP/GLE 3	0,8	0,064[a]	26,07[b]	13,09[a]	1278,97
ATP/GLE 4	1,0	0,057[a]	24,49[b]	11,37[a]	1174,10

[a] *Valores nas colunas seguidos de mesma letra não diferenciam pelo Teste de Tukey (p<0,05).*

3.2 Análise da Microestrutura

A microestrutura de filmes comestíveis com incorporação do carvacrol foi examinada para obter algumas informações sobre a organização da matriz biopolimérica. Os filmes apresentam superfície homogênea e contínua com alguns microporos ao longo da matriz. Estes microporos devem-se a evaporação contínua da água no processo de secagem do filme, o qual é possível observar na micrografia como poros escuros e arredondados (Figura 1 A-D).

Além disso observa-se a presença de esferas com tamanho entre 200 a 800 nm, que provavelmente tratam-se do carvacrol encapsulado na matriz biopolimérica. Com o aumento da concentração do CA foi possível evidenciar um aumentou no número de esferas, as quais apresentaram-se homogeneamente distribuídas na matriz, isto é, sem separação de fase (Figuras 1 B-D).

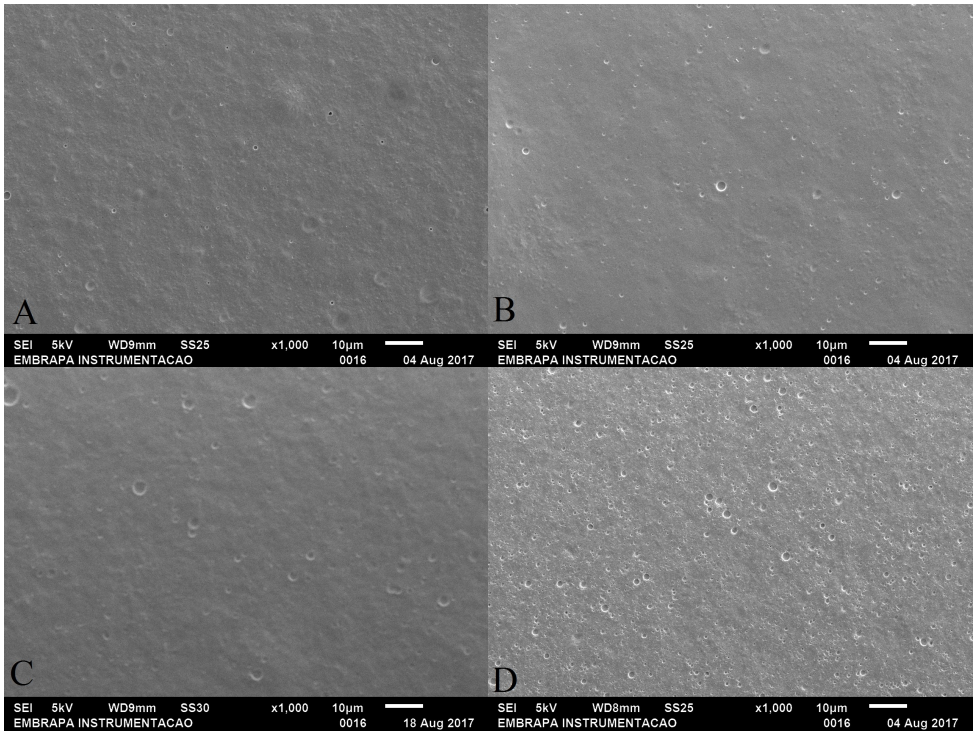


Figura 1. Micrografias obtidas por MEV das superfícies dos filmes compostos em diferentes quantidades: (A) sem CA, (B) 0,6 g CA, (C) 0,8 g CA e (D) 1,0 g CA.

A micrografia da fratura dos filmes demostrou que ATP/GLE 1 apresenta poros alongados, com orientação preferencial no sentido horizontal, e que se trata de um material com alta porosidade (Figura 2 A). Neste filme foi adicionado o hidrófobo Miglyol 812 (mistura de ácido caprílico e capróico), e este pode ser o responsável pela formação destes microporos. Na Figura 2 (E e F) observa-se vales com tamanhos micrométricos, que se tratam de sítios que podem corresponder ao local onde estavam o carvacol e o Miglyol 812. Além disso é possível observar que é um material denso e dúctil, com tensão de ruptura entre 24,49 e 29, 45 MPa.

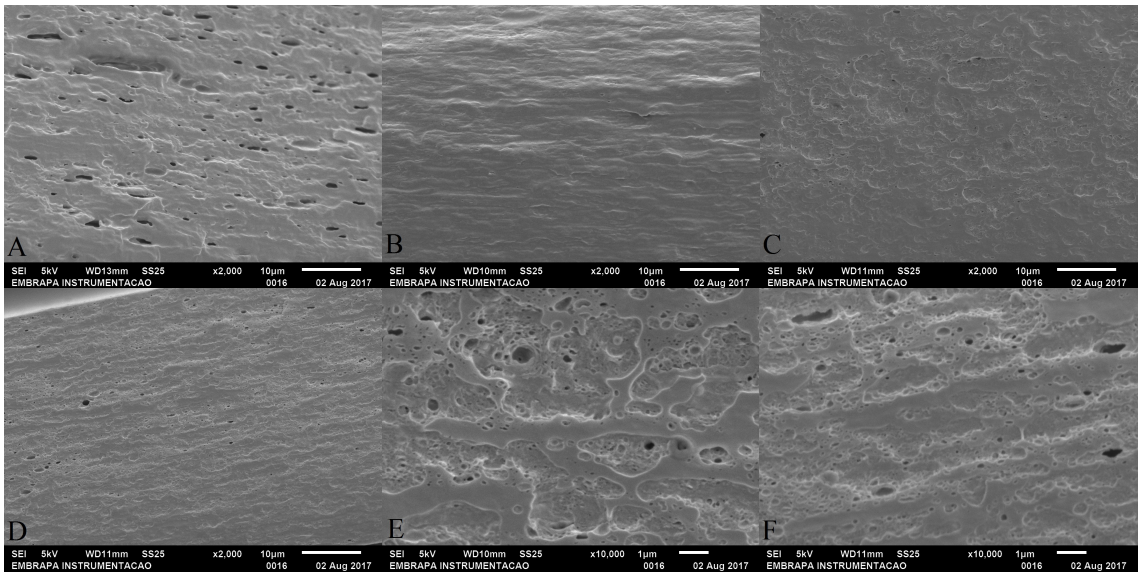


Figura 2. Micrografias obtidas por MEV das fraturas dos filmes compostos em diferentes concentrações: (A) sem CA, (B) 0,6 g CA, (C e E) 0,8 g CA e (D e F) 1,0 g CA, em 2.000 e 10.000x.

4 CONCLUSÃO

Os filmes elaborados a partir da mistura de amido de mandioca e gelatina com incorporação do carvacrol apresentaram, segundo análises de microscópicas, uma estrutura contínua e homogênea e a presença de partículas esféricas com tamanho entre 200 e 800 nm onde provavelmente o carvacrol estava encapsulado na matriz densa e dúctil.

AGRADECIMENTOS

Os autores são gratos a UTFPR-FB, a EMPRAPA Instrumentação e a Gelita (Brasil, LTDA) que forneceu amostra de gelatina tipo A para o desenvolvimento deste trabalho.

REFERÊNCIAS

BHARGAVA, K. et al. Application of an oregano oil nanoemulsion to the control of foodborne bacteria on fresh lettuce. Food Microbiology, v. 47, p. 69-73, 2015.

QUIRÓS- SAUCEDA, A. E. et al. Edible coatings as encapsulating matrices for bioactive compounds: a review. Food Science and Technology, v. 51, n. 9, p. 1674-1685, 2014.

PALOU, L et al. GRAS, plant- and animal-derived compounds as alternatives to conventional fungicides for the control of postharvest diseases of fresh horticultural produce. Postharvest Biological and Technology, v. 122, p. 41-52, 2016.

TASTAN, Ö. et al. Understanding the effect of formulation on functionality of modified chitosan films containing carvacrol nanoemulsions. Food Hydrocolloids, v. 61, p. 756-771, 2016.

FAKHOURI, F. M. et al. Edible films and coatings based on starch/gelatin: Film properties and effect of coatings on quality of refrigerated Red Crimson grapes. Postharvest Biological and Technology, v.109, p. 57-64, 2015.

PELISSARI, F. et al. Antimicrobial, mechanical, and barrier properties of cassava starch-chitosan films incorporated with oregano essential oil. Journal Agriculture Food Chemistry, v. 57, n. 16, p. 7499-7504, 2009.

CAPÍTULO 4

Processos de imobilização de biomoléculas e funcionalização em nanopartículas

ESTABILIZAÇÃO DE COR DE SUCO DE ACEROLA POR MONTMORILONITA

Hálisson Lucas Ribeiro[1]; Ana Vitória de Oliveira[1]; Edy S. Brito[2]; Paulo R.V. Ribeiro[2]; Men de sá M. Souza Filho[2]; Henriette M. C. Azeredo[2,*]

[1]Universidade Federal do Ceará; [2]Embrapa Agroindústria Tropical.
**henriette.azeredo@embrapa.br*

Classificação: Processos de imobilização de biomoléculas e funcionalização em nanopartículas ou Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio

Resumo
As antocianinas da acerola (*Malpighia emarginata* DC) são pigmentos naturais muito suscetíveis a degradação durante processamento e estocagem, que resulta em alteração de cor, diminuindo seu apelo comercial. Recentemente, tem-se estudado o uso de argilas como montmorilonita (MMT) para estabilização de antocianinas. Este trabalho teve como objetivo avaliar a estabilização de antocianinas por MMT em suco clarificado de acerola. A formação de complexos MMT-antocianinas (corroborada por UPLC/MS e difração de raios X) resultou em intensificação da cor vermelha dos sucos e a estabilização dos parâmetros de cor em função do pH e do tempo de estocagem.
Palavras-chave: Nanoargilas; Antocianinas; Acerola.

COLOR STABILIZATION OF ACEROLA JUICE BY MONTMORILLONITE

Abstract
The anthocyanins from acerolas (*Malpighia emarginata DC*) are natural pigments very prone to degradation upon processing and storage, which results in color changes that reduce their commercial appeal. Montmorillonite clays (MMT) have been studied as anthocyanin stabilizers. The objective of this study was to evaluate the anthocyanin stabilization by MMT on clarified acerola juice. The formation of MMT-anthocyanin complexes (corroborated by UPLC/MS and X ray diffraction) resulted in intensification of the red color of the juice and stabilization of color parameters as functions of pH and storage time.
Keywords: Nanoclays; Antocyanins; Acerola.

1. INTRODUÇÃO

A acerola (*Malpighia emarginata DC*) é uma fruta tropical muito consumida, especialmente na forma de produtos processados. Enquanto a cor da fruta *in natura* é um vermelho brilhante, os produtos processados têm coloração amarelada ou amarronzada, devido à degradação dos pigmentos (antocianinas) ao longo do processamento e estocagem (DE ROSSO; MERCADANTE, 2007), o que diminui seu apelo comercial. Recentemente, tem-se estudado o efeito estabilizante de argilas do tipo esmectita (como a montmorilonita, MMT) sobre antocianinas (KOHNO et al., 2009; TEIXEIRA-NETO et al., 2012). O objetivo do trabalho foi avaliar a estabilização de antocianinas de suco de acerola por meio de adição de diferentes concentrações de MMT.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Polpa comercial de acerola foi homogeneizada em Ultra-Turrax T50 (8000 rpm, 10 min) e ultracentrifugada. O sobrenadante (suco clarificado de acerola, SCA) foi filtrado a vácuo e armazenado a -18 ºC. Quatro tratamentos foram conduzidos, com 0, 2, 4 e 6% de MMT (m/m, com base no teor de sólidos solúveis totais do SCA), e denominados S0, S2, S4 e S6, respectivamente. A MMT foi adicionada ao SCA sob agitação (660 rpm) por 1 h, protegida da luz, e então homogeneizada em Ultra-Turrax T25 (10000 rpm, 5 min).
Amostras das misturas foram submetidas às seguintes análises:

- Quantificação das antocianinas no sobrenadante da centrifugação (26400g, 15 min, 4 °C), segundo a metodologia do pH único (Fuleki & Francis, 1968).
- Cor: com colorímetro (Konica Minolta CR-400), pelo sistema CIELab, ap longo de 60 dias.
- Identificação das antocianinas via cromatografia líquida de ultra eficiência (CLUE) e Espectrometria de massa (SCA, SCAM6): O precipitado de S6 foi suspenso em metanol e novamente centrifugado, produzindo um sobrenadante contendo as antocianinas que haviam sido complexadas pela MMT, que foi analisado (em sistema Acquity UPLC acoplado a sistema QtoF, em coluna Waters Acquity UPLC BEH) em comparação ao suco clarificado bruto (S0).
- Difração de raios X (DRX) dos precipitados da centrifugação (de S2, S4 e S6) e da MMT pura, em difratômetro Rigaku DMAXB, com tubo de cobre, Kα 1,54 Å, intervalo angular 2θ de 3 a 30°, passo de 0,02°s^{-1}. O espaçamento entre as placas da MMT (d) foi calculado pela Lei de Bragg: $d=\lambda/(2\ sen\theta)$.
- FTIR dos precipitados: com espectrofotômetro infravermelho Shimadzu 8300, 4000-400 cm^{-1}, a partir de amostras diluídas em KBr e prensadas em pastilhas.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A concentração de antocianinas em S0 foi de 109 mg/100g, enquanto as dos sobrenadantes de S2, S4 e S6 foram de 94, 52 e 48 mg/100g. Ou seja, a adição de MMT promoveu uma redução marcante (especialmente até a concentração de 4%) dos teores de antocianina no sobrenadante dos sucos adicionados de argila, indicando indiretamente a complexação MMT-antocianinas (no precipitado). As antocianinas podem ser intercaladas entre as lamelas de MMT, já que têm caráter catiônico, que favorece interação com grupamentos alumínio-oxigênio (LIMA et al., 2007).

Para avaliar a variação dos parâmetros de cor, calcularam-se as razões (L^*/L^*_0, a^*/a^*_0 e b^*/b^*_0) em relação aos valores iniciais, plotados em função do tempo de armazenamento (Fig. 1). A luminosidade (L*) das amostras S0 e S2 aumentou durante o armazenamento, pelo aumento da concentração de compostos incolores (GORDILLO et al., 2012), enquanto S4 e S6 apresentaram L* relativamente constante. Os tratamentos S0 e S2 apresentaram redução da cor vermelha (a*) dos sucos ao longo do armazenamento, enquanto a adição de MMT (a 4 e 6%) promoveu um aumento considerável da cor vermelha, o que se deve à capacidade do MMT em estabilizar antocianinas e causar efeito hipercrômico, intensificando a cor vermelha (KOHNO et al., 2009), assim como uma diminuição da taxa de amarelecimento das amostras (b*).

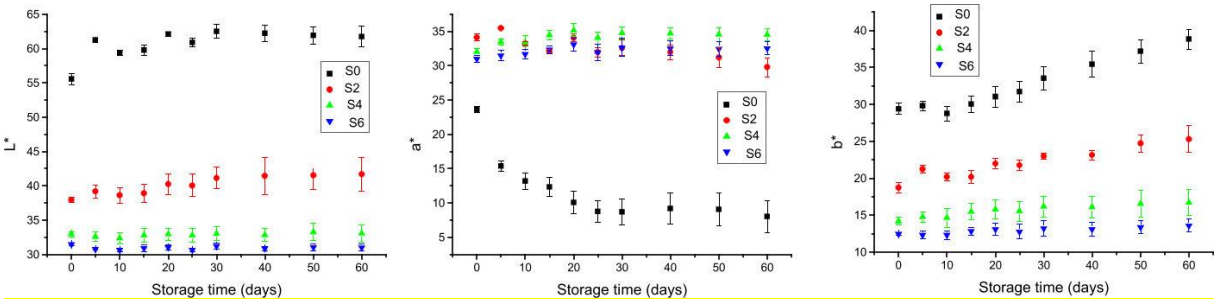


Figura 1 - **Mudanças nos parâmetros de cor dos sucos de acerola adicionados de MMT.**

A Fig. 2 apresenta os cromatogramas do suco de acerola (A) e das antocianinas extraídas do complexo MMT-antocianina (B), revelando 2 picos bem definidos, que indicam a adsorção seletiva desses compostos, identificados (via espectrometria de massas) como cianidina-3-ramnosídeo e pelargonidina-3-ramnosídeo. Isso revela a capacidade da MMT em adsorver seletivamente as antocianinas contidas no suco.

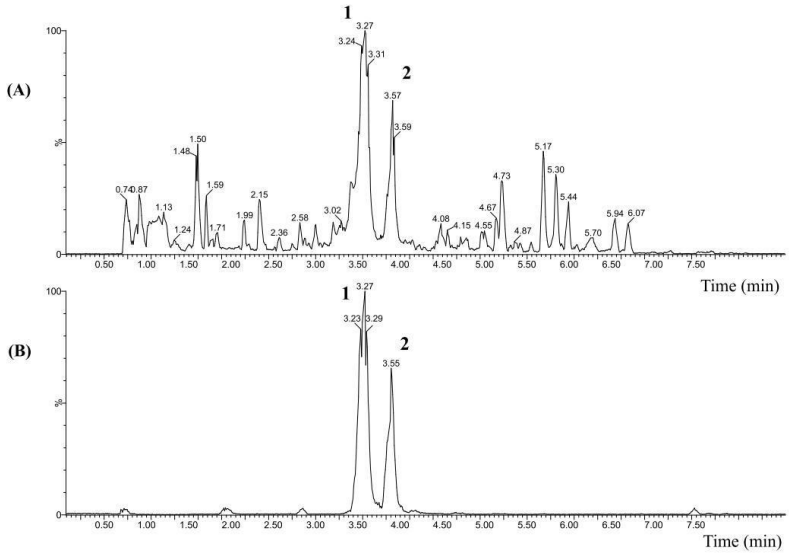


Figura 2 - *Cromatograma do suco clarificado de acerola (A) e das antocianina extraídas (B) de S6.*

O difratograma (Fig. 3) da MMT pura exibe um pico acentuado em 2θ = 7,14°, característico do espaçamento basal d_{001} da MMT (pela lei de Bragg, de 12,4 Å), enquanto os precipitados de S2, S4 e S6 apresentaram d_{001} de 16,7, 15,8 e 15,1Å, respectivamente, indicando aumento do espaçamento entre as lamelas (BAEK et al, 2012), atribuído à intercalação de compostos. No caso, a complexação da MMT com as antocianinas (evidenciado no cromatograma – Fig.2) explica esse aumento do espaçamento entre as placas de MMT.

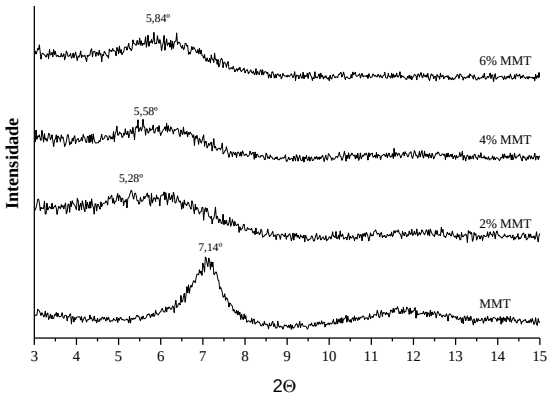


Figura 3 - *Difratograma da MMT pura e precipitados dos sucos com diferentes teores de MMT.*

O espectro de FTIR do precipitado de S6 (Fig. 4) exibiu uma banda a 1530 cm^{-1}, atribuída a complexos antocianinas-metais (Buchweitz et al., 2012), corroborando mais uma vez a complexação entre a MMT e as antocianinas.

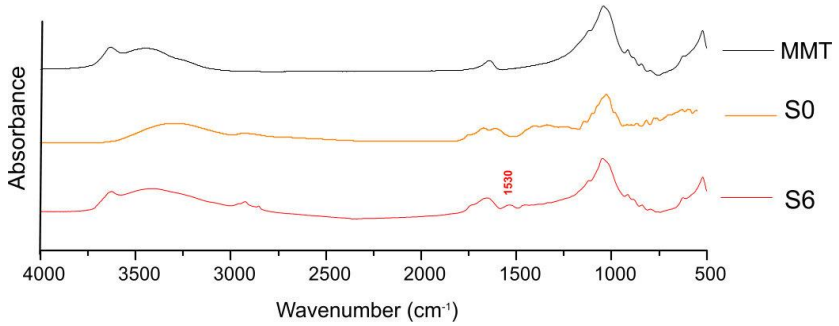


Figura 4 - *Espectros de FTIR da MMT e dos sucos de acerola sem MMT (S0) e com 6% de MMT (S6).*

4 CONCLUSÃO

A adição de montmorilonita a suco clarificado de acerola intensificou e estabilizou sua cor vermelha, graças à formação de complexos por intercalação de antocianinas entre as lamelas da MMT. Essa complexação foi evidenciada pela presença de antocianinas no precipitado do suco contendo MMT (cromatografia), pelo aumento do espaçamento entre as placas de MMT (difração de raios X) e pela formação de uma banda sugestiva de complexo antocianina-metais (FTIR).

AGRADECIMENTOS

Embrapa – Rede AgroNano, CNPq INCT-Frutos Tropicais (465335/2014-4), bolsas CAPES (1708268, 1376677), bolsas de produtividade CNPq (302770/2015-1, 302381/2016-3).

REFERÊNCIAS

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, n. 1–2, p. 29–34, 2012.

BUCHWEITZ, M.; GUDI, G.; CARLE, R.; KAMMERER, D.R.; SCHULZ, H. Systematic investigations of anthocyanin–metal interactions by Raman spectroscopy. **Journal of Raman Spectroscopy**, v. 43, p. 2001–2007, 2012.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema**. Traducao DE ROSSO, V. V.; MERCADANTE, A. Z. The high ascorbic acid content is the main cause of the low stability of anthocyanin extracts from acerola. **Food Chemistry**, v. 103, n. 3, p. 935–943, 2007.

GORDILLO, B. et al. Comprehensive colorimetric study of anthocyanic copigmentation in model solutions. Effects of pH and molar ratio. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 11, p. 2896–2905, 2012.

KASIRGA, Y.; ORAL, A.; CANER, C. Preparation and characterization of chitosan/montmorillonite-K10 nanocomposites films for food packaging applications. **Polymer Composites**, v. 33, n. 11, p. 1874–1882, nov. 2012.

KOHNO, Y. et al. Stabilization of natural anthocyanin by intercalation into montmorillonite. **Applied Clay Science**, v. 42, n. 3–4, p. 519–523, 2009.

LIMA, E. et al. **Capturing natural chromophores on natural and synthetic aluminosilicates**. [s.l.] Elsevier B.V., 2007. v. 170

PENTRÁK, M. et al. Changes in layer charge of clay minerals upon acid treatment as obtained from their interactions with methylene blue. **Applied Clay Science**, v. 55, p. 100–107, 2012.

TEIXEIRA-NETO, Â. A. et al. Hybrid materials based on smectite clays and nutraceutical anthocyanins from the Açaí fruit. **European Journal of Inorganic Chemistry**, n. 32, p. 5411–5420, 2012.

IMOBILIZAÇÃO DE β-GLICOSIDASE EM NANOPARTÍCULAS DE HIDROXIAPATITA

Thamara C. Coutinho[1,2], Mayerlenis J. Rojas[2], Elaine C. Paris[2], Cristiane S. Farinas[1,2]

[1]Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP;[2]Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP
thamaraccoutinho@gmail.com

Classificação: Processos de imobilização de biomoléculas e funcionalização em nanopartículas

Resumo
O objetivo deste trabalho foi avaliar as condições de imobilização da enzima β-glicosidase em nanopartículas de hidroxiapatita. O pH ótimo e a força iônica ótima de imobilização foram considerados aqueles que resultaram no maior rendimento de imobilização (RI), obtidos através da medida da atividade enzimática do sobrenadante durante a imobilização. As melhores condições de imobilização foram obtidas em pH 7 e força iônica de 5 mM, com um RI de 64% e atividade recuperada de aproximadamente 120%. Portanto, essa enzima de grande aplicação agroindustrial pode ser eficientemente imobilizada em nanopartículas de hidroxiapatita com retenção total de sua atividade catalítica.
Palavras-chave: Hidroxiapatita, β-glicosidase, imobilização enzimática.

β-GLYCOSIDASE IMMOBILIZATION IN HYDROXYPATITE NANOPARTICLES

Abstract
The aim of this work was to evaluate the conditions of immobilization of the β-glucosidase enzyme in nanoparticles of hydroxyapatite. The optimum pH and ionic strength were considered to be those that resulted in the highest yield of immobilization (YI), obtained by measuring the enzymatic activity in the supernatant during immobilization. The best immobilization conditions were achieved at pH 7 and ionic strength 5 mM, resulting in a 64% YI and recovered activity of around 120%. This enzyme of great agroindustrial application could be efficiently immobilized in nanoparticles of hydroxyapatite, with total retention of its catalytic activity.
Keywords: Hydroxyapatite, β-glycosidase, enzymatic immobilization.

1. INTRODUÇÃO

A β-glicosidase é uma enzima de vasta aplicação agroindustrial, com atuação na liberação de constituintes aromáticos melhorando o aroma de bebidas (Celik *et al.*, 2016) e hidrólise de isoflavonas, cujos produtos são aplicados na indústria farmacêutica (Michlmayr e Kneifel, 2014). Além disso, a β-glicosidase tem importante aplicação na degradação de materiais lignocelulósicos, participando da conversão da celulose em açúcares simples (Shewale, 1982). O desenvolvimento de técnicas que permitam sua reutilização tem sido muito pesquisado devido ao alto custo desse biocatalisador.

A imobilização de enzimas em suportes insolúveis garante o reaproveitamento dessas moléculas no processo, gerando vantagens quanto ao custo operacional e estabilidade dessas biomoléculas (Puri *et al.*, 2013). A utilização de nanoestruturas como suportes tem como vantagem a capacidade de reter maior carga enzimática por unidade de massa de partícula. Além disso, as nanopartículas geram baixa resistência à transferência de massa, garantindo uma boa acessibilidade do substrato ao biocatalisador (Cipolatti *et al.*, 2014).

Um material com potencial aplicação para imobilização de enzimas é a hidroxiapatita ($Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$), material inorgânico e não tóxico, que pode ser sintetizado como nanopartículas (Xie e Zang, 2017). A hidroxiapatita apresenta grupos fosfatos e de cálcio disponíveis para realizarem adsorção iônica com grupos laterais carregados de proteínas (Farinas *et al.*, 2007). Sendo assim, nesse

trabalho avaliou-se a imobilização da β-glicosidase em nanopartículas de hidroxiapatita. O foco deste estudo foi encontrar as melhores condições de imobilização, como o tempo de imobilização, o pH e a força iônica.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Nano-imobilização enzimática em hidroxiapatita

A solução de imobilização foi preparada com 0,1 g × mL^{-1} de nanopartícula de hidroxiapatita (Sigma-Aldrich, USA) e com carga enzimática de 10 mg enzima × g^{-1} suporte da enzima β-glicosidase (Novozymes - NS22118). A adsorção iônica foi submetida à agitação lenta a 25 °C. A atividade enzimática do sobrenadante (obtido por centrifugação a 8000 rpm durante 2 min) e do controle (enzima solúvel) foi medida em triplicata em intervalos de 30 min. A medida de atividade da β-glicosidase foi realizada segundo Ghose (1987), com a solução de celobiose (15 mM) preparada em pH 7, em que uma unidade de atividade enzimática (UI) representa a quantidade de enzima necessária para liberar 1 µmol do produto por minuto na mistura reacional.

O Rendimento de Imobilização (RI) foi calculado conforme a Equação 1, onde $A_{S,f}$ e $A_{B,f}$ representam a atividade final do sobrenadante e a atividade final do controle, respectivamente. Ao final da imobilização, o derivado foi lavado três vezes com tampão de força iônica cinco vezes maior. A atividade enzimática do derivado ($A_{derivado}$) foi medida e a Atividade Recuperada (AR) foi calculada através da Equação 2. A Atividade Teoricamente Imobilizada (A_T) foi obtida através do produto da atividade oferecida com o RI.

$$RI = 1 - \frac{A_{S,f}}{A_{B,f}} \times 100 \qquad \text{Equação 1}$$

$$AR = \frac{A_{derivado}}{A_T} \times 100 \qquad \text{Equação 2}$$

2.2 Condições ótimas de imobilização

O ensaio descrito no item 2.1 foi realizado com diferentes forças iônicas (5, 10, 20, 35 e 50 mM) e diferentes pH (4, 5, 6, 7 e 8). O pH ótimo e a força iônica ótima de imobilização foram considerados aqueles que demonstraram o maior rendimento de imobilização (RI).

2.3 Ponto isoelétrico da β-glicosidase

O ponto isoloelétrico (pI) da β-glicosidase foi obtido através da medida do Potencial Zeta, na faixa de pH de 1,5 a 8, no Equipamento Zeta Sizer (Malvern Instruments). A solução enzimática foi preparada em água na concentração 1 mg × 100 mL e o pH das soluções foi ajustado com as soluções de hidróxido de sódio 0,1M e ácido clorídrico 0,1M.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As nanopartículas de hidroxiapatita utilizadas para imobilizar a β-glicosidase por adsorção iônica foram caracterizadas por Giroto *et al.* (2015) e apresentaram-se como aglomerados sólidos menores que 100 nm. A adsorção enzimática sobre as nanopartículas foi rápida, após 1 hora de reação a interação da β-glicosidase com o suporte permaneceu constante, como mostrado na Figura 1-a. A força iônica não afetou o RI, contudo a AR foi maior com a menor força iônica, 5 mM (Figura 1-b), demonstrando que napresença de poucos íons em solução a reação enzimática é favorecida.

Curiosamente, a atividade recuperada (AR) do derivado superou os 100%. Isso sugere que o sítio ativo da enzima tornou-se mais disponível para reação após ligar-se ao suporte, atribuindo uma grande vantagem à técnica de imobilização da β-glicosidase em hidroxiapatita.

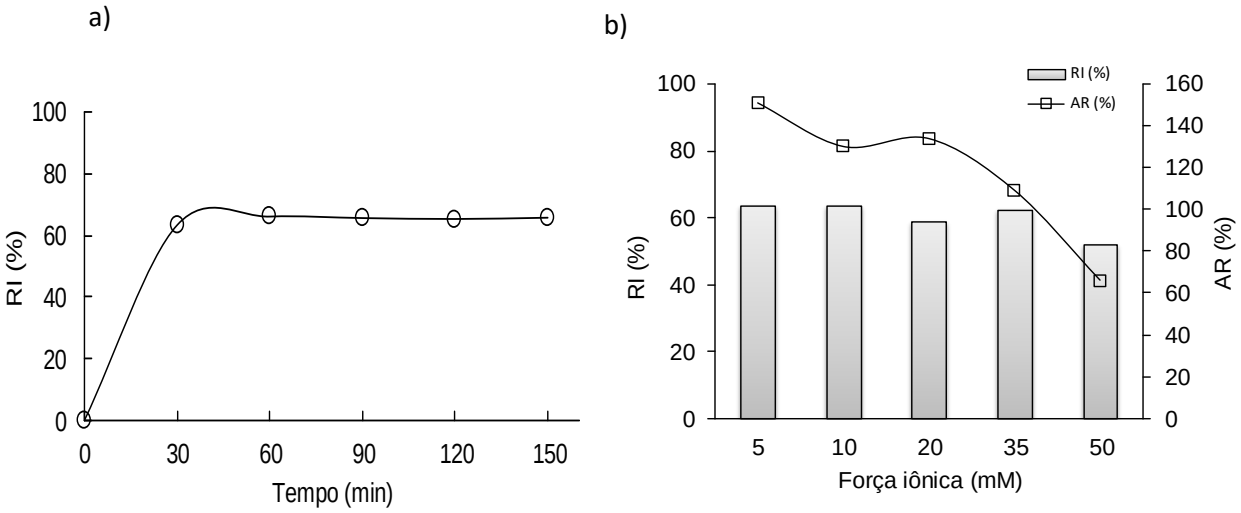


Figura 1 – **(a)** Tempo de imobilização da β-glicosidase em hidroxiapatita, em pH 7 e 5mM. **(b)** Efeito da força iônica no RI e na AR da β-glicosidase imobilizada em hidroxiapatita em pH 7.

O pH ótimo de imobilização foi 7 (Figura 2-a) e o pI da β-glicosidase obtido através da medida do potencial zeta foi 3,6 (Figura 2-b). Isso indica que os grupos Ca^{2+} do suporte permitiram a orientação da enzima pela região que contém alta concentração de cargas negativas, representados pelos resíduos aspártico e glutâmico. Embora a enzima apresente cargas negativas em pH 5 e 6, supõe-se que nessas condições ela ainda não se tornou negativa o suficiente para interagir eletrostaticamente com o suporte. O RI de 17% obtido em pH 4 sugere que outros tipos de interações, além da eletrostática, podem ter ocorrido. Por exemplo, interações de afinidade entre resíduos de aminoácidos com os íons Ca^{2+}. Nesse caso, aminoácidos como a histidina e o imidazol, que contém moléculas doadoras de elétrons (como o nitrogênio) fazem uma reação de coordenação com os íons metálicos (Bresolin *et al.*, 2009). Além desse tipo de reação, pode-se pressupor que nesse pH, muito próximo à neutralidade da enzima, ambos os sítios de adsorção da hidroxiapatita foram capazes de interagir com a enzima.

As condições de imobilização encontradas corroboram com o estudo de (Vieira *et al.*, 2011), o qual imobilizou β-glicosidase por adsorção iônica em Polietilenimina-agarose funcionalizada com grupos aminas, utilizando pH 7 e força iônica de 5 mM. Eles obtiveram total imobilização em um tempo de 2 horas. Embora eles tenham obtido um RI de quase 100%, foi oferecido cerca de 1000 vezes menos enzima por grama de suporte do que no presente estudo, o que demonstra a alta capacidade de adsorção das nanopartículas utilizadas.

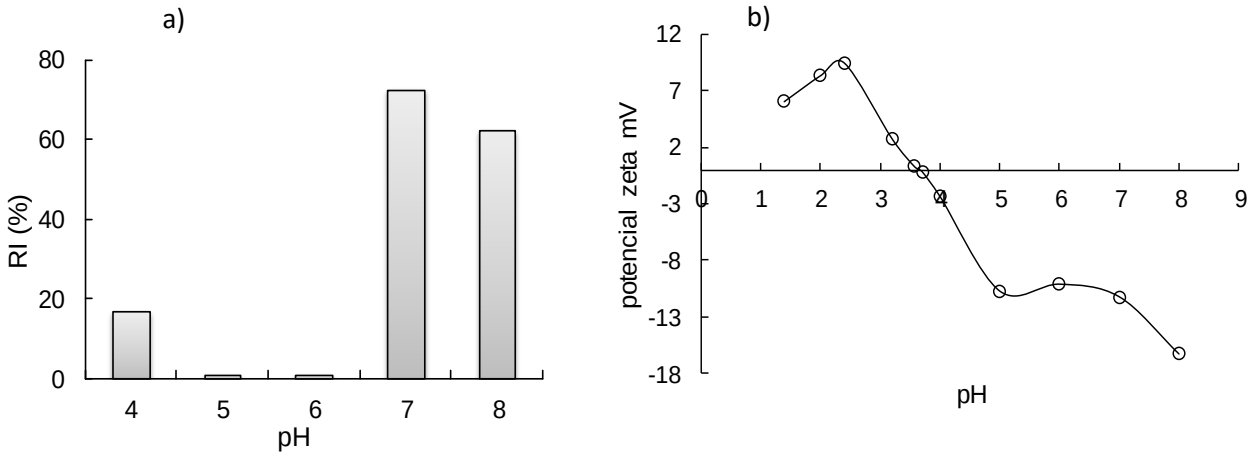


Figura 2 – **(a)** Efeito do pH no RI da β-glicosidase imobilizada em hidroxiapatita com força iônica 5mM. **(b)** Medida do potencial zeta da β-glicosidase na faixa de pH 1,4 a 8,4.

4. CONCLUSÃO

Nesse trabalho foi demonstrado que nanopartículas de hidroxiapatita são capazes de imobilizar eficientemente a β-glicosidase em pH 7 e 5mM, com retenção de atividade catalítica superior ao da enzima livre. Sendo assim, o derivado β-glicosidase-hidroxiapatita apresenta potencial aplicação em processos que almejam a recuperação da enzima do meio reacional.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Embrapa, a Capes, CNPq e FAPESP pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

BRESOLIN, I.; MIRANDA, E.; BUENO, S. Immobilized metal-ion affinity chromatography (imac) of biomolecules: fundamental aspects and technological applications. Quimica Nova, v. 32, n. 5, p. 1288-1296, 2009.

CELIK, A.; DINCER, A.; AYDEMIR, T. Characterization of beta-glucosidase immobilized on chitosan-multiwalled carbon nanotubes (MWCNTS) and their application on tea extracts for aroma enhancement. International Journal of Biological Macromolecules, v. 89, p. 406-414, 2016.

CIPOLATTI, E. et al. Current status and trends in enzymatic nanoimmobilization. Journal of Molecular Catalysis B-Enzymatic, v. 99, p. 56-67, 2014.

FARINAS, C. et al. Adsorption of myoglobin onto hydroxyapatite modified with metal ions. Adsorption Science & Technology, v. 25, n. 10, p. 717-727, 2007.

GHOSE, T. Measurement of cellulase activities. Pure and Applied Chemistry, v. 59, n. 2, p. 257-268, FEB 1987.

GIROTO, A.; FIDELIS, S.; RIBEIRO, C. Controlled release from hydroxyapatite nanoparticles incorporated into biodegradable, soluble host matrixes. Rsc Advances, v. 5, n. 126, p. 104179-104186, 2015.

MICHLMAYR, H.; KNEIFEL, W. beta-Glucosidase activities of lactic acid bacteria: mechanisms, impact on fermented food and human health. Fems Microbiology Letters, v. 352, n. 1, p. 1-10, MAR 2014.

PURI, M.; BARROW, C.; VERMA, M. Enzyme immobilization on nanomaterials for biofuel production. Trends in Biotechnology, v. 31, n. 4, p. 215-216, APR 2013 2013.

SHEWALE, J. Beta-glucosidase - its role in cellulase synthesis and hydrolysis of cellulose. International Journal of Biochemistry, v. 14, n. 6, p. 435-443, 1982.

VIEIRA, M. et al. beta-Glucosidase immobilized and stabilized on agarose matrix functionalized with distinct reactive groups. Journal of Molecular Catalysis B-Enzymatic, v. 69, n. 1-2, p. 47-53, 2011.

XIE, W.; ZANG, X. Covalent immobilization of lipase onto aminopropyl-functionalized hydroxyapatite-encapsulated-gamma-Fe2O3 nanoparticles: A magnetic biocatalyst for interesterification of soybean oil. Food Chemistry, v. 227, p. 397-403, 2017.

IMOBILIZAÇÃO DE FITASE EM NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA

Mayerlenis J. Rojas[1], Marina Momesso[1,2], Luiz H. C. Mattoso[1], Cristiane S. Farinas[1]

[1]Embrapa Instrumentação, Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, São Carlos, SP,
[2]Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG
mayerlenis@gmail.com

Classificação: Processos de imobilização de biomoléculas e funcionalização em nanopartículas

Resumo
O objetivo deste trabalho foi estudar a imobilização da enzima fitase usando nanopartículas de quitosana. As nanopartículas de quitosana produzidas por aspersão em um sistema de fiação por sopro foram utilizadas para imobilizar a fitase mediante três métodos: adsorção, adsorção seguida por entrecruzamento com amido-aldeído e entrecruzamento simultâneo entre enzima-amido e quitosana. Os três métodos se mostraram altamente eficientes apresentando rendimentos superiores a 92%. Dentre os métodos estudados a adsorção seguida por entrecruzamento com amido-aldeído rendeu o derivado mais ativo apresentando 90,8% de atividade recuperada. Estes resultados indicam possíveis aplicações deste biocatalisador na indústria de rações animais.

Palavras-chave: Quitosana; Nanopartículas; Fitase, Imobilização

PHYTASE IMMOBILIZATION ON CHITOSAN NANOPARTICLES

Abstract
The aim of this work was to study the immobilization of phytase on chitosan nanoparticles. Chitosan nanoparticles produced by spraying in a solution blow spinning system were used to immobilize phytase by three methods: adsorption, adsorption followed by cross-linking with aldehyde-starch (DAS) and simultaneous cross-linking between enzyme-DAS and chitosan. The three methods were highly efficient with yields higher than 92%. Among the studied methods the adsorption followed by cross-linking with DAS yielded the most active derivative, which showed 90.8% of activity recovery. These results indicate possible applications of this biocatalyst in the animal feed industry.

Keywords: Chitosan; Nanoparticles; Phytase; Immobilization.

1 INTRODUÇÃO

O fitato é a principal forma de armazenamento do fósforo nos cereais e leguminosas, constituindo entre 60-90% do teor total de fósforo nas plantas. A alimentação animal é principalmente de origem vegetal (sementes oleaginosas, grãos de cereais e leguminosas) e, por conseguinte, contêm muito fitato (Reddy, 1982). No entanto, estima-se que cerca de dois terços deste fósforo é pouco digerido pelos organismos monogástricos, já que estes não produzem quantidades suficientes da enzima fitase para hidrolisar o fitato (Bedford 2000). Consequentemente, fontes de fósforos inorgânicas são usualmente adicionadas às rações animais.

Embora a suplementação de fósforo inorgânico nas rações animais aumente a sua disponibilidade, a grande maioria do fósforo que não é assimilado pelos organismos termina no meio ambiente mediante a secreção das fezes, causando problemas de contaminação e poluição. Assim, a degradação do fitato por enzimas exógenas aumentaria a disponibilização do fósforo e mineriais nos animais e reduziria o impacto ambiental causado pelas elevadas cargas de fósforo nos efluentes agrícolas (Kumar et al

2016). Contudo, a fragilidade operacional destas enzimas em condições extremas de pH e temperatura são as principais limitações do uso das fitases nas rações animais.

Uma alternativa para contornar esses inconvenientes consiste na imobilização de enzimas usando suportes sólidos. Recentemente, a imobilização de enzimas em nanopartículas vem ganhando cada vez mais interesse devido à grande área superficial destes materiais, a qual permite imobilizar maior quantidade de enzima por unidade de massa (Greiner et al, 2013). Entre os materiais mais amplamente utilizados, destaca-se a quitosana por ter muitas propriedades biológicas tais como: não toxicidade, biodegradabilidade e biocompatibilidade (Lee et al, 1995). Neste contexto, este trabalho tem por objetivo desenvolver um biocatalisador não tóxico com possíveis aplicações para rações animais mediante a imobilização da enzima fitase em nanopartículas de quitosana.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Materiais

A enzima Fitase (Smizyme Phytase 5000) utilizada foi produzida pela Beijing Smile feed Sci (China). Quitosana foi adquirida da Polymar (Fortaleza, Brasil), ácido fítico da marca Sigma-Aldrich SA (St. Louis, MO, EUA). Amido sóluvel, molibdato de amónio e ácido tricloroacético foram adquiridos da Synth (Brasil). Outros reagentes de grau analítico.

2.2 Métodos

Preparação das nanopartículas de quitosana. As nanopartículas foram preparadas por aspersão usando um sistema de fiação por sopro. Uma solução de quitosana (10 g/L) em ácido acético 2% (v/v) foi transferida a uma seringa de vidro e ejetada a uma vazão de 0.1 ml/min usando uma bomba de infusão (New Era, modelo NE-300). A solução foi aspergida usando ar comprimido a 2 Psi e coletada em 50 mL de uma solução de tripolifosfato de sódio (0,1 g/L) sobre agitação magnética. As nanopartículas foram centrifugadas por 15 min a 8000 rpm e resuspendidas em agua destilada para posterior uso.

Imobilização de Fitase. As nanopartículas de quitosana (200 mg) foram subersas em 5 mL de uma solução enzimática preparada em tampão fosfato de sódio (pH 7, 5mM), contendo uma carga enzimática de 10 mg de proteína/g suporte. A suspensão (solução enzimática + suporte) e o branco reacional (solução enzimática sem suporte) foram mantidos sob agitação a 25ºC. A imobilização da fitase nas nanopartículas de quitosana foi realizada por 3 métodos: adsorção (realizada por um tempo de 24 h), adsorção (22 h, pH 7, 5mM) seguida por entrecruzamento com amido-aldeído (3 h, pH 7, 5mM) e entrecruzamento simultaneo (quitosana-fitase e amido-aldeído) por 24 h. As etapas de entrecruzamento foram realizadas adicionando 250 µL de uma solução de amido-aldeído (30 g/L) ao início da imobilização (no caso do entrecruzamento simultâneo) ou após 22 h de adsorção para o caso da adsorção seguida por entrecruzamento. Após o período de imobilização os derivados (enzima imobilizada) foram lavados 2 vezes com tampão fosfato (pH 7, 5mM), centrifugados e resuspendidos em 5 ml de tampão acetato (100 mM, pH 5,5). O parâmetros da imobilização, rendimento e atividade recuperada, foram calculadas usando as equações (1) e (2) respectivamente:

$$R_I(\%) = \left(1 - A_{fs}\right) \times 100 \qquad (1)$$

$$A.R(\%) = \left(\frac{A_D}{A_o \times R_I}\right) \times 100 \qquad (2)$$

$$A_{fs} = \frac{Atividade\ final\ do\ sobrenadante}{Atividas\ final\ do\ branco} \qquad (3)$$

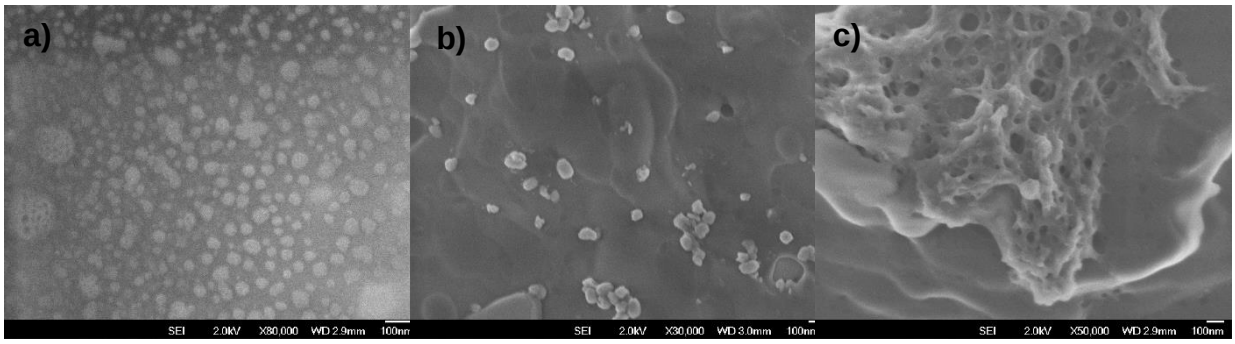
Onde R_I é o rendimento da imobilização, $A.R$ é a atividade recuperada, A_{fs} é a atividade da enzima não imobilizada ao final do processo de imobilização, A_D é a atividade do derivado (enzima imobilizada), A_o é a atividade inicial oferecida para a imobilização.

Determinação da atividade enzimática da fitase. A atividade da fitase foi determinada quantificando-se a liberação de fosfato em um período de 15 min de hidrólise de ácido fítico catalisada pela enzima. A concentração de fosfato liberado foi medida empregando o método descrito por Harlan e Harlan (1980). O substrato na concentração de 2.5 mM era diluído em tampão acetato (50 mM, pH 5.5), a esta solução eram adicionados determinados volumes de solução enzimática livre ou derivado (resuspendido em tampão), a mistura resultante era incubada a 37°C por 15 min sob agitação. Após o periodo de reação, era retirada uma alíquota de 400 µL do meio reacional e a reação era interrompida adicionando 200 µL de acido tricloroacetico 10% m/v. Em seguida, foram adicionados 200 µL de agua destilada e 500 µL do reagente Taussky Schoor. As absorbâncias foram medidas a 660 nm, contra um branco contendo 0,4 mL de substrato (fitato de sódio em tampão acetato) sem a presença da enzima. A quantificação do fosfato liberado foi realizada usando uma curva padrão de KH_2PO_4. Uma unidade de atividade fitasica (FTU) foi definida como a quantidade de fitase requerida para liberar 1µmol de fósforo em 1 min nas condições de ensaio (pH 5,5; 37°C).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1a apresenta a morfologia e o tamanho das nanopartículas de quitosana.Nota-se que a grande maioria das nanopartículas apresentou formas esféricas com pequenas porosidades e tamanhos de partícula com diâmetros menores que 100 nm. As nanopartículas de quitosana usadas para a adsorção da fitase (Fig. 1b) não apresentaram cavidades, mostrando que estes espaços vazios foram ocupados provavelmente pelas moleculas de enzimas. Observa-se também que o entrecruzamento simultâneo das enzimas com as particulas de quitosana utilizando amido-aldeído, além de formar ligações covalentes entre os grupos aldeídos do amido-aldeído e os grupos aminos da quitosana também levou a uma macro-reticulação entre as nanopartículas de quitosana e enzima, formando derivados de maior tamanho.

Figura 1. Imagens de microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (FEG) das particulas de quitosana (a), enzima adsorvida nas nanopartículas (b), enzima imobilizada por entrecruzamento simultáneo com amido-aldeído (c).



Na presença de polieletrólitos aniônicos, tais como o tripolifosfato de sódio, a quitosana forma esferas compostas em sua superfície por grupos hidroxilas e aminas, que as tornam interessantes para a imobilização de enzimas (Viera et al, 2013). A Tabela 1 mostra os resultados dos parâmetros avaliados na imobilização da fitase usando nanopartículas de quitosana. Observa-se que a adsorção da fitase nas nanopartículas seguidas por entrecruzamento com amido-aldeído apresentou a máxima atividade recuperada (90,8 %), provavelmente a adição do amido aldeído após as 22 h favoreceu o acoplamento da enzima adsorvida à quitosana mediante ligações covalentes. Por outro lado, longos periodos de entrecruzamento simultaneo (24 h) entre a enzima e o suporte levaram à distorção da estrutura da enzima por entrecruzamento excessivo, rendendo derivados com a menor atividade recuperada (72 %).

Tabela 1. Parámetros da imobilização da fitase em nanopartículas de quitosana

Método de imobilização	Rendimento (%)	Atividade Recuperada (%)
Adsorção	92,1	81,8
Adsorção(pH 7, 5mM, 22h) seguida por ligação covalente (pH 7, 5mM, 3h)	99,2	90,8
Entrecruzamento simultaneo (pH 7, 5mM, 24h)	99,7	72,6

4 CONCLUSÃO

Neste trabalho mostrou-se que as nanopartículas de quitosana preparadas por aspersão em sistemas de fiação por sopro apresentaram resultados promissores na utilização como suporte para a imobilização de fitase por adsorção física, adsorção e reticulação com amido e entrecruzamento simultâneo. Este biocatalisador (de baixa citoxicidade) apresenta um grande potencial de aplicação para ser suplementado nas rações animais.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Embrapa, MCTI/SISNANO, CNPq, FAPESP e CAPES pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

Bedford, M. R. Exogenous enzymes in monogastric nutrition - their current value and future benefits. Animal Feed Science and Technology, v. 86, p. 1-13, 2000.

Greiner et al. Production of partially phosphorylated myo-inositol phosphates using phytases immobilised on magnetic nanoparticles. Bioresource Technology, v. 142, p. 375–383, 2013.

Harland, B.F. and J. Harland. Fermentative reduction of phytic acid in rye, wheat and whole wheat bread. Cereal Chem., v. 57, p.226-229, 1980.

Kumar A., Chanderman A. and Singh S. Microbial production of phytases for combating environmental phosphate pollution and other diverse applications. Journal Critical Reviews in Environmental Science and Technology, v. 46, 2016.

Lee, K.Y., Ha, S.W., Park, W.H. Blood biocompatibility and biodegradability of partially N-acylated chitosan derivatives. Biomaterials v.16, p.1211–1216, 1995.

Reddy, N. R., S. K. Sathe, and D. K. Salunkhe Phytates in legumes and cereals. Advances in Food Research, v. 28, p. 1- 92, 1982.

Vieira et al. Hydrolysis of lactose in whole milk catalyzed by B-galactosidase from Kluyveromyces fragilis immobilized on chitosan-based matrix. Biochemical Engineering Journal, v. 81, p. 54- 64, 2013.

INTERCALAÇÃO DE SULFADIAZINA DE PRATA EM HIDRÓXIDO DUPLO LAMELAR POR RECONSTRUÇÃO ESTRUTURAL

Davi R. Munhoz[1*], Marcela P. Bernardo[1], Francys K.V. Moreira[2], Luiz H. C. Mattoso[1]

*[1]Laboratório Nacional de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio, Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP, Brasil, *davimunhoz.ufscar@gmail.com*
[2]Departamento de Engenharia de Materiais, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, Brasil.

Classificação: Processos de imobilização de biomoléculas e funcionalização em nanopartículas.

Resumo
Este trabalho avaliou a intercalação do antimicrobiano sulfadiazina de prata em hidróxido duplo lamelar hidrotalcítico (HDL-MgAl). A sulfadiazina de prata foi intercalada no HDL-MgAl através do método reconstrução estrutural. Os resultados de DRX indicaram o fenômeno de intercalação no qual as moléculas do antimicrobiano preencheram os espaços interlamelares do HDL, sugerindo que esses dois componentes interagiram em nível molecular. O composto de intercalação formado apresentou atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* (gram-positiva) *Escherichia. coli* e *Salmonella. enterica* (gram-negativas). A intercalação de sulfadiazina de prata em HDL hidrotalcítico não restringiu sua atividade biocida.
Palavras-chave: Biohíbridos; Multifuncionalidade; Intercalação; Liberação Controlada.

INTERCALATION OF SILVER SULFADIAZINE IN LAYERED DOUBLE HYDROXIDE BY STRUCTURAL RECONSTRUCTION

Abstract
This work was aimed at intercalating the antimicrobial silver sufadiazine in hydrotalcite-like layered double hydroxide (LDH-MgAl). Silver sulfadiazine was intercalated in LDH-MgAl through the structural reconstruction method. XRD results indicated the intercalation phenomenon in which the antimicrobial molecules filled the interlamellar spaces of LDH-MgAl, suggesting that these two components interacted at the molecular level. The intercalation compound showed antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* (gram-positive) *Escherichia coli* e *Salmonella enterica* (gram-negatives). Intercalation of silver sulfadiazine in hydrotalcite-like LDH did not restrict its biocidal activity.
Keywords: Biohybrids; Multifunctionality; Intercalation; Controlled Release.

1 INTRODUÇÃO

Hidróxidos duplo lamelares (HDL) são uma classe de sólidos lamelares que apresentam grande potencial em nanotecnologia. Estes são argilas aniônicas com fórmula geral $[M^{2+}_{(1-x)}M^{3+}_{x}(OH)_2][A^{n-}]_{x/n}.mH_2O$, onde M^{2+} representa metais bivalentes, M^{3+} metais trivalentes e A^{n-} são espécies aniônicas interlamelares (EVANS & SLADE, 2006). Os HDL contendo magnésio e alumínio (HDL MgAl), também conhecidos como HDL hidrotalcíticos, são o exemplo mais bem conhecido dentro da família de HDL. Estas substâncias têm sido estudadas com fins especiais em tecnologias farmacêuticas para carreamento de fármacos, além de apresentarem potencial como reforços em polímeros para aplicações de alto valor agregado na agricultura (EVANS & SLADE, 2006).

Curativos antimicrobianos têm interessado à comunidade científica nas últimas décadas. O desenvolvimento destes começou principalmente pela necessidade de tratamento tópico localizado, pois antibióticos orais não apresentavam a mesma eficiência (DAI et al., 2011; MOGOSANU et al., 2014). A sulfadiazina de prata (SDZ), diferentemente de antibióticos tradicionais normalmente ineficientes em tratar infecções localizadas, apresenta-se como um agente tópico qualificado, de acordo com entidades mundialmente renomadas. Esse agente é extremamente adequado para controlar infecções bacterianas em ferimentos acarretados por queimaduras de segunda grau, pois liga-se a pares

de bases nas duplas hélices do DNA, inibindo assim a transcrição bacteriana e de fagos (RAI et al., 2009).

Esse trabalho teve como objetivo intercalar a sulfadiazina de prata em hidróxido duplo lamelar hidrotalcítico (HDL-MgAl) visando a desenvolver um biohíbrido com potencial de aplicação em curativos antimicrobianos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Reconstrução Estrutural

A intercalação de SDZ em HDL-MgAl foi realizada através de reconstrução estrutural (DE ROY et al., 2001). As condições experimentais necessárias para formação de produtos HDL cristalinos foram estabelecidas pela reconstrução do HDL em água pura na temperatura de 25°C durante 24 h (BERNARDO et al., 2016). Primeiramente, amostras de HDL comercial foram calcinadas em mufla a 600°C numa taxa de aquecimento padronizada de 30°min^{-1}. Então, 500 mg de HDL calcinado foram adicionados a seis soluções distintas contendo água e SDZ (0,008 g L^{-1}; 0,024 g L^{-1}; 0,01 g L^{-1}; 0,125 g L^{-1}; 0,25 g L^{-1}; 0,5 g L^{-1} e 1 g L^{-1}). A temperatura do reator foi ajustada para 75°C. O reator foi então fixado sobre um agitador magnético. As misturas foram constantemente agitadas durante 24 h e então centrifugadas a 11,000 g durante 10 min (BERNARDO et al., 2016). Para remover o excesso de sulfadiazina, as amostras foram lavadas com metanol em filtro com cerâmica sinterizada e filtração a vácuo e secada em estufa a 45°C para caracterizações posteriores.

2.2 Técnicas de Caracterização

A difratometria de Raios-X (DRX) foi realizada com um difratrômetro XRD 6000 (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão) operando com radiação Cu K_α (λ = 1,5405 Å) monocromatizada com um filtro de Ni. O ânodo de cobre foi excitado com uma tensão de 30 kV e corrente de 30 mA. A intensidade do feixe difratado foi coletada à 25°C na faixa de ângulos de Bragg de 3 – 80º utilizando uma velocidade de varredura de 1º min^{-1}. A partir do ângulo de difração, o espaçamento interplanar para cada família de planos (*hkl*) foi calculado a partir da Lei de Bragg: $n\lambda = 2d\,\text{sen}\theta$, onde d e θ são a distância e o ângulo entre dois planos (hkl) consecutivos na rede cristalina, λ é o comprimento de onda do raio-X, e n é a ordem de difração. O espaçamento basal d_{001} para a arquitetura lamelar dos HDL corresponde à soma da altura da galeria (espaçamento interlamelar) mais a espessura da lamela do HDL, w = 4,77 Å (BERNARDO et al., 2016). A intercalação de SDZ resulta no aumento do espaçamento interlamelar. Este espaçamento para os biohíbridos HDL-Mg/Al-SDZ foi calculado a partir de d_{001}.

A atividade antimicrobiana foi avaliada por testes de difusão em meio ágar frente a culturas de *Escherichia coli* (ATCC 11229), *Staphylococcus aureus (*ATCC 6538) e *Salmonella enterica* (NCTC 6017). Estes microrganismos foram fornecidos pelo laboratório de ensaios microbiológicos da Embrapa Instrumentação. As culturas dos três microrganismos foram previamente cultivadas em placa de petri contendo Mueller Hintor solidificado (Becton, Dickinson e Co., Sparks, MD). Os microrganismos foram inoculados em tubos contendo seus meios não solidificados (sem adição de ágar) para desenvolvimento e crescimento de novo inóculo. A concentração celular destes microrganismos foi padronizada com a escala McFarland 0.5 para as concentrações finais de 10^8 células mL^{-1}. Para os testes antimicrobianos, 10 mg de amostra foram adicionadas no centro das placas de petri, as quais foram incubadas por 24 h em temperatura ótima de crescimento para cada microrganismo. A formação de halo de inibição ou inibição por contato foi avaliada para cada teste.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Intercalação da sulfadiazina em HDL-MgAl

A série de HDL-MgAl incorporado com SZD nas concentrações entre 0,008 e 1 g L^{-1} por reconstrução estrutural foram caracterizados por difratometria de raios-X (DRX). Os difratogramas foram agrupados em faixas de baixa (0,008 – 0,1 g L^{-1}) e alta concentração (0,125 – 1 g L^{-1}), Figura 1.

O perfil de difração do HDL-MgAl reconstruído em água pura, Figura 1a, corrobora com outros perfis documentados na literatura (BERNARDO et al., 2016). Todos os picos foram indexados à série de linhas de reflexões basais (00l) e difrações (110) e (113) características da simetria romboédrica (R3$\bar{1}$m) (JCPDF 54-1030) que é típica de HDL (BERNARDO et al., 2016). O resultado encontrado confirma que a fase cristalina HDL foi obtida com sucesso após o processo de reconstrução estrutural.

Na presença de SDZ nas concentrações entre 0,008 e 0,1 g L^{-1} todas as reflexões referentes à fase HDL foram mantidas, Figura 1a. Entretanto, observa-se o surgimento de novas reflexões em 8,98° e 10,19° de 2θ para a concentração de 0,1 g L^{-1}. A reflexão em 10,19° corresponde à reflexão da SDZ pura, a qual é conhecida por ser um antimicrobiano de estrutura cristalina (VENKATARAMAN, 2013). Todavia, a reflexão em 8,98° é inédita, sugerindo que o HDL-MgAl sofreu intercalação parcial pela SZD. O espaçamento interlamelar desta nova reflexão equivale a 0,507 nm, o qual é quase duas vezes maior do que espaçamento interlamelar do HDL-MgAl sem SDZ, 0,269 nm.

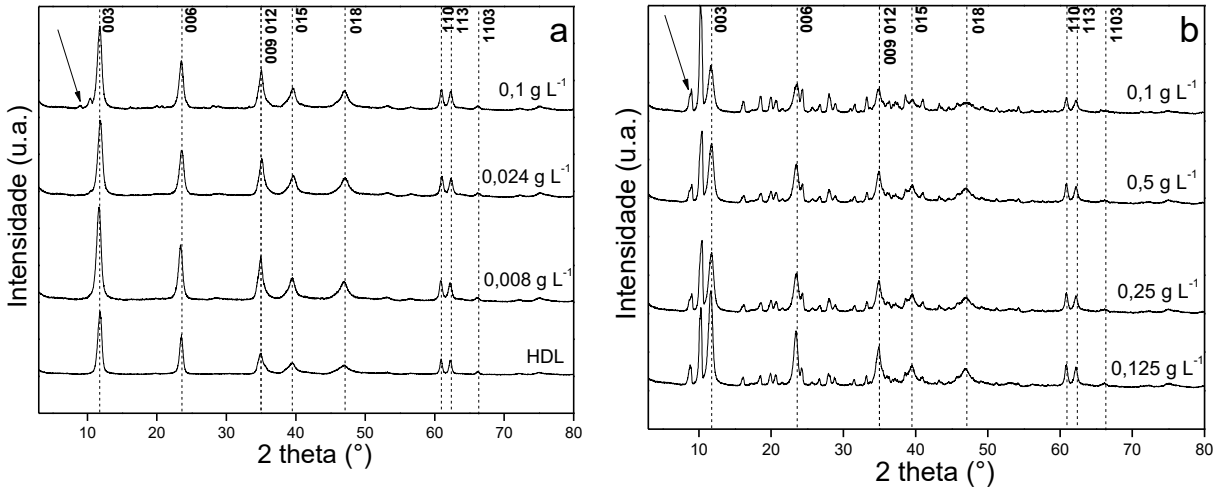


Figura 1: Perfis de DRX (Cu Kα, λ = 1,5405 Å) registrados a 25 °C para os HDL incorporados com sulfadiazina de prata por reconstrução estrutural. (a) 0,008 – 0,1 g L^{-1} (b) 0,125 – 1 g L^{-1}.

Para a faixa de alta concentração de SDZ (entre 0,125 e 1 g L^{-1}), Figura 1b, observa-se, além das reflexões típicas de HDL e do pico referente à intercalação, um aumento na intensidade da reflexão em 10,19° referente à SDZ pura e surgimento de novas reflexões. A intensidade do pico em 10,19° aumenta proporcionalmente à concentração inicial de SDZ. Tal comportamento indica um excesso de SDZ livre no biohíbridos para concentrações a partir de 0,125 g L^{-1}. Neste caso, foi preciso submeter os biohíbridos HDL-MgAl/SDZ a um procedimento de lavagem com metanol para remoção da SDZ livre.

3.2 Avaliação da atividade antimicrobiana do biohíbrido SDZ/HDL-MgAl

O biohíbrido SDZ/HDL-MgAl, formado após reconstrução estrutural apresentou atividade antimicrobiana contra *S. aureus* (gram-positiva) *E.coli* e *S. enterica* (gram-negativas) como demonstrado na Figura 2.



Figura 2: Atividade antimicrobiana do biohíbrido SDZ/HDL-MgAl em cultivos de S.*aureus; E. coli* e *S.enterica*.

Observa-se que SDZ/HDL-MgAl apresentou atividade antimicrobiana devido à formação de halos para as três culturas. No cultivo da *S. aureus* o tamanho do halo foi de 1,45 cm, de acordo com as três réplicas preparadas; enquanto no cultivo de *E. coli* apresentou 0,85 cm de halo em média; e o halo de inibição formado para *S. enterica* foi em média de 0,83 cm. Esses resultados representam um potencial de ação antimicrobiano da SDZ tanto para bactérias gram-negativas como gram-positivas encontradas em regiões entéricas e também em ferimentos locais tanto em humanos como em mamíferos no geral. A próxima etapa será avaliar o perfil de liberação da SDZ quando intercalada no HDL hidrotalcítico.

4 CONCLUSÃO

Foi possível intercalar SDZ em HDL-MgAl utilizando o método de reconstrução estrutural; além disso, notou-se que esse biohíbrido apresentou atividade antimicrobiana contra *E. coli*, *S. aureus*, e *S. enterica*, enfatizando assim um potencial antimicrobiano desse biohíbrido. A intercalação de SDZ em HDL hidrotalcítico não restringiu sua atividade biocida.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a EMBRAPA Instrumentação, SISNano/MCTI e CNPQ-PIBIC (Processo CNPQ n° 145851/2016-8) pelo apoio financeiro.

.

REFERÊNCIAS

BERNARDO, M. et al. Physico-chemical assessment of [Mg-Al-PO_4]- LDH obtained by structural reconstruction in high concentration of phosphate. In: *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* v.497, p 53-62, 2016.

DAI, T. et al. Chitosan preparations for wounds and burns: antimicrobial and wound-healing effects. In: *Expert review of anti-infective therapy* v. 9 n.7 p. 857-879, 2011.

EVANS, D. G.; SLADE, R. C. T. Structural Aspects of Layered Double Hydroxides. Em: Duan, X.; Evans, D. G. In: Layered Double Hydroxides, Structure and Bonding Series, Springer Berlin Heidelberg New York. p. 1-88, 2006.

MOGOSANU, G. D.; GRUMEZESCU, A. M. Natural and synthetic polymers for wounds and burns dressing. In: *International journal of pharmaceutics* v.463 n. 2 p.127-136, 2014

RAI, M. et al. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. In: *Biotechnology Advances* v.27, n.1, p. 76-83, 2009.

VENKATARAMAN, M.; NAGARSENKER, M. Silver sulfadiazine nanosystems for burn therapy. In: *AAPS PharmSciTech* v.14, n.1, p. 254-264, 2013.

ESTUDO DE PRÉ-FORMULAÇÃO DE NANOVACINA PARA TRATAMENTO DA DOENÇA DE NEWCASTLE EM AVES

Francisco Noé da Fonseca[1], Lana Flávia Baron[2], Iara Maria Trevisol[1], Ana Paula Bastos[1], Liana Brentano[1]

[1]Embrapa Suínos e Aves; [2]Universidade do Contestado
e-mail: francisco.fonseca@embrapa.br

Classificação: Processos de imobilização de biomoléculas e funcionalização em nanopartículas.

Resumo
A doença de Newcastle é uma patologia viral contagiante que acomete tanto aves domésticas quanto selvagens, possuindo, desta forma, elevado risco epidêmico, podendo acarretar grandes perdas econômicas. Atualmente as vacinas disponíveis para esta doença são do tipo viva atenuada ou inativada; neste sentido, o presente trabalho visou desenvolver uma nova vacina de base nanotecnológica (virossoma), que consiste no envelope viral reconstituído após remoção do nucleocapsídio. Uma amostra de baixa patogenicidade de vírus da doença de Newcastle foi cultivada em ovos embrionados e purificada em gradiente descontínuo de sacarose. Os vírus purificados foram dissolvidos com tensoativo (triton X-100) e, após ultracentrifugação, os envelopes foram reconstituídos pela remoção do tensoativo com uma resina adequada. Foram elaboradas duas formulações, uma contendo apenas o envelope viral e outra com adição de fosfolipídios. Determinou-se o título de hemaglutinação da amostra viral antes e após a obtenção dos virossomas e foi observado que a formulação incrementada com fosfolipídios teve aumento no título de hemaglutinação. Os dados obtidos sugerem a potencialidade deste tipo de sistema para a produção de uma nanovacina, porém estudos adicionais são necessários para estabelecer sua viabilidade e efetividade vacinal.

Palavras-chave: Virossoma; Nanovacina; Doença de Newcastle; Virologia aviária; Imunologia

PRE-FORMULATION STUDY FOR A NANOVACCINE AGAINST THE NEWCASTLE'S DISEASE IN POULTRY

Abstract
The Newcastle's disease is a contagious viral pathology that infects both domestic and wild birds, having, thus, a high epidemic risc and it can impact negatively the economy. Nowadays, the available vaccines for this disease are the live attenuated or inactivated one; in this context, the present work aimed to develop a new nanotechnological vaccine (virosome), that consists of reconstituted viral envelope after nucleocapside removal. A low pathogenicity sample of Newcastle's disease virus was cultivated in embryonated eggs and purified in a discontinuous sacarose gradient. The purified virus was dissolved in surfactant (triton X-100) and, after ultracentrifugation the envelopes were reconstituted by surfactant removal with a proper resin. Two formulations were elaborated; one was composed with only the virus envelope and the other with addition of phospholipids. The haemagglutination titer was determined for the virus prior the procedure and after virosome obtention. The formulation containing the additional phospholipids presented higher titer. These findings suggest the potentiality of this system for the production of a nanovaccine, but further evaluation is required to establish its viability and vaccinal effectivity.

Keywords: Virosome; Nanovaccine; Newcastle's Disease; Avian virology; Immunology

1 INTRODUÇÃO

A doença de Newcastle (DN) é uma patologia infecciosa causada por um vírus da família Paramyxoviridae, que possui fita simples de RNA negativa. Existem 3 tipos de cepas, a velogênica

(extremamente virulenta), a mesogênica (virulência intermediária) e lentigênica (pouco virulenta). A forma velogênica causa severas alterações nevorsas e respiratórias nas aves acometidas, com rápida disseminação e alta taxa de mortalidade. O vírus da doença de Newcastle (VDN) é infeccioso tanto para aves domésticas (galinha, peru e pato) quanto para aves selvagens, o que eleva o potencial e risco epidêmico deste agente, e também pode resultar em grandes perdas econômicas para o setor da avicultura. Devido ao elevado risco sanitário desta doença, juntamente com a influenza aviária, corresponde a principal doença de monitoramento do Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), devendo todos os casos ser notificados e medidas sanitárias ambientais realizadas. Umas das ações de controle da doença é a vacinação obrigatória das aves, além de boas práticas no manejo animal (BACK; ISHIZUKA, 2010).

A proteção limitada das vacinas direcionou as pesquisas para a investigação de adjuvantes efetivos e sistemas de liberação controlada. Para a entrega de fármacos, os carreadores mais utilizados são os lipossomas (vesículas formadas a partir de bicamadas de fosfolipídios), as micropartículas poliméricas, nanopartículas, as vesículas e as micelas. No tocante aos lipossomas, sua aplicação como veículos de liberação de antígenos em razão do seu uso como adjuvante imunológico, apresentando como vantagens a fácil preparação, baixa toxicidade, biocompatibilidade e biodegradabilidade (BEN-YEHUDA et al., 2003; MAZUMDAR et al., 2004). Ainda, a conjugação de proteínas virais na membrana de lipossomas (virossoma) oferece a oportunidade para explorar o direcionamento e propriedades fusogênicas de membranas de proteínas virais. Esta propriedade dribla o inconveniente da degradação dos lisossomas antes de alcançarem o citoplasma, pois a nível celular, os virossomas podem atuar como o próprio vírus, introduzindo os antígenos dentro do citoplasma (KANEDA, 2000).

Para a ND, alguns estudos desenvolveram e avaliaram o potencial de vacinas virossomais (HOMHUAN et al., 2004; KAPCZYNSKI; TUMPEY, 2003). Em todos os casos, foi observada uma maior soroconversão em relação ao anticorpo anti-HA em comparação a vacina comercial (LaSota®, Zoetis). Além disso, devido à elevada capacidade fusogênica, vacinas que utilizam virossomas produzidos a partir do VDN como veículo tem sido investigada para carrear antígenos de outros patógenos (KAPCZYNSKI, 2004; MORRISON et al., 2010). Diante do exposto, o presente trabalho teve por objetivo obter formulações virossomais a partir do VDN para desenvolvimento de uma nova vacina contra DN.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Propagação e isolamento viral

Foi utilizada uma amostra de vírus de Newcastle não patogênica (nº 209/04) gentilmente cedida pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. O vírus foi propagado em ovos embrionados SPF de 9 dias, os quais foram incubados por 5 dias a 37°C em estufa. No último dia, os ovos foram refrigerados por 2 horas e o fluído corioalantoide foi recolhido para isolamento viral. Os fluidos foram unidos e purificados em gradiente descontínuo de sacarose (30/60%). A banda opaca formada na interface do gradiente foi recolhida e peletizada por ultracentrifugação. O pellet foi ressuspendido em tampão TNE.

2.2 Preparação dos virossomas

Os virossomas foram preparados conforme descrito por Bron et al, (1993) com modificações. Inicialmente, uma alíquota da suspensão (3 µL) viral foi diluída 1:1000 (v/v) em uma solução de triton X-100 1% (m/v) em tampão TNE. Essa solução foi misturada por pipetagem por alguns segundos e submetida à ultracentrifugação (1h / 100000 x g / 4 °C) para remoção dos núcleocapsídeos. A formação dos virossomas deu-se espontaneamente a partir da remoção do tensoativo (triton); adicionaram-se 450 mg de resina (Biobeads SM2, Biorad) no sobrenadante e mantido em agitação por 1 h; a seguir, adicionou-se mais 250 mg de resina e o sistema foi agitado por mais 1 h. O líquido contendo os virossomas foi, por fim, filtrado em filtro 0,22 µm. Esta formulação foi denominada F1. Outra formulação (F2) foi preparada utilizando a mesma quantidade de vírus em um protocolo parcialmente modificado; inicialmente, foi preparada uma solução de fosfatidilcolina e fosfatidiletanolamina (120 e 22 mg/mL, respectivamente) em triton X-100. Esta solução foi diluída 1:8

(v/v) em triton e utilizada para a dissolução do vírus. As demais etapas foram realizadas conforme descritas anteriormente. As formulações foram realizadas em triplicata.

2.3. Teste de hemaglutinação

O sangue de aves SPF foi coletado tubo contendo EDTA e centrifugado (1500 rpm / 5 min). O sobrenadante foi descartado e o pellet de hemácias foi ressuspendido com PBS e centrifugado até o sobrenadante ficar límpido. Após a última centrifugação, o pellet resultante foi utilizado para preparar uma suspensão de hemácias 0,6% (m/v) em PBS. Em uma placa de 96 poços de fundo cônico, foi feita a diluição seriada (1:2) das amostras, utilizando PBS como diluente. Ao final, acrescentou-se 50 µL da suspensão de hemácias e aguardaram-se alguns minutos para observação do resultado. O título de hemaglutinação consiste na última diluição que não houve formação de botão de hemácias. Foram testadas tanto as formulações preparadas quanto à suspensão viral utilizada (diluição 1:1000).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Diversas abordagens podem ser utilizadas para a obtenção de vacinas, como a utilização de vacina viral viva atenuada, vetores virais, subunidades antigênicas, etc. No caso de vírus envelopado, como o vírus da doença de Newcastle, as proteínas do envelope, em especial a hemaglutinina, desempenham papel fundamental para a patogenia e resposta imune do organismo. Assim, desenvolver uma formulação que possua as proteínas virais de envelope é um ponto chave. Logo, no presente trabalho, utilizou-se o virossoma como estratégia para obtenção de uma vacina nanotecnológica, visto que consiste no envelope viral reconstituído, incorporado ou não de fosfolipídeos exógenos.

De forma sucinta, a preparação de um virossoma é constituída por 3 etapas: dissolução do envelope viral (tratamento com tensoativos hidrofílicos), remoção do nucleocapsídeo (ultracentrifugação) e reconstituição do envelope (remoção do tensoativo). Na primeira etapa de obtenção dos virossomas, foi utilizado o Triton X-100, um tensoativo hidrofílico com CMC de 0,22-0,24 mM e baixo custo. Contudo, sua remoção por diálise é praticamente inviável devido à formação de micelas em baixas concentrações. Neste caso, fui utilizada uma resina (Biobeads SM2) capaz de adsorver tensoativos com baixas CMC e ampla faixa de EHL. Esta resina é capaz de remover todo o triton X-100 de uma solução a 1% (p/v) num intervalo de 2 h e alta taxa de recuperação de proteína quando utilizado na proporção de 0,7 g de triton / g de resina úmida (HOLLOWAY, 1973). A efetividade da remoção pode ser observada pelo desaparecimento da espuma e leve opacidade da formulação, especificamente naquelas que foram acrescidas de fosfolipídios exógenos.

A hemaglutinina é uma das proteínas de envelope e é responsável pela interação da partícula viral com a superfície da célula (por meio de ligação com ácido siálico). Outra característica é a sua capacidade de induzir hemaglutinação, fato este que é utilizado como princípio do método de quantificação viral (titulação). Inicialmente, foi feita diferentes diluições da suspensão viral cultivada em ovos (1:1000, 1:10000 e 1:20000, v/v) e sua titulação. Foi observada que a diluição 1:1000 apresentou um título de hemaglutinação elevado (1:65536), em relação das demais diluições (1:128 e 0, respectivamente.

Após o fracionamento viral, utilizando a diluição 1:1000, e a reconstituição dos virossomas, sem ou com adição de fosfolipídios, foi determinado o título das formulações, os quais podem ser observados na Tabela 1.

Tabela 1. Título de hemaglutinação dos virossomas produzidos a partir de vírus da Doença de Newcastle de baixa patogenicidade (nº 209/04)

Formulação	Título de Hemaglutinação
F1	1:96
F2	1:1572864

Os valores representam a média do título de 3 formulações. F1 consiste no envelope viral reconstituído; F2 consiste no virossoma composto pelo envelope e fosfolipídios adicionais.

Foi verificado que as formulações produzidas apenas com os envelopes virais perderam consideravelmente título em comparação com o vírus antes do processamento. Por outro lado, a adição de fosfolipídios à formulação aumentou notoriamente o título final. Este fato pode ser decorrente de uma melhor acomodação e distribuição das moléculas de hemaglutinina nas vesículas lipossomais formadas.

4 CONCLUSÃO

A partir dos dados preliminares obtidos, é possível utilizar triton X-100 no processamento de envelope viral para obtenção de um protótipo vacinal para a doença de Newcastle. Ainda, a adição de fosfolipídios incrementou a capacidade hemaglutinante do sistema, o que indiretamente, pode sugerir uma melhor interação com as células do organismo. Vale destacar que análises adicionais são necessárias para consolidar a caracterização físico-química da formulação (diâmetro, composição quali-quantitativa proteica e morfologia), bem como sua atividade biológica, tanto *in vitro* (citotoxicidade e ativação de macrófagos) quanto *in vivo* (resposta imune e proteção vacinal).

AGRADECIMENTOS

Os autores gostariam de agradecer à técnica da virologia de aves, Tânia A. P. Klein, pela ajuda no cultivo viral e avaliação da atividade hemaglutinante, e ao CNPq pela bolsa de iniciação científica (PIBIC).

REFERÊNCIAS

BACK, A.; ISHIZUKA, M.M. Cartilha do produtor: principais doenças de notificação obrigatória da Organização Mundial de Saúde Animal. 1ª ed, São Paulo: Fundação Cargill, 2010. 112 p.

BEN-YEHUDA, A.; JOSEPH, A.; BARENHOLZ, Y. et al. Immunogenicity and safety of novel IL-2-supplemented liposomal influenza vaccine (INFLUSOME-VAC) in nursing-home residents. Vaccine, v.21, p.3169-78, 2003.

BRON, R; ORTIZ, A.; DIJKSTRA, J. et al. Preparation, properties, and applications of reconstituted influenza virus envelopes *(*Virosomes*).* Methods Enzymol, v. 220, p. 313-31, 1993.

HOLLOWAY, P.W. A simple procedure for removal of Triton X-100 from protein samples. Anal Biochem, v. 53, n. 1, p. 304-308, 1973.

HOMHUAN, A.; PRAKONGPAN, S.; POOMVISES, P. et al. Virosome and ISCOM vaccines against Newcastle disease: preparation, characterization and immunogenicity. Eur J Pharm Sci, v.22, p.459-68, 2004.

KANEDA, Y. Virosomes: evolution of the liposome as a targeted drug delivery system. Adv Drug Deliv Rev, v.43, p.197-205, 2000.

KAPCZYNSKI, D.R. Development of a virosome vaccine against avian metapneumovirus subtype C for protection in turkeys. Avian Diseases, v.48, p.332-43, 2004.

KAPCZYNSKI, D.R.; TUMPEY, T.M. Development of a virosome vaccine for Newcastle disease virus. Avian Diseases, v.47, p.578-87, 2003.

MAZUMDAR, T.; ANAM, K.; ALI, N.A mixed Th1/Th2 response elicited by a liposomal formulation of Leishmania vaccine instructs Th1 responses and resistance to Leishmania donovani in susceptible BALB/c mice. Vaccine, v.22, p.1162-71, 2004.

McGINNES, L.W.; PANTUA, H.; LALIBERTE, J.P. et al. Assembly and Biological and Immunological Properties of Newcastle Disease Virus-Like Particles. J Virol, v.84, p.4513–23, 2010.

MORRISON, T.G. Newcastle disease virus-like particles as a platform for the development of vaccines for human and agricultural pathogens. Future Virology, v.5, p.545-54, 2010.

EFEITO DO PH NO PROCESSO DE IMOBILIZAÇÃO DE LIPASE DE THERMOMYCES LANUGINOSUS EM HA:FE_3O_4

Hanna Gomes Tavares[1], Julianna dos Santos Viana[1], João Otávio D. Malafatti[2], Elaine Cristina Paris[3], Ana Iraidy Santa Brígida[4]

[1]Fundação Centro Universitário Estadual da Zona Oeste, [2]Universidade Federal de São Carlos, [3]Embrapa Instrumentação, elaine.paris@embrapa.br, [4]Embrapa Agroindústria de Alimentos, ana.iraidy@embrapa.br

Classificação: Processos de imobilização de biomoléculas e funcionalização em nanopartículas

Resumo

Partículas nanoestruturadas, em especial a base de óxido de ferro, recentemente, tem sido bastante aplicadas na imobilização de lipases. No presente trabalho, avaliou-se a influência do pH de imobilização de lipase de *Thermomyces lanuginosus* em suportes nanoestruturados de hidroxiapatita e óxido de ferro. Para tanto, tampão fosfato e citrato fosfato foram utilizados para preparar solução de LTL em valores distintos de pH. A imobilização ocorreu por adsorção, em sistema agitado de banho-finito, por 5h. Atividade da enzima livre e imobilizada foi determinada utilizando p-nitrofenil lautaro como substrato. E rendimento e eficiência de imobilização foram calculados. O processo de imobilização mostrou-se dependente do pH, indicando a influência de forças eletrostáticas. O pH de imobilização mais adequado para adsorver lipase de *T. lanuginosus* em suporte nanoestruturado de hidroxiapatita e magnetita, nas condições de estudo, foi pH 5, por apresentar maior atividade hidrolítica (543±52 U/g de suporte) e atividade específica (343,8 U/mg de proteína) no derivado com 13,7% de eficiência.

Palavras-chave: Adsorção; Enzima; Magnetita; Hidroxiapatita; Suporte nanoestruturado

EFFECT OF PH ON THE IMMOBILIZATION OF LIPASE FROM THERMOMYCES LANUGINOSUS ON HA:FE_3O_4

Abstract

Nanostructured particles, especially based on iron oxide, have recently been widely applied in the immobilization of lipases. In the present work, the influence of pH on the immobilization of lipase from *Thermomyces lanuginosus* on nano-structured supports of hydroxyapatite and iron oxide was evaluated. For this purpose, phosphate buffer and citrate phosphate were used to prepare LTL solution at different pH values. The immobilization occurred by adsorption, in a stirred bath-finite system, for 5h. Activity of the free and immobilized enzyme was determined using p-nitrophenyl laurate as substrate. And immobilization efficiency and yield were calculated. The immobilization process was pH-dependent, indicating the influence of electrostatic forces. The best immobilization pH to adsorb lipase from *T. lanuginosus* on nanostructured hydroxyapatite and magnetite under studied conditions was pH 5, due to the higher hydrolytic activity (543 ± 52 U / g of support) and specific activity (343.8 U/mg protein) for immobilized enzyme with 13.7% of efficiency.

Keywords: Adsorption; Enzyme; Magnetite; Hydroxyapatite; Nanostructured support

1 INTRODUÇÃO

A estabilização de enzimas é um fator crucial para tornar o biocatalisador aplicável industrialmente. Para tanto, investimento em pesquisas visando melhor método de estabilizar uma enzima em potencial é realizado. As rotas vão desde determinar uma formulação estabilizadora adequada para um dado extrato, ao uso de engenharia de proteínas, passando, também pela estratégia de imobilização. A imobilização possibilita o reuso da enzima, como também, pode melhorar a estabilidade e a atividade, elevar o grau de pureza do produto de interesse, além da possibilidade do desenvolvimento de processos contínuos, aumentando a produtividade e reduzindo os custos de produção (FERNANDES-LAFUENTE, 2010).

A enzima pode ser imobilizada em diversos suportes de forma a melhorar a sua estabilidade e manter o seu poder catalítico. Dentre os suportes para imobilização conhecidos, um que tem ganhado bastante destaque nos últimos anos são as nanopartículas magnéticas. Partículas nanoestruturadas, em especial a base de óxido de ferro, vem sendo aplicadas na imobilização de enzimas com resultados impactantes como alta estabilidade operacional (GHASEMI et al., 2014; SARNO et al., 2017; WANG et al., 2015). Wang et al. (2015), por exemplo, imobilizaram lipase de *Thermomyces lanuginosus* em suporte nanoestruturado de óxido de ferro com quitosana. O rendimento de imobilização máximo foi de 85% e, após definir condições otimizadas de imobilização, produziram um derivado capaz de reter 70% da atividade inicial após 10 ciclos reacionais.

As lipases estão entre as enzimas mais utilizadas na biocatálise devido ao seu baixo custo frente a outras enzimas, à sua grande disponibilidade, à sua ampla especificidade acoplada em certos casos, e a uma alta seletividade enantiométrica presente em algumas lipases (FERNANDES-LAFUENTE, 2010). Neste contexto, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a influência do pH de imobilização de lipase de *Thermomyces lanuginosus* em suportes nanoestruturados de hidroxiapatita e óxido de ferro.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

Extrato comercial de lipase de *Thermomyces lanuginosus* (lipolase®) foi doado pela Novozymes. Reagentes como p-nitro fenil laurato, albumina de soro bovino e dimetilsulfóxido foram adquiridos da Sigma-Aldrich Chemical Co. Outros reagentes utilizados foram de grau analítico.

2.2 Síntese do suporte magnético nanoestruturado

Em água deionizada sob fluxo de N_2 foram adicionados $FeCl_2.4H_2O$ e $FeCl_3.6H_2O$ em quantidades estequiométricas, sendo o sistema mantido em agitação até a solução ficar homogênea. A seguir, gotejou-se uma solução 32% de NH_4OH até pH 14. Então, à suspensão resultante foi adicionada solução 0,1 M de ácido cítrico e a temperatura foi mantida em 90°C por 1,5 h. O precipitado obtido foi lavado até pH neutro. A seguir, o precipitado foi redisperso em água deionizada sob fluxo de N_2. A esta suspensão foram adicionados nitrato de cálcio tetrahidratado e fosfato de amônio em quantidades estequiométricas sob agitação. As concentrações dos reagentes foram dependentes das relações em massa de hidroxiapatita:magnetita (HA:Fe_3O_4), sendo iguais a 1:1. O sistema reacional foi mantido em pH 11 pela adição de NH_4OH e a suspensão foi aquecida a 90°C por 2 h. O precipitado resultante (suporte magnético nanoestruturado) foi centrifugado, lavado até pH neutro e seco em estufa.

2.3 Método de imobilização

A enzima comercial foi diluída na proporção volumétrica de 1:50 em tampão. O processo de imobilização ocorreu usando a técnica do banho finito, sob agitação, a 25°C, em agitador rotatório. A proporção de suporte para solução enzimática foi de 3,5 mg de nanopartícula para 1 ml de solução. O pH do meio foi variado utilizando tampão fosfato de sódio 10mM no pH 8, em tampão citrato-fosfato 10mM na faixa de pH de 4 a 7. Após 5 h de imobilização, o derivado foi separado do sobrenadante final fazendo uso de um ímã, sendo as amostras de sobrenadante e derivado reservadas análises posteriores (medida de atividade e determinação do teor de proteína). As enzimas imobilizadas foram lavadas três vezes com tampão fosfato de sódio 50 mM antes da determinação da atividade. Os parâmetros de imobilização Proteína adsorvida, Atividade recuperada e Eficiência de imobilização foram calculados conforme Equações 1, 2 e 3, respectivamente:

$$\text{Prot. Ads.} = [[[CPi] - [CPf]]*[V_E]]/[M_S] \quad (1)$$

onde CPi é concentração de proteína no sobrenadante inicial (mg/ml), CPf é concentração de proteína no sobrenadante final (mg/ml), V_E é o volume total de solução enzimática (ml) e M_S é a massa de suporte (g).

$$\text{Ativ. Rec.} = [[AEI] / [[AEO] - [AESF]]]*100 \quad (2)$$

onde AEI é a atividade da enzima imobilizada (U), AEO é a atividade total de enzima oferecida (U) e AESF é atividade da enzima no sobrenadante final (U) .

Eficiência = [[CPi] – [CPf]]/[CPi]*100 (3)
onde CPi é concentração de proteína no sobrenadante inicial (mg/ml) e CPf é concentração de proteína no sobrenadante final (mg/ml).

2.4 Medida de atividade e Determinação do teor de proteína adsorvida

O p-nitro fenil laurato (560 μM) foi utilizado como substrato padrão neste trabalho. A reação de hidrólise ocorreu à temperatura ambiente e foi acompanhada pela formação de p-nitro fenol em espectrofotômetro a 410nm (λ). Ao sistema reacional, adicionou-se 100μl de solução de enzima ou de suspensão do derivado em tampão de fosfato de sódio 50mM pH 7. Para esta metodologia, uma unidade (U) de atividade enzimática hidrolítica foi definida como a quantidade de enzima que libera 1 μmol de p-nitrofenol por minuto nas condições propostas. Com base nos valores de atividade obtidos, a atividade recuperada foi calculada.

A determinação do teor de proteína seguiu a metodologia de Bradford (1976), utilizando albumina de soro bovino como padrão. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro no comprimento de onda de 595nm. Com base nos valores obtidos, o teor de proteína imobilizada e a eficiência de imobilização foram calculados.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O efeito do pH do meio durante a adsorção de lipase em nanopartículas foi avaliado para a adsorção de lipase de *T. lanuginosus* em suporte nanoestruturado de hidroxiapatita e magnetita (Figura 1). Maior atividade no derivado (543±52 U/g de suporte) foi observada em pH 5. Quanto ao teor de proteína adsorvida e à eficiência de imobilização, estes foram maiores para pH 4 (2,88 mg/g e 26%, respectivamente), apresentando um perfil decrescente com o aumento do pH. Experimentos anteriores mostraram que o ponto isoelétrico do suporte utilizado é próximo a 2,5. E, como o ponto isoelétrico desta lipase é 4,4 (WANG et al., 2015), observa-se maior adsorção de proteína em pH 4, onde suporte e enzima encontram-se com cargas opostas. A condição de maior adsorção, promovida pelas forças eletrostáticas, não implica necessariamente em maior atividade no derivado nem maior atividade recuperada, como pôde ser observado na Figura 1. O efeito do pH de imobilização também foi investigado para a adsorção de lipase de *T. lanuginosus* em suporte de Fe_3O_4/quitosana utilizando tampão citrato no preparo das soluções enzimáticas (WANG et al., 2015). Maior quantidade de proteína imobilizada e atividade do imobilizado foram obtidas a pH 5. Comparando com o presente trabalho, apesar da proximidade dos valores de pH ótimo de imobilização, o percentual de proteína imobilizada foram bem diferentes. Utilizando uma relação enzima: suporte de 13 mg/g, Wang et al (2015) promoveu a imobilização de 90% da enzima oferecida, valor bem alto frente ao obtido neste trabalho (26%), onde aplicou-se 11 mg de enzima para 1 g de suporte. Alta eficiência de imobilização também foi observada por Ghasemi et al. (2014), em estudos de imobilização de lipase de *T. lanuginosus* por ligação covalente em suporte de Fe_3O_4/ZnO, onde 94% das proteínas oferecidas foram imobilizadas e 86% da atividade de lipase oferecida foi expressa no derivado.

Quanto à atividade recuperada, que faz referência ao percentual de atividade imobilizada expressa e a atividade teoricamente imobilizada, esta apresentou valores muito baixos indicando que, independente do pH, a maioria das lipases imobilizadas perderam sua atividade. Em qualquer das condições estudadas, não houve superativação das lipase, ao contrário do observado por Sarno et al. (2017) que ao imobilizar em pH 7 lipase de *T. lanuginosus* em nanopartículas de Fe_3O_4 funcionalizadas com ácido cítrico apresentou, no derivado, 144% da atividade de lipase oferecida. Maior eficiência na imobilização de proteínas foi observada em pH 7 e pH 4.

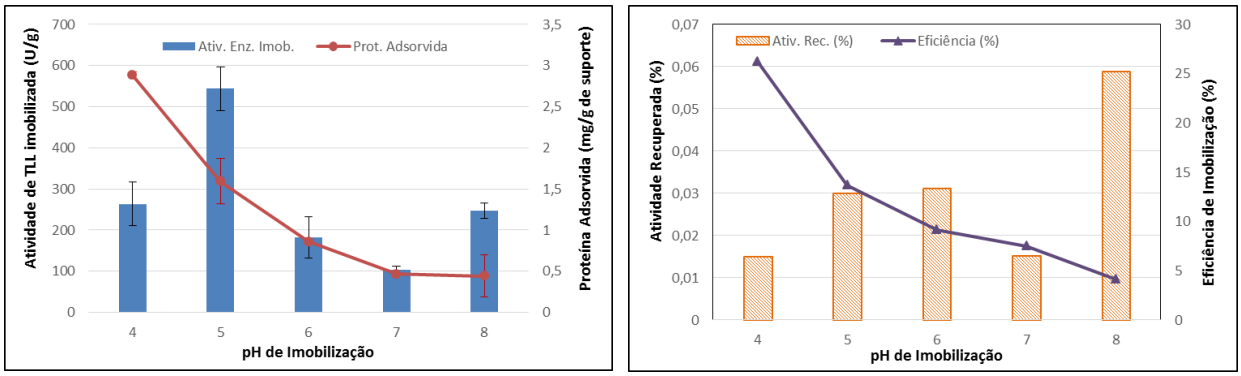


Figura 1. Influência do pH na imobilização de lipase de *Thermomyces lanuginosus* em suporte nanoestruturado de HA:Fe_3O_4 avaliando: (a) Atividade do imobilizado e Proteína Adsorvida; e (b) Atividade Recuperada e Eficiência de Imobilização.

4 CONCLUSÃO

Com base nos valores de atividade do imobilizado, proteína adsorvida, eficiência de imobilização e atividade recuperada pode-se concluir que, além das forças de Van der Waals, encontram-se presentes as forças eletrostáticas atuando neste processo de imobilização. E o pH de imobilização mais adequado para adsorver lipase de *T. lanuginosus* em suporte nanoestruturado de hidroxiapatita e magnetita, nas condições de estudo, foi pH 5, por apresentar maior atividade hidrolítica (543±52 U/g de suporte) e atividade específica (343,8 U/mg de proteína) no derivado com 13,7% de eficiência de imobilização das proteínas.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Embrapa pelo auxílio financeiro e ao CNPq pela bolsa de iniciação científica concedida à Hanna Gomes Tavares.

REFERÊNCIAS

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. 248-254, 1976.

FERNANDES-LAFUENTE, R. Lipase from *Thermomyces lanuginosus*: Uses and prospects as an industrial biocatalyst. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic. v. 62, p. 197-212, 2010.

GHASEMI, S. et al. Immobilization of lipase on Fe_3O_4/ZnO core/shell magneticnanoparticles and catalysis of Michael-type addition to chalcone derivatives. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic. v. 100, p. 121-128, 2014.

SARNO, M. et al. High activity and selectivity immobilized lipase on Fe_3O_4 nanoparticles for banana flavour synthesis. Process Biochemistry. v. 56, p. 98-108, 2017.

WANG, X.-Y. et al. Preparation Fe_3O_4@chitosan magnetic particles for covalent immobilization of lipase from *Thermomyces lanuginosus*. International Journal of Biological Macromolecules. v. 75, p. 44-50, 2015.

MODIFICAÇÃO MECANOQUÍMICA DE NANOTUBOS DE CARBONO COM ÁCIDO HÚMICO: ECOTOXICIDADE E APLICAÇÃO EM REMEDIAÇÃO AMBIENTAL

Francine Côa[1,2*], Mathias Strauss[1], Zaira Clemente[1,3], Laís L. Rodrigues Neto[1], Aline M.Z. Medeiros[1,2], Gabriela H. Silva[1,2], Fabrício Delite[1], Josias R. Lopes[1], Rafael S. Alencar[4], Antônio G. Souza Filho[4], Oswaldo L. Alves[5], Vera L. S.S. Lopes[3], Edison Barbieri[6], Diego S.T.Martinez[1,2]

*[1]Laboratório Nacional de Nanotecnologia, Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais, [2]Centro De Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, [3]Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Laboratório de Ecotoxicologia e Biossegurança, [4]Universidade Federal do Ceará, Departamento de Física, [5]Universidade Estadual de Campinas, Laboratório de Química do Estado sólido, [6]Instituto de Pesca; *Email de contato: francinecoa@usp.br*

Resumo

Procedimentos de oxidação química são comumente aplicados a nanotubos de carbono a fim de favorecer sua dispersão coloidal e interação com matrizes biológicas. Entretanto, estes métodos apresentam potenciais riscos ambientais e ocupacionais. Neste trabalho, pela primeira vez na literatura, nanotubos de carbono de paredes múltiplas (NTCPM) foram mecanoquimicamente modificados com ácido húmico (AH), com o objetivo de melhorar sua estabilidade coloidal e obter um sistema funcional para aplicações ambientais. O híbrido AH-NTCPM obtido foi caracterizado por técnicas da área de ciência de materiais e coloides. Seu potencial de aplicação também foi mensurado, assim como seus possíveis efeitos tóxicos aos organismos *H. attenuata*, *D. magna*, *D. rerio* e *L. esculentum*. A partir dos resultados obtidos foi possível concluir que o método utilizado foi eficaz em produzir um revestimento estável de AH sobre os NTCPM, propiciando sua dispersão em água deionizada e aumento de sua capacidade de adsorção de íons Cu(II). Ademais, nenhum efeito tóxico foi observado até 10 mg L^{-1}. Desta forma, o híbrido AH-NTCPM pode ser considerado um sistema funcional promissor para aplicações em remediação ambiental.

Palavras-chave: Funcionalização; Nanomateriais; Ecologicamente correto; Moagem

MECHANOCHEMICAL MODIFICATION OF CARBON NANOTUBES WITH HUMIC ACID: ECOTOXICITY AND APPLICATION FOR ENVIRONMENTAL REMEDIATION

Abstract

Chemical oxidation procedures are commonly applied to carbon nanotubes in order to favor their colloidal dispersion and interaction with biological matrices. However, these methods present potential environmental and occupational risks. In this work, for the first time, multi-walled carbon nanotubes (MWCNT) were mechanochemical modified wit humic acid (HA), in order to improve their colloidal stability and to obtain a functional system for environmental applications. The obtained HA-MWCNT hybrid was characterized by techniques of the area of materials science and colloids. The potential hybrid application was also measured, as well its possible toxic effects to the organisms *H. attenuata*, *D. magna*, *D. rerio* e *L. esculentum*. By the obtained results, it was possible to conclude that the utilized method was effective to produce a stable coating of HA on MWCNT, providing their dispersion in deionized water and increasing their adsorption capacity of Cu(II) ions. Moreover, any toxic effect was observed up to 10 mg L^{-1}. In this way, we concluded that the HA-MWCNT hybrid can be considered a promising functional system for application in environmental remediation.

Keywords: Functionalization; Nanomaterials; Eco-friendly; Milling

Publicações relacionadas: Artigo Publicado (DOI: 10.1016/j.scitotenv.2017.07.045)

1 INTRODUÇÃO

Nanotubos de carbono (NTCs) são considerados materiais promissores para diversas aplicações industriais, ambientais e médicas (BAUGHMAN et al., 2009). Todavia, a superfície hidrofóbica destes materiais prejudica sua interação com matrizes biológicas e ambientais, dificultando sua aplicação. Procedimentos de oxidação química são largamente utilizados para introduzir grupos oxigenados funcionais à superfície deste material, favorecendo a redução de sua hidrofobicidade. Contudo, nestes processos são utilizados reagentes oxidantes fortes (i.e. HNO_3, H_2O_2, H_2SO_4) e altas temperaturas, os quais propiciam a ocorrência de acidentes ocupacionais e ambientais. A aplicação de métodos mecanoquímicos (i.e. moagem no estado sólido) para modificação de nanomateriais tem sido pouco difundida na literatura. Todavia, Ma et al. (2009) observou anteriormente que, por meio de um método simples e fácil, a moagem, foi possível introduzir grupos funcionais como amida e amina em NTCs. Desta forma, a moagem foi utilizada neste trabalho para modificar nanotubos de carbono de paredes múltiplas (NTCPM) com ácido húmico (AH), que tem sido descrito como um material estratégico para produção de materiais sustentáveis e funcionais. Visando a aplicação do material obtido, uma abordagem integrada foi proposta com o objetivo de estudar as características físico-químicas deste material e a implicação destas nos efeitos observados. Experimentos de adsorção com íons Cu(II) foram então realizados, bem como ensaios de toxicidade aguda com organismos considerados modelo na área de ecotoxicologia.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Nanotubos de carbono de paredes múltiplas (0,1 g) comerciais (*raw* – sigla r-NTCPM) foram moídos com ácido húmico (1,0 g), em um moinho vibratório vertical, por 15 minutos. Posteriormente, estes foram lavados em água deionizada por centrifugação (20.800 g; 30 min; 4 °C; 3x), para remoção do ácido húmico em excesso. O híbrido obtido foi estudado quanto a sua topografia, composição, composição superficial elementar, desordem estrutural e estabilidade coloidal por: i) Microscopia eletrônica de transmissão por varredura (STEM); ii) Análise termogravimétrica (TGA); iii) Espectroscopia de fotoelétrons excitada por Raios-X (XPS); iv) Espectroscopia Raman; e v) Espalhamento de Luz Dinâmico e Eletroforético (DLS e ELS). NTCPM também foram preparados na ausência de ácido húmico, das seguintes maneiras: i) Moagem sob as mesmas condições utilizadas para preparar o AH-NTCPM; ii) Oxidação química com HNO_3 (9 mol L^{-1}) por 12 horas à 150 °C. Estas amostras foram denominadas de m-NTCPM e o-NTCPM, respectivamente.

Com o intuito de verificar o potencial de aplicação do híbrido, sua capacidade de adsorver íons Cu(II) foi testada, em comparação aos materiais o-NTCPM e m-NTCPM. Sua toxicidade (0.1; 1.0; 5.0; 10.0 mg L^{-1}) também foi avaliada para os organismos aquáticos *Hydra attenuata*; ii) *Daphnia magna*; iii) embriões de *Danio rerio*. Para tanto, critérios como taxa de imobilização (para a *D. magna*), modificações morfológicas (para a *H. attenuata*) e malformações durante o desenvolvimento (para o *D. rerio*) foram avaliadas. Ensaios de fitotoxicidade (10.0 mg L^{-1}) também foram realizados com o tomate *Lycopersicum esculentum*, por 10 dias, em ágar. Após este período, a porcentagem de germinação, a massa úmida e o comprimento das raízes foram analisados.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização do híbrido AH-NTCPM

Por intermédio da técnica STEM, foi possível verificar que os NTCPM foram revestidos com AH via ação mecanoquímica (Figura 1).

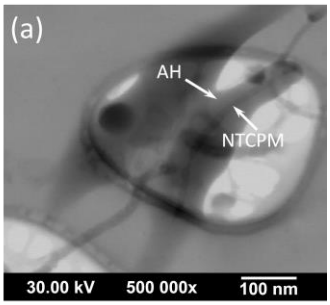


Figura 1. Imagem do híbrido AH-NTCPM obtida por STEM no modo de aquisição campo claro.

Alterações na composição superficial elementar também foram observadas após a moagem dos NTCPM com AH. Por meio dos espectros exploratórios XPS, observou-se que, embora todas as amostras de NTCPM não tratadas com AH (i.e. r-NTCPM, m-NTCPM e o-NTCPM) apresentem oxigênio em sua composição superficial, o híbrido possui maior conteúdo deste elemento em sua superfície (Figura 2). Uma vez que o AH é composto por grupos oxigenados (i.e. carboxilas, hidroxilas e fenóis) pode-se sugerir que estes grupos tenham sido introduzidos nos NTCPM pela ação mecanoquímica.

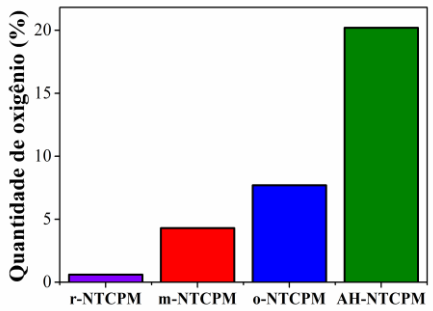


Figura 2. Abundância relativa de oxigênio nos materiais quantificadas por XPS.

Quanto a estabilidade coloidal do híbrido AH-NTCPM, os resultados de DLS e ELS (dado não apresentado) indicam que o revestimento de AH favoreceu a dispersão dos NTCPM em água deionizada, pois o valor de diâmetro hidrodinâmico obtido para o híbrido (174,5±3,5 nm) neste meio é inferior ao obtido para o r-NTCPM (393,2±27 nm). Todavia, deve-se ressaltar que a estabilidade do híbrido não foi mantida nos meios de cultivo nos quais foram realizados os ensaios de toxicidade, sugerindo a ocorrência do fenômeno de agregação/aglomeração durante estes testes (dados não apresentados).

Além das modificações químicas, alterações estruturais nos NTCPM também foram observadas por Espectroscopia Raman (Figura 3) e por SEM (dado não apresentado) devido a moagem e oxidação. Isto porque, a intensidade da I_D/I_G aumentou após estes procedimentos, devido a inserção de defeitos na estrutura grafítica dos NTCPM.

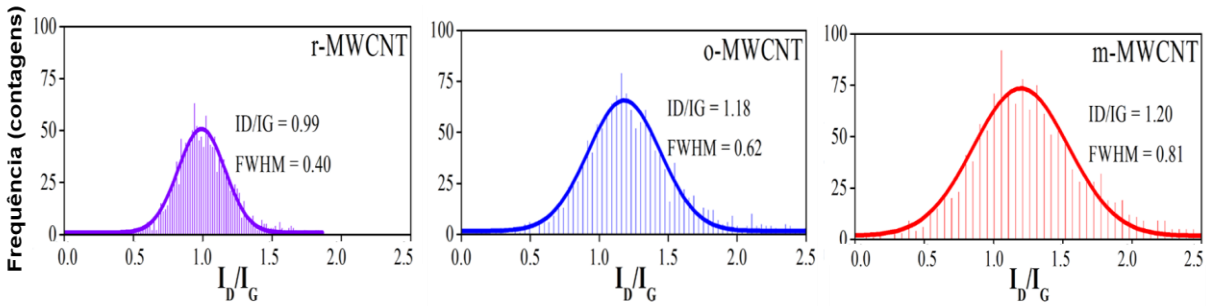


Figura 3. Histogramas I_D/I_G.

A partir destes resultados foi possível inferir que o método mecanoquímico implicou em modificações morfológicas, estruturais e químicas que foram responsáveis pelo revestimento de AH sobre os NTCPM.

3.2 Aplicação do híbrido AH-NTCPM em remediação de íons Cu(II)

Ao comparar a eficiência do híbrido AH-NTCPM com os demais materiais avaliados (m-NTCPM e o-NTCPM) (Figura 4) constatou-se que este material adsorveu 11 vezes mais Cu(II) que a amostra de NTCPM apenas moída (m-NTCPM), e cerca de 3 vezes mais que os NTCPM oxidados. Visto que têm-se relatado que NTCPM são considerados materiais adsorventes promissores, destaca-se neste trabalho, a capacidade de adsorção superior do híbrido decorrente do revestimento por AH. Sugere-se ainda que a introdução de oxigênio na superfície dos materiais esteja relacionada a capacidade de adsorção de íons Cu(II) apresentadas por estes, como pode ser observado no gráfico de correlação inserido na Figura 5.

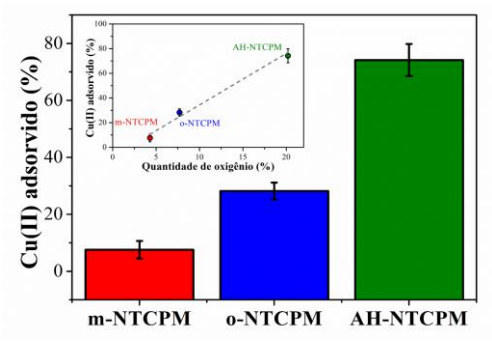


Figura 4. Capacidade de remoção de íons Cu(II) (%). O gráfico inserido apresenta a curva de correlação entre a quantidade de oxigênio (%) e a quantidade de Cu(II) adsorvida (%).

3.3 Avaliação da ecotoxicidade aguda do híbrido

Durante os testes de toxicidade, não foram observadas alterações morfológicas no organismo *H. attenuata* até a máxima concentração testada (10 mg L^{-1}). Do mesmo modo, a taxa de imobilização nos experimentos com *D. magna* foi inferior a 5% em todos os grupos avaliados. Nos ensaios com o *D. rerio*, nenhuma má formação foi observada e a taxa de mortalidade foi inferior a 5%. Adicionalmente, nos experimentos com o *L. esculentum* a exposição ao híbrido não ocasionou em alterações na taxa de germinação, e no comprimento e a massa úmida das raízes. Deste modo, pode-se inferir que até a máxima concentração testada (10 mg L^{-1}), o hibrido AH-NTCPM apresenta baixa toxicidade aos organismos testados.

4 CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos, pode-se inferir que o método mecanoquímico proposto foi eficaz em modificar os nanotubos de carbono de paredes múltiplas com o ácido húmico, produzindo um revestimento estável de AH sobre estes. Este revestimento foi responsável por favorecer a dispersão coloidal dos NTCPM e pela excelente capacidade de adsorção de íons Cu(II) observada para este material. Não obstante, verificou-se que o híbrido produzido apresenta baixa toxicidade aos organismos avaliados. Portanto, deve-se destacar que o AH-NTCPM pode ser considerado um sistema promissor para aplicações nanotecnológicas (e.g. remediação ambiental), visto que foi produzido por um processo *eco-friendly*, possui baixa toxicidade e apresenta capacidade de adsorção de íons Cu(II) superior à dos demais materiais estudados.

AGRADECIMENTOS

Nós agradecemos a grupos específicos pertencentes ao CNPEM (LMN, LME, LCS, LAM e NBT). E aos órgãos de fomento CAPES e FAPESP (01995-9/2014), bem como as redes de pesquisa INCT-Inomat, Cigenanotox e SisNANO.

REFERÊNCIAS

BAUGHMAN, R.H.; ZAKHIDOV, A.A.; DE HEER, W.A. Carbon nanotubes: the Route toward applications. Science, v. 297, n. 5582, p. 787-792, 2002.

MA, P.C.; WANG, S.Q.; KIM, J.K.; TANG, B.Z. In-situ amino functionalization of carbon nanotubes using ball milling. Journal of Nanoscience and Nanotechnology, v. 9, n. 2, p. 749-753, 2009.

CAPÍTULO 5

Tecnologias de micro e nanoencapsulação de princípios ativos

CITOTOXICIDADE E INTERNALIZAÇÃO CELULAR DE NANOCÁPSULAS POLIMÉRICAS CONTENDO CLOXACILINA BENZATINA PARA TRATAMENTO DA MASTITE BOVINA

Giani Martins Garcia[1*], Raquel Silva Araújo[2], Izabel Cristina Trindade[1], Douglas Gualberto Sales Pereira[1], Humberto Melo Brandão[3], Vanessa Carla Furtado Mosqueira[4]

1 CiPharma, Escola de Farmácia, Universidade Federal de Ouro Preto, Minas Gerais, Brasil.
2 Universidade Federal do Amapá - Campus Marco Zero, Macapá, Amapá, Brasil.
3 Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil.
** e-mail para contato: gianimg@gmail.com*

Classificação: Tecnologias de micro e nanoencapsulação de princípios ativos

Resumo
O presente trabalho tem como objetivo a encapsulação do antibiótico cloxacilina benzatina (CLOXB) em nanocápsulas poliméricas de poli-ε-caprolactona (PCL NC), como uma nova estratégia de tratamento para infecções intramamárias bovinas, como a mastite. CLOXB-PCL NC foram preparados pelo método de deposição interfacial de polímero pré-formado. Foram obtidas NC com diâmetro médio de 330 nm, determinado por espalhamento dinâmico da luz (DLS). O potencial zeta foi avaliado por microeletroforese associado a DLS, e estas apresentaram um potencial de superfície negativo (~ -30mV). A viabilidade celular das NC em macrófagos J774A1 não foi alterada até a concentração de 50 µg/mL de polímero. A microscopia confocal revelou que as NC foram internalizadas após o contato com os macrófagos J774A1. Estes resultados sugerem que a CLOXB-PCL NC pode ser uma formulação promissora para o tratamento de infecções intramamárias em animais. Esta formulação foi patenteada com registro no documento técnico WO/2011/150481.
Palavras-chave: Nanocápsulas; Cloxacilina benzatina; Mastite bovina

CYTOTOXICITY AND CELLULAR INTERNALIZATION OF POLYMERIC NANOCAPSULES CONTAINING CLOXACYLIN BENZATINE FOR TREATMENT OF BOVINE MASTITIS

Abstract
The present work aims to encapsulate the antibiotic cloxacillin benzathine (CLOXB) in poly-ε-caprolactone polymer nanocapsules (PCL NC) as a novel treatment strategy for bovine intramammary infections, such as mastitis. CLOXB-PCL NC were prepared by the preformed polymer interfacial deposition method. NC were obtained with mean diameter of 330 nm, determined by dynamic light scattering (DLS). The zeta potential was evaluated by DLS-associated microelectrophoresis, and they had a negative surface potential (~30mV). Cell viability of NC in J774A1 macrophages was not altered until the concentration of 50 µg/mL of polymer. Confocal microscopy revealed that NCs were internalized after contact with J774A1 macrophages. These results suggest that CLOXB-PCL NC may be a promising formulation for the treatment of intramammary infections in animals. This formulation has been patented with registration in the technical document WO/2011/150481.
Keywords: Nanocapsules; Cloxacillin benzathine; bovine mastitis

Publicações relacionadas: ARAÚJO, R.S.; FUSCALDI, L.L.; TAKENAKA, I.K.T.M.; VILELA, J.M.C.; ANDRADE, M.S.; Mosqueira, V.C.F.; CARDOSO, V.N. Characterization and in vivo evaluation of nanocapsules loading 99mTc-MIBI for intramammary study. Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, v. 303, p. 2353-2360, 2014.

1 INTRODUÇÃO

A administração de antibióticos pela via intramamária é uma estratégia amplamente utilizada para tratar infecções nesta região em animais, particularmente no controle de mastite bovina. A mastite

é uma inflamação da glândula mamária bovina causada principalmente por microorganismos como *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae* (Gruet et al., 2001). As infecções por *S. aureus* estão associadas a baixas taxas de cura, porque este microorganismo tem capacidade para sobreviver no compartimento intracelular após a fagocitose (Sanchez et al., 1988). Essas infecções levam a perdas econômicas causadas pela redução da produção de leite, impacto negativo na sua qualidade, bem como o abate precoce de vacas com alta frequência de administração de antibióticos em bovinos (Gruet et al., 2001).

Cloxacilina benzatina (CLOXB) é um antibiótico β-lactâmico usado em medicina veterinária para tratar infecções causadas por bactérias Gram positivas e Gram negativas. Ele é usado via intramamária para tratar a mastite, no entanto, as recorrências são relatadas devido à baixa capacidade de permeação do fármaco para as células onde os microrganismos são encontrados (Gruet et al., 2001). A fim de melhorar o efeito terapêutico do CLOXB na mastite, em relação à sua eficácia, os sistemas de administração de fármacos são uma estratégia promissora para prolongar a liberação do fármaco e aumentar a internalização de fármacos em macrófagos hospedeiros de patógenos, como *S. aureus* (Gruet et al., 2001; Imbuluzqueta et al., 2012). Assim, o objetivo do presente trabalho foi o desenvolvimento e caracterização físico-química de uma formulação intramamária de CLOXB em NC polimérica. Foi avaliado a citotoxicidade das formulações e a sua internalização celular em macrógafos *in vitro*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Materiais

CLOXB foi obtida da Hebei Huari Pharmaceutical Co., Ltd (China). Gattefosse (França) foi forneceu os excipientes triglicerídeos de cadeia média (Labrafac® CC) e o poligliceril-6 dioleato (Plurol Oleico®). Polímero poly-ε-caprolactona (PCL/Mn 42500 g/mol), poloxamer (Pluronic F-68), polietileno glicol 400 (PEG) e monooleato de sorbitano (Span 80®) foram adquiridos da Sigma (USA); todos os solventes utilizados foram de grau analítico e a água ultrapura foi obtida do sistema 185 (Millipore, Bedford, EUA).

2.2 Preparo das nanocápsulas poliméricas

CLOXB-NC foram preparadas conforme descrito no documento técnico depositado (Mosqueira et al., 2011). Para análises de imagens por microscopia confocal, PCL-NC foram preparadas com o marcador fluorescente DiL (1,1', perclorato dioctadecil-3,3,3',3'-tetrametilindocarbocianina; Molecular Probes) adicionado na fase orgânica.

2.3 Cultura das células

Foram utilizados macrófagos murinos da linhagem J774A.1 (ATCC® TIB-67™), mantidos em cultura aderente em atmosfera úmida (5% CO_2/95% de ar) a 37°C em meio RPMI (Lonza, USA) contendo vermelho de fenol, 4,5 g/l de glicose e L-glutamina suplementado com 10% (v/v) de soro fetal bovino (FBS) (Cultilab, Brasil), penicilina (100 UI/mL) e estreptomicina (0,1 mg/mL solubilizado em tampão citrato). Para os experimentos, as células foram removidas mecanicamente e ajustadas para a concentração de células viáveis na presença de azul de tripan e contagem em câmara de Neubauer.

2.4 Viabilidade celular

As células J774A.1 foram plaqueadas na concentração de 24.000 células/poço em placas de 96 poços (Sarstedt, Brasil). Após 24 h de aderência, o meio foi removido e os poços foram lavados uma vez com PBS (Lonza, EUA) contendo Ca^{2+} e Mg^{2+} para remover células não aderentes. As NC foram diluídas em meio completo e as células foram incubadas durante 4 h com concentrações de polímero variando de 5 a 1000 μg/mL. Após o tempo de incubação, o meio foi removido e as células foram lavadas duas vezes com PBS contendo Ca^{2+} e Mg^{2+}. O reagente MTT (200 μL de uma solução a 0,5 mg/ml em RPMI com FBS a 10% v/v) foi adicionado a cada poço e as placas foram incubadas durante 4h a 37°C (5% CO_2/95% de ar). Em seguidas as placas foram centrifugadas, o meio descartado e 200 μL de DMSO foram adicionados para solubilizar os cristais de formazano formados. A absorvência foi determinada num leitor de placas ELISA (Molecular Devices®) a 570 e 650 nm. As percentagens de viabilidade celular foram calculadas com relação absorbância média das leituras em triplicada e a absorbância média dos poços de controle de três experimentos independentes.

2.5. Imagens por microscopia confocal

Os macrófagos foram mantidos em cultura aderente como descrito anteriormente. 1×10^6 células/poço foram previamente plaqueadas sobre lamínulas esterilizadas por 24 h em placas de 12 poços (Sarstedt, Brasil) e incubadas durante 4 h a 37 ° C com formulações NC marcadas com DiL diluídas em meio RPMI (4,2 mg de DiL/mL). As lamínulas foram lavadas duas vezes com PBS e depois, as células foram fixas à temperatura ambiente com uma solução de formalina a 10% (pH 7,2-7,4) durante 20 min. A solução de fixação foi removida e as lamínulas foram lavadas três vezes com PBS. As células fixadas foram incubadas com DAPI (1 μg/ml, Sigma/EUA) durante 20 minutos à temperatura ambiente e lavadas três vezes com PBS. Por fim, as lamínulas foram então fixadas em lâminas de vidro e analisadas dentro de 24 h. As imagens foram adquiridas usando um microscópio confocal Zeiss (LSM780, Carl Zeiss). Os dados foram adquiridos no modo sequencial. Os comprimentos de onde de excitação e emissão para o DiL foram 543 nm e 513 nm, respectivamente. Para o DAPI foi realizada excitação a 405 nm e a emissão em 435 nm. As imagens foram transferidas e editadas utilizando o software de imagem ZEN lite® (versão 2.3, Carl Zeiss).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tabela 1 apresenta os parâmetros físico-químicos das NC preparadas. Foram obtidas NC monodispersas, com tamanho médio de 330 nm e alta taxa de encapsulação da CLOXB (76%). Na tentativa de estabelecer um novo tratamento para infecções intramamárias bovinas, é desejável atingir alta concentração de fármaco dentro das células infectadas, como os macrófagos.

Tabela 1: Caracterização físico-química de nanocápsulas poliméricas contendo CLOXB

CLOXB (mg/ml)	Diâmetro ± DP[a] (nm)	IP[b]	Potencial zeta ± DP[a] (mV)	% encapsulação ± DP[a]	EE[c](%) ± DP[a]
0	308,9 ± 8,2	0,238 ± 0,050	-30,5 ± 2,0	-	-
0,5	322,4 ± 4,0	0,088 ± 0,051*	-28,2 ± 0,6	85 ± 1,1	76,9 ± 0,8

a DP=Desvio padrão (n = 3); b IP=índice de polidispersão, amostras monodispersas (≤0.3); c EE=eficiência de encapsulação

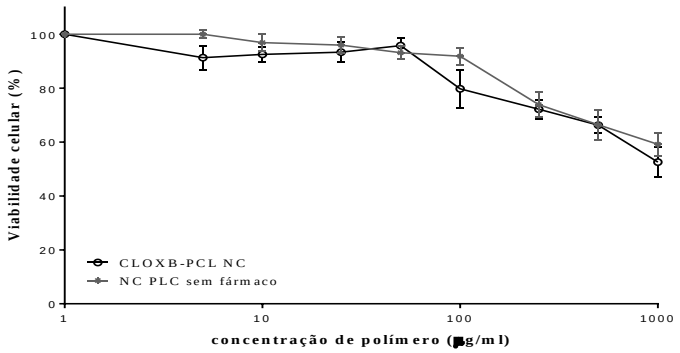


Figura 1: Viabilidade celular de nanocápsulas poliméricas contendo CLOXB (CLOXB-PLC NC) e nanocápsulas sem CLOXB, em células J774A1. Os dados são expressos como a média de três experimentos independentes ± DP (n = 9).

Uma vez que a citotoxicidade das nanopartículas depende da sua quantidade absorvidas pelas células, no presente trabalho, a citotoxicidade da NC foi avaliada variando a concentração de polímero (1-1000 μg/ml). A Figura 1 mostra a citotoxicidade das NC PCL, contendo ou não a CLOXB, incubadas com macrófagos J774A1. É possível observar uma diminuição na percentagem de viabilidade celular nas concentrações superiores a 100 μg/ml de polímero. A eficiência de internalização da CLOXB-PCL NC contendo marcador fluorescente, na concentração de 50 μg/ml de polímero, foi ainda avaliada qualitativamente usando microscopia confocal fluorescente (Figura 2). A região nuclear dos macrófagos permaneceu azul devido a marcação com DAPI. Contudo, após a incubação dos macrófagos com a formulação marcada, foi possível observar manchas vermelhas ao redor do núcleo, indicando um mecanismo endocítico de captação das PCL NC. Este resultado está de acordo com Farace et al. (2015) e Mosqueira et al (2001) que demonstraram a absorção de PLA NC por células T, monócitos e macrófagos J744, respectivamente. Nenhuma fluorescência vermelha foi detectada quando as células foram incubadas com a NC não marcada (amostra de controle) (Figura

2B), as imagens apresentaram apenas a fluorescência azul dos núcleos (Figura 2A). Este resultado indica que o CLOXB PLC NC é capaz de entregar o fármaco dentro dessas células fagocíticas.

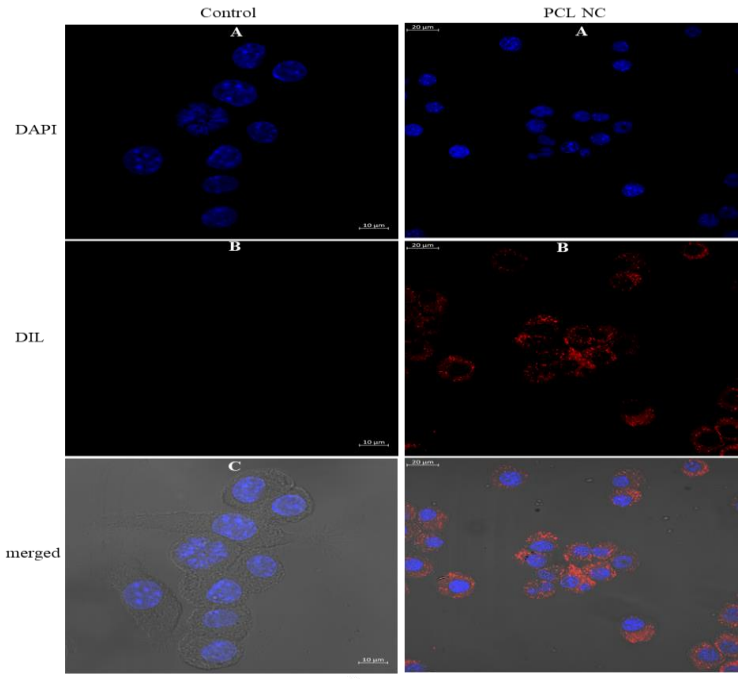


Figura 2: Imagens de microscopia confocal de macrófagos J774A1 após incubação com CLOXB-PLC NC marcado com DIL (A-D) durante 4 h. DAPI, canal azul; DIL, canal vermelho; merged, imagens mescladas do azul, vermelho e as imagens de contraste de fase do mesmo campo.

4 CONCLUSÃO

O uso veterinário de nanocarreadores poliméricos ainda é pouco explorado. Este trabalho fornece uma das primeiras contribuições para esta área pelo desenho de nanopartículas poliméricas, a fim de encapsular um antibiótico de primeira linha usado no controle de mastite bovina. A taxa de encapsulação da PCL-CLOXB NC e sua captação pelos macrófagos, células onde as bactérias causadoras da mastite se alojam, indicam que esta formulação pode fornecer uma abordagem eficaz para o tratamento de infecções intramamárias em animais, especialmente a mastite.

AGRADECIMENTOS

Concessão de bolsa de pós-doutorado a CAPES/Embrapa (#131-15) para a primeira autora. VCF Mosqueira é pesquisadora do CNPq, Brasil. Este trabalho também foi apoiado pela Rede NANOBIOMG-Network (#00007-14 e #40/11) e concessão PPM (#00432-13) da FAPEMIG, Minas Gerais, Brasil

REFERÊNCIAS

GRUET, P. et al. Bovine mastitis and intramammary drug delivery: review and perspectives., Advanced Drug Delivery Reviews, v. 50, p. 245-259, 2001.

IMBULUZQUETA, E. et al. Cellular pharmacokinetics and intracellular activity against Listeria monocytogenes and Staphylococcus aureus of chemically modified and nanoencapsulated gentamicin. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, v. 67, p. 2158-64, 2012.

MOSQUEIRA, V.C.F.; BRANDÃO, H.M.; ARAÚJO, R.S. Nanoparticulate composition containing antibiotics for intramammary administration in animals. WO/2011/150481, 2011.

MOSQUEIRA, V.C.F et al. Relationship between complement activation, cellular uptake and surface physicochemical aspects of novel PEG-modified nanocapsules. Biomaterials, p. 2967-2979, 2001.

SANCHEZ, M.S., FORD, C.W., YANCEY, R.J. Evaluation of antibiotic effectiveness against Staphylococcus aureus surviving within the bovine mammary gland macrophage. Antimicrobial Chemotherapy, v. 21, p. 773-86, 1988.

ENCAPSULAMENTO DE ÁCIDO LINOLEICO COMO MODELO PARA ESTABILIZAÇÃO DE COMPOSTOS LIPOSSOLÚVEIS

Dirliane Santo Duarte[1], Natoniel Franklin de Melo[2], Douglas de Britto[2]

[1]Estagiária Embrapa Semiárido, IF Sertão PE, Petrolina – PE; [2]Pesquisador Embrapa Semiárido, Petrolina, PE. douglas.britto@embrapa.br

Classificação: Tecnologias de micro e nanoencapsulação de princípios ativos.

Resumo
Este trabalho teve como objetivo identificar condições de encapsulamento que permitam estabilizar, preservar e proteger compostos lipossolúveis como ômega-3 e ômega-6 em nanopartículas (NP) de quitosana, tomando o ácido linoleico (AL) como modelo. Para isto, foram realizados 5 encapsulamentos, com quantidade de surfactante (Tween-80) e tripolifosfato de sódio (TPP) em diferentes proporções. Foram avaliados também dois tipos de soluções ácidas aquosas (clorídrico e acético) para solubilizar a quitosana a 0,1% (v/v). Os parâmetros para determinação da suspensão mais estável foram tamanho de partículas, eficiência de encapsulamento (EE), turbidez, estabilidade das fases (temperatura ambiente e a 10 ºC) e morfologia. De acordo com os resultados, verificou-se que a melhor condição para preparação das NP foi a que continha 100 mg de surfactante. Quanto ao TPP, a melhor condição foi obtida com 20 mg e 15 mg em meio ácido acético e clorídrico respectivamente.
Palavras-chave: Quitosana; Ômega-6; Ômega-3; Gelificação iônica

LINOLEIC ACID ENCAPSULATION AS A MODEL FOR STABILIZATION OF LIPOSOLUVE COMPOUNDS

Abstract
The aim of this work was to identify the encapsulation conditions to stabilize, preserve and protect liposoluble compounds such as omega-3 and omega-6 in chitosan nanoparticles (NP), using linoleic acid (LA) as a model. For this, 5 encapsulations were performed, with amount of surfactant (Tween-80) and sodium tripolyphosphate (TPP) in different proportions. Two types of aqueous acid solutions (hydrochloric and acetic) were also evaluated to solubilize chitosan at 0.1% (v/v). The parameters for determining the most stable suspension were particle size, encapsulation efficiency (EE), turbidity, phase stability (ambient temperature and 10 ºC) and morphology. According to the results, it was found that the best condition for preparation of NP was that containing 100 mg of surfactant. Regarding TPP, the best condition was obtained with 20 mg and 15 mg in acetic and hydrochloric acid medium respectively.
Keywords: Chitosan, Omega-6; Omega-3; Ionotropic Gelation

Publicações relacionadas: BRITTO, D. et al. Entrapment characteristics of hydrosoluble vitamins loaded into chitosan and N,N,N-trimethy chitosan nanoparticles, Macromolecular Research, v. 22, p.1261-1267, 2014.

1 INTRODUÇÃO

Nanopartículas (NP) de materiais poliméricos tem atraído a atenção especialmente das indústrias farmacêuticas, cosméticas e alimentícias, devido a suas características funcionais. NP vem sendo utilizadas para encapsular e proteger compostos bioativos, preservando suas propriedades frente à exposição de agentes externos como a luz e o calor durante sua manipulação (MORADIA et al., 2012).

Os ácidos graxos poli-insaturados são suscetíveis à oxidação durante o processamento e armazenamento, resultando em diminuição do valor nutricional e da qualidade sensorial. Desta forma, a encapsulação é uma boa alternativa para minimizar essas perdas devido ao processo de oxidação

desses ácidos graxos (GÖKMEN et al., 2011), já que através da encapsulação aditivos reativos sensíveis como os poli-insaturados podem tornar-se estáveis.

Devido ao seu caráter hidrofóbico, os ácidos graxos são frequentemente encapsulados por um agente encapsulante como os polissacarídeos, com o auxílio de um surfactante, formando assim uma nanoemulsão. As nanoemulsões óleo-água são caracterizadas pela solubilização do óleo em um meio aquoso na presença de um surfactante, onde os tamanhos das micelas formadas se encontram na faixa de nanômetros (SOLANS et al., 2003). São encontradas aplicações em diversas áreas como na agroindústria, solubilizando pesticidas (WANG et al., 2007), e na indústria alimentícia, encapsulando óleos essenciais com atividades antimicrobianas (DONSI et al., 2012).

2 MATERIAL E MÉTODOS

A síntese das NP seguiu metodologia previamente reportada (BRITTO et al., 2012). Para isto foram preparadas previamente soluções de quitosana a 3,0 mg/mL em meio ácido aquoso (HCl e HAc) a 0,1% (v/v). Após a completa dissolução da quitosana, foi adicionado o surfactante Tween 80, que variou de acordo com a Tabela 1. Posteriormente, 80 mg de ácido linoleico foi dissolvido em 4,0 mL de ciclohexano e adicionado à solução de quitosana pelo processo de emulsão, utilizando um homogeneizador (Ika®, modelo T18 D S23) a 12000 r.p.m. Em seguida, as NP foram formadas pela adição do reticulante TPP (Tabela 1). A suspensão de NP foi analisada quanto ao tamanho de partícula (Malven Instruments Ltd., modelo ZS Zen 3600); à variação de turbidez por espectroscopia no UV-visível (ThermoScientific modelo MultiSkan GO), com diluição de 1:4 em água, por 7 dias, em temperaturas ambiente e 10 ºC e morfologia em microscópio óptico (Coleman, N107T), com a suspensão depositada em lâmina de vidro e seca em condições ambientes.

A eficiência de encapsulamento foi determinada, centrifugando-se a suspensão de NP a 20.000 r.p.m. por 20 minutos e a 8 ºC. O sobrenadante foi separado e diluído a 1:4 em etanol e analisado de forma quantitativa por meio de curva de calibração por espectroscopia no UV-visível (ThermoScientific modelo MultiSkan GO)

Tabela 1. Quantidade de surfactante Tween 80 e TPP utilizado a cada suspensão

Amostras	Surfactante (mg)		TPP (mg)	
	HAc	HCl	HAc	HCl
1	100	100	30	30
2	150	100	20	30
3	200	200	20	20
4	50	50	20	20
5	100	100	15	20

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Análise de tamanho

A análise de tamanho mostrou distribuição de partículas em torno de 1000 nm, sendo que para as NP sintetizadas a partir de solução de quitosana em HCl a distribuição foi bem heterogênea, com tamanhos variando de 100 a 3000 nm. Por outro lado, para o HAc, as NP tiveram uma faixa de distribuição mais estreita entre 2000 e 3000 nm.

3.2 Eficiência de encapsulamento (EE)

De acordo com a Tabela 2, é possível observar que a amostra 3, obtida com 200 mg de surfactante e 30 mg de TPP, apresentou a maior concentração de AL no sobrenadante, indicando, portanto, baixa eficiência de encapsulamento. As amostras 1 e 2 apresentaram valores de EE mais altos, porém foram instáveis, devido a formação de duas fases e precipitado após 48h. Por outro lado, as amostras 4 e 5, embora apresentando um valor de EE ligeiramente inferior, permaneceram bem mais estáveis principalmente para as amostras em HCl. Esses resultados indicam que quantidades mais

baixas de surfactante (~ 100 mg) e TPP (15-20 mg) são ideais para obtenção de NP de quitosana encapsulada com AL. Dessa forma, a condição 5 é a mais indicada para aplicação futura.

Tabela 2. Concentração de ácido linoleico (AL) e eficiência de encapsulamento (EE) das amostras

Amostras	Conc. AL (mg/mL)		EE (%)	
	HAc	HCl	HAc	HCl
1	0,2	0,1	75,1	87,5
2	0,2	0,13	75,1	83,4
3	0,29	0,31	64,7	61,4
4	0,21	0,27	74,2	65,7
5	0,23	0,23	70,8	71,1

3.3 Turbidez

Ao analisar a turbidez da suspensão foi observada a formação de precipitado ao longo de cinco dias (Figura 1). Observa-se que no tempo zero, tanto para as amostram em HCl (HCl_0D) como em HAc (HAc_0D), a transmitância ficou próxima de zero, ou seja, as suspensões estavam mais dispersas, logo a turbidez foi maior. No entanto, ao longo do tempo de avaliação a transmitância tendeu a 100%, indicando que as NP se aglomeram, tornando-se maiores, e causando a diminuição da turbidez. Comparando-se as Figuras 1a e 1b, nota-se que as amostras preparadas com HAc e HCl armazenadas a 10ºC foram mais estáveis do que aquelas em temperatura ambiente (TA), pois apresentaram a maior percentagem de transmitância ao final do tempo de análise.

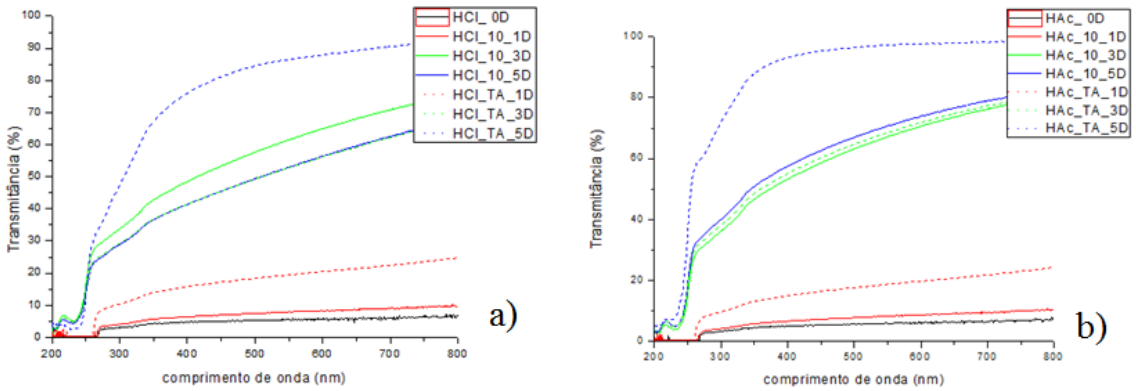


Figura 1. Variação da transmitância indicativa de turbidez das suspensões de NP com AL obtidas em meio **a)** HCl e **b)** ácido acético, armazenados em temperatura ambiente (TA) e a 10º C durante 5 dias (5D).

3.4 Estabilidade do encapsulamento

As suspensões de NP-AL tendem a formar duas fases tanto em temperatura ambiente e a 10 ºC. No início a suspensão apresentou aparência leitosa mas ao longo do tempo se dividiu em uma parte menos densa com aspecto opaco e coloração branca e outra mais densa de aspecto mais transparente (Figura 2).

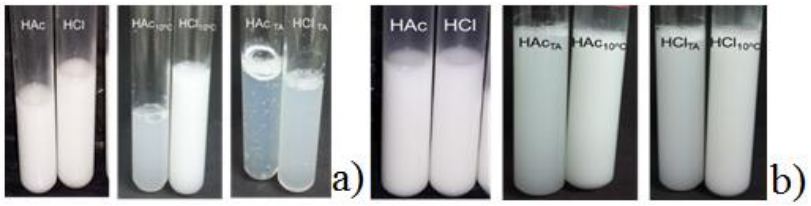


Figura 2. Aspectos das amostras 4 **a)** e 5 **b)** armazenadas por 20 dias a 10 ºC e ambiente (TA).

Quanto ao aspecto visual, as amostras 1 a 4 tiveram comportamento semelhantes. No geral formou-se precipitado ao longo do tempo de armazenagem, sendo mais estáveis a 10 ºC. Em exemplo típico, para a amostra 4 (Figura 2a), nota-se que em meio HCl armazenada por 20 dias a 10 ºC a amostra permaneceu estável (HCl_{10oC}), possuindo semelhança com a suspensão inicial, mas se desestabilizou, formando duas fases em quando armazenada em temperatura ambiente (HCl_{TA}). Para o

HAc nessa condição a formação de fases ocorreu mesmo quando armazenada a 10 ºC (HAc_{10oC}) sendo a formação de fases mais intensa em temperatura ambiente (HAc_{TA}). Para a amostra 5 (Figura 2b), praticamente não se observa essas transformações quando armazenadas por 20 dias em temperatura ambiente e a 10 ºC. Assim essa condição parece ser a mais adequada para o encapsulamento de AL.

3.5 Morfologia

Ao analisar as imagens das suspensões de NP depositadas em lâminas de vidro, verifica-se há formação de NP na ordem de nanômetros, no entanto, apresentando diferenças entre as amostras em HAc e HCl (Figura 3). No geral, as NP em HCl apresentaram tamanho menores do que a suspensão de HAc.

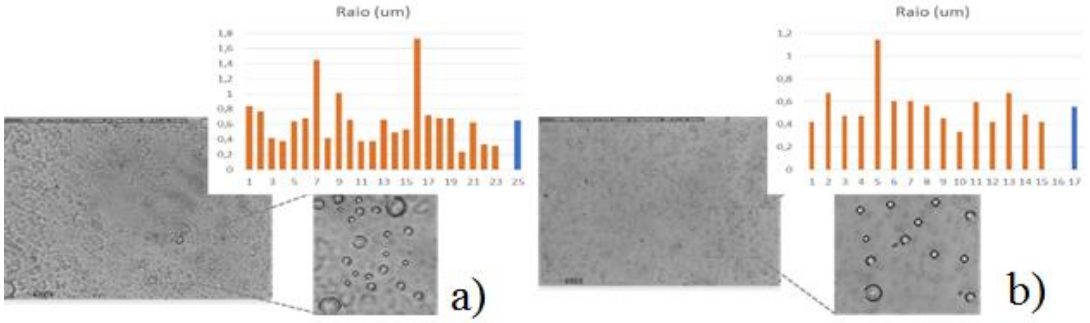


Figura 3. Imagem em microscopia óptica de NP depositadas em lâminas de vidros para **a)** HAc e **b)** HCl. No detalhe, distribuição do tamanho de partículas (Software DinoCapture 2.0).

4 CONCLUSÃO

A quantidade de surfactante e TPP têm influência significativa na estabilidade das suspensões como foi visto, com isso a melhor condição para que as suspensões mantenham-se estáveis por um maior intervalo de tempo é quando se emprega a quantidade de 100mg de surfactante e a menor quantidade de TPP (15mg para o HCl e 20mg de HAc). Estes resultados permitirão obter suspensões estáveis de compostos lipofílicos mais complexos como ômega-3, ômega-6 ou óleos nutracêuticos.

AGRADECIMENTOS

FACEPE, Rede AgroNano, Laboratório Pós-colheita (CPATSA) e Adriana C. Thomazi (CNPDIA).

REFERÊNCIAS

BRITTO, D. et al. N,N,N-trimethyl chitosan nanoparticles as a vitamin carrier system, Food Hydrocolloids v. 27, p. 487-493, 2012.
DONSÌ, F. et al. Design of nanoemulsion-based delivery systems of natural antimicrobials: Effect of the emulsifier. Journal of Biotechnology, v. 159, p. 342-350, 2012.
GÖKMEN, V. et al. Development of functional bread containing nanoencapsulated omega -3 fatty acids. Polish Journal of Food and Nutrition Sciences, v. 105, p. 585-591, 2011.
MORADIA, M. et al. Characterization of antioxidant chitosan film incorporated with *Zataria multiflora* Boiss essential oil and grape seed extract. LWT - Food Science and Technology, v. 46, p. 477-484, 2012.
SOLANS, C. et al. Nano-emulsions: formation, properties and applications. Surfactant Science Series, v. 109, p. 525-54, 2003.
WANG, L. et al. Oil in water nano-emulsions for pesticide formulations. Journal of Colloid and Interface Science, v. 314, p. 230-235, 2007.

AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE, EM MEIO AQUOSO, DE VITAMINAS NANOENCAPSULADAS

Douglas de Britto[1], Flávia G. Pinola[2], Odílio B.G. Assis[2]

[1]Embrapa Semiárido – Petrolina, PE – douglas.britto@embrapa
[2]Embrapa Instrumentação, LNN, São Carlos, SP – odilio.assis@embrapa.br

Classificação: Tecnologias de micro e nanoencapsulação de princípios ativos.

Resumo
Degradações de ordem natural podem reduzir significativamente as vitaminas e demais nutrientes presentes em alimentos. Para minimizar tais perdas o emprego de biopolimeros no encapsulamento desses ativos podem oferecer uma proteção adicional, elevando a estabilidade principalmente ao longo da estocagem ou sob condições ambientais não adequadas. O compósito formado pelo entrecruzamento da quitosana com o tripolifosfáto de sódio (Qui-TPP) tem sido largamente empregado na formação de matrizes de conservação para diversos compostos químicos e no presente estudo o sistema Qui-TPP foi empregado como material para a encapsulação de vitaminas C, B9 e B12. A estabilidade dessas vitaminas encapsuladas foi avaliada em suspensões aquosas indicando o efeito favorável em suas preservações, em particular da vitamina C, que resultou na conservação de 47% de sua concentração inicial quando medido no décimo dia e em torno de 28% após 17 dias. De modo oposto, os controles (não encapsulados) registraram perdas significativas, com medidas proporcionais de concentrações em torno de 13% no décimo dia e de somente 3% após 17 dias. As análises termogravimétricas das vitaminas no estado puro e encapsuladas indicaram comportamentos distintos que confirmam a viabilidade do sistema Quit-TPP como material apropriado para encapsulamento e proteção.
Palavras-chave: liberação controlada; nanoencapsulamento; degradação de vitaminas, quitosana.

EVALUATION OF THE STABILITY, IN AQUEOUS MEDIUM, OF NANOENCAPSULATED VITAMINS

Abstract
Natural degradation can reduce the vitamins and nutrients present in foods. To minimize such losses, the encapsulating of theses actives into biopolymeric nanoparticles could offer an additional protection by extending the stability under unsuitable storage conditions. The composite formed by the ionic gelation process of chitosan and tripolyphosphate (Chi-TPP) has been widely used as encapsulating matrix for several chemical compounds and in the present study Chi-TPP was used for encapsulation of C, B9 and B12 vitamins. The stability of these vitamins in encapsulated and non-encapsulated conditions was evaluated in aqueous suspension, indicating a positive effect in preserving, in particular the vitamin C. The encapsulation of vitamin C preserved 47% of the initial concentration by the tenth day and around 28% after 17 days when in aqueous medium. Conversely in the non-encapsulated controls (diluted in neutral and acidic medium) losses were higher and measured proportional concentration of approximately 13% by the tenth day and almost 3% after 17 days of storage in both medium. The thermogravimetric analyses showed distinct thermal behavior confirming Chi-TPP as a proper encapsulation and protective material.
Keywords: controlled release; nanoencapsulation; vitamins degradation; chitosan.

Publicações relacionadas: BRITTO, D.; PINOLA, F.G.; MATTOSO, L.H.C.; ASSIS, O.B.G. Analysis of thermal and aqueous suspension stabilities of chitosan based nanoencapsulated vitamins. Química Nova,v.39, n.9, p. 1126-1130, 2016.
BRITTO, D.; MOURA, M.R.; AOUADA, F.A.; PINOLA, F.G.; LUNDSTEDT, L.M.; ASSIS, O.B.G.; MATTOSO, L.H.C. Entrapment characteristics of hydrosoluble vitamins loaded into chitosan and N,N,N-trimethyl chitosan nanoparticles. Macromolecular Research, v. 22, n.12, p. 1261-1267, 2014.

1 INTRODUÇÃO

A maioria dos nutrientes e em especial as vitaminas são susceptíveis a um rápido processo de degradação seja durante o processamento, armazenamento ou mesmo no consumo. A vitamina C (ácido ascórbico), por exemplo, é quimicamente estável em pHs ácidos mas instável quando em meio neutro ou alcalino. Diferentemente o ácido fólico (vitamina B9) apresenta estabilidade em meio alcalino, contudo se degrada rapidamente em meio ácido. A Vitamina B12 (cianocabalamina), por sua vez, é estável seja em meio ácido ou alcalino, embora seja bastante susceptível ao oxigênio e à luz.

Diversos estudos têm proposto a encapsulação biopolimérica desses nutrientes como uma forma de proteção e conservação contra processos degradativos naturais, sendo a técnica de gelatinização ionotrôpica um processo relativamente simples e bastante referenciado como efetivo para este fim (BRITTO et al., 2012; BRITTO et al., 2016). A gelatinização ionotrôpica tem por base o entrecruzamente entre um polieletrólito, como a quitosana (Qui) e um contra íon como o tripolifosfato de sódio (TPP) (CHEN et al., 2007).

A viabilidade de encapsulação de vitaminas C, B9 e B12 pelo sistema Qui/TPP foi previamente confirmada e a cinética de liberação caracterizada (BRITTO et al., 2012). No presente trabalho o foco é o de analisar a estabilidade desse sistema de encapsulação na redução da degradação dessas vitaminas submetidas a diferentes condições de temperatura, incidência luminosa e atmosfera oxidativa de O_2.

2 MATERIAL E MÉTODOS

TPP e quitosana de origem comercial (Aldrich) foram empregadas no entrecruzamento. Ácido ascórbico (vitamina C), ácido fólico (vitamina B9) e cianocobalamina (vitamina B12) também da Aldrich foram os nutrientes encapsulados. O processo de encapsulação seguiu procedimentos descritos em BRITTO et al, 2012, que compreende a adição contínua de TPP na solução de quitosana a $3gL^{-1}$ com incorporação das vitaminas nas proporções de 0,7; 1,34 e 1,38 mg/cm^3, (vitaminas B9, C e B12 respectivamente).

A degradação das vitaminas encapsuladas foi conduzida em meio aquoso em estufa sob a temperatura constante de 30ºC, na ausência de luz por 3 semanas. Alíquotas (1.0 cm^3) para análises eram retiradas duas vezes por semana e analisadas. Amostras similares foram expostas à incidência de luz natural e luz incandescente, sendo igualmente analisadas. A ação do oxigênio foi realizada pelo borbulhamento de O_2 diretamente nas soluções. A estabilidade foi expressa pela medida da concentração relativa das quantidades tendo por referencia a quantidade inicialmente solubilizada fazendo uso de espectroscopia no UV-Vis (Shimadzu), nos comprimentos de onda de 244, 283 e 362 nm para as vitaminas C, B2 e B12 respectivamente. A análise termogravimétrica foi conduzida em equipamento TGA-500 (TA Instruments) em amostra de 5,0 mg em atmosfera de nitrogênio, a uma taxa de aquecimento de 10.0ºC/min ate 500ºC. Empregou-se o software Microcal Origin 9.0 para os ajustes matemáticos.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foi observada qualquer precipitação ou formação de aglomerados dos nanoencapsulados durante os experimentos indicando que o sistema Qui + TPP + vitamina é estável. Adicionalmente as análises demonstraram que as vitaminas B9 e B12 são também razoavelmente estáveis em ambas as condições avaliadas sem degradações intensas (quando em temperatura ambiente) ao longo de 15 dias de observação (Fig. 1). As variações nas concentrações podem ser adequadamente ajustadas ao modelo linear ($y = a + bx$), no qual b representa a inclinação da linha, fisicamente interpretada como a razão de concentração. A medida de b mostrou-se bastante pequena (da ordem de 10^{-4}) indicando comportamento satisfatório com uma tendência mínima de perdas ao longo do tempo.

A análise indica que a vitamina C apresenta um comportamento diferente em meio liquido sob incidência de luz (Fig. 2) com pronunciada variação com o tempo. Neste caso o ajuste do mecanismo de degradação segue um modelo de decaimento exponencial do tipo $y = y_o + Ae^{-(x/t)}$, sendo A o intercepto com o eixo das ordenadas, refletindo o número total de moléculas com energia suficiente para reação, e a potencia do exponencial –(x/t) expressa a razão de reação, ou seja, quão rápido a curva

decai com o tempo (van BOEKEL, 2008, BRITTO et al., 2014)). As amostras encapsuladas também seguem uma exponencial porém de forma menos pronunciada (Figs 3 e 4). A velocidade de degradação ao longo de 17 dias pode ser determinada como 0,066 para as amostras encapsuladas e de 0,334 para as não-encapsuladas indicando uma deterioração aproximadamente 80% mais rápida na condição diluída do que no sistema Qui/TPP. Quando dissolvidas em ácido acético 1%, a potencia é de 0,230, ou seja, aproximadamente 70% mais rápida que as amostras encapsuladas, confirmando que a vitamina C apresenta diferentes comportamentos em meios diversos.

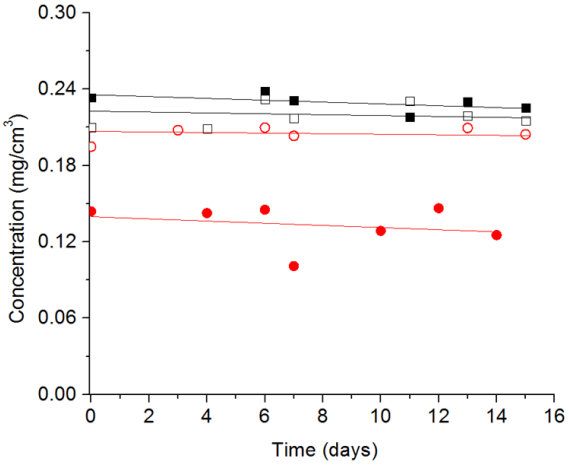


Figura 1. Variação da concentração de vitaminas B9 (●) e B12 (■) encapsulada comparadas com amostras B9 (○) e B12 (□), não encapsuladas em meio aquoso durante 15 dias a 30ºC no escuro.

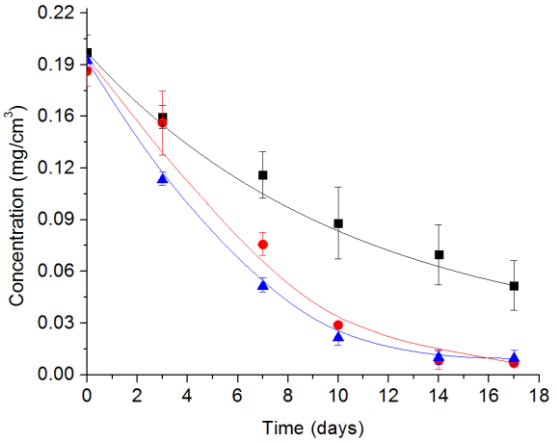


Figure 2. Variação da concentração de vitamina C encapsulada (■) e não-encapsulada (●) em água e em 1% ácido acético (▲), durante 15 dias a 30ºC na presença de luz.

Embora o mecanismo de degradação em fase aquosa seja distinto do que ocorre em meio sólido, as análises termogravimétricas proveem informações adicionais da estabilidade quando complexadas na matriz biopolimérica. A evolução da decomposição sob ação da temperatura pode ser acompanhada pela Figura 5. Temos que para as vitaminas B12 e B9 puras, as perdas de massa iniciam próximas as temperaturas de 40ºC e 92ºC respectivamente, correspondendo a desorção de água ligada química e fisicamente. Essa desidratação não é observada para a vitamina C e está em concordância com dados que indicam que a degradação térmica da vitamina C é decorrência da geração simultânea de H_2O, CO_2, CO, HCOOH e CH_4 formando como produto o furfural $C_5H_4O_2$ (JINGYAN et al., 2013). Para a vitamina B9, a degradação térmica ocorre pela clivagem das moléculas de folato com perdas de glutâmica e agrupamentos ácidos e para a B12 as degradações térmicas estão associadas à remoção de grupos cianido e amônia, que agem como agentes estruturantes da vitamina.

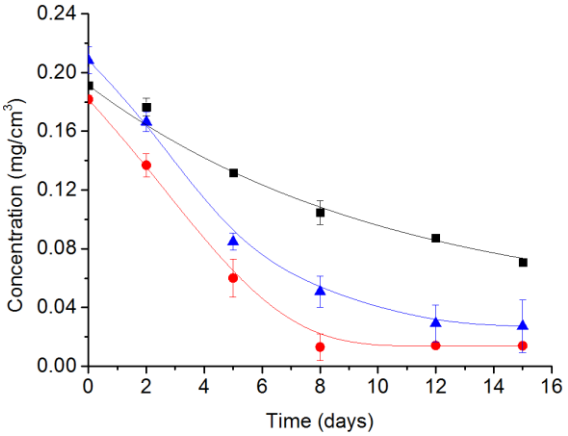


Figura 3. Variação da concentração de vitamina C encapsulada (■) e não-encapsulada em água (●) e em meio 1% ácido acético (▲) na presença de luz.

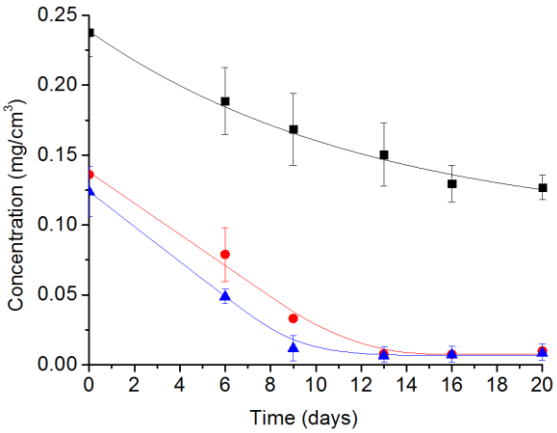


Figura 4. Variação de concentração de vitamina C encapsulada (■) e não-encapsulada (●) em água e (▲) em ácido acético 1% na presença de O_2.

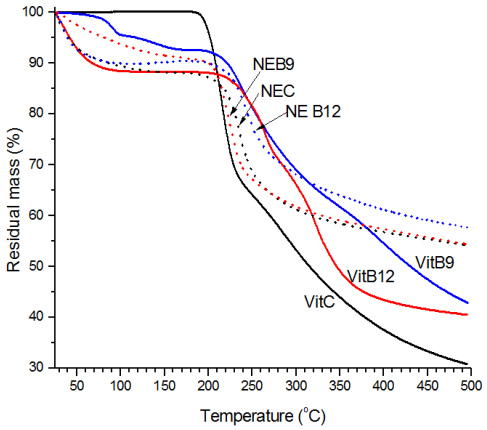


Figura 5. Curva termogravimetrica geradas para varreduras em vitaminas C, B9 e B12, puras e nanoencapsulada (NE) em ensaio sob atmosfera de N_2 e taxa de aquecimento de 10.0°C/min

4 CONCLUSÃO

Os resultados indicam que a nanoencapsulação de vitaminas pelo sistema quitosana/TPP promove a estabilização mesmo sob a ação degradadora da luz e do O_2. As vitaminas B9 e B12 apresentaram uma maior imutabilidade sob as condições analisadas, nas quais a encapsulação teve pouca influencia sobre as variações. Os resultados obtidos para a vitamina C (a mais susceptível) reforçam o potencial do sistema Qui/TPP como material apropriado para sua proteção, com potencial aplicação na área de cosméticos, farmacêutica e de alimentos. Adicionalmente as análises da degradação térmica demonstraram que a presença das vitaminas promove uma redução geral da estabilidade, provavelmente em consequência do estabelecimento de ligações fracas entre esses agentes e os polímeros que formam as capsulas.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Rede AgroNano (Embrapa) por apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

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.

BRITTO, D.; MOURA, M.R.; AOUADA, F.A.; PINOLA, F.G.; LUNDSTEDT, L.M.; ASSIS, O.B.G.; MATTOSO, L.H.C. Entrapment characteristics of hydrosoluble vitamins loaded into chitosan and N,N,N-trimethyl chitosan nanoparticles. Macromolecular Research, v.22, n.12, p.1261-1267, 2014.

BRITTO, D.; PINOLA, F.G.; MATTOSO, L.H.C.; ASSIS, O.B.G. Analysis of thermal and aqueous suspension stabilities of chitosan based nanoencapsulated vitamins. Química Nova,v.39, n.9, p. 1126-1130, 2016.

CHEN, F.; ZHANG, Z.-R.; HUANG, Y. Evaluation and modification of *N*-trimethyl chitosan chloride nanoparticles as protein carriers. International Journal of Pharmaceutics, v.336, n.1, p. 166-173. 2007.

JINGYAN, S.; YUWEN, L.; ZHIYONG, W.; CUNXIN, W. Investigation of thermal decomposition of ascorbic acid by TG-FTIR and thermal kinetics analysis. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, v.77, p. 116-119, 2013.

van BOEKEL. M.A.J.S. Kinetic modeling of food quality: A critical review. Comprehensive. Review on Food Science and Food Safety, v.7, n.1,p.144-158, 2008.

ESTUDOS PRELIMINARES APLICADOS AO NANOENCPSULAMENTO DE INSETICIDAS NEONICOTINÓIDES: TIAMETOXAM

(Márcia R. Assalin[1], Débora C. S.Dutra[1], Maria A. Rosa[1], Rafaela C.R.M. Duarte[1], Patrícia Donaire[2], Nelson Duran[2]

([1] EMBRAPA Meio Ambiente, Rodovia Campinas Mogi-Mirim, Tanquinho Velho, CP. 69, CEP 13820-000, Jaguariúna, SP, Brazil. [2] Laboratório de Química Biológica, Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, CP 6154, CEP 13083-970, Campinas, SP, Brazil) Márcia.assalin@embrapa.br

Classificação: Tecnologias de micro e nanoencapsulação de princípios ativos

Resumo

O HLB é uma das mais importantes doenças dos citros da atualidade. A severidade da doença se dá principalmente pela rápida e eficiente disseminação das bactérias associadas ao HLB, pelo psilídeo Diaphorina citri e pela ausência de resistência genética em citros**.** O controle químico é a principal forma de controle dos psilídeos, existindo diferentes inseticidas registrados com esta finalidade. Tiametoxam é um dos princípios ativos utilizados no controle do HLB. Formulações de pesticidas nanoencapsulados permitem uma liberação controlada do ativo bem como proteção contra sua degradação prematura, possibilitando o uso do inseticida convencional de maneira mais sustentável. Neste trabalho estudos preliminares aplicados ao nanoencapsulamento do inseticida tiametoxam foram realizados. Três diferentes metodologias de preparação de nanopartículas poliméricas foram estudadas: dupla emulsão modificada seguida por evaporação do solvente, nanopreciptação e gelificação iônica. As nanopartículas foram caracterizadas em termos de tamanho, índice de polidispersidade e potencial zeta. A nanopreciptação e gelificação iônica resultaram em partículas homogêneas e monodispersas, sendo que o diâmetro médio obtido foi 268,7 e 158,8 nm respectivamente, enquanto que o índice de polidispersidade foi inferior a 0,3 para ambas as metodologias. A determinação da eficiência de encapsulamento é a próxima etapa a ser realizada, na continuidade dos estudos de desenvolvimento do nanopesticida.

Palavras-chave: Inseticidas; Tiametoxam; Nanotecnologia; Greening; Liberação Controlada.

PRELIMINARY STUDIES APPLIED TO NANOENCAPSULATION OF NEONICOTINOID INSECTICIDE: THIAMETHOXAM

Abstract

Huanglongbing (HLB) is probably the most serious disease of citrus, nowadays. The severity of disease is mainly the rapid and efficient dissemination of the bacteria associated with HLB by psyllids Diaphorina citri and the absence of genetic resistance in citrus.Chemical control is the main way to control the psyllids, and there are different insecticides registered for this purpose. Thiamethoxam is one of the active ingredients used in the control of HLB. Nanoencapsulated pesticide formulations allow controlled release of the active substance as well as protection against premature degradation, making it possible to use the conventional insecticide in a more sustainable way. In this work preliminary studies applied to the nanoencapsulation of the insecticide thiamethoxam were carried out. Three different methods of preparation of polymer nanoparticles were studied: modified double emulsion method followed by solvent evaporation, nanoprecipitation and ionic gelification. The nanoparticles were characterized in terms of size, polydispersity index and zeta potential. Nanoprecipitation and ionic gelification resulted in homogeneous and monodisperse particles, with the

mean diameter obtained being 268.7 and 158.8 nm respectively, while the polydispersity index was less than 0.3 for both methodologies. The determination of the encapsulation efficiency is the next step to be carried out, in the continuity of the development studies of the nanopesticide.

Keywords: Inseticide; Thiamethoxam; Nanotechnology; Greening, Controlled release

1 INTRODUÇÃO

O HLB é uma das mais importantes doenças dos citros da atualidade. A severidade da doença se dá principalmente pela rápida e eficiente disseminação das bactérias associadas ao HLB, pelo psilídeo Diaphorina citri (D. citri) e pela ausência de resistência genética em citros.

O controle químico é a principal forma de controle dos psilídeos, existindo diferentes inseticidas registrados com esta finalidade. Tiametoxam (inseticida neonicotinoide) é um dos princípios ativos utilizados no controle do HLB. Apresenta elevada solubilidade em água (4 g L^{-1}, a 25 °C), elevado potencial de lixiviação, além de ser rapidamente degradado por fotólise (ZHAO et al., 2016) Devido às grandes perdas ocorridas, sejam elas devido às técnicas de aplicação utilizadas, condições ambientais, lixiviamento e degradação por fotólise, concentrações abaixo da concentração efetiva para controle da doença são observadas e novas aplicações são requeridas. Repetidas e indiscriminadas aplicações resultam em uso do pesticida em quantidades superiores àquelas realmente necessárias ao controle da doença e implicam em uma série de problemas que vão desde o aumento do custo do tratamento, contaminação dos corpos aquáticos superficiais e subterrâneos, risco da ocorrência de resistência de populações de D. citri ao inseticida, além de riscos à saúde humana, invertebrados aquáticos e abelhas.

A pesquisa científica tem focado no uso de nanopartículas para reduzir o uso de pesticidas em diferentes culturas. Dentro deste contexto, nanopartículas poliméricas tem despertado o interesse dos pesquisadores, uma vez que são possíveis a utilização de polímeros biodegradáveis (naturais ou sintéticos e o encapsulamento de moléculas hidrofílicas e hidrofóbicas. Além disto permitem uma liberação controlada do ativo bem como proteção contra sua degradação prematura, possibilitando o uso do inseticida convencional de maneira mais sustentável. Desta forma, estudos da efetividade de formulações de pesticidas encapsulados é extremamente importante para viabilização de seu uso na agricultura. Neste trabalho, estudos preliminares de nanoencapsulamento de tiametoxam foram realizados. Dentre as metodologias de preparo de nanopartículas poliméricas, foram estudadas: dupla emulsão modificada seguida por evaporação do solvente (HUBER et al., 2014), nanopreciptação (BERNIN–NETO, 2014) e gelificação iônica (GRILLO et al., 2014). Todas as metodologias utilizadas levam em sua composição Quitosana, polímero biocompatível e biodegrádavel, bastante utilizado no encapsulamento de moléculas hidrofílicas (VRIGNAUD et al., 2011). As nanopartículas foram caracterizadas em termos de tamanho, índice de polidispersidade e potencial zeta.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Preparo das Nanopartículas pelo método de dupla emulsão modificada e evaporação do solvente

Uma alíquota de 1 mL (4 mg mL^{-1}) de solução aquosa de tiametoxam, (grau técnico, 90%) e 0,5% de álcool polivinílico (PVA) foram primeiramente emulsificados com 10 mL da fase orgânica constituída de acetato de etila e 60 mg de poli(ε-caprolactona) (PCL, MM 10.000 g moL^{-1} , Aldrich) sob agitação em Ultra-Turrax. (8.000 rpm) por 1 minuto, para formação da emulsão água-óleo (A/O). Esta emulsão foi então transferida para um béquer contendo 50,1 mL de água Milli-Q, 9,9 mL de uma solução de Quitosana (2 mg mL^{-1}), MM de 105.000 g mol-1 e grau de desacetilação de ~81%, Polymar), 1% de PVA e 0,9% de NaCl, sob agitação mecânica em Ultra-Turrax, a 10.000 rpm durante 1,5 minutos, formando a dupla emulsão A/O/A. Após este período, a dupla emulsão foi transferido para um balão de fundo redondo (100 mL) e submetido à evaporação do solvente, em rotaevaporador (Heidolph) a 28ºC.

2.2 **Preparo das Nanopartículas pelo método de nanopreciptação**

Uma alíquota de 3 mL de uma solução orgânica composta de 5 mg mL^{-1} de PCL e 10 mg mL^{-1} de tiametoxam (90 %) foi vertida em 9,0 mL de uma solução aquosa composta de quitosana (0,4 mg mL^{-1} , 0,1% de ácido acético) (QS) (MM de 105.000 g moL^{-1} e grau de desacetilação de ~81%, Polymar) e o surfactante Tween 80 (1 mg mL^{-1}) (Oxiteno), em uma única etapa, sob agitação magnética (300 rpm) mantida durante 5 minutos, seguida pela etapa de retirada do solvente orgânico por meio de evaporação sob baixa pressão, 28ºC.

2.3 Preparo das Nanopartículas pelo método de gelificação iônica

Uma solução aquosa (Q) de 0,1% de quitosana (MM de 105.000 g moL^{-1} e grau de desacetilação de ~81%, Polymar) pH 4,7 (com acido acético, 0,2%) e 8 mg de tiametoxam (90%) foi mantida sob agitação magnética por 12 h. Paralelamente foi preparada uma solução aquosa de Tripolifosfato (Sigma-Aldrich) 0,1% (TPP) e mantida sob refrigeração a 4ºC. Uma alíquota de 5 mL da solução Q foi adicionada a 20 mL da solução TPP sob agitação magnética a qual foi mantida por mais 10 minutos.

2.4 Tamanho de partícula, índice de polidispersidade e potencial zeta

Para a análise de diâmetro e carga de partícula foi utilizada a técnica do espalhamento dinâmico de luz (DLS) no equipamento ZetaSizer Malvern® à 25°C. Foi feita uma dispersão das partículas em água milli-Q (1:100) para medida do diâmetro médio (Z-average) e outra dispersão em KCl 1 mmol L^{-1} (1:100) para medida da carga superficial (Potencial Zeta).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As metodologias aplicadas na preparação das nanopartículas foram comparadas inicialmente por meio da medida do diâmetro hidrodinâmico médio e índice de polidispersidade. Estas medidas são importantes porque além da avaliação do tamanho da partícula obtida são bons indicadores da estabilidade das mesmas. Partículas de tamanhos muito distintos tendem a coalescer mais facilmente (ÜNER et al., 2006). A Tabela 1 apresenta os valores de diâmetro médio e índice de polidispersidade das nanopartículas preparadas.

Tabela 1. Valores de diâmetro e índice de polidispersidade obtido para cada uma das metodologias de preparação utilizadas

Metodologia de Preparo	Diâmetro (nm)	Índice de Polidispersidade
Dupla emulsão e evaporação do solvente	2225,0	1
Nanopreciptação	268,7	0,298
Gelificação Iônica	158,8	0,190

A metodologia de dupla emulsão seguida por evaporação do solvente resultou em partículas grandes (maiores que 1µm) e de tamanhos muito diferentes. Já as demais metodologias utilizadas na preparação das nanopartículas poliméricas resultaram em partículas monodispersas e homogêneas. Os valores de potencial Zeta foram determinados apenas para as metodologias de nanopreciptação e gelificação iônica, sendo que os valores obtidos foram +25,5 mv e +18,5 mv. A carga positiva das nanopartículas são decorrentes da presença de quitosana (devido aos agrupamentos amina presente nesta molécula), o que resulta em sua propriedade de bioadesão. Além disso, medidas do potencial zeta são fundamentais, pois em geral partículas carregadas irão sofrer repulsão elétrica entre si, aumentando a estabilidade da emulsão (ÜNER et al., 2006; GRILO et al., 2014). A determinação da eficiência de encapsulamento, será a próxima etapa a ser realizada, uma vez que é de extrema

importância estabelecer a quantidade do ativo encapsulado para dar-se continuidade aos estudos de desenvolvimento do nanopesticida.

4 CONCLUSÃO

Os estudos preliminares de preparação das nanopartículas poliméricas, nos quais foram considerados apenas o tamanho da partícula obtido e o índice de polidispersidade demonstraram que a metodologia de dupla emulsão seguida de evaporação do solvente apresentou resultados insatisfatórios. As demais metodologias de preparação resultaram em partículas homogêneas e monodispersas, e serão utilizadas na continuidade dos estudos para desenvolvimento do nanopesticida.

AGRADECIMENTOS

À Amanda Ferreira Costa pela colaboração. À Fapesp pelo apoio financeiro, processo 2016/23282-0.

REFERÊNCIAS

BERNI-NETO, E.A. Desenvolvimento de nanoparticulas poliméricas contendo amitraz, fluazuron e/ou violaceína para o uso na pecuária. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Unicamp, Campinas; 2014.

GRILLO, R.; PEREIRA, A.E.S.; NISHISAKA, C.S.; LIMA, R.; OEHLKE, K.; GREINER, R.; FRACETO, L.F.Chitosan/tripolyphosphate nanoparticles loaded with paraquat herbicide: Na environmentally safer aleternative for weed control. Journal of Hazardous Materials, v.278, p.163-171, 2014.

HUBER, S. C.; MARCATO, P. D.; DURAN, N.; COSTA, A. M. A.; ANNICHINO-BIZZACCHI, J. M. Preparation and Application of Mucoadhesive Nanoparticles Containing Enoxaparin in a Wound Healing Animal Model. Current Nanoscience, v. 10, p. 779-785, 2014.

ÜNER, M. Preparation, characterization and physico-chemical proprieties of solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC): Their benefits as colloidal drug carrier system. Pharmazie, v.61, p. 375-386, 2006.

VRIGNAUD, S.; BENOIT, J.B.; SAULNIER, P. Strategies for the nanoencapsulation of Hydrophilic molecules in polymer-based nanoparticles. Biomaterials. v. 32, p. 8593-8604, 2011.

ZHAO,Q.; GE, Y.; ZUO, P.; SHI, D.; JIA, S. Degradation of Thiamethoxam in aqueous solution by ozonation: In fluencing fact ors, int Ermediates, degradation mechanism and toxicity assessment. Chemosphere. v. 146, p. 105 - 112, 2016.

SÍLICA BIOGÊNICA COMO VEÍCULO NA LIBERAÇÃO CONTROLADA DE BIOCIDAS

Bruno D. Mattos[a], Tainise V. Lourençon[b], Washington L. E. Magalhães[c]

[a] *PPG em Engenharia e Ciência dos Materiais (PIPE), Universidade Federal do Paraná (UFPR).*
[b] *PPG em Engenharia Florestal (PPGEF), Universidade Federal do Paraná (UFPR).*
[c] *Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa Florestas*

Classificação: Tecnologias de micro e nanoencapsulação de princípios ativos.

Resumo
Biocidas são essenciais na proteção de colheitas, embalagens, além de um grande número de outras aplicações em biossistemas. Entretanto, propriedades como responsividade e controle da taxa de liberação tornaram-se primordiais no desenvolvimento de sistemas biocidas mais sustentáveis. Almeja-se com isto diminuir o acúmulo de toxinas em solo, água e alimentos. Neste estudo, explorou-se a arquitetura hierarquicamente nano-organizada (agregados fractais) de partículas de sílica biogênica como um veículo de alta capacidade de carregamento biocida, neste caso timol. Sendo a área de superfície de agregados fractais altamente acessível, foi possível desenvolver um método espontâneo, de baixa energia, para o carregamento de até 100 mg de biocida por grama de partículas. Modificações da superfície da sílica com aminas ou ácidos carboxílicos foram utilizadas com o objetivo de promover diferentes interações entre veículo e biocida, dessa forma controlando a taxa de liberação e a responsividade do sistema contra alterações de pH, salinidade e temperatura.

Palavras-chave: Liberação sob demanda; Agregados fractais; Interações de interface; Timol; Biopesticida.

CONTROLLED RELEASE BIOCIDES FROM BIOGENIC SILICA

Abstract
Biocides are essential for crop protection, packaging and a large number of other biosystem applications. Therein, properties such as tailorable and controlled release are paramount in the development of sustainable biocide delivery systems. We explore the self-similar nano-organized architecture of biogenic silica particles to achieve high biocide payload. The high surface area accessibility of the carrier allowed us to develop an efficient, low energy loading strategy, reaching significant dynamic loadings of up to 100 $mg \cdot g^{-1}$. The release rate and responsiveness were tuned by manipulating the surface of the carrier, using either native hydroxyl surface as well as modified forms containing amines or carboxylic acids in high density. We thoroughly evaluated the impact of the carrier-biocide interactions on the release rate as a function of pH, ionic strength and temperature.

Keywords: On-demand release; Fractal aggregates; Interface interactions; Thymol; Biopesticide.

1 INTRODUÇÃO

Biocidas são essenciais na proteção de colheitas, embalagens, além de um grande número de outras aplicações em biossistemas. Métodos tradicionais de proteção exigem altas dosagens ou aplicações repetidas de biocidas, consequentemente resultando em liberação incontrolada e proteção apenas em curtos espaços de tempo (MATTOS et al., 2017a). Isto, inevitavelmente, leva à excessiva, potencialmente tóxica, lixiviação de biocidas no solo e água. Neste sentido, torna-se primordial o desenvolvimento de sistemas inteligentes para a liberação de biocidas, nos quais a taxa de liberação (associada a dissolução do biocida) e a responsividade a fatores externos podem ser ajustáveis. Especialmente, quando o desenvolvimento de novas moléculas biocidas eficazes e seguras é atualmente um processo mais desafiador e caro (LAMBERTH et al., 2013).

O carregamento de nanoestruturas estáveis (térmica, química e biologicamente) com biocidas é uma estratégia oportuna para controlar a dissolução de moléculas em água. A elevada área de superfície de nanoestruturas traz em paralelo um aumento significativo na densidade de sítios de ligação, os quais são essenciais para aumentar a interação entre veículo e biocida. Com manipulações da intensidade das interações nesta interface é possível controlar a taxa de liberação além de tornar estes sistemas responsivos a fatores externos (SIEPMANN; SIEPMANN, 2012).

Sílica sintética mesoporosa é a nanoestrutura mais utilizada em sistemas de liberação de fármacos (SLOWING et al., 2008), uma vez que possui alta área de superfície (*ca*. 800 m^2/g) e possibilidade de controle de suas propriedades físico-químicas. Entretanto, a área de superfície destas nanoestruturas não é totalmente acessível devido às constrições de tortuosidade e conectividade de poros, o que limita o carregamento destas estruturas (POPAT et al., 2012). Além disto a síntese destas partículas é um processo tóxico não sustentável. Por outro lado, a sílica biogênica consiste em estruturas hierarquicamente nano-organizadas que podem ser obtidas em processos de biorrefinaria sustentáveis, utilizando plantas acumuladoras de silício como precursor (MATTOS et al., 2017b). Estas partículas consistem de uma rede fractal formada de unidades primarias de 8-10 nm hierarquicamente organizadas em aglomerados de 40-100 nm, que posteriormente formam clusters na escala micrométrica. Esta automontagem em redes fractais resultam em alta conectividade de poros na mesoescala e consequentemente alta acessibilidade de área de superfície (ARMATAS, 2006).

Com isto, este trabalho tem por objetivo a utilização de sílica biogênica como um veículo para o preparo de sistemas de liberação de biocidas. Neste estudo, timol foi utilizado como biocida modelo, uma vez que é um dos mais promissores biopesticidas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Preparo dos sistemas biocidas

As partículas utilizadas como veículo do sistema biocida foram isoladas de cavalinha (*Equisetum arvense*) seguindo procedimentos descritos em Mattos et al. (2017). A superfície das partículas (SiOH) foi modificada com APTES para a funcionalização com grupos aminas (SiNH2), os quais foram posteriormente convertidos em grupos carboxílicos (SiCOOH) utilizando reação de amidação por meio de anidrido maleico. Microscopia eletrônica de transmissão (TEM) e varredura (SEM) foram utilizadas para demonstrar a estrutura das partículas. Além disso a área de superfície foi mensurada a partir do método de B.E.T..

O sistema biocida foi preparado suspendendo-se 200 mg de determinada partícula em 20 mL de hexano. A suspensão foi ultrassonicada e colocada sob agitação recíproca, no momento em que uma solução de timol em hexano foi adicionada gota-a-gota. O sistema permaneceu sob agitação durante 24h para atingir equilíbrio do carregamento. Após isso, a suspensão de partículas carregadas foi centrifugada (2000 rpm, 2 min) e seca em estufa a 80ºC por 4h. Os sistemas biocidas foram chamados de SiOH@Thy, $SiNH_2$@Thy e SiCOOH@Thy. A fração de biocida carregado nas partículas foi calculada por meio de curva de calibração em espectrofotômetro UV utilizando o comprimento de onda a 275 nm.

2.2 Estudo da cinética de liberação e responsividade dos sistemas

Os perfis de liberação do biocida foram obtidos em meio aquoso com diferentes níveis de pH (5, 7 e 9), salinidade (NaCl 0,5, 2,0 e 3,5%) e temperatura (25, 35 e 45^oC). Em um experimento típico, envelopes feitos com papel filtro contendo *ca.* 30 mg de sistema biocida foram colocados em 1L de água sob dada condição de pH, salinidade e temperatura. Após, os envelopes foram removidos ao longo de 350h, e a fração residual de biocida nas partículas foi calculada por meio da calibração em espectrofotômetro UV. O modelo cinético de Elovich foi aplicado com o objetivo de avaliar as curvas de calibração utilizando apenas uma única variável: *k*, taxa de liberação.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A nano-organização das partículas de sílica biogênica foram comprovadas por meio de TEM e SEM (Figura 1a). Observou-se a estruturação hierárquica de unidades básicas de *ca.* 10 nm em

aglomerados de até 100 nm, os quais por sua vez formam clusters na escala submicrométrica. Posteriormente, estes clusters agregam-se para formar partículas micrométricas com características fractais. A área específica destas partículas, calculada pelo modelo de múltiplos pontos (B.E.T.), foi de 325±2.5, 280±7.5 e 269±10.5 m^2/g para SiOH, $SiNH_2$@ e SiCOOH, respectivamente.

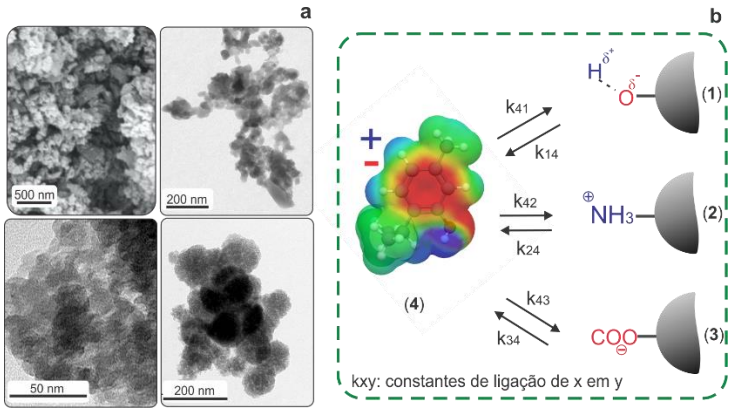


Figura 1. Imagens de TEM e SEM das partículas de sílica demonstrando a nano-organização hierárquica do material utilizado como veículo para a liberação de timol (a). Interações entre veículo e biocida, as quais podem ser utilizadas para controlar a taxa de liberação e responsividade do sistema biocida.

A partir das modificações químicas da superfície, diversas interações entre biocida e sílica podem ser esperadas (Figura 1b). O mapa do potencial eletrostático de timol obtido em conformação de equilíbrio mostra uma molécula fortemente polarizada, com um momento quadrupolar deslocado, levando a zonas ora de intensa carga negativa ora positiva. Dessa forma, além de interações de Van der Walls e de hidrogênio, interações dipolo-dipolo e eletrostáticas podem ocorrer entre timol e os veículo de diferentes químicas de superfície.

O total de biocida carregado nestes sistemas foi estimado em 82.5, 99.5 e 120 mg de timol por grama de partícula, para os sistemas SiOH@Thy, SiNH2@Thy e SiCOOH@Thy, respectivamente. Entretanto, o total de biocida apto a ser liberado (extraível) foi 9.3, 63 e 83% menor para os mesmos sistemas. Apesar de não ser passível de liberação a curto prazo (até 350h), devido à fortes interações com o veículo, estima-se que o timol ancorado à sílica atue também como biocida.

O perfil de liberação do timol foi semelhante para todos os sistemas (Figura 2a). Dois estágios foram claramente observados: estágio de liberação brusca, observado nas primeiras 24h, seguido de estágio de liberação lenta, o qual ocorreu a partir de 24 até 350h. A fase de equilíbrio não foi atingida para nenhum sistema (dentro das 350h), sugerindo um controle de liberação com tempos ainda mais longos. As partículas funcionalizadas resultaram em sistemas biocidas (SiNH2@Thy e SiCOOH@Thy) com menor quantidade de biocida liberado ao longo de 350h, o que é devido a interações mais fortes na interface entre biocida e veículo.

A taxa de liberação de timol aumentou após o aumento da temperatura para todos sistemas (Figura 2b), o que é um resultado do aumento da solubilidade de timol com o aumento de temperatura. Salinidade teve o mesmo efeito, entretanto com mais intensidade para o sistema SiNH2@Thy. Este forte efeito de sais na interação entre aminas e timol indica que a interação entre biocida e veículo é fortemente induzida por atrações eletrostáticas. O baixo efeito da força iônica sob a taxa de liberação dos demais sistemas indica que as interações na interface são dominadas não somente por eletrostática, mas também por Van der Walls, dipolo-dipolo ou ainda múltiplas interações de hidrogênio.

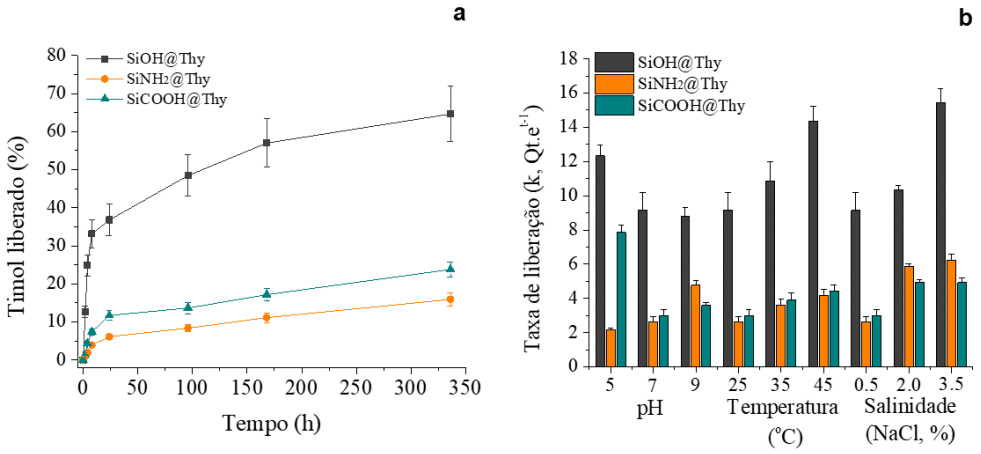


Figura 1. Perfis de liberação de timol sob condições regulares (a). Coeficiente da taxa de liberação, k, após a linearização dos valores experimentais utilizando o modelo cinético de Elovich modificado (b).

O efeito do pH foi característico para cada sistema. Este resultado é originado dos padrões de (de)protonação dos grupos na superfície do veículo e suas respectivas interações com o biocida. Por exemplo, interações entre NH_3^+ e O^- são fortes e resultam em maior controle da liberação; enquanto que NH_2 e O^- resultam em fraca interação e por consequência maior velocidade de liberação. Para o sistema SiCOOH@Thy, pH ácido acelerou a taxa de liberação, o que pode ser consequência da quebra de possíveis ligações covalentes entre o grupo terminal -COOH (veículo) e -OH (biocida).

4 CONCLUSÃO

Utilizando sílica biogênica foi possível alcançar altas cargas de biocida, enquanto que com diferentes modificações de superfície foi possível ajustar a sua taxa de liberação bem como responsividade do sistema.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq, CAPES e Fundação Araucária pelo suporte por meio de bolsa de pesquisa e doutorado.

REFERÊNCIAS

ARMATAS, G. S. Determination of the effects of the pore size distribution and pore connectivity distribution on the pore tortuosity and diffusive transport in model porous networks. **Chemical Engineering Science**, v. 61, n. 14, p. 4662–4675, 2006.

LAMBERTH, C. et al. Current challenges and trends in the discovery of agrochemicals. **Science (New York, N.Y.)**, v. 341, n. 6147, p. 742–6, 2013.

MATTOS, B. D. et al. Controlled release for crop and wood protection: Recent progress toward sustainable and safe nanostructured biocidal systems. **Journal of Controlled Release**, 2017a.

MATTOS, B. D. et al. Consecutive Production of Hydroalcoholic Extracts, Carbohydrates Derivatives and Silica Nanoparticles from Equisetum arvense. **Waste and Biomass Valorization**, 2017b.

POPAT, A. et al. Adsorption and release of biocides with mesoporous silica nanoparticles. **Nanoscale**, v. 4, n. 3, p. 970, 2012.

SIEPMANN, J.; SIEPMANN, F. **Modeling of diffusion controlled drug deliveryJournal of Controlled Release**, 2012.

SLOWING, I. I. et al. Mesoporous silica nanoparticles as controlled release drug delivery and gene transfection carriers. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 60, n. 11, p. 1278–1288, 2008.

CAPÍTULO 6

Desenvolvimentos de nanocompósitos a partir de fontes renováveis

DESENVOLVIMENTO DE COMPÓSITOS BIODEGRADÁVEIS DE AMIDO DE MANDIOCA E RESÍDUO DA INDUSTRIA CERVEJEIRA

Juliana Farinassi Mendes, Luan Filipe Silva Moreira, Alfredo Rodrigues Sena Neto, Juliano Elvis Oliveira, Ana Carla Marques Pinheiro

Universidade Federal de Lavras - UFLA
julianafarinassi@hotmail.com

Classificação: Desenvolvimento de compósitos a partir de fontes renováveis.

Resumo
Vários estudos têm sido conduzidos para substituir as embalagens convencionais por embalagens biodegradáveis, a partir de fontes renováveis. O bagaço de malte, um resíduo da indústria de fabricação de cerveja, foi utilizado para produzir filmes biodegradáveis feitos a partir de amido de mandioca usando o processo de casting. Estes filmes foram preparados com diferentes concentrações de bagaço de malte (0-20% m/m) e depois foram caracterizados de acordo com as propriedades mecânicas e de barreira. As espessuras dos filmes e compósitos variaram de 0,11 a 0,20 mm e as densidades variaram de 0,58 a 1,43 g/cm³. A incorporação do bagaço de malte até 15% m/m, não afetou as propriedades mecânicas e proporcionou uma redução de aproximadamente 75% na taxa de absorção de água dos filmes. Os compósitos TPS-bagaço de malte podem ser uma alternativa viável para a produção de embalagens biodegradáveis reduzindo o uso de materiais à base de petróleo.
Palavras-chave: Biopolímeros; Bagaço de malte; Evaporação do Solvente.

DEVELOPMENT OF BIODEGRADABLE COMPOSITES BASED ON CASSAVA STARCH AND BEER INDUSTRY RESIDUE

Abstract
Several studies have been conducted to investigate other possibilities for replace synthetic polymers in conventional packaging. In this way, biodegradable biopolymers have been indicated for the development of new food packaging. Malt bagasse, a residue from the beer industry, was used to produce biodegradable films made from cassava starch using the casting technique. These films were prepared with several ratios between malt bagasse and cassava starch (0-20%wt) and then characterized according to the mechanical and barrier properties. The thicknesses of the biodegradable films ranged from 0.11 to 0.20mm and densities ranged between 0.58 and 1.43g/cm^3. The incorporation of the malt bagasse up to 15%wt does not show significant changes in the mechanical properties and provided a decrease (75%) in the water absorption rate of the films. TPS-malt bagasse composites can be a viable alternative for the production of biodegradable packaging. This new material is a promising technology for reducing the use of petroleum-based polymers.
Keywords: Biopolymers; Malt bagasse; Composites; Casting

1 INTRODUÇÃO

O alto consumo de embalagens plásticas à base de petróleo tornou-se um grande problema ambiental nos últimos anos devido ao uso de matérias-primas não renováveis e não-biodegradável, que vem causando danos extensivos ao meio ambiente. Uma alternativa às embalagens plásticas convencionais são as embalagens biodegradáveis produzidas a partir de fontes renováveis. O Brasil apresenta uma grande abundância de recursos naturais renováveis que podem ser usados como matriz e componentes de reforços em materiais poliméricos biodegradáveis.

Entre eles os polissacarídeos, como os amidos, oferecem várias vantagens para a substituição de polímeros sintéticos (SIMKOVIC, 2013). Vários estudos recentes identificaram materiais e compósitos de TPS como possíveis alvos para novos bio-plásticos de curta e média vida. Os motivos são a sua estrutura química simples, as propriedades físico-químicas desejáveis, a abundância na natureza e as tecnologias de produção bem estabelecidas (AVELLA et al., 2005). Porém os filmes à

base de amido, no entanto, são frágeis e hidrofílicos, limitando assim seu processamento e aplicação. Para superar estas desvantagens, o amido pode ser misturado com vários polímeros sintéticos e naturais (PELISSARI et al., 2012).

Outros materiais naturais são os resíduos agroindustriais, como o bagaço de malte. No qual é produzido a partir da filtração do mosto antes de ferver. Este resíduo consiste principalmente em descascados e polpas de malte e grãos e também alguns aditivos, como arroz, milho e trigo. O bagaço de malte corresponde a 85% do produto total gerado pela indústria cervejeira e, portanto, é considerado um resíduo mais importante da produção de cerveja. Além disso, o Brasil é o terceiro maior produtor de cerveja do mundo, com uma produção de 12,6 ML, atrás da China (40 ML) e dos Estados Unidos (35ML) (MARDEGAN et al., 2013).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a incorporação de bagaço de malte em filmes de TPS e estudar os efeitos desse resíduo agroindustrial nas propriedades mecânicas e de barreira dos filmes.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Materiais

O amido de mandioca foi obtido da Yoki Alimentos S.A (São Paulo, Brasil) no comercio local. O bagaço de malte foi gentilmente fornecido pela Microcervejaria (Lavras, Brasil) e foi seco a 45ºC e moído para produzir partículas com diâmetro inferior a 0,07mm. O glicerol foi adquirido da Synth (Labsynth, São Paulo, Brasil).

2.2 Produção dos filmes e compósitos

A solução filmogênica foi preparada dispersando 3% de amido de mandioca em 100 mL de água destilada com aquecimento e agitação constante, seguido de adição de 20% de glicerol (em relação à massa seca do amido). A suspensão foi aquecida a 75ºC durante 30 minutos com agitação intermitente e depois arrefecida até a temperatura ambiente com agitação suave para reduzir as bolhas de ar. Em seguida ocorreu a produção dos compósitos pela adição do bagaço de malte nas seguintes concentrações 5,10, 15 e 20% m/m, os quais receberam as seguintes denominações, TM5, TM10, TM15 e TM20, respectivamente. Todos os filmes foram preparados em bandejas de poliestireno e secos à temperatura ambiente. Os mesmos foram removidos cuidadosamente das bandejas e acondicionados em um dessecador com 58% de umidade relativa durante 48 h antes da caracterização.

2.3 Caracterizações dos filmes

Determinação da espessura e densidade

A espessura dos TPS e dos compósitos foram determinadas com auxílio de um micrometro digital (Mitutoyo, Japão). A espessura foi determinada pela média de cinco posições aleatórias em cada formulação. Os valores médios foram utilizados para calcular as propriedades de barreira e mecânicas. A densidade (g/cm³) foi realizada em corpos de prova quadrados com 2 cm de comprimento. Cada amostra foi pesada e o volume foi calculado multiplicando o comprimento, largura e espessura, de acordo com CORRADINI, et al., (2008).

Propriedades mecânicas

A tensão máxima, deformação máxima na ruptura e o módulo de elasticidade foram medidos usando um Texturômetro TA.XT2i (Stable Micro Systems). Os testes foram realizados de acordo com a norma ASTM D882-09. As amostras apresentaram seção média de 10 mm de largura; 100 mm de comprimento e 0,2 de espessura. Foram testadas pelo menos seis amostras para cada formulação. A distância entre as garras, velocidade do teste e a célula de carga foram de 50 mm, 0,8 mm.s^{-1} e 50 kgf, respectivamente. A resistência à tração (σmax) foi calculada dividindo a força máxima pela área da seção transversal e a porcentagem de deformação (ε) foi calculada da seguinte forma (Equação 1):

$$\varepsilon(\%) = \frac{d - do}{do} \, x \, 100 \qquad (1)$$

Onde d é a deformação final e do é a deformação inicial (distância entre as garras). O módulo de elasticidade (E) foi determinado a partir da inclinação linear das curvas de tensão versus deformação.

Ensaio de absorção de água dos filmes

O teste de absorção de água foi realizado em um ambiente controlado a 19ºC e umidade relativa de 100%, no interior de um dessecador, baseado na norma ASTM E104. Os corpos de prova foram cortados com área de 4 cm². As amostras foram colocadas em uma estufa a 50ºC durante 24 horas e subsequentemente pesadas. As amostras foram pesadas a cada 1 hora até atingir peso constante. A quantidade de água absorvida foi estimada em cada tempo pela Equação 2:

$$AA\ (\%) = \frac{Mt - Mi}{mi} \times 100 \qquad (2)$$

Onde AA é a absorção de água (%); Mt é a massa (g) no tempo t ; Mi é a massa inicial (g).

2.4 Análise estatística

Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) para determinar diferenças estatísticas. As comparações múltiplas foram realizadas pelo teste de Scott-Knott usando o software estatístico Sisvar® (Versão 5.4). As diferenças estatísticas foram declaradas a $p < 0,05$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Propriedades mecânicas

A resistência à tração, a deformação na ruptura e o módulo de elasticidade do TPS e dos compósitos são mostrados na Tabela 1.

Tabela 1. Propriedades mecânicas do TPS e dos compósitos TPS/bagaço de malte

Formulações	Espessura (mm)	Densidade (g/cm³)	σmax (MPa)	ε (%)	E (MPa)
TPS	0,12±0,01^{a}	1,43±0,05^{a}	2,2 ± 0,3^{a}	36 ± 13^{a}	89 ± 16^{a}
TM5	0,11±0,003^{a}	0,58±0,08^{b}	1,31±0,4^{a}	31 ±8^{a}	48±17^{a}
TM10	0,14±0,006^{b}	0,75±0,02^{c}	1,8 ± 0,3^{a}	25 ± 7^{b}	69±27^{a}
TM15	0,15±0,007^{b}	0,79±0,06^{c}	2,3 ±0,2^{a}	17±2^{b}	80 ±13^{a}
TM20	0,20±0,007^{c}	0,87±0,1^{d}	2,3±0,3^{a}	19±4^{b}	128 ±27^{b}

Os valores correspondem à média ± desvio padrão. Letras diferentes indicam que as médias dos valores são estatisticamente diferentes ao mesmo nível de significância ($p<0,05$), pelo teste de Scott-Knott.

De acordo com a Tabela 1, a resistência à tração dos compósitos (1,31 à 2,3 MPa) não foi afetada significativamente pela adição do bagaço de malte. Os resultados também mostraram que a adição do bagaço de malte levou a um aumento no módulo de elasticidade, variando de 89 MPa (TPS) à 128 MPa (TM20), porém somente na formulação de 20% m/m de bagaço que foi verificado diferença significativa ($p<0,05$), de forma a resultar filmes mais rígidos. Este efeito foi confirmado pela redução da porcentagem de deformação dos compósitos, como verificado em outros estudos (RHIM et al., 2011), o que pode ser atribuído a uma redução da disponibilidade do plastificante para interagir com a matriz. Essas variações nas propriedades mecânicas indicam que a incorporação de fibras lignocelulósicas na matriz de TPS resultou em forte interação entre a matriz e as fibras.

As densidades dos filmes e dos compósitos variaram de 0,58 a 1,43 g/cm³. A espessura dos filmes variou de 0,11 a 0,20 mm (Tabela 1). Observou-se um aumento linear da espessura em função do aumento da concentração de bagaço de malte, o que pode vir a influencia nas propriedades de barreira dos compósitos TPS-bagaço de malte.

3.2. Absorção de água dos filmes

Os resultados dos experimentos de absorção de água em função do tempo para a matriz TPS e para os compósitos estão apresentados na Figura 1.

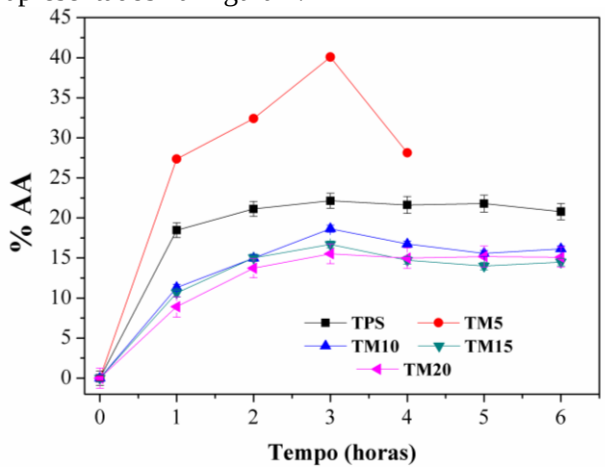


Figura 1. Absorção de vapor de água nos filmes de TPS e nos compósitos.

A matriz apresentou absorção de equilíbrio em torno de 21±1 a 100% RH. Com o aumento da concentração de bagaço de malte, em geral, proporcionou uma redução na absorção de água em comparação ao filme controle (Filme de TPS puro). Esta redução foi de aproximadamente de 80, 70 e 75%, nos compósitos com 10,15 e 20% de bagaço de malte, respectivamente. Com exceção do filme com 5% (TM5), pois com 4 horas de absorção o mesmo já tinha solubilizado, impossibilitando a continuação do ensaio. A redução da absorção de água com introdução do bagaço de malte é provavelmente devido ao maior caráter hidrofílico da matriz de TPS em relação as fibras de malte, formando uma "rede" de fibras, a qual impede a absorção de umidade através da matriz. O mesmo foi verificado nos estudos de CORRADINI et al., (2008).

4 CONCLUSÃO

Os resultados indicam que o bagaço de malte apresentam um grande potencial para reforçar a matriz de TPS. De forma que os compósitos TPS-bagaço de malte podem ser uma alternativa viável para a produção de embalagens biodegradáveis reduzindo o uso de materiais à base de petróleo.

AGRADECIMENTOS
CNPq

REFERÊNCIAS

AVELLA, M. et al. Biodegradable starch/clay nanocomposite films for food packaging applications. Food Chemistry, v. 93, n. 3, p. 467–474, 2005.

CORRADINI, E. et al. Estudo das Propriedades de Compósitos Biodegradáveis de Amido/Glúten de Milho/Glicerol Reforçados com Fibras de Sisal. Polímeros: Ciência e Tecnologia, v. 18, n. 4, p. 353–358, 2008.

MARDEGAN, S.F. et al. Stable carbon isotropic composition of Brazilian beers - A comparison between large- and small-scale breweries. Journal of Food Composition and Analysis, v. 29, n. 1, p. 52–57, 2013.

PELISSARI, F. M. et al. Constrained mixture design applied to the development of cassava starch–chitosan blown films. Journal of Food Engineering, v. 108, n. 2, p. 262–267, 2012.

SIMKOVIC, I. Unexplored possibilities of all-polysaccharide composites. Carbohydrate polymers, v. 95, n. 2, p. 697–715, 2013.

FILMES DE AMIDO DE AMÊNDOA DE MANGA: INFLUÊNCIA DE COMBINAÇÕES DE NANOCRISTAIS DE POLISSACARÍDEOS

Ana Priscila Monteiro da Silva[1]; **Sheyliane Maria Adriano Pontes**[1]; **Henriette Monteiro Cordeiro de Azeredo**[2,*]; **Morsyleide de Freitas Rosa**[2]; **Men de sá Moreira de Souza Filho**[2]

[1] *Universidade Federal do Ceará;* [2] *Embrapa Agroindústria Tropical*
** henriette.azeredo@embrapa.br*

Classificação: Desenvolvimentos de nanocompósitos a partir de fontes renováveis.

Resumo
Objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito da incorporação combinada de nanocristais de amido (NCA) e de celulose (NCC) em um filme de amido, utilizando sementes de manga como fonte de amido/NCA e NCC. Os nanocristais (NCA e NCC) foram obtidos por hidrólise ácida a partir de amido extraído das amêndoas e da fibra branqueada do tegumento, respectivamente. O teor total de nanocristais e a proporção entre ambos (NCC/NCA) nos filmes foram definidos segundo um planejamento composto central. Os NCC apresentaram razão de aspecto (L/D) de 15, e a dimensão média dos NCA foi de 67 nm. As melhores propriedades mecânicas e de barreira foram observadas nos filmes contendo cerca de 7-8% de nanocristais em razão mássica (NCC:NCA) de cerca de 1:1.
Palavras-chave: Bio-refinaria; Filmes biodegradáveis; Nanocelulose; Nanoamido.

MANGO ALMOND STARCH FILMS: INFLUENCE OF COMBINATIONS OF POLYSACCHARIDE NANOCRYSTALS

Abstract
The objective of this study was to evaluate the effect of combined incorporation of starch nanocrystals (SNC) and/or cellulose nanocrystals (CNC) on a starch film, using mango stones as sources of starch/SNC and CNC. The nanocrystals (SNC and CNC) were obtained by acid hydrolysis from mango kernel starch and the bleached fiber from mango seed coat respectively. The total nanocrystal content and the CNC: SNC mass ratio in the films were defined by a central composite design. The CNC presented an average aspect ratio (L/D) of 15, whereas the average dimension of the SNC was 67 nm. The films with best overall tensile and barrier properties were those with 7-8% nanocrystals in a CNC:SNC mass ratio of about 1:1.
Keywords: Biorefinery; Biodegradable films; Nanocellulose; Nanostarch.

1 INTRODUÇÃO

Os polímeros derivados de petróleo são exaustivamente explorados pela indústria alimentícia através de sua utilização em embalagens que são continuamente descartadas, causando sérios problemas ambientais. Além disso, tais polímeros são obtidos a partir de fontes não renováveis, o que pode levar ao seu esgotamento. Como alternativa, polímeros biodegradáveis, renováveis e abundantes têm sido investigados, entre os quais o amido, que é um dos biopolímeros mais interessantes para aplicações em embalagens de alimentos (VALDÉS et al., 2014).

Devido ao baixo desempenho físico-mecânico de filmes de amido, tem sido proposto o uso de nanoestruturas de reforço. Nanocristais à base de polissacarídeos, como quitina, amido e celulose se destacam entre as nanoestruturas de fontes renováveis e biodegradáveis (PEREIRA *et al*., 2014). Considera-se que os nanocristais de amido (NCA) apresentam capacidade de reforço limitada, sendo necessária uma elevada quantidade de NCA para se obter efeito similar ao dos nanocristais de celulose (NCC); por outro lado, outras vantagens são esperadas do uso de NCA, como a melhoria nas propriedades de barreira devido à sua morfologia de nanoplacas (LE CORRE et al., 2010). Portanto, seria interessante investigar se a incorporação de ambas as nanoestruturas em uma mesma matriz resultaria em um efeito complementar entre elas.

Os resíduos do processamento de manga podem ser fonte de polissacarídeos para aplicação em bionanocompósitos. As sementes de manga são constituídas por uma amêndoa contendo mais de 50% de amido (SILVA et al., 2013) e um tegumento com mais de 50% de celulose (HENRIQUE *et al*., 2013). O uso de sementes de manga como fontes de amido e celulose para produção de materiais contribui para a agregação de valor a tais resíduos, ao mesmo tempo evitando controvérsias associadas à competição entre usos alimentares e não-alimentares de fontes convencionais de amido, como arroz e milho. Portanto, objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito da incorporação conjunta de NCA e NCC em uma matriz de amido, utilizando sementes de manga como fonte de polissacarídeos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Sementes de manga da variedade *Tommy Atkins* foram abertos (com o auxílio de um torno de bancada) para retirada das amêndoas, a partir das quais foi extraído amido segundo descrito por Oliveira (2016); o amido, por sua vez, foi submetido a hidrólise ácida para obtenção dos NCA, com mistura ácida de HCl e H_3PO_4, também segundo Oliveira (2016). O tegumento foi submetido a uma polpação acetosolv de 90 min adaptada de SOUZA et al. (2016) seguida de branqueamento (PEREIRA et al., 2014). Os NCC foram obtidos por hidrólise ácida adaptada de Cranston e Gray (2006) utilizando 10g de fibra acetosolv branqueada, 150 mL de H_2SO_4 8,5 M e 50 mL de HCl 2M.

A metodologia de elaboração dos filmes foi adaptada de Le Corre et al. (2014). 12,5 g de amido foram gelatinizados em excesso de água (90-95 °C/ 30 min.). Em seguida, a temperatura foi reduzida para 60-65°C, adicionaram-se 3,13 g de glicerol, sendo a mistura mantida a essa temperatura por 15 min. A mistura foi então homogeneizada em Ultra-Turrax T25 (10000 rpm/15 min). A suspensão de nanocristais, previamente sonicada em banho ultrassônico (40 kHz, 135 W), foi incorporada, e a mistura agitada a 40°C por 30 min. Os teores de nanoestruturas para cada filme foram determinados por delineamento composto central, com 2 variáveis: teor total de nanocristais (0-10% com base na matriz de amido) e grau de substituição de NCA por NCC (0-100%), resultando nas condições apresentadas na Tab.1, sendo ainda feito um filme controle (sem nanocristais).

Tabela 1. Percentuais de NCA e NCC para cada tratamento conforme delineamento composto central

Nanocristais	**Teores de nanocristais para cada tratamento (base amido)**										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
NCC (%)	0,46	2,70	1,28	7,55	0	6	1	5	3	3	3
NCA (%)	2,70	0,46	7,55	1,28	6	0	1	5	3	3	3

Definiram-se como respostas ao delineamento a permeabilidade ao vapor de água (P_{VA}) determinada de acordo com o método E96-00 (ASTM, 2000) e parâmetros avaliados em ensaios mecânicos (resistência à tração - σ, elongação na ruptura – ε, módulo elástico - E) baseados no método D882-01 (ASTM, 2001).

Os NCA e NCC obtidos, assim como a superfície do filme controle e do tratamento 8 (com o teor máximo de nanocristais) foram analisados em microscópio eletrônico de varredura Vega3 Tescan e Quanta 450 FEG-FEI, respectivamente. A suspensão de NCA foi diluída em 50% de álcool absoluto antes da visualização.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Fig. 1 apresenta as curvas de contorno para as respostas experimentais. Para a P_{VA}, observa-se que os menores valores de permeabilidade foram observados quando se usaram altos teores (8-10%) de nanocristais com predominância de NCC, quando o esperado era que os NCA exercessem um efeito mais notável que os NCC, em função de sua suposta morfologia de nanoplacas; entretanto, a morfologia de fato observada para os NCA foi de nanoesferas, o que parece explicar o resultado inesperado. Os maiores valores de resistência e módulo foram observados em uma região contendo cerca de 7-8% de nanocristais em uma razão mássica NCC:NCA aproximada de 1:1. Por outro lado, essa mesma região foi a que apresentou os menores valores de elongação na ruptura.

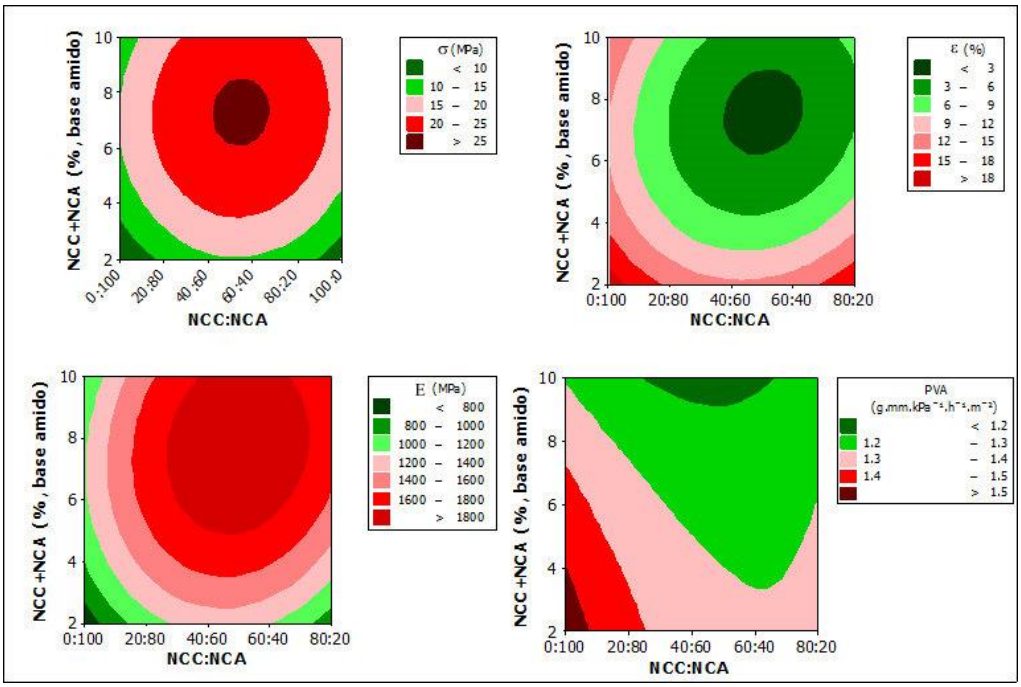


Figura 1. Curvas de contorno para as respostas ao delineamento composto central

Os NCC apresentaram-se na forma de agulhas, enquanto a morfologia dos NCA tendeu a formas esféricas, como pode ser visto nas fotomicrografias (Fig. 2A e 2B). Os NCC apresentaram razão de aspecto (L/D) de 15 (D: 18 ± 5 nm; L: 270 ± 71 nm). A dimensão média apresentada pelos NCA foi de 67,1 ± 21,7 nm. O filme controle apresentou uma superfície com poucas rugosidades (Fig. 2C), enquanto observaram-se bastante rugosidades na superfície do filme 8 (Fig. 2D), que podem ser atribuídas a agregações de NCA, assim como reportado por Mukurumbira et al. (2017).

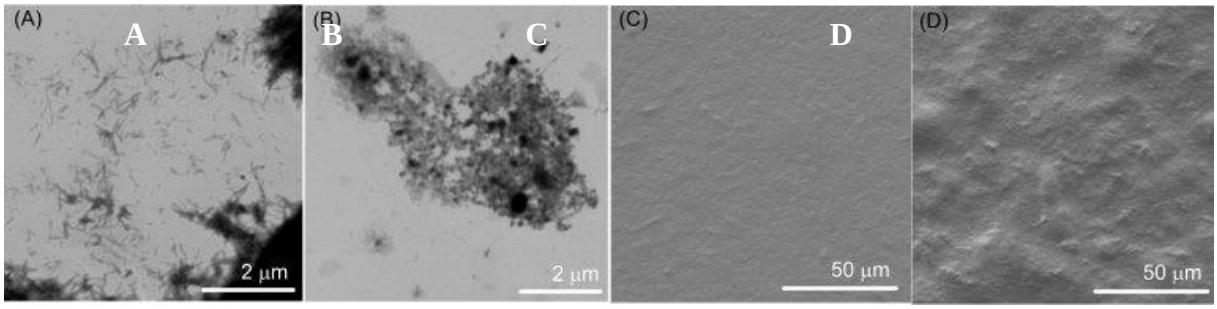


Figura 2 – Fotomicrografias dos NCA (A), NCC (B) e superfície dos filmes Controle (C) e 8 (D)

4 CONCLUSÃO

Os melhores resultados para propriedades mecânicas e de barreira foram observados quando as duas nanoestruturas foram combinadas, indicando que houve um efeito complementar entre elas. Os NCC foram mais efetivos em diminuir a permeabilidade dos filmes a vapor de água.

AGRADECIMENTOS

Embrapa (02.14.04.002.00.00); FUNCAP (BMD-0008-00640.01.11/15).

REFERÊNCIAS

ASTM. (2000). Standard test method for water vapor transmission of materials. E96-00. In Annual Book of ASTM Standards. Philadelphia: American Society for Testing and Materials. p. 907-914.

ASTM. (2001). Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. D882-01. In Annual Book of ASTM Standards. Philadelphia: American Society for Testing and Materials. p. 162-170.
CRANSTON, E. D.; GRAY, D. G. Morphological and Optical Characterization of Polyelectrolyte Multilayers Incorporating Nanocrystalline Cellulose. p. 2522–2530, 2006.
HENRIQUE, M. A. et al. Valorization of an agro-industrial waste, mango seed, by the extraction and characterization of its cellulose nanocrystals. Journal of environmental management, v. 121, p. 202-209, 2013.
LE CORRE, D.; ANGELLIER-COUSSY, H. Preparation and application of starch nanoparticles for nanocomposites: A review. Reactive and Functional Polymers, v. 85, p. 97-120, 2014.
LE CORRE, D.; BRAS, J.; DUFRESNE, A. Starch nanoparticles: a review. Biomacromolecules, v. 11, n. 5, p. 1139-1153, 2010.
MUKURUMBIRA, A. R.; MELLEM, J. J.; AMONSOU, E. O. Effects of amadumbe starch nanocrystals on the physicochemical properties of starch biocomposite films. Carbohydrate Polymers, v. 165, p. 142-148, 2017.
OLIVEIRA, V. Filmes bionanocompósitos à base de amido e nanocristais de amido de amêndoa de manga. 2016. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química)- Centro de Tecnologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2016.
PEREIRA, A. L. S. et al. Banana (musa sp. cv. pacovan) pseudostem fibers are composed of varying lignocellulosic composition throughout the diameter. BioResources, v. 9, n. 4, p. 7749-7763, 2014.
PEREIRA, F. V. et al. Bionanocompósitos preparados por incorporação de nanocristais de celulose em polímeros biodegradáveis por meio de evaporação de solvente, automontagem ou eletrofiação. Química Nova, v. 37, n. 7, p. 1209-1219, 2014.
SILVA, G. A. et al. Utilização do amido da amêndoa da manga Tommy Atkins como espessante em bebida láctea. Revista Brasileira de Engenharia Agricola e Ambiental-Agriambi, v. 17, n. 12, 2013.
SOUZA, N. F. et al. Fibrous residues of palm oil as a source of green chemical building blocks. Industrial Crops and Products, v. 94, p. 480-489, 2016.
VALDÉS, A. et al. Natural additives and agricultural wastes in biopolymer formulations for food packaging. Frontiers in Chemistry, v. 2, 2014.

ESTUDO DA FOTODEGRADAÇÃO DE BIONANOCOMPÓSITOS PECTINA/PALYGORSKITA OBTIDOS POR CASTING CONTÍNUO

Laís B. Norcino[1,*], Marcela P. Bernardo[2], Luis C. Bertolino[3], Luiz H. C. Mattoso[4], Juliano E. De Oliveira[1], Francys K. V. Moreira[5]

1 – PPGBIOMAT, Universidade Federal de Lavras, Lavras (MG), Brasil, 2 –PPGQ,Universidade Federal de São Carlos, São Carlos (SP), Brasil, 3 – CETEM, Rio de Janeiro (RJ), Brasil, 4 – LNNA, Embrapa Instrumentação, São Carlos (SP), Brasil, 5 – DEMa, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos (SP), Brasil.
**la_system@hotmail.com*

Classificação: Desenvolvimentos de nanocompósitos a partir de fontes renováveis

Resumo
Neste estudo, a fotodegradação de bionanocompósitos pectina/palygorskita foi estudada. Filmes de pectina contendo palygorskita nas concentrações de 1 e 5 % foram preparados por *casting* contínuo e expostos à radiação UV em ambiente controlado. Os filmes foram caracterizados quanto à transparência ótica e quimicamente por espectroscopia FTIR. Os filmes apresentaram-se macroscopicamente homogêneos e aspecto translúcido. Ocorreu uma diminuição gradual na transmitância com o aumento da concentração da palygorskita na matriz de pectina. O aumento observado nas intensidades da banda C=O nos espectros FT-IR indicaram fotooxidação da pectina, porém as intensidades foram maiores no filme puro em relação aos bionanocompósitos, após o mesmo tempo de exposição, demonstrando que a palygorskita teve um efeito estabilizador sobre a fotooxidação da pectina. Portanto, a adição da palygorskita aumentou a estabilidade química da pectina frente à radiação UV.
Palavras-chave: Fotodegradação; Bionanocompósitos; *Casting* contínuo.

PHOTODEGRADATION STUDY OF PECTIN/PALYGORSKITE BIONANOCOMPOSITES OBTAINED BY CONTINUOUS CASTING

Abstract
In this study, the photodegradation of pectin/palygorskite bionanocomposites was examined. Pectin films containing palygorskite at 1 and 5 wt.% were prepared by continuous casting and exposed to UV radiation under controlled conditions. Films were characterized for optical transparency and FTIR spectroscopic chemical properties. Films were macroscopically homogeneous and translucent. There was a gradual decrease in transmittance with increasing palygorskite concentration. Increases in the intensities of the C=O vibration band at 1737 cm^{-1} suggested pectin photo-oxidation, however intensities were higher for pure pectin films rather than bionanocomposites, after the same exposure time, demonstrating that palygorskite played a stabilizing role on pectin photo-oxidation. Therefore, addition of palygorskite increased chemical stability of pectin against UV radiation.
Keywords: Photodegradation; Bionanocomposites; Continuous casting.

1 INTRODUÇÃO

Os bionanocompósitos representam uma classe de sistemas nanoestruturados que tem atraído grande atenção, principalmente devido aos aumentos significativos de suas propriedades físicas em relação aos componentes puros. São constituídos por um polímero natural, como a pectina, que atua como matriz e partículas inorgânicas (ou orgânicas) com pelo menos uma dimensão na escala nanométrica que atuam como reforço para a matriz (ORTEGA-TORO et al., 2014).A palygorskita, também conhecida como atapulgita, surgiu nos últimos anos como um agente de reforço no desenvolvimento de bionanocompósitos (RUIZ-HITZKY et al., 2013). É um argilomineral com morfologia microfibrosa e alta razão de aspecto, cuja fórmula teórica é $[(OH_2)_4(Mg,Al,Fe)_5(OH)_2Si_8O_{20}].4H_2O$ (LUZ; ALMEIDA, 2008).

O estudo da fotodegradação é essencial para avaliar a estabilidade dos bionanocompósitos, bem como para avaliar as propriedades do polímero natural sob exposição à radiação UV na presença do agente de reforço. Para avaliar a estabilidade, ou mesmo o desempenho do polímero natural, é necessário submetê-lo a ensaios que simulem as condições ambientais reais às quais ele estaria exposto (GRIGORIADOU et al, 2011). Sendo assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da inclusão de palygorskita microfibrosa na fotodegradação de filmes biodegradáveis de pectina. Os bionanocompósitos foram preparados via *casting* contínuo, uma técnica emergente de processamento de filmes biodegradáveis, e as discussões foram baseadas nas propriedades óticas e espectroscópicas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

A pectina de baixa metoxilação (LM-PEC) contendo 84% de poli(ácido galacturônico), grau de metoxilação (MD) de 8,4% e massa molecular média (Mw) de $0{,}17 \times 10^6$ g mol^{-1} foi adquirida da CP Kelco (Limeira, SP, Brasil). A palygorskita (PLK) foi fornecida pelo Centro de Tecnologia Mineral (CETEM, Rio de Janeiro, Brasil). Todos os experimentos foram realizados utilizando exclusivamente água ultra-pura (ρ = 18,2 MΩ cm) obtida por um sistema Milli-QBarnstead Nanopure Diamond^{TM} (Thermo Fisher Scientific Inc., Dubuque, IA, EUA).

2.2 Preparação dos bionanocompósitos de LM-PEC/PLK

Foram produzidas soluções controle de LM-PEC 6 % (m/m). Para a solução dos bionanocompósitos LM-PEC/PLK, adicionou-se PLK nas concentrações de 1 e 5 % em relação à massa de LM-PEC, na solução controle, sendo que a argila foi submetida a um tratamento ultrassônico (amplitude de 50% por 5 min) antes da adição de LM-PEC. A homogeneização das soluções foi realizada em um misturador a vácuo sob intensa agitação mecânica por 1 h. Os filmes bionanocompósitos foram obtidos por *casting* contínuo em um equipamento KTF-B (Mathis, Suíça) com uma velocidade de bobinamento de 25 $cm.min^{-1}$ e espessura de lâmina úmida de 1.5 mm.

2.3 Ensaio de Fotodegradação

A exposição dos filmes (LM-PEC, LM-PEC/PLK1% e LM-PEC/PLK5%) à radiação UV foi realizada em um sistema fechado com ventilação e exaustão adequadas e com fonte de luz UV (400W). Essa caixa de fotodegradação foi montada a partir de uma caixa de madeira revestida internamente com alumínio em presença de duas lâmpadas UVA (comprimento de onda 320 a 400 nm) e uma lâmpada fluerescente na parte superior para simular a iluminação emitida pelo sol. Desta maneira as amostras foram fototratadas por 7, 14, 21 e 28 dias de exposição.

O comportamento ótico dos filmes antes da fotodegradação foi determinado em um espectrofotômetro UV-Vis Agilent Cary Varian 50 (Agilent Inc., EUA). Amostras dos bionanocompósitos (1,5 cm x 4cm) e fixadas diretamente no orifício de passagem do feixe de luz, para se obter a transmitância na região espectral do visível (λ = 400 - 700 nm). Tais experimentos foram realizados em duplicata.

As medidas de espectroscopia vibracional FTIR antes e após a fotodegradação foram realizadas em um espectrofotômetro Nicolet 6700 (Thermo Electron Corporation) operando em modo de reflectância total atenuada (ATR). Os espectros ATR-FTIR foram registrados com variação do número de onda de 4000 até 600 cm^{-1}, com resolução de 2,0 cm^{-1} e 64 acumulações por medida.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O filme de LM-PEC puro apresentou-se macroscopicamente homogêneo e com aspecto translúcido, estas características foram mantidas para os bionanocompósitos LM-PEC/PLK1% e LM-PEC/PLK5%, Figura 1a. A transparência dos filmes foi inferida a partir da determinação da transmitância na região do visível (λ = 400 - 700 nm), Figura1b.

Há uma diminuição gradual na transmitância com o aumento da concentração de PLK na matriz polimérica.

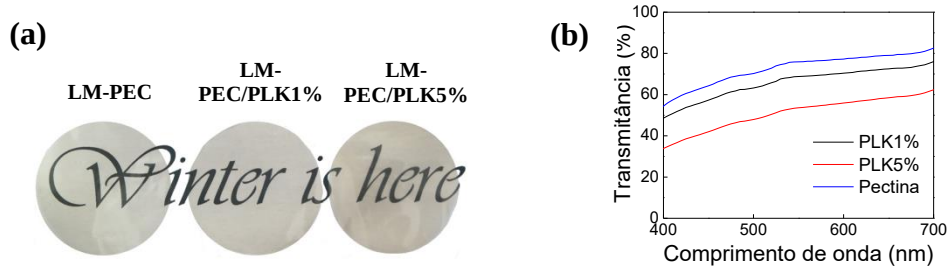


Figura 1. (a) Bionanocompósitos PEC, PLK 1% e PLK 5% e (b) Variação do espectro da transmitância ótica em função do comprimento de onda para os bionanocompósitos.

Por exemplo, a 600 nm, o bionanocompósito LM-PEC/PLK1% apresentou uma transmitância de 70,3% enquanto o LM-PEC/PLK5% apresentou 55,9%. Estes resultados sugerem que a palygoskita ocasiona uma diminuição na transparência dos bionanocompósitos.

As mudanças químicas do filme LM-PEC e dos bionanocompósitos expostos à radiação UV foram acompanhadas por espectroscopia FTIR, Figura 2. A região espectral que mostrou alterações mais significativas correspondeu as bandas de estiramento simétrico C=O (1700 a 1800 cm^{-1}) referente aos grupos carboxílicos da LM-PEC, ocorrendo um aumento na intensidade desses picos com o aumento do tempo de fotodegradação, o que sugere oxidação da LM-PEC induzida pela radiação UV (HUNG et al., 2012; LEE; COOPER 2012).

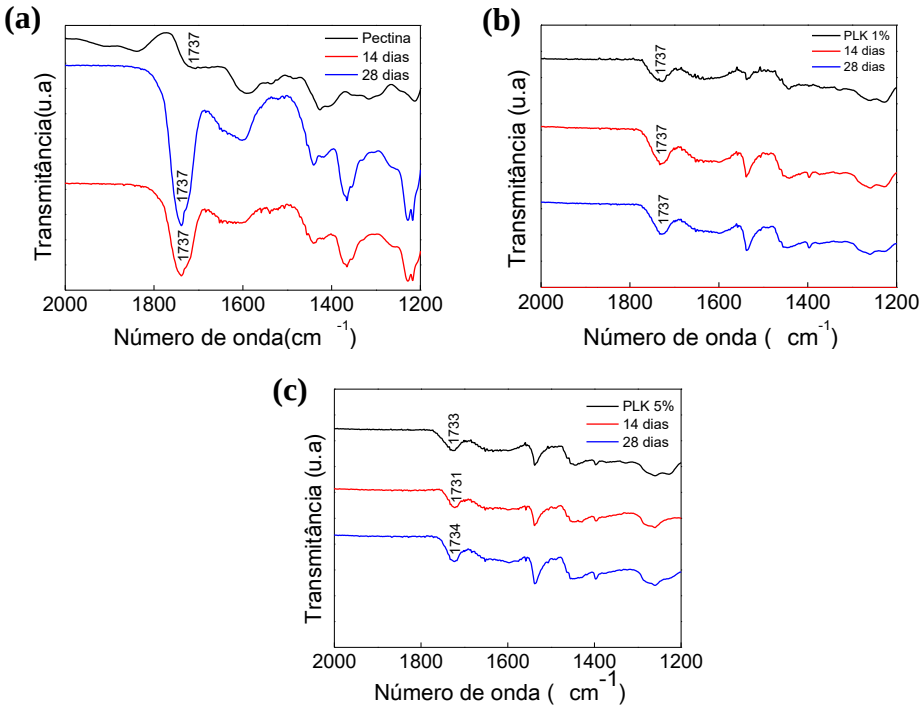


Figura 2. Espectros ATR-FTIR dos filmes de pectina com (a) 0% PLK, (b) 1% PLK e (c) 5% PLK após 0, 14 e 28 dias de fotodegradação.

Nota-se que as intensidades da vibração C=O são maiores no filme puro do que nos bionanocompósitos, após o mesmo tempo de exposição, demonstrando que a palygorskita teve um efeito estabilizador sobre a fotooxidação da pectina. Este efeito pode estar associado ao efeito de barreira dos cristais de PLK contra a permeação do O_2, restringindo a difusão na matriz de LM-PEC e assim, reduzindo sua taxa de fotooxidação (AUDOUIN et al., 1994). Estes resultados estão de acordo com os relatados por Grigoriadou et al. (2011) e Panda et al. (2014). Portanto, a adição de PLK

aumentou a estabilidade fotooxidativa dos filmes de LM-PEC. A caracterização mecânica e morfológica dos bionanocompósitos LM-PEC/PLK está em andamento.

4 CONCLUSÃO

A viabilidade da produção de filmes de pectina biodegradáveis incorporados com palygorskita foi demonstrada neste trabalho. A adição da palygorskita aos filmes de pectina minimizou o efeito da fotodegradação, possibilitando possíveis aplicações desses bionanocompósitos como revestimentos de proteção de superfícies e alimentos contra foto-oxidação.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Embrapa, SISNano/MCTI/CNPq (402287/2013-4), UFLA, DEMa/UFSCar e FAPESP pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

AUDOUIN, L. et al. Role of Oxygen Diffusion in Polymer Ageing: Kinetic and Mechanical Aspects. *Journal of Material Science*, v. 29, p. 569–583, 1994.

GRIGORIADOU, I. et al. Effect of different nanoparticles on HDPE UV stability. Polymer Degradation and Stability, v. 96, n. 1, p. 151-163, 2011.

HUNG, K. C.; CHEN, Y. L.; WU, J. H. Natural weathering properties of acetylated bamboo plastic composites. Journal of Polymer Degradation and Stability, v. 9, p. 1680-1685, 2012.

LEE, M.; COOPER, P. Copper precipitation of Cu-monoethanolamine preservative in wood. International Journal of the Biology, Chemistry, Physics and Technology of Wood, v. 66, n. 8, p. 1017-1024, 2012.

LUZ, A. B.; ALMEIDA, S. L. M. Capítulo 10: Argila-Atapulgita e Sepiolita. Rochas e Minerais Industriais - Usos e Especificações. Editora CETEM/MCT, Rio de Janeiro, 2008. p. 225- 237.

ORTEGA-TORO et al. Properties of starch–hydroxypropyl methylcellulose based films obtained by compression molding.Carbohydrate Polymers, v. 109, p. 155-165, 2014.

PANDA, B. P.; MOHANTY, S.; NAYAK, S.K. Polyolefin Nanocomposites with Enhanced Photostability Weathering Effect on Morphology and Mechanical Properties. Journal of Materials Engineering and Performance, v.23, n. 9, p. 3229–3244, 2014.

RUIZ-HITZKY, E. et al. Part A: Fundamentals. In: Bergaya, F.; Lagaly,G. (Coord.). Handbook of Clay Science. Elsevier, 2013. p. 721-1113.

PREPARAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E CITOCOMPATIBILIDADE DE FILMES NANOCOMPÓSITOS DE QUITOSNA E NANOFIBRAS DE CELULOSE

Rafaella Zanette[1], Leonara B.F. Almeida[1], Nelson L.G.D. Souza[2], Camila G. Almeida[3], Luiz F.C. Oliveira[1], Cauê R. Oliveira[3], Humberto M. Brandão[3], Michele Munk[1]

[1] Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 36036-900, Brasil
[2] Universidade Federal de Tocantins, Chácaras,77402-9, Brasil
[3] EMBRAPA Gado de Leite, Juiz de Fora, 36038-330, Brasil
[4] EMBRAPA Instrumentação, São Carlos, 13560-970, Brasil
E-mail de contato: rafaellazanette@gmail.com

Classificação: Desenvolvimentos de nanocompósitos a partir de fontes renováveis

Resumo

As nanofibras de celulose (NFC) são polímeros biodegradáveis que possuem propriedades mecânicas que as tornam muito atraentes para aplicações na construção de matrizes poliméricas para administração de medicamentos e cultura de células. Os filmes de nanobiocompósitos de NFC de algodão/quitosana foram preparados pelo método de evaporação do solvente e caracterizados pelas técnicas de Espectroscopia de absorção no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e microscopia de força atômica (MFA). A biocompatibilidade foi estudada pela técnica de MTT em cultura de células de rim embrionário humano 293 (HEK293). A nanotopografia do filme de nanobiocompósito foi confirmada pela MFA. Os ensaios biológicos demonstraram que o nanobiocompósito permitiu a adesão e a proliferação celular.
Palavras-chave: Nanofibra de celulose; Nanobiocompósito; Células HEK293

PREPARATION, CHARACTERIZATION AND CITOCOMPATIBILITY OF COTTON CELLULOSE NANOFIBERS/CHITOSAN NANOBIOCOMPOSITE FILM

Abstract

Cellulose nanofibers (CNF) are biodegradable polymers that have mechanical properties that make them very attractive for applications in the construction of polymeric matrices for drug delivery and cell culture. Cotton CNF/chitosan nanobiocomposites films were prepared by solution casting. Nanobiocomposites were characterized by the techniques of Fourier-Transform Infrared (FTIR) and atomic force microscopy (AFM). The biocompatibility was studied by assay MTT of cultures of Human Embryonic Kidney 293 (HEK293) cells. Nanotopography on nanobiocomposite film is confirmed by atomic force microscopy (AFM). In vitro cytocompatibility demonstrated that the nanobiocomposite supported cell attachment and proliferation.
Keywords: Cellulose nanofiber; nanobiocomposite; HEK293 cell

1 INTRODUÇÃO

Atualmente, filmes poliméricos nanobiocompósitos são utilizados para várias aplicações médicas e biotecnológicas, como veículos de entrega de moléculas, biossensores e engenharia de tecidos (JANA; SEM, 2017; RAMOS-RIVERA et al., 2017). Filmes baseados em biopolímeros como a quitosana têm sido produzidos e utilizados amplamente na área de embalagens e para fins biomédicos (SIRIPATRAWAN; VITCHAYAKITTI, 2016; KACZMAREK et al., 2017). No entanto, o uso da quitosana como material formador de filme ainda é restrito pois apresenta baixa resistência mecânica.

Para superar essas limitações, a incorporação de nanomateriais (NMs) pode produzir compósitos com propriedades aprimoradas. Na cultura de células, nanobiocompósitos podem servir como uma matriz extracelular (MEC) para adesão e crescimento celular. A MEC natural é construída a

partir de diversas biomacromoléculas de tamanhos nanométricos, como colágeno e glicosaminoglicanos e, geralmente exibe sua topografia em nanoescala (YANG et al., 2017). Assim, a incorporação de NMs na matriz de polímero produz uma nanotopografia que pode influenciar o material biológico interligado, melhorando a adesão celular e o espalhamento das células para, posterior proliferação (SHI; WANG; YANG, 2016). Entre os vários NMs, as nanofibras de celulose (NFCs) de algodão, além de serem extraídas de fontes renováveis, exibem excelentes propriedades mecânicas, possibilitando seu uso no reforço de filmes poliméricos (DUFRESNE, 2017). O objetivo deste trabalho foi sintetizar e caracterizar filmes de quitosana reforçados com NFCs, bem como avaliar sua citocompatibilidade.

2 MATERIAL E MÉTODOS

As NFCs de algodão foram preparadas por hidrólise ácida como descrito previamente por MUNK et al. (2016). Os filmes de quitosana e os nanocompósitos NFCs de algodão/quitosana foram preparados pela técnica de evaporação do solvente. As soluções de quitosana (1% p/v) foram preparadas por dissolução da quitosana em ácido acético (1% v/v). Os filmes obtidos foram embebidos em 3 mL de solução aquosa de tripolifosfato de sódio (TPP) (0,1% p/v). Os nanobiocompósitos foram preparados misturando soluções de NFCs de algodão e quitosana. Alíquotas (10 mL) de solução formadora do filme foram então moldadas sobre placas de Petri e secas durante 72 h à temperatura ambiente.

A técnica de Espectroscopia de absorção no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foi feita para avaliar a interação entre as NFCs de algodão e a quitosana. Os espectros FTIR foram obtidos com um espectrômetro ALPHA FT-IR Bruker na região de número de onda 4000-600 cm^{-1}. A morfologia das NFCs de algodão e a nanotopografia da superfície do filme nanobiocompósito foram estudadas por MFA usando um instrumento Nanosurf easyScan 2 STM. A imagem topográfica (altura) foi obtida no modo contato. As amplitudes de oscilação livres do cantilever foram de 50 mV e a área de varredura foi de 5x5 μm.

Para avaliar a citotoxicidade do nanobiocompósito, foi feito um teste de contato direto com uma monocamada de células HEK293. Resumidamente, 4×10^5 células/poço foram cultivadas sob os filmes em placas de seis poços com meio de cultura DMEM e, após 72 h, a adesão e a morfologia das células foram avaliadas em microscópio óptica. A proliferação das células foi estimada pelo ensaio de MTT. As células foram cultivadas em placas de 96 poços durante 24 h e 72 h ($1,5\times10^3$ células/poço), antes de serem submetidas ao ensaio de MTT. A absorbância foi medida usando um espectrofotômetro a 570 nm. Os dados foram analisados por ANOVA e as diferenças entre as médias foram comparadas pelo teste de Tukey. As diferenças entre diferentes grupos foram consideradas estatisticamente significativas em $p < 0,05$. Os resultados foram apresentados como média ± erro padrão da média.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A espectroscopia de FTIR das amostras é mostrado na Figura 1A. Comparando os espectros de quitosana antes e depois da reticulação com TPP, é possível observar mudanças que comprovam a reticulação. A presença de ombro em 1195 e 967 cm^{-1} no espectro de quitosana reticulada, que não estava presente no espectro do filme de quitosana, pode ser atribuída em ν (PO_3) e ν (POP), respectivamente, o que indica a presença do TPP na estrutura da quitosana reticulada (YU et al., 2012). No entanto, não é possível analisar a presença das NFCs de algodão no filme de quitosana, uma vez que as NFCs possuem um espectro de absorção infravermelha muito semelhante ao da quitosana e está presente na amostra em pequenas quantidades. Porém, avaliando apenas as NFCs é possível verificar a presença de algumas bandas características deste material. As bandas em 3305, 2903, 1365, 1158, 1108 e 897 cm^{-1} podem ser atribuídas respectivamente aos seguintes modos de vibração: ν(OH), ν(CH), ν(CH), ν(CC), ν(COC) no anel de glucosila e ν(COC) a partir da ligação β-glicosídica (TIBOLLA et al., 2017).

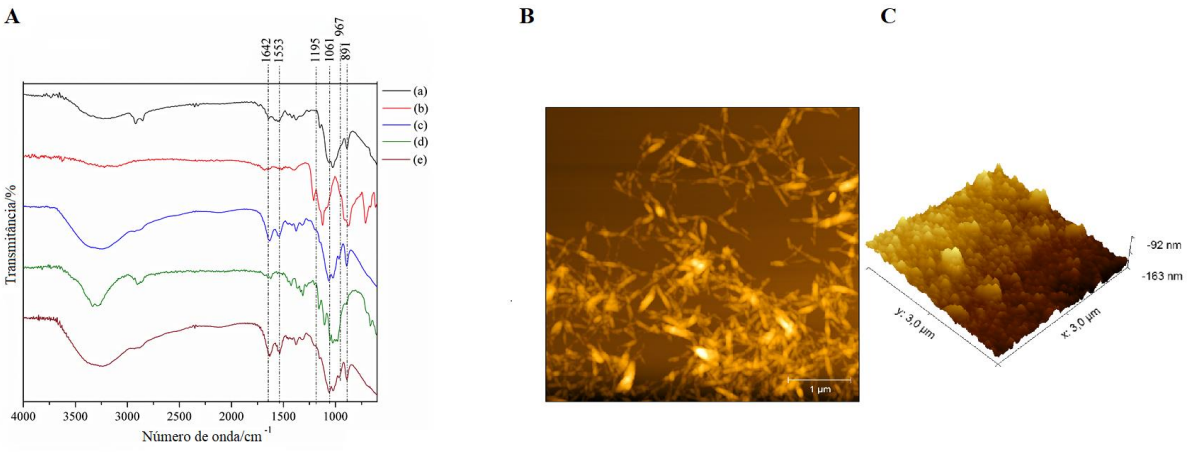


Figura 1. A: Espectroscopia de FTIR do filme de quitosana (a), do TPP (b), da quitosana reticulada (c), das NFCs de algodão (d) e do filme nanobiocompósito NFCs de algodão/quitosana reticulado. B: Imagens de MFA das NFCs. C: Imagens de MFA dos filmes nanocompósitos de NFCs de algodão/quitosana.

A topografia da superfície tridimensional do filme nanobiocompósito NFCs de algodão/quitosana é mostrada na Figura 1C. A nanotopografia possui 92 a 163 nm (Figura 1C). Devido à alta razão do aspecto (6-18 nm e comprimento 200-800 nm Figura 1B), não foi possível identificar as NFCs na matriz polimérica. Provavelmente, isso ocorreu devido ao fato das NFCs estarem fortemente conectadas ao polímero de quitosana, formando uma estrutura nanocompósita.

A microscopia óptica foi feita para avaliar a proliferação e morfologia das células HEK293 após serem cultivadas nos filmes produzidos. As células proliferaram mais no filme de quitosana e no filme nanobiocompósito quando comparados à placa de poliestireno (Figura 2). Na superfície do filme nanobiocompósito, as células parecem ter se espalhado mais e apresentaram mudanças morfológicas semelhantes às das células mantidas em um ambiente *in vivo*.

O teste de viabilidade de MTT foi utilizado para analisar a proliferação das células HEK293 (Figura 3). Nesse ensaio, a absorbância é proporcional ao número de células viáveis. Não foi observada variação da absorbância ($p > 0,05$), indicando uma biocompatibilidade dos filmes nanobiocompósitos.

A nanotopografia apresenta uma superfície tridimensional que favorece a adesão das células HEK293, fornecendo pontos para interações entre os receptores de membrana/citoesqueleto e a superfície de crescimento (ABDUL KAFI et al., 2012). Assim, possivelmente, o filme nanobiocompósito possui locais de adesão para receptores celulares, resultando em interações eficientes entre as células e o substrato. O desenvolvimento de filmes nanobiocompósitos biocompatíveis é primordial porque a manutenção das propriedades das culturas celulares *in vitro* que imitam o ambiente *in vivo* é necessária para efetivas aplicações biomédicas.

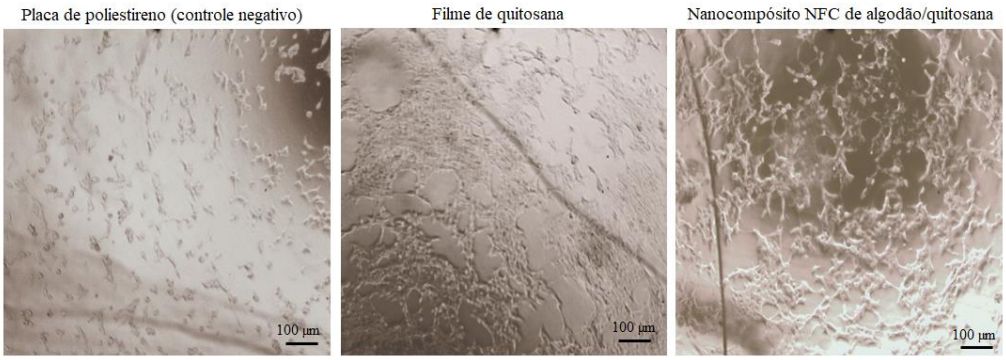


Figura 2. Imagens de microscopia óptica das células HEK293 após 72 h de cultivo

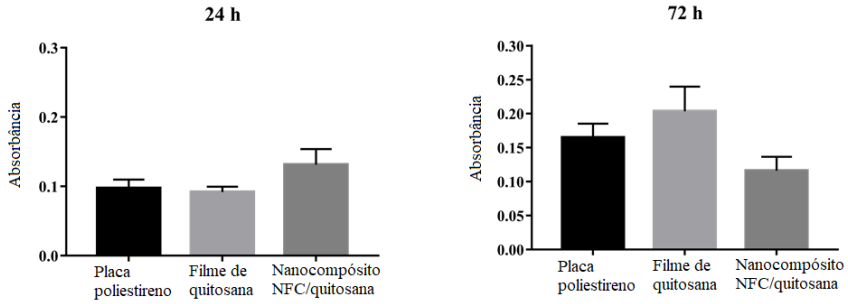


Figura 3. Proliferação celular avaliada pelo ensaio de MTT (B). Os valores foram não significativos ($p > 0.05$).

4 CONCLUSÃO

Em conclusão, os filmes nanobiocompósitos de NFC/quitosana foram biocompatíveis e forneceram uma superfície de crescimento que melhorou a adesão e morfologia celular.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPEMIG, CNPq, CAPES, Rede Agronano, Rede NANOBIOMG e EMBRAPA Gado de Leite.

REFERÊNCIAS

ABDUL KAFI, M. et al. Cell adhesion, spreading, and proliferation on surface functionalized with RGD nanopillar arrays. Biomaterials, v. 33, p. 731-739, 2012.

DUFRESNE A. Cellulose nanomaterial reinforced polymer nanocomposites. Current Opinion in Colloid & Interface Science, v. 29, p. 1-8, 2017.

JANA, S.; SEN K.K. Chitosan - Locust bean gum interpenetrating polymeric network nanocomposites for delivery of aceclofenac. International Journal of Biological Macromolecules, v. 102, p. 878-884, 2017.

KACZMAREK, B. et al. The cells viability study on the composites of chitosan and collagen with glycosaminoglycans isolated from fish skin. Materials Letters, v. 206, p. 166-168, 2017.

MUNK, M. et al. Biocompatibility assessment of fibrous nanomaterials in mammalian embryos. Nanomedicine, v.5, n. 5, p. 1151-1159, 2016.

RAMOS-RIVERA, L. et al. Electrophoretic deposition of anisotropic α-Fe 2 O 3 /PVP/chitosan nanocomposites for biomedical applications. Materials Letters, v. 200, p. 83-86, 2017.

SHI, L.; WANG, K.; YANG, Y. Adhesion-based tumor cell capture using nanotopography. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, v. 147, p. 291-299, 2016.

SIRIPATRAWAN, U.; VITCHAYAKITTI, W. Improving functional properties of chitosan films as active food packaging by incorporating with propolis. Food Hydrocolloids, v. 61, p. 695-702, 2016.

TIBOLLA, H. et al. Cellulose nanofibers produced from banana peel by enzymatic treatment: Study of process conditions. Industrial Crops and Products, v. 95, p. 664-674, 2017.

YANG, Y. Biophysical regulation of cell behavior - cross talk between substrate stiffness and nanotopography. Engineering, v. 3, p. 36-54, 2017.

YU, S.H. et al. Tripolyphosphate cross-linked macromolecular composites for the growth of shape- and size-controlled apatites. Molecules, v. 18, p. 27-40, 2012.

NANOFIBRAS DE CELULOSE VIA HIDRÓLISE ENZIMÁTICA EM REATOR DE TANQUE AGITADO

Thalita J. Bondancia [1,2], Luciano J. Côrrea[1], Antônio J. G. Cruz[1], Alberto C. Badino[1], Luiz Henrique C. Mattoso[2], José Manoel Marconcini[2] e Cristiane S. Farinas[1,2]

[1] Universidade Federal de São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, São Carlos, SP, Brasil
[2] Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio (LNNA), Embrapa Instrumentação, São Carlos, São Paulo, Brasil.
E-mail para contato: thalitajkb@gmail.com

Classificação: Desenvolvimento de nanocompósitos a partir de fontes renováveis.

Resumo
O conceito de biorefinaria envolve o uso de biomassa renovável, como resíduos lignocelulósicos, para a produção de biocombustíveis, juntamente com outros produtos químicos e bioprodutos. Dentre os bioprodutos, a nanocelulose pode contribuir significativamente para a viabilidade econômica do processo geral. No entanto, o desenvolvimento de um bioprocesso para a produção em larga escala de nanocelulose continua a ser um desafio. Neste trabalho, estudou-se a estimativa de parâmetros de ampliação de escala para a produção de nanocelulose por hidrólise enzimática utilizando a polpa de celulose de eucalipto como matéria-prima. As reações de hidrólise enzimática foram realizadas num reator tanque agitado (5L) utilizando 10 e 15% m/v de teor de sólidos e cargas enzimática de 10 mg/g de celulose. Os impelidores usados foram o orelha de elefante com escoamento ascendente (EEUP) e descendente (EEDP) em rotação de 470 rpm. O sistema utilizado permitiu a determinação do consumo de potência e da conversão de celulose para as diferentes condições de processo. Os sólidos residuais da hidrólise apresentaram características de nanocelulose, avaliado pela técnica MEV-FEG e DRX, mostrando o potencial da produção de nanocelulose em reator de tanque agitado usando a rota enzimática.

Palavras-chave: Nanocelulose; Hidrólise Enzimática; Consumo de Potência; Aumento de Escala; Biorrefinaria.

CELLULOSE NANOFIBER BY ENZIMATIC HYDROLYSIS IN A STIRRED TANK REACTOR

Abstract
The biorefinery concept involves the use of renewable biomass such as lignocellulosic residues for the production of biofuels together with other chemicals and bioproducts. Among these bioproducts, nanocellulose can significantly contribute to the economic viability of the overall process. However, the development of a bioprocess for large-scale production of nanocellulose remains a challenge. In this work, it was studied the estimation of scale-up parameters for the production of nanocellulose via the enzymatic hydrolysis using eucalyptus cellulose pulp as feedstock. The enzymatic hydrolysis reactions were carried out in a stirred tank reactor (5L) using 10% and 15% w/v of solid loading and enzyme loading of 10 mg/g of cellulose. The impeller used was the up (EEUP) and down-pumping Elephants Ears (EEDP) at the rotation of 470 rpm. The system used allowed the determination of power consumption and cellulose conversion for different process conditions. The residual solids of the hydrolysis presented nanocelulose characteristics, as shown by FEG-SEM and XRD analysis, indicating that nanocellulose can be produced in a stirred tank reactor using the enzymatic route.

Keywords: Nanocellulose; Enzymatic Hydrolysis; Power Consumption; Scale-up; Biorefinery.

Publicações relacionadas: BONDANCIA, T. J. et al. A new approach to obtain cellulose nanocrystals and ethanol from eucalyptus cellulose pulp via the biochemical pathway. Biotechnology Progress n. 1520-6033, 2017.

1 INTRODUÇÃO

O conceito de biorrefinas engloba processos de conversão de biomassa lignocelulósica integrada à produção de biocombustíveis e bioprodutos com alto valor agregado, o que pode contribuir na redução da dependência de combustíveis fósseis e produtos obtidos por fontes não renováveis (GARCIA et al., 2016). Neste cenário, a nanocelulose tem atraído o interesse em diversas aplicações, como biomedicina, embalagem e como material de reforço mecânico, devido às suas propriedades ópticas e mecânicas (LIN & DUFRESNE, 2014). Apesar de seu vasto campo de aplicação, a produção de nanocelulose por rotas ambientalmente corretas ainda é um desafio, principalmente em relação ao aumento de escala. Assim, o presente estudo avaliou a liberação de glicose para produção de etanol integrada à obtenção de nanocelulose em um reator do tipo tanque agitado por rota enzimática. Para isso, foi realizada a estimativa de parâmetros como o consumo de potência e o gasto total de energia do processo, importantes para aumento de escala a produção de nanocelulose usando polpa de celulose de eucalipto como matéria-prima. A nanocelulose produzida foi caracterizada por Microscopia Eletrônica de Varredura com Emissão de Campo (MEV-FEG) e análise de Difração de Raio-X (DRX).

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 – Aparato Experimental e Análise de Consumo de Potência

O aparato experimental utilizado foi descrito por Correa et al. (2016) e consiste em um reator de tanque agitado de 5L (New Brunswick Scientific, EUA). As dimensões consistem em diâmetro do tanque (D_T) = 0,160 m; altura do tanque (H_T) = 0,370 m; altura do líquido (H_L) = 0,210 e quatro defletores. Os impelidores orelha de elefante com diâmetro (D_i) = 0,080 m foram empregados com escoamento descendente (EEDP) e outro com escoamento ascendente (EEUP). A temperatura foi controlada por um banho termostático. Um dinamômetro digital (FG 6005SD, Lutron) foi usado para determinar o consumo de potência com base na força medida. O consumo de energia foi determinado pela Equação 1

$$P = T.\omega \qquad (1)$$

O consumo total de energia após 48h de hidrólise foi calculado pela Equação 2

$$E = \int_0^{48h} P(t).dt \qquad (2)$$

2.2 – Hidrólise Enzimática

A polpa de celulose comercial de *Eucalyptus Urograndis* branqueadas pelo processo Kraft (fornecida pela empresa Suzano papel e celulose S/A) foi processado em moinho de facas para redução da granulometria (menor que 2mm). A celulose foi hidrolisada em tampão citrato de sódio 0,1 M, pH 5,0 a 50ºC, 470 rpm por 48 horas com complexo enzimático comercial Cellic® CTec 3 – Novozymes (206 FPU/ g; 122 mg proteína/ g). A conversão de celulose foi calculada considerando a quantidade de glicose liberada. A concentração de glicose foi monitorada usando um kit enzimático comercial GOD-PAD (Labtest®) seguindo as especificações do fabricante.

2.3 – Caracterização das nanofibras de celulose

O material sólido residual da hidrólise enzimática foi avaliado por difração de raio-X (DRX) em equipamento Shimadzu 6000, com radiação CuKa (λ = 1.54 Å) ângulo 2θ = 5-40º com 2º/min. O

índice de cristalinidade (IC) foi avaliado pelo método proposto por Segal et al. (1959). A análise morfológica do material foi feita por microscopia electronica de varredura com emissão de campo (MEV-FEG) em microscópio JEOL Modelo JSM-607 1F operado a 2.0 kV e resolução de 1.0 nm.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Hidrólise Enzimática e Conversão de Celulose

Os experimentos de hidrólise foram feitos por 48 horas em teor de sólidos (TS) de 10% e 15% e carga enzimática (CE) de 10 mg/g de celulose. A conversão de celulose para ambos teores de sólidos ficou em torno de 70%, sendo que, apesar da maior concentração de sólidos, a condição de TS 15% se aproximou da condição de menor TS. O aumento da concentração de sólidos eleva a concentração de açúcares passíveis de fermentação para produção de etanol, reduzindo os custos do processo com a menor quantidade de água, redução de equipamentos e energia na etapa de destilação (Kristensen, Felby e Jorgensen, 2009). Apesar das vantagens, é preciso avaliar os gastos energéticos na etapa de hidrólise enzimática. Assim, a Figura 1 mostra o consumo de potência em função do tempo de hidrólise enzimática para as diferentes cargas de sólidos.

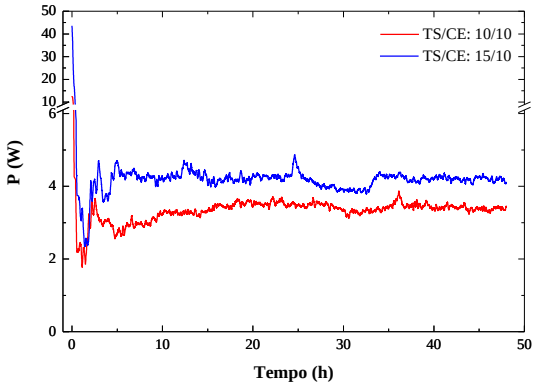


Figura 4 - Consumo de Potência para diferentes teores de sólido em função do tempo de hidrólise enzimática

Uma significante redução no consumo de potência é observada nas primeiras horas de hidrólise. Em TS 10%, o consumo de potência passou de 12,0 W para 3,7 W, e na condição de TS 15% a redução foi de 43,2 para 4,2 W após 48 h. A rápida redução no consumo de potência pode ser atribuído à ação das enzimas, reduzindo a energia gasta para rotação dos impelidores devido à diminuição da viscosidade aparente do meio durante a conversão de celulose em glicose. A energia total gasta foi de 160,9 W.h para TS 10% e de 206,9 W.h para TS 15%. Nas primeiras horas, o maior consumo de energia, principalmente para a condição de TS 15%, é atribuído a uma região estagnada, em que o material permanece localizado perto da parede do reator, afetando o processo de difusão da enzima até o substrato. Com o passar da hidrólise, este fenômeno é minimizado como também relatado anteriormente por Corrêa e colaboradores (2016).

3.2 Nanofibras de celulose (NFC)

A Figura 2 mostra as análises de MEV-FEG das estruturas obtidas após hidrólise enzimática para as diferentes condições testadas. A nanofibra de celulose obtida apresenta estrutura agulhadas e com predominância de nanocelulose no material sólido. A redução da celulose amorfa e o aumento da celulose cristalina foram evidenciados pela análise do índice de cristalinidade (IC). No material de partida, o IC foi de 72% e aumentou para 83% para ambas as condições. Um comportamento semelhante foi relatado por Camargo, et. al. (2016) que observou um material sólido rico em celulose cristalina após hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar.

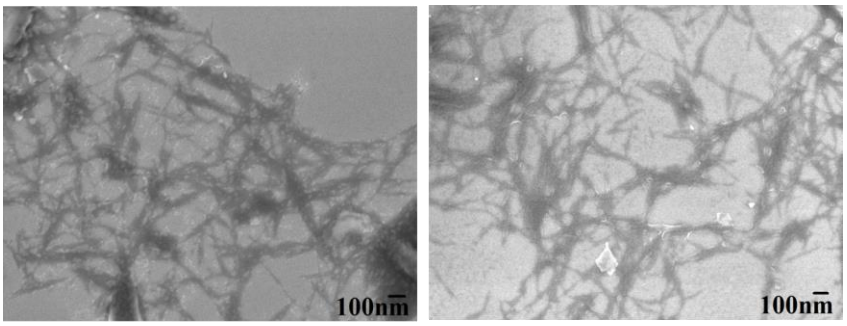


Figura 5 - Nanofibras de Celulose (a) Teor de sólidos (TS) de 10%; (b) TS de 15%

4 CONCLUSÃO

O consumo de potência durante a hidrólise enzimática diminuiu com a conversão de celulose. A degradação da celulose amorfa foi verificada pelo aumento do índice de cristalinidade, o que remete a presença de estruturas cristalinas nas nanofibras de celulose. Assim, estes resultados contribuem para estudos adicionais para o desenvolvimento de protocolos de aumento de escala para a produção de nanocelulose via hidrólise enzimática em reatores do tipo tanque agitado.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a CAPES, CNPq e FAPESP pelo apoio financeiro e ao PPGEQ-UFSCar e a Embrapa Instrumentação pelo apoio técnico.

REFERÊNCIAS

CAMARGO, L. A. et al. Feasibility of Manufacturing Cellulose Nanocrystals from the Solid Residues of Second-Generation Ethanol Production from Sugarcane Bagasse. Bioenergy Research**,** v. 9, n. 3, p. 894-906, 2016.

CORRÊA, L. J.; BADINO, A. C.; CRUZ, A. J. G. Power consumption evaluation of different fed-batch strategies for enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse. Bioprocess and Biosystems Engineering**,** v. 39, n. 5, p. 825-833, 2016.

GARCIA, A. et al. Industrial and crop wastes: A new source for nanocellulose biorefinery. Industrial Crops and Products, v. 93, p. 26-38, 2016.

KRISTENSEN, J. B.; FELBY, C.; JORGENSEN, H. Yield-determining factors in high-solids enzymatic hydrolysis of lignocellulose. Biotechnology for Biofuels, v. 2, 2009.

LIN, N.; DUFRESNE, A. Nanocellulose in biomedicine: Current status and future prospect. European Polymer Journal**,** v. 59, p. 302-325, 2014.

SEGAL, L. et al. An empirical method for estimating the degree of cristallinity of native cellulose using the X-Ray diffractometer. Text Res J**,** v. 29, n. 10, p. 786-794, 1959.

BIONANOCOMPÓSITOS PRODUZIDOS A PARTIR DE AMIDO DE MANDIOCA E NANOWHISKERS DE CELULOSE DO MESOCARPO DO DENDÊ

Bruno R. Luchesi[a,c],*, Adriana de Campos[a], Alfredo R. de Sena Neto[a], Vanessa B. Rodrigues[a,b], Francys K. V. Moreira[a,c], Ana Carolina Correa[a], Luiz H. C. Mattoso[a], José M. Marconcini[a]

[a]Laboratório Nacional de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio (LNNA), Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP, Brasil.
[b]Universidade Federal de São Carlos, Departamento de Química, São Carlos, SP, Brasil.
[c]Universidade Federal de São Carlos, Departamento de Engenharia de Materiais, São Carlos, SP, Brasil.
**e-mail para contato: luchesi.bruno@gmail.com*

Classificação: Desenvolvimento de nanocompósitos a partir de fontes renováveis.

Resumo
Filmes de amido de mandioca reforçados com nanowhiskers de celulose de mesocarpo dendê foram produzidos por *casting*. Nanowhiskers foram obtidos por hidrólise ácida, seguida de microfluidização e incorporação em filmes de amido em várias concentrações (1-10%, m/v). As caracterizações morfológicas e mecânicas mostraram que o efeito de reforço de nanowhiskers de dendê foi significativo em até 6% em peso (limite de percolação), para os quais houve um efetivo reforço mecânico. Acima dessa concentração, houve significativa formação de aglomerados, o que causou uma queda nas propriedades mecânicas dos bionanocompósitos de amido.
Palavras-chave: Amido de mandioca; Fibras do mesocarpo do dendê; Nanowhiskers; Celulose; Nanocompósitos.

BIONANOCOMPOSITES PRODUCED FROM CASSAVA STARCH AND OIL PALM MESOCARP CELLULOSE NANOWHISKERS

Abstract
Cassava starch films reinforced with cellulose nanowhiskers from oil palm mesocarp fibers were produced by casting. Nanowhiskers were obtained by sulphuric acid hydrolysis followed by microfluidization and incorporated in starch films at various loadings (1-10 wt%). Morphological and mechanical characterizations showed that the reinforcing effect of oil palm cellulose nanowhiskers was significant at loadings of up to 6wt% (percolation threshold), for which the reinforcement was effective. Above this loading, there was significant formation of agglomerates, which caused a decrease in the mechanical properties of starch bionanocomposites.
Keywords: Cassava starch; Oil palm mesocarp fibers; Nanowhiskers; Cellulose; Nanocomposites.

Publicações relacionadas: Bionanocomposites Produced from Cassava Starch and Oil Palm Mesocarp Cellulose Nanowhiskers. Carbohydrate Polymers, v. 175, p. 330-336, 2017.

1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de materiais sustentáveis e biodegradáveis é um dos maiores desafios das indústrias modernas (Benhamou et al, 2014). Entre os muitos materiais conhecidos, o amido é um dos mais promissores para aplicações como plásticos biodegradáveis devido ao seu abundante suprimento e baixo custo, além da possibilidade de processamento em larga escala (Cao, Chang, & Huneault, 2008). No entanto, os plásticos de amido possuem algumas desvantagens, tais como baixa resistência a altas temperaturas e baixa flexibilidade (Kaisangsri,Kerdchoechuen, & Laohakunjit, 2014). Desta forma, a incorporação de nanowhiskers de celulose (CNW) pode aumentar as propriedades mecânicas dos amidos plásticos, visto que são reforços interessantes para esse tipo de matriz (Liu et al, 2017). A

fibra de mesocarpo de dendê (OPMF – *oil palm mesocarp fiber*), por exemplo, é a fibra obtida após a extração de óleo de palma do mesocarpo de frutos. Uma quantidade significativa de OPMF pode ser usada como fonte de CNW após tratamentos químicos e/ou físicos (Ferrer et al, 2012). O presente estudo descreve a incorporação de CNW, obtidas a partir das fibras de mesocarpo de dendê via hidrólise em ácido sulfúrico e microfluidização, em filmes de amido de mandioca produzidos por *casting*. A influência dos nanowhiskers de dendê na morfologia, cristalinidade e propriedades mecânicas dos nanocompósitos de amido foi investigada.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Materiais

As fibras de mesocarpo de dendê não purificadas (OPMF) foram gentilmente fornecidas pela Embrapa Amazônia Oriental (Belém, Pará, Brasil). Peróxido de hidrogênio e NaOH foram utilizados para deslignificação e branqueamento de OPMF. A hidrólise da OPMF branqueado foi realizada em ácido sulfúrico e a diálise dos CNWs foi realizada em membranas de celulose. Amido de mandioca foi fornecido pela Amazon Amidos (Pará, Brasil).

2.2 Preparação dos CNW do mesocarpo de dendê e bionanocompósitos amido/CNW

As fibras do mesocarpo de dendê foram moídas em um moinho de facas e secas em estufa de circulação de ar (50 °C, 24 h). A deslignificação de OPMF foi realizada em solução de NaOH 2% (m/v) sob agitação constante (70 °C, 60 min). A mistura foi levada à temperatura ambiente, filtrada e neutralizada com água destilada. OPMF deslignificada foi seca a 50 °C e submetida a dois branqueamentos em solução de NaOH 5% (m/v) e H_2O_2 10 % (v/v) sob agitação mecânica (55 °C, 90 min). OPMF branqueada foi arrefecida até temperatura ambiente, lavada com água destilada até a neutralidade e finalmente seca em estufa com circulação de ar (50 ºC). Os CNWs foram obtidos adicionando-se 5 g de OPMF branqueada em 100 mL de ácido sulfúrico 6M sob agitação mecânica (45ºC, 105 min). A suspensão resultante foi diluída em 500 mL de água fria deionizada para extinguir a reação, lavada por sucessivos ciclos de centrifugação (10 min, 10.000 RPM) e dialisada em membranas de celulose até a suspensão atingir pH 6-7. Finalmente, a suspensão foi microfluidizada através de 16 passagens a 30.000 psi. Obteve-se filme de amido puro por casting de misturas aquosas compreendendo 75% (m/v) de amido de mandioca, 23% (m/v) de glicerol e 35% (m/v) de água deionizada. Cada mistura foi solubilizada (90 ºC, 60 min) em um lote de água e vertida em uma placa lisa e uniforme. O processo de formação de filme foi realizado em uma estufa com circulação de ar (50 ºC, 17 h). Bionanocompósitos de amido e CNWs foram formados pela adição de 1, 2, 3, 6 e 10% (m/v) de nanowhiskers com base na massa de amido.

2.4 Caracterizações

2.4.1 Microscopia Eletrônica de Varredura com canhão de emissão de campo (MEV-FEG)

Um microscópio Philips XL30 foi utilizado para realizar MEV-FEG nos bionanocompósitos de amido e nanowhiskers à tensão de aceleração de 5 kV. As amostras foram montadas em *stubs* de alumínio usando fitas de carbono adesivas de dupla face e revestidos com uma fina camada de carbono antes da aquisição das micrografias.

2.4.2 Difratometria de Raios-X (DRX)

Os padrões de difração de raios-X (DRX) foram medidos em um difractômetro Lab X-XRD 6000 (Shimadzu), empregando radiação CuKα (λ = 1,5406 Å) a 30 kV e 30 mA. O índice de cristalinidade (IC) dos bionanocompósitos foi determinado pelo método de deconvolução de Lorentzian utilizando o software Magic Plot Student 2.5.1.

2.4.3 Ensaios de tração

Testes mecânicos foram realizados em uma máquina de teste universal EMIC DL3000 (EMIC, Paraná, Brasil) com taxa de deformação de 5 $mm.min^{-1}$ e célula de carga de 50kgf. Os testes foram realizados de acordo com a norma ASTM D882 (2013). Diferenças significativas entre os valores obtidos foram determinados com nível de significância de 5% por análise de variância (ANOVA) e análises

comparativas de Games-Howell para indicar casos com heterogeneidade de variância entre tratamentos. As análises estatísticas foram realizadas com o software R, versão 3.3.3.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 MEV-FEG

As micrografias dos bionanocompósitos de amido contendo de 1% a 10% (m/v) de CNW são apresentadas na Fig. 1. Os CNWs aparecem como pontos brilhantes em todas as amostras, como indicado pelas setas amarelas. Alguns aglomerados são evidentes (Fig. 1c-1f), indicando uma dispersão incompleta de CNWs na matriz de amido. Este resultado é esperado uma vez que a concentração de 10% (m/v) está acima do limite de percolação (v_{RC}).

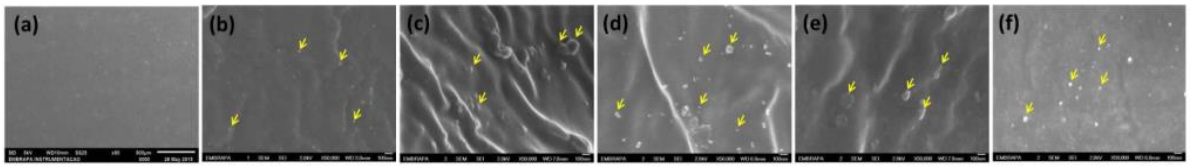
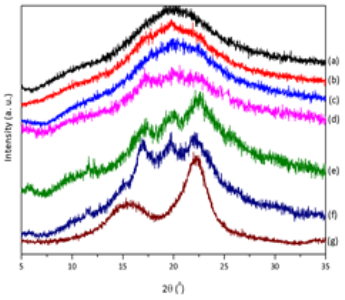


Figura 1. Micrografias de (a) filme de amido puro, (b) amido-CNW1%, (c) amido-CNW2%, (d) amido-CNW3%, (e) amido-CNW6%, (f) amido-CNW10%.

3.2 DRX

Os padrões de DRX dos bionanocompósitos de amido com CNW são mostrados na Fig. 2. A adição de CNW ao amido resultou em novos picos em 16,9°, 19,8° e 22,2° de 2θ (Fig. 2e). O pico em 2θ = 16,6º aumentou sua intensidade com o aumento da concentração de CNW, o que está relacionado à recristalização da amilopectina na superfície do reforço (Campos et al., 2013; Van Soest et al, 1996; Santana et al., 2017). O pico em 2θ = 19º corresponde ao tipo V_H de cristal de amido, que também tende a aumentar em intensidade com o aumento da concentração de CNW. É claro, a partir da Fig. 2, que a inclusão de CNW induziu a retrogradação do amido de mandioca, o que é confirmado pelo aumento do IC dos bionanocompósitos em comparação ao filme de amido puro.



Amostra	IC(%)	Amostra	IC(%)
Amido de mandioca puro	-	Amido + 3%CNW	11
CNW de dendê	7	Amido + 6%CNW	20
Amido + 1%CNW	8	Amido + 10%CNW	70
Amido + 2%CNW	8,5		

Figura 2. Padrões de DRX de (a) amido de mandioca puro e seus respectivos bionanocompósitos carregados com (b) 1 %, (c) 2 %, (d) 3 %, (e) 6 %, (f)10% de CNWs (m/v) e (g) CNW de mesocarpo de dendê; À esquerda: Índices de cristalinidade para filmes e amido de mandioca puro, CNW de mesocarpo de dendê puro e bionanocompósitos.

3.3 Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas dos bionanocompósitos de amido são mostradas na Fig. 3. Verificou-se um aumento gradual da resistência à tração e redução no alongamento na ruptura com o aumento da concentração de CNW. A maior resistência à tração dos bionanocompósitos é devido ao aumento da rigidez do material imposta pelos CNW. Houve um aumento de 240% no alongamento na ruptura com adição de 3% (m/v) de CNW devido à boa compatibilidade e adesão interfacial, o que leva a uma efetiva transferência de tensão da matriz de amido para o reforço. Além disso, houve um abrupto aumento na resistência à tração e no módulo elástico do bionanocompósito com 6% (m/v) de CNW. A introdução de 10% (m/v) de CNW causou uma redução no módulo elástico. Isto está associado ao contato excessivo fibra/fibra, resultando em uma transferência ineficiente de tensão da matriz de amido para o reforço de CNW.

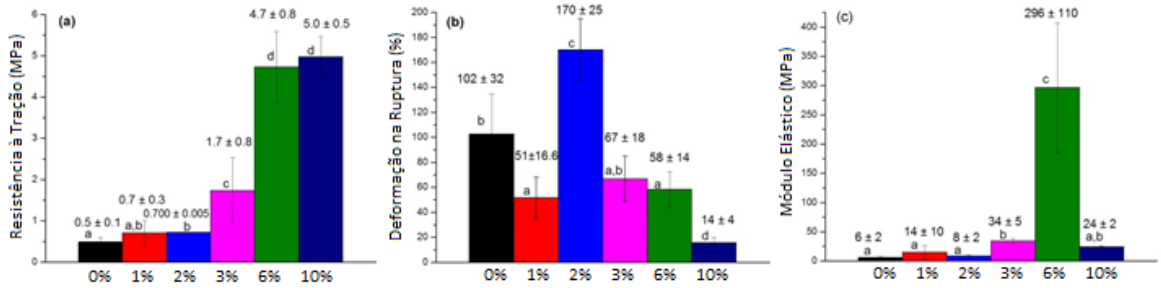


Figura 3. Propriedades mecânicas dos filmes de amido plastificado com 20% (m/v) de glicerol e seus respectivos bionanocompósitos: (a) resistência à tração; (b) alongamento na ruptura; (c) módulo elástico. Amostras com letras semelhantes ("a", "b", "c", "d") não apresentam diferenças significativas.

4 CONCLUSÃO

Os bionanocompósitos foram preparados a partir de amido de mandioca plastificado com glicerol e nanowhiskers de celulose extraídos de fibras de mesocarpo do dendê. O efeito de reforço dos CNWs foi significativo apenas para concentrações de até 6% (m/v), aumentando o módulo de elasticidade. Abaixo do limite de percolação, o alongamento na ruptura dos bionanocompósitos foi maior do que aquela do filme de amido puro devido à interação reforço/matriz através de ligações de hidrogênio. Acima do limite de percolação, houve a formação de uma rede de nanowhiskers de celulose percolada, levando à aglomeração de nanowhiskers e diminuição das propriedades mecânicas dos bionanocompósitos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio financeiro fornecido pelo CNPq (Processo 383890 / 2014-4, 402287 / 2013-4, 303796 / 2014-6), FINEP, MCTI e Embrapa. Os autores também agradecem Milene Mitsuyuki Foschini pelas análises estatísticas.

REFERÊNCIAS

BENHAMOU, K. et al. Control of size and viscoelastic properties of nanofibrillated cellulose from palm tree by varying the TEMPO-mediated oxidation time. Carbohydrate Polymers, v. 99, p. 74–83, 2014.

CAO, X.; CHANG, P. R.; Huneault, M. A. Preparation and properties of plasticized starch modified with poly(ε-caprolactone) based waterborne polyurethane. Carbohydrate Polymers, v. 71, n.1, p. 119–125, 2008.

KAISANGSRI, N.; KERDCHOECHUEN, O.; LAOHAKUNJIT, N. Characterization of cassava starch based foam blended with plant proteins, kraft fiber, and palm oil. Carbohydrate Polymers, v. 110, p. 70–77, 2014.

LIU, D. et al. Novel sandwiched structures in starch/cellulose nanowhiskers (CNWs) composite films. Composites Communications, v. 4 (March), p. 5–9, 2017.

FERRER, A. et al. Valorization of residual Empty Palm Fruit Bunch Fibers (EPFBF) by microfluidization: Production of nanofibrillated cellulose and EPFBF nanopaper. Bioresource Technology, v. 125, p. 249–255, 2012.

CAMPOS, A. et al. Properties of thermoplastic starch and TPS/polycaprolactone blend reinforced with sisal whiskers using extrusion processing. Polymer Engineering & Science, v. 53, n. 4, p. 800–808, 2013.

VAN SOEST, J. J. G. et al. Crystallinity in starch bioplastics. Industrial Crops and Products, v. 5, n.1, p. 11–22, 1996.

SANTANA, J. S. et al. Cassava starch-based nanocomposites reinforced with cellulose nanofibers extracted from sisal. Journal of Applied Polymer Science, v. 134, n. 12, p. 1–9, 2017.

INFLUÊNCIA DA ADIÇÃO DE CARBOXIMETILCELULOSE NAS PROPRIEDADES MECÂNICAS E DE HIDROFOBICIDADE EM FILMES DE AMIDO DE MANDIOCA

Katiany Mansur Tavares[1]; Adriana de Campos[2]; Bruno Ribeiro Luchesi[3], Ana Angélica Resende[1], José Manoel Marconcini[2]

1 Universidade Federal de Lavras – UFLA; 2 Embrapa Instrumentação, 3 Universidade Federal de São Carlos – UFSCAR; mansurtavares@yahoo.com.br

Classificação: Processamento de nanocompósitos a partir de fontes renováveis

Resumo

A grande maioria dos materiais plásticos produzidos a partir de fontes petroquímicas não é facilmente degradada devido a sua estrutura química e ao seu caráter hidrofóbico, causando grande acúmulo de resíduos sólidos no ambiente e uma consequente poluição ambiental. A utilização de materiais naturais e biodegradáveis, como o amido e derivados da celulose como a carboximetilcelulose (CMC) tem sido estudada como uma alternativa promissora para substituição de parte dos materiais plásticos não biodegradáveis em diversas aplicações. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da adição de CMC nas propriedades mecânicas e hidrofóbicas de filmes de amido de mandioca. As propriedades mecânicas foram avaliadas por meio de testes de tração e a hidrofobicidade dos filmes foi avaliada pela análise de ângulo de contato. Os resultados mostraram que a adição de CMC induziu um aumento na tensão máxima de filmes de amido de mandioca. As demais propriedades mecânicas não foram significativamente influenciadas pela adição de CMC ao filme de amido. Em relação à hidrofobicidade, a adição de CMC aumentou a afinidade do filme de amido de mandioca com a molécula de água, tornando-o mais hidrofílico.

Palavras-chave: Amido de mandioca; Carboximetilcelulose; Filmes poliméricos; Fontes naturais; Embalagens para alimentos.

INFLUENCE OF THE ADDITION OF CARBOXYMETHYLCELULOSE IN THE MECHANICAL AND HYDROFOBICITY PROPERTIES IN FILMS OF CASSAVA STARCH

Abstract

The vast majority of plastic materials produced from petrochemical sources are not easily degraded due to their chemical structure and their hydrophobic character, causing a great accumulation of solid waste and a consequent environmental pollution. The use of natural and biodegradable materials such as starch and cellulose derivatives such as carboxymethylcellulose (CMC) has been studied as a promising alternative for replacing some non-biodegradable plastic materials in various applications. Thus, the objective of this study was to evaluate the effect of the addition of CMC on the mechanical and hydrophobic properties of cassava starch films. The mechanical properties were evaluated by tensile tests and the hydrophobicity of the films was evaluated by the contact angle analysis. The results showed that the addition of CMC induced an increase in the maximum stress of cassava starch films. The other mechanical properties were not significantly influenced by the addition of CMC to the starch film. In relation to hydrophobicity, the addition of CMC increased the affinity of the cassava starch film with the water molecule, making it more hydrophilic.

Keywords: Cassava starch; Carboxymethylcellulose; Polymeric films; Natural sources; Packing for food.

1 INTRODUÇÃO

Os polímeros sintéticos são amplamente utilizados para a produção de embalagens de alimentos devido às suas inúmeras vantagens como versatilidade, baixo custo de produção, leveza e excelentes propriedades de barreira (GONZÁLEZ; IGARZABAL, 2015). Porém, sua sustentabilidade tem sido questionada devido, principalmente, à poluição causada pelo acúmulo de resíduos sólidos que estão associados ao grande impacto ambiental causado nos últimos anos (MUKURUMBIRA et al., 2017; LANDIM et al., 2016). Dentre os polímeros naturais, o amido tem sido considerado um material promissor para a produção de embalagens de alimentos devido à sua abundância, baixo preço e comportamento termoplástico (JIMÉNEZ et al., 2012). No entanto, as propriedades de barreira, mecânicas e resistência à umidade destes filmes são inferiores quando comparadas aos filmes convencionais, sendo um fator limitante para sua aplicação industrial (MIRI et al., 2015).

A adição de carboximetilcelulose (CMC) em filmes à base de amido pode contribuir para superar algumas dessas desvantagens, pois estes apresentam boas propriedades de barreira contra o oxigênio e lipídios, além de formar filmes transparentes, o que é uma característica desejável para a aceitação do consumidor (GHANBARZADEH et al., 2010). O caráter hidrofílico de filmes poliméricos é comumente avaliado através do ângulo de contato que fornece dados sobre a polaridade do material, possibilitando assim avaliar a sua interação com as moléculas de água (AVÉROUS; FRINGANT, 2001).

Diversos estudos avaliaram a utilização de amidos para a produção de filmes oriundos de fontes naturais (KUTTI et al., 1998; LÓPEZ et al., 2011; BONILLA et al., 2013; SESSINI et al., 2016; Ma et al., 2017). No entanto, poucos estudaram amidos de fontes tropicais como a mandioca. Para o Brasil, um dos maiores produtores mundial de mandioca, sua utilização em filmes biodegradáveis é uma forma de agregar valor a uma importante matéria-prima nacional. Assim, o objetivo deste trabalho foi estudar o efeito da adição de CMC nas propriedades mecânicas e hidrofóbicas de filmes de amido de mandioca.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Preparo das amostras

Filme de amido de mandioca puro foi obtido por *casting*, em que foram preparadas misturas aquosas contendo 75 % (m/m) de amido de mandioca, 23 % (m/m) de glicerol e 35% (m/m) de água deionizada. A mistura foi solubilizada a 90ºC por 1 hora em um banho-maria contendo glicerina. Em seguida, a mistura foi vertida sobre uma placa plana e uniforme. O processo de formação do filme foi conduzido em uma estufa com circulação de ar a 50ºC por 17 h.

A carboximetilcelulose (CMC) pura 1 % (m/m) foi solubilizada a 40 °C por 1h sob agitação. A mistura foi espalhada sobre uma placa plana e uniforme e a formação do filme foi conduzida em uma estufa com circulação de ar a 50ºC por 17 h.

Filme (50/50) de CMC/amido de mandioca foi obtido a partir das soluções descritas anteriormente utilizando as mesmas condições de preparo e formação do filme.

2.2 Caracterizações

2.2.1 Ensaios mecânicos

As amostras foram analisadas usando uma máquina de ensaio mecânico (TA. XT Plus Texturometer), com uma abertura inicial de 20 mm e taxa de 0.1mm.s^{-1} e célula de carga de 50 Kgf. Os testes foram realizados de acordo com o protocolo ASTM D882 (2013). Diferenças significativas entre os valores de resistência à tração, alongamento à ruptura e módulo de elasticidade foram determinadas com nível de significância de 5% por análise de Variância (ANOVA) e análises comparativas de Games-Howell para indicar casos com heterogeneidade de variância entre tratamentos. As análises estatísticas foram realizadas com o software R, versão 3.3.3.

2.2.2 Ângulo de contato

As amostras foram submetidas à análise de ângulo de contato (KSV Cam101). A absorção da gota foi analisada durante 1 min. e os ângulos foram calculados pelo software Cam2008.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os filmes foram submetidos aos ensaios mecânicos por meio de testes de tração e os resultados estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Ensaio mecânico de tração dos filmes de Amido de mandioca puro, de CMC puro e de uma mistura contendo 50% de cada material polimérico.

Amostras	Tensão Máxima (MPa)	Tensão de Ruptura (MPa)	Deformação na Ruptura (%)	Módulo Elástico (MPa)
Filme de amido mand	$23,5 \pm 5,5^{a}$	$22,8 \pm 5,7^{a}$	$3,4 \pm 0,8^{a}$	$9,8 \pm 2,5^{a}$
Filme de CMC	$41,8 \pm 9,6^{b}$	$40,6 \pm 9,2^{b}$	$57,1 \pm 30,9^{b}$	$1,8 \pm 0,3^{b}$
Filme de amido mand. + CMC	$34,2 \pm 4,6^{b}$	$33,6 \pm 4,5^{a,b}$	$4,6 \pm 0,7^{a}$	$11,5 \pm 1,5^{a}$

Valores médios e desvio padrão de três repetições e dez replicatas do ensaio. Valores com letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as amostras (Teste de Games-Howell $p < 0,05$).

O filme de CMC puro apresentou maiores valores para todas as propriedades mecânicas avaliadas quando comparado ao filme de amido de mandioca puro, exceto para o módulo elástico. A adição de CMC no filme de amido de mandioca provocou um aumento na tensão máxima. Este aumento foi significativo de acordo com o teste de Games-Howell, tornando a tensão máxima da blenda com 50% de CMC semelhante ao filme de CMC puro.

A adição de CMC no filme de amido de mandioca não causou diferença significativa no filme quanto à tensão de ruptura. O filme de amido contendo CMC apresentou uma elongação semelhante ao filme de amido de mandioca puro, sendo esta inferior à do filme de CMC puro. O módulo elástico do filme de amido de mandioca com CMC não apresentou aumento estatisticamente significativo quando comparado com o filme de amido de mandioca puro. Resultados similares foram relatados por Ma et al. (2017) mostrando que a adição de 0,4% de nanocristais de CMC melhoraram as propriedades mecânicas dos filmes de amido de mandioca, sendo os melhores resultados obtidos para a resistência à tração e deformação.

A influência da CMC nas características de hidrofobicidade do filme de amido foi analisada por meio de teste de ângulo de contato e os resultados estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Ângulo de contato de filmes de Amido de mandioca, CMC e da blenda de Amido com CMC (50/50).

Amostras	Ângulo de Contato (^{0})
Filme de amido de mand.	$52,7 \pm 1,6$
Filme de CMC	$42,9 \pm 4,3$
Filme amido + CMC	$49,6 \pm 0,6$

Valores médios e desvio padrão de três repetições e triplicatas.

O filme de amido de mandioca puro mostrou-se mais hidrofóbico quando comparado ao filme de CMC puro. A adição de CMC no filme de amido de mandioca reduziu a sua hidrofobicidade, tornando-o menos resistente à água. Segundo Bialopiotrowicz (2003), o teste para ângulo de contato em água é muito importante em filmes de amido, pois suas características de interação com a água são fundamentais para determinar a sua aplicação. Ma et al. (2017) também relataram alta afinidade e capacidade de absorção de água dos filmes de amido de mandioca reforçados com nanocristais de CMC. Segundo os autores, estes resultados mostram que este tipo de filme pode ser aplicado no desenvolvimento de filmes comestíveis para embalagens e revestimentos de alimentos, os quais requerem alta solubilidade em água, além da vantagem de serem biodegradáveis.

4 CONCLUSÃO

Por meio de ensaios mecânicos, concluiu-se que a adição de CMC aumentou a tensão máxima do filme de amido de mandioca, no entanto não causou diferença significativa quanto à tensão na

ruptura, deformação na ruptura e módulo elástico. O filme de amido de mandioca puro mostrou-se mais hidrofóbico do que os demais filmes analisados.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq, FAPESP e CAPES pelo suporte financeiro. Agradecimento à Milene Corso Mitsuyuki da Embrapa Instrumentação pelo suporte nas análises estatísticas.

REFERÊNCIAS

ASTM D0882 .Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting 1. American Society for Testing Materials, 14, p. 1-12, 10.1520/D0882-12, 2013.

AVEROUS, L.; FRINGAN, C. Association between plasticized starch and polyesters: processing and performances of injected biodegradable systems. Polymer Engineering and Science, v. 41, n. 5, p.727 – 734, 2001.

BIALOPIOTROWICZ, T. Wettability of starch gel films. Food Hydrocolloids. v. 17, p. 141-147, 2003.

BONILLA, J.; ATARÉS, L.; VARGAS, M.; CHIRALT, A. Properties of wheat starch film-forming dispersions and films as affected by chitosan addition. Journal of Food Engineering, v. 114, n.3, p. 303-312, 2013.

GHANBARZADEH, B.; ALMASI, H.; ENTEZAMI, A. A. Physical properties of edible modified starch/carboxymethyl cellulose films.Innovative. Food Science & Emerging Technologies, v. 11, n. 4, p. 697-702, 2010.

GONZÁLEZ, A.; IGARZABAL, C. Nanocrystal-reinforced soy protein films and their application as active packaging. Food Hydrocolloids, v. 43, p. 777–784, 2015.

JIMÉNEZ, A.; FABRA, M. J.; TALENS, P.; CHIRALT, A. Edible starch and biodegradable films: a review. Food and Bioprocess Technology, v.5, p. 2058-2076, 2012.

KUUTTI, L.; PELTONEN, J.; MYLLÄRINEN, P.; TELEMAN, O.; FORSSELL, P. AFM in studies of thermoplastic starches during ageing. Carbohydrate Polymers. v. 37, p.7-12, 1998.

LANDIM, A. P. M.; BERNARDO, C. O.; MARTINS, I. B. A.; FRANCISCO, M. R.; SANTOS, M. B.; MELO, N. R. Sustentabilidade quanto às embalagens de alimentos no Brasil. Polímeros, v. 26, p. 82–92, 2016.

LÓPEZ, O. V.; LECOT, C. J.; ZARITZKY, N. E.; GARCÍA, M. A. Biodegradable packages development from starch based heat sealable films. Journal of Food Engineering, v. 105, n. 2, p. 254–263, 2011.

MA, X.; CHENG, Y.; QIN, X.; GUO, T.; DENG, J.; LIU, X. Hydrophilic modification of cellulose nanocrystals improves the physicochemical properties of cassava starch-based nanocomposite films . Food Science and Technology, v. 86, p.318-326, 2017.

MIRI, N. EI, ABDELOUANDI, K., BARAKAT, A., ZAHOUILY, M., FIHRI, A., SOLHY, A. MOUNIR, EL A. Bio-nanocomposite films reinforced with cellulose nanocrystals: Rheology of film-forming solutions, transparency, water vapor barrier and tensile properties of films. Carbohydrate Polymers, v. 129, p. 156-167, 2015.

MUKURUMBIRA, A. R.; MELLEM, J. J.; AMONSOU, E. O. Effects of amadumbe starch nanocrystals on the physicochemical properties of starch biocomposite films. Carbohydrate Polymers, v. 165, p. 142-148, 2017.

R CORE TEAM (2017). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL https://www.R-project.org/.

SESSINI, V.; ARRIETA, M. P.; KENNY, J. M.; PEPONI, L. Processing of edible films based on nanoreinforced gelatinized starch. Polymer Degradation and Stability, v.132, p. 157–168, 2016.

ESTABILIDADE DE FILMES COMESTÍVEIS NANOCOMPÓSITOS À BASE DE POLISSACARÍDEOS E VITAMINA C OBTIDA DE RESÍDUO AGROINDUSTRIAL

José Augusto de Almeida Nascimento[1], Dirliane Santos Duarte[2], Maria Auxiliadora Coelho de Lima[3], Douglas de Britto[3]

[1]Universidade Federal do Vale do São Francisco - PPG Ciência dos Materiais; [2]Instituto Federal do Sertão de Pernambuco - Campus Petrolina, PE; [3]Pesquisador Embrapa Semiárido, Petrolina, PE.
douglas.britto@embrapa.br

Classificação: Desenvolvimentos de nanocompósitos a partir de fontes renováveis.

Resumo
A atividade agroindustrial gera resíduos que ocasionam impactos ambientais, tendo, porém, potencialidade de ser reaproveitados para a obtenção de compostos bioativos, e.g., vitaminas. Assim, visando o aproveitamento da vitamina C presente em resíduo agroindustrial da produção de polpa de acerola, este trabalho teve como objetivo isolar e estabilizar esta vitamina empregando a técnica de nanoencapsulação por gelificação iônica. A partir dessas nanopartículas (NP) foram preparados filmes nanocompósitos (NC), empregando matriz polissacarídica de galactomanana. Tanto as NP como NC foram submetidos à diversos testes de estabilidade: luz (25 ºC), temperatura (ausência de luz e a 35 ºC) e atmosfera oxidante O_2 (ausência de luz e a 25 ºC). Comparativamente, as NP mantiveram cerca de 64, 66 e 56% da concentração inicial de vitamina C no 15º dia, quando nas condições de luz, temperatura elevada e atmosfera oxidante, respectivamente. Enquanto os sistemas em que a vitamina C não estava encapsulada degradou-se numa taxa ligeiramente maior. Para os filmes NC, a vitamina C também ficou mais preservada em relação ao controle, principalmente para o teste em temperatura elevada. Assim, conclui-se que sistema proposto apresenta potencialidade de aplicação em filmes comestíveis para revestimento de frutas.
Palavras-chave: Quitosana; Galactomanana; Nanoencapsulamento; Acerola; Algaroba

STABILITY OF NANOCOMPOSITE EDIBLE FILMS BASED ON POLYSACCHARIDES AND VITAMIN C FROM AGROINDUSTRIAL RESIDUE

Abstract
The agro-industrial activity generates byproducts that causes environmental impacts, but has the potential to be recycled to obtain bioactive compounds, e.g., vitamins. Thus, aiming at the utilization of vitamin C present in the agro-industrial residue of the production of acerola pulp, this work aimed to isolate and stabilize this vitamin using the nanoencapsulation technique by ionic gelation. From these nanoparticles (NP) were prepared nanocomposite films (NC), using galactomannan polysaccharide as matrix. Both NP and NC were subjected to several stability tests: light (25ºC), temperature (absence of light and 35ºC) and oxidizing atmosphere O_2 (absence of light and at 25ºC). Comparatively, the NP maintained about 64, 66 and 56% of the initial concentration of vitamin C on the 15th day, when under light conditions, high temperature and oxidizing atmosphere, respectively. While systems in which vitamin C was not encapsulated degrade at a slightly higher rate. For the NC films, vitamin C was also more preserved in relation to the control, especially for the high temperature test. Thus, it is concluded that the proposed system presents potentiality of application in edible films for fruit coating.
Keywords: Chitosan; Galactomannan; Nanoencapsulation; Acerola; Mesquite gum

Publicações relacionadas: DE BRITTO et al. Analysis of thermal and aqueous suspension stabilities of chitosan based nanoencapsulated vitamins. Química Nova, v. 39, n. 9, p. 1126-1130, 2016.

1 INTRODUÇÃO

O aproveitamento de resíduos agroindustriais tem motivado muitos estudos e aplicações. Do ponto de vista ambiental, a correta destinação destes resíduos é desejada a fim de minimizar o impacto ambiental e acúmulo de lixo. Por outro lado, do ponto de vista tecnológico, esses resíduos podem ser reaproveitados para extração de moléculas e macromoléculas com propriedades bioativas, tendo potencialidade de exploração econômica. São materiais, por exemplo, como polissacarídeos, lipídeos, proteínas, polifenóis, vitaminas, dentre várias outras classes. Um tipo de resíduo muito comum no Vale do São Francisco é o resíduo de acerola (*Malpighia emarginata* D.C.) oriundo do processamento da polpa da fruta. No caso da acerola, estudo anterior mostrou que no resíduo do processamento ainda tem uma quantidade significativa de vitamina C residual (COSTA, 2012).

Esta vitamina pode ser reaproveitada através de processos de extração e estabilização, visto que as vitaminas, principalmente a vitamina C, são compostos sensíveis e instáveis e que perdem as suas funções quando expostas à temperatura inadequada, atmosfera oxidante (O_2), umidade ou luz. Uma solução para isto é empregar polissacarídeos com poder quelante, como a quitosana, que tem a capacidade de se ligar com vários tipos de substâncias e possibilitar sua extração e estabilização. Adicionalmente, esses polissacarídeos podem formar também nanopartículas (NP) que preservam consideravelmente a estabilidade destas vitaminas (BRITTO et al., 2014). Por fim, as NP podem ser introduzidas em matrizes filmogênicas, formando filmes comestíveis nanocompósitos (NC) com aplicação como embalagem ativa para revestimento de frutas e vegetais (BRITTO e ASSIS, 2012). Um composto com potencialidade para formação de matriz filmogênica é o polissacarídeo galactomanana presente em semente de algaroba (*Prosopis juliflora*), espécie muito comum no Nordeste.

Desta forma, este trabalho teve como objetivo extrair e avaliar a estabilidade da vitamina C obtida a partir do resíduo agroindustrial da produção de polpa de acerola, empregando a técnica de nanoencapsulação via gelificação iônica a partir de quitosana e tripolifosfato de sódio (TPP). Posteriormente, filmes NC contendo NP de quitosana e vitamina C foram preparados a partir de galactomananas e obtidos por casting. Estes sistemas têm aplicação potencial para formação de filmes comestíveis, podendo ser ingrediente ativo em formulações alimentícias, tanto para consumo humano como para ração animal.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O resíduo agroindustrial de acerola foi cedido pela empresa Niagro-Nichirei do Brasil Agrícola Ltda., em Petrolina, PE. A metodologia básica consiste em pesar 5 g do resíduo de acerola em tubo Falcon e submeter à extração com 50 mL de solução aquosa de quitosana (3 mg/mL) em HCl 0,1% (v/v) previamente preparada. Após agitação manual para dispersão do resíduo, a mistura foi centrifugada a 10.000 rpm por 5 min e 8 ºC para separação do resíduo sólido e obtenção do sobrenadante com vitamina C. Em seguida, este sobrenadante foi submetido ao processo de encapsulamento via gelificação ionotrópica com TPP (1,2 mg/mL). Para efeito de comparação, foi preparado também um sistema controle, contendo 60 mg de vitamina C pura adicionada à 50 mL de solução de quitosana em HCl. A solução assim obtida foi também submetida à gelificação iônica nas mesmas condições. As suspensões de NP foram denominadas NP_{ex} e NP_{pr} respectivamente para NP obtidas a partir do extrato do resíduo e as obtidas a partir da vitamina C pura (BRITTO et al., 2014). A Eficiência de Encapsulamento (EE) foi determinada a partir de curva de calibração de ácido ascórbico em ácido metafosfórico 1,0% (m/v) em espectrofotômetro UV-visível da Thermo Scientific, modelo MultiSkan GO. A partir das NP, foram preparados os filmes NC à base de solução aquosa de galactomanana (GLM) a 3 mg/mL. A GLM foi extraída da semente de algaroba coletada na Embrapa Semiárido. A suspensão de GLM + NP foi depositada em placas de Petri e liofilizados (Liobras L101) durante 24 horas.

A estabilidade da vitamina C nas NP (suspensão aquosa) e nos NC (filmes liofilizados) foram avaliados submetendo-se os sistemas a diferentes condições de estocagem e avaliando-se alíquotas em intervalos de tempos pré-determinados. As condições foram: incidência de luz fluorescente, temperatura e saturação de O_2. Para exposição à luz, suspensões de NP e filmes NC foram colocadas

em estufa equipada com fotoperíodo constante (marca Eletrolab, modelo EL202/E) a 25 ºC por 15 dias. Para influência da temperatura, NP e NC foram colocados em câmara climática (marca Fitotec, modelo LT 2100 UTFP) a 35 ºC na ausência de luz por 15 dias. Para influência do oxigênio (ausência de luz, 25 ºC), a suspensão NP foi saturada com O_2 por 10 minutos ou os filmes NC condicionados em dessecador fechado cujo interior foi evacuado e injetado O_2. Para análise, alíquotas de 1 mL da suspensão de NP foram separadas e centrifugadas e a vitamina C no sobrenadante quantificada via curva de calibração descrita acima. Da mesma, para os filmes NC, partes dos filmes foram separadas e extraídas com solução de etanol água a 50% por 5 horas e a vitamina C presente no sobrenadante quantificada da mesma forma. Adicionalmente, os sistemas NP foram comparados com outras degradações relativas da vitamina C, sendo a primeira com ácido ascórbico em água desionizada (0,6 mg/mL) e a segunda com o sobrenadante do resíduo de acerola extraído com ácido oxálico a 0,5% (m/v), sendo denominadas AA_{ag} e VC_{ox}, respectivamente.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Estabilidade da suspensão de NP

De acordo com a variação da concentração de vitamina C em função do tempo nos diferentes sistemas estudados (Figura 1), observa-se claramente que nos sistemas NP, o efeito na conservação da vitamina C foi mais pronunciado. Para influência da luz (Figura 1a), comparando-se com o valor inicial, a condição encapsulada (NP_{ex} e NP_{pr}) mantém cerca de 64% da concentração inicial no décimo quinto dia. Este valor é elevado em comparação com os sistemas não-encapsulados, em que a concentração atinge 48% e 31% para AA_{ag} e VC_{ox}, respectivamente, no final dos 15 dias. Da mesma forma, para a influência da temperatura (Figura 1b), comparando-se com a concentração inicial, as amostras encapsuladas (NP_{ex} e NP_{pr}) exibiram uma concentração equivalente a 66% da quantidade inicial, enquanto que para os sistemas não-encapsulados VC_{ox} e AA_{ag} atingiram 38% e 47%, respectivamente, no final dos 15 dias. Em concordância, a estabilidade de vitamina C sob ação de O_2 foi maior para sistemas encapsulados (Figura 1c), nos quais a concentração atingiu cerca de 56% do seu valor inicial. Os sistemas não-encapsulados degradaram-se a uma taxa ligeiramente maior. Estes resultados comprovam a eficácia do encapsulamento na proteção da vitamina C.

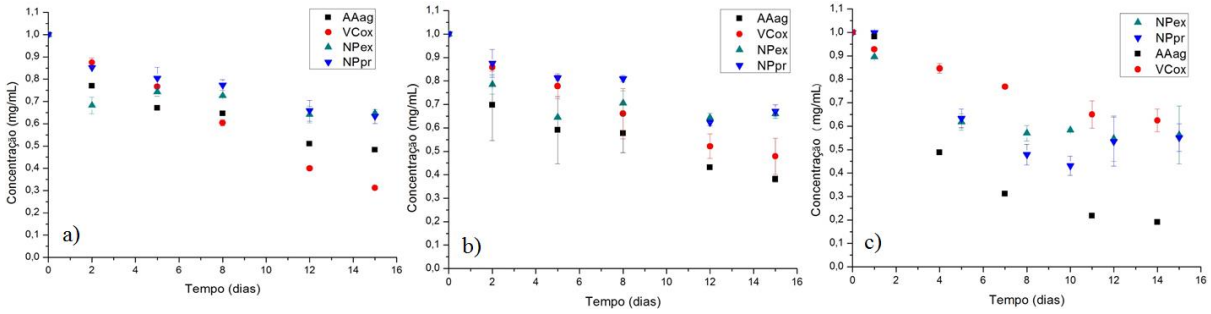


Figura 1. Variação da concentração de vitamina C (normalizado) em função do tempo para NP_{ex} e NP_{pr}, quando expostas **a)** à luz a 25 ^oC, **b)** temperatura de 35 ^oC e **c)** atmosfera de O_2.

3.2 Estabilidade dos filmes NC

O perfil de liberação da vitamina C a partir dos filmes NC de GLM mostrou que em 5 horas a concentração atinge um máximo, tendendo a seguir a uma leve queda devido à degradação da vitamina C (Figura 2). De acordo com os resultados, não é possível distinguir diferença significativa entre os sistemas encapsulados NP_{ex} e NP_{pr} e o controle não-encapsulado composto de ácido ascórbico puro adicionado ao filme de GLM.

Em relação aos filmes NC submetidos à diferentes condições de armazenamento, os resultados indicam que para o sistema GLM + NP_{ex} na presença de luz, a capacidade de preservação da vitamina C não foi muito eficiente (Figura 3a). Comparativamente, este apresentou taxa de degradação maior que os sistemas GLM + NP_{pr} e GLM + vitamina C não-encapsulada.

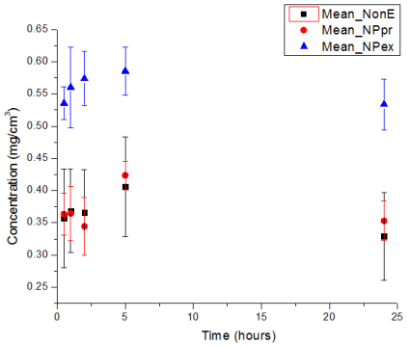


Figura 2. Perfil de liberação da vitamina C em etanol/água para os filmes nanocompósitos liofilizados obtidos a partir de galactomananas e nanopartículas NP_{ex} e NP_{pr}.

Observação visual paralela mostrou mudança de cor acentuada, indicando que provavelmente a degradação de pigmentos presentes no extrato do resíduo tenha influenciado nesta menor efetividade. Por outro lado, para o sistema GLM + NP_{ex} exposto à temperatura de 35 ^{o}C, a capacidade de preservação da vitamina C foi relativamente mais eficiente (Figura 3b). Nesse caso, a taxa de degradação da vitamina C foi menor que para os sistemas GLM + NP_{pr} e GLM + vitamina C não-encapsulada.

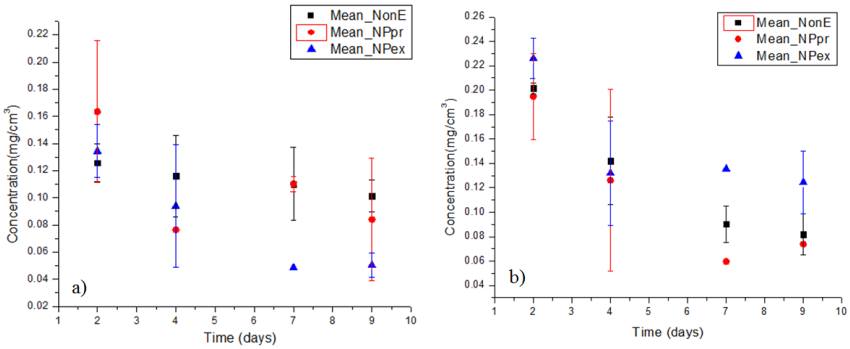


Figura 3. Variação da concentração de vitamina C em função do tempo para filmes NC de GLM + NP_{ex} e NP_{pr}, quando expostos **a)** à luz a 25 ^{o}C e **b)** temperatura de 35 ^{o}C.

4 CONCLUSÃO

Em conclusão, os filmes nanocompósitos à base de nanopartículas de quitosana em matriz de galactomanana podem oferecer capacidade de preservação adicional para a vitamina C, com potencial de aplicação como embalagem ativa e confecção de formulações filmogênicas comestíveis para revestimento de frutas e alimentos minimamente processados.

AGRADECIMENTOS

FACEPE, Rede AgroNano, Laboratório Pós-colheita (CPATSA) e Adriana C. Thomazi (CNPDIA).

REFERÊNCIAS

BRITTO, D.; ASSIS, O.B.G. Chemical, biochemical, and microbiological aspects of chitosan quaternary salt as active coating on sliced apples. Ciência e Tecnologia dos Alimentos, v. 32, n. 3, p. 599-605, 2012.

BRITTO, D.; MOURA, M.R.; AOUADA, F.A.; PINOLA, F.G.; LUNDSTEDT, L.M.; ASSIS, O.B.G.; MATTOSO, L.H.C. Entrapment characteristics of hydrosoluble vitamins loaded into chitosan and N,N,N-trimethy chitosan nanoparticles. Macromolecular Research, v. 22, p. 1261-1267, 2014.

COSTA, A.C.S. Qualidade e atividade antioxidante na porção comestível e resíduos do processamento de acerola produzida no submédio do Vale do São Francisco. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2012.

PRODUÇÃO DE CELULOSE BACTERIANA A PARTIR DE MELAÇO DE SOJA HIDROLISADO

(Bruna S. Chagas[1], Helder L. S. Lima[2], Francisca A. E. de Brito [3], Érika P. C. Gomes[4], Mateus C. Leal [5], Maria F. F. Silva[6], Maria de F. Borges[7], Morsyleide de F. Rosa[8])

([1, 2, 4] Universidade Federal do Ceará, Departamento de Engenharia Química, [7, 8] Embrapa Agroindústria Tropical, [3, 5, 6] Universidade Federal do Ceará, Departamento de Engenharia de Alimentos) E-mail: brunasantana_chagas@hotmail.com

Classificação: Desenvolvimentos de nanocompósitos a partir de fontes renováveis.

Resumo
Neste trabalho avaliou-se o potencial de produção de celulose bacteriana (CB) em meio de fermentação a base de melaço de soja hidrolisado. Foram estudadas condições de pré-tratamento tais como a concentração de ácido sulfúrico (0,0; 0,05; 0,10; 0,15; 0,20; 0,25 mol/L) adicionada e a concentração de melaço (75, 150, 250, 350, 450 e 550 g/L) para aumentar o teor de açúcares redutores. A hidrólise melhorou o desempenho do melaço como meio fermentação para a produção de CB, pois converteu parte dos oligossacarídeos em açúcares fermentescíveis. A solução aquosa de melaço 75 g/L hidrolisada (0,05 mol/L H_2SO_4) apresentou a melhor produção de CB (2,69 g/L). É possível utilizar melaço de soja na síntese de CB e o tratamento com ácido aumenta a produção do biopolímero.
Palavras-chave: Biopolímero; Fermentação; *Komagataeibacter*; Hidrólise ácida.

PRODUCTION OF BACTERIAL CELLULOSE FROM HYDROLYSED SOY MOLASSES
Abstract
This work evaluated the potential of bacterial cellulose (BC) production in a fermentation medium based on hydrolysed soy molasses. Pretreatment conditions such as the sulfuric acid concentration (0.0, 0.05, 0.10, 0.15, 0.20, 0.25 mol / L) added and the concentration of molasses (75, 150, 250, 350, 450 and 550 g / L) to increase the content of reducing sugars. Hydrolysis improved the performance of molasses as a fermentation medium for the production of BC because it converted part of the oligosaccharides into fermentable sugars. The aqueous solution of hydrolysed 75 g/L molasses (0.05 mol / L H 2 SO 4) showed the best BC production (2.69 g / L). Soy molasses can be used in the synthesis of BC and the treatment with acid increases the production of the biopolymer.
Keywords: Biopolymer; Fermentation; *Komagataeibacter*; Acid hydrolysis.

Publicações relacionadas:

CHAGAS, B. S. et al. Hydrolysed soy molasses as nutrient source for bacterial cellulose production. In: 3rd INTERNATIONAL CONFERENCE ON NATURAL FIBERS, p. 187-188, 2017.

1 INTRODUÇÃO

Celulose bacteriana (CB) é um biopolímero sintetizado por diversos gêneros de microrganismos, sendo o gênero *Komagataeibacter*, anteriormente *Gluconacetobacter* (YAMADA, et al., 2012), o mais estudado. A espécie *K. xylinus* destaca-se entre as demais devido sua capacidade superior de produção de CB a partir de diferentes fontes de carbono (glicose, frutose, melaço, glicerol ou outros substratos orgânicos) e nitrogênio sendo, portando, interessante para aplicação industrial.

A CB apresenta alta porosidade, excelente poder de absorção, boa resistência mecânica, elevado grau de pureza e cristalinidade, biodegradabilidade e biocompatibilidade (SHAH et al., 2013). Essas características a torna promissora para ser utilizada em diferentes aplicações na indústria biomédica, alimentícia, cosmética, têxtil e eletrônica (GALLEGOS, 2016). No entanto, o meio de cultivo sintético pode representar até 30% do custo total de sua produção (RIVAS, 2004). Vários estudos têm sido realizados para a identificação de meios alternativos de fermentação visando reduzir os custos do processo de síntese desse biopolímero (CAMPANO et al., 2016; DUARTE et al., 2015).

O melaço de soja (MS), um subproduto da agroindústria da soja, apresenta em sua composição química entre 50-70% de carboidratos, 6-10% de proteínas, 7-21% de lipídeos, 4-6% de fibras e 6-8% de cinzas (SIQUEIRA et al., 2008; SILVA et al., 2012; GOMES, 2017). Devido ao seu teor de carboidratos e proteínas o MS pode ser considerado um meio de fermentação potencialmente promissor para a produção de CB. Contudo, o MS apresenta alta viscosidade e parte dos carboidratos presentes são oligossacarídeos não metabolizáveis pelas bactérias produtoras do biopolímero, sendo necessário proceder diluição e hidrólise para aumentar o teor de açúcares redutores. O objetivo desse trabalho foi avaliar o potencial do melaço de soja hidrolisado como meio de fermentação para obtenção de CB.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O teor de açúcares redutores (AR) do MS foi quantificado pelo método do ácido dinitrosalicílico (DNS) (MILLER, 1959) e o teor de nitrogênio total determinado em Analisador de Carbono Orgânico Total Elementar (Shimadzu, modelo TOC – V CPN), utilizando o oxigênio como gás de arraste a uma velocidade de 150 mL/min.

Para determinar a concentração adequada de ácido sulfúrico (H_2SO_4) para hidrolisar o MS, soluções aquosas de 150 g/L de melaço foram adicionadas de diferentes alíquotas de ácido até as soluções atingirem as concentrações de 0,05, 0,10, 0,15, 0,20 e 0,25 mol/L. Solução sem adição de H_2SO_4 foi utilizada como controle. As soluções foram aquecidas a 90 °C durante 10 minutos. Em seguida, avaliou-se o efeito de diferentes concentrações de MS (75, 150, 250, 350, 450 e 550 g/L) sobre o incremento no teor de AR após hidrólise (0,05 mol/L de H_2SO_4) seguida de tratamento térmico (90 °C/10 min).

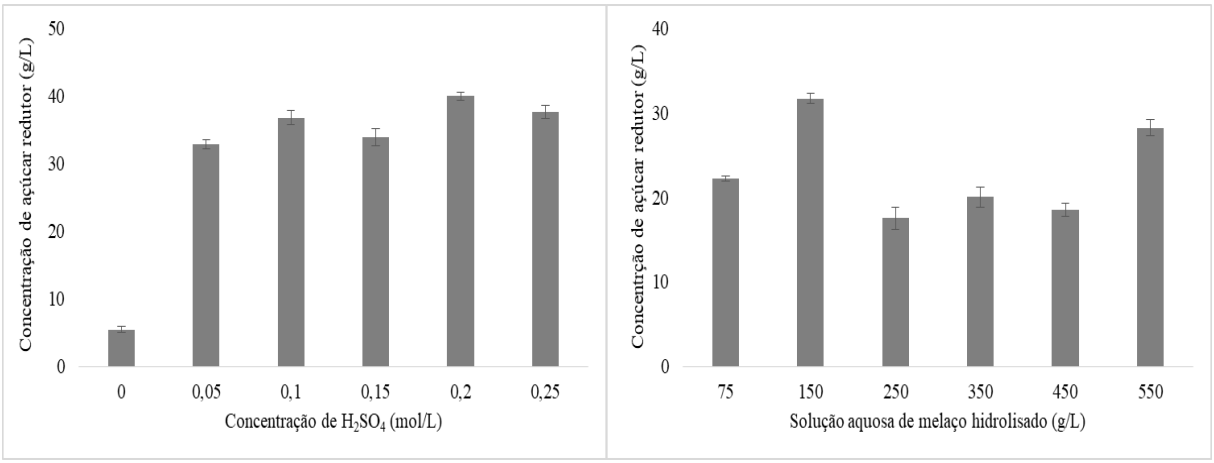
O potencial do MS como meio de fermentação na biossíntese de CB foi avaliado em meios formulados com 75 (MSH75) e 150 g/L (MSH150) de MS hidrolisado e não hidrolisado (MS75 e MS150) (pH 6.0). O meio de referência HS (HESTRIN; SCHRAMM, 1954) foi utilizado como controle. Para fermentação os meios foram distribuídos (70 mL) e esterilizados em frascos de cultura, inoculados com 10 % (v/v) de cultura de *Komagataeibacter xylinus* ATCC 53582 e incubados a 30 ºC/10 dias sob condição estática. Após a fermentação as películas de CB foram submetidas à lavagem, purificação (solução alcalina de NaOH (2 %) a 90 °C / 1 h) e neutralização. A produção de CB (g/L) foi determinada após secagem da película em estufa (100 ºC) e pesagem em balança analítica.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O MS apresentou teores de açúcares redutores e de nitrogênio de 3,23 e 1,08 % m/m (base úmida), respectivamente. Esse resultado indica que o MS contém baixo teor de açúcares fermentáveis. Gomes (2017) constatou que 67 % dos carboidratos presente nesse melaço são oligossacarídeos como sacarose (30,5%), estaquiose (19%), rafinose (14%), xilose (2,9 %) e apenas 3,8 % são monossacarídeos (glicose, frutose e galactose). Portanto, tornou-se necessário realizar um pré-tratamento com ácido para obter um hidrolisado com maior teor de açúcares simples que possam ser facilmente metabolizados pela bactéria *K. xylinus*.

A adição de diferentes concentrações de H_2SO_4 na solução aquosa de MS (150 g/L) aumentou a disponibilidade de AR. O teor de AR variou de 32,8 a 39,9 g/L (Fig. 1a). Observou-se um aumento de AR de aproximadamente 6 vezes quando o MS foi hidrolisado com 0,05 mol/L de H_2SO_4. Portanto, essa concentração de ácido foi selecionada para a hidrólise, pois proporcionou aumento satisfatório no teor de açúcares fermentescíveis (32,8 g/L), considerando que o meio de referência contém 20 g/L de AR (glicose). As demais concentrações avaliadas (0,1 a 0,25 mol/L de H_2SO_4) não apresentaram incremento de AR proporcional a adição de ácido.

O teor de AR nas diferentes concentrações de MS hidrolisado foi bastante variável. Nas concentrações de 75 e 150 g/L MS observou-se um aumento na concentração de AR, entretanto, a partir da concentração de 250 g/L MS a hidrólise não foi efetiva (Fig. 1b). Vale ressaltar que os teores de AR (20 e 30 g/L) presentes nas soluções de 75 e 150 g/L de MS, respetivamente, são apropriados para fermentação.



(a) **(b)**

Figura 1. (a) Efeito da concentração do ácido sulfúrico na hidrólise da solução aquosa de melaço (150 g/L) e (b) Influência da concentração da solução de melaço hidrolisado (0,05 mol/L H_2SO_4) no incremento no teor de açúcares redutores.

A biossíntese de CB variou em função da concentração de AR no meio de fermentação utilizado. A maior produção de CB foi observada no meio HS, seguida dos meios MSH75, MSH150, MS150 e MS75 (Fig. 2 a e b). A hidrólise elevou, em média, 4 vezes a produção de CB nos meios de melaço, quando comparado com os meios não hidrolisados. Considerando os meios a base de MS, a melhor produção da CB (2,7 g/L) foi observada no meio MSH75 (≅ 20 g/L AR). Bae e Shoda (2005) formularam meios a base de melaço de cana-de-açúcar hidrolisado com diferentes concentrações de açúcar (20 a 70 g/L) e a maior produção (5,3 g/L) também foi observada no meio com 20 g/l de AR. É possível utilizar MS para síntese de CB, contudo, adequação do meio de melaço, como suplementação e ajuste de pH, poderá contribuir para elevar a produção de CB.

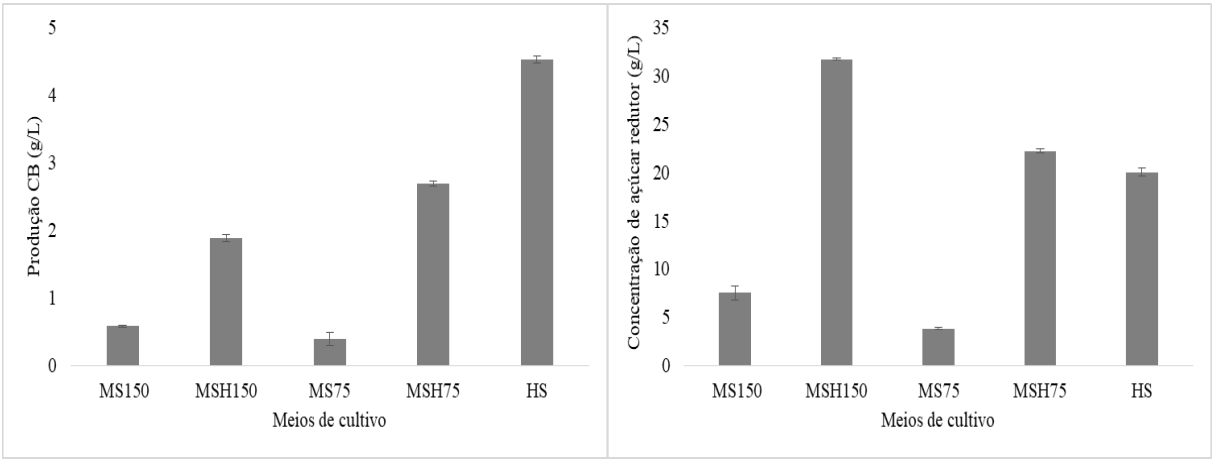


Figura 2. (a) Produção CB nos diferentes meios formulados a base de melaço de soja e HS; (b) Concentração de açúcar redutor nos meios de cultivo.

4 CONCLUSÃO

O melaço de soja hidrolisado é promissor como meio de fermentação para produção de CB e o tratamento com ácido aumenta a produção do biopolímero.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Embrapa Agroindústria Tropical, a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento desta pesquisa.

REFERÊNCIAS

BAE, S.; SHODA, M. Production of bacterial celulose by *Acetobacter xylinum* BPR2001 using molasses medium in a jar fermentor. Biotechnological Products and Process Engineering, v. 67, p. 45-51, 2005.

CAMPANO, C. et al. Enhancement of the fermentation process and properties of bacterial cellulose: a review. Cellulose, v. 23, p. 57-91, 2016.

DUARTE, E. B. et al. Production of hydroxyapatite–bacterial cellulose nanocomposites from agroindustrial wastes. Cellulose, Houten, v. 22, n. 5, p. 3177-3187, 2015.

GALLEGOS, A. M. A. et al. Bacterial Cellulose: A Sustainable Source to Develop Value-Added Products–A Review. BioResources, v. 11, p. 5641–5655, 2016.

GOMES, R. J. Produção de celulose bacteriana e ácido acético, por bactérias do ácido acético – BAA isoladas de indústria vinagres, a partir de melaço de soja. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Londrina, UEL, Londrina, 2017.

HESTRIN S, SCHRAMM M. Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum*. 2. Preparation of freeze-dried cells capable of polymerizing glucose to cellulose. Biochemical Journal, v. 58, p. 345–352, 1954.

MILLER G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Analytical Chemistry, v. 31, p. 426, 1959.

RIVAS, B. et al. Development of culture media containing spent yeast cells of *Debaryomyces hansenii* and corn steep liquor for lactic acid production with *Lactobacillus rhamnosus*. International Journal of Food Microbiology, Amsterdam, v. 97, n. 1, p. 93-98, 2004.

SHAH, N. et al. Overview of bacterial cellulose composites: A multipurpose advanced material. Carbohydrate Polymers, v. 98, n. 2, p.1585–1598, 2013.

SILVA, F. B. et al. Production of ethanol from enzymatically hydrolyzed soybean molasses. Biochemical Engineering Journal, v. 69, p. 61–68, 2012.

SIQUEIRA, P. F. et al. Production of bio-ethanol from soybean molasses by *Saccharomyces Cerevisiae* at laboratory, Pilot and Industrial Scales. Bioresource Technology, v. 99, n. 17, p. 8156–8163, 2008.

YAMADA, Y. et al. Subdivision of the genus *Gluconacetobacter* Yamada, Hoshino and Ishikawa 1998: The proposal of *Komagatabacter* gen. nov., for strains accommodated to the *Gluconacetobacter xylinus* group in the *α-Proteobacteria*. Annals Microbiology, v. 62, p. 849-859, 2012.

PROCESSAMENTO E ESTUDO DAS PROPRIEDADES MECÂNICAS E DA MORFOLOGIA DE BIOCOMPÓSITOS DE ACETATO DE CELULOSE REFORÇADOS COM FIBRA DE COCO

Guilherme B. Leal[1], Jéssica H.H. Rossato[1], Morsyleide F. Rosa[2], José M. Marconcini[3], Luiz H.C. Mattoso[3] e Gerson L. Mantovani[1]

[1]Universidade Federal do ABC – UFABC – Centro de Engenharia, Modelagem e Ciências Sociais Aplicadas – CECS, 09210-580, Santo André, SP. (e-mail: gerson.mantovani@ufabc.edu.br).
[2]Embrapa Agroindústria Tropical – 60511-110, Fortaleza, CE.
[3]Embrapa Instrumentação – 13560-970, São Carlos, SP.

Classificação: Desenvolvimento de nanocompósitos a partir de fontes renováveis.

Resumo
Neste trabalho foram obtidos compósitos de acetato de celulose plastificado com triacetato de glicerina e reforçados com fibras curtas de coco através de processamento em misturador interno. Observou-se que a adição das fibras de coco no acetato de celulose promoveu um aumento do módulo elástico e da resistência ao impacto com entalhe, enquanto que a resistência à tração se manteve praticamente inalterada para todas as composições. Também foi observado uma efetiva plastificação promovida pela triacetina no acetato de celulose comprovada pela diminuição do torque durante o processamento. No estudo da morfologia foi observado que houve distribuição uniforme das fibras na matriz de acetato.
Palavras-chave: Biocompósito; Acetato de Celulose; Fibra de Coco; Propriedades Mecânicas.

PROCESSING AND STUDY OF MECHANICAL PROPERTIES AND MORPHOLOGY OF COCONUT FIBER REINFORCED CELLULOSE ACETATE BIOCOMPOSITES

Abstract
In this work, composites of cellulose acetate plasticized with glycerine triacetate and reinforced with short coconut fibers were obtained by means of an internal mixer. It was observed that the addition of the coconut fibers in the cellulose acetate promoted an increase of the elastic modulus and notch impact strength, while the tensile strength remained practically unchanged for all compositions. It was also observed an effective plastification promoted by triacetin in the cellulose acetate proved by the decrease of the torque during the processing. In the study of morpology it was observed that there was uniform distribution of the fibers in the acetate matrix.
Keywords: Biocomposite; Cellulose acetate; Cononut fiber; Mechanical properties.

1 INTRODUÇÃO

Com o aumento das preocupações em relação às emissões de carbono e do enrijecimento das legislações quanto ao correto descarte dos materiais ao final de sua vida útil, se faz necessário o desenvolvimento de novas alternativas para substituição dos materiais baseados em petróleo (ARIADURAI, 2013). Assim, uma classe especial de materiais ganha destaque, denominados biocompósitos, que são constituídos por uma matriz polimérica e uma fase de reforço de origem vegetal e oferecem novas possibilidades quanto ao descarte ao final de sua vida útil, como por exemplo, compostagem e reciclagem, podendo ser inclusive biodegradáveis . Na indústria automotiva, por exemplo, diversos componentes já estão sendo substituídos por biocompósitos e o mesmo ocorre no setor de construção civil, de embalagens, entre outros.

No Brasil, o estudo e desenvolvimento destes materiais gera o aproveitamento da grande diversidade de fibras vegetais presentes em seu vasto território, muitas das quais, atualmente tratadas como resíduos de produção alimentícia, como é o caso da fibra de coco. Os rejeitos do coco são frequentemente descartados em lixões a céu aberto, encostas e aterros, contribuindo com a propagação

de doenças e degradação ambiental. Desta forma o aproveitamento das fibras da casca do fruto contribui com a produção de materiais de baixo custo, reduz seu impacto no ambiente e têm potencial de gerar soluções econômicas e ecologicamente viáveis nas regiões de extração (MARINELLI, 2008).

O acetato de celulose (CA) é um polímero considerado como sustentável desde sua produção até seu descarte ao final da vida útil. Sua matéria-prima é a celulose e seu processo de fabricação gera pouquíssimos resíduos, além do que, sua biodegradação é possível através de diversos métodos. Atualmente seu principal uso ocorre na fabricação do *FilterTow*, matéria prima para fabricação de filtros de cigarro, representando aproximadamente 82% de todo consumo de acetato de celulose no mundo. Porém, a medida que o consumo de cigarro diminui ano após ano (MARIE et al., 2014), buscam-se novas aplicações para as capacidades instaladas de produção de acetato de celulose.

Neste trabalho obteve-se por processamento em misturador interno, compósitos de acetato de celulose plastificado com triacetina e reforçados com fibras curtas de coco, caracterizou-se a morfologia e foram estudadas as propriedades mecânicas dos compósitos obtidos.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Materiais

As fibras de coco foram fornecidas pela Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE; o acetato de celulose na forma de *flakes* (densidade: 1,33 g/cm³, com granulometria de 15 mm (90%) e <0,5 mm (0,5%) com grau de substituição: 2,5) foi fornecido pela Rhodia Acetow; o triacetato de glicerina adquirido de Denver Gel (densidade: 1,12 g/cm³ e com grau de pureza 99,9%); o hidróxido de sódio adquirido de Buschle & Lepper (com grau de pureza 96-98%).

2.1.1 Tratamento superficial das fibras de coco: as fibras de coco foram lavadas em água corrente por aproximadamente 2 h para remoção da terra e sujeira presentes em sua superfície. As fibras foram secadas em estufa de ar circulante por 24 h a 100 ºC até completa secagem. Uma parte das fibras foi então imersa em solução aquosa de hidróxido de sódio (5% m/v) por 48 h (razão em massa 10:1 solução: fibra), sendo posteriormente lavadas em água corrente até remoção completa do hidróxido de sódio (pH ~ 7); secou-se em estufa por 24 h a 100 ºC. Após o tratamento as fibras foram trituradas em um moinho de facas SOLAB SL-31 em peneira de 30 mesh.

2.2. Métodos

2.2.1 Processamento: os compósitos foram preparados utilizando acetato de celulose, triacetato de glicerina e fibras curtas de coco tratadas quimicamente. Três concentrações de fibras foram utilizadas (5, 10 e 15% em massa) e o conteúdo de plastificante foi mantido em 40% em massa. O acetato de celulose e o plastificante foram alimentados em um reômetro de torque Brabender Plastograph EC, processados nas condições: temperatura da câmara de 190 ºC; velocidade do rotor: 50 rpm; tempo de processamento: 7 min, preenchimento da câmara 80%. As fibras foram adicionadas no último minuto do ciclo de processamento para reduzir a degradação termo-mecânica e liberação de voláteis. Os compósitos foram secados em estufa de ar circulante a 100 ºC por 24 h sendo em seguida prensados a quente a 170 ºC por 10 minutos sob pressão de 4 toneladas (prensa hidráulica SOLAB SL-10) e corpos de prova para os ensaios de tração e de impacto foram estampados seguindo as normas ASTM D638 e D256 respectivamente.

2.2.2 Caracterização das propriedades mecânicas e da morfologia: *(a) Ensaios de tração:* os ensaios de tração foram realizados de acordo com a norma ASTM D638 em uma máquina universal de ensaios (Instron 3369) com velocidade de travessa de 20 mm/min, e uma célula de carga de 5000 N; *(b) Ensaios de resistência ao impacto (Izod) com entalhe:* Os ensaios de impacto do tipo Izod foram realizados de acordo com a norma ASTM D256 em equipamento Shanta Engineering com martelo de 2,71 J; *(c) Microscopia eletrônica de varredura (MEV):* foi usado um microscópio eletrônico de varredura compacto JSM-6010LA JEOL. As superfícies de fratura foram recobertas por uma camada de 10 nm de ouro em equipamento Sputtering Leica EM ACE 200.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 1 é mostrado o comportamento do torque em função da quantidade de triacetina adicionada durante o processamento. Observa-se que com o aumento da concentração de triacetina,

uma diminuição expressiva do torque foi observada, indicando a atuação da triacetina como plastificante.

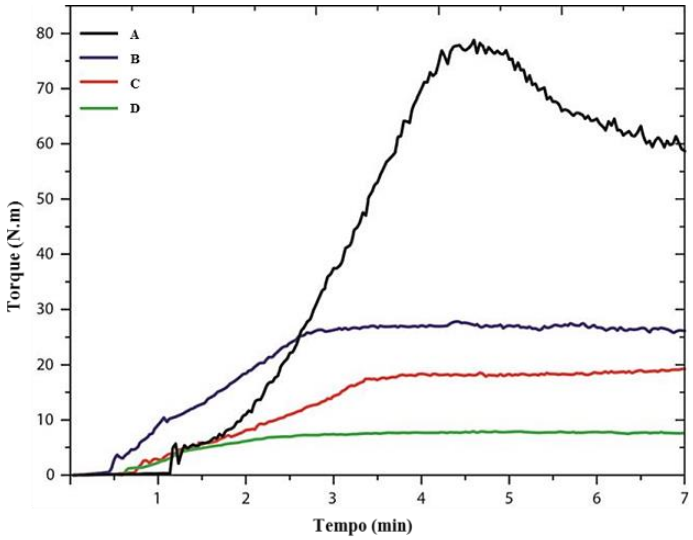


Figura 1. Efeito da adição de triacetato de glicerina no acetato de celulose, no torque em função do tempo de processamento: (A) 15% em massa; (B) 25% em massa; (C) 30% em massa; (D) 40% em massa.Os resultados obtidos nos experimentos para a avaliação das propriedades mecânicas para o acetato de celulose plastificado e para seus compósitos são apresentados na Tabela 1. Observou-se que com a adição gradual de fibras houve um aumento no módulo elástico e também na resistência ao impacto, e uma redução do alongamento na ruptura. Também se observa que a resistência à tração se manteve praticamente inalterada.

O aumento na resistência ao impacto é um indicativo de adesão efetiva entre a fibra e a matriz promovendo uma maior dissipação da energia do impacto, com o aumento do teor de fibras, ao mesmo tempo em que o aumento do módulo elástico indica que houve molhamento das fibras na matriz. A resistência à tração em compósitos é muito mais sensível às propriedades da matriz do que às do reforço, para que haja um aumento efetivo é necessário não só uma interface forte entre fibra e matriz, mas também uma concentração baixa de tensões residuais e que as fibras estejam preferencialmente orientadas na mesma direção da aplicação do esforço (NABI; JOG, 1999). Desta forma, o fato da resistência à tração ter se mantido praticamente inalterada com a adição das fibras sem orientação, também fornece um indicativo de que uma forte interação entre os constituintes foi estabelecida, gerando poucas descontinuidades na matriz, garantindo assim a transferência apropriada dos esforços aplicados (SANTOS, E.F. et al., 2010). Nas Fig. 2 e 3 mostram-se as micrografias obtidas por MEV das superfícies de fratura dos corpos de prova usados nos ensaios de resistência ao impacto do tipo Izod com entalhe. Constatou-se que para todas as composições houve distribuição uniforme das fibras na matriz de acetato. A análise das micrografias também revela regiões em que ocorreu descolamento das fibras da matriz (*pull-out*), indicando pouca contribuição das fibras no suporte aos esforços aplicados, bem como indícios de ruptura das fibras durante o ensaio de impacto, mostrando que nesta região o esforço foi suportado tanto pela matriz quanto pela fase dispersa (GUTIÉRREZ, M. C. et all., 2012). Também observa-se o aspecto plano da superfície de fratura com marcas de propagação de trincas, características de materiais frágeis.

Tabela 1: Propriedades mecânicas para o acetato de celulose plastificado e para seus compósitos.

Biocompósito	Módulo elástico (Mpa)	Resistência à tração (Mpa)	Alongamento na ruptura (%)	Resistência ao impacto(J/m²)
CAP	856,5 ± 52,9	29,5 ± 2,6	7,3 ± 3,1	7,25 ± 1,98
CAP5F	1024,8 ± 66,1	29,7 ± 1,6	3,8 ± 0,6	7,81 ± 2,0
CAP10F	1147,2 ± 110,3	29,9 ± 5,8	3,5 ± 0,7	7,96 ± 1,10
CAP15F	2983,4 ± 201,7	30,5 ± 1,5	1,4 ± 0,2	11,0 ± 1,17

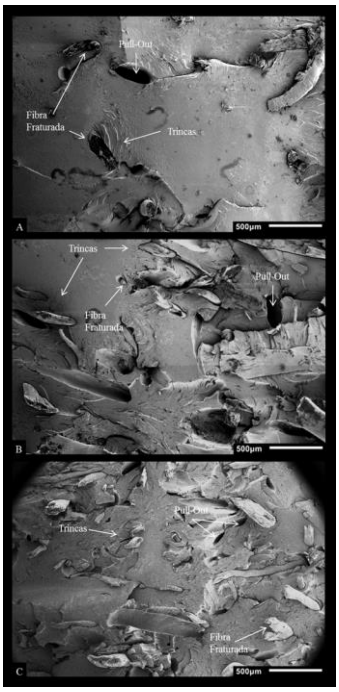


Figura 2. Micrografias da superfície de fratura dos biocompósitos obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV): (A) CAP5F; (B) CAP10F; (C) CAP15F.

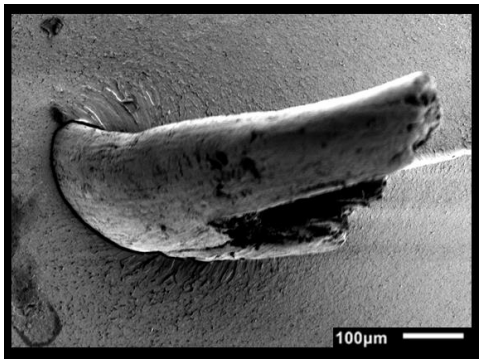


Figura 3. Micrografia da superfície de fratura do compósito obtida por microscopia eletrônica de varredura (MEV) na qual se exibe marcas de propagação de trincas (amostra CAP5F, com 5% de fibra)

4 CONCLUSÃO

Os biocompósitos de acetato de celulose e fibras de coco foram processados com sucesso usando o plastificante triacetina para minimizar a degradação térmica, com uma morfologia de distribuição uniforme das fibras na matriz polimérica. Conclui-se que a introdução de fibras de coco, um resíduo de baixo custo, na fabricação dos biocompósitos de acetato de celulose, pode levar à fabricação de produtos que possam atender às necessidades de nichos específicos do mercado, principalmente em virtude da redução de custos com a adição da fibra vegetal.

AGRADECIMENTOS

Os autores são gratos ao suporte dado a este trabalho à Rede AgroNano, ao CNPq, à FAPESP e à Central Multiusuário da UFABC. À Embrapa Agropecuária Tropical, Fortaleza (CE) pelo fornecimento das fibras de coco e à Rhodia Acetow pelo fornecimento do acetato de celulose. Este trabalho se insere no projeto de cooperação técnico-científico celebrado entre a Universidade Federal do ABC e a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, processo número 23006.001234/2014-23.

REFERÊNCIAS

ARIADURAI, S. Bio-Composites: Current Status and Future Trends. Research Gate, Department of Textile and Apparel Technology, Open University of SriLanka, 2013.

GUTIÉRREZ, M. C.; DE PAOLI, M. A.; FELISBERTI, M. I. Biocompósito de Acetato de Celulose e Fibras Curtas de Curauá Tratadas com CO_2 Supercrítico. Polímeros, v. 22, p. 295-302, 2012.

MARIE, N. et al. Smoking Prevalence and Cigarette Consumption in 187 Countries 1980-2012, JAMA, v. 311, p.183-192, 2014.

MARINELLI, A. Desenvolvimento de Compósitos Poliméricos com Fibras Vegetais Naturais da Biodiversidade: Uma Contribuição para a Sustentabilidade Amazônica. Polímeros: Ciência e Tecnologia, v. 18, p. 92-99, 2008.

NABI, D; JOG, J. A review. Advances in Polymer Technology, Natural Fiber composites,v.18, p 351-363, 1999.

SANTOS, E.F. et al. Extrusão de Compósitos de PP com Fibras Curtas de Coco: Efeitos da Temperatura e Agentes de Acoplamento, Polímeros, v. 20, p. 215-220, 2010.

PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOCOMPÓSITOS DE AMIDO, GLICEROL E CELULOSE DE DENDÊ MICROFIBRILADA

Valérya Carneiro Teles[1], Larissa Andreani [1], Leonardo Fonseca Valadares[1]

Embrapa Agroenergia, Parque Estação Biológica, PqEB s / n °, W3 Norte, CEP: 70770-901, Brasília, DF, Brasil. e-mail: valerya.teles@colaborador.embrapa.br

Classificação: Desenvolvimentos de nanocompósitos a partir de fontes renováveis.

Resumo
Este trabalho teve como objetivo desenvolver e caracterizar filmes de amido e glicerol e o efeito da incorporação de celulose microfibrilada proveniente de engaços vazios de dendê na matriz polimérica. Os filmes foram produzidos por *casting*, variando a concentração de celulose microfibrilada (0,0%, 10,0%, 20,0%, 30,0%, 40,0%, 50,0%, 60,0%, 70,0%, 80,0%, 90,0% e 100,0%). A influência da carga de celulose na espessura, atividade da água, diferença de cor e opacidade dos filmes elaborados foi avaliada. Foi verificado que a adição de celulose microfibrilada em diferentes concentrações contribuiu para alterar as propriedades ópticas de diferença de cor e opacidade das formulações elaboradas.

Palavras-chave: Celulose de dendê; Nanocompósitos; *Elaeis guineenses*, Celulose microfibrilada.

OBTAINING CELLULOSE EXTRACTED FROM OIL PALM EMPTY-FRUIT-BUNCHES AND INCORPORATION IN STARCH FILMS PLASTIFIED WITH GLYCEROL

Abstract
The objective of this work was to develop and characterize starch and glycerol films and the effect of incorporation of microfibrillated cellulose from oil palm empty-fruit-bunches in the polymer matrix.The films were produced by casting, with fixed concentrations of microfibrillated cellulose (0,0%, 10,0%, 20,0%, 30,0%, 40,0%, 50,0%, 60,0%, 70,0%, 80,0%, 90,0% e 100,0%). The influence of the cellulose load on the thickness, water activity, color difference and opacity of the elaborated films was evaluated. It was verified that the addition of microfibrillated cellulose in different concentrations contributed to alter the optical properties of color difference and opacity of the elaborated formulations.

Keywords: Oil palm cellulose; Nanocomposites; *Elaeis guineenses, Microfibrillated cellulose.*

1 INTRODUÇÃO

A poluição do meio ambiente devido ao descarte de filmes plásticos sintéticos sem nenhum controle é uma problemática global. Como alternativa para redução desse problema, existe a possibilidade de uso de biofilmes de fonte renovável como, por exemplo, os elaborados a partir de resíduos agroindustriais. O uso de resíduos da biomassa é um importante tema de pesquisa devido à sua abundância, baixo custo e menores impactos ambientais.

A palmeira, *Elaeis guineenses*, é um recurso renovável com potencial uso. Seu fruto, o dendê gera grandes volumes de resíduos em seu processamento, como os engaços que não encontram aplicações imediatas, embora sejam ricos em extrativos e celulose. Os engaços são compostos de aproximadamente 44% de celulose e ainda são subutilizados (SUN et al.,1999).

O uso do amido para produção de embalagens é promissor porque consiste em um recurso renovável e abundante, com a capacidade de formar uma matriz contínua. Além do custo relativamente baixo em comparação com outros biopolímeros, os filmes de amido exibem algumas características físicas semelhantes às de polímeros sintéticos e que são desejáveis para embalagens de alimentos, tais como transparência, insipiência e ausência de cheiro (NISPEROS-CARRIEDO, 1994).

A formação de um filme envolve forças coesivas que podem causar material quebradiço. No entanto, este problema pode ser minimizado pela adição de um plastificante à formulação, para

aumentar a mobilidade das cadeias poliméricas, e melhorar a flexibilidade e o alongamento do filme.O glicerol, um coproduto da cadeia de biodiesel, pode ser usado como plastificante na produção de filmes de amido.

A motivação deste trabalho consiste na avaliação do efeito da incorporação de celulose microfibrilada proveniente de engaços de dendê em filmes de amido e glicerol. Para tanto estes filmes foram caracterizados quanto a espessura, a atividade da água e suas propriedades ópticas de diferença de cor e opacidade dos materiais resultantes.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Engaços vazios de cachos de dênde, pertencente à cultivar 2301, Tenera, foi utilizado como matéria-prima. O grupo foi autoclavado (127 °C por 30 minutos), debulhado, seco em estufa com circulação de ar (65 °C) e triturado em um moinho Willey. A purificação de celulose foi realizada em três etapas principais, seguindo os passos descritos por (FAHMA et al., 2010). A celulose purificada foi homogeneizada e submetida a cisalhamento por meio mecânico. O homogeneizador Ultraturrax foi utilizado com rotação de 24.000 rpm com 12 ciclos de 10 minutos cada.

Os filmes foram processados segundo a técnica de *casting*, que consistiu da preparação de dispersão filmogênica dissolvendo o amido em água destilada. Foram realizadas 10 formulações de filmes contendo amido (Vetec), glicerol (Sigma-Aldrich) e celulose microfibrilada nas concentrações: amido (61,5%, 56,3; 50,0; 43,8; 37,5; 31,3; 25,0; 18,8; 12,5; 6,3 e 0,0), glicerol (38,5%, 33,8; 30,0; 26,3; 22,5; 18,8; 15,0; 11,3; 7,5; 3,8 e 0,0) e celulose microfibrilada (0,0%, 10,0%, 20,0%, 30,0%, 40,0%, 50,0%, 60,0%, 70,0%, 80,0%, 90,0% e 100,0). O procedimento para a preparação dos filmes de amido envolve a homogeneização de uma dispersão aquosa de amido por agitação mecânica durante 30 minutos. Logo após, a dispersão de amido foi aquecida em banho maria a 70 °C sob agitação a 700 rpm, até a mistura ser gelatinizada. Adicionou-se glicerol e a dispersão foi mantida a esta temperatura durante 15 minutos. A mistura foi sonicada durante 10 minutos e vertida em placas de poliestireno (30 g/placa) e seca em estufa com circulação e renovação de ar (30 °C/ 24 horas).

A microscopia eletrônica de varredura por emissão de campo (FEG-SEM) fabricado pela Zeiss Sigma HV foi utilizada para a determinação da morfologia das estruturas após microfibrilação. Os filmes foram caracterizados quanto à espessura, atividade de água, diferença de cor e opacidade. A espessura foi determinada por meio da média dos valores obtidos em 10 pontos aleatórios por meio de micrômetro digital, marca Digimess modelo IP54 com acurácia de 0,001 mm. A determinação da atividade da água das amostras foi realizada para a condição de secagem dos filmes e para a condição de armazenamento a 23 ºC e umidade relativa de 50%. Os filmes foram previamente cortados para aumento da área de superfície e seguiu-se a análise no equipamento AquaLab, modelo digital 4TEV, fabricado pela Decagon com controle de temperatura (25 °C). As análises de diferença de cor e opacidade dos filmes elaborados foram realizadas de acordo metodologia proposta por (HUNTERLAB, 1996) e (HUNTERLAB, 2008) respectivamente. Para as mensurações foi usado colorímetro CR-400 fabricado pela Konica Minolta com sistema de classificação de CIELab e iluminante D_{65}. Para o cálculo da diferença de cor foi utilizada a equação 1 e para o cálculo de opacidade a equação 2:

$$\Delta E^* = [(L^* - L_0^*)2 + (a^* - a_o^*)2 + (b^* - b_o^*)2]\ ½ \qquad (1)$$

Onde L* é a luminosidade da amostra, L_0* é a luminosidade do padrão, a* e b* é a intensidade da cor verde a vermelho da amostra e a_o* b_o* é a intensidade da cor amarela a azul do padrão.

$$\text{Opacidade } (Y) = (Y_{\text{apoio preto}} / Y_{\text{apoio branco}}) \times 100\% \qquad (2)$$

Onde Y é o valor triestímulo do espaço de cor CIElab, $Y_{\text{apoio preto}}$ é a medição do parâmetro Y da amostra sobre um apoio preto e $Y_{\text{apoio branco}}$ é a medição do parâmetro Y da amostra sobre um apoio branco. O instrumento foi calibrado contra o padrão branco de referência do próprio equipamento.Para o cálculo da diferença de cor AE* foi utilizado como padrão um filme de polietileno (L_0*= 89,63); (a_o*= 0,26) e (b_o*= -2,53). Para o ensaio de opacidade, as medições foram realizadas sobre fundo preto

e fundo branco. Todos os experimentos foram realizados em triplicata e os resultados foram apresentados como a média dos valores.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 1 estão apresentadas as micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura da celulose microfibrilada. As imagens apresentam as nanoestruturas de celulose como uma rede de fibras interconectadas. As nanoestruturas de celulose provenientes do processo de microfibrilação observadas apresentaram uma espessura média de 15 nm.

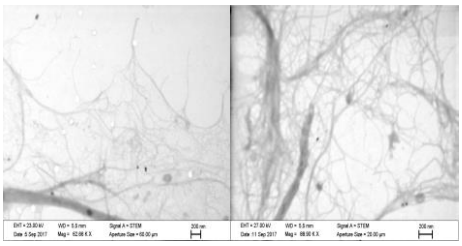


Figura 1. Micrografias eletrônicas mostrando a celulose microfibrilada em diferentes magnificações.

A Tabela 1 mostra os dados de espessura, atividade de água em condições de secagem e de armazenamento, diferença de cor e opacidade para filmes de amido e celulose. A espessura é um parâmetro que influencia as propriedades dos filmes e quando controlada permite a padronização do material. Os filmes de amido e celulose microfibrilada sob diferentes concentrações apresentaram variação de espessura entre 0,063 e 0,122. Genadius et al. (1993) em seu estudo sobre filmes elaborados com glúten e plastificantes foram apresentados valores entre 0,06 a 0,10, apresentando menor faixa de variação.

Tabela 1. Valores médios (±desvio padrão) de espessura, atividade de água em condições de secagem (30 ºC) e condicionado (23 ºC e UR: 50%), diferença de cor e opacidade das diferentes formulações estudadas

Amostra	Espessura (mm)	Atividade de água (a_w) após secagem	Atividade de água (a_w) 23°C UR: 50%	Diferença de cor (ΔE*)	Opacidade (%)
Controle	0,108 ± 0,023	0,295 ± 0,001	0,784 ± 0,001	0,553 ± 0,025	15,203 ± 0,456
Celu 10%	0,107 ± 0,014	0,303 ± 0,002	0,781 ± 0,001	5,735 ± 0,426	18,641 ± 0,107
Celu 20%	0,122 ± 0,026	0,319 ± 0,002	0,779 ± 0,001	11,386 ± 1,446	20,246 ± 1,116
Celu 30%	0,113 ± 0,024	0,325 ± 0,001	0,787 ± 0,001	10,969 ± 0,995	21,622 ± 0,683
Celu 40%	0,107 ± 0,023	0,423 ± 0,001	0,777 ± 0,002	14,716 ± 1,350	26,112 ± 2,111
Celu 50%	0,089 ± 0,021	0,343 ± 0,000	0,771 ± 0,002	15,799 ± 1,035	27,799 ± 1,323
Celu 60%	0,082 ± 0,019	0,347 ± 0,001	0,772 ± 0,001	14,368±0,454	39,489 ± 4,826
Celu 70%	0,063 ± 0,011	0,362 ± 0,001	0,757 ± 0,002	24,065±1,153	49,195 ± 1,014
Celu 80%	0,069 ± 0,018	0,371 ± 0,001	0,730 ± 0,001	10,565±0,240	40,936 ± 1,475
Celu 90%	0,073 ± 0,024	0,365 ± 0,004	0,697 ± 0,002	15,767±0,994	42,869 ± 1,432
Celu 100%	0,072 ± 0,017	0,345 ± 0,002	0,726 ± 0,004	15,753±1,205	76,685 ± 3,676

A atividade de água tem importância na conservação do filme, pois demonstra a suscetibilidade do material à deterioração. A a_w é considerada como um parâmetro ligado à umidade, o que permite determinar e controlar sua capacidade de conservação, de propagação microbiana e de ocorrência de reações químicas. A redução da quantidade de água livre em embalagens tem como consequência a minimização da disponibilidade de água para o crescimento de microrganismos, evitando assim alterações químicas indesejáveis para o armazenamento dos produtos. Ressalta-se, ainda, que produtos que possuem valores de a_w inferiores a 0,600 são relativamente protegidos contra a contaminação microbiana, enquanto que a proliferação de microrganismos específicos pode ocorrer com valores de a_w superiores a 0,600 (MATHLOUTHI, 2001). De forma generalista, ao diminuir a a_w

tem-se um aumento da vida útil do alimento. Quanto as análises de atividade de água em condições de secagem prévia (30 ºC) e em condições de armazenamento de 23 °C e umidade relativa de 50%, pode-se afirmar que houve diferenças expressivas nesse parâmetro nas duas condições de análise e isso pode ser explicado pela higroscopicidade do material elaborado. Machado et al. (2014), ao avaliar a atividade de água de filmes de amido e glicerol com incorporação de fibra de coco verde encontrou o valor de 0,727, dado semelhante ao verificado nesse estudo para a filmes acondicionados em temperatura e umidade relativa controlada.

Quanto a diferença de cor dos filmes, pode-se afirmar que a inserção de celulose microfibrilada contribuiu para um incremento na variação de cor a medida que foi aumentada a concentração desse aditivo. Pelissari et al. (2013) ao desenvolverem filmes de farinha de banana, encontroram dados de opacidade de 48,100, valor semelhante ao encontrado nesse estudo para a formulação contendo 70% de celulose microfibrilada. Para o parâmetro de opacidade verificou-se que, quanto maior a concentração de celulose na matriz polimérica, mais opaco o material elaborado.

4 CONCLUSÃO

Os resultados encontrados no estudo confirmam que a celulose, após cisalhamento mecânico, dá origem a nanoestruturas com espessura de aproximadamente 15 nm. As formulações obtidas a partir das nanoestruturas dos cachos de dendê, amido e glicerol se apresentam como materiais promissores. Foi verificado que a inserção de celulose microfibrilada em diferentes concentrações contribuiu para alterar as propriedades ópticas de diferença de cor e opacidade.

AGRADECIMENTOS

Esta é uma contribuição para o projeto DendePalm – Estratégias Genômicas e de Agregação de Valor à Cadeia Produtiva do Dendê – FINEP.

REFERÊNCIAS

FAHMA, F. et al. Isolation, preparation, and characterization of nanofibers from oil palm empty-fruit-bunch (OPEFB). Cellulose, v. 17, p. 977–985, 2010.

GENNADIOS, A.; WELLER, C. L.; TESTIN, R. F. Property modification of edible wheat, gluten-based films. Transactions of the ASAE, v. 36, n. 2, p. 465-470, 1993.

HUNTERLAB, Application note: CIE L* a* b* color scale. v.8, p. 1– 4, 1996.

HUNTERLAB, Insight on Color. Applications Note, v. 09, nº. 3, 2008.

JACOB, M.; THOMAS, S.; VARGHESE, K. T. Mechanical properties of sisal/oil palm hybrid fiber reinforced natural rubber composites. Compos. Sci. Technol., v. 64, p. 955–965, 2004.

MACHADO, B. A. S. et al. Obtenção de nanocelulose da fibra de coco verde e incorporação em filmes biodegradáveis de amido plastificados com glicerol. Química Nova, v. 37, p. 1275-1282, 2014.

MATHLOUTHI, M. Water content water activity water structure on the stability of foodstuffs. Food Control, v. 12, p. 409-417, 2001.

NISPEROS-CARRIEDO, M. O. Edible coating and film based on polysaccharides. In: KROCHTA, J. M.; BALDWIN, E. A.; NISPEROS-CARRIEDO, M. O. (Eds.). Edible coatings and films to improve food quality. Technomic Pub. Co., Lancaster, 1994. 392 p.

PELISSARI, M. M. et al. Optimization of process conditions for the production of films based on the flour from plantain bananas (*Musa paradisiaca*), LWT - Food Science and Technology, v. 52, p. 1–11, 2013.

SUN, J. M. et al. Fractional isolation and characterization of polysaccharides from oil palm trunk and empty fruit bunch fibres. Holzforschung, v. 53, p. 253–260, 1999.

AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE BRANQUEAMENTO DE FIBRAS DE MACAÚBA PARA OBTENÇÃO DE NANOCRISTAIS DE CELULOSE E NANOCOMPÓSITOS POLIMÉRICOS

Anderson F. Manoel[1], Pedro I.C. Claro[2], Fábio Galvani[3], Luiz H.C. Mattoso[4], José M. Marconcini[4] e Gerson L. Mantovani[1]

[1]Universidade Federal do ABC – UFABC, Santo André, SP.
[2]Universidade Federal de São Carlos – UFSCar, São Carlos, SP.
[3]Embrapa Pantanal – Corumbá, MS.
[4]Embrapa Instrumentação – São Carlos, SP.
(e-mail: andersonfelixmanoel@gmail.com)

Classificação: Desenvolvimentos de nanocompósitos a partir de fontes renováveis.

Resumo
A macaúba foi escolhida para a extração de nanocristais de celulose para o desenvolvimento de nanocompósitos poliméricos devido ao interesse sócio-econômico desta espécie. Neste trabalho foi avaliada a eficiência do processo de branqueamento para o isolamento da celulose e assim permitir a extração de nanocristais das fibras de macaúba. As fibras foram submetidas à mercerização com NaOH e posteriormente a dois processos de branqueamento com peróxido alcalino. O potencial uso das fibras de macaúba para obtenção de nanocristais de celulose foi confirmado pela remoção dos constituintes não celulósicos, demonstrado pelos resultados obtidos com as técnicas de MEV e FTIR, e pelo aumento do índice de cristalinidade das fibras *in natura* de 53% para 73% das fibras submetidas aos processos de branqueamento, estudadas por difração de raios-X.
Palavras-chave: Macaúba; Nanocristais de celulose; Branqueamento; Nanocompósitos poliméricos.

EVALUATION OF BLEACHING PROCESS OF MACÁUBA FIBERS FOR THE USE OF CELLULOSE NANOCRYSTALS IN POLYMERIC NANOCOMPOSITES.

Abstract
Macaúba was the species chosen for the extraction of cellulose nanocrystals for the development of polymer nanocomposites due to the socio economic interest of this specie. In this work the efficiency of the bleaching process for the cellulose insulation was evaluated and thus to allow the extraction of nanocrystals of the macaúba fibers. The fibers were subjected to mercerization with NaOH and then to two bleaching processes with alkaline peroxide. The potential use of macaúba fibers to obtain cellulose nanocrystals was confirmed by the removal of the non-cellulosic constituents, demonstrated by the SEM and FTIR techniques, and by the increase of the crystallinity index of the raw fibers from 53% to 73% of the fibers submitted to bleaching processes, studied by X-ray diffraction.
Keywords: Macaúba; Cellulose nanocrystals, Bleaching; Polymer nanocomposites.

Publicações relacionadas: http://dx.doi.org/10.1590/1980-5373-mr-2016-0881

1 INTRODUÇÃO

Fibras lignocelulósicas naturais, como sisal, juta, bagaço de cana, curauá, dentre outras, têm sido bastante promissoras no uso como carga de reforço em compósitos e nanocompósitos poliméricos. As fibras lignocelulósicas exibem menor densidade e flexibilidade que fibras sintéticas (SENA NETO *et al*., 2013). As vantagens da utilização das fibras naturais em detrimento às fibras sintéticas vão além da melhoria nas propriedades físicas e sua utilização gera um maior número de empregos em áreas rurais e de baixo desenvolvimento humano (SILVA *et al*., 2009).

O processo de fracionamento das fibras lignocelulósicas é necessário para possibilitar a utilização dos componentes estruturais isolados das fibras vegetais em aplicações específicas. A obtenção da celulose, utilizada para extração dos nanocristais envolve uma série de processos que têm

como principal objetivo o isolamento das fibras de celulose, atuando no desmembramento do complexo lignina-celulose-poliose por técnicas de pré-tratamentos e deslignificação sem a destruição das fibrilas celulósicas (SILVA *et al*., 2009).

Nanocristais de celulose podem ser obtidos a partir da hidrólise ácida utilizando soluções concentradas de ácidos inorgânicos e tratamentos químicos prévios como a mercerização e/ou branqueamento, os quais promovem a remoção dos demais constituintes das fibras lignocelulósicas proporcionando o isolamento das fibras de celulose (SILVA *et al*., 2009).

A fibra utilizada neste trabalho foi a obtida da macaúba (*Acrocomia aculeata*). Comunidades rurais de Corumbá, MS, tem se beneficiado do aproveitamento da macaúba de forma extrativista para a produção de farinha obtida da polpa e como forragem, não sendo dado nenhum destino econômico e comercial aos demais produtos e coprodutos que podem ser gerados no beneficiamento da planta, como por exemplo, as fibras presentes na região do ráquis da planta. A região do ráquis foi escolhida para obtenção das fibras, uma vez que é uma parte não aproveitada do vegetal quando seus frutos são colhidos, proporcionando melhor aproveitamento da biomassa que é descartada durante esse processo.

Nesse sentido, este trabalho visa a avaliação do processo de branqueamento de fibras de macaúba para posterior obtenção de nanocristais de celulose, a serem empregadas no desenvolvimento de nanocompósitos poliméricos a partir blendas de amido termoplástico e poli(ε-caprolactona), visando aplicações agrícolas de materiais biodegradáveis os quais sejam possíveis o processamento por extrusão e injeção.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Materiais

Fibras de ráquis de macaúba (*Acrocomia aculeata*) foram tratadas para remoção dos componentes não celulósicos das fibras. As fibras foram coletadas na Fazenda Nhumirim, Embrapa Pantanal – MS. Estas foram moídas em moinho de facas e peneiradas em uma peneira com granulometria de 2 mm para serem realizados os tratamentos. Nos pré-tratamentos de mercerização e branqueamento foram utilizados NaOH (Synth) e H_2O_2 (Synth).

2.2 Métodos

Feixes de fibras de macaúba foram moídos em moinho de facas Solab com peneira de 30 mesh e foram acondicionados por 72 horas em estufas com circulação de ar, a 50 ºC, antes de qualquer procedimento.

2.2.1 Mercerização e branqueamento das fibras: As fibras de macaúba foram mercerizadas com solução alcalina de NaOH 10% (m/v). Utilizou-se 300 mL de solução para 20,0 g de fibra, sob agitação de 3000 rpm, a 60 ºC por 60 minutos. Após mercerização, foram realizados tratamentos de branqueamento nas fibras utilizando soluções de peróxido alcalino visando a retirada de componentes não celulósicos da fibra. Foi utilizada uma solução de NaOH 10% (m/v) e H_2O_2 10% (v/v) sob as mesmas condições de agitação, temperatura e tempo de reação da etapa de mercerização. No final do processo as amostras foram filtradas em filtro de pano, neutralizadas e secas em estufa de circulação de ar a 60 ºC por 24 horas.

2.2.2 Difração de raios-X: Os difratogramas de raios X das fibras *in natura* e pré-tratadas foram obtidos em um difratômetro de raios X (Shimadzu, XRD-6000), operando com 30 kV/30 mA. Os ensaios foram conduzidos à temperatura ambiente e com ângulos 2θ entre 10 e 30º com taxa de 1º/min. O índice de cristalinidade (*Ic*) foi calculado pela equação sugerida por Segal (SEGAL *et al.*, 1959). Para o cálculo do *Ic*, utilizou-se a seguinte equação:

$$\mathrm{Ic}\ (\%) = \left(1 - \frac{\mathrm{Iam}}{\mathrm{I002}}\right) 100 \qquad (1)$$

onde: *Iam* é a intensidade da altura do pico da porção amorfa e I_{002} é a intensidade da altura do pico da porção cristalina da celulose correspondente ao plano *002*.

2.2.3 Microscopia eletrônica de varredura: As micrografias de MEV da superfície externa das fibras *in natura* e pré-tratadas foram obtidas em um microscópio eletrônico de varredura JEOL (JSM-6510 series), operando a 5 kV com as amostras recobertas com ouro.

2.2.4 Espectroscopia de infravermelho: Foram realizadas análises de FT-IR das fibras *in natura* e pré-tratadas em um espectrômetro Perkin Elmer Spectrum 1000. Os espectros foram obtidos com 64 varreduras na região de 400 a 4000 cm^{-1} e resolução de 2 cm^{-1}.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Difração de raios-X

A partir dos difratogramas de raios-X foram obtidos os índices de cristalinidade (*Ic*) das fibras *in natura* e tratadas de macaúba (Tabela 1).

Tabela 1. Valores de índice de cristalinidade das fibras in natura e tratadas da macaúba.

Amostra	Índice de Cristalinidade (%)
macaúba *in natura*	53
macaúba mercerizada	62
macaúba branqueada 1x	71
macaúba branqueada 2x	73

Observa-se o aumento do índice de cristalinidade com os processos de mercerização e branqueamento devido à remoção dos constituintes amorfos, tais como, hemiceluloses e lignina. Foi observado também, que houve início de polimorfismo no primeiro branqueamento e intensificou-se no segundo, de celulose tipo I para celulose do tipo II. O primeiro e o segundo processo de branqueamento modificaram a estrutura cristalina da celulose, sendo que, a celulose do tipo II apresenta maior estabilidade térmica que a celulose do tipo I (PU *et al*, 2007).

3.2 Microscopia eletrônica de varredura

As micrografias apresentadas na Figura 1 mostram as morfologias das fibras de macaúba *in natura*, mercerizadas, e branqueadas uma e duas vezes. Nas fibras *in natura* observam-se fibras unidas formando feixes e a presença de ácidos graxos e impurezas na superfície da fibra. Nas fibras mercerizadas verifica-se que as fibras estão mais expostas e que o tratamento eliminou ácidos graxos e impurezas da superfície das fibras. Já nas micrografias das fibras branqueadas é possível observar uma desconstrução dos feixes em que as fibras são separadas uma das outras. Sabe-se que essas fibras são unidas por lignina e portanto, o processo da desconstrução dos feixes indica a remoção da lignina. Nas fibras branqueadas 2x nota-se um maior grau de desmanche desses feixes, indicando que o segundo branqueamento foi necessário.

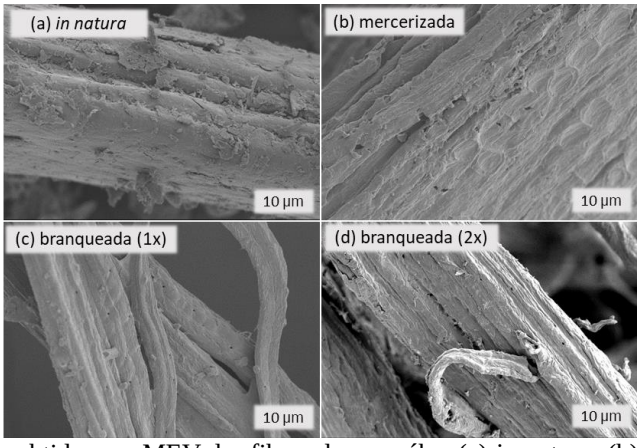


Figura 1. Micrografias obtidas por MEV das fibras de macaúba: (a) *in natura*; (b) mercerizada; (c) branqueadas (1x); (d) branqueadas (2x).

3.3 Espectroscopia de infravermelho

Na Figura 2 são apresentados os espectros de FTIR das fibras de macaúba *in natura*, mercerizada e branqueadas uma e duas vezes. Somente o espectro da fibra *in natura* apresentou a banda em 1739 cm^{-1}, referente a deformação axial de C=O correspondente às ligações éster do grupo

carboxílico da lignina e também dos grupos éster urônico e acetil das hemiceluloses (BUFALINO *et al*, 2015).

Na banda em 1600 cm^{-1} observa-se uma diminuição até o branqueamento (2x) indicando a remoção da lignina em cada um dos processos. Essa banda corresponde, as vibrações axiais do plano das ligações C=C do anel aromático correspondente à lignina. Porém, a banda ainda permanece no segundo branqueamento, indicando lignina residual. Essa lignina acaba sendo removida no processo de hidrólise ácida com ácido sulfúrico. A banda em torno de 1505 cm^{-1} também corresponde ao anel aromático da lignina referente à deformação axial da ligação C=C (ROSA *et al*, 2010).

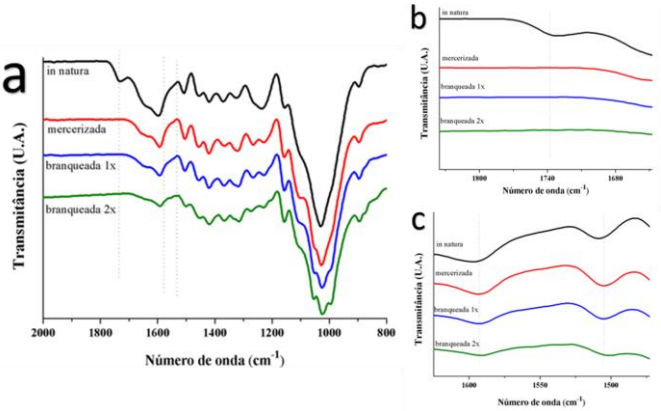


Figura 2. Espectros obtidos por FTIR das fibras de macaúba.

4 CONCLUSÃO

As caracterizações por MEV, DRX e FTIR mostraram a efetividade nos pré-tratamentos de mercerização e branqueamento para a remoção dos extrativos, lignina e hemiceluloses das fibras de macaúba. O índice de cristalinidade da celulose acima de 50% para as fibras *in natura* chegando a 73% para as fibras que foram submetidas duas vezes ao processo de branqueamento mostra o potencial dessa fibra para a obtenção de nanocristais de celulose.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o suporte fornecido pela CAPES, CNPq, FAPESP e aos programas de pós-graduação PPG-NMA/UFABC, PPG-CEM/UFSCar; à Embrapa Pantanal, Embrapa Instrumentação e Rede AgroNano. Este trabalho está dentro do escopo do acordo científico-tecnológico celebrado entre a Universidade Federal da ABC - UFABC e a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), processo número 23006.001234/2014-23.

REFERÊNCIAS

BUFALINO, L. et al. How the chemical nature of Brazilian hardwoods affects nanofibrillation of cellulose fibers and film optical quality. Cellulose, v. 22, n. 6, p. 3657–3672, 2015.

PU, Y. et al. Investigation into nanocellulosics versus acacia reinforced acrylic films. Composites Part B: Engineering, v. 38, n. 3, p. 360–366, 2007.

ROSA, M. F. et al. Cellulose nanowhiskers from coconut husk fibers: Effect of preparation conditions on their thermal and morphological behavior. Carbohydrate Polymers, v. 81, n. 1, p. 83–92, 2010.

SEGAL, L. et al. An Empirical Method for Estimating the Degree of Crystallinity of Native Cellulose Using the X-Ray Diffractometer. Textile Research Journal, v. 29, n. 10, p. 786–794, 1959.

SENA NETO, A. R. et al. 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, n. 1, p. 529–537, 2013.

SENA NETO, A. R. Estudo de Fibras de folhas de abacaxis (Gênero Ananas) e sua utilização em compósitos biodegradáveis com matriz de poli(ácido lático) (PLA) 146p. (Doutorado em Ciência e Engenharia de Materiais). Universidade Federal de São Carlos, 2014.

SILVA, R. et al. Aplicações de fibras lignocelulósicas na química de polímeros e em compósitos. Quimica Nova, v. 32, n. 3, p. 661–671, 2009.

ESTUDO DA FOTODEGRADAÇÃO DE BIONANOCOMPÓSITOS PECTINA/PALYGORSKITA OBTIDOS POR CASTING CONTÍNUO

Laís B. Norcino[1,*], Marcela P. Bernardo[2], Luis C. Bertolino[3], Luiz H. C. Mattoso[4], Juliano E. De Oliveira[1], Francys K. V. Moreira[5]

1 – PPGBIOMAT, Universidade Federal de Lavras, Lavras (MG), Brasil, 2 –PPGQ,Universidade Federal de São Carlos, São Carlos (SP), Brasil, 3 – CETEM, Rio de Janeiro (RJ), Brasil, 4 – LNNA, Embrapa Instrumentação, São Carlos (SP), Brasil, 5 – DEMa, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos (SP), Brasil.
**la_system@hotmail.com*

Classificação: Desenvolvimentos de nanocompósitos a partir de fontes renováveis

Resumo
Neste estudo, a fotodegradação de bionanocompósitos pectina/palygorskita foi estudada. Filmes de pectina contendo palygorskita nas concentrações de 1 e 5 % foram preparados por *casting* contínuo e expostos à radiação UV em ambiente controlado. Os filmes foram caracterizados quanto à transparência ótica e quimicamente por espectroscopia FTIR. Os filmes apresentaram-se macroscopicamente homogêneos e aspecto translúcido. Ocorreu uma diminuição gradual na transmitância com o aumento da concentração da palygorskita na matriz de pectina. O aumento observado nas intensidades da banda C=O nos espectros FT-IR indicaram fotooxidação da pectina, porém as intensidades foram maiores no filme puro em relação aos bionanocompósitos, após o mesmo tempo de exposição, demonstrando que a palygorskita teve um efeito estabilizador sobre a fotooxidação da pectina. Portanto, a adição da palygorskita aumentou a estabilidade química da pectina frente à radiação UV.
Palavras-chave: Fotodegradação; Bionanocompósitos; *Casting* contínuo.

PHOTODEGRADATION STUDY OF PECTIN/PALYGORSKITE BIONANOCOMPOSITES OBTAINED BY CONTINUOUS CASTING

Abstract
In this study, the photodegradation of pectin/palygorskite bionanocomposites was examined. Pectin films containing palygorskite at 1 and 5 wt.% were prepared by continuous casting and exposed to UV radiation under controlled conditions. Films were characterized for optical transparency and FTIR spectroscopic chemical properties. Films were macroscopically homogeneous and translucent. There was a gradual decrease in transmittance with increasing palygorskite concentration. Increases in the intensities of the C=O vibration band at 1737 cm^{-1} suggested pectin photo-oxidation, however intensities were higher for pure pectin films rather than bionanocomposites, after the same exposure time, demonstrating that palygorskite played a stabilizing role on pectin photo-oxidation. Therefore, addition of palygorskite increased chemical stability of pectin against UV radiation.
Keywords: Photodegradation; Bionanocomposites; Continuous casting.

1 INTRODUÇÃO

Os bionanocompósitos representam uma classe de sistemas nanoestruturados que tem atraído grande atenção, principalmente devido aos aumentos significativos de suas propriedades físicas em relação aos componentes puros. São constituídos por um polímero natural, como a pectina, que atua como matriz e partículas inorgânicas (ou orgânicas) com pelo menos uma dimensão na escala nanométrica que atuam como reforço para a matriz (ORTEGA-TORO et al., 2014).A palygorskita, também conhecida como atapulgita, surgiu nos últimos anos como um agente de reforço no desenvolvimento de bionanocompósitos (RUIZ-HITZKY et al., 2013). É um argilomineral com morfologia microfibrosa e alta razão de aspecto, cuja fórmula teórica é $[(OH_2)_4(Mg,Al,Fe)_5(OH)_2Si_8O_{20}].4H_2O$ (LUZ; ALMEIDA, 2008).

O estudo da fotodegradação é essencial para avaliar a estabilidade dos bionanocompósitos, bem como para avaliar as propriedades do polímero natural sob exposição à radiação UV na presença do agente de reforço. Para avaliar a estabilidade, ou mesmo o desempenho do polímero natural, é necessário submetê-lo a ensaios que simulem as condições ambientais reais às quais ele estaria exposto (GRIGORIADOU et al, 2011). Sendo assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da inclusão de palygorskita microfibrosa na fotodegradação de filmes biodegradáveis de pectina. Os bionanocompósitos foram preparados via *casting* contínuo, uma técnica emergente de processamento de filmes biodegradáveis, e as discussões foram baseadas nas propriedades óticas e espectroscópicas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

A pectina de baixa metoxilação (LM-PEC) contendo 84% de poli(ácido galacturônico), grau de metoxilação (MD) de 8,4% e massa molecular média (Mw) de $0{,}17 \times 10^6$ g mol^{-1} foi adquirida da CP Kelco (Limeira, SP, Brasil). A palygorskita (PLK) foi fornecida pelo Centro de Tecnologia Mineral (CETEM, Rio de Janeiro, Brasil). Todos os experimentos foram realizados utilizando exclusivamente água ultra-pura (ρ = 18,2 MΩ cm) obtida por um sistema Milli-QBarnstead Nanopure Diamond^{TM} (Thermo Fisher Scientific Inc., Dubuque, IA, EUA).

2.2 Preparação dos bionanocompósitos de LM-PEC/PLK

Foram produzidas soluções controle de LM-PEC 6 % (m/m). Para a solução dos bionanocompósitos LM-PEC/PLK, adicionou-se PLK nas concentrações de 1 e 5 % em relação à massa de LM-PEC, na solução controle, sendo que a argila foi submetida a um tratamento ultrassônico (amplitude de 50% por 5 min) antes da adição de LM-PEC. A homogeneização das soluções foi realizada em um misturador a vácuo sob intensa agitação mecânica por 1 h. Os filmes bionanocompósitos foram obtidos por *casting* contínuo em um equipamento KTF-B (Mathis, Suíça) com uma velocidade de bobinamento de 25 $cm.min^{-1}$ e espessura de lâmina úmida de 1.5 mm.

2.3 Ensaio de Fotodegradação

A exposição dos filmes (LM-PEC, LM-PEC/PLK1% e LM-PEC/PLK5%) à radiação UV foi realizada em um sistema fechado com ventilação e exaustão adequadas e com fonte de luz UV (400W). Essa caixa de fotodegradação foi montada a partir de uma caixa de madeira revestida internamente com alumínio em presença de duas lâmpadas UVA (comprimento de onda 320 a 400 nm) e uma lâmpada fluerescente na parte superior para simular a iluminação emitida pelo sol. Desta maneira as amostras foram fototratadas por 7, 14, 21 e 28 dias de exposição.

O comportamento ótico dos filmes antes da fotodegradação foi determinado em um espectrofotômetro UV-Vis Agilent Cary Varian 50 (Agilent Inc., EUA). Amostras dos bionanocompósitos (1,5 cm x 4cm) e fixadas diretamente no orifício de passagem do feixe de luz, para se obter a transmitância na região espectral do visível (λ = 400 - 700 nm). Tais experimentos foram realizados em duplicata.

As medidas de espectroscopia vibracional FTIR antes e após a fotodegradação foram realizadas em um espectrofotômetro Nicolet 6700 (Thermo Electron Corporation) operando em modo de reflectância total atenuada (ATR). Os espectros ATR-FTIR foram registrados com variação do número de onda de 4000 até 600 cm^{-1}, com resolução de 2,0 cm^{-1} e 64 acumulações por medida.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O filme de LM-PEC puro apresentou-se macroscopicamente homogêneo e com aspecto translúcido, estas características foram mantidas para os bionanocompósitos LM-PEC/PLK1% e LM-PEC/PLK5%, Figura 1a. A transparência dos filmes foi inferida a partir da determinação da transmitância na região do visível (λ = 400 - 700 nm), Figura1b.

Há uma diminuição gradual na transmitância com o aumento da concentração de PLK na matriz polimérica.

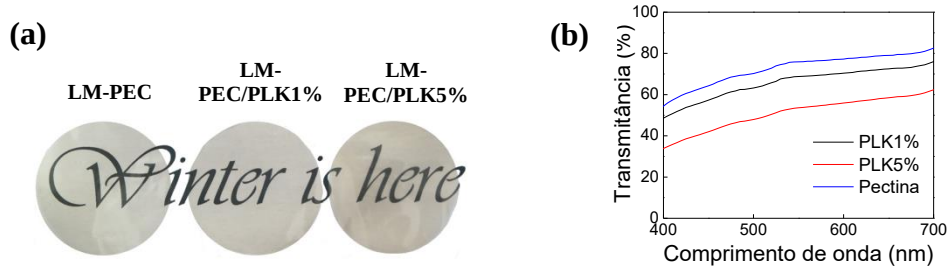


Figura 1. (a) Bionanocompósitos PEC, PLK 1% e PLK 5% e (b) Variação do espectro da transmitância ótica em função do comprimento de onda para os bionanocompósitos.

Por exemplo, a 600 nm, o bionanocompósito LM-PEC/PLK1% apresentou uma transmitância de 70,3% enquanto o LM-PEC/PLK5% apresentou 55,9%. Estes resultados sugerem que a palygoskita ocasiona uma diminuição na transparência dos bionanocompósitos.

As mudanças químicas do filme LM-PEC e dos bionanocompósitos expostos à radiação UV foram acompanhadas por espectroscopia FTIR, Figura 2. A região espectral que mostrou alterações mais significativas correspondeu as bandas de estiramento simétrico C=O (1700 a 1800 cm^{-1}) referente aos grupos carboxílicos da LM-PEC, ocorrendo um aumento na intensidade desses picos com o aumento do tempo de fotodegradação, o que sugere oxidação da LM-PEC induzida pela radiação UV (HUNG et al., 2012; LEE; COOPER 2012).

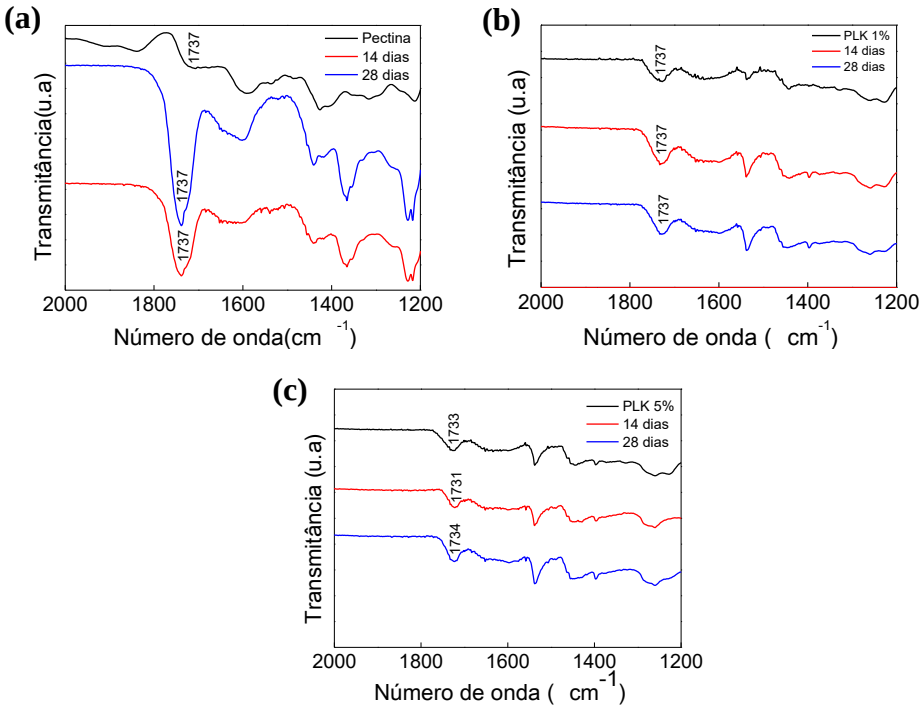


Figura 2. Espectros ATR-FTIR dos filmes de pectina com (a) 0% PLK, (b) 1% PLK e (c) 5% PLK após 0, 14 e 28 dias de fotodegradação.

Nota-se que as intensidades da vibração C=O são maiores no filme puro do que nos bionanocompósitos, após o mesmo tempo de exposição, demonstrando que a palygorskita teve um efeito estabilizador sobre a fotooxidação da pectina. Este efeito pode estar associado ao efeito de barreira dos cristais de PLK contra a permeação do O_2, restringindo a difusão na matriz de LM-PEC e assim, reduzindo sua taxa de fotooxidação (AUDOUIN et al., 1994). Estes resultados estão de acordo com os relatados por Grigoriadou et al. (2011) e Panda et al. (2014). Portanto, a adição de PLK

aumentou a estabilidade fotooxidativa dos filmes de LM-PEC. A caracterização mecânica e morfológica dos bionanocompósitos LM-PEC/PLK está em andamento.

4 CONCLUSÃO

A viabilidade da produção de filmes de pectina biodegradáveis incorporados com palygorskita foi demonstrada neste trabalho. A adição da palygorskita aos filmes de pectina minimizou o efeito da fotodegradação, possibilitando possíveis aplicações desses bionanocompósitos como revestimentos de proteção de superfícies e alimentos contra foto-oxidação.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Embrapa, SISNano/MCTI/CNPq (402287/2013-4), UFLA, DEMa/UFSCar e FAPESP pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

AUDOUIN, L. et al. Role of Oxygen Diffusion in Polymer Ageing: Kinetic and Mechanical Aspects. *Journal of Material Science*, v. 29, p. 569–583, 1994.

GRIGORIADOU, I. et al. Effect of different nanoparticles on HDPE UV stability. Polymer Degradation and Stability, v. 96, n. 1, p. 151-163, 2011.

HUNG, K. C.; CHEN, Y. L.; WU, J. H. Natural weathering properties of acetylated bamboo plastic composites. Journal of Polymer Degradation and Stability, v. 9, p. 1680-1685, 2012.

LEE, M.; COOPER, P. Copper precipitation of Cu-monoethanolamine preservative in wood. International Journal of the Biology, Chemistry, Physics and Technology of Wood, v. 66, n. 8, p. 1017-1024, 2012.

LUZ, A. B.; ALMEIDA, S. L. M. Capítulo 10: Argila-Atapulgita e Sepiolita. Rochas e Minerais Industriais - Usos e Especificações. Editora CETEM/MCT, Rio de Janeiro, 2008. p. 225- 237.

ORTEGA-TORO et al. Properties of starch–hydroxypropyl methylcellulose based films obtained by compression molding.Carbohydrate Polymers, v. 109, p. 155-165, 2014.

PANDA, B. P.; MOHANTY, S.; NAYAK, S.K. Polyolefin Nanocomposites with Enhanced Photostability Weathering Effect on Morphology and Mechanical Properties. Journal of Materials Engineering and Performance, v.23, n. 9, p. 3229–3244, 2014.

RUIZ-HITZKY, E. et al. Part A: Fundamentals. In: Bergaya, F.; Lagaly,G. (Coord.). Handbook of Clay Science. Elsevier, 2013. p. 721-1113.

ESTUDO DO LIMITE DE INCORPORAÇÃO DE FIBRAS DE PODA DE CAJUEIRO (PC) E CASCA DE ARROZ (CA) EM POLIETILENO DE BAIXA DENSIDADE (PEBD) POR MISTURA POR EXTRUSÃO

Jéssica A. Silva[1], Laurenice M. Pereira[2]*, Murilo J.P. Macedo[2], Adriano L.A. Mattos[3], Edson N. Ito[4]*

[1]Graduação em Engenharia de Materiais, UFRN, Natal – RN
[2]Pós-graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, UFRN, Natal – RN
[3]Embrapa Agroindústria Tropical – Fortaleza – CE
[4]Departamento de Engenharia de Materiais, UFRN, Natal – RN
*E-mail de contato: *laurenice_martins@yahoo.com.br, ito@ufrnet.br*

Classificação: Desenvolvimento de nanocompósitos a partir de fontes renováveis

Resumo
No presente trabalho foi realizado um estudo do limite da incorporação de fibras de casca de arroz (CA) e poda de cajueiro (PC) em compósitos com matriz de polietileno de baixa densidade (PEBD). As misturas foram processadas em extrusora de rosca simples, em seguida, corpos de prova foram moldados por injeção. As caracterizações foram realizadas por densidade, absorção de água e ensaios mecânicos sob flexão em três pontos. Os resultados de densidade e concentração de água absorvida nos compósitos poliméricos mostraram um aumento em relação ao polímero matriz de PEBD. Os resultados de módulo de elasticidade e a resistência máxima em flexão aumentaram com o acréscimo da incorporação das fibras vegetais. Por meio destes resultados pode-se concluir que o processamento por extrusão de compósitos poliméricos com alta concentração de fibras de casca de arroz (CA) e de poda de cajueiro (PC) é viável e podem apresentar sinergismo de propriedades no desenvolvimento de compósitos poliméricos em relação ao polímero puro.
Palavras-chave: Compósitos; Polietileno de baixa densidade; Fibras vegetais; Poda de cajueiro; Casca de arroz.

STUDY OF THE LIMITATION OF INCORPORATION OF CASHEW TREE BRANCHES (PC) AND RICE CASK FIBERS (CA) IN LOW DENSITY POLYETHYLENE (LDPE) BY EXTRUSION MIXING

Abstract
A study aiming to evaluate of the limits of the incorporation of both rice husk (CA) and cashew tree branches (PC) fibers for reinforcement in low density polyethylene (LDPE) matrixes was carried out. Polymer composites were processed into a single screw extruder, then specimens were molded by injection molding. The characterizations were performed by density, water absorption and mechanical tests under flexion at three points. The results of density and concentration of water absorbed in the polymer composites showed an increase over the LDPE matrix. Furthermore, modulus of elasticity and maximum flexural strength have also increased linearly with fiber content increasing. By means of these results it can be concluded that the extrusion processing of polymeric composites with high fiber content of rice husk (CA) fibers and cashew tree branches (PC) is feasible and with synergism of properties of the polymeric composites in relation to pure polymer.
Keywords: Composites; Low density Polyethylene; Plant fibers; Cashew tree branches; Rice husk

1 INTRODUÇÃO

Compósitos termoplásticos contendo cargas vegetais naturais têm sido amplamente utilizados devido ao baixo custo, facilidade de obtenção e elevada disponibilidade da matéria-prima, atribuindo ao compósito boas propriedades de desempenho estrutural, além de promover minimização dos impactos ambientais (YANG et al., 2006; MATTOSO, 1996). Nesse contexto, as fibras de casca de arroz se apresentam como um resíduo agroindustrial de grande volume devido à alta produção de arroz.

Durante o processo de beneficiamento do arroz, a casca de arroz pode representar cerca de 23% da massa do arroz *in natura* (DELLA, 2005; GRYCZAK, 2016).

Além das fibras da casca do arroz, outro componente pode ser amplamente estudado, que é o resíduo da produção do caju, que é amplamente produzido na região nordeste do Brasil. O aumento do consumo do caju *in natura* resulta em uma grande quantidade de resíduo gerado e desperdiçado anualmente, devido ao curto período de safra e de pós-colheita, além da inexistência de métodos econômicos de preservação da matéria-prima (DUARTE, 2014).

Neste trabalho foram produzidos compósitos com matriz de polietileno de baixa densidade e fibras de casca de arroz ou poda de cajueiro na avaliação do limite de incorporação dessas fibras vegetais por meio de misturas por extrusão e moldagem por injeção de corpos de prova para ensaios físicos e mecânicos.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Materiais

O polietileno de baixa densidade utilizado foi o S1522 da Braskem. A casca de arroz foi adquirida da agroindústria e os resíduos da poda de cajueiro são provenientes do campo experimental da Embrapa Agroindústria Tropical em Pacajus-CE. O polímero puro e os compósitos com 30 e 50% em massa de casca de arroz, bem como os compósitos com 30 e 40% em massa de poda de cajueiro foram utilizados para a realização das caracterizações.

2.2 Preparação das fibras

A casca de arroz foi moída em um moinho PULVERISETE 16, malha 0,2mm. Os galhos provenientes da poda dos cajueiros foram secos ao sol por 15 dias, removidas as folhas e ramos não lignificados, cortados e moídos sequencialmente em moinho de facas PULVERISETE 25, com peneira malha 4,0 mm, em moinho PULVERISETE 19, malha 0,5 mm, e em moinho PULVERISETE 16, malha 0,2mm.

2.3 Processamentos dos compósitos poliméricos

As misturas dos compósitos poliméricos foram realizadas em uma extrusora de rosca simples, diâmetro de rosca D = 16 mm e relação de comprimento pelo diâmetro (L/D) de 26 (AX Plásticos Máquinas Técnicas Ltda). As formulações foram processadas usando um perfil de temperatura de 170/175/185 °C, da alimentação à matriz e rotação de rosca de 60 rpm. Em seguida os materiais foram moldados por injeção em uma injetora da marca Arburg, modelo Allrouder 270 S. O polímero puro e os compósitos com a casca de arroz e com as podas de cajueiro foram processados utilizando-se o perfil de temperatura de 190/190/200/210/210ºC da alimentação ao bico de injeção, temperatura de resfriamento de molde de 30ºC e tempo de resfriamento de 45 segundos.

2.4 Medidas de densidade

A picnometria foi utilizada para realizar as medidas de densidade, segundo as especificações da norma ASTM D792. As amostras dos polímeros e compósitos foram preparadas a partir dos corpos de provas moldados por injeção, por meio de criofratura em nitrogênio líquido e as fibras vegetais foram usadas *in natura* para a determinação da densidade.

2.5 Absorção de água

O ensaio de absorção de água foi realizado segundo a norma ASTM D1037. A determinação da massa dos corpos de prova foi realizada em balança com resolução de 0,01g. O recipiente foi preenchido com água destilada, mantendo o ambiente com temperatura de 25°C. Foram determinadas variações de peso, espessura e largura após 24, 48, 120, 144 e 168 h de imersão em água.

2.6 Ensaios mecânicos sob flexão em três pontos

Os ensaios de flexão foram realizados em máquina de ensaios universal modelo EMIC DL 3000, foram realizados à velocidade de 1,4 mm/min, com espaçamento entre apoios de 52 mm, utilizando célula de carga de 5 kN, segundo a norma ASTM D790.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 apresenta os resultados de densidade dos compósitos com fibras de cascas de arroz (PEBD/CA (70/30) e PEBD/CA (50/50)), o aumento da concentração das fibras resultou em um aumento na densidade do compósito PEBD/CA. A alta concentração de sílica da casca de arroz elevou a densidade de compósito com aumento da concentração de fibras vegetais. Rosa (2007) justifica em função da casca de arroz apresentar uma concentração mais baixo de lignina, que possui baixa densidade, quando comparada a outras fibras, aumentando a propriedade final da densidade da fibra de casca de arroz. Esse resultado foi observado nesse trabalho ao comparar os valores de densidade das fibras CA com PC.

Nos compósitos PEBD com CA e PC foi verificada pouca influência das fibras nos valores de densidade, justificado pela baixa interação das fibras com a matriz durante o processamento e pelo não preenchimento dos vazios, conforme verificado também por ROSA (2007).

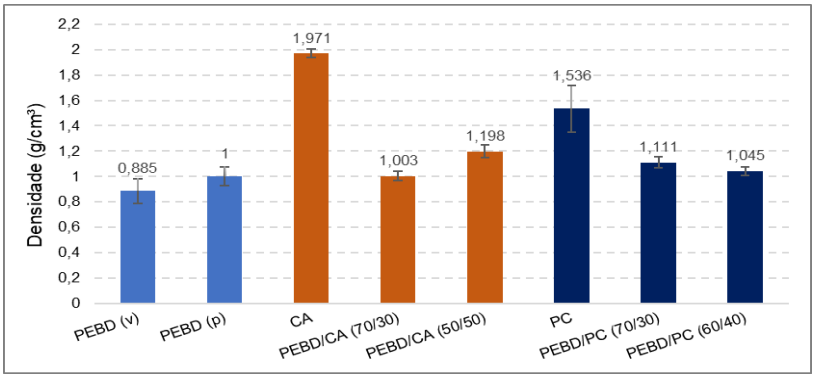


Figura 1. Densidade dos diferentes materiais avaliados. v: virgem, p: processado.

A absorção de água é influenciada pelo aumento da incorporação de fibras ao compósito polimérico e pelo tempo de imersão em água (Figura 2), assim, uma maior incorporação de fibras no compósito polimérico resultou em uma maior quantidade de água absorvida. De forma análoga, o percentual de água incorporada aumentou em função do tempo de imersão do compósito em água, pois uma maior quantidade de cargas gera na matriz um maior número de microvazios, facilitando a absorção. Além disso, observou-se que a maior densidade apresentada nos compósitos com CA influenciou na maior absorção de água pelas amostras, diferentemente do que aponta GRYCZAK (2016) e ROSA (2007), tal comportamento pode ser justificado pela grande quantidade de vazios presentes nestes compósitos.

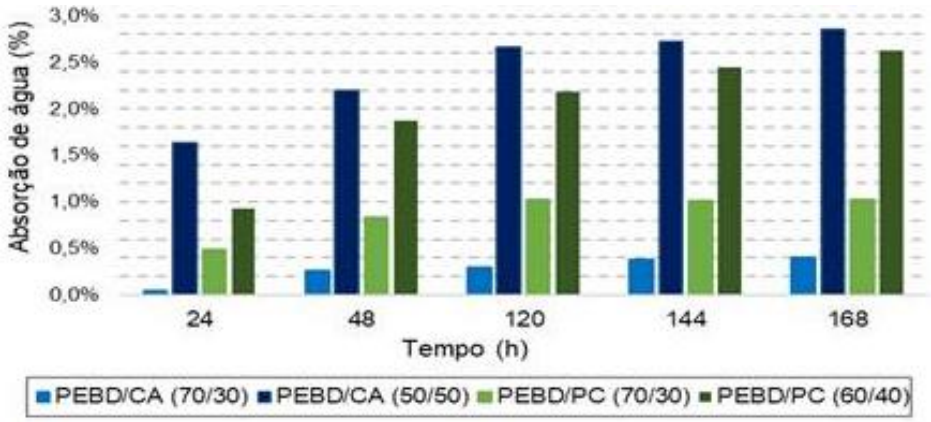


Figura 2. Absorção das formulações estudadas.

A Tabela 1 apresenta resultados dos ensaios mecânicos sob flexão em três pontos do polímero e compósitos poliméricos com a adição das cargas vegetais. O módulo de elasticidade e a resistência máxima a 5% de deformação aumentaram com a concentração de fibras vegetais indicando uma maior rigidez, o que é devido ao fato das fibras (CA e PC) terem atuado reforçando a matriz de PEBD.

Tabela 1. Propriedades obtidas nos ensaios mecânicos sob flexão

Formulação	Composição (% em massa)	Módulo de elasticidade em flexão (MPa)	Resistência em flexão* (MPa)
PEBD (v)	100	123,62 ± 1,20	0,26 ± 0,00
PEBD (p)	100	123,33 ± 2,69	0,26 ± 0,00
PEBD/CA	70/30	183,08 ± 6,55	0,36 ± 0,01
PEBD/CA	50/50	193,31 ± 5,66	0,38 ± 0,02
PEBD/PC	70/30	219,25 ± 15,63	0,39 ± 0,04
PEBD/PC	60/40	271,45 ± 17,76	0,50 ± 0,04

*5% de deformação. v: virgem, p: processado.

4 CONCLUSÃO

Por meio desses resultados pode-se concluir que o processamento por extrusão de compósitos poliméricos com alta concentração de fibras de casca de arroz (CA) e de poda de cajueiro (PC) é viável e apresentam sinergismo de propriedades desses compósitos poliméricos em relação ao polímero puro.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Laboratório de Ensaios Mecânicos da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, à EMBRAPA e às agências de fomento CNPq e CAPES pelo suporte.

REFERÊNCIAS

DELLA, V. P.; KÜHN, I.; HOTZA, D. Reciclagem de Resíduos Agro-Industriais: Cinza de Casca de Arroz como Fonte Alternativa de Sílica. **Cerâmica Industrial**, v. 10, n. 2, p. 22-25, 2005.

DUARTE, E. B. Produção de nanocompósitos de celulose bacteriana e hidroxiapatita como rota para valorização de resíduos agroindustriais, Tese de Doutorado, Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Materiais, Universidade Federal do Ceará, 2014.

GRYCZAK, M. Compósito sustentável casca de arroz/resina de óleo de mamona de baixa densidade, Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, Universidade do Extremo Sul Catarinense, 2016.

MATTOSO, L. H.C, et al. Utilização de Fibras Vegetais para Reforço de Plásticos. **Embrapa Instrumentação-Séries anteriores (INFOTECA-E)**, n. 3, p.1-4,1996.

ROSA, S. M. L. Estudo das propriedades de compósitos de polipropileno com casca de arroz, Dissertação de Mestrado, Escola de Engenharia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2007.

YANG, H-S, et al. Water absorption behavior and mechanical properties of lignocellulosic filler–polyolefin bio-composites. **Composite Structures**, v. 72, n. 4, p. 429-437, 2006.

ANÁLISE POR AFM DA AÇÃO DO EXTRATOS DE PRÓPOLIS VERDE SOBRE AS MORFOLOGIAS DE BACTÉRIAS S*taphylococcos aureus e Escherichia coli*

Jessica Valéria de Campos[1,2], Odílio Benedito Garrido Assis[2], Rubens Bernardes Filho[2]

[1]PPG Biotecnologia – UFSCar, São Carlos, SP. jessicavcampos@yahoo.com.br
[2]Embrapa Instrumentação, Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, São Carlos, SP. odilio.assis@embrapa.br; rubens.bernardes@embrapa.br

Classificação: Desenvolvimentos de nanocompósitos a partir de fontes renováveis

Resumo
Pesquisas sobre novas alternativas de agentes ativos naturais possibilitam a substituição, ainda que de forma parcial, de drogas antimicrobianas sintéticas. Neste contexto, o interesse na caracterização das atividades biológicas da própolis tem ganhado importância. A ação antimicrobiana da própolis está comprovada em diversos estudos, entretanto, ainda são escassas informações sobre os mecanismos de sua ação antimicrobiana. Análises por microscópio de força atômica (AFM) permitem avaliar alterações das estruturas superficiais de bactérias tratadas com o extrato de própolis, sendo este o principal objetivo do presente trabalho. Para as análises foi selecionado o extrato etanólico (EEP) por apresentar uma maior capacidade de ação. Os componentes presentes neste extrato interagem com a *S. aureus* (Gram-positiva), gerando um aumento do volume celular, e provável ocorrência de bacteriólise. Quando em contato com a E. *coli* (Gram-negativa) foi necessário uma maior concentração de EEP para a detecção de claras alterações celulares, sendo identificado a presença de irregularidades na parede celular. De uma forma geral, a própolis indicou que a ação sobre a parede celular das bactérias é o principal mecanismo que leva a inibição de crescimento.
Palavras-chave: própolis; atividade antibacteriana; parede celular; AFM.

AFM ANALYSIS OF THE ACTION OF GREEN PROPOLIS EXTRACT ON THE MORPHOLOGY OF *Staphylococcus aureus* AND *Escherichia coli* BACTERIA.

Abstract
Research on new alternatives for natural agents allows the substitution, even partially, of the synthetic antimicrobial drugs. In this context, the interest in the characterization of the biological activities of propolis has gained importance. The antimicrobial action of this resin has been proven in several studies however, the analysis of the mechanism of its antimicrobial action is still scarce. Analyzes by atomic force microscopy (AFM) allows evaluating modifications on the surface structures of bacteria treated with propolis extract, which is the main aim of this work. The ethanolic extract (EEP) was selected for analyses because of its greater antibacterial capacity. The components present in this extract caused interactions with *S. aureus* (Gram-positive), leading to an increase in cell volume, and a probable occurrence of bacteriolysis. When in contact with *E. coli* (Gram-negative), a higher concentration of EEP was required to generate a clear cellular alterations observable on the cell walls. In general, propolis has been shown to have action under the cell wall of bacteria, leading to their inhibition of growth.
Keywords: propolis; antibacterial activity; cellular wall; AFM.

Publicações relacionadas:
De CAMPOS, J.V. Avaliação da atividade antimicrobiana e análise morfológica por microscopia de força atômica (AFM) da ação de extratos de própolis verde sobre bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de São Carlos, UFSCar, São Carlos, 2016.

1 INTRODUÇÃO

A resistência de micro-organismos patogênicos a agentes antibacterianos tem se tornado um problema de escala global, decorrente do uso indiscriminado de antimicrobianos sintéticos, seja no setor agropecuário e, principalmente, no de saúde humana, o que tem gerado a ocorrência de patogênicos de alta resistividade. Assim, o emprego de antimicrobianos naturais, como a própolis, que é capaz de inibir o desenvolvimento desses micro-organismos é altamente desejável. A própolis pode ser definida como uma substância resinosa natural, coletada pelas abelhas em diversas partes das plantas (GHISALBERTI, 1978).

Diversos estudos mencionam que extratos etanólicos de própolis (EEP) apresentam alta capacidade de inibição do crescimento de bactérias do tipo Gram-positivas e inferior atividade sobre as Gram-negativas. Sforcin e colaboradores (2000), registraram a forte ação do EEP a baixas concentrações contra a bactéria Gram-positiva *Staphylococcus aureus* o que, no entanto foram necessárias maiores concentrações para ações satisfatórias contra a Gram-negativa *Escherichia coli*. O possível mecanismo de ação antibacteriana da própolis é interpretado com base na interferência introduzida no processo de divisão celular, alterações na membrana plasmática e também na possibilidade de deformações das paredes celulares, resultando em bacteriólise que pode gerar desequilíbrios osmóticos.

A microscopia de força atômica (AFM) é uma ferramenta de análise superficial que não necessita de revestimento condutor na superfície da amostra, tornando-a ideal para análises em amostras de origem biológica, em particular na caracterização morfológica de bactérias (HODGES, 2002; OSIRO et al., 2012). Assim, no presente estudo, as alterações de morfologia das bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* após interação temporal com EEP foram investigadas com o auxílio do AFM com o objetivo principal de avaliar a intensidade das ações desse composto sobre a morfologia bacteriana.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O extrato etanólico de própolis (EEP) foi produzido de acordo com o processo desenvolvido pela Embrapa no qual, 13,75 g da própolis triturada foi submetida a maceração em 100 mL de álcool etílico absoluto. A solução permaneceu sob agitação magnética em 180 rpm, por 15 dias em 28ºC±2,0. A 24 h de repouso e então retirado o sobrenadante que foi filtrado em filtro com membrana de fluoreto de polivinilideno (PVDF) com diâmetro de poros de 0,2 μm.

Para análise em AFM as bactérias foram imobilizadas sob lâminas vítreas segundo adaptação do método apresentado por Santana et al. (2012). O preparo inicial dos micro-organismos consistiu na inoculação em tubo falcon em meio Müller-Hinton e incubação por 24 h em 35ºC. O tubo foi centrifugado (2090 xg) e o precipitado bacteriano lavado por três vezes com solução salina 0,9% e ressuspenso em 5 mL da mesma solução. Posteriormente foram ressuspensas na concentração de 10^7 UFC/mL em dois tubos contendo 5 mL de solução salina, sendo um designado como controle e o outro identificado como tratamento. No tubo do grupo tratamento foram adicionados separadamente o volume de 5μL de EEP para a bactéria *S. aureus* e 156 μL para a *E. coli*, conforme valores previamente definidos Os tubos foram incubados por 4 h em 35ºC sob agitação (180 rpm). O mesmo procedimento foi realizado para o período de 12 horas. Após o tempo de incubação, os tubos foram centrifugados (6150 xg) por 15 min a 28ºC, a suspensão bacteriana foi lavada três vezes com água deionizada e ressuspensa em 5 mL de água deionizada. Finalmente, uma alíquota de 20 μL foi vertida sobre a superfície de uma lâmina de vidro com secagem espontânea ao ar. Anterior à imobilização, as lâminas foram tratadas durante 10 minutos em ultrassom com isopropanol e, posteriormente, lavadas com água deionizada. Na análise em AFM, foi utilizado o microscópio de força atômica da VEECO – Nanosurf e imagens (5 x 5 μm) geradas em modo intermitente no ar e em temperatura 28ºC.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 1 estão apresentadas as imagens de *S. aureus* que foram analisadas para o período de 4 horas de interação com o EPP. É possível visualizar células com forma esférica, com a estrutura íntegra características de cocos, enquanto as bactérias expostas ao tratamento apresentaram pequenas

alterações morfológicas como aumentos da altura celular e da rugosidade superficial associada a indícios de deformação estrutural podem supor a ocorrência de lise. Através do Software Gwyddion foram obtidos os valores médios de volume dos grupos controle e tratamento, dispostos na Tabela 1. Comparando os valores da tabela, temos que as bactérias expostas ao extrato apresentam aumento do volume medido, sugerindo a ocorrência de bacteriólise conforme indicado na Figura 1C.

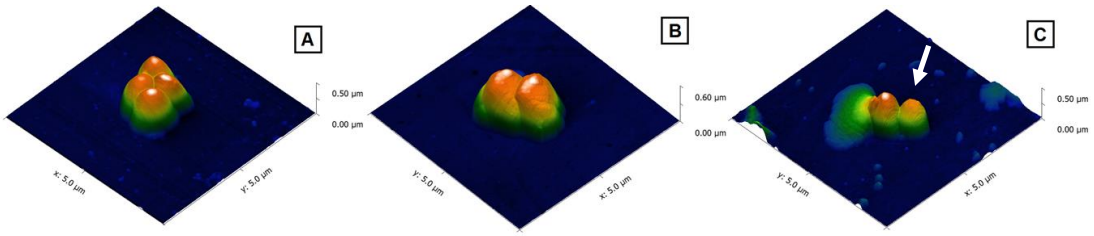


Figura 1. ***Imagens topográficas das células de*** **S. aureus** ***em 4 horas.*** (A) Grupo controle, (B) e (C) grupo tratado com extrato EEP. A seta na imagem (C) indica uma estrutura deformada por uma aparente bacteriólise.

Tabela 1. Média das dimensões morfológicas de S. aureus expostas e não ao EEP durante 4 horas

	S. aureus	
Dimensões	Grupo controle	Grupo tratamento
Volume (μm^3)	$0,251 \pm 0,107^a$	$0,338 \pm 0,106^b$

Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças estatísticas a p<0,05

Na análise para o período de 12 horas (Fig. 2) foram observadas bactérias íntegras na forma característica de cocos no grupo controle. Entretanto, as bactérias do grupo tratamento apresentaram aumento do volume celular decorrentes da degeneração morfológica (perdas das características de cocos), resultando em estruturas disformes (n=23) sugerindo a presença de bactérias que sofreram lise celular, como as visualizadas na Figura 2C. Os valores das dimensões bacterianas (Tabela 2) confirmam as alterações celulares, indicando o aumento do volume das células do grupo tratamento quando comparadas ao grupo controle. Além disso, quando comparadas os valores nota-se que a influência do tempo de exposição das células ao EEP é fundamental para a ação da propolis. As bactérias E. *coli* do grupo controle no período de 4 h (Fig. 3) apresentaram estruturas características como a forma bastão. O grupo tratamento exibe alterações nesta estrutura além de um incremento da rugosidade (Fig. 3C), em concordância com as observações visuais (imagens).

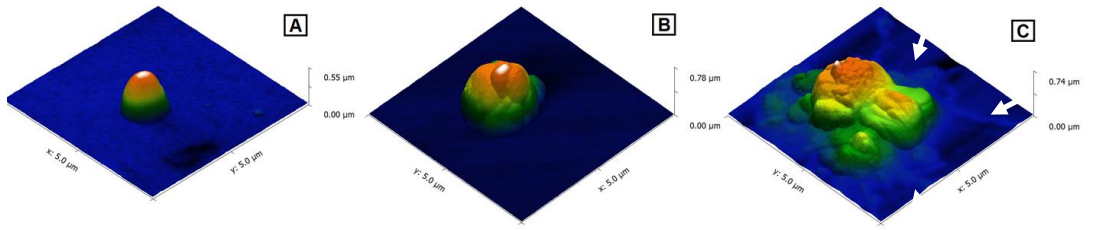


Figura 2. Imagens topográficas das células de S. aureus *em 12 horas***.** A) Grupo controle, (B) e (C) grupo tratado com extrato EEP. As setas na imagem (C) indicam estruturas deformadas por aparente bacteriólise.

Tabela 2. Média das dimensões morfológicas de S. aureus expostas e não ao EEP durante 12 horas

	S. aureus	
Dimensões	Grupo controle	Grupo tratamento
Volume (μm^3)	$0,266 \pm 0,119^a$	$0,751 \pm 0,193^b$

Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças estatísticas a p<0,05.

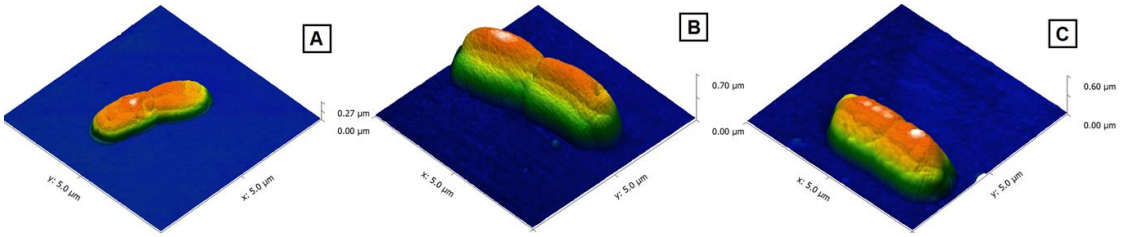


Figura 3. Imagens das células de **E. coli** ***em 4 horas de interação*****.** A) Grupo controle, (B) e (C) grupo tratado.

Tabela 3. Média das dimensões morfológicas de *E. coli* expostas e não ao EEP durante 4 horas

	E. coli	
Dimensões	Grupo controle	Grupo tratamento
Volume (μm^3)	0,300±0,045[a]	1,661±0,473[b]

Letras diferentes na mesma linha indicam que há diferença estatística (Tukey, p<0,05).

As bactérias expostas pelo período de 12 h apresentaram maior degradação de suas estruturas, como observado na Figura 4. As bactérias do grupo apresentaram suas características de bacilo, enquanto que as bactérias expostas ao extrato apresentaram danos na parede celular. Pelos dados da Tabela 4 pode-se afirmar que a própolis tem ação degradativa sobre a estabilidade celular o que leva a uma deformação estrutural acarretando um aumentando das dimensões celulares.

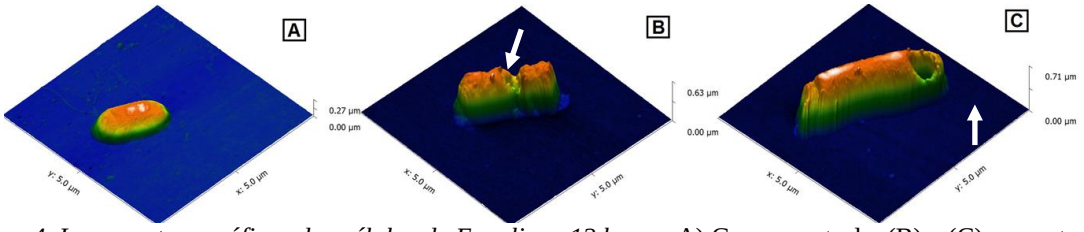


*Figura 4. Imagens topográficas das células de E. coli em 12 horas***.** A) Grupo controle, (B) e (C) grupo tratado com extrato EEP. As setas nas imagens (B) e (C) indicam alteração da parede celular

Tabela 4. Média das dimensões morfológicas de E. coli expostas e não ao EEP durante 12 horas

	E. coli	
Dimensões	Grupo controle	Grupo tratamento
Volume (μm^3)	0,560±0,167[a]	1,396±0,443[b]

Letras diferentes na mesma linha indicam que há diferença estatística (Tukey, p<0,05).

4 CONCLUSÃO

A atividade antibacteriana do EEP sobre a parede celular pôde ser confirmada através dos resultados obtidos pelas imagens de AFM, sendo possível diferenciar a capacidade degradativa da própolis frente às bactérias estudadas. Foi possível confirmar a maior eficiência do EEP sobre a *S. aureus* (Gram-positiva) do que contra a *E. coli* (Gram-negativa), provavelmente devido as diferenças de interação com as paredes celulares dessas bactérias.

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia da UFSCar, a CAPES e a Rede AgroNano por auxílios recebidos. Agradecem também a Wenzel Indústria e Comércio de Produtos Apícolas LTDA pelo fornecimento da propolis e as técnicas Joana Dias Bresolin e Silviane Zanni da Embrapa Instrumentação.

REFERÊNCIAS

GHISALBERTI, E. L. Propolis: a review. Bee World**.** v. 60, n.2, p. 59-84, 1978.

HODGES, C. S. Measuring forces with the AFM: polymeric surfaces in liquids. Advances in Colloid and Interface Science, v. 99, n.1, p. 13-75, 2002.

OSIRO, D.; BERNARDES FILHO, R.; ASSIS, O.B.G.; JORGE, L.A.C.; COLNAGO, L.A. Measuring bacterial cells size with AFM. Brazilian Journal of Microbiology, v. 42, n. 1, p. 341-347, 2012.

SFORCIN, J. M.; FERNANDES Jr., A.; LOPES, C. A. M. BANKOVA, V. Seasonal effect on Brazilian propolis antibacterial activity. Journal of Ethnopharmacology, v. 73, n. 1-2, p. 243-249, 2000.

SANTANA, H.F.; BARBOSA, A.A.T.; MANTOVANI, H.C. Bactericidal activity of ethanolic extracts of propolis against *Staphylococcus aureus* isolated from mastitic cows. World Journal of Microbiology and Biotechnology, v. 28, n. 2, p. 485–491, 2012.

ESTUDO DAS PROPRIEDADES TÉRMICAS DE BLENDAS DE TPS/PCL PARA USO EM NANOCOMPÓSITOS POLIMÉRICOS

(Anderson Felix Manoel[1], Pedro Ivo Cunha Claro2, Luiz Henrique Capparelli Mattoso[3], José Manoel Marconcini[3], Gerson Luiz Mantovani[1])

[1]Universidade Federal do ABC – UFABC, Santo André, SP
[2]Universidade Federal de São Carlos – UFSCar, São Carlos, SP
[3]Embrapa Instrumentação – São Carlos, SP
(e-mail: andersonfelixmanoel@gmail.com)

Classificação: Desenvolvimentos de nanocompósitos a partir de fontes renováveis.

Resumo
Neste trabalho foram estudadas as propriedades térmicas de blendas poliméricas de amido termoplástico (TPS) com poli(ε-caprolactona) (PCL), visando o futuro processamento destas blendas como matriz em nanocompósitos poliméricos. Foram obtidas blendas por extrusão e moldagem por injeção variando-se em 20% em massa o teor dos componentes. Foram investigadas as propriedades térmicas das blendas e observou-se temperaturas de início de degradação, intermediárias aos polímeros puros, e também que as Tg nas blendas não foram alteradas em relação ao PCL puro e, que as temperaturas de cristalização apresentaram uma pequena diminuição quando comparadas ao PCL puro. A temperatura de fusão do PCL apresentou um estreito aumento, de 55 ºC do PCL puro para 58 ºC, na blenda com maior concentração de TPS. O índice de cristalinidade do PCL apresentou redução de 10% em seu valor em relação à blenda com 80% de TPS.
Palavras-chave: Blendas poliméricas; TPS; PCL; Propriedades térmicas.

EVALUATION OF BLEACHING PROCESS OF MACÁUBA FIBERS FOR THE USE OF CELLULOSE NANOCRYSTALS IN POLYMERIC NANOCOMPOSITES.

Abstract
This work aimed to understand the thermal properties of thermoplastic starch (TPS) with Poly(ε-caprolactone)(PCL) blends for future use as a matrix in polymer nanocomposites. Blends were prepared by extrusion and injection molding varying the content of the components by 10 %wt the content of the components. The polymer blends showed intermediate degradation start temperatures to the neat polymers. Tg values in the blends were unchanged relative to the pure PCL and the crystallization temperatures showed a small decrease when compared to the neat PCL. Melting temperature of PCL showed a narrow increase of 55 ºC from the neat PCL to 58 ºC in the blends with the highest concentration of TPS. The crystallinity index of PCL presented a reduction of 10% in its value in relation to the blend with 80% of TPS.
Keywords: Polymer blends; Thermoplastic starch; Poly(ε-caprolactone); Thermal properties.

Publicações relacionadas: http://dx.doi.org/10.1590/1980-5373-mr-2016-0881

1 INTRODUÇÃO

Materiais de amido termoplástico (TPS) apresentam propriedades atraentes devido à sua biodegradabilidade e serem obtidos a partir de uma matéria-prima de baixo custo, renovável e abundante (NINAGO *et al*, 2015). O TPS apresenta algumas características que limitam suas aplicações, como a baixa processabilidade e resistência mecânica inferior a outros polímeros biodegradáveis (CARMONA *et al*, 2014), além de ser um material sensível à umidade (CORRADINI *et al*, 2005). Para poder competir com plásticos convencionais, blendas de amido com outros materiais tem sido estudadas como uma rota adequada para melhorar essas deficiências nas propriedades (CARMONA *et al*, 2014).

A poli(ε-caprolactona) (PCL) é também um polímero biodegradável e tem sido utilizada como uma alternativa para ser associada ao TPS, uma vez que apresenta boa processabilidade e compatibilidade na mistura com outros polímeros (CHRISTENSEN *et al*, 2008).

Este trabalho visa compreender as propriedades térmicas de blendas de TPS/PCL, com TPS obtido a partir do amido ceroso para futuro uso como matriz em nanocompósitos poliméricos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Materiais

Para o desenvolvimento das blendas de TPS e PCL foram utilizados amido de milho ceroso AMIDEX® 4001 (Ingredion, Brasil), composto por aproximadamente 100% amilopectina, PCL CAPA® 6500 (Perstorp, Reino Unido). Para a produção do TPS, foi utilizado glicerol P.A (Synth) como plastificante, e ácido cítrico (Synth) e ácido esteárico (Synth) como auxiliares de processamento.

2.2 Métodos

2.2.1 Processamento dos polímeros puros e blendas poliméricas: Na obtenção do TPS, o amido de milho ceroso foi processado com glicerol na composição 70/30 em massa em extrusora dupla-rosca (Coperion, modelo ZSK 18), com L/D = 40, elementos de condução e mistura em 6 zonas de aquecimento e 2 zonas de degasagem, a 150 rpm com o seguinte perfil de temperatura: 90; 95; 100; 105; 110; 115 e 120 ºC. Antes do processamento foi adicionado 1% em massa de ácido esteárico e 1% em massa de ácido cítrico. Os pellets de TPS obtidos foram misturados ao PCL, novamente em extrusora dupla-rosca a 200 rpm com o seguinte perfil de temperatura: 90; 95; 100; 105; 110; 120 e 130 ºC. Foram preparadas as seguintes composições em massa de blendas de TPS/PCL: 20/80; 40/60; 60/40 e 80/20. Além dessas formulações foram processados os polímeros TPS e PCL puros nas mesmas condições. Corpos de prova de todos os materiais foram obtidos por moldagem e injeção em uma injetora Arburg Allrounder 270S.

2.2.2 Análises Térmicas: As estabilidades térmicas dos materiais foram avaliadas por termogravimetria, utilizando-se um equipamento TGA Q500 (TA Instrument). Aproximadamente 6,00 mg de amostra foi aquecida a partir da temperatura ambiente até 600 ºC a uma taxa de aquecimento de 10 ºC/min sob atmosfera de ar sintético com fluxo de ar sintético de 60 ml/min e de gás inerte de 40 ml/min. Os ensaios de DSC dos materiais foram realizados em um equipamento DSC Q-100 (TA Instrument), com aproximadamente 4,0 mg de amostra em atmosfera de nitrogênio (40 mL/min). As condições de ensaio foram as seguintes: aquecimento até 150 ºC para se apagar a história térmica do material, seguido de resfriamento até -75 ºC com velocidade de 10 ºC/min e aquecimento até 150ºC com velocidade de 10 ºC/min.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Termogravimetria do TPS, PCL e suas blendas

Na Figura 1 são mostradas as curvas de TG e DTG das blendas de TPS/PCL. Nota-se que houve uma queda na estabilidade térmica das blendas com a adição de TPS, devido a menor estabilidade térmica do TPS (~280 ºC) em relação ao PCL puro (350 ºC). As respectivas temperaturas T_{onset} dos polímeros puros e suas blendas estão apresentadas na Tabela 1.

A perda em massa do TPS até 140 ºC é atribuída à perda de água e voláteis. O ombro entre 200 e 250 ºC da DTG do TPS puro refere-se à evaporação do glicerol. O início de degradação do TPS iniciou-se em torno de 250 ºC até 350 ºC (CARMONA. *et al*., 2014). O PCL apresenta T_{onset} em torno de 350 ºC, característica de poliésteres. Os picos acima de 400 ºC, tanto para o TPS como para o PCL, representam a carbonização em atmosfera oxidativa dos resíduos orgânicos gerados durante o processo de degradação (ROSA et al, 2010).

3.2 Calorimetria Exploratória Diferencial

As curvas de DSC não evidenciaram qualquer transição térmica presente no TPS puro. A partir das curvas de DSC (Figura 2) foram determinadas as temperaturas de transição e as entalpias de fusão do PCL puro e presentes nas blendas poliméricas, esses valores estão apresentados na Tabela 2.

Os valores de T_g do PCL e das blendas mantiveram-se em torno de -60 ºC. As temperaturas de cristalização apresentaram uma ligeira queda com a presença do TPS, mostrando que o TPS não atuou como agente nucleante para o PCL. Como o PCL cristaliza durante seu resfriamento, valores menores de T_c indicam menor velocidade de cristalização (CARMONA, 2015). No segundo aquecimento, observa-se o pico de fusão do PCL em torno de 55 ºC, o qual não houve grandes variações conforme a concentração de TPS foi aumentada, atingido o máximo de 58 ºC na blenda contendo 80% de TPS.

A partir da entalpia de fusão, os índices de cristalinidade do PCL puro e das blendas poliméricas foram calculados de acordo com a Equação 1 (VERTUCCIO *et al*, 2009). Nota-se uma diminuição de 10% na cristalinidade do PCL puro para a blenda com maior concentração de TPS. Esse resultado pode ser atribuído à redução da temperatura de cristalização das blendas conforme a concentração de TPS foi aumentada, indicando uma maior dificuldade da cristalização do PCL. Concentrações maiores de PCL apresentaram um aumento na cristalinidade das blendas, ocasionada pela maior mobilidade das cadeias de PCL (CARMONA *et al*, 2014).

$$X_C = \frac{\Delta H_f}{\Delta H^0_f f} \times 100 \qquad (1)$$

Onde ΔH_f é a entalpia de fusão da amostra, ΔH^0_f é o calor de fusão para o polímero 100% cristalino (foi utilizado o valor 136 J/g para o PCL) (KESEL, *et al*, 1999).

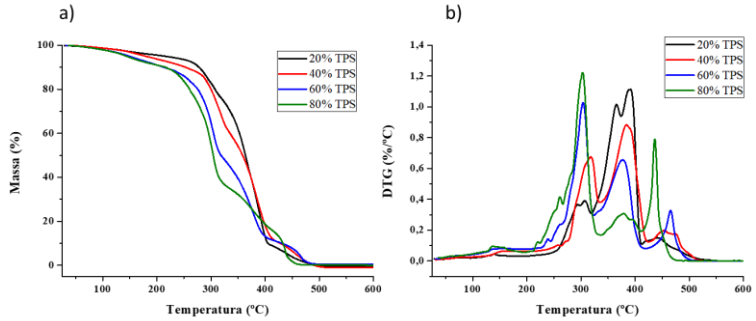


Figura 1. Curvas de TG (a) e DTG (b) das blendas poliméricas de TPS/PCL.

Tabela 1. Temperaturas de início de degradação do TPS, PCL e suas blendas.

Amostra	T_{onset} (ºC)
PCL	349,5
20% TPS	275,6
40% TPS	291,3
60% TPS	280,5
80% TPS	273,5
TPS	280,6

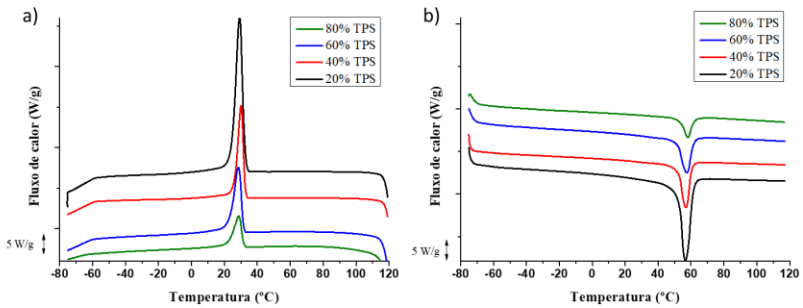


Figura 2. Curvas de DSC do segundo aquecimento (a) e resfriamento (b) das blendas poliméricas de TPS/PCL.

Tabela 2. Temperaturas de transição vítrea (T_g), cristalização (T_c), fusão (T_m), entalpia de fusão (ΔH_m) e indicie de cristalinidade (X_c)

Amostra	T_g (ºC)	T_c (ºC)	T_m (ºC)	ΔH_m (J/g)	X_c (%)
PCL	-59,5	31,0	55,8	63,2	46
20% TPS	-60,7	29,3	56,4	44,6	41
40% TPS	-61,0	30,1	56,9	32,1	39
60% TPS	-60,3	28,5	57,6	20,4	37
80% TPS	-59,5	28,8	58,1	9,8	36

4 CONCLUSÃO

As blendas poliméricas apresentaram temperaturas de início de degradação intermediárias aos polímeros puros. A blenda com 40% de TPS em sua composição apresentou maior resistência ao início de degradação que as demais composições. Os valores de T_g nas blendas não foram alterados em relação ao PCL puro. As temperaturas de cristalização apresentaram ligeira queda quando comparadas ao PCL puro. Maiores concentrações de PCL facilitou a cristalização das blendas, devido maior mobilidade das cadeias de PCL. As análises térmicas das blendas apresentaram resultados satisfatórios para uso como matriz na formulação dos nanocompósitos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o suporte fornecido por CAPES, PPG-NMA/UFABC, PPGCEM/UFSCar, Embrapa Pantanal, Embrapa Instrumentação e Rede AgroNano. Este trabalho está dentro do escopo do acordo científico-tecnológico entre a Universidade Federal da ABC (UFABC) e a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), de acordo com o número 23006.001234 / 2014-23.

REFERÊNCIAS

CARMONA, V. B. et al. Kinetics of thermal degradation applied to biocomposites with TPS, PCL and sisal fibers by non-isothermal procedures. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, v. 115, n. 1, p. 153–160, 2014.

CARMONA, V. B. Desenvolvimento de Blendas de TPS, PCL e PLA e seus Nanocompósitos com Nanowhiskers de Celulose de Gravatá. (Doutorado em Nanociências e Materiais Avançados). Universidade Federal de São Carlos, 2015.

CHRISTENSEN, P. A. et al. Photodegradation of polycaprolactone/poly(vinyl chloride) blend. Polymer Degradation and Stability, v. 93, n. 1, p. 305–309, 2008.

CORRADINI, E. et al. Estudo comparativo de amidos termoplásticos derivados do milho com diferentes teores de amilose. Polímeros, v. 15, p. 268–273, 2005.

KESEL, C. D.; LEFEVRE, C.; NAGRY, J. B.; DAVID, C. Blends of polycaprolactone with polyvinylalcohol: a DSC, optical microscopy and solid state NMR study. Polymer, v. 40, p.1969-1978, 1999.

NINAGO, M. D. et al. Enhancement of thermoplastic starch final properties by blending with poly(ε-caprolactone). Carbohydrate Polymers, v. 134, p. 205–212, 2015.

ROSA, M. F. et al. Cellulose nanowhiskers from coconut husk fibers: Effect of preparation conditions on their thermal and morphological behavior. Carbohydrate Polymers, v. 81, n. 1, p. 83–92, 2010.

VERTUCCIO, L.; GORRASI, G.; SORRENTINO, A.; VITTORIA, V.Nanoclay reinforced PCL/starch blends obtained by high energy ball milling. Carbohydrate Polymer, v. 75, p. 172-179, 2009.

PREPARO E CARACTERIZAÇÃO DE BIOFILMES COMESTÍVEIS A BASE DE NANOESTRUTURAS POLIMÉRICAS EM MATRIZES DE PECTINA

Vanessa S. Santos[1], Juliana R. Souza[2], Luiz H. C Mattoso [2], Fauze A. Aouada[1], Márcia R. de Moura[1]

1 – UNESP – Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Grupo de Compósitos e Nanocompósitos Híbridos (GCNH), Departamento de Física e Química (DFQ), Programa de Pós Graduação em Ciência dos Materiais, Faculdade de Engenharia da Unesp de Ilha Solteira (FEIS), Ilha Solteira, SP, Brasil. 2-Embrapa Instrumentação, São Carlos-SP, Brasil
solfavanessa@gmail.com

Classificação: Desenvolvimento de nanocompósitos a partir de fontes renováveis.

Resumo

O objetivo deste trabalho foi produzir filmes biodegradáveis com nanopartículas de quitosana em matrizes de pectina. As nanopartículas foram obtidas por condensação de refluxo, e os filmes produzidos através da técnica de *casting*, utilizando-se uma solução filmogênica composta por nanopartículas de quitosana (NPsQs) e pectina, em concentração de 2% (m/v). As nanopartículas em solução foram caracterizadas quanto ao seu tamanho através de espalhamento de luz dinâmica (DLS) e sua estabilidade, medida por potencial Zeta. Os filmes foram analisados por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR).

Palavras-chave: Filmes comestíveis; Nanopartículas de quitosana; Pectina

PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF EDIBLE BIOFILMS BASED ON POLYMERIC NANOESTRUTURES IN PECTIN MATRIX

Abstract

The objective of this work was to produce biodegradable films with chitosan nanoparticles in pectin matrix. The nanoparticles were obtained by reflux condenser and the films were produced by the casting technique, using a film-forming solution composed of chitosan nanoparticles (NPsQs) and pectin, in a concentration of 2% (m / v). The nanoparticles in solution were characterized by their size through dynamic light scattering (DLS) and their stability, as measured by Zeta potential. The films were analyzed by the Fourier transform infrared spectrum (FT-IR).

Keywords: Edible films, Chitosan nanoparticles, Pectin

Publicações relacionadas: Apresentou no 14° Congresso Brasileiro de Polímeros (CBPOL), (Vanessa et. al, 2017, Águas de Lindóia- SP.

1 INTRODUÇÃO

A pectina é um polissacarídeo encontrado nas paredes celulares de todas as plantas e também como subproduto do processamento de sucos de maçã e de laranja (CIRIMINNA et al., 2015). É um hidrocolóide capaz de formar redes que capturam a água e formam géis em concentrações abaixo de 1%, além de não apresentar nenhum risco a saúde em sua ingestão. Devido a isso, a pectina é comercializada como agente gelificante, e é um dos biopolímeros mais utilizados na formação

de embalagens comestíveis, sendo usada como matriz em soluções filmogênicas (ABID et al., 2017).

Porém, apesar das características adequadas, as embalagens à base de biopolímeros ainda apresentam algumas propriedades físico-químicas desfavoráveis, que acabam dificultando a sua aplicação quando comparadas às embalagens tradicionais como: baixa propriedade de barreira e baixa resistência mecânica (CERQUEIRA et al 2011). Como forma de contornar esse problema, pesquisadores têm buscado a inserção de materiais nanoestruturados, como por exemplo, a adição de nanopartículas (NPs) de quitosana (QS) (ANTONIOU et al., 2010; ASSIS, 2010). A quitosana (QS), é um biopolímero obtido a partir da desacetilação (hidrolise alcalina) da quitina. Essa por sua vez é encontrada no exoesqueleto de crustáceos e insetos. Sua aplicação como nanopartículas melhoram as propriedades térmicas, mecânicas e tende a diminuir a permeabilidade ao vapor de água nos filmes (MOURA et al., 2009; DURAN et al., 2006). Os estudos sobre nanotecnologia já são bem difundidos no meio científico e referem-se à manipulação de sistemas físicos, que produzem informações significativas em uma escala conhecida como nano (10^{-9} m = 1nm) (CRESPILHO, 2005; CASANOVA, 2010). O objetivo deste trabalho, foi produzir filmes biodegradáveis com nanopartículas de quitosana em matrizes de pectina, para a aplicação em embalagens comestíveis.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Solução de nanopartículas

As nanopartículas foram preparadas através da polimerização do ácido metacrílico (MAA), em solução de quitosana, em duas etapas [10].

1° Etapa: Foi solubilizado 0,2% (m/v) de quitosana em solução aquosa de ácido metacrílico sob agitação constante durante 5 horas.

2° Etapa: A solução então foi transferida para um condensador de refluxo e, a essa, adicionou-se $K_2S_2O_8$ como iniciador. O sistema foi fechado e mantido a 70 °C, para que ocorresse a polimerização do ácido metacrílico. Ao longo da reação, ocorre o aumento de poli (ácido metacrílico) na solução, essa muda de clara para uma suspensão opalescente, indicando a formação de nanopartículas (QS-PMAA). Após 1h de reação, a suspensão foi imersa em banho de gelo.

Preparação dos filmes

Os filmes foram preparados através da técnica de *casting*. A pectina, com alto grau de metoxilação, foi dissolvida na solução de QS-PMAA e mantida sob agitação vigorosa (15.000 rpm) durante 24h. Após esse período a mesma foi mantida em repouso para subtração das bolhas.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Espectro de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR).

A Fig. 1 mostra os espectros vibracionais na região do infravermelho da quitosana pura (pó) (Fig.1(a)), pectina pura (pó) (Fig.1(b)) e do filme de nano partículas de quitosana (NPsQs) em matriz de pectina (Fig.1(c)). Através deles é possível observar a interação entre o grupamento amina da quitosana (Qs) e o grupamento ácido do PMAA. O espectro de quitosana pura, representado pela Fig.1(a), apresenta pico característico correspondente ao estiramento da ligação C=O da amina primária, em aproximadamente 1649 cm^{-1}. Os picos referentes ao estiramento C-O podem ser observados em 1083 cm^{-1} e 1020 cm^{-1}, sendo possível ainda observar as vibrações dos anéis piranosídicos em aproximadamente 620 cm^{-1} (TONHI et al., 2002). Comparando os espectros da Fig.1(a) e 1(c) é possível observar a interação iônica entre o MAA e a quitosana, o que caracteriza a formação de nanopartículas. Tal fato está evidenciado pelo surgimento de duas novas bandas em aproximadamente 1638 cm^{-1} e 1545 cm^{-1}, referente aos grupos COO^- e grupo NH_3^+, respectivamente. Através do espectro

da matriz utilizada para preparação dos filmes, representado pela Fig.1(b), observa-se picos bem evidenciados entre 1750 cm^{-1} e 1350 cm^{-1}, que caracterizam o estado dos grupos carboxílicos (FILIPOV, 1999). A banda em aproximadamente 1743 cm^{-1} é indicativa do estiramento C=O de grupos carboxílicos não-ionizados (metilados ou protonados), e a intensidade do pico nessa região é um indicativo de que a pectina utilizada é de alto grau de metoxilação.

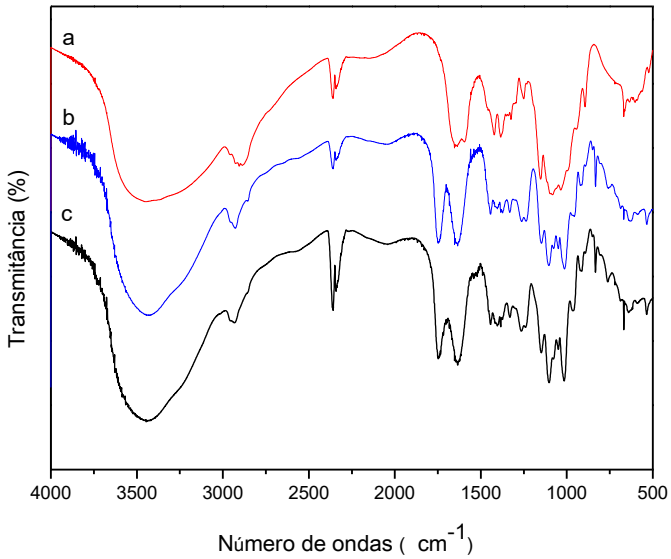


Figura 1- Espectros de infravermelho: quitosana pura (a), pectina pura (b) e NPsQs em matriz de pectina (c)

3.2 Espalhamento de luz dinâmica (DLS)

O tamanho das nanopartículas é um fator que influencia diretamente na estabilidade da solução e pode modificar significativamente algumas propriedades do material. Através do Espalhamento de luz dinâmica (DLS) determinou-se o tamanho das nanopartículas de quitosana em solução. O teor de nanopartículas na solução foi de 2%, e estas apresentaram-se esféricas com tamanho médio de 317 nm.

3.3 Potencial Zeta

Através do potencial Zeta, pode-se determinar a estabilidade da solução de NPsQs. Os valores obtidos são dependentes do tamanho da partícula em solução e, quanto maior o tamanho da partícula maior será a concentração de íons NH_3^+. Os valores dos tamanhos das partículas e do potencial Zeta, estão apresentados na tabela 1. Tais valores indicam que a solução é favorável para a formação de suspenção de partículas estáveis, pois apresentam-se superiores, em módulo, a +20 V (LOREVICE et al., 2014)

Tabela 1. Valores médio do potencial Zeta da solução de NPsQs

Tamanho (nm)	**Potencial Zeta (V)**
316	+20,8
316	+20,9
320	+22,5
Média	
317	+21,4

4 CONCLUSÃO

Os filmes bioativos nanoestruturados foram obtidos com sucesso, apresentando aspecto homogêneo e contínuo, além de ligeira transparência e maleabilidade, propriedades estas consideradas satisfatórias. De acordo com os resultados obtidos pelas análises de espectroscopia na região do infravermelho (FT-IR) é possível comprovar a interação entre as nanopartículas e a matriz polimérica. Através dos

valores do potencial Zeta pode-se concluir que a solução de NPsQs é estável. Sendo assim, a nanotecnologia pode servir de grande auxílio para melhorar as propriedades dos filmes, contribuindo para o desenvolvimento de novos materiais, tornando-os potenciais candidatos a serem aplicados em embalagens.

AGRADECIMENTOS
UNESP, EMBRAPA, CAPES, FAPESP ao CNPq.

REFERÊNCIAS

ABID, M et al. Characterization of pectins extrqcted from pomegranate peel and their gelling properties. Food Chemistry. v 215, p. 318-325, 2017.

ANTONIOU, J. et al. Characterization of tara gum edible films incorporated with bulk chitosan and chitosan nanoparticles: a comparative study. Food Hydrocolloids, v. 44, p. 309 - 319, 2015.

ASSIS, O. B. G.; Alteração do caráter hidrofílico de filmes de quitosana por tratamento de plasma de HMDS. Química Nova, São Carlos, v. 33, n. 3, p 603-606, 2010.

CASANOVA, M. C. R. Síntese, caracterização e estudo da estabilidade de nanopartículas metálicas estabilizadas em polieletrólitos e tióis. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2010.

CERQUEIRA, M. A. et al. Galactomannans use in the development of edible films/coatings for food applications. Trend in Food Science & Technology, v. 22, p. 662 - 671, 2011.

CIRIMINNA, R. et al. Pectin: A new perspective from the biorefinery standpoint. Bioproducts and Biorefining, v. 4, p. 377, 2015.

CRESPILHO, F. N. A nanociência em parceira com o meio ambiente. In: Rubens Pantano Filho, Derval dos Santos Rosas. (org.), Ed.1 ; multíplos olhares, Campinas,v. 1, p. 1-8, 2005.

DURAN, N.; DE MORAIS, P. C.; MATTOSO, L.H.C. Nanotecnologia-introdução, preparação e caracterização de nanomateriais e exemplos de aplicação. Embrapa Instrumentação. São Paulo: [s.n.], 2006.

FILIPOV, M. P. Food Hydrocoll , 115, Salvador, 1999, Vol. 1, 343.

MOURA, M. R.; AOUADA, F. A.; MATTOSO, L. H. C. Preparation of chitosan nanoparticles using methacrylic acid. Journal of Colloid and Interface Science, Vol. 321, 477–483, 2008.

MOURA, M. R., et al. 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.

LOREVICE, M.V.; DE MOURA, M.R.; MATTOSO, L.H.C. Nanocompósito de polpa de mamão e nanopartículas de quitosana para aplicação em embalagens. Quimica Nova, v. *37*, n.6, p. 931-936, 2014.

TONHI, E.; PLEPIS, A. M. G. Obtenção e caracterização de blendas colágeno- quitosana. Quimica Nova, v. 25, p. 943- 948, 2002.

NOVOS FILMES BIODEGRADÁVEIS À BASE DE GELATINA CONTENDO NANOEMULSÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE LIMÃO

Marcia R. de Moura*, Juliana C. Nunes, Pamela T. S. Melo, Tiago. A. Lima, Fauze A. Aouada

UNESP – Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Grupo de Compósitos e Nanocompósitos Híbridos (GCNH), Departamento de Física e Química (DFQ), Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais, Faculdade de Engenharia da Unesp de Ilha Solteira (FEIS), Ilha Solteira, SP.
E-mail: marciadqi@gmail.com

Classificação: Desenvolvimento de nanocompósitos a partir de fontes renováveis.

Resumo
Este trabalho objetivou-se em desenvolver e caracterizar filmes à base de gelatina, contendo óleo essencial de limão e extrato de chá verde, nas concentrações mássicas de (5:1:0,5), respectivamente. Os filmes foram avaliados visualmente em relação a homogeneidade, coloração, maneabilidade e ausência de rupturas. A caracterização das amostras foi realizada através de análise mecânica (resistência a tração e elongação na ruptura). Filmes contendo somente gelatina apresentaram maior tensão de ruptura e elongação. A adição do extrato de chá verde aumentou a tensão de ruptura e diminuiu a elongação, devido a reticulação dos polifenóis e formação de ligações de hidrogênio com a matriz polimérica. Em contrapartida, a nanoemulsão de limão diminuiu ambos os valores.
Palavras-chave: Gelatina; Nanoemulsão; Óleo essencial de limão; Extrato de chá verde.

NEW BIODEGRADABLE FILMS GELATIN-BASED CONTAINING NANOEMULSION OF LEMON ESSENTIAL OIL

Abstract: This work aimed at producing and characterizing films gelatin-based with lemon essential oil and green tea extract, in the mass proportions of (5:1:0,5), respectively. The films were visually evaluated for homogeneity, color, handleability and absence of ruptures. The characterization of the samples was performed through mechanical analysis (tensile strength and elongation at break). Films containing only gelatin showed higher tensile strength and elongation. The addition of the green tea extract increased the tensile strength and decreased the elongation, due to the crosslinking of the polyphenols and formation of hydrogen bonds with the polymer matrix. On the other hand, the lemon nanoemulsion decreased both values.
Keywords: Gelatin; Nanoemulsion; Lemon essential oil; Green tea extract.

Publicações relacionadas:
MOURA, M. R. de. et al. Novos filmes biodegradáveis à base de gelatina contendo nanoemulsão de óleo essencial de limão. Apresentou no 14° CBPOL (Congresso Brasileiro de Polímeros) – 2017. Águas de Lindóia/SP.

1 INTRODUÇÃO

Atualmente, grande parte das embalagens utilizadas são obtidas de fontes não-renováveis de energia, como o petróleo, e por levarem um longo tempo para se degradarem no ambiente, causam sérios problemas de acúmulo de resíduos (HONG; LIM; SONG, 2009; OTONI, 2014). Neste contexto, é de grande interesse a busca pela substituição de embalagens convencionais por outras que sejam biodegradáveis (MARTUCCI, 2015).

A gelatina é um polímero natural versátil, de baixo custo, possui bom potencial de formação de filmes, além de ser abundante (MA, 2012). Seu processamento é feito a partir da hidrólise controlada de colágeno fibroso insolúvel, extraído de ossos e peles de animais durante o abate (AHMAD, 2012).

De acordo com a aplicação destinada a esse polímero, pode ser necessário a formação de algum compósito para melhoria de propriedades mecânicas, de barreira, nutricionais ou organolépticas do material final (ALPARSLAN, 2016). Para tal, pode-se empregar lipídios, polissacarídeos, proteínas ou outra substância (ACEVEDO-FANI, 2015). O extrato de chá verde (*Camellia sinensis* L.) é rico em polifenóis com boas propriedades antioxidantes, como as catequinas, e pode ser incorporado na formação de filmes contendo gelatina, a fim de melhorar a tensão na ruptura e a atividade antioxidante do produto (WU, 2013). O óleo essencial de limão (OE) adicionado ao filme pode alterar determinadas características físicas e influenciar positivamente em características organolépticas. Além disso, os terpenos presentes no OE de limão possuem atividade antimicrobiana e características bioativas contra determinados insetos e fungos (COZMUTA, 2015). Este trabalho tem como objetivo avaliar a influência do extrato de chá verde e do óleo essencial de limão sobre as propriedades mecânicas de filmes à base de gelatina, visando melhorá-las.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Materiais

Gelatina em pó (Royal®), óleo essencial de limão siciliano (Ferquima), extrato seco solúvel de chá verde e tensoativo Tween 80 (Oxiteno) foram os materiais utilizados no preparo dos filmes, todos obtidos comercialmente.

2.2 Métodos

2.2.1 Preparação e análise da nanoemulsão

A nanoemulsão de limão (NL) foi preparada pela adição de óleo essencial de limão (0,5g) em solução contendo Tween 80 (0,75g) e água destilada. Posteriormente, a solução foi agitada em um homogeneizador T25 Ultra-Turrax® (IKA® Werke GmbH & Co, Staufen, Germany) em velocidade de 15000 rpm durante 5 minutos. As medidas da carga superficial e o tamanho médio das partículas presentes na nanoemulsão foram determinadas em triplicata na temperatura de 25°C no equipamento Zetasier Nano Series (Malvern Instruments Ltd. Malvern, Worcestershire, U.K.), utilizando o princípio da difração de raio laser.

2.2.2 Preparo dos filmes

A gelatina (G) foi hidratada em água destilada a 25°C/10 min. Em seguida, foi aquecida em agitador magnético até a temperatura de 60°C. Para filme contendo chá verde (CV), o extrato foi dissolvido em 100 mL de água a 25°C, para posterior incorporação da gelatina em pó. Nos filmes contendo NL, a gelatina foi hidratada em 100 mL da nanoemulsão. Naqueles que continham CV e NL, a mesma quantidade de extrato foi dissolvida em 5 mL de água e, em seguida, adicionado à nanoemulsão.

Foram preparados quatro tipos de filmes pela técnica de "casting", filme de gelatina pura (FG), filme de gelatina com extrato de chá verde (FGCV), filme de gelatina com nanoemulsão de limão (FGNL) e filme de gelatina com extrato de chá verde e nanoemulsão de limão (FGCVNL), mantidos em temperatura ambiente durante 24h. Antes da caracterização dos filmes, as amostras foram acondicionadas em dessecador contendo sílica, durante 24h a 25°C, mantendo uma umidade relativa constante de 30%.

2.2.3 Propriedades mecânicas

As espessuras dos filmes foram medidas com um micrômetro digital (Mitutoyo Corp., Kanogawa, Japan) em cinco posições aleatórias. Pelo menos 8 amostras foram cortadas em tiras retangulares nas dimensões de 100 mm comprimento x 13 mm largura. Para determinação das propriedades mecânicas foi realizado o teste de tensão x deformação sob tração, de acordo com o método ASTM D882-9720 (ASTM, 1997). O equipamento utilizado para a análise foi o Instron Universal Testing Machine (Modelo 3369, Instron Corp., Canton, Mass., U.S.A.), a uma velocidade de tracionamento de 10 mm/min e célula de carga de 100N.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A nanoemulsão obtida apresentou tamanho médio de partícula de 170,6 nm e mostrou-se visualmente opalescente, sem separação de fase e precipitação após a preparação, características similares a outros estudos publicados (DONSÌ; FERRARI, 2016). A nanoemulsão apresentou potencial zeta de, aproximadamente, -10,9 mV. Os filmes utilizados para análise mecânica foram previamente avaliados quanto a maneabilidade, coloração, continuidade (ausência de rupturas após a secagem) e homogeneidade (livre de bolhas, zona de opacidade e partículas visíveis). Todos apresentaram ótima qualidade nesta análise primária. A Figura 1 apresenta os valores de tensão máxima de ruptura para FG, FGCV, FGNL e FGCVNL.

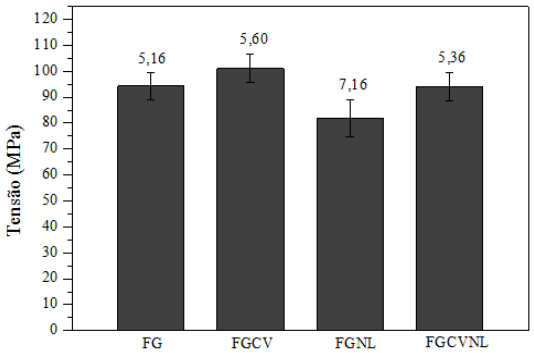


Figura 1. Valores de tensão máxima de ruptura dos filmes: (FG) filme de gelatina; (FGCV) filme de gelatina com extrato de chá verde; (FGNL) filme de gelatina com nanoemulsão de limão; (FGCVNL) filme de gelatina com extrato de chá verde e nanoemulsão de limão.

Observou-se que com a incorporação do extrato de chá verde ocorreu aumento da tensão do filme de gelatina, de 94,25 ± 5,16 MPa para 101,14 ± 5,60 MPa. Isso se deve às ligações de hidrogênio entre as moléculas de gelatina com os polifenóis presentes no chá e a reticulação intermolecular dos polifenóis (HONG, 2009; WU, 2013). Em contrapartida, na Figura 2 nota-se que a propriedade de elongação de FGCV diminuiu, comparado ao filme de gelatina.

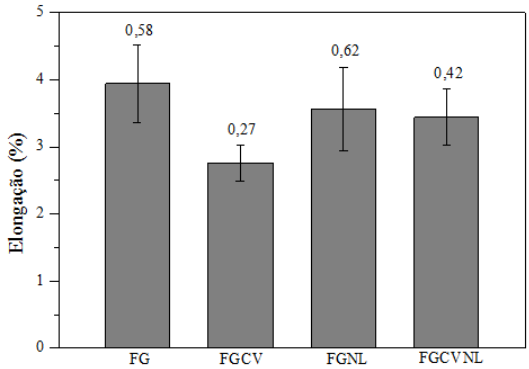


Figura 2. Propriedade de elongação dos filmes.

A adição da nanoemulsão aos filmes de gelatina diminuiu o valor de tensão de ruptura para 81,98 ± 7,16 MPa e aumentou a elongação. Esse comportamento pode ser atribuído a capacidade de o óleo essencial de limão interagir com a matriz do biopolímero, acarretando uma heterogeneidade ao filme por reduzirem a interação cadeia-cadeia e aumentarem a interação cadeia-nanoemulsão, provocando descontinuidade e diminuindo sua coesão (MARTUCCI, 2015; MA, 2012; ACOSTA, 2016). Os filmes contendo CV e NL apresentaram valores de tensão de ruptura intermediários a FGCV e FGNL (94,12 ± 5,36 MPa), assim como a elongação.

4 CONCLUSÃO

Todos os biofilmes utilizados para análise apresentaram-se visualmente homogêneos e com boa maneabilidade. A adição de extrato de chá verde melhorou a propriedade de tensão de ruptura do filme de gelatina, diminuindo a elongação, enquanto a nanoemulsão de limão na matriz polimérica formou filmes com menores tensões de ruptura e maiores elongações.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a CNPq, FAPESP, CAPES, UNESP e EMBRAPA.

REFERÊNCIAS

ACEVEDO-FANI, A. et al. Edible films from essential-oil-loaded nanoemulsions: Physicochemical characterization and antimicrobial properties. Food Hydrocolloids, v. 47, p. 168-177, 2015.

ACOSTA, S. et al. Antifungal films based on starch-gelatin blend, containing essential oils. Food Hydrocolloids, v. 61, p. 233-240, 2016.

AHMAD, M. et al. Physico-mechanical and antimicrobial properties of gelatin film from the skin of unicorn leatherjacket incorporated with essential oils. Food Hydrocolloids, v. 28, p. 189-199, 2012.

ALPARSLAN, Y. et al. Quality assessment of shrimps preserved with orange leaf essential oil incorporated gelatin. LWT - Food Science and Technology, v. 72, p. 257-266, 2016.

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.

COZMUTA, A. M. et al. Preparation and characterization of improved gelatin films incorporating hemp and sage oils. Food Hydrocolloids, v. 49, p. 144-155, 2015.

DONSÌ, F.; FERRARI, G. Essential oil nanoemulsions as antimicrobial agents in food. Journal of Biotechnology, v. 233, p. 106-120, 2016.

HONG, Y. H.; LIM, G. O; SONG, K. B. Physical properties of *Gelidium corneum* – gelatin blend films containing grapefruit seed extract or green tea extract and its application in the packaging of pork loins. Journal of Food Science, v. 74, n. 1, p. 6-10, 2009.

MA, W. et al. Characterization of gelatin-based edible films incorporated with olive oil. Food Research International, v. 49, n. 1, p. 572-579, 2012.

MARTUCCI, J. F. et al. Oregano and lavender essential oils as antioxidant and antimicrobial additives of biogenic gelatin films. Industrial Crops and Products, v. 71, p. 205-213, 2015.

OTONI, C. et al. Antimicrobial and physical-mechanical properties of pectin/papaya puree/cinnamaldehyde nanoemulsion edible composite films. Food Hydrocolloids, v. 41, p. 188-194, 2014.

WU, J. et al. Preparation, properties and antioxidant activity of an active film from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) skin gelatin incorporated with green tea extract. Food Hydrocolloids, v. 51, p. 42-51, 2013.

PREPARO DE FILMES COMESTÍVEIS CONTENDO GELATINA, EXTRATO DE CHÁ VERDE E ÓLEO ESSENCIAL DE LIMÃO

Juliana C. Nunes*, Pamela T. S. Melo, Fauze A. Aouada, Marcia R. de Moura

UNESP – Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Grupo de Compósitos e Nanocompósitos Híbridos (GCNH), Departamento de Física e Química (DFQ), Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais, Faculdade de Engenharia da Unesp de Ilha Solteira (FEIS), Ilha Solteira, SP.
E-mail: nunescjuliana@gmail.com

Classificação: Desenvolvimento de nanocompósitos a partir de fontes renováveis.

Resumo: O desenvolvimento de filmes comestíveis necessita de um material polimérico que forme uma matriz homogênea e contínua. A gelatina é um polímero natural, barato e abundante, características que instigam sua utilização. O uso de extrato de chá verde e óleo essencial de limão em filmes de gelatina é uma alternativa para melhoria de suas características físicas e organolépticas para aplicação inovadora do produto. O objetivo deste trabalho foi desenvolver e analisar filmes comestíveis compósitos à base de gelatina, extrato de chá verde (CV) e nanoemulsão de limão. As caracterizações dos filmes foram realizadas por meio das análises de solubilização em água e permeabilidade ao vapor de água (PVA). A incorporação da nanoemulsão de limão diminuiu o tempo necessário para a solubilização do filme de gelatina com extrato de chá verde em água destilada a 70°C. A permeabilidade ao vapor de água do filme de gelatina também aumentou com a adição de CV e NL devido a interação destes com a porção hidrofóbica da matriz polimérica.
Palavras-chave: Filmes comestíveis; Gelatina; Chá verde; Óleo essencial de limão.

PREPARATION OF EDIBLE FILMS CONTAINING GELATIN, GREEN TEA EXTRACT AND LEMON ESSENTIAL OIL

Abstract: The development of edible films requires a polymeric material that forms a homogeneous and continuous matrix. The gelatin is a natural polymer, cheap and abundant, characteristics that instigate its use. The use of green tea extract and lemon essential oil in gelatin films improves physical and organoleptic characteristics for an innovative application of the product. The aim of this research was to develop and analyze composite edible films based on gelatin, green tea extract (CV) and lemon essential oil nanoemulsion. The films were characterized by water solubility analysis and water vapor permeability (WVP) test. The incorporation of lemon nanoemulsion decreased the time required for solubility of the gelatin film with green tea extract in distilled water at 70°C. The water vapor permeability of the gelatin film also increased with the addition of CV and NL due to the interaction with the hydrophobic portion of the polymer matrix.
Keywords: Edible films; Gelatin; Green tea; Lemon essential oil.

Publicações relacionadas:
NUNES, C. J. et al. Preparo de filmes comestíveis contendo gelatina, extrato de chá verde e óleo essencial de limão. Apresentou no 14° CBPOL (Congresso Brasileiro de Polímeros) – 2017. Águas de Lindóia/SP.

1 INTRODUÇÃO

O interesse pelo desenvolvimento de filmes comestíveis com base em polímeros obtidos de fontes renováveis decorre do aumento da geração de resíduos não biodegradáveis, preocupação com a saúde, segurança alimentar e sustentabilidade (ETXABIDE, 2017; MOHAJER, REZAEI & HOSSEINI, 2017). Além de serem biodegradáveis, são diversas as vantagens em suas aplicações, como o controle da qualidade e estabilidade de produtos alimentares por meio de propriedades de

barreira, adição de agentes antimicrobianos e antioxidantes, sendo ainda possível agregar valor nutricional e boas características organolépticas (FANG, 2017; MUSSO, SALGADO & MAURI, 2017). Dentre as proteínas como fonte de matéria-prima, a gelatina tem se mostrado promissora para formação de filmes por ser abundante, ter baixo custo, excelente biocompatibilidade e biodegradabilidade (ACOSTA, 2016). Contudo, possui temperatura de desnaturação em torno de 40°C, elevada natureza higroscópica, o que, dependendo da aplicação, pode ser necessário formar um compósito através da incorporação de lipídios, polissacarídeos ou outra substância (ALPARSLAN, 2016).

O extrato de chá verde (*Camellia sinensis* L.) incorporado na formação de filmes de gelatina tem resultado na alteração de propriedades mecânicas, como o aumento da tensão na ruptura, e também na atividade antioxidante, quando comparada com filmes de gelatina sem o extrato (GIMÉNEZ, 2013). Determinados óleos essenciais podem melhorar a qualidade organoléptica do filme, alterar a permeabilidade ao vapor de água e prover substâncias importantes ao organismo (COZMUTA, 2015; KAVOOSI, 2014). O principal objetivo do estudo é verificar a influência do extrato de chá verde e do óleo essencial de limão sobre as propriedades de permeabilidade e solubilização de filmes à base de gelatina.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Materiais

Gelatina em pó (Royal®), óleo essencial de limão siciliano (Ferquima), extrato seco solúvel de chá verde e tensoativo Tween 80 (Oxiteno) foram os materiais utilizados no preparo dos filmes, todos obtidos comercialmente.

2.2 Métodos

2.2.1 Preparo dos filmes

A nanoemulsão de limão (NL) foi preparada com o agente tensoativo Tween 80 e óleo essencial de limão, nas quantidades de 0,75g e 1g, respectivamente, em 100 mL de água destilada. Em seguida, esta mistura foi agitada durante 4 min a 15000 rpm com o Ultra-Turrax (IKA). Para formar os filmes controle, a gelatina (G) foi hidratada em água destilada (5g de gelatina/100 mL de água) a 20-25°C/10 min. Após, foi aquecida em agitador magnético até atingir 60°C. Para filme contendo chá verde (CV), o extrato foi dissolvido em 100 mL de água a 25°C, para posterior incorporação da gelatina em pó. Nos filmes contendo NL, a gelatina foi hidratada em 100 mL da nanoemulsão. Naqueles que continham CV e NL, a mesma quantidade de extrato foi dissolvida em 5 mL de água e, em seguida, adicionado à nanoemulsão.

Foram preparados quatro tipos de filmes pela técnica de "casting", filme de gelatina pura (FG), filme de gelatina com extrato de chá verde (FGCV), filme de gelatina com nanoemulsão de limão (FGNL) e filme de gelatina com extrato de chá verde e nanoemulsão de limão (FGCVNL), mantidos em temperatura ambiente durante 24h. Antes da caracterização dos filmes, as amostras foram acondicionadas em dessecador contendo sílica, durante 24h a 25°C, mantendo uma umidade relativa constante de 30%.

2.2.2 Permeabilidade ao Vapor de Água (PVA)

A determinação da permeabilidade ao vapor de água baseou-se no método modificado ASTM E96-80 (ASTM, 1980) a 25°C e 50% de UR, com 5 repetições através de pesagens periódicas das celas contendo as amostras. Foi utilizada sílica como material dessecante.

2.2.3 Solubilização em água

As amostras (4 cm de diâmetro) foram imersas, separadamente, em 100 mL de água destilada a 70°C, sem agitação, com a finalidade de registrar em um cronômetro digital o tempo necessário para que cada amostra se dissolvesse completamente. O teste foi feito em triplicata.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Permeabilidade ao Vapor de Água

A Fig. 1 apresenta os valores de PVA para FG, FGCV, FGNL e FGCVNL. É possível observar que filmes contendo extrato de chá verde e filmes com nanoemulsão de limão apresentaram aumento nos valores de permeabilidade em relação aos filmes de gelatina. FGCVNL teve valor de permeabilidade acima de FGCV e semelhante a FGNL. Entretanto, considerando-se o desvio-padrão de cada amostra, FGCV, FGNL e FGCVNL possuem valores próximos de permeabilidade. Outros estudos têm relatado que o valor de PVA se deve às características microestruturais do filme, relacionadas à formação de uma superfície heterogênea e aumento da porosidade com a adição dos componentes na matriz de gelatina. Além disso, a presença do óleo essencial de limão dificulta a interação entre as cadeias de gelatina, diminuindo suas forças intermoleculares e facilitando a passagem de moléculas de água (ATARÉS, 2010; COZMUTA, 2015).

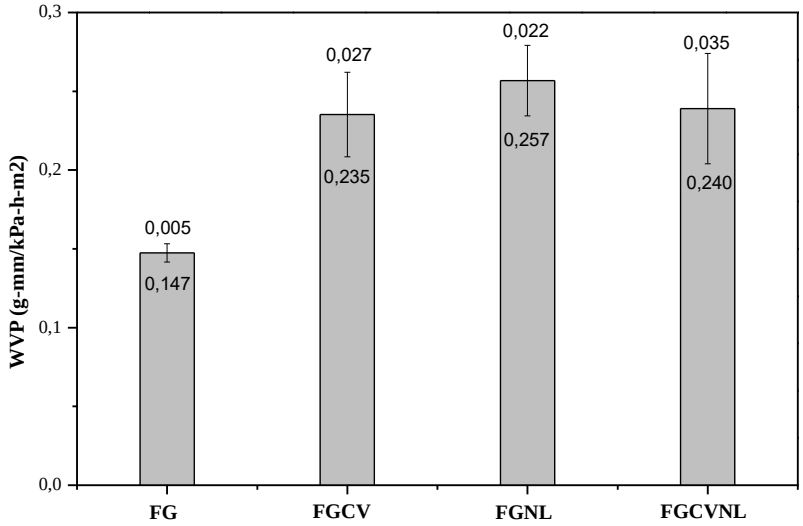


Figura 1. Valores de PVA para os filmes de gelatina, gelatina com CV, gelatina com NL e gelatina com CV e NL.

3.2 Solubilização em água

Na Tabela 1 é possível observar o tempo (em minutos) necessário para que cada amostra se solubilize em água destilada a 70°C. FG apresentou o menor tempo (2,98 min) para se dissolver completamente, enquanto FGCV apresentou o maior (36,88 min). FGNL apresentou tempo intermediário em relação aos filmes de gelatina e filmes de gelatina com extrato de chá verde, enquanto FGCVNL se dissolveu em uma média de 26,11 minutos.

Tabela 1. Tempo em minutos para solubilização das amostras.

Amostras	Tempo de solubilização (min)	Espessura média (mm)
FG	2,980 ± 0,05	0,0290 ± 0,0010
FGCV	36,88 ± 0,32	0,0300 ± 0,0012
FGNL	15,90 ± 0,57	0,0297 ± 0,0026
FGCVNL	26,11 ± 0,06	0,0353 ± 0,0015

FG: filme de gelatina; FGCV: filme de gelatina com extrato de chá verde; FGNL: filme de gelatina com nanoemulsão de limão; FGCVNL: filme de gelatina com extrato de chá verde e nanoemulsão de limão.

Observou-se que com a adição da nanoemulsão de limão em filmes de gelatina com chá verde houve diminuição do tempo de solubilização, sendo esta característica interessante para utilização desse tipo de filme em algumas aplicações. As nanopartículas do óleo essencial nos filmes de chá verde possivelmente não se encontram dispersas de forma homogênea devido às interações existentes entre a matriz de gelatina e os componentes do extrato, dificultando sua distribuição ao longo da matriz, o que pode gerar o afastamento das cadeias poliméricas e regiões de maior caráter hidrofílico

do que outras. Esse efeito também justifica a maior permeação de vapor de água nos filmes de gelatina contendo CV e NL e o aumento do tempo necessário para solubilização de FGCVNL em comparação com FG (COZMUTA, 2015).

4 CONCLUSÃO

Todos os filmes se formaram satisfatoriamente e, ao serem analisados subjetivamente, apresentaram boa homogeneidade (coloração uniforme e ausência de partículas insolúveis, a olho nu), continuidade (ausência de fraturas após a secagem) e maneabilidade (capacidade de manipulação dos filmes). Através da análise de PVA, observou-se que com a adição de óleo essencial de limão e extrato de chá verde houve aumento da permeabilidade ao vapor de água e aumento do tempo necessário para os filmes se dissolverem.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPESP, CNPq, CAPES, UNESP e EMBRAPA.

REFERÊNCIAS

ACOSTA, A. et al. Antifungal films based on starch-gelatin blend, containing essential oils, v. 61, p. 233-240, 2016.

ALPARSLAN, Y. et al. Quality assessment of shrimps preserved with orange leaf essential oil incorporated gelatin. LWT - Food Science and Technology, v. 72, p. 457-466, 2016.

ASTM E96-80. Standard test methods for water vapor transmission of materials. In: Annual book of ASTM standards. 1980, 897.

ATARÉS, L.; BONILLA, J.; CHIRALT, A. Characterization of sodium caseinate-based edible films incorporated with cinnamon or ginger essential oils. Journal of Food Engineering, v. 100, p. 678-687, 2010.

COZMUTA, A. M. et al. Preparation and characterization of improved gelatin films incorporating hemp and sage oils. Food Hydrocolloids, v. 49, p. 144-155, 2015.

ETXABIDE, A. et al. Development of active gelatin films by means of valorization of food processing waste: A review. Food Hydrocolloids, v. 68, p. 192-198, 2017.

FANG, Z. et al. Active and intelligent packaging in meat industry. Trends in Food Science & Technology, v. 61, p. 60-71, 2017.

GIMÉNEZ, B. et al. Antioxidant properties of green tea extract incorporated to fish gelatin films after simulated gastrointestinal enzymatic digestion. LWT - Food Science and Technology, v. 53, p. 445-451, 2013.

KAVOOSI, G. et al. Effects of essential oil on the water binding capacity, physico-mechanical properties, antioxidant and antibacterial activity of gelatin films. Food Science and Technology, v. 57, p. 556-561, 2014.

MOHAJER, S.; REZAEI, M.; HOSSEINI, S. F. Physico-chemical and microstructural properties of fish gelatin/agar bio-based blend films. Carbohydrate Polymers, v. 157, p. 784-793, 2017.

MUSSO, Y. S.; SALGADO, P. R.; MAURI, A. N. Smart edible films based on gelatin and curcumin. Food Hydrocolloids, v. 66, p. 8-15, 2017.

INFLUÊNCIA DA ADIÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA E POLPA DE CUPUAÇU NA PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA DE FILMES À BASE DE PECTINA

Pamela Thais S. Melo[1]*, Juliana C. Nunes[1], Marcos V. Lorevice[2], Juliana Reghine Souza[2], Luiz H. C. Mattoso[2], Fauze A. Aouada[1], Marcia R. de Moura[1]

1- UNESP – Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Grupo de Compósitos e Nanocompósitos Híbridos (GCNH), Departamento de Física e Química (DFQ), Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais, Faculdade de Engenharia da Unesp de Ilha Solteira (FEIS), Ilha Solteira, SP.
2 – Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP.
E-mail: pamelathais_@hotmail.com

Classificação: Desenvolvimento de nanocompósitos a partir de fontes renováveis.

Resumo
Os resíduos gerados pelo descarte de embalagens não biodegradáveis têm crescido a cada ano causando impactos do ponto de vista ambiental. Uma forma de atenuar o problema é a produção de embalagens biodegradáveis obtidas a partir de polímeros naturais. Boa parte dos resíduos plásticos provém da indústria de alimentos, o que tem estimulado pesquisas no desenvolvimento de filmes comestíveis. Uma estratégia para melhorar as propriedades dos filmes é a incorporação de materiais nanoestruturados às matrizes. O trabalho objetivou a produção de filmes biodegradáveis à base de pectina, polpa de cupuaçu e nanopartículas de quitosana. As nanoestruturas apresentaram tamanho médio de 110 nm e potencial zeta em torno de +40 mV. Os filmes foram produzidos por "casting" e apresentaram características satisfatórias, tais como manuseabilidade, homogeneidade e continuidade. A adição da polpa e das nanoestruturas causou um aumento da permeabilidade ao vapor de água.

Palavras-chave: Pectina; Nanopartículas de quitosana; Polpa de cupuaçu.

INFLUENCE OF THE ADDITION OF CHITOSAN NANOPARTICLES AND CUPUASSU PUREE IN WATER VAPOUR PERMEABILITY OF PECTIN FILMS

Abstract
The residues generated by the disposal of non-biodegradable packaging has grown every year and is an environmental serious problem. One way of decrease the problem is the production of biodegradable packages obtained from natural polymers. Much of the plastic waste generated comes from the food industry, which has stimulated research into the development of edible films. One strategy to improve film properties is the incorporation of nanostructured materials in the matrices. The work aimed at the production of biodegradable films based on pectin, cupuassu puree and chitosan nanoparticles. The nanostructures had an average size of 110 nm and zeta potential around +40 mV. The films were produced by casting and presented satisfactory characteristics, such as maleability, homogeneity and continuity. The addition of puree and nanostructures caused an increase in water vapor permeability.
Keywords: Pectin; Chitosan nanoparticles; Cupuassu puree.

Publicações relacionadas:
Melo, P. T. S. et al. Influência da adição de nanopartículas de quitosana e polpa de cupuaçu na permeabilidade ao vapor de água de filmes à base de pectina. Apresentou no 14° CBPOL (Congresso Brasileiro de Polímeros) – 2017. Águas de Lindóia/SP.

1 INTRODUÇÃO

Os plásticos destinados a envolver alimentos são responsáveis por produzir milhões de toneladas de resíduos anualmente e por esse motivo, o interesse em se pesquisar o uso de polímeros

naturais como matéria-prima para a produção de embalagens alimentícias vem aumentando (SUN et al., 2015). Atualmente, o mercado global tem buscado oferecer produtos e alimentos com mais qualidade e segurança em virtude de uma crescente demanda, já que os consumidores estão cada vez mais exigentes e mais preocupados com a qualidade de vida, saúde e bem-estar. Por esse motivo, estão sendo desenvolvidas embalagens biodegradáveis, dentre elas, os chamados "filmes comestíveis" que são materiais que além de servirem como barreira entre o meio externo e o alimento, são ecologicamente corretos e podem ainda auxiliar no aumento de tempo de prateleira de certos produtos (CERQUEIRA et al., 2011).

No entanto, tais filmes apresentam algumas propriedades desfavoráveis, como por exemplo, altas taxas de permeabilidade a vapores de água quando comparados às embalagens tradicionais, limitando sua utilização. Por este motivo, estudos têm sugerido a adição de materiais nanoestruturados em matrizes poliméricas com o intuito de melhorar suas propriedades. O presente trabalho propõe a síntese de nanopartículas de quitosana para serem adicionadas às soluções formadoras de filmes contendo pectina e polpa de cupuaçu.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Síntese das nanopartículas de quitosana

As nanopartículas (NPs) de quitosana (QS) foram sintetizadas utilizando o método de gelatinização ionotrópica, que consiste na adição de uma solução aquosa de TPP (tripolifosfato de sódio) em uma solução de quitosana em meio ácido (CALVO et al., 1997).

A QS foi solubilizada em uma solução de ácido acético sob agitação magnética constante a 500 rpm por 6 horas à temperatura ambiente. A solução de TPP foi preparada e adicionada à solução de quitosana. As concentrações finais de QS e TPP foram, respectivamente, 0,214% (m/v) e 0,06% (m/v) (MOURA et al., 2009).

A razão entre a solução de QS e TPP que foram misturadas foi de 2,5:1. O processo de adição da solução de TPP à solução de quitosana também foi feito mediante agitação magnética contínua a 500 rpm com taxa de adição controlada de 1mL/min através do uso de uma bomba de seringa.

Preparo dos filmes

Os filmes foram preparados pela técnica de "casting", que consiste no preparo de uma solução coloidal e posterior deposição em suporte para secagem em condições controladas.

Os filmes foram preparados através de uma solução coloidal contendo 50 g de água, 48 g de polpa de cupuaçu e 2 g de pectina (filmes sem nanoestruturas) e filmes contendo 50 g de solução de NPs de QS, 48 g de polpa de cupuaçu e 2 g pectina (filmes nanoestruturados). A proporção de pectina, polpa de fruta e água foi a mesma nos filmes contendo ou não as nanoestruturas.

As soluções foram deixadas em repouso para que ocorresse a saída de bolhas e posteriormente espalhadas em suporte retangular para que houvesse a evaporação do solvente à temperatura ambiente (27 ºC a 30 ºC) por 48 h.

Caracterizações

Valores de permeabilidade ao vapor de água foram determinados a partir do método modificado ASTM E96-80, utilizado para determinar a umidade relativa (RH) dos filmes (MCHUGH et al., 1993). Para cada tipo de filme foram utilizadas 3 amostras cortadas em formato circular. A média da espessura de cada amostra foi obtida por micrômetro digital e utilizada para os cálculos de WVP. As amostras foram fixadas sobre células de Teflon® contendo 6 mL de água destilada e foram armazenadas em estufa com temperatura e umidade controladas. Suas massas foram aferidas periodicamente a fim de se obter os valores de WVP.

O tamanho médio das partículas foi analisado em um aparelho Malvern. A carga superficial das nanopartículas foi analisada por um Zeta Potencial Analyser. As medidas foram realizadas à temperatura de 25 ºC e em triplicata.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os filmes apresentaram aspecto homogêneo e contínuo, ligeira transparência e maleabilidade satisfatória. Também apresentaram características sensoriais desejáveis. A adição da polpa de cupuaçu agregou cor e aroma aos filmes, o que é de extrema importância para a aceitação por parte dos consumidores, já que os filmes são projetados para serem aplicados na área de alimentos. A adição das nanoestruturas não causou perda das propriedades sensoriais do filme, o que também é um resultado bastante satisfatório. A figura 1 se refere aos filmes de cupuaçu e pectina (P2CU) e cupuaçu, pectina e NPs de QS (P2CUNP) com o objetivo de mostrar a transparência dos mesmos. As siglas foram escritas em uma folha de papel branca e as amostras dos filmes foram colocadas sobre a legenda.

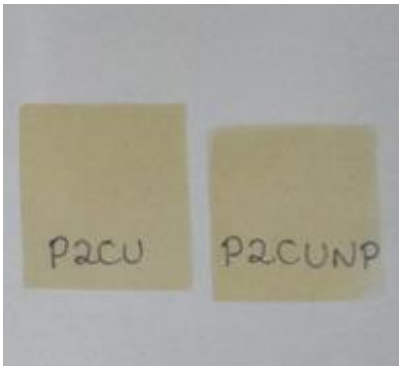


Figura 1. Imagem digital dos filmes contendo polpa de cupuaçu

As nanopartículas apresentaram tamanho médio em torno de 110 ± 4 nm. O tamanho das NPs está relacionado às concentrações de quitosana e TPP e também com a taxa de adição do tripolifosfato de sódio à solução de quitosana (CALVO et al., 1997).

As soluções apresentaram potencial zeta de aproximadamente +40 mV. O valor de potencial zeta obtido é favorável para formação de suspensões de partículas estáveis, uma vez que são superiores, em módulo, a +20 mV (MOURA et al., 2009). O potencial zeta depende do tamanho de partícula, quanto maior o tamanho da partícula, maior será a concentração de íons NH_3^+, e, consequentemente, maiores valores de potencial zeta serão obtidos (LOREVICE et al., 2014).

Os valores de permeabilidade ao vapor de água dos filmes encontram-se na tabela 1. Após as análises pôde-se constatar que os menores valores de WVP foram observados nos filmes contendo apenas pectina. Com a adição da polpa de cupuaçu, a permeabilidade dos filmes aumentou (Tabela 1). A polpa de fruta contém açúcares que atuam como plastificantes, aumentando a mobilidade das cadeias de pectina e, consequentemente, aumentando o tamanho dos poros, contribuindo para uma maior difusão de moléculas de vapores de água no material (LOREVICE et al., 2014).

Tabela 1. Valores de WVP dos filmes

Filmes	WVP (g mm/kPa h m^2)
Pectina	0,415 ± 0,008
Pectina + polpa	1,616 ± 0,041
Pectina + polpa + NPs	1,683 ± 0,046

A adição das nanoestruturas não provocou mudanças significativas nos valores de permeabilidade ao vapor de água. De acordo com Giancone et al. (2011), as propriedades de barreira a vapores de água em filmes de pectina são influenciadas não só pela presença de nanopartículas de quitosana, como também pelo grau de metoxilação (AM). Lorevice et al. (2016) relataram que em filmes de pectina AM, a adição de NPs não causavam mudança significativa na permeabilidade ao vapor de água.

Outra explicação seria a interação das nanoestruturas com componentes da polpa, uma vez que foram utilizadas polpas de cupuaçu integrais que contém grande concentração de fibras e outros componentes insolúveis, não modificando a quantidade de hidroxilas livres presentes na pectina que poderiam interagir com moléculas de água.

4 CONCLUSÃO

Foi possível concluir que o uso de filmes comestíveis é promissor uma vez que seu uso pode ajudar a diminuir a geração de resíduos plásticos. Além disso, podem exercer funções importantes na área de embalagens para alimentos, desde às de barreira, como também agregando valor nutricional aos produtos por eles embalados. A adição de polpa de cupuaçu forneceu características sensoriais interessantes e também contribuiu para um aumento da permeabilidade ao vapor de água dos filmes. A adição de nanopartículas de quitosana não causaram mudanças significativas nos valores de WVP.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à UNESP, CAPES, CNPq e FAPESP e EMBRAPA.

REFERÊNCIAS

American Society for Testing and Materials - ASTM. Standard test method for water vapor transmission of materials E96 - 80. In: Annual Book of American Standard Testing Methods. Philadelphia, American Society for Testing and Materials, 1980.

CALVO, P. et al. Novel hydrophilic chitosan-polyethylene oxide nanoparticles as protein carrier. Journal of Applied Polymer Science, v. 63, p. 125-132, 1997.

CERQUEIRA, M. A. et al. Galactomannans use in the development of edible films/coatings for food applications. Trend in Food Science & Technology, v. 22, p. 662-671, 2011.

GIANCONE, T. et al. Effect of surface density on the engineering properties of high methoxyl pectin-based edible films. Food and Bioprocess Technology, v. 4, p. 1228-123, 2011.

LOREVICE, M. V. et al. Chitosan nanoparticles on the improvement of thermal, barrier, and mechanical properties of high - and low - methyl pectin films. Food Hydrocolloids, v. 52, p. 732-740, 2016.

LOREVICE, M. V.; MOURA, M. R.; MATTOSO, L. H.C. Nanocompósito de polpa de mamão e nanopartículas de quitosana para aplicação em embalagens. Química nova, v. 37, p. 931-936, 2014.

MASSART, B. et al. Data structures and data transformations for clustering chemical data. Trends in Analytical Chemistry, v. 20, n. 1, p. 35-41, 2001.

McHUGH, T. H.; AVENA-BUSTILLOS, R.; KROCHTA, J. M. Hydrophilic edible films: modified procedure for water vapor permeability and explanation of thickness effects. Journal of Food Science, 1993. v. 58, p. 899-903, 1993.

MOURA, M. R. et al. 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.

SUN, X. et al. Evaluation of energy consumption and greenhouse gas emissions from poly (phenyllactic acid) production using sweet sorghum. Journal of Cleaner Production, v. 87, p. 208-215, 2015.

EXTRAÇÃO DE NANOCRISTAIS DE CELULOSE BACTERIANA PRODUZIDA EM SUCO DE CAJU

José Aurélio Pinheiro[1], Nagila Freitas Souza[2], Ana Lídia de Almeida Castro[3], Morsyleide de Freitas Rosa[4], Maria Cléa Brito de Figueirêdo[5]

[1]Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, Rio Grande do Norte, Brasil
[2,3]Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará, Brasil
[4,5]Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, Ceará, Brasil
Email de contato: joseaureliopinheiro@gmail.com

Classificação: Desenvolvimentos de nanocompósitos a partir de fontes renováveis.

Resumo
Este trabalho analisa o desempenho ambiental da extração de nanocristais obtidos a partir de celuloses bacterianas produzidas em suco de caju tratadas através de duas metodologias diferentes. Foram realizadas quatro caracterizações nos nanocristais obtidos: FTIR, ATG, DRX e Potencial Zeta. As quatro análises permitiram avaliar se as nanoestruturas de celulose produzidas seriam consideradas para aplicação como possível reforço em matrizes poliméricas. Os NCCs tiveram bons índices de cristalinidade (81 a 84%), apresentaram-se estáveis (potencial zeta entre -62/-35 mV) e mostraram-se estáveis termicamente (T_{Onset} entre 206ºC e 281°C). Portanto, os nanocristais obtidos apresentam potencial para serem empregados como agentes de reforço em matrizes poliméricas.
Palavras-chave: Nanoestruturas; Bactérias; Resíduos.

EXTRACTION OF BACTERIAL CELLULOSE NANOCRYSTALS PRODUCED IN CASHEW JUICE

Abstract
This work analyzes the environmental performance of the extraction of nanocrystals obtained from bacterial celluloses produced in cashew juice treated through two different methodologies. Four characterizations were obtained in the obtained nanocrystals: FTIR, ATG, XRD and Zeta Potential. As four analyzes allowed to evaluate if as nanostructures of cellulose produced would be considered for application as possible reinforcement in polymer matrices. The NCCs had crystal doses (81 to 84%), were stable (zeta potential between -62 / -35 mV) and were thermally stable (TOnset between 206 ° C and 281 ° C). Thus, the obtained nanocrystals have already been published as agents of reforestation in polymer matrices.
Keywords: Nanostructures; Bacteria; Waste.

1 INTRODUÇÃO

Obtida a partir de fontes renováveis, a celulose consiste da união entre monômeros de D-glicopiranose (cadeia cíclica da glicose). A celulose pode ser sintetizada por bactérias do gênero espécie *Gluconacetobacter*, sendo conhecida como celulose bacteriana (CB) (LIMA, 2015). A celulose bacteriana é produzida em meios de cultura compostos por açúcares e outros nutrientes adequados para o crescimento dos microrganismos. (BARUD, 2010; WANG et al., 2011).

Nos últimos anos, a fim de diminuir os custos de produção de celulose bacteriana e agregar valor aos resíduos agroindustriais, tem havido uma preocupação crescente na busca de meios de cultura alternativos com base em outras fontes de açúcares. Dentre esses meios, surge o suco de caju (CASTRO, 2011). A celulose bacteriana mostra-se como excelente fonte de celulose para a extração de nanocristais (NCC). Nanocristais de celulose são domínios cristalinos de celulose isolados por meio de hidrólise ácida ou enzimática. (LIMA, 2015). Nesse contexto, o objetivo desse trabalho foi extrair os nanocristais e caracterizá-los a fim de avaliar se eles seriam considerados para aplicação como possível reforço em matrizes poliméricas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Suco de caju, meios de cultura e condições de cultivo

O suco de caju foi obtido a partir da prensagem do pedúnculo. Para o preparo do meio suplementado, é requerida concentração de 20 g/l de concentração de açúcares e pH igual a 5. Os meios foram sequencialmente suplementados com extrato de levedura e peptona na concentração de 5 g/l, a fim de se aproximarem do meio padrão HS com composição descrita por Hestrin & Schramm (1954).

O microrganismo da linhagem Gluconacetobacter hansenii ATCC 53582 foi ativado em meio HS esterilizado e incubado a 30ºC por 48 horas em B.O.D. Para o preparo do inóculo, adicionou-se 3% (v/v) da cultura em um meio HS também esterilizado e incubou-se a 30°C por 72 horas. Utilizou-se ainda 3% (v/v) de inóculo, e a linhagem foi incubada a 30°C (B.O.D) por 10 dias sob cultivo estático.

2.2 Purificação das películas de CB por processo convencional

Depois da fermentação, as películas foram purificadas através de tratamento alcalino baseado em GEA et al. (2011) e GEORGE et al. (2008). Uma primeira remessa foi purificada com NaOH 2%. Primeiramente, após serem lavadas com água corrente, as películas foram imersas duas vezes com água destilada por uma hora, a 80°C. Em seguida, elas foram imersas, novamente, por uma hora em solução de NaOH 2%, a 80ºC. Uma segunda remessa não passou por nenhum processo de purificação, elas foram apenas autoclavadas afim de remover restos de meio de cultura.

2.3 Hidrólise Ácida

Obtiveram-se nanocristais por hidrólise ácida combinada com HCl 37% e H_2SO_4 60% de 1 g de celulose bacteriana de cada metodologia. Em seguida, os nanocristais foram centrifugados, ultrassonicados e dialisados.

2.4 Caracterização Química

2.4.1 Análise Termogravimétrica (ATG)

A estabilidade térmica das CBs e dos nanocristais foi avaliada por Termogravimetria (TG) em um equipamento da marca Perkin Elmer modelo STA 6000, sob taxa de aquecimento de 10 °C/min, de 30 a 800º C, sob atmosfera inerte com fluxo de 40 mL/min.

2.4.2 Análise de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros vibracionais na região do Infravermelho foram obtidos utilizando-se um espectrofotômetro Perkin Elmer modelo de FT-IR/NIR Frontier, analisado em ATR com cristal de seleneto de zinco na faixa de números de onda de 4000 a 550 cm^{-1}.

2.4.3 Análise de Difração de Raio-X (DRX)

Para identificar a cristalinidade dos materiais através dos valores dos índices de cristalinidade, as medidas de Difração de Raios X das CBs e de seus respectivos nanocristais obtidos foram realizadas em um difratômetro modelo Xpert MPD, com tubo de Cobre (Cu).

2.4.4 Análise de potencial Zeta

O potencial Zeta mensura a presença de cargas superficiais na partícula, indicando o grau de repulsão entre as partículas igualmente carregadas. O Analisador de Nanopartículas com Potencial Zeta da marca Malvern Instruments, modelo Zetasizer Nano-ZS foi utilizado.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de potencial zeta avalia o caráter eletrostático da suspensão de nanocelulose, bem como sua estabilidade promovida pelo aumento da força iônica ocasionada pelos grupos hidroxilas da celulose. (WICAKSONO et al., 2013). De acordo com Silva et al. (2012), potenciais zeta com módulo superior a 30 mV indicam estabilidade. Portanto, nota-se na Tabela 1, que as suspensões de nanocristais de celulose bacteriana apresentaram altos valores de cargas superficiais negativas e, consequentemente, boa estabilidade.

Tabela 1. Resultados de Potencial Zeta, DRX e ATG.

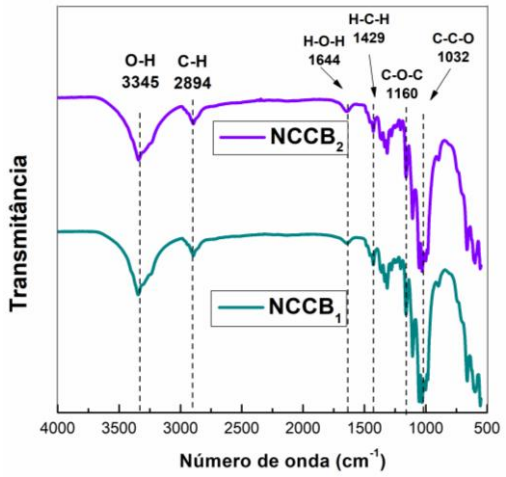
Resultados de Potencial Zeta, DRX e ATG				
Nanocristais de Celulose Bacteriana	**Potencial Zeta (mV)**	**DRX – Índice de cristalinidade (%)**	**ATG – T*onset* em °C (1º Evento)**	**ATG – T*onset* em °C (2º Evento)**
$NCCB_1$	-62,5 ± 6,3	84,31	206	437
$NCCB_2$	-35,2 ± 2,5	81,84	281	442

$NCCB_1$: Nanocristais provenientes de celulose bacteriana purificada com NaOH 2%
$NCCB_2$: Nanocristais provenientes de celulose bacteriana apenas autoclavada.

No caso do resultado de ATG, o primeiro evento corresponde à presença de grupos sulfatos, que faz com que o processo de degradação de celulose seja dividido em duas etapas. A primeira etapa corresponde à reação de degradação da celulose nas unidades de cadeia que contém grupos sulfatos e a segunda etapa corresponde à quebra da fração cristalina na qual não foi atacada pelo ácido sulfúrico. (LIMA et al., 2015). O segundo e último evento é ocasionado devido a carbonizados da celulose (DHAR et al., 2016).

Os índices de cristalinidade para os nanocristais $NCCB_1$ e $NCCB_2$ foram 84,31% e 81,84%, respectivamente. Esses resultados mostram que os nanocristais apresentam índice de cristalinidade superior ao de celuloses bacterianas. O aumento da cristalinidade verificado após a hidrólise ácida ocorre devido a remoção das regiões amorfas a partir das celuloses purificadas (ZAIN, YUSOP & AHMAD, 2014).

Figura 1. FTIR dos nanocristais de celulose obtidos $NCCB_1$ e $NCCB_2$.



Segundo a Figura 1, os nanocristais apresentam bandas em torno de 3345, 2894, 1644, 1429, 1160 e 1032 cm-1, que podem ser atribuídas às vibrações de estiramento de ligações características de celulose. (PANDEY, 1999; PAVIA, 2008).

4 CONCLUSÃO

Foi possível obter e caracterizar as suspensões de nanocristais a partir das celuloses bacterianas (NCCB) produzidas em suco de caju. Os nanocristais de CB obtidos apresentaram potencial para serem empregados como agentes de reforço em matrizes poliméricas. Contudo, os $NCCB_1$, obtidos de películas de CB purificadas, podem ser mais indicados no reforço de materiais destinados a área biomédica, farmacológica e alimentícia. Enquanto, os $NCCB_2$ obtidos a partir de

uma CB não purificada podem ser direcionados a outras aplicações menos nobres como reforço em materiais automobilísticos, vestuários, estruturas de engenharia civil, entre outras.

AGRADECIMENTOS

FUNCAP, CAPES, Embrapa Agroindústria Tropical.

REFERÊNCIAS

BARUD, H. G. O. et al. A multipurpose natural and renewable polymer in medical applications: Bacterial cellulose. Carbohydrate Polymers, v. 153, p. 406-420, 2016.

CASTRO, Cristina et al. Structural characterization of bacterial cellulose produced by Gluconacetobacter swingsii sp. from Colombian agroindustrial wastes. Carbohydrate Polymers, v. 84, n. 1, p. 96-102, 2011.

DHAR, P. et al. Acid functionalized cellulose nanocrystals and its effect on mechanical, thermal, crystallization and surfaces properties of poly (lactic acid) bionanocomposites films: A comprehensive study. Polymer, v. 101, p. 75-92, 2016.

GEA, S. et al. Investigation into the structural, morphological, mechanical and thermal behaviour of bacterial cellulose after a twostep purification process. Bioresource Technology, v. 102, p. 9105-9110, 2011.

GEORGE, J. et al. Enhancement of thermal stability associated with the chemical treatment of bacterial (Gluconacetobacter xylinus) cellulose. Journal of Applied Polymer Science, v. 108, p. 1845-1851, 2008.

HESTRIN, S.; SCHRAMM, M. Synthesis of cellulose by Acetobacter xylinum. Preparation of freeze-dried cells capable of polymerizing glucose to cellulose. Biochemical Journal, v. 58, p. 345-352, 1954.

LIMA, L. R. et al. Nanocristais de celulose a partir de celulose bacteriana. Química Nova, v. 38, n. 9, p. 1-8, 2015.

PANDEY, K. K. A study of chemical structure of soft and hardwood and wood polymers by FTIR spectroscopy. Journal Applied Polymers Science, v. 71, p. 1969-1975, 1999.

PAVIA, D.; LAMPMAN, G.; KRIZ, G.; VYVYAN, J. Introduction to spectroscopy, [S.l.]: Cengage Learning, 2008.

SILVA, H. D. et al. Nanoemulsions for Food Applications: Development and Characterization. Food and Bioprocess Technology, v. 5, n. 3, p. 854-867, 2012.

WANG, Neng; DING, Enyong; CHENG, Rongshi. Thermal degradation behaviors of spherical cellulose nanocrystals with sulfate groups. Polymer, v. 48, n. 12, p. 3486-3493, 2007.

WICAKSONO, R. et al. Cellulose Nanofibers from Cassava Bagasse: Characterization and Application on Tapioca-Film. Chemistry and Materials Research, v. 313, n. 13, p. 2225-956, 2013.

ZAIN, N. F. M.; YUSOP, S. M.; AHMAD, I. Preparation and Characterization of Cellulose and Nanocellulose From Pomelo (Citrus grandis) Albedo. Journal of Nutrition & Food Sciences, v. 5, n. 1, p. 10-13, 2014.

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE COMPÓSITOS POROSOS A BASE DE ALGINATO HIDROXÂMICO/NANOTUBOS DE CARBONO.

(Aline Margarete Furuyama Lima[a*], Marcelo de Freitas Lima[a], Odílio Benedito Garrido Assis[b], Alice Raabe[b], Hemelen Caroline Amoroso[a], Vera Aparecida de Oliveira Tiera[a], Marcio José Tiera[a]

([a]Instituto de Biociências, Letra e Ciências Exatas, UNESP- Univ Estadual Paulista, Campus São José do Rio Preto, Departamento de Química e Ciências Ambientais
[b] Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro, 1452, C.P. 741, 13560-970 São Carlos, Brasil.)
amflima@gmail.com

Classificação: Desenvolvimentos de nanocompósitos a partir de fontes renováveis.

Resumo
Os nanotubos de carbono apresentam excelentes propriedades térmicas e elétricas, aliado a sua boa estabilidade química e resistência mecânica. Entretanto, a melhora nas propriedades físico-química de compósitos com a introdução de nanotubos de carbono, depende da dispersão e da interação química dessas nanopartículas com a matriz polimérica. Este estudo teve como objetivo a preparação e caracterização de novos compósitos a base de alginato hidroxâmico (HXA) e nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNT) e avaliar a melhora nas propriedades destes compósitos em relação ao polímero puro. Os compósitos foram preparados após a dispersão de diferentes concentrações de nanotubos de carbono (1, 2, 4 e 6% em massa) na solução polimérica, seguido do congelamento e liofilização. A interação e a dispersão das nanopartículas com a matriz polimérica foram confirmadas por espectroscopia no infravermelho, calorimetria exploratória diferencial e microscopia eletrônica de varredura. Além disso, o aumento da concentração de nanotubos de carbono promoveu o aumento do módulo de elasticidade e a diminuição da razão de intumescimento.
Palavras-chave: Alginato de sódio; Nanotubos de carbono; Derivatização química; Compósitos.

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF POROUS NANOCOMPOSITES BASED ON HYDROXAMIC ALGINATE/CARBON NANOTUBES

Abstract
Carbon nanotubes exhibit excellent thermal and electrical properties, as well as their good chemical stability and mechanical resistance. However, the improvement in the physicochemical properties of nanocomposites with the introduction of carbon nanotubes depends on the dispersion and chemical interaction of these nanoparticles with the polymer matrix. The aim of this study was to develop new composites scaffolds based on hydroxamic alginate (HXA) and multi-walled carbon nanotubes (MWCNT) and to evaluate the improvement in the properties of these composites as compared to pure polymer. The composites scaffolds were prepared after the dispersion of different concentrations of carbon nanotubes (1, 2, 4 and 6% wt) in the polymer solution, followed by freezing and lyophilization. The interaction and dispersion of nanoparticles in the polymer matrix were confirmed by infrared spectroscopy, differential scanning calorimetry and scanning electron microscopy. The incorporation of increase amount of carbon nanotube resulted in nanocomposites with higher Young's modulus and decreased sweeling ratio.
Keywords: Sodium alginate; Carbon nanotubes; Chemical derivatization; Composites.

Publicações relacionadas: Resumo apresentado no XVI Brazil MRS Meeting-Gramado-RS, 10-14 Setembro de 2017.

1 INTRODUÇÃO

O interesse e o desenvolvimento de novos materiais de baixa toxicidade, biodegradável e de fonte renovável tem sido crescente pela indústria e centros de pesquisas. Entre os polímeros de origem

natural, o alginato de sódio é um polissacarídeo aniônico obtido principalmente de alga marrom. Quimicamente, o alginato é um copolímero composto pelas unidades de ácido β-D- manurônico (M) e ácido α-L- gulurônico (G) unidas por ligações glicosídicas 1 →4 (SMIDSROD;SKJAKBRAEK, 1990). Uma das maneiras de alterar as propriedades físico-químicas mantendo as propriedades desejáveis, como a baixa toxicidade e biodegradabilidade, é modificar a estrutura química do polissacarídeo. Nesse contexto, os alginato de sódio apresenta grupos funcionais em sua cadeia polimérica que podem ser quimicamente modificados. Dentre as metodologias para derivatização química do alginato, a síntese do derivado hidroxâmico de alginato origina derivados com atividades biológicas interessantes, como por exemplo, derivados com atividade antioxidante (LIU et al.,2007).

Com o intuito de melhorar as propriedades do derivado de alginato de sódio, principalmente as propriedade mecânicas, compósitos porosos de alginato hidroxâmico com a adição de diferentes concentrações de nanotubos de carbono de parede múltipla (0, 1, 2, 4 e 6% massa) serão preparados pelo método de liofilização. Os compósitos porosos foram caracterizados por espectroscopia na região do infravermelho (FTIR), microscopia eletrônica de varredura (MEV), análise elementar, além do valor do módulo de elasticidade obtido por medidas no texturômetro.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os compósitos porosos foram preparados utilizando alginato de sódio (Sigma-Aldrich) e N,N′-diciclohexilcarbodiimida (DCC) foram adquiridos da Sigma-Aldrich e nanotubos de carbono de parede múltipla foi adquirido da empresa cheaptubes.com (Cambridgeport, VT, USA).

2.1 Síntese do derivado hidroxâmico de alginato (HXA)

Alginato hidroxâmico (HXA) foi preparado de acordo com a literatura (ALKHATIB, 2006) com algumas modificações. Solução de alginato de sódio (5g) foi preparada pela dissolução em água deionizada (250mL) durante 12h sob agitação magnética. O pH foi ajustado para 3-4 com adição de algumas gotas de solução de ácido clorídrico (1M). DCC (4,96 g) foi adicionado a solução polimérica para ativa 100% dos grupos carboxílicos. A seguir, excesso de cloridrato de hidroxilamina foi adicionado (7g) na solução polimérica e o pH foi elevado para 6. Após 2h, o pH foi ajustado para 9, e a reação foi mantida sob agitação durante 24h. O derivado foi obtido por filtração e precipitação com adição de 10mL de ácido clorídrico e 250mL de acetona. A seguir, o derivado foi dialisado (MWCO12-14,000g.mol^{-1}) contra água deionizada durante 7 dias e liofilizado.

2.2 Preparação dos compósitos porosos de HXA/MWCNT

Os compósitos de alginato hidroxâmico com nanotubos de carbono de camada múltipla, denominados de HXA/MWCNT, foram preparados com a adição de diferentes concentrações de MWCNT (0, 1, 2, 4 e 6 % em massa) na solução polimérica previamente preparada (3g/L). Os nanotubos de carbono foram dispersos na solução polimérica com o auxílio de um banho ultrasônico (Unique) durante 1h. A seguir, a solução de HXA/MWCNT foi transferida para uma placa de 96 poços, congelados e liofilizados. Os compósitos com diferentes concentrações de MWCNT foram designados de: 1%HXA/MWCNT, 2%HXA/MWCNT, 4%HXA/MWCNT e 6% HXA/MWCNT, sendo a concentração de nanotubos de carbono especificada pelo número. Os compósitos porosos foram reticulados em solução de $CaCl_2$ (5g/L), lavadas várias vezes com água deionizada, novamente congelados e liofilizados.

2.3 Caracterização dos compósitos porosos

Os compósitos porosos de HXA/MWCNT, além do alginato de sódio e o derivado hidroxâmico foram caracterizados utilizando um espectrofotômetro de infravermelho ATR-FTIR (VERTEX 70 FT-IR). Os espectros foram recordados entre 4000-400 cm^{-1}, com resolução de 4 cm^{-1} e 32 scans para cada amostra. O alginato de sódio e o derivado hidroxâmico foram submetidos a análise elementar em um analisador elementar CHN Perkin-Elmer modelo 2400 (Perkin-Elmer, UK). Para observar os MWCNT dispersos nos compósitos porosos, os mesmos foram analisados em um

microscópio eletrônico de varredura, MEV-FEG (FEG-SEM JEOL JSM-6701F). A razão de intumescimento foi medida utilizando 3 amostras previamente secas para determinara a massa inicial (M_I). A seguir, os compósitos foram imersos um frasco contendo 5mL de solução tamponada pH 7,4 em mantido sob agitação em uma banho termostatizado a 37^{o}C e 120 revoluções por minuto durante diferentes períodos de tempo. Após período de tempo pré-determinado, os compósitos foram removidos da solução tamponada e o excesso de solução na superfície foi removida com papel de filtro para obtenção da massa final (M_F). A RI foi calculada utilizando a Equação 1, sendo M_F a massa do compósito poroso no tempo t e M_I a massa do filme no tempo inicial.

$$RI = \frac{M_F - M_I}{M_I} \times 100 \quad (1)$$

As medidas para determinação do módulo de elasticidade foram realizadas em um texturômetro TA.XT.Plus/50 (Stable Micro Systems Godalming) previamente calibrado com peso padrão de 5 kg. Foi utilizada uma probe de alumínio de 19 mm, com velocidade de 1mm/s, que comprimiu axialmente 30% da amostra, à temperatura de 25º C. A coleta dos dados e a construção das curvas de tensão versus deformação foram realizadas pelo programa Texture Exponent 32 (Stable Micro Systems Godalming, England). Os valores do módulo de compressão dos compósitos porosos foram obtidos da curva de tensão versus deformação. Amostras cilíndricas foram preparadas nas mesmas condições com diâmetro de 6 mm e altura de 8 mm foram utilizadas na avaliação.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A derivatização química do alginato de sódio foi confirmada utilizando análise elementar e o grau de substituição de 9%, foi calculado de acordo com a porcentagem de nitrogênio obtida do derivado. Os resultados de FTIR também confirmaram a modificação química da estrutura do alginato de sódio, com a presença no espectro do alginato hidroxâmico da banda em 1638cm^{-1} relacionada ao grupo hidroxâmico (ALKHATIB, 2006). Além disso, a presença da banda a 1741cm^{-1} está relacionada a deformação da carbonila de ácido carboxílico. Nos compósitos, o aumento da concentração de nanotubos de carbono promove a diminuição da intensidade da banda relacionada a deformação da carbonila de ácido carboxílico a 1741cm^{-1} e o deslocamento da banda da carbonila do grupo hidroxâmico para menor comprimento de onda de1638 cm^{-1} para 1604cm^{-1} (dados não apresentados). A Figura 1 apresenta a dispersão do nanotubos de carbono na matriz polimérica, bem como sua interação. A Figura 1a mostra que a dispersão dos nanotubos de carbono na solução de alginato hidroxâmico foi homogênea se mantém estável sem agitação após 24h.

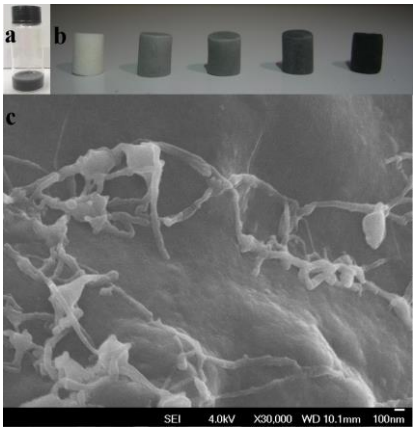
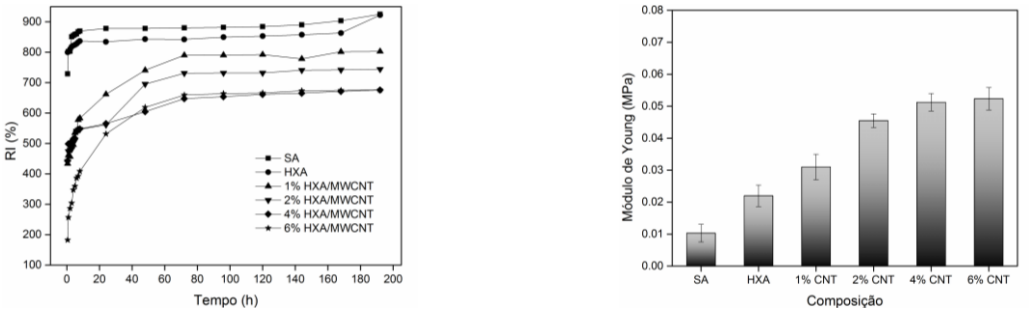


Figure 1. Fotografia da dispersão dos nanotubos de carbono em solução de alginato hidroxâmico (a) e dos compósitos porosos com diferentes concentrações de nanotubos de carbono (b) e micrografia em alta resolução do compósito poroso 2% HXA/MWNCT (c).

Como pode ser visualizado na Figura 1b, a medida que a concentração dos nanotubos de carbono aumenta, a coloração dos compósito torna-se mais escura, Na Figura 1c, os nanotubos de carbono se apresentam dispersos e com nítida interação interfacial com a matriz polimérica.

Os compósitos apresentaram razão de intumescimento menor que os polissacarídeos puros e diminui com o aumento da concentração de nanotubos de carbono (Figura 2a). Esse resultado sugere a interação das nanopartículas com o alginato hidroxâmico que resulta na limitação da mobilidade da cadeia polimérica (KAWAGUCHI, 2006). A Figura 2b mostra que o módulo de elasticidade é dependente da concentração de nanotubos de carbono no compósito.



(a) (b)

Figure 2. Razão de intumescimento (a) e módulo de elasticidade (b) dos compósitos porosos.

O valor do módulo de elasticidade do compósito com 2% em massa de nanotubos de carbono é cerca de duas vezes maior que a matriz do alginato hidroxâmico puro. O mesmo comportamento foi observado para outros compósitos (ZILI, 2016; HAIDER, 2007).

4 CONCLUSÃO

A derivatização do alginato de sódio foi realizada com a obtenção do alginato hidroxâmico com grau de substituição de 9%, de acordo com resultados de análise elementar. Os resultados obtidos por espectroscopia na região do infravermelho, microscopia eletrônica de varredura e razão de intumescimento confirmaram a interação dos nanotubos de carbono com a matriz polimérica, além do aumento do módulo de elasticidade dos compósitos.

AGRADECIMENTOS

CAPES, CNPq, Rede AgroNano (Embrapa) e MCTI/SisNANO.

REFERÊNCIAS

SMIDSROD, O.; SKJAKBRAEK, G. Alginate as immobilization matrix for cells.Trends Biotechnology, v.8, n.3, p.71-78,1990.

LIU,Y.-H.;CHUANG, M.T.; HOU, W.-C. Methanol-soluble, β-elimination products from preparations of alginic acid hydroxamate exhibited DPPH scavenging and angiotensin converting enzyme inhibitory activities. Botanical Studies, v. 48, p.141-146, 2007.

ALKHATIB, H.S. et al. Synthesis and in vitro behavior of iron-crosslinked N-methyland N-benzyl hydroxamate, d derivatives of alginic acid ascontrolled release carriers. European Polymer Journal, v. 42, n.10, p. 2464–2474, 2006.

KAWAGUCHI, M. et al. Preparation of carbon nanotube-alginate nanocomposite gel for tissue engineering. Dental Materials Journal, v. 25, n.4, p. 719-725, 2006.

ZILI, L. et al. Effect of multiwalled carbon nanotube-grafted polymer brushes on the mechanical and swelling properties of polyacrylamide composite hydrogels. Polymer, v.85, n.24, p. 67-76, 2016.

Haider, S. et al. Swelling and electroresponsive characteristics of gelatin immobilized onto multi-walled carbon nanotubes. Sensors and Actuators B: Chemical, v.124, n.2, p.517-528, 2007.

CARACTERIZAÇÃO POR DRX DE BIOCOMPÓSITOS A BASE DE PLA CARREGADOS COM RESÍDUOS DO CAROÇO DE MANGA E NANO-ORGANO-ARGILOMINERAL

Edla Maria Bezerra Lima[1], Antonieta Middea[2], Jessica Fernandes Pereira[3], Ingrid Cristina S. Pereira[4], Natália Rodrigues R. Santos[4], Renata Nunes Oliveira[5], Reiner Neumann[2]

[1]Embrapa Agroindústria de Alimentos, edla.lima@embrapa.br, [2]Centro de Tecnologia Mineral - CETEM [3]Fund. Centro Universitário Estadual da Zona Oeste - UEZO, [4]Departamento de Engenharia Química - UFRRJ;[5]Programa da Pós-graduação em Engenharia Química- PPGEQ/DEQ/UFRRJ.

Classificação: Desenvolvimento de nanocompósitos a partir de fontes renováveis.

Resumo

A agroindústria do suco de manga gera uma grande quantidade de resíduos, como o caroço de manga. O objetivo deste trabalho é a caracterização da estrutura cristalina de diversos biocompósitos desenvolvidos a base desses residuos, em matriz de Poli(ácido lático) (PLA), com adição ou não de nanocargas de organo-argilominerais para desenvolvimento de embalagens de alimentos, por casting. A técnica de difratomeria de Raios-X (DRX) foi eficiente para identificar: a) os argilominerais montmorilonita (bentonita) presentes na fração argila e validar o processo de organifilização necessário para compatibilizar as cargas entre o argilomineral e a matriz de PLA, b) degradação cristalina do PLA comercial pela dissolução por cloroformio durante o processamento por casting, c) aumento da cristalinidade devido a interação do PLA com as nanocargas da montmorilonita organofilizada, d) comportamento inerte da casca e amêndoa do caroço de manga com o PLA, que manteve suas caracteristicas semi-cristalinas inalteradas, ampliando a fase amorfa na estrutura dos biocompostos desenvolvidos. Conclui-se que a organofilização das montmorilonitas, utilizada como carga de reforço, foi eficiente para aumentar a cristalinidade dos biocompósitos de PLA quando utilizados com ou sem os resíduos da casca e amêndoa do caroço de manga por casting.
Palavras-chave: Biocompósito; Organo-argilominerais; PLA; DRX, Manga

XRD CHARACTERIZATION OF PLA BIOCOMPOSITES LOADED WITH MANGO SEED RESIDUES AND NANO-ORGANO-MONTMORILLONITE

Abstract

The mango juice industry is responsible for a considerable amount of residues, e.g. mango seeds. The goal of this work is the characterization of the structure of PLA-mango seed residues biocomposites (intended for packaging applications) produced by casting, with or without the addition of nano-organo-montmorillonite particles. The XRD technique identified that (a) there was montmorillonite particles in the original clay and it validated the organophilization process of the clay in order to make it compatible with the PLA matrix; (b) PLA degradation by its dissolution in chloroform in order to process it by casting; (c) Increased crystallinity due to interactions between PLA-nano-organo-montmorillonite clay; (d) inert behaviour of the mango seeds fibers and almond (core) when blended with PLA, which kept its semi-crystalline characteristics unaltered. Nonetheless, the presence of mango components enhanced the amount of amorphous phase of the biocomposites. It can be concluded that the organophilization of montmorillonite clay, used as reinforcing filler, was efficient to increase the crystallinity of PLA biocomposites when used with or without the residues of fibers and almond (core) of the mango by casting.

Keywords: biocomposite, organo-clay, PLA; DRX, Mango.

1 INTRODUÇÃO

O processo produtivo no campo e, principalmente o de beneficiamento industrial do suco de manga e outros subprodutos produzem um rejeito representado pelas cascas e caroços que compõem o resíduo correspondente a 40% do peso total da fruta (LOBO, 2003).

Atualmente, devido à quantidade de rejeito, busca-se a substituição do plástico sintético (polímero advindo do petróleo) por novos materiais que tenham a mesma resistência e razão custo-benefício, para tanto, estudam-se os polímeros naturais modificados, em especial biocompósitos / nanocompósitos poliméricos com argila (PCN) adicionado de fibras vegetais como carga de reforço. Nesses materiais, a interação sinérgica entre as fases orgânicas e inorgânicas podem dar origem a materiais com novas propriedades diferentes daquelas dos materiais originais. A interação por intercalação destes polímeros em nanoescala é promovida principalmente pela elevada superfície específica das nano-cargas, o que produz materiais com melhor resistência mecânica, maior estabilidade térmica, resistência a riscos e danos, a barreira de gás e resistência às chamas. Muitas pesquisas utilizam argilas sintéticas tais como a laponite, uma hectorite de composição Na0.7 $[(Mg_5.5Li0_4)\ Si_8O_20\ (OH\ )_4]$, que segundo alguns estudos apresenta algumas vantagens sobre as argilas naturais, como por exemplo a ausência de impurezas (sílica, óxidos de ferro, carbonatos, etc) e fórmula química bem definida (AOUADA, 2012).

Estabelecer uso para este volume de resíduo gerado pela atividade da mangicultura tem sido um desafio que pesquisadores têm enfrentado no Brasil e no mundo e, na Embrapa vem se desenvolvendo o projeto *"Desenvolvimento de biomateriais nano estruturados a partir de caroço de manga adicionados de argilominerais, PHB e PLA",* (Embrapa, 2014) em parceria com o Centro de Tecnologia Mineral – CETEM e a Engenharia de Materiais da UFRRJ que visa o uso dos resíduos da agroindústria da manga em mistura com nano organo-argilominerais em matriz de Poli(ácido lático) (PLA) também. O presente trabalho tem como objetivo o estudo da cristalinidade pela técnica de difratometria de Raios-X (DRX) dos biocompósitos desenvolvidos em mistura de casca e amêndoa do caroço de manga e de organo-argilominerais como carga em matriz de PLA.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Para manufatura dos biocompósitos utilizou-se PLA (L175*, Corbion Purac®), resíduos de caroço de manga (frações do caroço de manga obtidas a partir de 360Kg de manga espada despolpada termicamente gerando 41Kg de caroço de manga. Os caroços de manga foram lavados em água corrente, secos em estufa de circulação de ar a 55ºC por 48hs, quebrados manualmente para separação da casca e da amêndoa; redução de cada fração por moagem e remoagem (<1mm) - moinho de faca/martelo TREU sem tela) e material argiloso (50g da Terra Fina das camadas Chocolate e Bofe da Mina Morro Branco/RN, onde inicialmente se recolheu, sobre lavagem, o material passante na peneira de 270 *mesh* (53µm). O material recolhido por densimetria (Lei de Stokes) foi separado, sendo a fração argila concentrada e a fração silte descartada (LIMA, 1994). A fração argila concentrada foi seca em liofilizador (Edward Pirani 501 de 6l). Para identificar o tipo de argilomineral presente, a amostra foi glicolada com etileno glicol por 12h, calcinada a 550^0C em mufla por 1h para determinar a distância interplanar segundo o método de Bragg (LIMA, 1994) na análise de DRX e, organofilizada para se tornar compatível com a matriz polimérica utilizando um sal quartenário de amônio, brometo de cetil trimetil amônio (CTAB), usando uma concentração acima de sua concentração micelar crítica (CMC), (MIDDEA, 2017).

O desenvolvimento dos biocompósitos por Casting se processou pela dissolução de (8g) de PLA em (52ml) clorofórmio PA (Merck), sob agitação e, quando dissolvido, adicionou-se as frações do caroço de manga e dos argilominerais nas proporções de (0,7g) em mistura. Todos as matérias primas em estado natural e tratado e os biocompósitos tiveram sua estrutura cristalina caracterizados no equipamento de difração de Raios-X Bruker-AXS D8 Advance Eco D8, radiação Cu Ka (40 KV/25 mA), variação angular 2θ= (2°-40°), com passos de 0,01° e detector LynxEye XE.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Caracterização da Casca e Amêndoa do Caroço de Manga

O difratograma da amêndoa do caroço de manga caracteriza-a com uma estrutura semicristalina do tipo A por apresentar picos intensos nos espaços interplanares (d) em (5,9; 5,2 e 3,8) Å e para Mestres (1996) é classificado pela distância angular 2Θ ocorrer em 15°, 17°, 18° e 23°. Os difratogramas da casca do caroço de manga caracterizaram sua estrutura como sendo celulose do tipo II, com os picos característicos "2Θ" situados entre os ângulos 13°≤ 2Θ ≤15° e 18°≤ 2Θ ≤22°, conforme Lengowski et al. (2013). Esta estrutura semicristalina é formada em 3 planos, onde parte das ligações intermoleculares de hidrogênio não são formadas (WANG et al., 2011) o que torna a energia livre dessa conformação menor e as ligações mais fáceis de serem quebradas. A forte correlação entre o tipo cristalino de celulose e sua cinética durante a hidrólise mostram uma melhor acessibilidade para a celulose II do que para a celulose I (18°≤ 2Θ ≤19° e 22°≤ 2Θ ≤23°) e menor que para a sua fase amorfa.

3.2. Identificação e Caraterização dos Argilominerais Naturais e Organofilizados

Os argilominerais foram caracterizados como Montmorillonita do grupo da Esmectita e, comercialmente denominada Bentonita mediante as variações das distancias basais segundo os tratamentos e tabelas de (BRINDLEY e BROWN, 1980), tabela I.

Tabela I: Identificação da Montmorilonida pelo Método de Bragg

Montmorillonita	Distancia interbasal (Å) do pico principal			
	Natural	Glicolada	Aquecida **(550˚C)**	Organofilizada
Bofe	15.52	16.74	9.47	19.83
Chocolate	15.14	17.11	9.78	19.58

3.3. Caraterização dos Biocompósitos

A degradação da cristalinidade do PLA comercial foi significativa durante o processo de dissolução do PLA por clorofórmio (casting). Fato comprovado no difratograma pela diminuição da intensidade e modificação da distância interplanar do pico principal de (5.3790 Å) para (5.2217 Å), fig.1a.

Os biocompósitos desenvolvidos com a casca (PLA+casca), amêndoa (PLA+amêndoa) do caroço de manga ou com ambos (PLA+casca+amêndoa), tiveram apenas implementação da fase amorfa nos difratogramas dos biocompósitos sem modificação da distância basal do pico principal do PLA e extinção dos picos da casca e da amêndoa. Os biocompósitos desenvolvidos com cargas das nano-organo-argilas (PLA organobofe) e (PLA+organochocolate) tiveram sua fase cristalina intensificada com os difratogramas apresentando aumento da intensidade e modificação da distância basal do pico principal do PLA de (5.2092 Å) para (5.2253 Å) com eliminação do pico principal da nano-organochocolate (20.3091 Å) e a fase amorfa quase inalterada, fig. 1.b, demonstrando perfeita interação química e cristalográfica entre o PLA e as nano-organo-argilas durante o casting. Já os biocompósitos desenvolvidos a base de (PLA+casca+amêndoa+organobofe) e (PLA+casca+amêndoa+organochocolate) tiveram ambas as fases (cristalinas e amorfas) intensificadas com a mudança de posição do pico principal do PLA de (5.2253 Å) para (5.3156 Å) com colapso dos picos principais da nano-organo-argilas, da amêndoa e da casca, fig. 1.b.

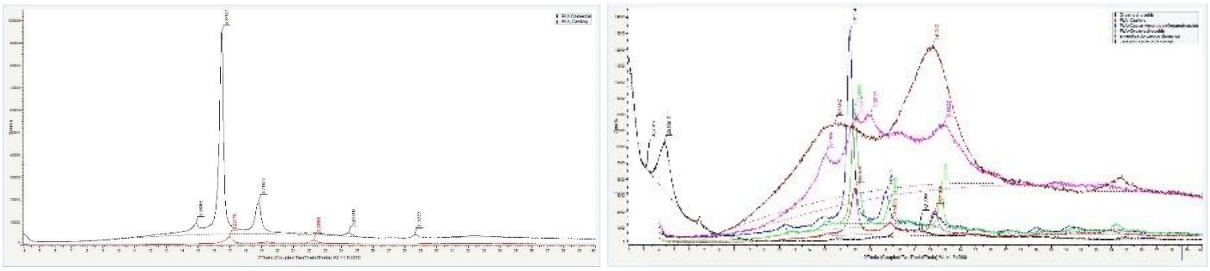


Figura 1: **a**) difratograma do PLA comercial (preto) e após casting (vermelho); **b**) difratogramas das matérias primas {organochocolate (preto); amêndoa (rosa) e casca do caroço de manga (marrom)} e biocompósitos {PLA casting (vermelho); PLA+casca+amendoa+organochocolate (azul) e PLA+organochocolate (verde)}.

4 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados pode-se concluir que o processo de organofilização das montmorilonitas foi efetiva e que a possibilidade de serem usadas como cargas de reforço no desenvolvimento de biocompósitos de PLA é promissor, inclusive se acrescida dos resíduos da casca e amêndoa do caroço de manga por casting.

REFERÊNCIAS

AOUADA, F.A.; MATTOSO, L.H.C.; LONGO, E. Análises por DSC e propriedades de processamento de nanocompósitos baseados em argila laponita. In: WORKSHOP DA REDE DE NANOTECNOLOGIA APLICADA AO AGRONEGÓCIO, 6, 2012, Fortaleza, Embrapa Agroindústria, p. 294-296. 2012. http://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/934071.

BRINDLEY, G. W. and BROWN, G. Crystal Structures of Clay Minerals and their X-Ray Identification. 2th ed. Mineralogical Society, 1980. 495p.

EMBRAPA: Projeto SEG 03.14.001.00.00 Desenvolvimento de biomateriais nano estruturados a partir de caroço de manga adicionados de argilominerais e poli(3-hidroxibutirato) – PHB, 2014, Documento Interno.

LENGOWSKI, E. C. et al. Avaliação de métodos de obtenção de celulose com diferentes graus de cristalinidade. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 41, n. 98, p. 185-194, jun. 2013.

LIMA, E. M. B. Caracterização química e mineralógica de perfis de alteração, em biotita-gnaisse, no Município do Rio de Janeiro. Tese Mestrado. lnstituto de Geociencias – UFRJ, Rio de Janeiro, 1994, 142p.

LOBO, A. R., LEMOS SILVA, G.M. Amido resistente e suas propriedades físico-químicas. Revista Nutrição, 2003.Campinas – SP, p.220.

MESTRES, C. A rapid method for determination of amylose content by using differential scanning calorimetry. **Starch/Starke**, v.48, p. 2-6, 1996.

MIDDEA, A., SPINELLI, L. S., SOUZA JUNIOR, F. G., NEUMANN, R., FERNANDES, T. L. A. P., GOMES, O. F. M. Preparation and characterization of an organo-palygorskite-Fe_3O_4 nanomaterial for removal of anionic dyes from aqueous solutions. Applied Clay Science, vol. 139, pp. 45-53, 2017.

WANG, L.; WANG, Y. Rice starch isolation by neutral protease and high-intensity ultrasound. **Journal of Cereal Science**, [s.l.], v. 39, n. 2, p.291-296, mar. 2004. Elsevier BV.

CAPÍTULO 7

Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio

ADSORÇÃO DE CONTAMINANTES ORGÂNICOS EM NANOFIBRAS COMPÓSITAS DE PMMA-ÓXIDO DE GRAFENO REDUZIDO

Luiza A. Mercante,[1,2] Murilo H. M. Facure,[1,3] Danilo A. Locilento,[1,3] Rafaela C. Sanfelice,[4] Fernanda L. Migliorini,[1] Luiz H. C. Mattoso,[1,2] Daniel S. Correa[1,3]

[1]Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio (LNNA), Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP. [2]Departamento de Engenharia de Materiais, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP. [3]Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP. [4]Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG. lamercante@gmail.com

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio

Resumo
Materiais nanoestruturados 1D, como as nanofibras, tem se mostrados muito atraentes para o desenvolvimento de estratégias eficazes e economicamente viáveis para o tratamento de águas residuais. Neste contexto, relatamos a obtenção de nanofibras compósitas de poli(metil metacrilato) funcionalizadas com óxido de grafeno reduzido (PMMA-rGO), pela técnica de fiação por sopro em solução, para adsorção do corante azul de metileno (MB). Interações do tipo π-π foram consideradas a principal força motriz para o processo de adsorção espontânea do MB na superfície das nanofibras e a capacidade máxima de adsorção do material compósito foi de 698,51 mg/g, abrindo novas possibilidades para remediação eficiente de poluentes orgânicos.
Palavras-chave: Nanofibras; Fiação por Sopro em Solução; Grafeno; Adsorção de corante.

ADSORPTION OF ORGANIC POLLUTANTS ON COMPOSITE NANOFIBERS OF PMMA-REDUCED GRAPHENE OXIDE

Abstract
1D nanostructured materials, such as nanofibers, are very attractive, especially for the development of economic and effective approaches for wastewater treatment. In this regard, we report the fabrication of composite membranes using solution blow spun poly(methylmethacrylate) nanofibers wrapped with reduced graphene oxide (PMMA-rGO) to adsorb methylene blue (MB) dye. The π–π stacking interactions were considered to be the major driving force for the spontaneous adsorption of MB and the maximum adsorption capacity was 698.51 mg/g. The developed nanocomposite shows great potential for decolorizing dyeing wastewater aimed at industrial and environmental remediation applications.
Keywords: Nanofibers; Solution Blow Spinning; Graphene; Dye adsorption.

Publicações relacionadas: MERCANTE, L. A.; FACURE, M. H.; LOCILENTO, D. A.; SANFELICE, R. C.; MIGLIORINI, F. L.; MATTOSO, L. H. C.; CORREA, D. S. Solution blow spun PMMA nanofibers wrapped with reduced graphene oxide as an efficient dye adsorbent. New Journal of Chemistry, v. 41, p. 9087-9094, 2017.

1 INTRODUÇÃO

Com a rápida industrialização e urbanização ao longo das últimas décadas, questões ambientais, como poluição do ar, da água e de outros recursos naturais têm sido uma grande preocupação global (DEBLONDE; COSSU-LEGUILLE; HARTEMANN, 2011). Neste cenário, corantes provenientes de processos industriais são uma das principais fontes de poluição da água. Dentre as muitas técnicas empregadas para a remediação dessa classe de poluentes, os processos de adsorção vêm se apresentando como uma alternativa, devido a sua alta eficiência (WANG; HSIAO, 2016). Neste contexto, tentativas de desenvolver novos materiais eficazes e de baixo custo para serem empregados na remediação de corantes vêm sendo exploradas.

Nanomateriais compósitos baseados em grafeno apresentam propriedades que vem sendo recentemente exploradas para a descontaminação ambiental (LIU; ZHOU; JIANG, 2014). A capacidade de adsorção desses materiais depende fortemente dos grupamentos disponíveis na superfície do grafeno para interagir com os poluentes e da dispersão do material em meio aquoso. Embora a variedade de grupamentos oxigenados presentes na superfície do óxido de grafeno (GO) proporcione ao material hidrofilicidade, estes grupos podem suprimir as interações π-π com poluentes orgânicos aromáticos. A redução do óxido de grafeno é uma estratégia que permite a recuperação das capacidades de adsorção do GO, devolvendo seu caráter hidrofóbico e estrutura de elétrons π-deslocalizada. No entanto, devido à restruturação dos anéis aromáticos, as folhas de óxido de grafeno reduzido (rGO) tendem a se agregar, reduzindo assim o número de locais de adsorção potencial da superfície do grafeno (OROZCO et al., 2016). Uma alternativa promissora para superar este processo de agregação indesejável é imobilizar o rGO em substratos de baixo custo. Neste contexto, nanofibras poliméricas se apresentam com um material suporte ideal para imobilização de folhas de rGO, devido à sua elevada área superficial e facilidade de obtenção.

Recentemente, o processo de fiação por sopro em solução (SBS, do inglês *Solution Blowing Spinning*) tem se mostrado como uma tecnologia promissora para obtenção de micro e nanofibras poliméricas de morfologias e diâmetros variados (MEDEIROS et al., 2009). Em comparação com uma das técnicas de fabricação de fibras mais empregadas, a eletrofiação, a técnica de SBS se destaca por ter alta taxa de produtividade e ser capaz de produzir fibras em escala comercial, sem a necessidade do uso de uma fonte de altas voltagens. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi desenvolver nanofibras fiadas por sopro em solução com alta capacidade de adsorção de compostos químicos, visando a descontaminação de água contaminadas com corantes. Especificamente, membranas de nanofibras compósitas de poli(metil metacrilato) funcionalizadas com óxido de grafeno reduzido (PMMA-rGO) foram preparadas, sendo que o azul de metileno (MB) foi empregado como adsorbato modelo.

2 MATERIAL E MÉTODOS

As nanofibras foram preparadas a partir de uma solução contendo 10% (m/v) de PMMA em clorofórmio:acetona (3:1) e os parâmetros utilizados durante o processo de fiação foram: taxa de ejeção de 7,2 mL h^{-1}, pressão do ar de 3 bar e distância entre a ponta da agulha e o coletor de 12 cm. Para funcionalização das nanofibras com GO, as mantas fiadas foram primeiramente submetidas a tratamento com plasma de ar por 30 segundos e, em seguida, imersas em uma dispersão de GO (0,5 mg/L) por 1h. Após o tempo de imersão, as mantas foram lavadas com água destilada e secas a temperatura ambiente. Para redução do GO presente na superfície das fibras, as mesmas foram adicionadas a uma solução 0,3 mg/mL de ácido ascórbico. A mistura foi deixada sob agitação por 48h, lavadas com água destilada e secas a temperatura ambiente. Após cada etapa de funcionalização, as amostras foram caracterizadas pelas técnicas de microscopia eletrônica de varredura, espectroscopia na região do infravermelho e ângulo de contato.

Para o estudo de adsorção, 15 mg das nanofibras de PMMA-rGO foram imersas em 50 mL de uma solução aquosa do corante MB (100 mg/L). Essa solução permaneceu sob agitação constante por 60 min a temperatura ambiente. Foram retiradas alíquotas no intervalo de tempo variando de 0 a 60 minutos e a porcentagem de material adsorvido foi estudada utilizando a técnica de espectroscopia de absorção na região do UV-Vis, no intervalo de comprimento de onda entre 400 e 800 nm.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nanofibras de PMMA com diâmetro médio de 694 nm foram obtidas pela técnica de SBS. Após obtenção das fibras, a superfície das mesmas foi funcionalizada com GO. Nesta etapa, foi avaliada a influência do pré-tratamento da superfície com plasma no processo de adsorção do GO. Verificou-se que a membrana polimérica que teve a superfície modificada pelo plasma apresentou uma maior concentração de GO na superfície e um recobrimento mais homogêneo, quando comparada à amostra sem tratamento e que o pré-tratamento não alterou as propriedades morfológicas das fibras, se mostrando como uma excelente estratégia para melhorar a adsorção do GO.

Após a obtenção das nanofibras de PMMA-GO, foi realizada a redução *in situ* do GO, empregando-se como agente redutor o ácido ascórbico. A redução do GO e a formação do material

compósito foi estudada for espectroscopia de FTIR. Para as nanofibras de PMMA-GO, pode-se observar o aparecimento de três bandas, uma em 3396 cm^{-1} relativa a vibração da ligação O-H, outra em 1648 cm^{-1} associada à ligação C=C e a terceira em 1294 cm^{-1} característica da ligação C-O. Após a redução do GO, foi possível observar uma diminuição na intensidade da banda relativa à ligação O-H e o desaparecimento do pico característico da ligação C-O, confirmando a formação do compósito PMMA-rGO.

Com o intuito de se provar que o material desenvolvido pode ser aplicado como adsorvente em processos de descontaminação, foi escolhido como analito modelo o corante azul de metileno. Este composto foi selecionado por apresentar uma estrutura predominante planar e com anéis aromáticos, apresentando assim uma grande área para interações do tipo π-π com o rGO. A eficiência do processo de adsorção do corante na plataforma funcionalizada foi avaliada pela técnica de espectroscopia de absorção no UV-Vis. Os resultados obtidos no intervalo de 0 a 60 min estão representados na Figura 1a. Observa-se que, com o passar do tempo, as bandas relativas ao MB diminuem de intensidade, indicando a adsorção das moléculas do corante na superfície das fibras de PMMA-rGO. A partir desses dados pode-se calcular que, no tempo t = 60 min, o percentual de remoção do corante foi de 93%, mostrando que as fibras de PMMA-rGO são eficientes para aplicação como materiais adsorventes. A eficiência da capacidade de adsorção das fibras de PMMA e PMMAGO também foram avaliadas e os dados obtidos estão ilustrados na Figura 1b. Esse resultado sugerem que a capacidade de adsorção superior das nanofibras de PMMA-rGO está associada ao caráter hidrofóbico das folhas de rGO e à consequente capacidade desse material em realizar ligações π-π com as moléculas do corante.

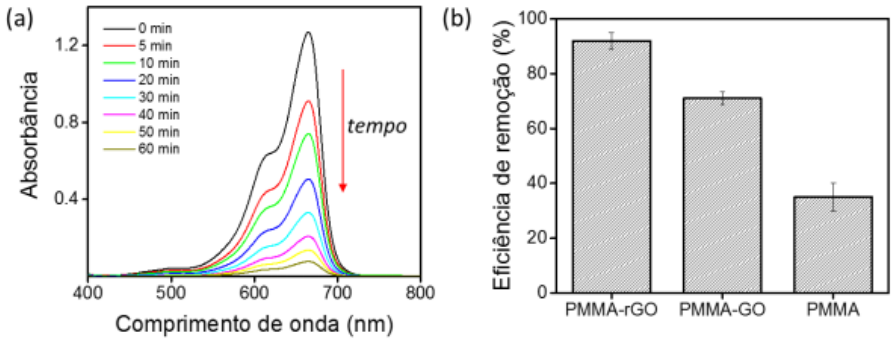


Figura 1. (a) Espectros de absorção UV-Vis da solução de MB para os diferentes tempos de adsorção e (b) eficiência de remoção do MB para os diferentes tipos de nanofibras: PMMA, PMMA-GO e PMMA-rGO. Figura adaptada de (MERCANTE et al., 2017).

Para se obter uma melhor compreensão do mecanismo de adsorção envolvido, avaliou-se a extensão da remoção com o tempo e com a concentração do corante e os dados obtidos foram ajustados a fim de se obter os parâmetros cinéticos e das isotermas envolvidos no processo de adsorção. Verificou-se que a adsorção do MB segue o modelo de pseudo-segunda ordem, com um coeficiente de correlação R^2 de 0,994, e os dados de equilíbrio de adsorção foram melhores ajustados usando a isoterma de Langmuir (R^2 = 0,993). Sendo assim, encontrou-se a capacidade máxima de adsorção ($q_{máx}$) igual a 698,51 mg de MB por g de nanofibras.

4 CONCLUSÃO

Neste trabalho, apresentamos uma estratégia eficiente de descontaminação de água contaminadas com corantes baseada na adsorção do azul de metileno na superfície de nanofibras compósitas de PMMA-rGO. O material compósito foi preparado empregando-se a técnica de SBS seguida por um processo de três etapas: i) tratamento da superfície de PMMA com plasma, ii) adsorção do GO e iii) redução in situ do GO. As nanofibras de PMMA revestidas com óxido de grafeno reduzido apresentaram capacidade de adsorção superior quando comparada às nanofibras de PMMA e PMMA-GO. Os resultados demonstraram que o mecanismo cinético de adsorção do azul de metileno segue o modelo de pseudo-segunda ordem e os dados de equilíbrio de adsorção foram

melhores ajustados usando a isoterma de Langmuir. O conceito empregado neste trabalho pode ainda ser estendido visando a fabricação de membranas poliméricas que possam ser aplicadas para adsorção de metais pesados, pesticidas, bem como para remoção de bactérias em amostras de leite contaminadas, o que abre novas possibilidades para o desenvolvimento de materiais para remediação ambiental.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPESP (2012/23880-3, 2015/13140-0, 2014/16789-5, 2017/12174-4), CAPES (PNPD20131474 – 33001014004P9), CNPq (402.287/2013-4 e 303.796/2014-6), ao MCTI/SISNANO e à Rede Agronano-EMBRAPA pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

DEBLONDE, T.; COSSU-LEGUILLE, C.; HARTEMANN, P. Emerging pollutants in wastewater: A review of the literature. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 214, n. 6, p. 442–448, 2011.

LIU, Q.; ZHOU, Q.; JIANG, G. Nanomaterials for analysis and monitoring of emerging chemical pollutants. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 58, p. 10–22, 2014.

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, n. 4, p. 2322–2330, ago. 2009.

MERCANTE, L.; FACURE, M.; LOCILENTO, D.; SANFELICE, R.; MIGLIORINI, F.; MATTOSO, L. H.; CORREA, D. Solution blow spun PMMA nanofibers wrapped with reduced graphene oxide as efficient dye adsorbent. **New Jornal of Chemistry**, v. 41, p. 9087–9094, 2017.

OROZCO, J.; MERCANTE, L. A.; POL, R.; MERKOÇI, A. Graphene-based Janus micromotors for the dynamic removal of pollutants. **Journal of Materials Chemistry A**, v. 4, n. 9, p. 3371–3378, 2016.

WANG, X.; HSIAO, B. S. Electrospun nanofiber membranes. **Current Opinion in Chemical Engineering**, v. 12, p. 62–81, 2016.

ESTUDO DE PARÂMETROS DA ELETROFIAÇÃO DE POLÍMERO BIODEGRÁDAVEL E FUTURAS APLICAÇÕES EM SISTEMAS DE LIBERAÇÃO DE FÁRMACO

Rodrigo Schneider, Daniel S. Correa

[1,2]*Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio (LNNA), Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP.*
[1,2,]*Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP*

Classificação: Novos materiais e processo em nanotecnologia e suas aplicações em agronegócio.

Resumo
A utilização de sistemas capazes de promover a liberação de nutrientes, fármacos e agrotóxicos encapsulados em matrizes poliméricas biodegradáveis mostram-se promissores. Neste contexto, a técnica de eletrofiação será empregada no presente trabalho com o objetivo de produzir micro- e nanofibras de polímero biodegradável. Portanto, foram estudadas diversas condições experimentais focando-se em dois parâmetros da eletrofiação, a concentração polimérica e vazão. A morfologia das fibras foi avaliada usando imagens de MEV.

Palavras-chave: Eletrofiação, Polímeros biodegradáveis, Blenda, Ecovio.

ELECTROSPINNING PARAMETERS STUDY OF BIODEGRADABLE POLYMERS AND FUTURE APPLICATIONS IN RELEASE SYSTEMS

Abstract
The use of systems capable of promoting the release of nutrients, drugs and agrochemicals encapsulated in biodegradable polymer matrices is a promising area. In this context, the electrospinning technique will be used in the present work with the major objective of producing micro and biodegradable polymer nanofibers. Therefore, we conducted several experimental conditions focusing on two electrospinning parameters, which are the polymeric concentration and flow rate. The morphologies of fibers were analyzed by SEM images.

Keywords: Electrospinning, biodegradable polymer, blend, Ecovio.

1 INTRODUÇÃO

A produção de fibras poliméricas utilizando a técnica de eletrofiação tem se consolidado como uma das técnicas mais empregadas nos últimos anos. Novos materiais sintetizados em escala micro- e nanométrica atraem o interesse dos pesquisadores pela sua grande relação área superficial/volume. Uma descrição resumida da técnica é que ao expor uma gota de solução polimérica contida num capilar a uma grande diferença de potencial, entre o aparato coletor e o injetor, fibras poliméricas podem ser fabricadas. O formato fibroso é sustentado devido à viscoelasticidade da solução. Esses materiais fibrosos possuem numerosas aplicações em sensores dos mais diversos tipos (colorimétricos, eletroquímicos, fluorescentes) e em biomédica (liberadores de drogas, crescimento de tecidos) (Mercante et al., 2015; Raghavendran et al., 2014). Faz-se então necessário o delineamento dos parâmetros da técnica com o objetivo de aumentar a reprodutibilidade desses novos materiais. (Casassola; Noreen; Georgiadou, 2016) visando aplicações tecnológicas. Neste trabalho, avaliamos a influência de dois parâmetros sobre a morfologia e diâmetro das fibras do polímero Ecovio.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Soluções poliméricas com diferentes concentrações do polímero Ecovio (EC) foram solubilizadas por duas horas sob agitação magnética na mistura de solventes clorofórmio/N,N-

dimetilformida em proporção 85/15 v/v. Depois de homogeneizadas as soluções foram adicionadas à seringa sendo determinadas as condições de eletrofiação para otimização do processo de fabricação das fibras. Alguns parâmetros da eletrofiação foram fixados com o intuito de reduzir o número de experimentos, dentre os quais: potencial elétrico (20 kV), distância coletor-seringa 10 cm e o diâmetro interno da agulha de 0.7 mm. A Tabela 1 resume os parâmetros de eletrofiação analisados no presente trabalho. A análise dos efeitos sobre a morfologia das fibras foi realizada com o auxílio de imagens de Microscopia eletrônica de varredura. O diâmetro médio das fibras foi obtido utilizando o software ImageJ com amostragem de n=100 fibras.

Tabela 1. Concentração polimérica e parâmetros de eletrofiação

VIII Workshop de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio	
Concentração EC ($m.V^{-1}$)	Fluxo de solução ($mL.h^{-1}$)
5 %	0.2 0.4 0.6
10%	0.2 0.4 0.6
15%	0.2 0.4 0.6

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estudos da influência da concentração polimérica de fibras levam à um aumento considerável do diâmetro das fibras. Além disso, é reportada a presença de contas, que são pequenos aglomerados elipsoidais ao longo da extensão da fibra. Mantendo-se todos os demais parâmetros de eletrofiação constantes e avaliando as imagens das fibras eletrofiadas nas diferentes concentrações de 5, 10 e 15% $m.V^{-1}$, notou-se que em duas das três concentrações pode-se obter fibras homogêneas do polímero EC (Fig. 1). Pode-se observar ainda que o aumento da concentração de 5 para 10% diminui drasticamente a presença de contas (Fig. 1 (A-B)). O aumento da concentração tem efeito sob a viscosidade da solução, gerando fibras mais estáveis frente ao processo de estiramento. Outra característica observável foi o aumento do diâmetro da fibra ao eletrofiar a solução de maior concentração polimérica (15% $m.V^{-1}$) em comparação com a amostra eletrofiada com concentração de 10% $m.V^{-1}$ (Fig. 1 (B-C)). A Figura 1 (D), de maior ampliação (20000x), indica uma superfície lisa, sem rugosidade ou presença de poros.

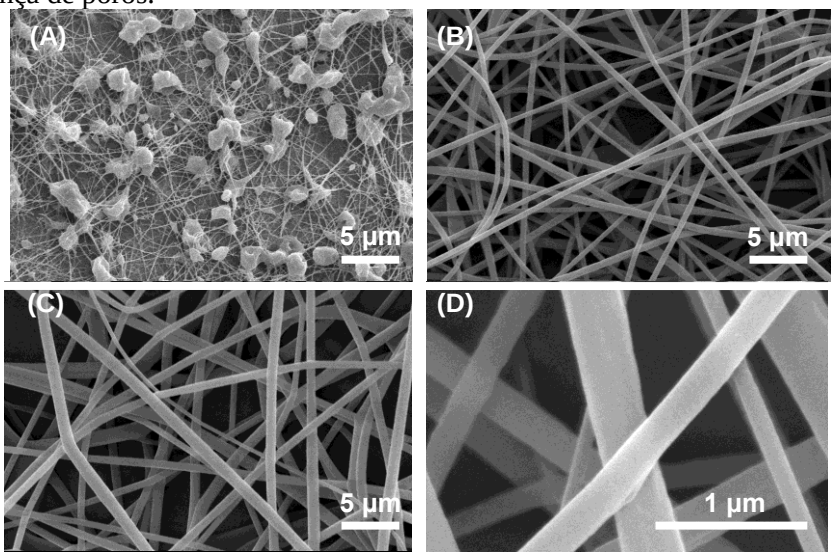


Figura 1. Efeito da concentração do polímero EC na morfologia das fibras (ampliação 3000x) (A) 5% $m.V^{-1}$, (B) 10% $m.V^{-1}$ (C) 15% $m.V^{-1}$ e (D) ampliação de 20000x na fibra de 10 $m.V^{-1}$.

Na Tabela 2 são mostrados os diâmetros medidos para as fibras de EC com a mudança da concentração polimérica precursora e do fluxo da eletrofiação. Neste estudo podemos concluir que a vazão da eletrofiação tem pouca influência no diâmetro das fibras, mas pode influenciar na presença de contas ao longo de sua extensão. Por exemplo, na concentração 10% $m.V^{-1}$ apenas na maior vazão avaliada 0.6 $mL.h^{-1}$ obteve-se fibras sem contas. Por sua vez, a concentração polimérica aumenta o diâmetro das fibras como efeito causado pelo entrelaçamento das cadeias poliméricas. Contudo, fibras produzidas em concentração de 5% $m.V^{-1}$ apresentaram contas em todas as vazões. Dentre todas as condições experimentais avaliadas, aquela produzida com concentração de 10% $m.V^{-1}$ e eletrofiadas na vazão de 0.6 $mL.h^{-1}$ apresentaram maior homogeneidade com relação ao diâmetro, lisas e sem a presença de contas como mostrado nas Figura 1 B e D.

Tabela 2. Efeito dos parâmetros de eletrofiação no diâmetro das fibras de EC

VIII Workshop de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio		
Concentração EC ($m.V^{-1}$)	Fluxo de solução ($mL.h^{-1}$)	Diâmetro das fibras (nm)
5 %	0.2	162 ± 50[a]
	0.4	211 ± 73[a]
	0.6	201 ± 83[a]
10%	0.2	432 ± 150[a]
	0.4	361 ± 103[a]
	0.6	619 ± 115
15%	0.2	714 ± 249
	0.4	857 ± 292
	0.6	874 ± 249

[a]*: Fibras com presença de contas ao longo de sua extensão.*

4 CONCLUSÃO

Nanofibras de Ecovio com diâmetro em torno de 619 nm com elevada homogeneidade foram produzidas variando-se a concentração polimérica e a vazão da eletrofiação. Estas fibras biodegradáveis de Ecovio serão utilizadas para incorporação e imobilização de agentes ativos para liberação controlada.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi financiado pelo projeto FAPESP, CAPES, CNPq , MCTI/SISNANO e Rede Agronano-EMBRAPA.

REFERÊNCIAS

MERCANTE, L. A. et al. Electrospun polyamide 6/poly(allylamine hydrochloride) nanofibers functionalized with carbon nanotubes for electrochemical detection of dopamine, v. 7, n. 8, 4784-4790, 2015.

RAGHAVENDRAN, H. R. B. et al. A Comparative Study on *In Vitro* Osteogenic Priming Potential of Electron Spun Scaffold PLLA/HA/Col, PLLA/HA, and PLLA/Col for Tissue Engineering Application, v. 8, n. 8, e104389, 2014.

CASASSOLA R.; NORREN L. T.; GEORGIADOU, S. Electrospinning of poly(lactic acid): Theoretical approach for the solvent selection to produce defect-free nanofibers, v. 54, n. 15, 1483-1498, 2016.

FERTILIZANTE FOSFATADO DE LIBERAÇÃO CONTROLADA BASEADO EM HIDRÓXIDOS DUPLOS LAMELARES

Marcela P. Bernardo [a,b]; Gelton G.F. Guimarães [b]; Caue Ribeiro [a,b]

[a] Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, Brasil.
[b] Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP, Brasil

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio.

Resumo
A deficiência de fósforo é o fator que mais limita o crescimento e a produtividades das plantas. O uso de fertilizantes fosfatados é utilizado para reparar a deficiência de P. Porém, o uso incorreto destes resulta na ineficiência do uso do nutriente pela planta. Fertilizantes de liberação controlada podem evitar a aplicação excessiva de fosfato e suas prejudiciais consequências. Neste trabalho o hidróxido duplo lamelar ([Mg-Al]-HDL) foi incorporado com alta concentração de fósforo. Foi realizado a caracterização físico-química do material adsorvido com fósforo, obtido pelo método de reconstrução estrutural. O conteúdo de P foi de 42.4 $mg.g^{-1}$ em HDL. A liberação de P em água a partir de [Mg-Al-PO_4]-HDL foi 10 vezes mais lenta que de KH_2PO_4, o que demonstra o potencial de [Mg-Al-PO_4]-HDL ser usado como fonte de fósforo de liberação lenta para plantas. Estudos em plantas de trigo (*Triticum aestivum*) mostraram que [Mg-Al-PO_4]-HDL foi eficiente em fornecer P tão bem quanto as outras fontes fosfatadas comerciais (MAP e KH_2PO_4). Além disso, este material aumentou o pH e concentração de P disponível no solo, após 30 dias de cultivo, demonstrando que o material é capaz de fornecer P em períodos subsequentes, o que confirma seu potencial como fertilizante fosfatado.

Palavras-chave: Fertilizante fosfatado; Hidrotalcita; Efeito de memória; Plantas de trigo

PHOSPHATE FERTILIZERS OF CONTROLLED RELEASED BASED ON LAYERED DOUBLE HYDROXIDES

Abstract
Phosphorous deficiencies are major limits for plant growth and crop productivity. The use of P-fertilizers is common practice to repair the intrinsic deficiency of soils used for cultivation. However, the constant mismanagement of fertilizers results in inefficient plan use of nutrient, lost profits for farmer and potential damage to environment. Controlled release fertilizers avoid the excess of applied phosphate and harmful consequences. We report that hydrotalcite-like LDH ([Mg-Al]-LDH) incorporate with P. To achieve this, we do the characterization of the physical-chemical properties of the phosphate adsorption on [Mg-Al]-LDH through the structural reconstruction method which provides a great phosphate content of 42.4 $mg.g^{-1}$. Then, the P release in water showed that the time to release 90% of the phosphate for [Mg-Al-PO_4]-LDH was 10 times latter than KH_2PO_4, which announces the potential of [Mg-Al-PO_4]-LDH to be applied as phosphate source to crops. Wheat plants (*Triticum aestivum*) showed that [Mg-Al-PO_4]-LDH was able of providing the same P uptake efficiency than other soluble sources (MAP and KH_2PO_4) in a short period time. Besides, this material increased the soil pH and the P available 30 days after planting, demonstrating that it can provide P in subsequent periods, confirming its potential as phosphate fertilizer.

Keywords: Phosphate fertilizer; Hydrotalcite; Memory effect; Wheat plants..

Publicações relacionadas: (A) Bernardo, M. P.; Moreira, F. K. V.; Colnago, L. A.; Ribeiro, C. Physico-chemical assessment of [Mg-Al-PO_4]-LDHs obtained by structural reconstruction in high concentration of phosphate. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **2016**, *497*.
(B) Bernardo, M. P.; Moreira, F. K. V.; Ribeiro, C. Synthesis and characterization of eco-friendly Ca-Al-LDH loaded with phosphate for agricultural applications. *Applied Clay Science.* **2017**, 143.

1 INTRODUÇÃO

Fósforo é um elemento essencial ao crescimento de plantas. A deficiência deste elemento é o um dos maiores limitantes do crescimento de plantas e da produção de cultivos ao redor do mundo. (SANCHES; SALINAS 1981; WISSUWA 2003). Os solos ácidos, como Oxisols e Ultisols são cerca de 70% deficientes em P e aproximadamente 50% destes tipos de solo são encontrados na américa tropical (FAIRHURST et al., 1999; OBERSON et al., 2001). Assim, a retirada e aproveitamento de P destes solos é um fator limitante para rendimentos ótimos na agricultura. (SMIT et al., 2009; Van de WIEL et al., 2016). O uso de fertilizantes com liberação controlada evita o excesso de aplicação de fósforo.

Hidróxidos Duplos Lamelares (HDL) são uma importante classe de argilas que podem ser utilizadas como matrizes para a liberação lenta de fosfato (CUNHA et al., 2010). Este trabalho tem a intenção de desenvolver um eficiente nanofertilizante fosfatado a partir da reconstrução estrutural em hidróxidos duplos lamelares ([Mg-Al-PO_4]-HDL). Além disso, também objetivamos ter conhecimentos sobre a interação de solos "oxisols" com fosfato, advindos de diferentes fontes, como o comercial fertilizante fosfatado, MAP, uma fonte solúvel de fósforo (KH_2PO_4), e de uma argila aniônica com reconhecida capacidade de proteção do conteúdo interno ([Mg-Al-PO_4]-HDL).

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Adsorção de fosfato pelo método de reconstrução e cinética de liberação.

A adsorção de fosfato ocorreu pelo chamado efeito de memória. A hidrotalcita comercial foi submetida a tratamento térmico a 600°C por 4 horas em mufla, com taxa de aquecimento de 30°C.min^{-1}. Em seguida, 500 mg do material calcinado foram adicionados a 250 mL de solução de KH_2PO_4 (16,6 mM) previamente equilibrada a 75°C com pH ajustado para 7 usando 0,1M NaOH. A mistura foi continuamente agitada por 24h e então centrifugado a 11,200g por 10 min. O precipitado foi ressuspenso em água e armazenado em freezer e liofilizado sob vácuo a $1{,}33\times 10^{-4}$ bar (Supermodulyo Freeze Dryer, Thermo Fisher Scien-tific Inc., Kansas City, MO, USA) para obtenção de pós brancos. Os materiais foram submetidos a difração de raios-x.

Estudo cinéticos de liberação de P em água foram realizados, para comparação da velocidade de liberação de [Mg-Al-PO_4]-HDL, MAP e KH_2PO_4.

2.2 Estudo com trigo

Os bioensaios foram conduzidos em vasos com 250 g de solo Oxisol com 5 sementes de trigo (*Triticum aestivum*- variedade: BRS 254) tendo como fonte de P fontes comerciais e [Mg-Al-PO_4]-HDL. Os vasos foram expostos a luz natural, temperatura de 17-25 °C, e umidade mantida constante. Após 30 dias de cultivo as plantas foram analisadas para determinação de P na parte área.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Efeito de memória e adsorção de fosfato

A ocorrência do chamado efeito de memória em [Mg-Al]-HDl foi verificado por difração de raio-x (Figura 1-A). O produto calcinado uma vez em contato com solução fosfatada (16,6 mM) manteve os principais picos referentes a HDL, com deslocamento do pico (003), o que levou ao aumento de 0,2 Å no espaço interlamelar (de acordo com a lei de Bragg).

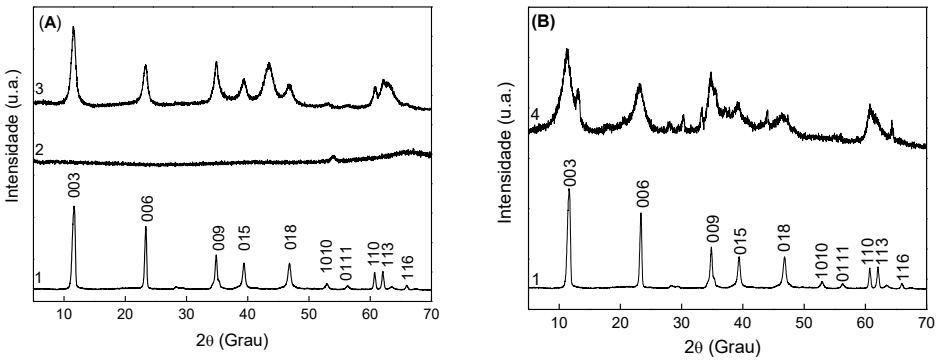


Figura 1. Padrões de difração de raios-x para reconstrução estrutural em água (A) e para reconstrução estrutural em solução de fosfato (B) (1) [Mg-Al]-HDL comercial; (2) [Mg-Al]-HDL comercial calcinado; (3) [Mg-Al]-HDL comercial reconstruído em água; (4) [Mg-Al]-HDL comercial reconstruído em 16.6 mM PO_4^{3-}

3.2 Cinética de liberação de P em água

KH_2PO_4 atinge 90% de sua capacidade de liberação em apenas 5 minutos, como esperado para uma fonte solúvel de P. MAP, outra fonte solúvel, liberou a mesma quantidade em 5 minutos, enquanto [Mg-Al]-HDL levou 52 minutos para liberar 90% do seu conteúdo de P.

3.3 Retirada de P por culturas de trigo

[Mg-Al-PO_4]-HDL foi capaz de promover a mesma nutrição que as outras fontes de P, com a vantagem de aumentar significativamente o pH do solo e apresentar uma maior quantidade de P disponível para liberação após 30 dias. Adicionalmente o aumento do pH do solo pode aumentar a disponibilidade de P às plantas, pois interações de P e imobilização deste com elementos do solo podem ser evitadas.

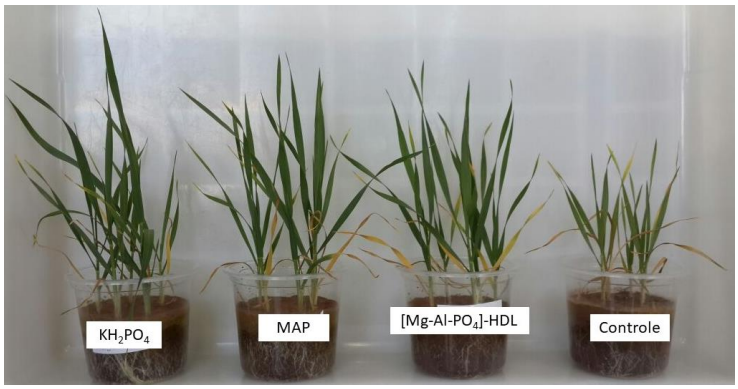


Figura 2. Foto retirada após 30 dias de cultivo, demonstrando que [Mg-Al-PO4]-HDL foi capaz de promover, qualitativamente, a mesma nutrição que KH_2PO_4 e MAP.

4 CONCLUSÃO

Em conclusão, foi investigado [Mg-Al]-HDL como material para ser usado na liberação controlada de P, uma característica desejável para fertilizantes fosfatados. Experimentos com plantas de trigo mostraram que [Mg-Al-PO_4]-HDL foi capaz de fornecer a mesma quantidade de P que as outras fontes solúveis em um curto período de tempo. Além disso, esse nanofertilizante aumentou o pH do solo, o que torna o P disponível para as plantas além de 30 dias, confirmando o potencial deste fertilizante.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao suporte financeiro fornecido pelo CNPq (402287/2013-4), ao SISNANO/MCTI, FINEP e a CAPES pela bolsa de estudos de doutorado, além da Embrapa Instrumentação pela estrutura fornecida.

REFERÊNCIAS

CUNHA, V. R. R.; FERREIRA, A. M. C. Hidróxidos Duplos Lamelares: Nanopartículas Inorgânicas Para Armazenamento E Liberação de Espécies de Interesse Biológico E Terapêutico. *Quimica Nova*, v. 33, n. 1, p. 159–71, 2010.

FAIRHURST, T. R. L.; MUTERT, N. B. E. The Importance, Distribution and Causes of Phosphorus Deficiency as a Constraint to Crop Production in the Tropics. *Agroforestry Forum*, v. 9, n. 4, p 2–8, 1999.

OBERSON, A. D. et al. Phosphorus Transformations in an Oxisol under Contrasting Land- Use Systems: The Role of the Soil Microbial Biomass. *Plant and Soil*, v. 237, n. 2, p. 197–210, 2001.

SANCHES, P.A.; SALINAS J.G. Low Input Technology for Managing Oxisol and Utisols in Tropical America. *Advances in Agronomy*, v. 34, p. 229–406, 1981.

SMIT, A. L. et. al. Phosphorus in Agriculture: Global Resources, Trends and Developments. *Report to the Steering*, v. 5, p. 42, 2009.

WIEL, C. C. et. al. Improving Phosphorus Use Efficiency in Agriculture: Opportunities for Breeding. *Euphytica*, v. 207 n. 1. p. 1–22, 2016.

WISSUWA, M. How Do Plants Achieve Tolerance to Phosphorus Deficiency? Small Causes with Big Effects. *Plant Physiology*, v. 133, n. 4, p. 1947–1958, 2003.

PRODUÇÃO DE MANTAS DE NANOFIBRAS DE POLI ÁCIDO LÁTICO COM INCORPORAÇÃO DE FITOATIVO PELO MÉTODO DE ELETROFIAÇÃO

Natália Galdorfini[1,2] Danilo A. Locilento[1,2] Daniel S. Correa[2]

(1) Departamento de Química - UFSCar, singernaty@hotmail.com, daniloanloc@gmail.com
(2) Embrapa Instrumentação, daniel.correa@embrapa.br

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio.

Resumo
Nanoestruturas têm ocupado um espaço cada vez maior na produção de novos materiais para as mais diversas áreas do conhecimento, incluindo nanofibras poliméricas produzidas pela técnica de *electrospinning*. Para além de suas características morfológicas e estruturais, outro atrativo relacionado as mantas de nanofibras poliméricas é a incorporação de fármacos e fitoativos para aplicações biomédicas. Neste trabalho foram produzidas, por eletrofiação, mantas de nanofibras de poli ácido lático (PLA) com incorporação de diferentes concentrações de extrato de semente de uva (ESU), as quais foram caracterizadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV), termogravimetria (TG) e ângulo de contato, além de estudos do mecanismo de liberação de ESU das fibras.
Palavras-chave: Nanofibras; Eletrofiação; Poli (ácido lático); Extrato de semente de uva; Liberação controlada.

Abstract
Nanostructures have been employed for the production of new materials for the most diverse areas of knowledge, including polymer nanofibers produced by the electrospinning technique. In addition to its morphological and structural characteristics, polymer nanofibers can incorporate drugs and phytoactive for biomedical applications. In this work, we produced, by electrospinning, poly lactic acid nanofibers (PLA) with the incorporation of different concentrations of grape seed extract (ESU), which were characterized by scanning electron microscopy (SEM), thermogravimetry (TG) and contact angle, in addition to the studies mechanism of ESU release from the fibers.
Keywords: Nanofibers; Electrospinning; poly lactic acid, Grape seed extract; Drug release

1 INTRODUÇÃO

Nanoestruturas têm ocupado um espaço cada vez maior na produção de novos materiais para as mais diversas áreas do conhecimento, incluindo a obtenção de mantas de nanofibras poliméricas produzidas pela técnica de *electrospinning* (ZHANG; RONCA; MELE, 2017). A técnica baseia-se na aplicação de um potencial elétrico na ponta de uma agulha metálica, gerando uma repulsão eletrostática que faz com que a gota da solução polimérica sofra uma deformação promovendo um efeito denominado cone de Taylor e quando esta repulsão suplanta a força de tensão superficial da solução, ocorre o estiramento da solução em direção ao coletor. Durante este percurso, ocorre a evaporação do solvente formando a nanofibra polimérica (CORREA et al., 2017). A elevada área superficial é a principal característica das mantas de nanofibras, muito utilizadas na área de sensores, contribuindo para o aumento da sensibilidade de eletrodos. Outro atrativo das mantas de nanofibras poliméricas é a capacidade de incorporação de fármacos e fitoativos, utilizadas na engenharia de tecidos como *scaffolds*, curativos e matrizes para liberação de ativos farmacológicos (ABRIGO et al., 2014). O uso das mantas de nanofibras poliméricas como matrizes de liberação de ativos têm ganhando ênfase como materiais biocompatíveis. Estes materiais são capazes de promover uma interação direta com o meio biológico com maior e melhor eficiência quando comparados com outras formas de interação (ZHANG; RONCA; MELE, 2017). Para isso, o polímero empregado na formação das nanofibras deve possuir características biocompatíveis, a exemplo do poli (ácido lático) (PLA).

Este polímero é derivado da polimerização do ácido lático, que além da biocompatibilidade, também é biodegradável e bioreabsorvivel (CHÁVEZ-MONTES et al., 2015), tornando-o apto a compor matrizes de liberação de ativos farmacológicos, como fitoterápicos como o extrato de semente de uva (ESU), composto por polifenóis, principalmente, a Proantocianidina de alta atividade antioxidante (MANSOURI; KHORSANDI; ABEDI, 2014).

Neste trabalho foram produzidas, por eletrofiação, mantas de nanofibras de PLA com incorporação de diferentes concentrações de ESU. Foram obtidas mantas de nanofibras de PLA, PLA/ESU10% e PLA/ESU20% para comparação das características físicas e morfológicas das fibras, utilizando microscopia eletrônica de varredura (MEV), termogravimetria (TG) e ângulo de contato. Também foi estudado o mecanismo de liberação de ESU das respectivas mantas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O polímero utilizado foi o poli (ácido lático) PLA amorfo – 4060D – NatureWorks, e o extrato de semente de uva foi o Procianin®. Como solventes foram utilizados N, N – Dimetilformamida (DMF) e acetona. As soluções poliméricas foram preparadas à 9 % de PLA em relação ao solvente composto de DMF e acetona na relação 1:1 em volume. O ESU foi incorporado na concentração 10 e 20 % relação mássica com o PLA, obtendo três tipos de mantas, denominadas, PLA, PLA/ESU10 e PLA/ESU20. As mantas de nanofibras foram produzidas utilizando os valores de tensão, distância de trabalho e vazão da solução polimérica, sendo de 17 kV, 9 cm e 1 mL h^{-1}, respectivamente. Nas micrografias por MEV as amostras foram recobertas por ouro e analisadas em aumento de 500x, 2000x e 5000x. O diâmetro das fibras foram calculados com o auxílio do programa ImageJ®.

Para as medidas por ângulo de contato, gotejou-se sobre as mantas solução de Tampão Fosfato Salino (PBS) no volume de 5 uL. As imagens de miscibilidade gota/manta foram capturadas e analisadas pelo equipamento Contact Angle and SurfaceTension Meter / KSV Instruments, 2008, realizadas em quituplicata. Os perfis termogravimétricos foram obtidos até 700 °C, com razão de aquecimento de 10 °C min^{-1}, por arraste de ar.

Para os ensaios de liberação, foram cortadas mantas de PLA/ESU10 e PLA/ESU20, as quais foram imersas em 2 mL de PBS (Tampão Fosfato Salino) e em determinados intervalos de tempo as alíquotas foram totalmente removidas e analisadas no equipamento espectrofotômetro UV-vis em comprimento de onda de 279 nm. Todas as análises foram realizadas em triplicata

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Microscopia eletrônica de varredura

De acordo com as micrografias das mantas de PLA, PLA/ESU10 e PLA/ESU20 foi possível identificar a melhora na morfologia das nanofibras incorporadas de ESU, promovendo à extinção da formação de *beads* observados nas nanofibras de PLA sem ESU. Entre as amostras com ESU não houve alterações morfológicas, significativas. Outra mudança morfológica observada entre as amostras com ESU e sem ESU é referente ao histograma do diâmetro médio destas nanofibras. Os valores obtidos de 188±23 nm, 120±17 nm e 122±26 nm para as mantas PLA, PLA/ESU10 e PLA/ESU20, respectivamente, indicam uma diminuição no diâmetro das nanofibras com ESU.

3.2 Ângulo de contato

Quando incorporado ESU a 10% na manta de PLA houve um incremento na hidrofobicidade, ângulo de contato próximo de 132°, em relação a manta de PLA sem ESU, com ângulo de 128,5°. Após 120 segundos de contato, não houve mudança de comportamento para as mantas de PLA e PLA/ESU10. Em contrapartida quando aumentado a concentração de ESU para 20% ocorre uma pequena diminuição da hidrofobicidade (126°), mas no decorrer do tempo ocorreu maior interação entre a gota e a manta, sendo totalmente absorvida ao final do ensaio. Acredita-se que ocorra a maior interação entre a água e os radicais hidroxilas, presentes no extrato de semente de uva e mais disponíveis com o aumento da concentração, diminuindo a tensão superficial entre a gota e a manta.

3.3 Termogravimetria (TGA)

Os ensaios termogravimétricos das mantas de PLA, PLA/ESU10 e PLA/ESU20, apresentaram um único evento de degradação do PLA em torno de 330 °C com perda de massa total até 380 °C. A adição do ESU ao PLA, em concentrações de 10 e 20%, implicaram em um início de perda de massa em 290°C e promoveram um segundo evento de degradação, não observado para a manta de PLA. A perda de massa deste segundo evento sugere ser proporcional a concentração de ESU e há indicativos de que possa ser referente as quantidades mássicas de extrato incorporado no processo de eletrofiação das mantas.

3.4 Mecanismo de liberação do extrato de semente de uva

As primeiras 5 horas de liberação são decorrentes de um *burst* responsável por 70 % da liberação total de ambas as mantas e, ao final das 144 horas há uma liberação de ESU ligeiramente maior para a manta PLA/ESU10 em relação a manta PLA/SUE20 (Tabela 1). É provável que devido ao excesso de ESU incorporado a manta PLA/ESU20, ocorra um impedimento físico no processo difusional, comprometendo a dispersão do extrato no meio, acarretando em uma menor concentração de ESU liberado para o meio.

Tabela 1. Concentração máxima média de ESU liberado em meio PBS ao final de 144 horas.

Amostras	Média de Liberação (%)	Desvio (%)
Manta PLA/ESU10	62,88	± 4,32
Manta PLA/ESU20	58,60	± 7,71

4 CONCLUSÃO

As mantas PLA/ESU10 e PLA/ESU20 apresentaram mudanças morfológicas quanto à extinção de *beads* e a diminuição do diâmetro médio das nanofibras em relação a manta de PLA. Os valores de ângulo de contato variaram entre 126° e 132°, indicando características hidrofóbicas as mantas, sendo que a incorporação de SEU não alterou significativamente este comportamento. A termogravimetria, revelou uma possível forma de determinar a concentração de ESU incorporadas as nanofibras poliméricas. A liberação do extrato de semente de uva foi de aproximadamente 60% da concentração de ESU incorporada à solução polimérica, desprezando possíveis perdas, durante o processo de eletrofiação, desta concentração. Nas 5 horas iniciais de liberação, ocorreu a liberação de aproximadamente 70% da concentração total liberada durante as 144 horas.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Embrapa Instrumentação, Departamento de Química – UFSCar, CAPES, FAPESP, CNPq, MCTI-SisNano e Embrapa rede Agronano.

REFERÊNCIAS

ABRIGO, M.; MCARTHUR, S. L.; KINGSHOTT, P. Electrospun nanofibers as dressings for chronic wound care: Advances, challenges, and future prospects. Macromolecular Bioscience, v. 14, n. 6, p. 772–792, 2014.

CHÁVEZ-MONTES, W. et al. Effect of artificial weathering on PLA/Nanocomposite molecular weight distribution. Polymers, v. 7, n. 4, p. 760–776, 2015.

CORREA, D. S. et al. Composite nanofibers for removing water pollutants: Fabrication techniques. Handbook of Ecomaterials. [S.l.]: [s.n.], 2017, p. accepted.

MANSOURI, E.; KHORSANDI, L.; ABEDI, H. A. Antioxidant effects of proanthocyanidin from grape seed on hepatic tissue injury in diabetic rats. Iranian journal of basic medical sciences, v. 17, n. 6, p. 460–464, 2014.

ZHANG, W.; RONCA, S.; MELE, E. Electrospun nanofibres containing antimicrobial plant extracts. Nanomaterials, v. 7, n. 2, p. 42-45, 2017.

CARACTERIZAÇÃO DAS PROPRIEDADES ÓPTICAS DE FILMES AUTOMONTADOS DE POMA/MOS_2

Wania Ap. Christinelli[1], Murilo H. M. Facure[1,2], Idelma A. A. Terra[1], Daniel S. Correa[1,2], Luiz H. C. Mattoso[1]

[1]Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio (LNNA), Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP.
[2]PPGQ, Departamento de Química, Centro de Ciências Exatas e Tecnologia, Universidade federal de São Carlos, São Carlos, SP.
waniaac@gmail.com

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio

Resumo

No presente trabalho foram construídos nanomateriais híbridos de poli(o-metoxianilina)/dissulfeto de molibdênio (POMA/MoS_2) através da técnica de automontagem por adsorção física (LbL). Especificamente, o MoS_2 foi o preparado utilizando diferentes tempos de esfoliação, resultando num nanocompósito semi-condutor com diferentes bandgaps. Como consequência, os nanocompósitos mostraram uma mudança significativa nas propriedades ópticas das amostras e aumento das propriedades de luminescência, que podem estar associadas com um mecanismo de transferência de energia do tipo Foster.

Palavras-chave: Layer-by-layer films; Luminescence; Molibdenum dissulfide.

STUDY OF OPTICAL PROPERTIES OF POMA/MOS2 LAYER-BY-LAYER FILMS

Abstract

In this work, it is present the building of poly(o-methoxyaniline/molybdenum disulfide (POMA/MoS_2) films by the layer-by-layer (LbL) technique. Specifically, the MoS_2 was prepared using different exfoliation times, yielding a nanocomposite material with distinct bandgaps. As consequence, the nanocomposite presented a significant change of the optical properties, with an enhancement in the photoluminescence intensity, which may be explained by a Foster type energy mechanism.

Keywords: Layer-by-layer films; Luminescence; Molibdenum dissulfide.

1 INTRODUÇÃO

Os dicalcogenetos de metal de transição (TMDs) vem recebendo grande atenção nos últimos anos, devido às suas propriedades elétricas (Tang et al, 2015) ópticas (Yang, 2017). Como o exemplo mais comum de TMDs, MoS_2 tem atraído significativo interesse e tem sido amplamente explorado em diversas áreas, como transistores, catálise, eletroquímica e sistemas ópticos (Pham, 2015). O MoS_2 esfoliado possui gap direto da ordem de 1,8 eV para uma monocamada, e gap indireto da ordem de 1,2 eV para MoS_2 bulk. A presença de gap direto na monocamada, também permite explorar suas propriedades ópticas. Existem diversos métodos para obtenção do MoS_2 esfoliado tais como, esfoliação mecânica, intercalação iónica, esfoliação líquida entre outros. Dentre esses métodos, a esfoliação mecânica apresenta vantagens como baixo custo, praticidade e conservação das propriedades químicas do material (Jiang, 2015).

Diferentes modificações químicas têm sido realizadas, nos últimos anos, com o intuito de melhorar as propriedades de materiais para satisfazer as diversas características necessárias para aplicações tecnológicas. Avanços na otimização e aperfeiçoamento de suas propriedades permitem maiores possibilidades de suas aplicações. A melhoria na eficiência e durabilidade de dispositivos baseados em MoS_2 pode ser realizada através da melhoria na construção dos dispositivos ou através da

otimização de síntese dos materiais utilizados. Neste sentido, filmes construídos através da técnica da automontagem (LbL) é uma abordagem interessante, uma vez que há vantagem para produzir filmes nanoestruturados com alta organização, a nível molecular com uma diversidade de estruturas que possibilitam melhorias nas proriedades, tais como, elétricas, ópticas e magnéticas.

Diante do exposto acima, este trabalho teve como objetivo construir um material híbrido na forma de filmes de poli (o-metoxi anilina) – POMA e dissulfeto de molibnêdio – MoS_2, em diferentes níveis de exfoliação, através da técnica da automontagem e verificar as propriedades ópticas do material.

2 MATERIAL E MÉTODOS

A poli(o-metoxianilina)-POMA (também conhecida como polianisidina), foi sintetizada através da polimerização química da anisidina em meio de HCl 1 M, utilizando como agente oxidante o persulfato de amônio. O dissulfeto de molibdênio foi esfoliado em NH_4OH 0,1 M por 8 horas em ultrassom do ponteira. Foi retirada uma alíquota da suspensão a cada 1 h de exfoliação para caracterização e construção dos filmes.

Para a construção de filmes automontados pelo método LbL, foi utilizado um sistema mecânico automatizado. O substrato utilizado foi o vidro coberto com óxido de estanho e índio (ITO) com área de 1 cm^2. O tempo de mergulho do substrato em cada solução de deposição foi de 180 s. A etapa de lavagem do substrato tem duração de 5 s e a etapa de secagem de 300 s. O procedimento de secagem entre cada processo de deposição é necessário para a construção de películas uniformes, especialmente para as primeiras bicamadas. Foram construídos filmes automontados com 5 bicamadas de POMA/MoS_2, cada camada de MoS_2 foi construída com MoS_2 em diferentes tempos de exfoliação sendo 1, 3, 5, 7 e 8 hrs respectivamente. Foram construídos também filmes com MoS_2 esfoliado apenas em 8hrs para comparação das propriedades.

A caracterização óptica dos filmes foi conduzida por espectroscopia de absorção no ultravioleta e visível (UV-VIS) e de luminescência.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A esfoliação do MoS_2 foi acompanhada por absorção no UV-Vis no qual quatro bandas de absorção características do MoS_2 esfoliado são observadas. As bandas perto de 400 e 450 nm estão associadas à transição direta da banda de valência para banda de condução. As bandas de absorção entre 600 e 650 nm podem ser atribuídas ao ponto K da zona Brillouin. A partir dos espectros de UV-Vis foram calculados os valores de bandgap associados ao material, pelo método de Tauc, no qual estão apresentados na Figura 1. Observa-se que o valor de bandgap do MoS_2 aumenta com o aumento do tempo de esfoliação. Este comportamento pode estar associado à diminuição do número de camadas na estrutura lamelar do material, confinando os portadores de carga em duas dimensões. De acordo com a literatura, o MoS_2 bulk possui bandgap indireto na ordem de 1.2 eV enquanto que o MoS_2 a nível de uma monocamada possui bandgap direto na ordem de 1,8 eV indicando, portanto, coerência nos resultados.

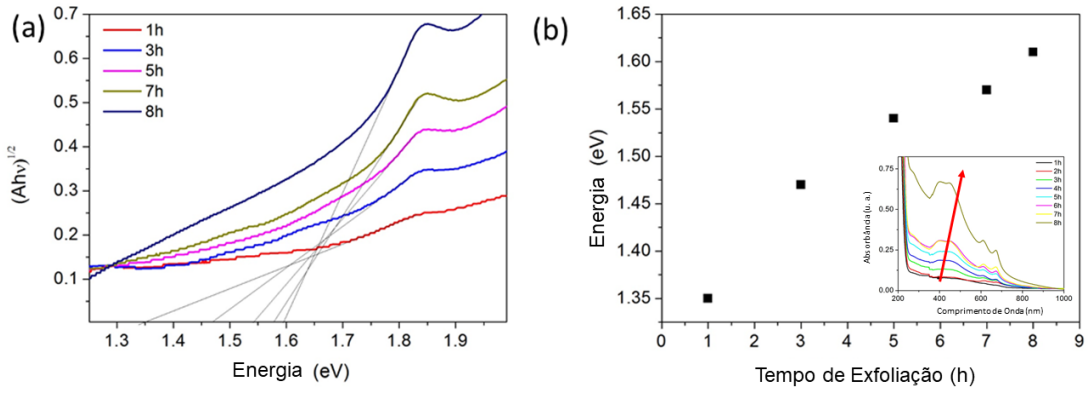


Figura 1. Cálculo do bandgap em função do tempo de exfoliação do MoS_2 pelo método de Tauc.

O crescimento das bicamadas foi acompanhado por análises de absorbância no UV-VIS, no qual foi observado um aumento linear das bandas de absorção referentes a POMA e ao MoS_2, no qual indica um crescimento efetivo das camadas, estando de acordo com a literatura. O estudo da luminescência foi realizado nos filmes com 5 bicamadas e está apresentado na Figura 2. Como pode ser observado, o filme de POMA/MoS_2 com diferentes bandgaps (linha preta) apresenta um aumento de quase 75% na intensidade de emissão se comparado com o filme com MoS_2 de mesmo bandgap. Uma possível explicação para esta intensificação poderia ser um mecanismo de transferência de energia do tipo Foster, onde a variação do bandgap de forma contínua em cada camada leva a existência de pequenas barreiras de energia para a transferência de portadores de carga entre as mesmas, acarretando em um aumento na eficiência do processo.

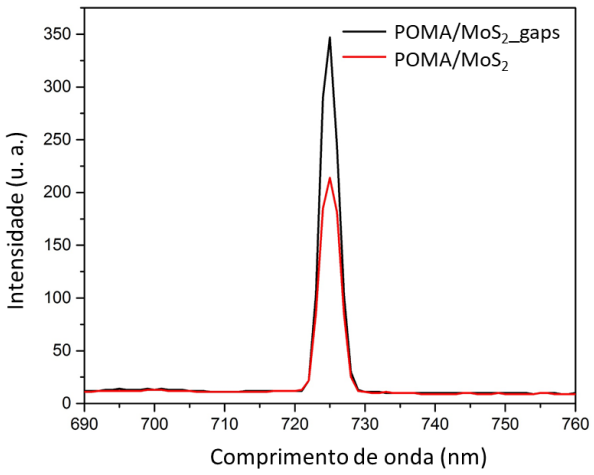


Figura 2. Espectro de luminescência dos filmes automontados de POMA/MoS_2.

4 CONCLUSÃO

Diante dos resultados apresentados, verifica-se que os filmes automontados construídos com MoS_2 em diferentes bandgaps mostraram um aumento significativo na intensidade da fotoluminescência se comparado com filmes construídos com MoS_2 de apenas um tipo de bandgap. Este comportamento sugere a existência de um processo de transferência de carga mais eficiente. O bom desempenho destes filmes possibilita que tais materiais possam ser aplicados em dispositivos ópticos, os quais, são de extrema importância visando o desenvolvimento tecnológico atualmente.

AGRADECIMENTOS

Os autores gostariam de agradecer o suporte financeiro dado pelo CNPq (402287/2013-4), SISNANO/MCTI, FINEP, CAPES, FAPESP e rede de pesquisa Embrapa AgroNano.

REFERÊNCIAS

Tang, H. et al. "Growth of polypyrrole ultrathin films on MoS_2 monolayers as high-performance supercapacitor electrodes.". Adv. Mater. v. 27, p. 1117–23, 2015.

Yang, Y. et al. "Electrochemiluminescent graphene quantum dots enhanced by MoS2 as sensing platform: a novel molecularly imprinted electrochemiluminescence sensor for 2-methyl-4-chlorophenoxyacetic acid assay". Electrochim. Acta. v. 228, p. 107–113, 2017.

Pham, V.P.; Yeom, G.Y. "Recent Advances in Doping of Molybdenum Disulfide: Industrial Applications and Future Prospects". Adv. Mater. v. 28, p. 9024–9059, 2016.

Jiang, J.-W. "Graphene versus MoS_2: A short review". Front. Phys. v. 10, p. 287–302, 2015.

FOTOCATALISADORES DE ZnO:N UTILIZADOS EM FOTOSSÍNTESE ARTIFICIAL

Jéssica A. Oliveira[a,b], André E. Nogueira[a], Elaine C. Paris[a], Caue Ribeiro[a], Gael Y. Poirier[b], Tania R. Giraldi[b]

[a]Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, Universidade Federal de Alfenas, Rodovia José Aurélio Vilela 11999, Cidade Universitária, 37715-400, Poços de Caldas, MG, Brasil

[b]Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro 1452, 13560-970, São Carlos, SP, Brasil

jessicarianeoliveira@hotmail.com

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio.

Resumo

Óxido de zinco dopado com nitrogênio (ZnO:N) é um material promissor para utilização em reações fotocatalíticas, destacando-se as reações de fotorredução do CO_2 (ou fotossíntese artificial). Assim, ZnO e ZnO:N na fase *wurtzita* foram sintetizados pelo Método dos Precursores Poliméricos e ureia foi utilizada como fonte de nitrogênio. Diferentes tratamentos térmicos (450 °C ou 500 °C por 2 h, 12 h ou 24 h) foram empregados com a finalidade de se observar os efeitos sobre a presença de contaminantes na superfície, cristalinidade e atividade fotocatalítica dos materiais. Observou-se que as diferentes condições de tratamento térmico influenciaram na separação de cargas (elétron e buraco) e, consequentemente, na fotoatividade dos fotocatalisadores, visto que as amostras que tiveram maior produção de CH_4 foram as obtidas em menores tempos de tratamento térmico (2 h).

Palavras-chave: Fotossíntese artificial; ZnO:N; CO_2; CH_4.

ZnO:N PHOTOCATALYSTS APPLIED IN ARTIFICIAL PHOTOSYNTHESIS

Abstract

N-doped ZnO (ZnO:N) is a prospective material for photocatalytic reactions such as CO_2 photoreduction (or artificial photosynthesis). Thus, the wurtzite-type materials were prepared by the Polymeric Precursor Method, using urea as nitrogen source. Different heat treatments (450 °C or 500 °C for 2 h, 12 h or 24 h) were used to observe their effects on the surface decontamination, crystallinity and photocatalytic performance. It was noticed that the different annealing conditions influenced the charge separation (electron and hole) and consequently the photoactivity of the photocatalysts since the materials that produced more CH_4 were those annealed at lower heat treatment times (2 h).

Keywords: Artificial photosynthesis; ZnO:N; CO_2; CH_4.

Publicações relacionadas: "*Photoactivity of N-doped ZnO nanoparticles in oxidative and reductive reactions*" (Artigo aceito em "*Applied Surface Science*").

1 INTRODUÇÃO

Atualmente, a comunidade científica tem procurado produzir tecnologias que permitam o desenvolvimento sustentável da sociedade. Enquanto alguns estudos procuram desenvolver tecnologias para a remediação ambiental, outros almejam estudar meios de produzir energia limpa. Uma alternativa é a utilização de processos fotocatalíticos que empregam como fotocatalisadores os semicondutores. Quando esses materiais são iluminados com luz ultravioleta (UV) ou visível, com energia igual ou maior do que à do *band gap*, um elétron da banda de valência é transferido para a banda de condução, criando um buraco na banda de valência. Os pares elétron/buraco formados podem se recombinar ou participar de reações redox: enquanto os buracos fotogerados podem oxidar moléculas de água e formar radicais hidroxila (capazes de mineralizar compostos orgânicos), os elétrons fotogerados podem reagir com moléculas adsorvidas de gás carbônico (CO_2) e reduzir o

mesmo a outros compostos com valor agregado, tais como monóxido de carbono, metano, metanol, etanol e formaldeído (DAS, DAUD, 2014; LOW, CHENG, YU, 2017).

Os semicondutores mais comumente aplicados em fotocatálise são o TiO_2 e ZnO devido aos seus baixos custos e alta atividade fotocatalítica, porém, em condições otimizadas, o ZnO pode ser mais fotoativo do que o TiO_2 (GIRALDI et al., 2011; ZHAO et al., 2016). O ZnO é um semicondutor do tipo *n* com estrutura cristalina hexagonal do tipo *wurtzita* e *band gap* de aproximadamente 3,2 eV. Modificações na estrutura eletrônica do ZnO podem ser realizadas pela dopagem com outros elementos, tais como nitrogênio, carbono, enxofre e gálio (CHEN et al., 2008; LU et al., 2006; YAN et al., 2007). Os semicondutores extrínsecos obtidos pela dopagem do ZnO com nitrogênio (ZnO:N) são promissores por em geral apresentarem maior estabilidade, já que o nitrogênio possui raio iônico e eletronegatividade similares ao oxigênio. Ao contrário do ZnO puro, ZnO:N se comporta como um semicondutor do tipo *p* (ZHANG et al., 2015; ZHU et al., 2010), podendo ser utilizado em diferentes tipos de reações fotocatalíticas (CHEN et al., 2008; QIN et al., 2011).

Na literatura é possível encontrar rotas para a dopagem com nitrogênio a partir da degradação de ureia (fonte de nitrogênio) durante a calcinação da solução contendo o íon metálico complexado. Esse método, derivado do Método dos Precursores Poliméricos (MMP), foi demonstrado com sucesso para nanopartículas de ZnO:N e TiO_2:N (ABU BAKAR, BYZYNSKI, RIBEIRO, 2016; SILVA et al., 2016). Assim, o objetivo deste trabalho é sintetizar ZnO e ZnO:N pelo MMP e avaliar a influência das condições de tratamento térmico nas propriedades fotocatalíticas dos materiais sintetizados na reação de redução do CO_2, sob irradiação UV.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Para a síntese do ZnO puro (ZP), acetato de zinco foi misturado com ácido cítrico. Então, à mistura foi adicionado álcool etílico e, em seguida, etilenoglicol para promover a polimerização. Posteriormente à evaporação do solvente, o sistema foi submetido a 300 °C por 2 h e a 400 °C por 2 h. Um procedimento similar foi utilizado para a obtenção de ZnO:N, porém, nesse caso ureia (fonte de nitrogênio) foi adicionada à solução anteriormente à adição do etilenoglicol. O solvente também foi evaporado e o sistema submetido a 300 °C por 2 h, sendo que o material restante foi dividido em seis porções iguais e cada uma delas foi submetida a uma condição diferente de temperatura (450 °C ou 500 °C) e tempo (2 h, 12 h ou 24 h). As amostras dopadas foram abreviadas de XZNY, em que *X* é a temperatura de tratamento térmico, *ZN* é relativo à ZnO:N e *Y* é o tempo de tratamento térmico. Destaca-se que todas as rampas de aquecimento foram de 1 °C/min. As amostras sintetizadas de ZnO e ZnO:N foram caracterizadas por difratometria de raios-X (DRX) e espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).

Em relação à fotorredução do CO_2, os ensaios foram realizados em reator batelada de 250 mL e sob luz UV (lâmpada 80 W). Dispersões foram preparadas pela adição de 100 mg de fotocatalisador (ZnO ou ZnO:N) em 100 mL de NaOH 0,1 M, sendo que a solução de NaOH foi utilizada para auxiliar na dissolução de CO_2 em meio aquoso (MIZUNO et al., 1996). Destaca-se que anteriormente ao início da reação, CO_2 foi borbulhado (0,6 L/min) no sistema durante 20 min e alíquotas (200 μL) da fase gasosa foram coletadas em diferentes tempos de irradiação e analisadas em cromatógrafo gasoso. A fotoatividade das amostras na redução do CO_2 foi monitorada pela produção de metano (CH_4).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Fig. 1(a) ilustra os difratogramas de raios X dos materiais sintetizados. Observa-se que todas as amostras apresentaram somente picos de difração correspondentes à fase *wurtzita* do ZnO (JCPDS 36-1451), sendo que foi verificado deslocamentos dos picos {100} e {101} para menores ângulos nas amostras dopadas. Já os picos {102} e {110} não exibiram nenhum deslocamento, indicando que houve uma distorção da célula primária do ZnO e que o nitrogênio provavelmente se inseriu na rede cristalina do material. Ou seja, uma vez que os deslocamentos foram observados somente nas amostras dopadas, pode-se sugerir que houve dopagem com nitrogênio em todos os fotocatalisadores. Já a Fig. 1(b) ilustra os espectros FTIR das partículas, observando-se bandas em torno de 3438, 1628 e 427 cm^{-1}, as quais são relacionadas, respectivamente, aos estiramentos O–H, H–O–H e Zn–O (GIRALDI et al., 2011; SILVERSTEIN, BASSLER, MORRILL; 1991). Nota-se que as

partículas tratadas termicamente em maiores temperaturas e tempos em geral exibiram menores bandas associadas com espécies adsorvidas em suas superfícies.

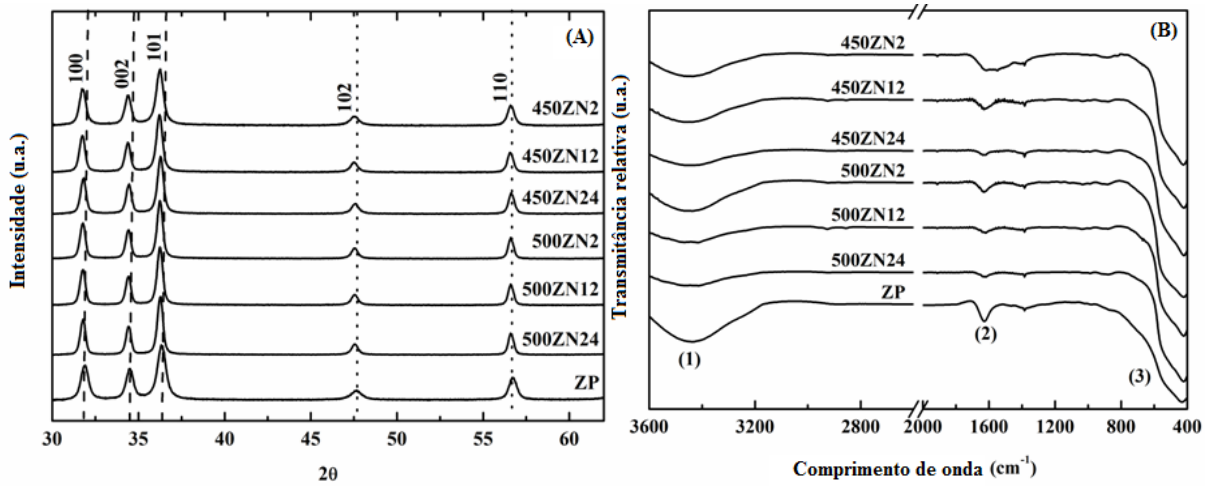


Figura 1. (A) Difratograma de raios X e (B) espectros FTIR. Os números entre parênteses se referem às bandas: (1) ν O–H, (2) δ O–H e (3) ν Zn–O

A Figura 2 (a) ilustra a taxa de produção de CH_4 a partir da fotossíntese artificial do CO_2. Verifica-se que as partículas obtidas em menores tempos de tratamento térmico exibiram maior tendência de produzir CH_4, já que maiores quantidades de CH_4 foram obtidas por 450ZN2 e 500ZN2. Além disso, a possível presença de nitrogênio na rede cristalina do ZnO afetou positivamente a atividade fotocatalítica do semicondutor, visto que ZP apresentou uma das menores taxas de produção de CH_4. Já a Figura 2 (b) ilustra os espectros FTIR que foram obtidos posteriormente aos ensaios de fotorredução do CO_2. Comparando-se os espectros FTIR anteriormente (Figura 1 (b)) e posteriormente (Figura 2 (b)) à reação, observa-se que os gráficos são consideravelmente diferentes. Após a fotorredução do CO_2, as amostras diminuíram a intensidade relativa das bandas O–H, sugerindo que esses grupos foram consumidos durante a fotocatálise, como é requerido pela reação. Observam-se também intensidades relativas elevadas nas bandas de estiramento e deformação C–H. Essas bandas podem ser relacionadas com espécies adsorvidas durante o processo de fotorredução, ou seja, durante a reação, CO_2 adsorvido na superfície do fotocatalisador reage com os elétrons para produzir radicais de dióxido de carbono ($^{\bullet}CO_2^-$), que em seguida reagem com H^+ para formar radicais $^{\bullet}CH_2$, sendo que estes últimos formam CH_4 (KWAK, KANG, 2015).

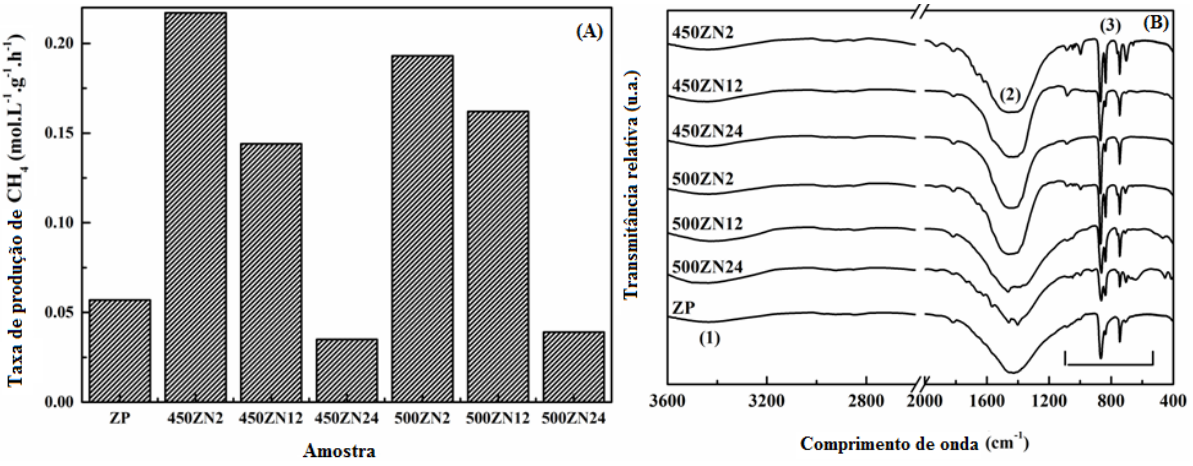


Figura 2. (A) Taxa de produção de CH_4 e (B) espectros FTIR posteriormente à fotorredução de CO_2. Os números entre parênteses se referem às bandas: (1) ν O–H, (2) δ C–H e (3) ν C–H.

4 CONCLUSÃO

ZnO e ZnO:N foram sintetizados pelo MPP, usando ureia como precursor de nitrogênio, e utilizados como fotocatalisadores na reação de redução do CO_2. Observou-se que o tratamento térmico afetou a fotoatividade dos materiais, visto que as amostras submetidas a menores tempos de tratamento térmico (450ZN2 e 500ZN2) exibiram maior taxa de produção de CH_4. Além disso, o mecanismo de reação provavelmente envolve a produção de radicais de dióxido de carbono ($^{\bullet}CO_2^-$), que por sua vez reagem com H^+ para formar radicais $^{\bullet}CH_2$, sendo que estes últimos formam CH_4.

AGRADECIMENTOS

Agradece-se o apoio financeiro das agências de fomento CAPES, CNPq (Proc. 444117/2014-8) e FAPESP (Proc. 2014/09014-7 e Proc. 2015/14330-8).

REFERÊNCIAS

ABU BAKAR, S.; BYZYNSKI, G.; RIBEIRO, C. Synergistic effect on the photocatalytic activity of N-doped TiO_2 nanorods synthesised by novel route with exposed (110) facet. Journal of Alloys and Compounds, v. 666, p. 38-49, 2016.

CHEN S. F. et al. Preparation, characterization and activity evaluation of p-n junction photocatalyst p-ZnO/n-TiO_2. Applied Surface Science, v. 255, p. 2478-2484, 2008.

DAS, S.; DAUD, W. Photocatalytic CO_2 transformation into fuel: A review on advances in photocatalyst and photoreactor. Renewable & Sustainable Energy Reviews, v. 39, p. 765-805, 2014.

GIRALDI, T. R., et al. Annealing Effects on the Photocatalytic Activity of ZnO Nanoparticles. Journal of Nanoscience and Nanotechnology, v. 11, p. 3635-3640, 2011.

KWAK, B. S.; KANG, M. Photocatalytic reduction of CO_2 with H_2O using perovskite $CaxTiyO_3$. Applied Surface Science, v. 337, p. 138-144, 2015.

LOW, J. X.; CHENG, B.; YU, J. G. Surface modification and enhanced photocatalytic CO_2 reduction performance of TiO_2: A review. Applied Surface Science, v. 392, p. 658-686, 2017.

LU, J. F., et al. Synthesis of N-Doped ZnO by grinding and subsequent heating ZnO-urea mixture. Powder Technology, v. 162, p. 33-37, 2006.

MIZUNO, T.et al. Effect of CO_2 pressure on photocatalytic reduction of CO_2 using TiO_2 in aqueous solutions. Journal of Photochemistry and Photobiology A-Chemistry, v. 98, p. 87-90, 1996.

QIN, H. C., et al. Photocatalytic activity of heterostructures based on ZnO and N-Doped ZnO. Acs Applied Materials & Interfaces, v. 3, p. 3152-3156, 2011.

SILVA, I. M. P., et al. Different dye degradation mechanisms for ZnO and ZnO doped with N (ZnO:N). Journal of Molecular Catalysis A-Chemical, v. 417, p. 89-100, 2016.

SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRILL, T. C. Spectrometric Identification of Organic Compounds. 5th ed. New York: John Wiley and Sons, 1991. 340 p.

YAN, Y., et al. Band gap reduction of ZnO for photoelectrochemical splitting of water. Solar Hydrogen and Nanotechnology, v. 6650, p. H6500-H6500, 2007.

ZHANG, P., et al. The origin of the similar to 274 cm^{-1} additional Raman mode induced by the incorporation of N dopants and a feasible route to achieve p-type ZnO:N thin films. Applied Surface Science, v. 327, p. 154-158, 2015.

ZHAO, J., et al. Phase-dependent enhancement for CO_2 photocatalytic reduction over CeO_2/TiO_2 catalysts. Catalysis Science & Technology, v. 6, p. 7967-7975, 2016.

ZHU, X. M., et al. Photoluminescence and resonant Raman scattering in N-doped ZnO thin films. Optics Communications, v. 283, p. 2695-2699, 2010.

NANOPARTÍCULAS DE PRATA BIOGÊNICAS PARA O CONTROLE DE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS

[*]Mariana Guilger[1], Vitória A. N. Antunes[1], Leonardo Fernandes Fraceto[2], Renata Lima[1]

[1]LABiToN – Laboratório de Avaliação de Bioatividade e Toxicologia de Nanomateriais, Universidade de Sorocaba (UNISO), Sorocaba, Brasil
[2]Departamento de Engenharia Ambiental, Universidade Estadual de São Paulo (UNESP), Sorocaba, Brasil
**marianaguilger@gmail.com*

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e sua aplicação no agronegócio

Resumo
Os fungos fitopatogênicos ocasionam perdas consideráveis no setor agrícola. As nanopartículas de prata (AgNPs) apresentam potencial para o controle dessas pragas. No presente trabalho foram sintetizadas AgNPs biogênicas a partir do filtrado de *Trichoderma harzianum*, e as mesmas foram caracterizadas e aplicadas para o controle dos fungos fitopatogênicos *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* e *Sclerotinia sclerotiorum in vitro*, bem como para a avaliação de seus efeitos sobre inoculantes. As AgNPs apresentaram tamanho médio 142,4±20,7 nm, concentração $2{,}52 \times 10^9$ NPs/mL, diâmetro hidrodinâmico 178,43±5,19 nm, polidispersão 0,30±0,01, potencial zeta -13,6±0,6 mV e pH 8,25. Sobre os fitopatógenos, foi observada inibição de crescimento micelial, com destaque para *S. sclerotiorum*. Já nos inoculantes, apenas um apresentou inibição. Diante dos resultados deste trabalho as AgNPs a base de *T. harzianum* podem ser consideradas promissoras para aplicações agrícolas.
Palavras-chave: Nanopartículas de Prata; Síntese Biogênica; *Trichoderma harzianum*; Fungos Fitopatogênicos.

BIOGENIC SILVER NANOPARTICLES IN THE CONTROL OF PHYTOPATHOGENIC FUNGI

Abstract
Phytopathogenic fungi cause considerable loss in agricultural sector. Silver nanoparticles (AgNPs) show potential for the control of these pests. In the present work biogenic silver nanoparticles were synthesized with the filtrate of *Trichoderma harzianum* and they were characterized and applied for the control of the phytopathogenic fungi *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* and *Sclerotinia sclerotiorum* in vitro, as well as for evaluation of their effects on inoculants. The AgNPs showed average size 142,4±20,7 nm, concentration $2{,}52 \times 10^9$ NPs/mL, hydrodynamic diameter 178,43±5,19 nm, polidispersion 0,30±0,01, zeta potential -13,6±0,6 mV and pH 8.25. With regard to the phytopathogens, it was observed mycelium growth inhibition, with highlight to *S. sclerotiorum*. As to the inoculants, just one of them showed inhibition. In light of the results of this work, the biogenic AgNPs based on *T. harzianum* can be considered promising for agricultural applications.
Keywords: Silver nanoparticles; Biogenic synthesis; *Trichoderma harzianum*; Phytopathogenic fungi.

Publicações relacionadas: Guilger, M. *et al*. Biogenic silver nanoparticles based on *trichoderma harzianum*: synthesis, characterization, toxicity evaluation and biological activity. *Sci. Rep.* doi: 10.1038/srep44421 (2017).

1 INTRODUÇÃO

As culturas agrícolas vêm sendo afetadas por diversas pragas e dentre estas se destacam os fungos fitopatogênicos, os quais danificam e matam a planta hospedeira, resultando em queda da produtividade e prejuízos à economia agrícola e a segurança alimentar (GUR; SAMALOVA; FISHER, 2011). Os fungos fitopatogênicos do solo *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* e *Sclerotinia sclerotiorum* estão entre os que mais causam prejuízo à agricultura brasileira, sendo

responsáveis por grandes perdas, principalmente nas culturas de soja, feijão, algodão e hortaliças. Esses fungos apresentam crescimento micelial e desenvolvem estruturas de resistência, as quais permanecem viáveis no solo por anos (BUENO; AMBRÓSIO; SOUZA, 2007). O controle convencional de fitopatógenos é feito com fungicidas, entretanto tais compostos causam impactos ao ambiente, levam ao desenvolvimento de resistência e geram toxicidade residual (YOON; CHA; KIM, 2013). O controle biológico, que explora a ação de microrganismos antagonistas, também é uma opção que vem sendo aplicada, porém sua conservação e efetividade pode ser comprometida pelo manejo do solo e por alterações ambientais (LANDIS e ORR, 2000).

As aplicações da nanotecnologia vêm se destacando no setor agrícola com soluções para diversos problemas tais como, a perda da produtividade decorrente do ataque de pragas. As nanopartículas de prata (AgNPs), reconhecidas por seu potencial na inibição de microrganismos, podem ser uma alternativa para o controle de fitopatógenos (MIN et al., 2009; KIM et al., 2012; ASHAJYOTHI et al., 2016). Essas AgNPs são produzidas por síntese química, física e biogênica, sendo que esta última apresenta vantagens como menor toxicidade residual, melhor estabilidade e controle de tamanho. Dentre os organismos utilizados como agentes redutores e estabilizantes, os fungos despertam maior interesse devido ao baixo custo de produção, fácil manipulação da cultura e maior rendimento (DHILLON et al., 2012). Em alguns estudos o fungo de controle biológico *Trichoderma harzianum* foi utilizado, dando origem a AgNPs biogênicas com boas características físico-químicas (AHLUWALIA et al., 2014; GUILGER et al., 2017).

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi sintetizar AgNPs a partir de *Trichoderma harzianum* e avaliar seu potencial para o controle dos fungos fitopatogênicos *F. oxysporum*, *R. solani* e *S. sclerotiorum*, bem como seus possíveis efeitos sobre os microrganismos de importância agrícola *T. harzianum*, *Beauveria bassiana* e *Bradyrhizobium japonicum*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Síntese biogênica das AgNPs

As AgNPs foram sintetizadas a partir do filtrado do fungo *Trichoderma harzianum*, conforme a metodologia descrita por GUILGER et al. (2017). Discos de micélio foram crescidos em caldo e ao filtrado aquoso proveniente da cultura foi adicionado nitrato de prata ($AgNO_3$) para obter a concentração de 1 mM. A suspensão foi mantida em agitação até a alteração de cor.

2.2 Caracterização das AgNPs

Na caracterização das AgNPs foram verificados os parâmetros tamanho, polidispersão, potencial zeta, pH e concentração em nanopartículas por mililitro (NPs/mL), pelas técnicas de espalhamento dinâmico de luz e microeletroforese (ZetaSizer Nano ZS 90 - Malvern) e pelo rastreamento de nanopartículas (NanoSight LM14 – Software NanoSight v.2.3). O pH foi verificado utilizando um medidor de pH previamente calibrado com soluções tampão de pH 7,0 e pH 4,0.

2.3 Avaliação da bioatividade das AgNPs sobre fungos fitopatogênicos

O potencial inibitório das AgNPs foi avaliado *in vitro* sobre os fungos fitopatogênicos *F. oxysporum*, *R. solani* e *S. sclerotiorum*, previamente cultivados em meio BDA. Discos de micélio foram colocados em placas de petri com ágar BDA suplementado com as AgNPs ($5{,}04x10^8$NPs/mL), em duplicata. No caso de *S. sclerotiorum*, também foram preparadas placas com escleródios para verificar a capacidade de germinação dos mesmos. Os controles foram preparados em placas com BDA. As culturas foram acompanhadas até que o micélio dos controles atingisse as bordas das placas ou que fosse verificada a formação de escleródios (*S. sclerotiorum*). As placas foram fotografadas, os escleródios contados e os halos de micélio medidos, determinando a taxa de inibição (Kim et al., 2012). Devido à importância de agentes de controle biológico e inoculantes, também foram avaliados os efeitos das AgNPs sobre os microrganismos *T. harzianum*, *Beauveria bassiana* e *Bradyrhizobium japonicum*. As análises estatísticas dos resultados em comparação com os controles foram realizadas utilizando ANOVA, seguida do Tukey's HSD post hoc test, programa *GraphPad Prism* ($p < 0{,}05$).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização das AgNPs

A síntese biogênica das AgNPs foi comprovada pela alteração de cor (Figura 1A). Pela técnica de rastreamento de nanopartículas as mesmas apresentaram tamanho médio de 142,4±20,7 nm e concentração de 2,52x10^9 NPs/mL (Figura 1B). Por espalhamento dinâmico de luz e microeletroforese as AgNPs apresentaram diâmetro hidrodinâmico de 178,43±5,19 nm, polidispersão de 0,30±0,01 e potencial zeta de -13,6±0,6 mV (Figuras 1C e 1D). Foi verificado um pH de 8,25.

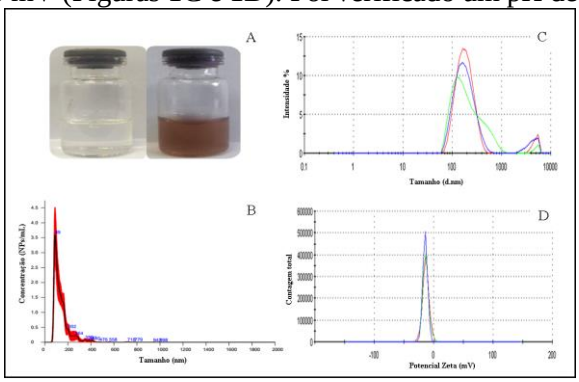


Figura 1. Confirmação da síntese e caracterização das AgNPs.

3.2 Avaliação da bioatividade das AgNPs sobre fungos fitopatogênicos

As AgNPs apresentaram potencial sobre os fitopatógenos, sendo que em *S. sclerotiorum* foi observada a maior taxa de inibição micelial e redução no desenvolvimento de escleródios (100% nas placas com escleródios e 99,7% nas placas com discos de micélio). Quanto aos inoculantes, ocorreu inibição micelial apenas em *B. bassiana* (Tabela 1).

Tabela 1. Taxa de inibição (%) do crescimento micelial dos fitopatógenos e inoculantes expostos as AgNPs

Fitopatógenos				**Inoculantes**		
F. oxysporum	*R. solani*	*S. sclerotiorum*	*S. sclerotiorum* (Escleródio)	*T. harzianum*	*B. bassiana*	*B. japonicum*
21,6±0,0	13,4±1,0	47,1±0,8	75,0±0,1	0,0±0,0	8,4±0,2	0,0±0,0

Fonte: Elaboração própria.

Os fitopatógenos expostos as AgNPs apresentaram diferença significativa em relação a seus controles ($p<0,05$), enquanto que os inoculantes *T. harzianum* e *B. japonicum* apresentaram crescimento semelhante ao controle ($p>0,05$). O aspecto das placas é apresentado na Figura 2.

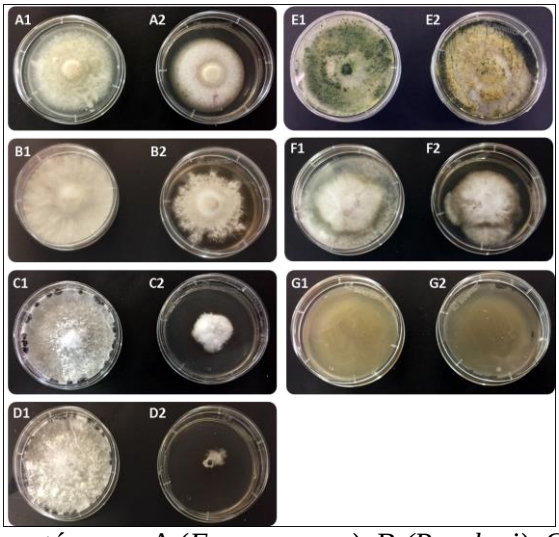


Figura 2. Controle de fitopatógenos: A (*F. oxysporum);* B *(R. solani);* C *(S. sclerotiorum);* D (*S. sclerotiorum* – Escleródio); e inoculantes: E (*T. harzianum);* F *(B. bassiana);* G (*B. japonicum*). 1- Controle; 2 – AgNP.

Os efeitos de AgNPs no controle de fungos fitopatogênicos vêm sendo relatados na literatura. Kim et al. (2009) constataram o potencial de AgNPs para o controle de fungos fitopatogênicos, obtendo, em alguns casos, inibição de até 100% do crescimento micelial. No estudo de Mishra et al. (2014), AgNPs biogênicas foram aplicadas para o controle de *Bipolaris sorokiniana* e apresentaram forte capacidade fungicida. Elgorban et al. (2016), utilizando AgNPs biogênicas obtiveram um halo de inibição de 74,39% na cultura de *S. sclerotiorum*.

4 CONCLUSÃO

As AgNPs biogênicas sintetizadas a partir do filtrado de *T. harzianum* reduziram o crescimento micelial de fungos fitopatogênicos *in vitro*, principalmente de *S. sclerotiorum*, cuja formação de escleródios foi inibida. Considerando tais resultados, as AgNPs podem ser consideradas uma solução promissora para o controle de fitopatógenos que atingem culturas agrícolas.

AGRADECIMENTOS

À FAPESP pela bolsa de doutorado (2016/13692-6), ao PROBIC pela bolsa de iniciação científica e ao CNPQ. Ao LABiToN (UNISO) e ao Departamento de Engenharia Ambiental (UNESP) pela disponibilidade de equipamentos.

REFERÊNCIAS

AHLUWALIA, V. et al. Green synthesis of silver nanoparticles by *Trichoderma harzianum* and their bio-efficacy evaluation against Staphylococcus aureus and Klebsiella pneumonia. Industrial Crops and Products, v. 55, p. 202-206, 2014.

ASHAJYOTHI, C. et al. Investigation of antifungal and anti-mycelium activities using biogenic nanoparticles: an ecofriendly approach. Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management, v. 5, p. 81-87, 2016.

BUENO, C. J.; AMBRÓSIO, M. M. Q.; SOUZA, N. L. Produção e avaliação da sobrevivência de estruturas de resistências de fungos fitopatogênicos habitantes do solo. Summa Phytopathol., v. 33, n. 1, p. 47-55, 2007.

DHILLON, G. S. et al. Green approach for nanoparticle biosynthesis by fungi:current trends and applications. Critical Review in Biotechnology, v. 32, p. 1-25, 2012.

ELGORBAN, A. M. et al. Extracellular synthesis of silver nanoparticles using *Aspergillus versicolor* and evaluation of their activity on plant pathogenic fungi. Mycosphere, v. 7, n. 6, p. 844-852, 2016.

GUILGER, M. et al. Biogenic silver nanoparticles based on *Trichoderma harzianum*: synthesis, characterization, toxicity evaluation and biological activity. Scientific Reports, v. 7, p. 1-13, 2017.

GURR, S.; SAMALOVA, M.; FISHER, M. The rise and rise of emerging infection fungi challenges food security and ecosystem health. Fungal Biology Reviews, v. 25, p. 181-188, 2011.

KIM, S. W. et al. Antifungal effects of silver nanoparticles (AgNPs) against various plant pathogenic fungi. Mycobiology, v. 40, n. 1, p. 53-58, 2012.

LANDIS, D. A.; ORR, D. B. Biological control: approaches and applications. Disponível em: < https://ipmworld.umn.edu/landis>. Acesso em: 22 de ago. 2017.

MIN, J. S. et al. Effects of colloidal silver nanoparticles on sclerotium-forming phytopathogenic fungi. Plant Pathol. J., v. 25, n. 4, p. 376-380, 2009.

MISHRA, S. et al. Biofabricated Silver Nanoparticles Act as a Strong Fungicide against *Bipolaris sorokiniana* Causing Spot Blotch Disease in Wheat. Plos One, v. 9, p. 1-11, 2014.

YOON, M.; CHA, B.; KIM, J. Recent trends in studies on botanical fungicides in agriculture. Plant Pathol. J., v. 29, n. 1, p. 1-9, 2013.

ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR): UMA FERRAMENTA ANALÍTICA PARA ESTUDOS DE FOTOCATALISE.

Caroline Piza Maldi*[1], Ailton José Moreira*, Aline Cardoso Borges*, Tania Regina Giraldi*, Gian Paulo Giovani Freschi*

** Universidade Federal de Alfenas – ICT – Campus Poços de Caldas – MG*
[1]carolinepizamaldi@gmail.com

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio

Resumo
O Semicondutor TiO_2 puro e dopado com Boro foi sintetizado através do uso da energia ultrassônica. A aplicação da respectiva energia permitiu obter a forma mais fotoativa do semicondutor (Anatase), com pequenos resquícios da forma Rutilo. Porém, a inserção do dopante promoveu a diminuição da fase rutilo e aumentou em 426% a área superficial quando comparado ao semicondutor sem a presença do dopante. Os resultados de degradação de Sertralina (monitorados através da aplicação da espectroscopia na região do infravermelho por Transformada de Fourier, FTIR) permitiu constatar maior ação fotocatalítica para o semicondutor dopado com Boro, demonstrando a importância no desenvolvimento de estudos através de novos métodos de síntese e dopantes. Ainda, a espectroscopia na região do infravermelho acoplado a leitor de solução líquida demonstrou ser uma técnica não apenas qualitativa, mas também quantitativa para aplicação em estudos de monitoramento ambiental.

Palavras-chave: Ultrassom, Infravermelho, Fármacos, Dopante, Energia.

INFRARED SPECTROSCOPY: AN ANALYTICAL TOOL FOR PHOTOCATALISE STUDIES.

Abstract
Pure and Boro-doped TiO_2 semiconductor was synthesized through the use of ultrasonic energy. The application of the respective energy allowed to obtain the most photoactive form of the semiconductor (Anatase), with small remnants of the Rutilo form. However, the dopant insertion influenced the decrease of the rutile phases and increased the surface area by 426% when compared to the semiconductor without the presence of the dopant. The degradation results of Sertraline (monitored through the application of infrared spectroscopy) allowed to verify a higher photocatalytic action for the semiconductor doped with Boron, demonstrating the importance in the development of studies through new methods of synthesis and dopants. Still, infrared spectroscopy coupled to liquid solution reader has proved to be a technique not only qualitative, but also quantitative for application in environmental monitoring studies.

Keywords: Ultrasound, Infrared, Drugs, Doping, Energy.

Publicações relacionadas: indicar as publicações relacionadas com o trabalho.

1 INTRODUÇÃO

Aproximadamente 3.000 substâncias são usadas como fármacos atualmente, incluindo analgésicos, antibióticos, antidepressivos, entre outros. Algumas toneladas de medicamentos são produzidas por ano e aplicadas na medicina humana e veterinária. Estudos demonstram que esses fármacos e, seus metabólitos, estão presentes em ambientes aquáticos em várias partes do mundo, como Alemanhã, Brasil, Canada, Holanda, dentre outros países. Estudos apresentam dados importantes de contaminação de organismos bentônicos por compostos farmacêuticos, evidenciando

que mesmo sendo um afluente provindo de uma estação de tratamento de esgoto municipal, o processo tratamento apresenta-se ineficiente para degradação total dos respectivos compostos orgânicos (GRABICOVA et al., 2015).

Estudos de toxicidade da Sertralina para a Daphnia magna, demonstram que o fármaco afeta o sistema de reprodução da planta, pois apresenta um coeficiente de partição octanol-água da ordem de 5.1, contribuindo para sua maior toxicidade. Os mesmos estudos ainda relatam elevado potencial bioacumulador de Sertralina, sendo a mesma detectada nas gerações posteriores (MINGUEZ et al., 2015).

A fotocatálise heterogênea é um método bastante versátil e promissor, pois promove a degradação do poluente (não apenas uma transferência de fase), apresenta custo relativamente baixo e alta eficiência mesmo para poluentes resistentes (MOHAMED et al., 2012). Este cenário faz com que apesar de ter sido largamente estudado nos últimos anos, há ainda muito a ser descoberto sobre os processos fotocatalíticos heterogêneos.

É importante destacar que, diferentes energias podem contribuir para o aumento da eficiência dos processos de síntese e degradação de contaminantes persistentes (TOPALOV et al., 2003, LU et al., 2008, LHOMME et al., 2005), sendo estas as energias ultrassom (US), microondas (MW), ultravioleta (UV), dentre outras. Neste aspecto, o presente trabalho busca apresentar resultados preliminares de síntese de semicondutores dopados com Boro através do processo ultrassom, assim como sua aplicabilidade em ensaios de degradação usando as energias UV e MW.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Para a síntese das nanopartículas de TiO2 e TiO2:B, um volume de 12,7mL de Isopropóxido de Titanio (97%) foi transferido para um béquer de vidro de 125mL, ao qual foram adicionados 100mL de solução de isopropanol 40% (v/v) e 2,30g de ácido bórico, sendo a mistura agitada por período de 1h. Posteriormente, a mistura foi sonicada em amplitude de 80% da potência total e com ciclo de 0,5 por período de 1h. Após sonicadas, as amostras foram centrifugadas 3 vezes e lavadas com metanol, sendo posteriormente coletadas em béquer de 250mL.

A amostra contida em béquer de 250mL foi submetida a aquecimento para evaporação do metanol, sendo o sólido obtido, submetido a maceração, transferido para barca de porcelana e calcinado a 600°C por período de 2h. Os materiais obtidos foram caracterizados por DRX (equipamento) e fisisorção de nitrogênio (BET).

Soluções padrão de Sertralina (98%) nas concentrações de 1 – 50 mg L^{-1} foram utilizadas para construção de curva de calibração utilizando a espectroscopia de infravermelho (Cary 630 FTIR acoplado a acessório de leitura de líquidos (DialPath) com abertura de fenda de 100µm). A curva de calibração foi executada após extração liquido-liquido (com diclorometano sendo a fase extratora) de solução padrão nas concentrações conhecidas de Sertralina.

Os estudos fotolíticos na região UV foram realizadas um reator de madeira. Suas dimensões internas foram de 45cm (comprimento) x 20cm (largura) x 28cm (altura) e 23cm de altura entre a lâmpada e a solução a ser irradiada. Além disso, o sistema consistia em 4 lâmpadas de mercúrio de baixa pressão Philips TUV 15W / G15T8 - Long Life - UV - C (λmax = 254 nm), 1 Cooler Axial AC FAN Modelo FZY8038 MBL e serpentina de cobre acoplada a Ultratermostátic Bath SL 152 / 18 - SOLAB 2000W / 220V com bomba de água para controle de temperatura interna do reator em 20 ° C. Para os estudos fotocatalíticos, 10mg de semicondutor foram usados, as amostras filtradas e submetidas a extração líquido-líquido em diclorometano, sendo posteriormente quantificados por FTIR.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de DRX (Fig. 1A) evidencia que a fase anatase é a mais presente em ambos semicondutores, demonstrando que o método de síntese ultrassom permite a obtenção da forma fotoativa do TiO_2 independente da presença ou não de agente dopante. Entretanto, vale ressaltar que a inserção do agente dopante (Boro), favoreceu a formação da fase anatase, visto que as intensidades inerentes a fase rutilo aparecem com menor frequência e baixa intensidade. Destaca-se ainda que, a área superficial BET foi de 8,46 m^2/g e 44,54 m^2/g para os semicondutores TiO_2 e TiO_2-B,

respectivamente, indicando que além de contribuir para maior formação da fase anatase, a inserção do agente dopante permitiu aumento de 426% na área superficial do semicondutor.

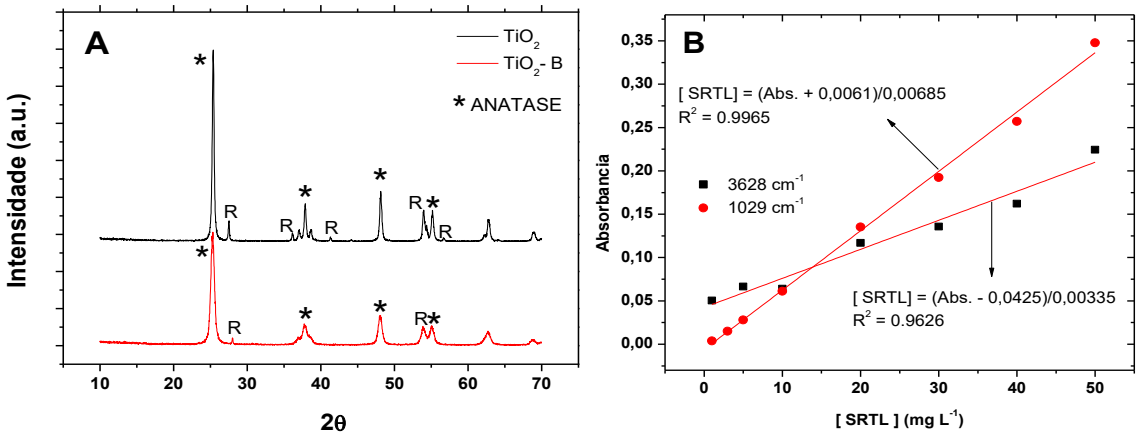


Figura 1. Resultados de DRX para os semicondutores TIO_2 e TiO_2-B (A) e curva de calibração FTIR (B).

A Fig. 1B apresenta a curva de calibração obtida para quantificação da Sertralina, sendo que as regiões quantificáveis correspondem a 1029 cm^{-1} (C-N) e 3628 cm^{-1} (provável estiramento C-N).

Os ensaios de degradação na região UV demonstram que o semicondutor TiO_2-B apresenta maior eficiência no processo de degradação do fármaco, como pode ser observado através da Figura 2A e 2B.

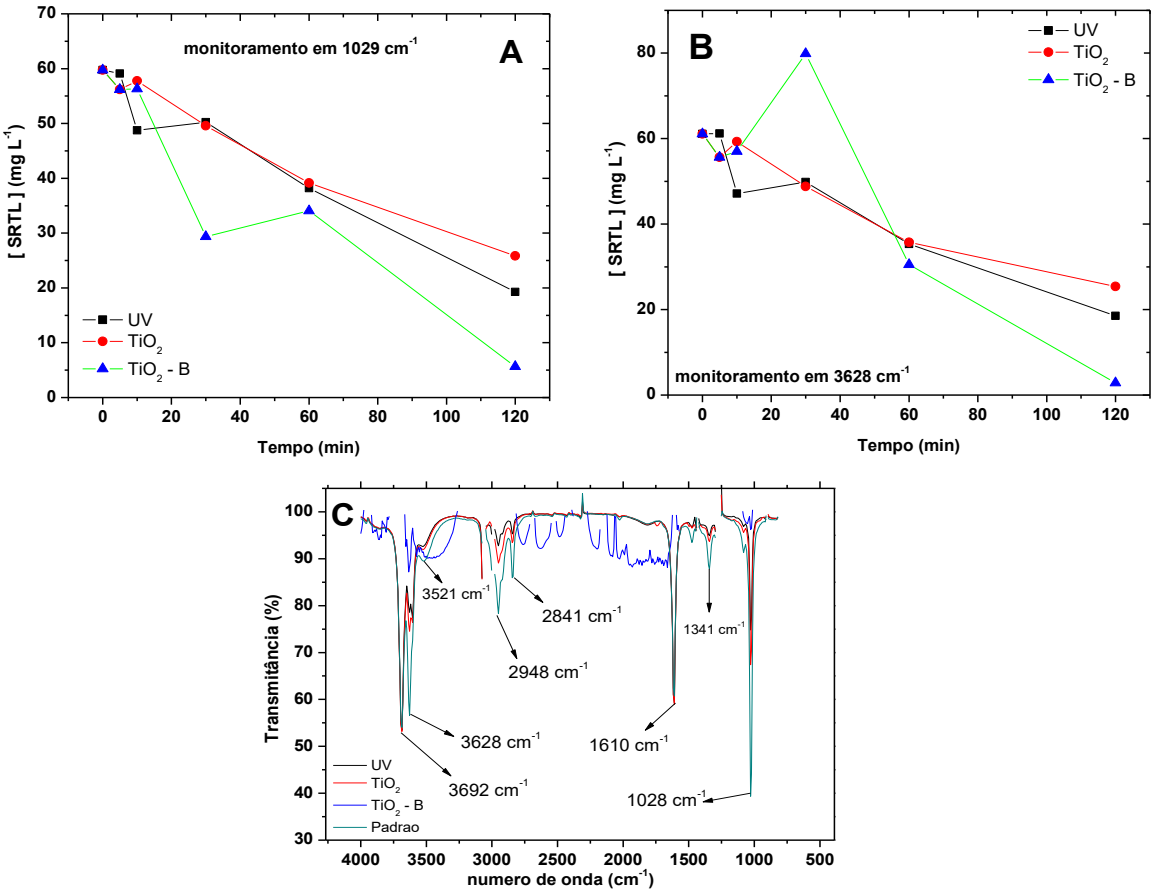


Figura 2. Resultados de fotodegradação de solução de SRTL 50 mg L^{-1} quantificadas através de FTIR para as regiões de 1029 cm^{-1} (A) e 3628 cm^{-1} (B) e espectro infravermelho das amostras irradiadas no período de 120 min (C) sob radiação UV.

Além das regiões 1029 cm^{-1} (C-N), 3628 cm^{-1} (O-H/C-N), a Fig. 2C também permite verificar qualitativamente as regiões 3692 cm^{-1} (O-H/C-N), 2948 cm^{-1} (C-H), 2841 cm^{-1} (C-H), 1610 cm^{-1} (N-H) e 1341 cm^{-1} (CH_3), sendo estas regiões características de grupos presentes no fármaco Sertralina.

Os semicondutores dopados com boro permitiram que aumento de eficiência de degradação da SRTL da ordem de até 67% fossem alcançados quando comparados ao processo fotolítico UV. Os dados correspondem ao monitoramento de número de onda na região de 1029 cm^{-1}.

4 CONCLUSÃO

A obtenção de semicondutores via método ultrassônico evidenciaram que o respectivo processo permite a obtenção da forma fotoativa do TiO_2 (Anatase), independente da presença ou não de agente dopante. A inserção do agente dopante favoreceu a formação da anatase, além de aumento significativo em sua área superficial (de 8,46 m^2/g para o TiO_2 a 44,54 m^2/g TiO_2 - B). A curva de calibração obtida através da espectroscopia de infravermelho apresentou bom comportamento linear para duas bandas espectrais (1029 e 3628 cm^{-1}), sendo os coeficientes de correlação linear de 0,9965 e 0.9629, respectivamente. A degradação observada para a Sertralina foi mais eficiente para o processo fotocatalítico TiO_2 – B, estando estes resultados em correspondência com os dados de maior pureza da fase anatase obtida para o respectivo semicondutor dopado com Boro.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e a EMBRAPA pelo apoio no desenvolvimento do trabalho.

REFERÊNCIAS

GRABICOVA, K. GRABIC, R., BLAHA, M., KUMAR, V., CERVENY, D., FEDOROVA, G., RANDAK, T. Presence of pharmaceuticals in benthic fauna living in a small stream affected by effluent from a municipal sewage treatment plant. Water Research, 72, p.145 e 153, 2015.

LHOMME, L., BROSILLON, S., WOLBERT, D., DUSSAUD, J. Photocatalytic degradation of a phenylurea, chlortoluron, in water using an industrial titanium dioxide coated media. Appl. Catal. B, 61, 227, 2005.

LU, C. S., MAI, F. D., WU, C. W., WU, R. J., CHEN, C. Titanium dioxide-mediated photocatalytic degradation of acridine orange in aqueous suspensions under UV irradiation. Dyes and Pigments, 76, 706, 2008.

MINGUEZ, L., Ballandonne C., Rakotomalala C., Dubreule C., Kientz, B. V., Halm, L. M. P. Transgenerational Effects of Two Antidepressants (Sertraline and Venlafaxine) on Daphnia magna Life History Traits. Environ. Sci. Technol., 49, 1148−1155, 2015.

MOHAMED, R.M., McKinney, D. L., Sigmund, W. M. Enhanced nanocatalysts. Mat. Scien. Engin., 73, 1, 2012.

TOPALOV, A., GÁBOR, D. M., ABRAMÓVIC, B., KOROM, S., PERICIN, D. Photocatalytic removal of the insecticide fenitrothion from water sensitized with TiO2. Photochem. Photobiol. A, 160, 195, 2003.

CONFECÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE BRIQUETES DE RAÇÃO ANIMAL COM A ADIÇÃO DE NANOFIBRILAS DE CELULOSE

Mailson de Matos [1], Lucas F. Rodrigues[2], Geovane R. de Oliveira[3] e Washington L. E. Magalhães[4]

1 - Universidade Federal do Paraná (UFPR), mailsondematos@gmail.com; 2 – Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), lucas.filardo@gmail.com; 3 – Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), gugalobo94@hotmail.com; 4 – Embrapa Florestas, Colombo, PR, washington.magalhaes@embrapa.br.

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio

Resumo

Há uma grande importância das fibras na alimentação animal, portanto, é de grande interesse a adição de nanofibrilas de celulose à ração animal. Entre inúmeras pesquisas com nanotecnologia, a área de alimentos tem sido beneficiada com o desenvolvimento de produtos. Porém, a adição de nanofibrilas de celulose ainda é inédita e necessita de inúmeros esclarecimentos. Diante disso, o objetivo do presente trabalho foi produzir as nanofibrilas de celulose, preparar os briquetes de ração animal, caracterizar as amostras. Os briquetes foram produzidos em uma Briquetadeira Lippel LB32 a temperatura ambiente, a uma pressão de 1000 psi por três minutos. Os tratamentos testados foram a dieta comercial sem a inclusão das nano fibrilas, a dieta purificada (ou seja, dieta livre das fibras comerciais) com a adição de celulose e a dieta purificada com a adição das nanofibrilas de celulose. Verificou-se que o teor de umidade ideal da ração para a produção dos briquetes é de 10% em massa. Os briquetes confeccionados com nanofibrilas apresentaram fragmentação em torno 1%. As análises bromatológicas mostraram que as dietas produzidas estão dentro do padrão. Contudo, a dieta comercial apresenta alguns desvios do padrão. Portanto, podem ser usadas para melhorar as características físicas dos briquetes de ração.

Palavras-chave: Fibras; Nanocelulose; AIN-93M; Nutrição animal; Nanofibras.

CONFECTION AND CHARACTERIZATION OF ANIMAL FEEDING BRIQUETS WITH THE ADDITION OF CELLULOSE NANOFIBRILLAS

Abstract

There is a great importance of fibers in animal feed, therefore, the addition of cellulose nanofibrils to animal feed is of great interest. Among countless researches with nanotechnology, the area of food has been benefited with the development of products. However, the addition of cellulose nanofibrils is still unprecedented and requires numerous clarifications. Therefore, the objective of the present work was to produce the cellulose nanofibrils, to prepare the animal feed briquettes, to characterize the samples. The briquettes were produced in a Lippel Briquette LB32 at room temperature, at a pressure of 1000 psi for three minutes. The treatments tested were the commercial diet without the inclusion of nano fibrils, the purified diet (ie diet free of commercial fibers) with the addition of cellulose and the purified diet with the addition of cellulose nanofibrils. It has been found that the ideal moisture content of the feed for the production of the briquettes is 10% by mass. The briquettes made with nanofibrils showed fragmentation around 1%. The bromatological analyzes showed that the diets produced are within the standard. However, the commercial diet shows some deviations from the standard. Therefore, they can be used to improve the physical characteristics of feed briquettes.

Keywords: Fibers; Nanocelulose; AIN-93M; Animal nutrition; Nanofibres.

1 INTRODUÇÃO

A celulose é o composto orgânico mais comum na natureza. Constitui cerca de 40 a 50% de quase todas as plantas (KLOCK; ANDRADE, 2013). É o principal componente estruturante das fibras vegetais, proporcionando estabilidade e resistência. Além de possuírem características mecânicas excepcionais as nanoestruturas de celulose são ambientalmente corretas e de baixo custo (AZEVEDO, 2012). A nanotecnologia pode ser empregada para as mais diversas aplicações, dentre elas, a área na produção de alimentos tem se favorecido cada vez mais com pesquisas voltadas a esta área (MORARU et al., 2003).

Uma alimentação animal rica em fibras é de grande importância, visto que, as fibras são utilizadas como fonte de energia pelos microrganismos presentes no estomago dos animais na forma de carboidratos e, também, estão sendo utilizadas para caracterizar alimentos e estabelecer limites de ingredientes em rações (VAN SOEST, 1994). As fibras reduzem a absorção do colesterol, de gorduras e de açúcares, e causam uma sensação de saciedade prolongada. Alimentos ricos em fibras podem ser utilizados em dietas de emagrecimento, visto que, ajudam na redução de peso por possuírem um valor calórico menor do que de outros alimentos.

Tendo em vista a importância das fibras, é de grande relevância a adição de nanofibrilas de celulose na ração animal para o complemento de fibras. Entretanto, uma das formas de avaliação se as nano fibrilas apresentam propriedades de alimentos funcionais é o teste in vivo com animais cobaias, como os ratos de laboratório. Em razão de os ratos serem roedores, a ração é melhor aproveitada se estiver peletizada.

A adição de nanofibrilas de celulose ainda é inédita e necessita de inúmeros esclarecimentos. Diante disso, o objetivo do presente trabalho foi produzir as nanofibrilas de celulose, preparar os briquetes de ração animal, caracterizar as amostras.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Produção das nano fibrilas de celulose

Para a produção de nano celulose utilizou-se o moinho *Super Masscoloider Masuko Sangyo*, o qual por meio do contato mecânico desfibrila as partículas de celulose que estão misturadas em água destilada, ou seja, reduz o tamanho das fibras. A celulose utilizada é a branqueada da madeira de *Pinus sp*.

Trabalhou-se no moinho com uma concentração de nano fibrilas entre 1 a 3%, em massa, de celulose. Para facilitar o processo, a celulose, misturada em água destilada, foi homogeneizada em liquidificador antes do processo. Em seguida, a mistura passou pelo processo de moagem com torração de 1500 rpm e foram realizados 20 passes na amostra pelo moinho, até se obter uma suspensão com aspecto de gel.

2.2 Produção da dieta animal AIN-93M

A dieta animal AIN-93M foi produzida de acordo com o proposto por REEVES *et al* (1993) Reeves *et al* (1993), a qual é utilizada amplamente em ensaios biológicos com ratos, sendo que esses animais possuem uma similaridade geral do sistema cardiovascular e outros sistemas fisiológicos, com os de outros mamíferos. A ração foi obtida com o auxílio de pesquisadores da Pontifícia Universidade Católica do Paraná. A concentração de fibras a ser estudada na ração padrão foi de 5% em massa. Tendo isso, adicionou-se a quantidade de celulose necessária na ração, a qual está misturada a uma grande quantidade de água, o que facilita a homogeneização dos componentes. Os tratamentos testados foram a dieta comercial sem a inclusão das nanofibrilas (DC), a dieta padrão (ou seja, dieta livre das fibras comerciais) com a adição de celulose (DP) e a dieta padrão com a adição das nanofibrilas de celulose (DPN).

Tabela 1. Ração padrão de acordo com REEVES *et al* (1993)

Componente	Quantidade (g/kg)
Amido de Milho	465,692
Caseína Comercial	140
Sacarose	100
Amido dextrinizado	155
Óleo de Soja	40
Celulose	50
Mix de vitaminas	10
Mix de Minerais	35
L-cistina	1,8
Bitartarato de colina	2,5
Tertbutilhidroquinona (TBH)	0,008

2.3 Produção dos briquetes

Ao adicionar o gel de nanocelulose a ração previamente produzida, a umidade da mesma fica em torno de 87%. Umidade muito elevada para a produção dos briquetes, portanto se fez necessária a secagem da ração acrescida da nanocelulose. Para efetuar esta secagem utilizou-se uma Câmara Climática, com temperatura a 40 ºC e umidade relativa de 40%. Após atingir o teor de umidade necessário foi possível produzir os briquetes.

Para a homogeneização da ração padrão com a celulose, utilizou-se um homogeneizador com rotação de 1500 rpm. Todos briquetes foram elaborados em uma *Briquetadeira Lippel LB32* a temperatura ambiente, a uma pressão de 1000 psi e mantidos na briquetadeira por 3 min.

Ao briquetes foram caracterizados quanto a friabilidade, que mede a quantidade de material que se esfarela. Também foram realizadas análises bromatológicas, afim de verificar se as rações estão dentro do padrão estabelecido para a dieta AIN-93M.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Experimentalmente verificou-se que o teor de umidade ideal para a produção dos briquetes (Figura 1) é em torno de 10% em massa. Teor de umidade inferior ao ideal torna os briquetes quebradiços, já se a ração possui um teor de umidade muito acima do ideal não ocorre a compactação do material, pois a mistura fica muito mole e não forma briquete.

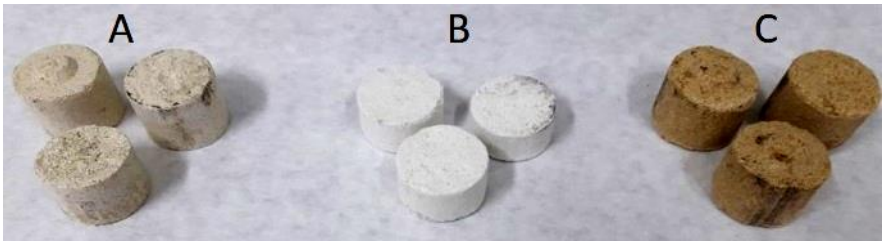


Figura 1. A) Briquete de dieta padrão com adição de nanofibra (DPN); B) Briquete de dieta padrão com adição de celulose (DP); C) Briquete de dieta comercial (DC)

Os testes de friabilidade (Tabela 2) mostraram que os briquetes de DC apresentam alta friabilidade, logo são menos resistentes, com isso podem se esfarelar durante o transporte por exemplo. A substituição das fibras comerciais por celulose branqueada de pinus, reduz a fragmentação de 50% para 30%, mas mesmo com essa redução o briquete continua muito friável. Já quando se utiliza nanofibras de celulose para produção dos briquetes, a fragmentação fica em torno de 1%, sendo assim o briquete classificado como não-friável, portanto possui uma boa resistência, ao impacto e a abrasão.

Tabela 2. Taxa de fragmentação dos tratamentos

Dieta	Fragmentação (%)
Dieta Padrão com adição de celulose (DP)	30 ± 2,0
Dieta Padrão com adição de nanofibra (DPN)	1,0 ± 0,1
Dieta comercial (DC)	50 ± 2,0

As análises bromatológicas (Tabela 3), mostram que os briquetes mantém o teor de umidade após a confecção, que os briquetes de DP e DPN possui o teor de gorduras recomendado por REEVES *et al* (1993) que é de 4,0%, já o briquete de DC possui um percentual de gorduras maior que o recomendado. Quanto a proteína todas as amostras estão próximas ao padrão. O resultado para fibras solúveis em detergente ácido mostraram que dieta comercial apresenta teor de fibras maior que o recomendado.

Tabela 3. Resultados das análises bromatológicas

Dieta	Umidade (%)	EE (%)	PB (%)	FDA (%)
Dieta Padrão com adição de celulose (DP)	10 ± 0,0	4,1 ± 0,2	15 ± 0,0	5,0 ± 0,7
Dieta comercial (DC)	12 ± 1,0	5,7 ± 0,5	15 ± 0,0	8,0 ± 0,1
Dieta Padrão com adição de nanofibra (DPN)	10 ± 0,1	3,9 ± 0,1	13 ± 0,1	4,2 ± 0,1

EE: Extrato etéreo; PB: Proteína Bruta; FDA: Fibras solúveis em detergente ácido.

Os experimentos dos efeitos de diferentes fontes de nanofibras no desempenho zootécnico e na saúde intestinal de ratos, machos da raça Wistar, em crescimento.

4 CONCLUSÃO

Para a confecção dos briquetes é necessário um teor de umidade em torno de 10% para que o briquete se forme. As nanofibras de celulose podem ser usadas para melhorar as características físicas dos briquetes de ração, reduzindo perdas por esfarelamento, facilitando o transporte.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária e à Pontifícia Universidade Católica do Paraná, pela disponibilização de seus laboratórios e à CAPES pelas bolsas de estudo.

REFERÊNCIAS

AZEVEDO, H. M. C. Fundamentos de estabilidade de alimentos. 2. ed. Brasília: Editora Técnica, 2012. 326p.

KLOCK, U.; ANDRADE, A. S. Química da Madeira. 4. ed. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2013. 85p.

MORARU, C. et al. Nanotechnology: A new frontier in food science. Food Technology, v. 57, n. 12, p. 24–29, 2003.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY JUNIOR, G. C. AIN- 93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. The Journal of Nutrition, v. 123, p. 1939–1951, 1993.

VAN SOEST, P. J. Nutritional Ecology of the Ruminant. 1. ed. Ihaca: Comstock Publ. Assoc, 1994. 476p.

PRODUÇÃO DE NANOFIBRAS ELETROFIADAS DE POLI(ÁCIDO-LÁCTICO) VISANDO APLICAÇÕES EM SISTEMAS DE LIBERAÇAO CONTROLADA DE FÁRMACOS.

Paulo Augusto Marques Chagas [(1)], Daniel Souza Corrêa [(2)];

[(1)] Doutor em Ciência e Engenharia de Materiais pela Universidade de São Paulo. Docente e orientador do PPG-Biotec/UFSCar. Pesquisador da Embrapa Instrumentação. E-mail: daniel.correa@embrapa.br.

[(2)] Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. Universidade Federal de São Carlos / Embrapa Instrumentação. Email: aschagasdop@gmail.com.

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia.

Resumo

Sistemas de liberação controlada (SLC) ideais possibilitam a entrega do fármaco em um local específico, em um tempo determinado apresentando um padrão customizado de liberação. Além disso, essa tecnologia de liberação é capaz de melhorar a eficácia dos fármacos existentes evitando que apenas uma parte do fármaco atinja o órgão ou tecidos alvo; assim, a possibilidade de se reduzir efeitos colaterais torna-se vantajosa comparada à ingestão oral de fármacos. Pesquisas e o desenvolvimento de inúmeros sistemas de liberação de fármacos tem evidenciado que os materiais poliméricos são excelentes candidatos para atender às necessidades para a concepção e preparação de um SLC eficiente. Além disso, a degradabilidade é uma exigência para que não haja acúmulo e eventuais efeitos tóxicos do polímero, razão pela qual se tem empregado polímeros biodegradáveis capazes de serem convertidos em produtos de baixo peso molecular e não tóxico, os quais são mais facilmente eliminados do organismo. Dentre os polímeros biodegradáveis e biocompatíveis, destacam-se o poliácido-lático (PLA) e a poli caprolactona (PCL). O presente trabalho tem como objetivo o uso de polímeros biodegradáveis como o PLA e PCL para produção de um sistema de liberação controlada de fármacos para aplicação médico-veterinária, cujos experimentos estão em sua fase inicial.

Palavras-chave: Poli-ácido-lático (PLA); Poli-caprolactona(PCL); Sistema de Liberação Controlada (SLC).

POLYMERS' UTILIZATION AS CONTROLLED-RELEASE DRUG DELIVERY SYSTEM

Abstract

Ideal controlled-release (CR) delivery systems allow drug release to a specific site, in a determined timing, showing a customized delivery pattern. In addition, such delivery technology is capable of improving drugs' efficiency, allowing the drugs to be delivered their final target. Therefore the possibility of lowering side effects is advantageous when compared to conventional drug oral administration. Research and development of many drug delivery systems have shown that polymeric materials are excellent options to meet the demands regarding to the design and preparation of an efficient controlled delivery system. Among biocompatible and biodegradable polymers, Polylactic acid (PLA) and Polycaprolactone (PCL) stand out due to their distinct properties. The present study, which is in the initial experimental stage, aims at the use of biodegradable polymers, such as Polylactic acid (PLA) and Polycaprolactone (PCL), to develop a controlled release drug delivery system to be used for medical-veterinarian applications.

Keywords: Polylactic acid (PLA); Polycaprolactone (PCL); Controlled-release (CR) delivery systems.

1 INTRODUÇÃO

O avanço tecnológico e científico possibilitou o encontro das áreas de materiais e da saúde, e dessa união, surgem os biomateriais. Dentre as inúmeras aplicações destes materiais, pode citar-se uma especialidade da odontologia, a ancoragem ortodôntica [1], aplicações em outras áreas da saúde humana e também animal, tais como a da cardiologia [2] e veterinária [3].

Atualmente, estão sendo utilizados como biomateriais os materiais metálicos, cerâmicos, poliméricos e compósitos [4 – 6]. Especificamente, os polímeros apresentam uma enorme variedade de aplicações devido às suas propriedades físico-químicas [7-8] e possibilidades de modificação.

Este projeto tem como objetivo principal o desenvolvimento de nanofibras poliméricas contendo antibióticos para aplicação em sistemas de liberação controlada de fármacos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O polímero utilizado para a produção de nanofibras foi o PLA com concentração de 20% (m/v) e o clorofórmio e DMF (3:1) foram empregados como solvente. A solução de PLA foi deixada em agitação magnética, por cerca de 3 horas, até o polímero dissolver completamente. Para a eletrofiação utilizou-se as seguintes variáveis experimentais: tensão de 20 kV, vazão de 8ml/h, rotação do coletor de 400 rpm, distância da agulha ao coletor de 8 cm.

As nanofibras produzidas pelas técnicas de eletrofiação serão caracterizadas através de análises térmicas, mecânicas e morfológicas por técnicas como Análise Termogravimétrica (TGA), Análise dinâmico-mecânica (DMA) e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nanofibras de PLA foram obtidas utilizando o processo de eletrofiação e caracterizadas por microscopia eletrônica de varredura, FTIR-ATR.

A imagem de microscopia eletrônica de varredura de uma fibra produzida está mostrada na Fig.1, assim como a imagem obtida por MEV. As fibras possuem diâmetro médio de 277nm e boa uniformidade.

As nanofibras de PLA foram analisadas estruturalmente e apresentaram as seguintes bandas de absorção: 1745 cm-1 (νC=O do COO), 1454 cm^{-1}, 1090 cm^{-1} (ν C-O do COO) cm^{-1} e são mostradas na Figura 1.

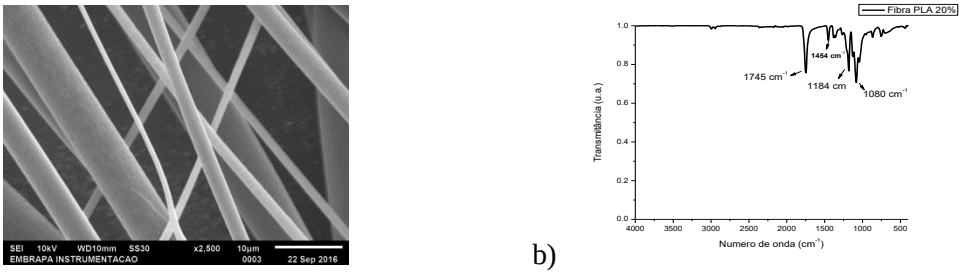


Figura 1. a) MEV da manta eletrofiada com concentração de PLA 20% e b) Espectro de transmissão na região do infravermelho (FTIR) para amostra de nanofibras de PLA 20%

4 CONCLUSÃO

Através da técnica de eletrofiação pode-se obter nanofibras de PLA com boa morfologia, as quais foram caracterizadas por MEV e FTIR. Como próxima etapa será adicionada fármaco às fibras e estudos de liberação serão realizados.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Capes, CNPq, FAPESP e MCTI_SisNano pelo apoio financeiro e ao Laboratório Nacional de Nanotecnologia para Agronegócio – LNNA pelo espaço cedido para a realização deste projeto.

REFERÊNCIAS

[01] GAINSFORTH, B.L., HIGLEY, L.B., "A Study of Orthodontic Anchorage Possibilities in Basal Bone", American Journal Orthodontic, v. 31, pp. 406-417, 1945.

[02] [YUAN, Shi-Min. O conduto valvulado bovino contegra, um biomaterial para o tratamento cirúrgico de cardiopatias congênitas. Arq. Bras. Cardiol. São Paulo , v. 99, n. 6, p.

1159-1166, Dec. 2012 . Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X2012001500014&lng=en&nrm=iso>. Acessado em 31 de agosto de 2017. Epub Nov 16, 2012.

[03] Silva, W. G. (2013). Biomaterial como implante ortopédico no avanço da tuberosidade tibial em cães.

[04] Morais, Liliane Siqueira de, Glaucio Serra Guimarães, and Carlos Nelson Elias. "Ion release from metallic biomaterials." Revista Dental Press de Ortodontia e Ortopedia Facial 12.6 (2007): 48-53.

[05] KAWACHI, Elizabete Y. et al. Biocerâmicas: tendências e perspectivas de uma área interdisciplinar. Quím. Nova, São Paulo, v. 23, n. 4, p. 518-522, Aug. 2000 . Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422000000400015&lng=en&nrm=iso>. access on 05 July 2016. http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422000000400015.

[06] CANEVAROLO JR, Sebastião V. Ciência dos polímeros. Artiliber editora, São Paulo, 2002.

[7] MANO, Eloisa Biasotto. Polímeros como materiais de engenharia. Edgard Blücher, 2000.

[8] Park, J. B.; In Biomaterials: an introduction; Plenum Press, New York, 1980; 362p

EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE CUTINA DE CASCA DE MAÇÃ

Anny Manrich[1*], Maria Alice Martins[1], Camila Pasqualoto[2], Luiz Henrique Capparelli Mattoso[1]

[1] Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro 1452, 13560-970, São Carlos, SP
[2] Universidade Federal de São Carlos, Departamento de Química, Rodovia Washington Luís, Km 235, SP-310, 13565-905, São Carlos, SP
**anny.manrich@gmail.com*

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio

Resumo
A produção de maçãs no Brasil é de um milhão de toneladas. A indústria de derivados da maçã produz suco concentrado, cidra, vinagre, polpa, chá e doce; e gera como resíduos principalmente a casca. Este subproduto pode representar de 20 a 40% do peso das maçãs processadas e, quando descartado, além da perda de biomassa e nutrientes, torna-se um possível problema ambiental. Dentre as substâncias encontradas na casca da maçã está a cutina. A cutina é um biopoliéster amorfo constituído principalmente de cadeias longas de hidrocarbonetos de ácidos graxos interesterificados, principalmente os ácidos graxos C_{16} e C_{18}, com ramificações de grupos hidroxila ou epóxido e ramificações aromáticas. Busca-se, neste trabalho, a obtenção da cutina da maçã, com a exploração da casca da maçã, visando-se sua valorização comercial. A cutina foi satisfatoriamente extraída, gerando um material de característica lipídica, com carboidratos e compostos fenólicos, que poderá ser explorado em futuras aplicações.
Palavras-chave: Casca de maçã, Valorização de resíduos, Cutina, *Malus domestica*

EXTRACTION AND CHARACTERIZATION OF CUTIN FROM APPLE PEEL

Abstract
The production of apples in Brazil is one million tons. The apple derivatives industry produces concentrated juice, cider, vinegar, pulp, tea and jam; generating as the main residue the peel. This byproduct can account for 20 to 40 (wt%) of the total processed apples and, when discarded, becomes a possible environmental problem. Among the substances found in apple peel is the cutin. Cutin is an amorphous biopolyester consisting mainly of long chain hydrocarbon fatty acids of interesterified fatty acids, mainly the fatty acids C_{16} and C_{18}, with branching of hydroxyl or epoxy groups and aromatic branching. The aim of this work is to obtain cutin from the apple, with the exploitation of the apple peel, aiming at its commercial valorization. The cutin was suitably extracted, generating a lipidic material, which contains also carbohydrates and phenolic compound. This product can be utilized in future applications and developments.
Keywords: Apple peel, Valorization of residues, Cutin, *Malus domestica*.

1 INTRODUÇÃO

No Brasil são produzidos 1 milhão de toneladas de maçã todos os anos (ANDRADE, 2016), sendo que cerca de 20% desta produção é destinada à indústria de processamento para a produção suco e vinagre de maçã. Os principais resíduos dessa indústria são a polpa e a casca, entre 20 e 40% do peso total da fruta (PAGANINI, 2005). Na maioria das vezes, descartados sem devido tratamento, esses resíduos podem gerar sérios danos ao meio ambiente (ROSA, 2011; MIRABELLA, 2014). A casca da maçã, bem como de outras frutas, serve como membrana protetora a invasores externos, danos físicos e perda excessiva de água. Ela é formada por uma camada hidrofílica, internamente, composta por celulose, hemicelulose e pectina; e uma membrana hidrofóbica, composta majoritariamente por cutina (HEREDIA-GUERRERO et al., 2014). A cutina é um biopoliéster de alto peso molecular, de característica lipídica, constituído principalmente por ácidos graxos C16 e C18 e outros, hidroxilados e reticulados entre si e também por ceras (KOLATTUKUDY, 1980; JÄRVINEN et al., 2010). A cutina pode ser extraída de frutos como o tomate, a uva, a maçã e a oliva (HEREDIA, 2003).

A utilização da casca da maçã, e seu aumento de valor agregado trariam benefícios para a cadeia produtora de maçã. A maioria dos autores sugere o uso dos resíduos da maçã para a compostagem ou a produção de biogás, mas existem outras explorações, como a extração de compostos antioxidantes da casca para a produção de um antioxidante natural para uso em alimentos; outro exemplo é a extração de fenólicos para uso na medicina (MIRABELLA et al., 2014). Mas não foram encontrados na literatura trabalhos sobre a cutina da maçã. Neste trabalho, a cutina foi extraída da casca da maçã e caracterizada, com uso de termogravimetria (TG/DTG), calorimetria diferencial exploratória (DSC), espectroscopia na região do infravermelho (FTIR) e difratometria de raios X.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1. MATERIAL

A maçã Gala (*Malus domestica*) estudada é proveniente da região de Caxias do Sul, RS, Brasil e foi comprada no mercado local.

2.2. MÉTODOS

As maçãs foram autoclavadas, a 121 ºC, até que a pressão atingisse 1,0 atm. Neste ponto, desligou-se a autoclave, as maçãs foram retiradas e com o auxílio de uma faca separou-se a casca de maçã da polpa, centro e sementes, que foram descartados. As cascas foram secas em estufa a 40 ºC por 72 h. A extração da cutina foi realizada por meio da adaptação do método descrito por Cigognini et al. (2015) no texto da patente WO 2015028299 A1. Em um béquer de 4,5L, colocou-se 44,56g de casca de maçã e adicionou-se 2,20L de solução de NaOH 3% (m/v). Autoclavou-se a 121 ºC por duas vezes de 60 minutos. O conteúdo foi filtrado com o auxílio de uma peneira e à fase líquida adicionou-se, gota a gota, uma solução de HCl 6 $mol.L^{-1}$ ajustando-se o pH para 5. Centrifugou-se a fase líquida por 20 min e 10.000 rpm e descartou-se o sobrenadante. À fase retida foi adicionada água destilada e o processo foi repetido. A cutina extraída foi então seca por liofilização.

Os ensaios por espectroscopia na região do Infravermelho da cutina foram realizados em um acessório tipo HATR horizontal acoplado em um equipamento Vertex 70 Bruker Optics com resolução de 1 cm^{-1} e 32 varreduras. Para os ensaios de DRX, as amostras de cutina foram analisadas em difratômetro Rigaku, operando com 30 kV, 30 mA e radiação de CuKα 1,5406 Å. Os ensaios serão realizados a 25° C e com ângulos 2θ entre 5° e 40° (0.5º. min^{-1}). Curvas termogravimétricas (TG) e TG derivada (DTG) da cutina foram obtidas em analisador térmico TGA Q500 (TA Instruments Inc., New Castle, EUA) com aquecimento de 25°C até 700 °C, razão de 10 °C min^{-1}, em ar sintético. Para os ensaios de DSC, a cutina foi aquecida de -60 até 100 ºC a 5 ºC min^{-1}, sob atmosfera de nitrogênio (50 mL min^{-1}) em equipamento DSC Q100 (TA Instruments), segundo metodologia proposta por Heredia-Guerrero et al. (2009).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A cutina foi extraída da casca da maçã satisfatoriamente, com rendimento de 35% em massa em relação à casca da maçã e de 0,09% em relação à massa total das frutas. A cutina foi caracterizada e os resultados de FTIR, DRX, TG/DTG e DSC demonstram que o material obtido possui característica lipídica, mas também com presença de carboidratos derivados de polissacarídeos, e compostos fenólicos. As Figuras referentes à caracterização (Figuras 1 até 4) encontram-se na sequência, sendo que as principais vibrações observadas no espectro de FTIR, Figura 1A, são descritas na Tabela 1.

Tabela 1. Vibrações principais observadas no espectro de Infravermelho da cutina de maçã

Número de onda (cm^{-1})	Vibração característica relacionada
3427	-H e -OH (celulose) - estiramento
2924 2850	Grupo metileno (cutina) – estiramento simétrico
1467	Grupo metileno (cutina) - deformação
723	Grupo metileno (cutina) – flexão angular
1598	Compostos fenólicos
1693	Carbonila – estiramento
1128, 1112, 1055	C-O e O-H (celulose)

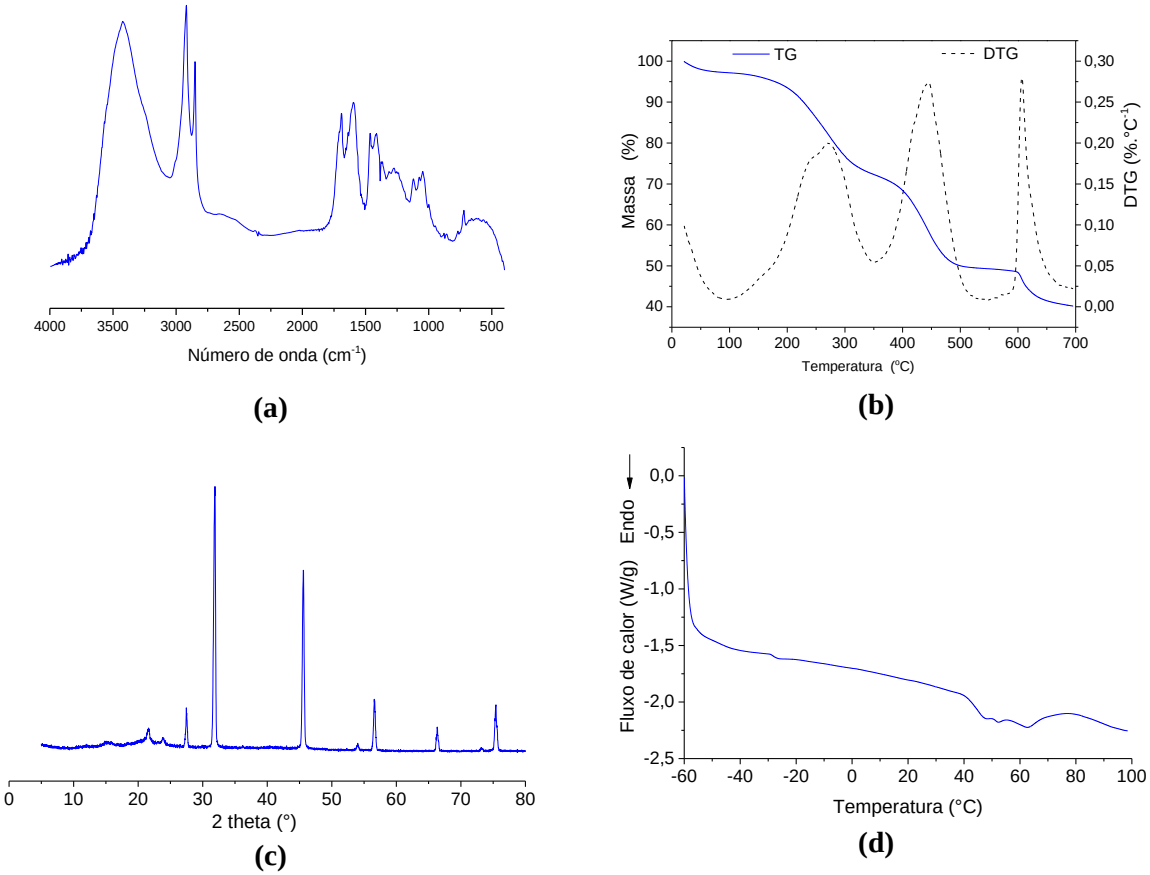


Figura 1. Resultados da caracterização da cutina de maçã: (a) FTIR; (b) TG/DTG; (c) DRX e (d) DSC.

As curvas de TG/DTG, Figura 1B, mostram constar-se de um material cuja resistência térmica é até de cerca de 170°C, o pico em 270ºC pode ser atribuído à desidratação e descarboxilação de hidroxiácidos, os principais componentes da cutina (CIFARELLI *et al.)*.

No espectro de DRX, Figura 1C, podem ser encontrados os picos em 2θ de 21,7º e 15,1º referentes à celulose do tipo I e em 16,8º do tipo II, mas a presença de outros picos acentuados e de grande intensidade sugere fortemente a presença de compostos inorgânicos provenientes de contaminação externa. Esse resultado deverá ser ainda investigado. O resultado de DSC, Figura 1D, mostrou que a cutina possui transição vítrea em -30ºC, que pode ser atribuída às mudanças conformacionais de sua cadeia principal, a cadeia de metileno. Entre 40 e 80 ºC, observou-se um segundo pico endotérmico, o qual está relacionado com transições de segunda ordem do polímero em que não abrangem movimento da cadeia principal metilênica. Esse segundo pico pode estar também associado às ceras, que próximo a 45 ºC começam a fundir, absorvendo energia e causando essa mudança no fluxo de calor (LUQUE e HEREDIA, 1994)

4 CONCLUSÃO

A extração de cutina a partir da casca de maçã foi realizada com êxito, atingindo-se um rendimento de 35%. Resultados da caracterização demonstram que o material extraído é de característica majoritariamente lipídica, possuindo também carboidratos e compostos fenólicos derivados da casca. A cutina apresentou transição vítrea em -30 ºC e também entre 40 e 80 ºC, estabilidade térmica até cerca de 170 ºC e picos de difração em raios X referentes à celulose. Observou também a presença de possíveis contaminantes, o que deverá ser ainda investigado.

AGRADECIMENTOS
Os autores agradecem ao suporte dado pelo CNPq (402287/2013-4) SisNano/MCTI, FINEP e à Rede AgroNano.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, P.F.S.2017. Análise da conjuntura agropecuária safra 2016/17–Fruticultura. Disponível em: http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/2017/ Fruticultura_2016_17.pdf Acesso em 11 de maio de 2017.

CIFARELLI, A; CIGONINI, I.; BOLZONI, L.; MONTANARI, A. Cutin isolated from tomato processing by-products: extraction methods and characterization. Proceedings of CYPRUS2016 4th. International Conference on Sustainable Solid Waste Management, pp. 1-20, 2016.

CIGOGNINI, I., MONTANARI, A., DE LA TORRE CARRERAS, R., CARDOSO BERNET, M. G. Extraction method of a polyester polymer or cutin from the wasted tomato peels and polyester polimer so extracted. Patent WO 2015028299 A1. 2015.

HEREDIA, A. Biophysical and biochemical characteristics of cutin, a plant barrier biopolymer. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1620, pp. 1-7. 2003.

HEREDIA-GUERRERO, J. A., HEREDIA, A., GARCÍA-SEGURA, R., BEÍITEZ, J. J. Synthesis and characterization of a plant cutin mimetic polymer. *Polymer*, 50, pp. 5633-5637. 2009.

JÄRVINEN, R.; KAIMAINEN, M.; KALLIO, H. Cutin composition of selected northern berries and seeds. Food Chemistry, Vol. 122, pp.137–144, 2010.

KOLATTUKUDY, P. E. Cutin from plants. Biopolymers Online. 3a. 2005.

LUQUE,P.; HEREDIA, A. Glassy State in Plant Cuticles During Growth. Z. Naturforsch. 49c, pp. 273-275. 1994.

MIRABELLA, N.; CASTELLANI, V.; SALA, S. Current options for the valorization of food manufacturing: a review. Journal of Cleaner Production, vol 65, pp. 28-41. 2014.

PAGANINI, C.; NOGUEIRA, A.; SILVA, N.C.; WOSIACKI, G. Aproveitamento de bagaço de maçã para produção de álcool e obtenção de fibras alimentares. Ciênc. agrotec., Lavras, v. 29, n. 6, p. 1231-1238, 2005.

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, 2011. In: II Simpósio Internacional sobre Gerenciamento de Resíduos Agropecuários e Agroindustriais – II SIGERA, Foz do Iguaçu, PR, Volume I – Palestras. 2011

CURATIVO BASEADO EM BIONANOCOMPÓSITO COM PROPRIEDADE ANTIBACTERIANA

Tiago A. Lima[1], Marcos V. Lorevice[2], Fauze Ahmad Aouada[1], Márcia Regina de Moura[1]

1 – UNESP – Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Grupo de Compósitos e Nanocompósitos Híbridos (GCNH), Departamento de Física e Química (DFQ), Programa de Pós Graduação em Ciência dos Materiais, Faculdade de Engenharia da Unesp de Ilha Solteira (FEIS), Ilha Solteira, SP, Brasil.
2-Embrapa Instrumentação, São Carlos-SP, Brasil
lima.tiago.al@gmail.com

Resumo
Com foco na capacidade das nanopartículas de prata de inibir a atividade bacteriana, filmes de alginato de sódio contendo Sorbitol foram carregados com nanopartículas com o intuito de se criar um material destinado a uso terapêutico. Filmes de alginato de sódio além de apresentar boas propriedades mecânicas, podem promover a capacidade de abreviar a cura de lesões. A inserção de nanopartículas de prata na matriz polimérica de alginato forneceu a capacidade de inibir a atividade bacteriana de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, além disso notou-se que as matrizes que continham Sorbitol tiveram um desempenho um pouco melhor, isso estar associado ao fato de o sorbitol ser um agente plastificante e promover o afastamento das cadeias poliméricas, aumentando a superfície de contato das nanopartículas com a área contaminada ou facilitando a migração das nanopartículas para o meio. A atividade antibacteriana que esse material apresenta é ausente nos curativos convencionais, associando-se as propriedades biodegradáveis e hidrossolúveis da matriz de Alginato de sódio esse material se torna muito promissor para substituir a sulfadiazina de prata em lesões causadas por queimaduras.

Palavras-chave: Nanopartículas de prata, Curativos, Bionanocompósitos.

Skin dressing based on bionanocomposites with antibacterial propertie.

Abstract
Focusing on the ability of silver nanoparticles to inhibit bacterial activity, sodium alginate films containing Sorbitol were loaded with nanoparticles in order to create a material intended for use as dressings. Sodium alginate films, besides having good mechanical properties, have the capacity to promote the healing of the lesion. The addition of silver nanoparticles into the alginate matrix provided inhibition of E. coli and S. aureus. In addition, it was noted that the matrices containing sorbitol performed a greater inhibition than matrices without sorbitol. This result may be associated with the fact that sorbitol is a plasticizing agent, which decreases polymer chains interactions, promoting the increase of the contact surface of the nanoparticles with the contaminated area or facilitating the migration of silver nanoparticles to the subtract. Conventional dressing does not present antibacterial activity. Furthermore, by associating the biodegradable and water-soluble properties of the sodium alginate matrix, this material becomes very promising to substitute the silver sulfadiazine in lesions caused by burns.
Keywords: Silver nanoparticles, Skyn Dressing, Bionanocomposites.

INTRODUÇÃO

Antes dos anos 70, curativos poliméricos eram considerados apenas materiais passivos com papel mínimo no processo de cicatrização. Em 1978, vários materiais poliméricos à base de quitina foram utilizados como curativos, devido às suas atividades biológicas promissoras, mostrando que os polímeros naturais são excelentes biocompostos para o desenvolvimento de materiais para curativo [1].

O Alginato de sódio (AS) foi descrito pela primeira vez pelo químico britânico EEC Stanford em 1881[2]. É o sal dos ácidos α-L-gulurônico e β-D-manurônico, um copolímero de ocorrência

natural extraído em geral de algas marrons (*Phaeophyceae*), porém pode ser produzido por Azotobacter *(A. vinelandii TL, A. vinelandii IV)* e Pseudomonas (*P.florencens, P. mendocina, P. putina, P. aeruginosa*), portanto é classificado como um biopolímero [3].

As propriedades do alginato no que se refere a estrutura são ideais para a aplicação como curativos, pois, tem potencial para tratamento em áreas queimadas e de áreas doadoras de enxertos, as membranas de alginato podem facilitar a remoção do curativo sem muito trauma durante as trocas, além de promover um ambiente propício à reepitelização do tecido danificado [4].

A principal vantagem estrutural do filme de AS se deve a matriz ser composta por longos planos poliméricos sobrepostos, que interagem fisicamente através dos grupos hidrofílicos dos monômeros G e M (Fig.1). Devido a este fator, os filmes de alginato apresentam excelentes propriedades mecânicas, físicas e de barreira, além de sua superfície ser uniforme e não rugosa.

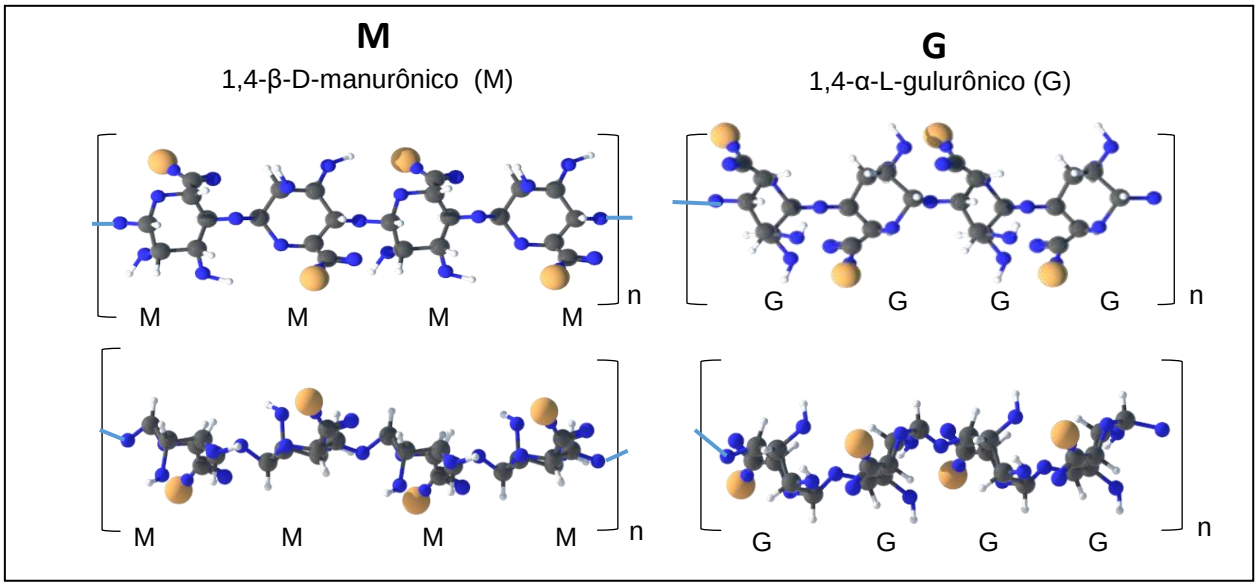


Figura.1- Estruturas das cadeias dos monômeros M e G respectivamente.

No entanto as propriedades dos filmes de alginato podem ser modificados, através da inserção de agentes plastificantes ou nanopartículas. Ambos interagem com os radicais hidrofílicos da matriz durante o processo de secagem "casting", tomando posições ocupadas por moléculas de água. O resultado dessa recombinação é o afastamento ou compactação dos planos da matriz polimérica [5].

As nanopartículas metálicas além de melhorar as propriedades mecânicas dos filmes, podem representar um potente e quase invisível aliado no combate a atividade de algumas bactérias. As nanopartículas de prata (AgNP) em especial são reconhecidas por sua ação antimicrobiana, e seu uso vem sendo muito explorado na fabricação de dispositivos biomédicos [6].

Com base nas informações aqui apresentadas, foram desenvolvidos filmes de alginato de sódio, contendo em sua matriz nanopartículas de prata e sorbitol. Posteriormente suas propriedades microbiológicas foram testadas.

EXPERIMENTAL

Primeiramente foram preparados filmes de alginato de sódio, contendo nanopartículas de prata sintetizadas através de redução com borohidreto de sódio. A parte experimental foi realizada segundo a metodologia reportada por OTONI et al [7], de acordo com a norma CLSI 2012. Culturas de bactérias E.coli (ATCC 11229), S. aureus (ATCC 6538) foram mantidas à -80°C até o crescimento em tubos com caldo de soja tríptica conhecida como TSB (Acumedia Manufactures, ind., Lasing, MI, EUA) até 37 °C por 24 h e, então, colocadas em diferentes tubos com TSB a 37 °C por 12 h. Colônias isoladas das culturas foram inoculadas com 0,85% (m/v) de solução de NaCl até que atingiram a turbidez do padrão McFarland 0,5, o que corresponde a aproximadamente 10^8 UFC mL^{-1}. As suspensões foram depositadas em ágar solidificado. Os filmes foram cortados em discos de 1 cm de

diâmetro e expostos a luz UV (110 V e 254 nm) por 2 min em cada lado antes de serem colocadas nas placas de Petri, as quais foram previamente inoculadas com as culturas de bactérias e deixadas em período de incubação de 16-18 h a 37 °C. O diâmetro do halo de inibição ao redor do filme foi então, medido com paquímetro digital. Posteriormente foi feita uma avaliação visual de inibição, considerando que discos sem área de inibição são filmes que não possuem atividade antimicrobiana.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pode-se observar com clareza nos filmes das placas 1, 2, 3 e 4, que não houve presença halos de inibição, conforme ilustrado na Fig.2, portanto não exerceram atividades contra as colônias. Isto se deve ao fato de a sequência numérica de placas de 1 a 4 hospedarem apenas amostra de filmes compostos por AS e AS + sorbitol.

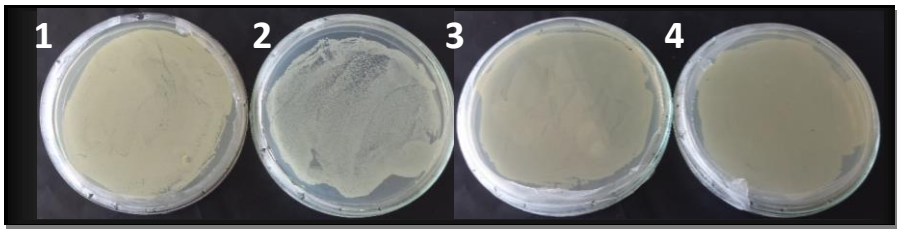


Figura 2 – Placas para teste de inibição das amostras que contem apenas matriz e plastificante .

Em contraste todos os filmes das placas numeradas de 5 a 8 apresentaram halos de inibição, isso comprova a influência das nanopartículas de prata contra a atividade das bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Além disso, os filmes das placas 5 e 7 continham também, sorbitol como agente plastificante, estas amostras demonstraram uma atividade um pouco maior de ataque das AgNP contra as bactérias, conforme demostrado na Fig.3.

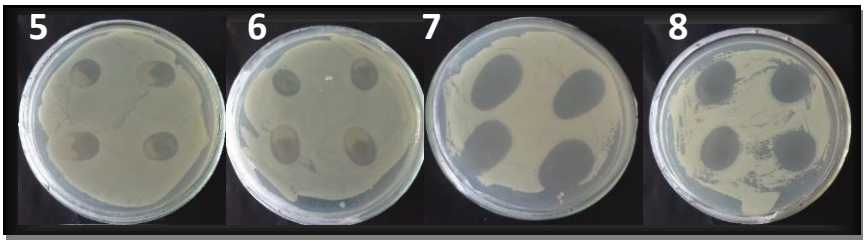


Figura 3 – Placas contendo amostras de filmes com AgNPs.

Isto talvez esteja associado ao fato de o sorbitol interagir com os radicais hidrofílicos dos monômeros G e M, promovendo o afastamento das cadeias da matriz polimérica, aumentando a superfície de contato das nanopartículas com o substrato, ou facilitando a migração das AgNP para o meio, conforme descrito por Pires e Moura [5].

É possível observar também que as placas 7 e 8, apresentaram halos maiores conforme a Tabela 1 apresenta.

Tabela 1

Informações referentes as amostras da Fig.2 e 3, e resultados das medias de área de inibição das AgNPs no substrato.

Placas	Conteúdo do filme	Amostra	Cultura	Área do halo (mm^2)	Desvio Padrão
1	AS	Zero	S. Aureus	0,000	±0,000
2	AS + Sorbitol	Zero S	S. Aureus	0,000	±0,000
3	AS	Zero	E. Coli	0,000	±0,000
4	AS + Sorbitol	Zero S	E. Coli	0,000	±0,000
5	AS + Sorbitol + AgNP	DAGS12	E. Coli	793,286	±79,8603
6	AS + AgNP	DAG12	E. Coli	754,629	±82,2229
7	AS + Sorbitol + AgNP	DAGS12	S. Aureus	1709,81	±70,8888
8	AS + AgNP	DAG12	S. Aureus	1260,81	±99,839

Este fato se deve ao substrato destas placas comportarem colônias de bactérias *S. aureus*, que são bactérias gram-positivas ao contrário da *E. coli* que é uma bactéria gram-negativa, em virtude disso, possui uma parede celular mais espessa e quimicamente mais complexa. Uma vez que as AgNP agem na membrana celular, conforme descrito por J. Yan [6], essa condição certamente amplifica a ação das AgNP sob bactérias gram-positivas.

CONCLUSÃO

Os resultados comprovam que a atividade inibitória das AgNPs contra *E. coli* e *S. aureus*, são mantidas, mesmo aprisionadas na matriz de AS, além disso o sorbitol ampliou o raio de ataque das AgNPs. Os filmes de alginato carregados com nanopartículas de prata e sorbitol, podem ser um substituto ideal e funcional para os curativos convencionais compostos de gaze e sulfadiazina de prata, destinados a tratamento de queimaduras.

AGRADECIMENTOS

CNPq, CAPES, UNESP FAPESP e EMBRAPA INSTRUMENTAÇÃO.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Elbadawy A. Kamoun, El-Refaie S. Kenawy, Xin Chen**. A review on polymeric hydrogel membranes for wound dressing applications: PVA-based hydrogel dressings Review Article. Journal of Advanced Research, Volume 8, Issue 3, May 2017, Pages 217-233.

2. **B. Thu, O. Smidsrød, G. Skjåk-Bræk.** Alginate gels some structure-function correlations relevant to their use as immobilization matrix for cells. R.H. Wijffels, R.M. Buitelaar, C. Bucke, J. Tramper (Eds.), Progress in biotechnology, Elsevier.,1996.

3. **MULLER, José Miguel; SANTOS, Renata Lopes dos; BRIGIDO, Riveli Vieira**. Produção de alginato por microrganismos. Polímeros, São Carlos, v. 21, n. 4, p. 305-310, 2011. Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-14282011000400011&lng=en&nrm=iso>. access on 24 Mar. 2017. Epub Oct 14, 2011.

4. **Nicolisi, J.G., Moraes, A. M**. Biomateriais destinados à terapia de queimaduras: estudo entre o custo e o potencial de efetividade de curativos avançados. VI Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica, 2005

5. **Viviane G. A. Pires., Marcia R. de Moura**. Preparação de novos filmes poliméricos contendo nanoemulsões do óleo de melaleuca, copaíba e limão para aplicação como biomaterial. Quim. Nova, Vol. XY, No. 00, 1-5, 2016.

6. **J. Yan, AM Abdelgawad, ME El-Naggar, OJ Rojas**. Atividade antibacteriana de nanopartículas de prata sintetizadas In-situ por pulverização em solução sobre celulose. Carbohydr. Polym., 147 (2016), pp. 500-508.

7. **Otoni, C. G., de Moura, M. R., Aouada, F. A., Camilloto, G. P., Cruz, R. S., Lorevice, M. V., Soares, N. F. F., & Mattoso, L. H. C**. Food Hydrocolloids, 2014b, 41, 188-194.

AVALIAÇÃO REOLÓGICA DA CELULOSE DE EUCALIPTO EM PÓ REIDRATADA

Maraysa Rodrigues Furtado [1]; Virgínia Martins da Matta [2]; Carlos Wanderlei Piler de Carvalho[2]; Luiz Fernando Menezes da Silva [2]; Washington Luiz Esteves Magalhães [3]; Renata Valeriano Tonon[2]

[1]Universidade Federal do Rio de Janeiro; [2]Embrapa Agroindústria de Alimentos; [3]Embrapa Florestas; maraysafurtado@hotmail.com

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio.

Resumo
A celulose é um polímero de grande importância tecnológica, devido à sua ampla aplicabilidade e funcionalidade. A partir dela é possível produzir nanocelulose fibrilada, que apresenta diversas vantagens quando comparada aos demais tipos de celulose produzidos. A nanocelulose fibrilada de eucalipto foi desidratada em *spray dryer*, obtendo-se um pó contendo fibras e alguns aglomerados. Com o objetivo de avaliar a possível utilização da celulose seca, o material em pó foi reidratado e homogeneizado em diferentes condições e os fluidos obtidos foram submetidos à análise reológica. Observou-se que a homogeneização por 5 min a 15000 rpm foi a condição de processo mais adequada para a reidratação da celulose, pois permitiu a obtenção de uma solução estável por um período superior a 10 dias e de maior viscosidade, quando comparada às demais. Com o ensaio reológico pôde-se observar que as soluções obtidas apresentaram características de fluido pseudoplástico, sendo o modelo Herschel-Bulkley o que melhor descreveu o comportamento das mesmas.
Palavras-chave: Nanocelulose; *Spray dryer*; Morfologia de partículas; Reologia.

EVALUATION OF THE REHIDRATING OF AN EUCALYPTUS NANOCELLULOSE POWDER

Abstract
Cellulose is a polymer of great technological importance due to its wide applicability and functionality. Fibrillated nanocellulose could be obtained from cellulose, presenting several advantages when compared to other types of cellulose pulp produced. The eucalyptus nanofibrillated cellulose was dehydrated in *spray dryer*, obtaining a powder containing fibers and some agglomerates. In order to simulate the use of fibrillated cellulose, the powdered material was rehydrated in distilled water at different homogenization rates and the obtained solutions were submitted to rheological analysis. It was observed that homogenization for 5 min at 15000 rpm was the most suitable condition for the rehydration of the cellulose, since it allowed to obtain a stable solution for a period higher than 10 days and with a higher viscosity, when compared to the others. The rheological data showed that the solutions presented characteristics of pseudoplastic fluid, being the Herschel-Bulkley model the one that best described their behavior.
Keywords: Nanocellulose; *Spray-drying*; Particle morphology; Rheology.

1 INTRODUÇÃO

A celulose ($C_6H_{10}O_5$) é um dos biopolímeros de maior importância devido à sua disponibilidade, biocompatibilidade, degradabilidade biológica e sustentabilidade (CHEN et al., 2011), sendo encontrada como componente estrutural em plantas, algas, fungos, bactérias, animais marinhos, animais invertebrados e protozoários (HABIBI, LUCIA & ROJAS, 2010). É constituída por longas cadeias poliméricas, lineares, planas e de alta massa molecular, formadas por 10000 a 15000 unidades D-anidroglicopiranose unidas por ligações glicosídicas β (1-4) (GÓMEZ et al., 2016; ABDUL KHALIL et al., 2014).

Quando o material celulósico apresenta pelo menos uma dimensão em escala nanométrica é chamado de nanocelulose. De acordo com a morfologia, funções e métodos de obtenção, fonte

celulósica e condições de processamento, as nanoceluloses podem ser classificadas em nanofibriladas, nanocristalinas e celuloses bacterianas (CHEN et al. 2011). Possuem baixa expansão térmica e boas propriedades mecânicas e óticas, alta resistência e rigidez, e baixa massa (BELBEKHOUCHE et al., 2011). A vantagem de se utilizar celulose nanofibrilada, comparada às demais formas de celulose, está relacionada à sua alta biodegradabilidade, menor massa, renovabilidade, menor custo de obtenção, maior rigidez e força (DUFRESNE, 2010).

A secagem por aspersão em *spray dryer* possibilita aumentar a vida útil de nanoceluloses pela redução da atividade de água. Porém, por a celulose ser altamente hidrofílica e se aglomerar facilmente, há necessidade de aplicação de condições adequadas de secagem a fim de garantir a manutenção das propriedades químicas e físicas das nanofibrilas (PENG, HAN & GARDNER, 2012), para que, posteriormente, o uso do produto desidratado seja eficaz em soluções alimentícias, farmacêuticas e demais áreas. A fim de que a secagem do produto seja viável, o pó, quando reidratado, deve apresentar características reológicas e físicas adequadas como molhabilidade, estabilidade e coesão ou dispersabilidade. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a morfologia da celulose fibrilada, obtida por *spray dryer*, e verificar a influência da velocidade de homogeneização sobre a reologia e estabilidade da solução reidratada.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Obtenção do pó de celulose

A celulose nanofibrilada foi obtida a partir da purificação da madeira de eucalipto por processos químicos seguido de tratamento mecânico para obtenção de nanofibrilas. O gel branqueado de celulose, contendo inicialmente 3% de sólidos, foi diluído com água (1:1) e desidratado em *spray dryer* (Niro Atomizer, Soborg, Dinamarca) utilizando temperatura de entrada de 140 °C e de saída de 85 °C.

2.2. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A morfologia da celulose em pó foi avaliada em microscópio eletrônico de varredura TM3000 (Hitachi, Tóquio, Japão) utilizando aumento de 100, 500 e 1500 vezes.

2.3. Estabilidade do pó reidratado

A celulose fibrilada foi reidratada em água destilada na concentração de 3 % (p/v) e homogeneizada em Ultra-Turrax T25 Digital (T25D51, IKA, Staufen, Alemanha) utilizando velocidades de 5000, 10000 e 15000 rpm por 3 e 5 minutos. As suspensões obtidas permaneceram em repouso à temperatura ambiente durante 24 horas, determinando-se o volume decantado. O tempo de homogeneização que forneceu maior estabilidade à suspensão foi o utilizado para obtenção das amostras submetidas às análises reológicas.

2.4. Ensaio reológico

Para a caracterização da suspensão obtida após a reidratação da celulose, foi realizado um estudo reológico em reômetro oscilatório MARS II (Thermo Scientific, Karlsruhe, Alemanha) com geometria lisa placa-placa de 60 mm de diâmetro a 25 ºC (PP60Ti), operando com controlador Peltier, *gap* de 1 mm e taxa de cisalhamento que variou de 0,0001 a 200 s^{-1} por 120 s. Foram avaliados o tipo de fluido e a viscosidade aparente em função da taxa de deformação, além dos modelos matemáticos que melhor descrevem o comportamento das soluções.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 1 estão apresentados o gel de nanocelulose original e o pó obtido (Figura 1b) após a secagem em *spray dryer*.

a)  b) 

Figura 1. Celulose de eucalipto. a) Gel de nanocelulose b) Pó obtido pela secagem em *spray dryer*

A morfologia das partículas está apresentada na Figura 2. As imagens obtidas mostraram que a nanocelulose ao ser desidratada em *spray dryer* apresenta-se como fibrilas em forma de agulha em escala micro (Figura 2b), ou seja, houve alteração de escala nano para micro e isto pode ser explicado devido à aglomeração das fibras durante o processo de secagem. Peng, Han & Gardner (2012) também observaram a mesma morfologia e alteração de escala, e ao compararem diferentes métodos de secagem os autores afirmam que mesmo com a obtenção de microfibrilas a desidratação por *spray dryer* é a mais eficaz pois promove a formação de partículas em tamanhos menores quando comparado aos demais métodos, como à liofilização e secagem convencional.

a) b) c)

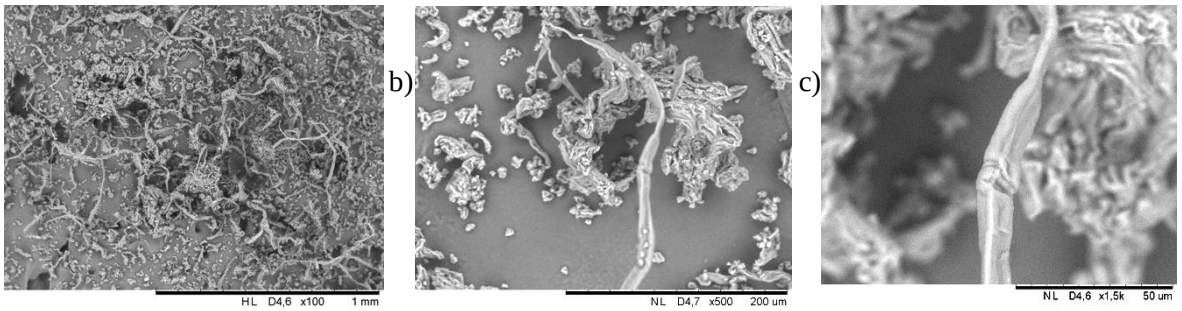


Figura 2. Microscopia eletrônica de varredura da celulose fibrilada de eucalipto desidratada em *spray dryer* . Imagem obtida no aumento de (a) 100x, (b) 500x, (c) 1500x .

Quanto à estabilidade das soluções reidratadas, observou-se que esta foi influenciada pela velocidade e pelo tempo de homogeneização do produto. Acredita-se que a diferença na estabilidade das suspensões preparadas ocorreu principalmente devido à variação de temperatura observada durante a homogeneização. Independentemente da velocidade de homogeneização, com o tempo de 3 minutos todas as soluções apresentaram separação de fase, enquanto que com o tempo de 5 minutos, a solução homogeneizada a 15000 rpm apresentou-se estável, sem separação de fase, por um período superior a 10 dias. As temperaturas antes e após a homogeneização e o volume decantado das soluções de celulose reidratadas após 24 horas de repouso à temperatura ambiente, estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Variação da temperatura durante a homogeneização e volume decantado das soluções de celulose reidratadas após 24 h de repouso à temperatura ambiente

Velocidade (rpm)	3 min			5 min		
	Temperatura inicial (º C)	Temperatura final (º C)	Volume decantado após 24 h (mL)	Temperatura inicial (º C)	Temperatura final (º C)	Volume decantado após 24 h (mL)
5000	25	28	11	25	29	10
10000	25	32	8,5	25	44	2,75
15000	25	39	5,5	25	61,5	0

Foi observada uma variação de temperatura superior a 30 ºC quando a solução foi homogeneizada por maior tempo (5 minutos) e com maior velocidade (15000 rpm). Acredita-se que este aumento foi o responsável pela formação do gel, que se manteve mais estável. Com o aumento de temperatura também foi percebida, visualmente, alteração na coloração da solução reidratada a 15000 rpm que, em ambos períodos de tempo (3 e 5 minutos), apresentou escurecimento.

No ensaio reológico foi possível observar que a viscosidade das amostras diminuiu com o aumento da taxa de deformação ($n<1$), sugerindo que os fluidos possuem comportamento característico de fluidos não newtonianos, podendo ser classificados como pseudoplástico. Além disso, para uma determinada taxa de deformação e tempo variável, a tensão de cisalhamento se mantém, sugerindo que o comportamento dos fluidos é independente do tempo.

Os valores de viscosidade aparente das três soluções para uma taxa de deformação de 100 s^{-1}, característica de processos de mistura, estão apresentados na Tabela 2, onde se pode observar que quanto maior a velocidade de homogeneização da solução de celulose (durante 5 minutos), maior a viscosidade do fluido. As soluções apresentaram comportamentos semelhantes independente da velocidade de homogeneização, apresentando um aumento da tensão de cisalhamento a partir uma

determinada taxa de deformação, como mostrado na Figura 3. Pela avaliação do coeficiente de determinação, pôde-se concluir que o modelo Herschel-Bulkley, representado pela equação 1, onde *K'* é o coeficiente de consistência , *n* é o índice de comportamento do escoamento e τ_0 é a tensão limite de escoamento, foi o mais adequado para descrever o comportamento dos fluidos homogeneizados a 5000, 10000 e 15000 rpm submetidos a taxas de deformação na faixa de 0,001 a 200 s^{-1}.

$$\tau = k'(\gamma)^n + \tau_0 \qquad \text{Equação 1}$$

Tabela 2. Viscosidade aparente a 100 s^{-1}das soluções de celulose reidratadas obtidas em diferentes velocidades de homogeneização durante 5 minutos

Velocidade (rpm)	Viscosidade aparente (Pas)
5000	8,57 ± 0,80
10000	22,43 ± 6,97
15000	90,32 ± 11,72

a)

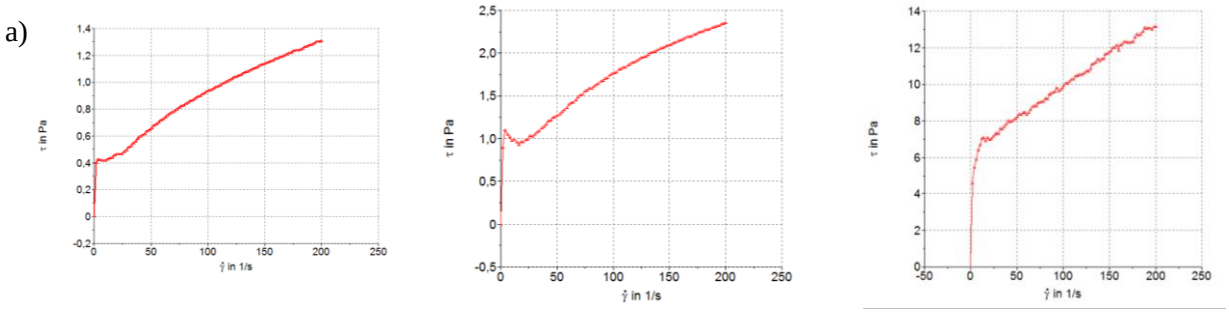


Figura 3. Comportamento reológico (tensão de cisalhamento X taxa de deformação) das soluções de celulose reidratadas a 5000 (a), 10000 (b) e 15000 rpm (c)

4 CONCLUSÕES

As imagens obtidas por microscopia eletrônica mostraram que a nanocelulose fibrilada de eucalipto após desidratada apresenta estruturas com presença de aglomerados e fibras em escala micro. Quando este material, desidratado em *spray dryer*, é reconstituído, a velocidade de homogeneização é importante para obter uma solução estável, sem separação de fase. A velocidade que proporcionou uma melhor estabilidade da emulsão e maior viscosidade do fluido foi 15000 rpm. Considerando as características reológicas, observou-se que independentemente da velocidade de homogeneização, a solução possui características de fluido não newtoniano, do tipo pseudoplástico, sendo o modelo Herschel-Bulkley o mais adequado para descrever seu comportamento.

REFERÊNCIAS

ABDUL KHALIL, H.P.S. et al. Production and modification of nanofibrillated cellulose using various mechanical processes: A review. Carbohydrate Polymers, 99, 649– 665. 2014.

BELBEKHOUCHE, S., et al. Water sorption behavior and gas barrier properties of cellulose whiskers and microfibrils films. Carbohydrate Polymers, 83, 1740–1748. 2011.

CHEN, W. et al. Individualization of cellulose nanofibers from wood using high-intensity ultrasonication combined with chemical pretreatments. Carbohydrate Polymers, 83, 1804–1811. 2011.

DUFRESNE, A. Processing of polymer nanocomposites reinforced with polysaccharide nanocrystals. Macromolecules, 15, 4111–4128. 2010.

GÓMEZ, H. C. et al.Vegetable nanocellulose in food science: A review, Food Hydrocolloids, 57, 178-186. 2016.

HABIBI, Y.; LUCIA, L. A.; ROJAS, O. J. Cellulose Nanocrystals: chemistry, self-assembly, and applications. Chemical Reviews, 110, 3479-3500. 2010.

PENG, Y; HAN, Y.; GARDNER, D. J. Spray-drying cellulose nanofibrils: effect of drying process parameters on particle morphology and size distribution. Wood and Fiber Science, 44, 448-461. 2012.

REDUÇÃO FOTOCATALÍTICA DE CO_2: INFLUÊNCIA DO CARÁTER BÁSICO DO MgO

Juliana A. Torres[1*], André E. Nogueira[1], Gelson T. S. T. da Silva[1], Caue Ribeiro[1]

[1]Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro 1452, 13560-970, São Carlos, SP, Brasil
[*]julianaarriel@hotmail.com

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio.

Resumo
Heteroestruturas do tipo TiO_2/MgO são altamente eficientes em reações de fotorredução de CO_2, principalmente devido à elevada capacidade do MgO em adsorver essas moléculas. Desta forma, obteve-se o MgO pela calcinação de $Mg(NO_3)_2.7H_2O$ e o TiO_2 por um método hidrotérmico. Os semicondutores foram misturados em diferentes proporções (m/m) e calcinados para a obtenção das heteroestruturas. Observou-se que a presença de MgO favoreceu a reação de fotorredução de CO_2 apenas com a heteroestrutura TiO_2/MgO 1% comparada com o TiO_2 puro. Além disso, em solução de NaOH 0,1 M a produção de metano pela heteroestrutura com 1% de MgO foi consideravelmente maior do que em água, confirmando que em solução básica o CO_2 permanece mais solúvel aumentando o rendimento da reação.

Palavras-chave: Fotorredução; Heteroestruturas; Metano; Fotossíntese artificial.

PHOTOCATALYTIC REDUCTION OF CO_2: INFLUENCE OF THE BASIC CHARACTER OF MgO

Abstract
TiO_2/MgO heterostructures are highly efficient in CO_2 photoreduction reactions, mainly due to the high capacity of MgO in adsorbing these molecules. In this way, the MgO was obtained by the calcination of $Mg(NO_3)2.7H_2O$ and TiO_2 by a hydrothermal method. The semiconductors were mixed in different proportions (m/m) and calcined to obtain the heterostructures. It was observed that the presence of MgO favored the CO_2 photoreduction reaction only with the 1% TiO_2/MgO heterostructure compared to the pure TiO_2. Moreover, in 0.1 M NaOH solution the methane production by the heterostructure with 1% MgO was considerably higher than in water, confirming that in basic solution the CO_2 remains more soluble increasing the yield of the reaction.

Keywords: Photoreduction; Heterostructures; Methane; Artificial photosynthesis.

Publicações relacionadas: este trabalho ainda se encontra em fase de desenvolvimento e, portanto, não gerou publicação.

1 INTRODUÇÃO

A proteção ambiental é um dos temas que vem sendo objetivo de vários debates de âmbito mundial, e dentro deste aspecto, o aumento do consumo de energia resultante da queima de combustíveis fósseis, aliado a elevada taxa de emissão de CO_2 na atmosfera, tem estimulado pesquisadores a buscar alternativas que reduzam essas emissões de gases responsáveis pelo efeito estufa. Uma tecnologia que vem sendo estudada é a redução fotocatalítica do CO_2, a qual é capaz de converter este gás em produtos de maior valor agregado, tais como metano, monóxido de carbono, metanol, entre outros (ZHAO et al., 2017). Inúmeros semicondutores têm sido empregados como fotocatalisadores, e entre eles o mais conhecido é dióxido de titânio (TiO_2) devido ao seu baixo custo, alta estabilidade química, elevada disponibilidade e razoável atividade fotocatalítica. Entretanto, apesar destas vantagens, sua eficiência é limitada pela ampla energia de band gap (~3,2 eV) e a rápida recombinação dos pares elétron/buraco. Desta forma, é imprescindível modificar o TiO_2 para melhorar

a sua atividade fotocatalítica, e uma alternativa é através da formação de heteroestruturas (TAN et al., 2015; TOBAJAS, BELVER, RODRIGUEZ, 2017). Além disso, um dos desafios ainda iminentes, está na baixa capacidade de adsorção de CO_2 na presença de vapor de água pelos óxidos comumente empregados e na dessorção limitada dos produtos ou intermediários (LIU et al., 2014). Dentro deste contexto, vários fotocatalisadores são utilizados para aumentar a eficiência deste processo, e entre eles destaca-se o óxido de magnésio (MgO), uma vez que seu precursor é relativamente barato, é facilmente sintetizado apresentando uma elevada área superficial, e principalmente devido à sua natureza básica que favorece significativamente a adsorção de moléculas de CO_2 (SELVARATNAM; KOODALI, 2017). Heterojunções do tipo TiO_2/MgO podem ativar moléculas de CO_2 adsorvidas, o que promove a produção de HCO_3^-, um possível intermediário para produção de hidrocarbonetos combustíveis, além de retardar a recombinação dos pares elétron/buraco (BAYAL; JEEVANANDAM, 2014; WANG et al., 2016).

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi sintetizar um material nanoestruturado a fim de reduzir a elevada taxa de recombinação dos transportadores de carga do TiO_2, além de aumentar a adsorção de moléculas de CO_2 pelo uso de MgO. Além disso, avaliou-se tanto a atividade fotocatalítica em água e solução básica quanto as características estruturais e morfológicas do MgO puro e da heteroestrutura TiO_2/MgO.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Para obtenção do MgO calcinou-se o $Mg(NO_3)_2$. $7H_2O$ à 500 °C por 2 h com uma rampa de aquecimento de 3 °C/min. Já a síntese do TiO_2 foi feita de acordo com ZHAO et al. (2017). Os nanobastões de TiO_2 foram preparados por duas etapas através do método hidrotérmico. Incialmente, o TiO_2 P25 foi dispersado em uma solução 10 M de NaOH e aquecido a 140 °C por 24 h em um copo de Teflon para produzir o titanato de sódio. Os produtos foram lavados e centrifugados várias vezes com água destilada até a obtenção de um pH 10. Em seguida, 2 g de titanato de sódio foram dispersos em água destilada e submetidos a um segundo processo hidrotérmico a 200 °C por 12 h. O material resultante foi separado por centrifugação e lavado com água destilada até pH 7,0. Finalmente, os nanobastões foram secos a 60 °C por 12 h. Para a síntese da heteroestrutura do tipo TiO_2/MgO, misturou-se os dois óxidos nas proporções 0,5; 1,0 e 2,0% (m/m) e calcinou-se à 150 °C por 2 h, com uma rampa de aquecimento de 3 °C/min.

Para as reações de fotorredução de CO_2, os ensaios foram realizados em um reator de 200 mL e sob luz UV (lâmpada de 5 W). Uma massa de 100 mg das diferentes proporções das heteroestruturas e do TiO_2 puro foram dispersos em 100 mL de água destilada ou em 100 mL de uma solução 0,1 M de NaOH, no caso da heteroestrutura de 1% MgO/TiO_2. A princípio, CO_2 foi borbulhado no sistema durante 10 minutos para garantir que todo oxigênio dissolvido fosse eliminado. Em intervalos de tempo determinados, alíquotas de 200 μL da fase gasosa foram coletadas e analisadas em um cromatógrafo gasoso (modelo CP-3800, Varian, equipado com um CG-TCD e CG-FID) para determinação e quantificação dos produtos formados. No caso destes materiais, a fotoatividade foi monitorada pela produção de metano (CH_4).

Os materiais sintetizados foram caracterizados por difratometria de raios-X (DRX) usando radiação CuKα com λ = 0.15406 nm, empregando um difratômetro Shimadzu XRD 6000, operado a 30 mA e 30 kV, na faixa de 5 a 80°. A morfologia das partículas foi caracterizada por microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (FESEM, JEOL JSM 6701F) operado a 5 KV.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura (1) apresenta os difratogramas de raios-X das diferentes heteroestruturas sintetizadas e do TiO_2 puro. Observa-se que todas as amostras apresentaram os mesmos picos de difração correspondentes à fase anatase do TiO_2, com difrações de Bragg em 2θ = 25.3°, 37.8°, 48.1°, 53.9°, 55.0° e 62.7° referindo-se respectivamente aos planos de difração (101), (004), (112), (200), (105), (211) e (204). Entretanto, não observou-se picos característicos do MgO, resultado esperado em função da pequena quantidade deste óxido nas heteroestruturas.

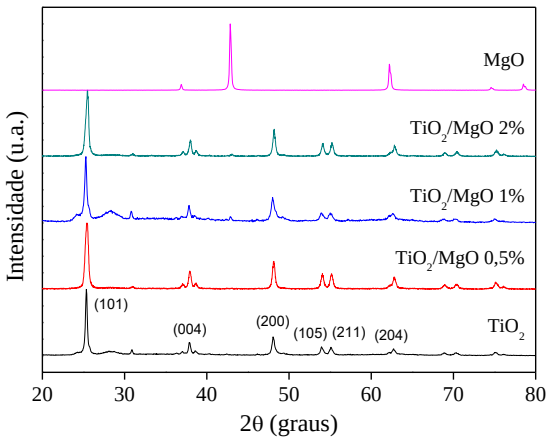


Figura 1. Difratograma de raios-X

A microscopia eletrônica de varredura foi realizada a fim de analisar as características morfológicas dos semicondutores isolados, MgO e TiO_2, e da heteroestrutura MgO/TiO_2 1% para fins de comparação (Figura 2). Os nanobastões característicos da fase anatase do TiO_2 foram claramente observados na micrografia deste óxido e na heteroestrutura.

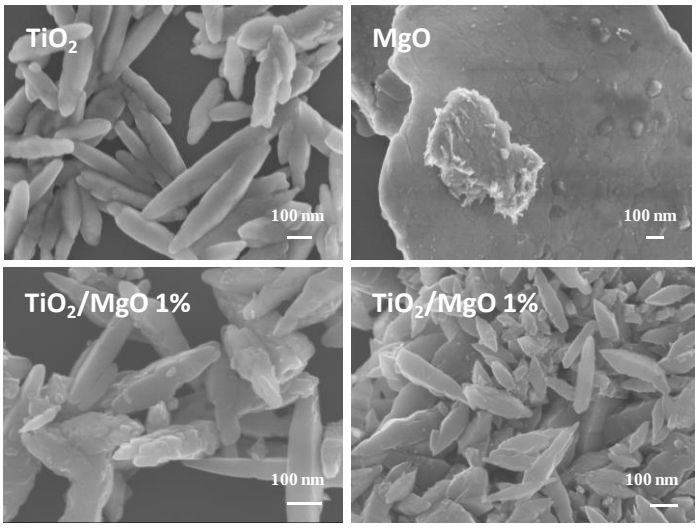


Figura 2. Análise de microscopia eletrônica.

A Figura 3 (a) ilustra a taxa de produção de metano a partir da fotorredução de CO_2. Pode-se observar que a heteroestrutura TiO_2/MgO 1% apresentou a maior taxa de produção, enquanto as heteroestruturas com 0,5% e 2% de MgO apresentaram uma menor taxa comparada com o TiO_2 puro. Para buscar uma melhor compreensão do processo, a reação de fotorredução foi realizada em meio básico (solução 0,1 M de NaOH), uma vez que de acordo com Karamian e Sharifnia (2016) soluções alcalinas dissolvem mais o CO_2 comparado com a água pura. Segundo os autores, o uso de NaOH não apenas aumenta a solubilidade do CO_2, mas também melhora a redução do CO_2 em função da maior concentração de íons OH^-, os quais retardam a taxa de recombinação dos pares elétron/buraco. Em geral, aumentando a alcalinidade aumenta-se a adsorção de moléculas de CO_2 levemente ácidas na superfície do fotocatalisador em sistemas líquidos-sólidos, aumentando consequentemente o rendimento da reação. Como pode ser visto na Figura 3 (b) os resultados obtidos corroboram com a teoria acima exposta, uma vez que a produção de metano em solução básica aumentou consideravelmente comparada com a reação em água. Entretanto, as reações de fotorredução em solução de NaOH com as outras heteroestruturas (TiO_2/MgO 0,5% e TiO_2/MgO 2%) ainda serão realizadas a fim de se verificar se as mesmas seguem o mesmo comportamento.

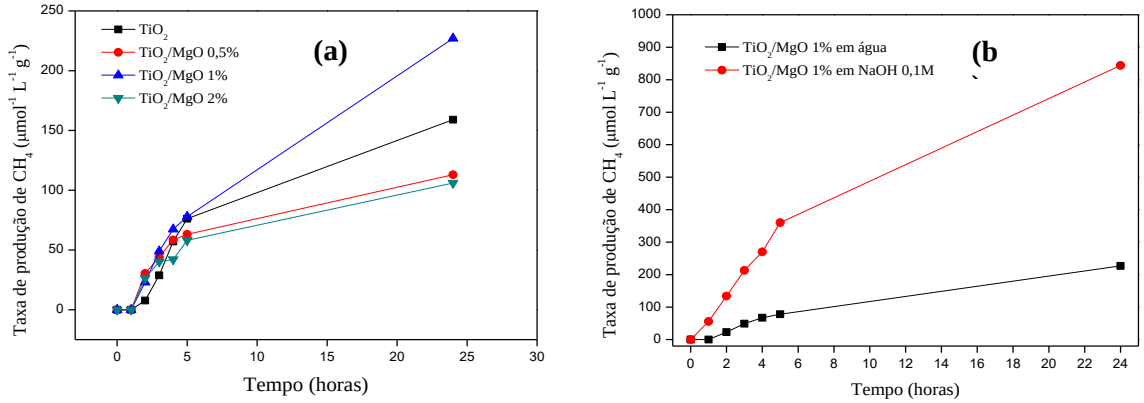


Figura 3. Taxa de produção de metano em água (a) e em solução de 0,1 M NaOH (b).

4 CONCLUSÃO

Diferentes proporções de heteroestruturas do tipo TiO_2/MgO foram sintetizadas através da mistura física dos semicondutores TiO_2 e MgO seguida de calcinação, e empregados em reações de fotorredução de CO_2. Observou-se que a adição de 1% de MgO em TiO_2 aumentou a eficiência de produção de metano em solução aquosa comparado com o TiO_2 puro. Já em solução de 0,1 M de NaOH a produção de metano aumentou consideravelmente utilizando a mesma heteroestrutura. Tanto o MgO quanto a solução alcalina na reação de fotorredução do CO_2 aumentaram a taxa de produção de metano.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao suporte financeiro dado pela CAPES, FAPESP (Proc. 2016/21515-7) e a Rede AgroNano.

REFERÊNCIAS

BAYAL, N.; JEEVANANDAM, P. Synthesis of TiO_2-MgO mixed metal oxide nanoparticles via a sol-gel method and studies on their optical properties. Ceramics International, v. 40, p. 15463-15477, 2014.

KARAMIAN, E.; SHARIFNIA, S. On the general mechanism of photocatalytic reduction of CO_2. Journal of CO_2 Utilization, v. 16, p. 194-203, 2016.

LIU, L. et al. CO_2 photoreduction with H_2O vapor by porous MgO–TiO_2 microspheres: effects of surface MgO dispersion and CO_2 adsorption – desorption dynamics. Catalysis Science & Technology, v. 4, p. 1539-1546, 2014.

SELVARATNAM, B.; KOODALI, R. T. TiO_2 -MgO mixed oxide nanomaterials for solar energy conversion. Catalysis Today, In Press, 2017.

TAN, L-L. et al. Visible-light-active oxygen-rich TiO_2 decorated 2D graphene oxide with enhanced photocatalytic activity toward carbon dioxide reduction. Applied Catalysis B: Environmental, v. 179, p. 160-170, 2015.

TOBAJAS, M.; BELVER, C.; RODRIGUEZ, J. J. Degradation of emerging pollutants in water under solar irradiation using novel TiO_2 -ZnO/clay nanoarchitectures. Chemical Engineering Journal, v. 309, p. 596-606, 2017.

WANG, F. et al. Synthesis of bionic- macro/microporous MgO- modified TiO_2 for enhanced CO_2 photoreduction into hydrocarbon fuels. Chinese Journal of Catalysis, v. 37, p. 863-868, 2016.

ZHAO, H. et al. Enhancing photocatalytic CO_2 reduction by coating an ultrathin Al_2O_3 layer on oxygen deficient TiO_2 nanorods through atomic layer deposition. Applied Surface Science, v. 404, p. 49-56, 2017.

CARACTERIZAÇÃO REOLÓGICA DE GÉIS DE AMIDO RETICULADOS COM TRIPOLIFOSFATO DE SÓDIO

José Álvaro Previato Sardelli[1], Matheus Foloni Leite[1], Francys Kley Vieira Moreira[1,*]

*1 - Departamento de Engenharia de Materiais (DEMa), Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), São Carlos, SP, Brasil. *moreira.fkv@dema.ufscar.br*

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio

Resumo

Este estudo buscou avaliar a reticulação de géis de amido com tripolifosfato de sódio visando aplicações desses géis na agricultura. Diferentes géis com concentração de amido de 10% e diferentes concentrações de tripolifosfato de sódio foram preparados e caracterizados quanto ao comportamento reológico. Testes adicionais envolvendo a reticulação em pH alcalino, com e sem presença do plastificante sorbitol, também foram realizados. Os resultados de viscosimetria dinâmica revelaram que o efeito de reticulação é efetivo para concentração de tripolifosfato de sódio a partir de 7% e em pH alcalino, aumento substancialmente a viscosidade do gel de amido. A adição de plastificantes, que podem ser empregados para alterar a resistência mecânica do gel, influenciou negativamente o processo de reticulação.

Palavras-chave: Gelatinização; Sistemas de Liberação Controlada; Plastificante; Viscosidade.

RHEOLOGICAL CHARACTERIZATION OF STARCH GELS CROSS-LINKED WITH SODIUM TRIPOLYPHOSPHATE

Abstract

This study was aimed at evaluating sodium tripolyphosphate-crosslinked starch gels for agricultural applications. Different gels having 10% starch concentration and different concentrations of sodium tripolyphosphate were prepared and characterized in terms of their rheological behavior. Additional tests involving crosslinking in alkaline medium, with and without presence of sorbitol, were also performed. Dynamic viscosimetry results revealed that the crosslinking extent is high for sodium tripolyphosphate concentration above 7% and at alkaline pH, which substantially increased the viscosity of starch gel. Addition of plasticizers, which may be employed to alter the mechanical strength of the gel, negatively influenced the crosslinking process.

Keywords: Gelatinization; Controlled Release Systems; Plasticizers; Viscosity.

1 INTRODUÇÃO

Atualmente, existe no mercado uma vasta gama de géis poliméricos com diferentes características e, muitas vezes, projetados com maior complexidade para atender a aplicações específicas. Alguns géis biodegradáveis são baseados em matérias-primas renováveis, tais como amido, gelatina, derivados de celulose ou outros polímeros naturais. O amido, em especial, tem sido um dos mais utilizados devido à diversidade de fontes de obtenção (milho, batata, arroz, mandioca, etc.), baixo custo, alta disponibilidade e biodegradabilidade (AVÉROUS, 2004).

Géis de amido sem modificação são altamente solúveis e frágeis, e tendem a retrogradar com o tempo. Assim, para obtenção de produtos com aceitação comercial, o amido deve ser modificado quimicamente ou misturado a outros polímeros para melhorar suas propriedades e minimizar sua sensibilidade à água. Uma das formas de se diminuir a solubilidade à água dos géis de amido é através de ligações cruzadas, tornando-os insolúveis ou pouco solúveis em meio aquoso. Estas ligações podem ser obtidas através do processo de reticulação utilizando um agente reticulante. Agentes reticulantes são substâncias de baixa massa molar que apresentam grupos funcionais reativos capazes de permitir a formação de ligações inter e intramoleculares em polímeros (GONSALVES et al., 2011).

Géis de amido fosfatado têm recebido especial atenção nos últimos anos devido ao seu potencial de aplicação como sistemas de liberação controlada para fármacos e fertilizantes. Eles têm

sido agrupados em duas classes: monoamido fosfato e diamido fosfato (amido com ligações cruzadas). Trimetafosfato de sódio (STMP) e tripolifosfato de sódio (STPP), entre outros, são utilizados para esterificar e produzir ligações cruzadas no amido (WATTANCHANT et al., 2003). Neste caso, as condições reacionais incluindo pH, temperatura e presença de outros aditivos, devem ser avaliadas a fim de se estabelecer controle sobre o grau de reticulação do gel.

O objetivo deste estudo foi avaliar a reticulação de géis de amido por tripolifosfato de sódio (STPP). Diferentes géis envolvendo composições em massa de amido concentração de STPP, adição de sorbitol (SOH) como plastificante e ajuste de pH foram preparados e caracterizados por viscosimetria.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

Foram utilizados amido de mandioca (Fécula tipo I, Pantanal Agroindustria Ltda), sorbitol (SOH) (Qhemis), trimetafosfato trisódico (Sigma-Aldrich) e hidróxido de sódio (Synth). Todas as amostras foram preparadas utilizando exclusivamente água deionizada (ρ = 18,2 MΩ cm).

2.2 Preparação dos géis de amido com STPP

Os géis de amido foram preparados pela gelatinização do polímero a 85 °C. Inicialmente, massas precisas de amido foram adicionadas em água pré-aquecida à 70 – 80°C para formação de géis com concentração mássica de amido de 10 %. O aquecimento foi mantido com agitação a 1000 rpm por 1 h para completar a gelatinização do polímero. Quantidades de STPP foram adicionadas juntamente com o amido para formação de géis com concentrações de reticulante de 1, 5, 7 e 10%. Experimentos adicionais foram realizados mediante adição do plastificante sorbitol e também obtenção de gel de amido em solução NaOH 1% (pH 12) para a concentração de STPP de 10%. Todas as amostras foram centrifugadas (Heraeus Multifug x1, Thermo Scientific) a 10000 rpm por 5 min para remoção de microbolhas.

2.3 Caracterização reológica

A viscosidade dinâmica (η) dos géis de amido foi determinada em um reômetro rotacional ARES (Rheometrics) operado pelo Software RSI, utilizando geometria de cilindros concêntricos. Os perfis de viscosidade foram registrados na temperatura de 25 °C variando a taxa de cisalhamento (γ) entre 0,01 e 100 s^{-1}.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

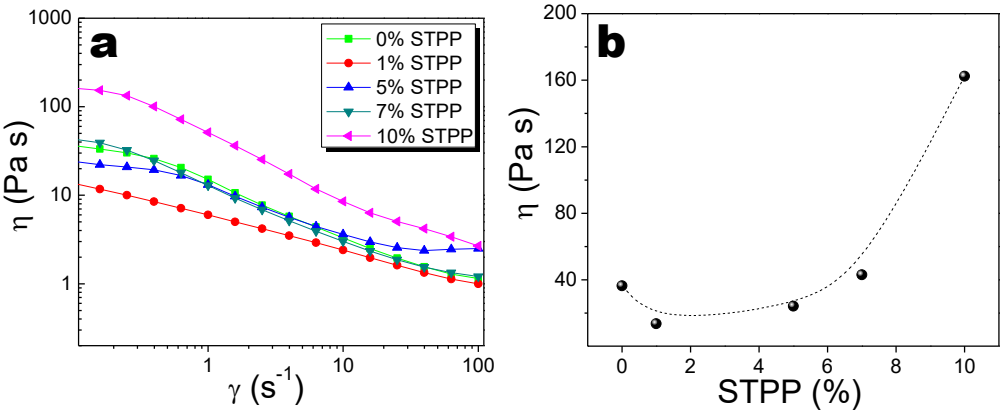


FIGURA 1. (a) viscosidade dinâmica (η) vs. taxa cisalhamento (γ) para géis de amido com diferentes concentrações de STPP (25 °C). (b) viscosidade dinâmica (η) em função da concentração de STPP (γ = 0,1 s^{-1})

Os géis de amido foram produzidos a partir da gelatinização do polímero na concentração de 10 %. A Figura 1a apresenta os perfis de viscosidade dos géis com diferentes concentrações de STPP. Todas as amostras apresentaram alta viscosidade e comportamento pseudoplástico, especialmente a

baixas γ. O gel de amido puro apresentou alta viscosidade, como resultado da rede tridimensional formada pelas cadeias de amilose e amilopectina mediante ligações de hidrogênio (HANSEN et al, 1991).

Observa-se através da Figura 1b que a adição de STPP a 1% causou uma diminuição na viscosidade do gel de amido, o que pode estar relacionado ao efeito de modificação química dos grupos hidroxilas da amilose e amilopectina e distúrbio da rede tridimensional de ligações de hidrogênio no gel. Com o aumento da concentração de STPP a partir de 7% verifica-se um ganho de viscosidade, sugerindo que a reticulação do gel de amido STPP se torna efetiva a partir desta faixa de concentração. A η do gel com 10% STPP foi 164 Pa s, três vezes maior do que a viscosidade do gel de amido puro, 36 Pa s.

Buscando avaliar a influência do meio reacional e presença de aditivos, foram produzidos géis de amido contendo 10% STPP em pH 12 sem e com adição do plastificante sorbitol (SOH). Os perfis de viscosidade para estas amostras foram comparados com aquele do gel de amido com 10% STPP produzido em pH 7, como ilustrado na Figura 2.

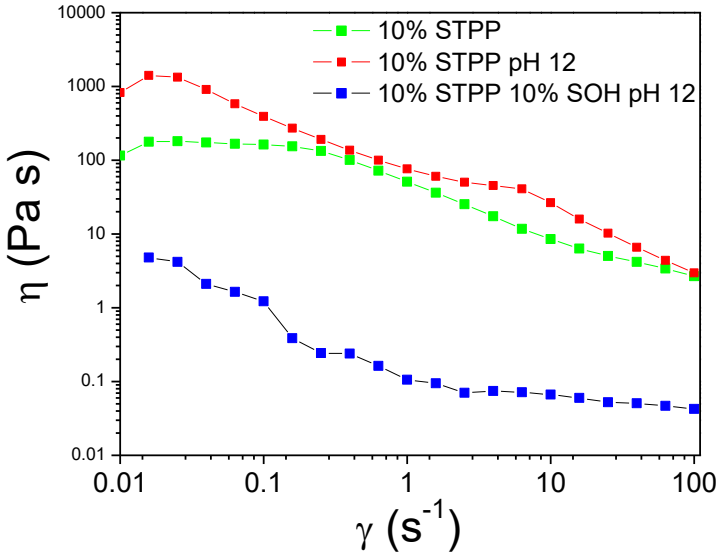


FIGURA 2. Viscosidade dinâmica (η) vs. taxa cisalhamento (γ) para géis de amido 10% com concentração de STPP 10% obtido em pH sem e com adição do plastificante sorbitol (SOH) (25 °C).

Segundo RAGHEB et al (1995) e ROBERTS et al (2002) a adição de NaOH pode levar à gelatinização instantânea de soluções de amido dependendo da concentração empregada. Porém, a presença de base associada ao aumento da temperatura e cisalhamento pode levar a hidrólise do amido com consequente diminuição da viscosidade. No caso do presente estudo, a formação de géis de amido reticulados com 10% STPP em meio alcalino resultou em um aumento substancial na η. Isto indica que as reações de reticulação do amido pelo STPP são intensificadas em elevado pH. A adição de SOH, por outro lado, causou uma redução na viscosidade do gel, refletindo seu efeito plastificante sobre o amido. A presença de plastificante, neste caso, mostra interferir no processo de gelificação do amido pelo STPP.

4 CONCLUSÃO

Géis de amido reticulados com tripolifosfato de sódio foram produzidos neste trabalho. Os resultados de viscosimetria dinâmica revelaram que o efeito de reticulação é efetivo para concentração de tripolifosfato de sódio a partir de 7% e em pH alcalino. A adição de plastificantes, que podem ser empregados para alterar a resistência mecânica do gel, tende a influenciar negativamente o processo de reticulação do amido pelo tripolifosfato de sódio. As próximas etapas do trabalho consistiram em incorporar inseticidas naturais nos géis de amido para aplicação na agricultura.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao DEMa/UFSCar, CNPq, FAPESP e FINEP pelo apoio financeiro. J. A. P. S. agradece ao Programa de Iniciação Tecnológica Institucional (PIBITI/CNPq/UFSCar) pela bolsa de iniciação tecnológica.

REFERÊNCIAS

AVÉROUS, L.; BOQUILLON, N. Biocomposites based on plasticized starch: thermal and mechanical behavior. Carbohydrate Polymers, v. 56, p. 111-122, 2004.

GONSALVES, A. A. et al. Diferentes estratégias para a reticulação de quitosana. Química Nova, v. 34, n. 7, p. 1215-1223, 2011.

HANSEN, L.M., HOSENEY, R.C., FAUBION, J.M., *Oscillatory rheometry of starchwater systems: Effect of starch concentration and temperature.* Cereal Chemistry, 1991. **68**(4): p. 347-351.

RAGHEB, A.A., EL-THALOUTH, A., TAWFIK, S., *Gelatinisation of starch in aqueous alkaline solutions.* Starch, 1995. **46**(9): p. 338-345

ROBERTS, S. A. ,CAMERON, R. E., *The effects of concentration and sodium hydroxide on the rheological properties of potato starch gelatinisation.* Carbohydrate Polymers, 2002. **50**(2): p. 133-143.

WATTANCHANT, S.; MUHAMMAD, K.; HASHIM, D.; RAHMAN, R.A. Effect of cross-linking reagents and hydroxypropylation levels on dualmodified sago starch properties. Food Chemistry, 80, p. 463-471, 2003.

PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOFIBRAS DE POLIACRILONITRILA POR FIAÇÃO POR SOPRO EM SOLUÇÃO COMO PRECURSOR PARA NANOFIBRAS DE CARBONO

Lais A. de Camargo[1,2], Pierre-Louis F. H. Personnaz[3], José M. Marconcini[1] Luiz H. C. Mattoso[1,3]

[1]Laboratório Nacional de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio, LNNA, Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP, Brasil. e-mail: laisangelice@gmail.com
[2] Programa de Pós-Graduação em Química, PPGQ, UFSCar, São Carlos, SP, Brasil.
[3] Departamento de Ciência e Engenharia de Materiais, DEMA, UFSCar, São Carlos, SP, Brasil.

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio

Resumo

Nanofibras de carbono (NFC) são materiais altamente resistentes, que possuem ampla área de contato e elevadas propriedades térmicas. Devido a estas características estas fibras são amplamente utilizadas em aeronaves, indústrias automobilísticas bem como em capacitores e supercapacitores. Métodos como eletrofiação e fiação por sopro em solução (FSS) podem ser utilizados para a produção destas NFC. FSS é um método novo, simples, de baixo custo e eficaz para a produção de nanofibras a partir de soluções poliméricas. NFC podem ser produzidas a partir de poliacrilonitrila (PAN), rayon, piche entre outros polímeros provindos de petróleo, bem como a partir de matérias-primas renováveis. Diversos estudos já foram realizados quanto à produção de NFC a partir de polímeros provindos do petróleo, porém até o melhor de nosso conhecimento há poucos relatos em relação a esta produção a partir de FSS. Neste trabalho foram estudados parâmetros de produção de nanofibras de PAN a partir do método FSS como precursora para a produção de NFC. Foram estudadas as melhores condições de solução polimérica a partir de reometria para a produção das nanofibras resistentes e com boas propriedades térmicas. Estas fibras foram caracterizadas a partir de propriedades físico-químicas por DRX e FTIR, propriedades térmicas por termogravimetria (TG/DTG), bem como quanto às propriedades estruturais a partir de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).
Palavras-chave: Nanofibras; Poliacrilonitrila, Fiação por sopro em solução e Nanofibras de Carbono.

POLYACRYLONITRILE NANOFIBBRES BY SOLUTION BLOW SPINNING PRODUCTION AND CHARACTERIZATION AS PRECURSOR FOR CARBON NANOFIBRES

Abstract

Carbon Nanofibres (CNF) are highly resistant materials, which have wide contact area as well as high thermal properties. Due to these characteristics fibre are widely used in aircraft, automotive industries as well as in capacitors and supercapacitors. Methods such as electrospinning and solution blow spinning (SBS) can be used for a production CNF. SBS is a new, simple, low cost and effective method for the production of nanofibres from polymer solutions. CNF can be produced from polyacrylonitrile (PAN), rayon and tar among other polymers from petroleum, as well as from renewable raw materials. Several studies have already been carried out on the production of CNF from polymers from petroleum, but to the best of our knowledge there are few reports on this production from SBS. In this work, the production parameter of PAN nanofibres from the SBS method as precursor for CNF production is studied. They were studied as better polymer solution conditions from rheometry for the production of resistant nanofibres and with good thermal properties were studied. These fibres were characterized from physical-chemical properties by XRD and FTIR, thermal properties by thermogravimetry (TG / DTG), as well as the structure of properties from Scanning Electron Microscopy (SEM).
Keywords: Nanofibres, Polyacrylonitrile, Solution Blow Spinning and Carbon Nanofibres.

1. INTRODUÇÃO

Nanofibras (NNF) de carbono são amplamente produzidas a partir de poliacrilonitrila (PAN), rayon, piche entre outros. Estas fibras possuem propriedades como elevada resistência mecânica, baixa densidade, alta rigidez, baixa expansão térmica, que por definição possuem no mínimo 90% de carbono em sua composição e é considerada leve em relação a outros materiais, tornando um material importante para aplicação na indústria, como automobilística, aeroespacial, de energia eólica, baterias, capacitores e supercapacitores entre diversas outras

Dentre os diversos processos de produção de nanofibras, métodos como eletrofiação e fiação por sopro em solução (FSS) tem sido amplamente estudados. No caso da produção de nanofibras de carbono especificamente, o método que apresenta maior quantidade de estudado até o momento é a eletrofiação, quanto à produção destas fibras a partir de FSS, até o melhor de nosso conhecimento, na literatura não há estudos aprofundados nesta vertente.

A poliacrilonitrila é um polímero atáctico e linear que possui 68% de carbono em sua composição e ligações C≡N (Huang, 2009; Frank, Hermanutz e Buchmeiser, 2012; Shin *et al.*, 2015). Vários trabalhos relatam a produção de nanofibras de carbono a partir de eletrofiação, como nos trabalhos de Kim, et al. 2007, Arshad et al. 2011 e Guo, et al. 2015 (Kim *et al.*, 2007; Arshad, Naraghi e Chasiotis, 2011; Guo *et al.*, 2015). Este método permite produzir nanofibras de diâmetros entre 10nm até 10m a partir de soluções poliméricas (Nataraj, Yang e Aminabhavi, 2012). No caso de FSS, este método ainda foi pouco explorado para a produção de NNF de carbono. Com esta motivação, o presente trabalho teve como objetivo estudar e otimizar condições para a produção de nanofibras de carbono por fiação por sopro em solução (FSS) a partir de poliacrilonitrila (PAN).

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Materiais

A poliacrilonitrila (PAN) usada tem uma massa molecular em peso M_w=150 000 g/mol e fornecida pela Sigma-Aldrich Brasil Ltda (São Paulo, SP, Brasil). O DMF (N,N-Dimetilformamida) usado obtida através da Labsynth Produtos para Laboratórios Ltda (Diadema, SP, Brasil). O DMF é o solvente geralmente usado para trabalhar com PAN e tem a particularidade de poder dissolver tanto o PAN e como a lignina.

2.2 Estudo reológico de PAN

Soluções com concentração de 1 % a 12 % de PAN em DMF. Elas foram ensaiadas num reômetro Anton Paar Physica com uma geometria de cilindros concêntricos (23,8 e 27,6 mm de diâmetro e 40 mm de altura) em ensaios rotacionais. A temperatura de teste era de 25 °C. A medição de viscosidade foi feita por dois ensaios lineares sucessivos com taxa de cisalhamento entre 1 s^{-1} a 10 s^{-1} e 10 s^{-1} a 100 s^{-1} com um tempo de medição de um segundo por ponto.

2.3 Fiação por Sopro de Solução (FSS)

Soluções de PAN de várias concentrações foram preparadas para determinar as condições possíveis de fiação em FSS. Tempos de agitação de 2 horas foram usados para boa solubilização. As condições experimentais usadas foram: taxa de injeção de 7,2mL/Hr, pressão de 2 bar, distancia do coletor de 40 cm e concentrações variadas.

2.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As análises morfológicas foram realizadas com um microscópio eletrônico de varredura equipado com um canhão de emissão de campo (FEG). As micrografias foram tratadas numericamente com o *software* ImageJ com o objetivo de estudar o diâmetros das fibras. As estatísticas nestas medições foram realizadas usando o *software* Origin.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Comportamento pseudoplástico do PAN em DMF

Foi traçada a representação gráfica da viscosidade contra a taxa de cisalhamento em duas partes para facilitar sua visualização numa escala linear na Figura 1. De acordo com os dados apresentados na Figura 1, pode-se observar que de 1 % até 9 % de PAN, a solução apresenta uma viscosidade independante da taxa de cisalhamento. De 10 % para cima, observou-se uma diminuição da viscosidade com o aumento da taxa de cisalhamento: o PAN apresenta um comportamento pseudoplástico a partir de uma concentração de 10 % em massa no DMF.

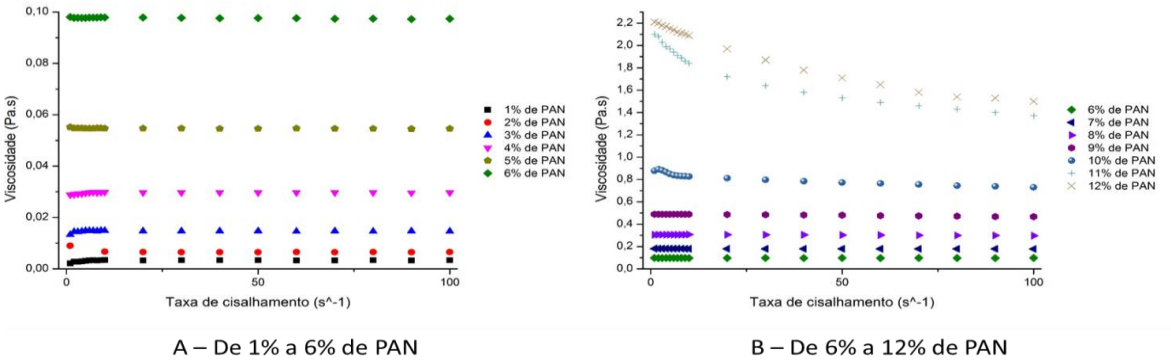


Figura 1. Representação gráfica da viscosidade contra a taxa de cisalhamento do PAN em DMF a diferentes concentrações. A - De 1 % a 6 % de PAN. B - De 6 % a 12 % de PAN

3.1.1 Diferentes tipos de regimes de diluição

A Figura 2 apresenta as representações gráficas da viscosidade do PAN em DMF em função da concentração de PAN a três taxas de cisalhamento.

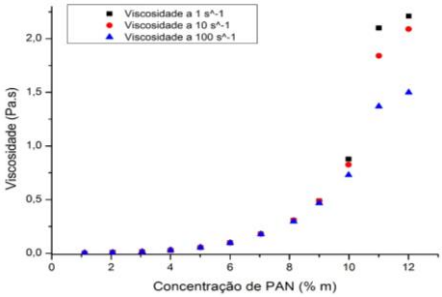


Figura 2. Representação gráfica da viscosidade do PAN em DMF em função da concentração de PAN a 1, 10 e 100 s^{-1}

Nesta representação é possivel notar a diferença de viscosidade em função da taxa de cisalhamento a partir de 10 % (m/m). Observa-se uma evolução semelhante à observada na curva de Parize (2016) com PLA. Destacam-se o regime diluído de 1 até 5 %, o regime semi-diluído de 6 até 8 % e o regime concentrado de 9 % para cima (PARIZE et al., 2016).
Sabendo que o regime semi-diluído é o regime teoricamente mais adaptado, escolheu-se está faixa de concentração (6 – 8 %), acreditando-se que seja mais adaptada para fiação do PAN em DMF por FSS. Portanto, as soluções que foram possíveis fiar foi de 5 % e 7 %. Esta resposta corresponde com a faixa do regime semi-diluído suposto pela solução de 7 %. Foi suposto que uma concentração de 5% corresponde à fim do regime diluído, porém foi explicado na revisão bibliográfica que soluções no regime diluído podem também fiar se a resposta elástica do polímero for suficiente.

3.3 Estudo morfológico por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Quando compara-se as fibras formadas com as soluções de 5 % (m/m) (N=91) e 7 % (m/m) (N=67), pode se observar um aumento do diâmetro médio de 393 nm para 648 nm, sendo duas vezes maior. O erro padrão é de 20 nm para a fibra a 5 % (m/m) e 46 nm para a fibra a 7 % (m/m). O desvio padrão é também bastante diferenciado, sendo de 190 para a fibra a 5 % (m/m) e 378 nm para a fibra a 7 % (m/m). Este resultado mostra um espalhamento dos diâmetros das fibras bem maior para a fibra feita com 7 % (m/m) de PAN. Para entender este resultado, é preciso usar a ferramenta dos intervalos

de confiança 95 % abaixo e acima da média: 353 para 432 nm no caso da solução de 5 % e 556 para 740 nm para a solução de 7 %.

A solução de 5 % apresenta um interesse tecnológico maior em termo de diâmetro, não só pelo menor diâmetro das fibras, mas também pelo menor espalhamento dos diâmetros das fibras que podem apresentar uma melhor uniformidade das propriedades mecânicas de reforço se levar em consideração apenas está variável estudada, o diâmetro. A Figura 3 apresenta as micrografias de MEV das nanofibras nas duas concentrações.

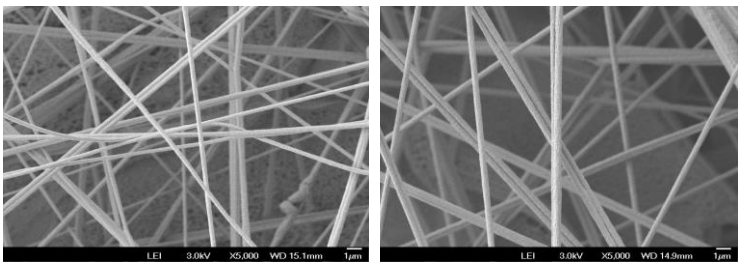


Figura 2. Micrografia de nanofibras de 5 % e 7% PAN/DMF

4 CONCLUSÃO

As melhores concentrações para fiação das NNF foram determinadas a partir de reologia sendo o final do regime diluído e o semi-diluido entre (6-8%). Foram obtidas NNF de PAN pelo processo de FSS e estas apresentaram, por análises de MEV, diâmetros dentro do padrão para NFC, que é de algumas centenas de nanômetros. Os resultados encontrados, portanto, mostram uma tendência similar à literatura, o que dá credibilidade e confiança aos resultados preliminares.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a todos os funcionários da Embrapa Instrumentação para os atendimentos úteis neste trabalho e também apoios financeiros da Embrapa, FAPESP, FINEP, CNPq e CAPES.

REFERÊNCIAS

ARSHAD, S. N.; NARAGHI, M.; CHASIOTIS, I. Strong carbon nanofibers from electrospun polyacrylonitrile. Carbon, v. 49, n. 5, p. 1710-1719, 2011.

FRANK, E.; HERMANUTZ, F.; BUCHMEISER, M. R. Carbon Fibers: Precursors, Manufacturing, and Properties. Macromolecular Materials and Engineering, v. 297, n. 6, p. 493-501, 2012.

GUO, L. P. et al. Fabricating series of controllable-porosity carbon nanofibers-based palladium nanoparticles catalyst with enhanced performances and reusability. Journal of Molecular Catalysis a-Chemical, v. 400, p. 95-103, 2015.

HUANG, X. S. Fabrication and Properties of Carbon Fibers. Materials, v. 2, n. 4, p. 2369-2403, 2009.

KIM, C. et al. Synthesis and characterization of porous carbon nanofibers with hollow cores through the thermal treatment of electrospun copolymeric nanofiber webs. Small, v. 3, n. 1, p. 91-95, 2007.

NATARAJ, S. K.; YANG, K. S. & AMINABHAVI, T. M. "Polyacrylonitrile-based nanofibers A state-of-the-art review". Progress in Polymer Science, v. 37 n. 3 487-513, 2012.

SHIN, H. K.; JEUN, J. P.; KANG, P. H. The Characterization of Polyacrylonitrile Fibers Stabilized by Electron Beam Irradiation. Fibers and Polymers, v. 13, n. 6, p. 724-728, 2012.

WANG, S. X. et al. Lignin-Derived Fused Electrospun Carbon Fibrous Mats as High Performance Anode Materials for Lithium Ion Batteries. Acs Applied Materials & Interfaces, v. 5, n. 23, p. 12275-12282, 2013.

SÍNTESE DE $BiFeO_3$ E $LaFeO_3$ PELO MÉTODO DE COMBUSTÃO VISANDO APLICAÇÃO EM CÉLULAS SOLARES PARA USO *IN SITU*

Caio C. S. B. Alves; Ana C. F. Prado; Jeferson A. Dias; Márcio R. Morelli*

*Departamento de Engenharia de Materiais, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos/SP, *E-mail: morelli@ufscar.br*

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio.

Resumo

A energia solar é promissora e sustentável para geração de energia elétrica, e facilmente pode ser usada *in situ*, a exemplo de regiões rurais e isoladas. No entanto, o alto custo das células de silício restringem seu uso. Por essa razão, há pesquisas em desenvolvimento para a utilização novos materiais, como cerâmicas com estrutura tipo perovskita e ferroelétricas. A Ferrita de Lantânio ($LaFeO_3$) e a Ferrita de Bismuto ($BiFeO_3$) possuem propriedades favoráveis a aplicação em células fotovoltaicas cerâmicas. Neste contexto, buscou-se obter tais materiais pelo método de combustão para posteriormente avaliar e caracterizar a estrutura e fases dos pós sintetizados. Para isso, foi empregada a difração de raios X (DRX) e análise por Refinamento de Rietveld. Na síntese do $BiFeO_3$ houve formação de fase secundária não ferroelétrica em grande proporção (16%), o que pode comprometer o desempenho para a aplicação desejada, além do produto possuir possível dimensão micrométrica dos seus cristais. A síntese do $LaFeO_3$ gerou um pó com baixo teor de fase secundária e indicativo de cristais com dimensão nanométrica.

Palavras-chave: Ferrita de Bismuto, Ferrita de Lantânio, Combustão, Perovskita, Energia solar.

SYNTHESIS OF $BiFeO_3$ AND $LaFeO_3$ VIA COMBUSTION METHOD FOR *IN SITU* SOLAR CELLS UTILIZATION

Abstract

The solar energy is promising and sustainable for electric energy generation and it can be easily used *in situ*, like in rural or isolated regions. However, the high cost of silicon cells restricts their use. Therefore, several researches have been developed to allow utilization of new materials, for instance, ceramics with perovskite structure. Bismuth Ferrite (BFO) and Lanthanum Ferrite (LFO) have properties that are propitious for usage on photovoltaic cells, in addition to perovskite structure. In this sense, it was sought those materials via combustion method and then the synthetized powders had their structures and phases analyzed and characterized by X-Ray diffraction and Rietveld method. Taking in account the BFO's synthesis, its product had a secondary phase in large composition (16%), which is not ferroelectric and it can negatively impact the performance for its intent appliance. Moreover, its product have micrometric crystals. Considering the LFO's synthesis, the produced powder has a low content of secondary phase and its crystals have shown evidences of nanometric dimension.

Keywords: Bismuth Ferrite; Lanthanum Ferrite, Combustion Method, Perovskite, Solar energy.

1 INTRODUÇÃO

A energia solar é uma fonte promissora e sustentável para a produção de energia elétrica. O desenvolvimento de áreas rurais pode ser limitado devido aos custos de transmissão de energia. Sendo assim, essa fonte é considerada uma das melhores formas de geração energética, uma vez que permite produção descentralizada, como por exemplo, em zonas rurais (RAMAKUMAR, 1983).

No entanto, o alto valor das células de silício utilizado atualmente restringe significativamente sua utilização. Diante desse desafio, materiais com estrutura do tipo perovskita têm potencialidade de aplicação, o que se deve ao seu baixo custo de obtenção e alta eficiência de conversão energética (SNAITH, 2013).

Pesquisas têm buscado o desenvolvimento de novos materiais que possibilitem, em um futuro próximo, a substituição parcial ou total das células de silício. Os materiais que são utilizados para essa aplicação necessitam possuir energia de transição eletrônica, *band gap*, compatível com ampla parcela

do espectro visível, somado a propriedades ferroelétricas. Nesse contexto, o *band gap* para o $BiFeO_3$ está entre 2.2 e 2.7 eV (SHARMA et al, 2016), e o $LaFeO_3$ entre 2.1 e 3.85 eV (PARIDA et al, 2010; TANG et al, 2011; BELLAKKI et al, 2010; ARIMA et al, 1993; SORESCU et al, 2011) ademais, tais compostos possuem comportamento multiferróico em temperatura ambiente (SHARMA et al, 2016; PARIDA et al, 2010; TANG et al, 2011; BELLAKKI et al, 2011; ARIMA et al, 1993; SORESCU et all, 2011), tornando-os vantajosos para a aplicação.

O desenvolvimento dessas fases em nanoescala também é fator de suma relevância, uma vez que acarreta melhoria nas propriedades ferroelétricas do dispositivo após a sinterização. Com base nisso, esse trabalho se propôs a avaliar a obtenção desses compostos por meio do método de combustão, visando assim avaliar a eficácia desse método de síntese para esses sistemas e estrutura dos pós obtidos.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

A síntese dos pós de Ferrita de Bismuto ($BiFeO_3$) e Ferrita de Lantânio ($LaFeO_3$), realizada pela rota de combustão da solução, utilizou os seguintes reagentes: Nitrato de Bismuto ($Bi(NO_3)_3.5H_2O$), Nitrato de Lantânio ($La(NO_3)_3.\ 5H_2O$) e Nitrato de Ferro ($Fe(NO_3)_3.\ 9H_2O$). Todos utilizaram a ureia em proporção estequiométrica como combustível para as reações.

Os reagentes foram pesados para cada síntese e posteriormente foram colocados sob agitação em meio aquoso, onde foram aquecidos até que os sais estivessem completamente solubilizados. Cada mistura foi levada até a mufla, com a temperatura de 600 ºC, para que ocorresse a ignição e a formação do pó. Posteriormente, realizou-se caracterização via difração de raios X (DRX), onde as fases $BiFeO_3$ e $LaFeO_3$ foram indexadas com base nas fichas cristalográficas (JCPDS n.º 74-2016 e 37-1493, respectivamente). Fase secundária $Bi_{24}(BiFe)O_{39}$ foi indexada à ficha JCPDS n.º 80-821. Refinamento de Rietveld foi realizado utilizando-se de ítria como padrão (método de Le Bail); e os tamanhos de cristalito foram estimados pelo método de Scherrer, utilizando-se de sílica micrométrica como padrão.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os difratogramas de raios X dos pós não calcinados são apresentados na Figura 1, sendo (a) $BiFeO_3$ e (b) $LaFeO_3$. É possível notar que ambos os compostos demonstraram a presença de fases secundárias, porém a amostra de $LaFeO_3$ apresentou uma proporção muito inferior quando comparada com a amostra de $BiFeO_3$

Quanto à determinação do tamanho de cristalito, para a amostra de $BiFeO_3$, o parâmetro de largura à meia altura se apresentou menor que a largura à meia altura da amostra de sílica utilizada como padrão, de maneira que nesse caso não houve alargamento de pico e, por consequência, não é possível determinar o tamanho de cristalito para essa amostra. Esse fator deve-se, provavelmente, ao fato do material apresentar cristais micrométricos. Realizou-se o cálculo para a determinação do tamanho de cristalito do $LaFeO_3$, 28,3 nm, número esse que sugere a obtenção de pó com dimensão nanométrica.

Os difratogramas foram então refinados pelo método de Refinamento de Rietveld. Os parâmetros estruturais das fases desejadas, $BiFeO_3$ e $LaFeO_3$, bem como das fases secundárias com magnitude considerável foram estimados mediante a esse procedimento. Com finalidade de comparação, a Tabela 1 apresenta os valores dos parâmetros de rede e volume de célula unitária pré-estabelecidos nas fichas cristalográficas de cada fase, tomados como padrão, em conjunto com aqueles estimados experimentalmente pelo refinamento.

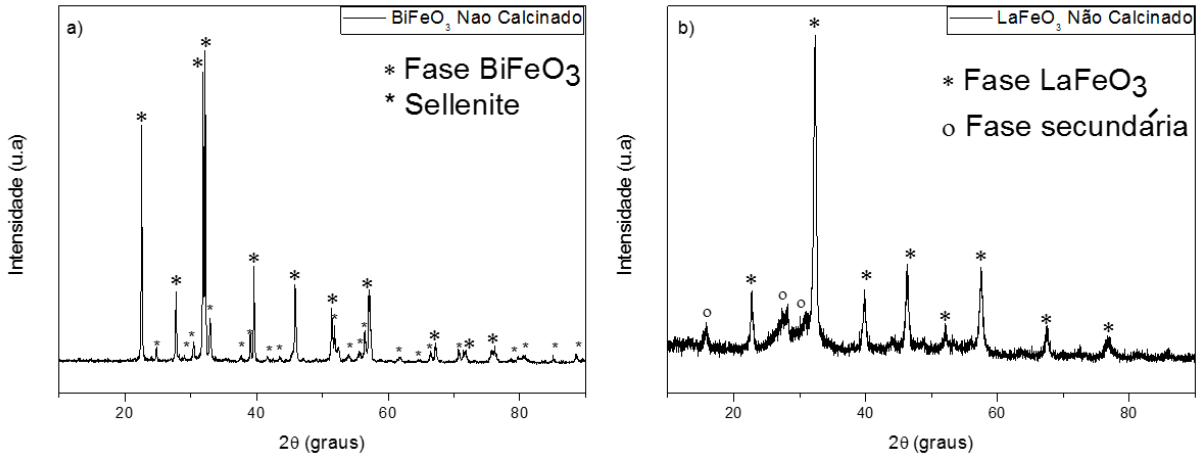


Figura 1: Difratogramas das amostras de **a)** $BiFeO_3$ e **b)** $LaFeO_3$.

Tabela 1- Parâmetros estruturais obtidos pelo refinamento de Rietveld.

Fase	*a (Å)*	*b (Å)*	*c (Å)*	*V (Å^3)*	χ^2	R_p
$LaFeO_3$ (experimental)	5,5490(1)	5,5857(8)	7,838(1)	242,96(6)	1,38	0,13
$LaFeO_3$ (padrão)	5,552	5,563	7.843	242,2	-	-
$BiFeO_3$ (experimental)	5,5798(1)	5,5798(1)	13,8724(1)	374,05(1)	1,70	0,10
$BiFeO_3$ (padrão)	5,5876	5,5876	13,8670	374,9	-	-
$Bi_{24}(BiFe)O_{39}$ (experimental)	10,2056(4)	10,2056(4)	10,2056(4)	1062,9(1)	1,70	0,10
$Bi_{24}(BiFe)O_{39}$ (padrão)	10,184	10,184	10,184	1056,2	-	-

O parâmetro de convergência χ^2 ficou próximo a unidade para ambos os difratogramas analisados, o que é indicativo de um refinamento satisfatório (TOBY, 2006). É possível observar que todas as fases apresentam parâmetros de rede e volume da célula unitária próximos ao padrão. As diferenças observadas podem ser atribuídas ao método de síntese empregado, uma vez que, fatores como cristalinidade, concentração de defeitos e microdeformação, impactam na estrutura do material e são decorrentes, dentre uma série de outros fatores, da etapa de síntese.

No entanto, os compostos sintetizados apresentam simetria diferente da cúbica, o que é favorável para o fenômeno da ferroeletricidade (CALLISTER et al, 2016). A fase secundária indexada para o sistema Bismuto-Ferro por outro lado, $Bi_{24}(BiFe)O_{39}$, apresenta parâmetros de rede idênticos e estrutura cúbica, por consequência, o que por si só elimina a possibilidade de utilização dessa fase como material ferroelétrico. A análise quantitativa de fases demonstra que a presença dessa fase secundária possui magnitude de aproximadamente 16% em massa, o que pode impactar negativamente nas propriedades optoeletrônicas do material sintetizado nesse sistema ($BiFeO_3$) para a aplicação em dispositivos solares.

4 CONCLUSÃO

As sínteses formaram os compostos desejados ($BiFeO_3$ e $LaFeO_3$) mesmo na ausência de calcinação posterior à mesma, em um processo rápido e produtivo. Os materiais sintetizados seguiram valores próximos aos tabelados de parâmetro de rede e volume de célula, com estrutura de simetria diferente da cúbica, o que é favorável ao fenômeno da ferroeletricidade. No entanto, o método de combustão para a amostra de $BiFeO_3$ não obteve resultados satisfatórios nas condições empregadas, devido a formação de fase secundária não ferroelétrica, fator que pode comprometer as propriedades optoeletrônicas favoráveis ao uso em células fotovoltaicas. Baseado no método de Scherrer há um indicativo de que a Ferrita de Lantânio é nanocristalina, o que é desejável para conformação do dispositivo fotovoltaico.

Posteriormente, serão consideradas outras análises, sobretudo para a identificação de propriedades optoeletrônicas.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à UFSCar, ao DEMa pela infraestrutura oferecida e à Embrapa Instrumentação, pela oportunidade de divulgação do trabalho e contribuição para com a pesquisa e o desenvolvimento da Ciência.

REFERÊNCIAS

RAMAKUMAR, R. (1983). Renewable energy sources and developing countries. Renewable Energy, PAS-102(2), 502–510. https://doi.org/10.1109/TPAS.1983.317720.

SNAITH, H. J. (2013). Perovskites: The emergence of a new era for low-cost, high-efficiency solar cells. Journal of Physical Chemistry Letters, 4(21), 3623–3630. https://doi.org/10.1021/jz4020162

SHARMA, K., SINGH, A. (2016). Advances in Photovoltaic Behavior of Ferroelectric BiFeO3. Journal of Nanoscience and Technology, 1(1), 1–5.

K.M. PARIDA, K.H. REDDY et all. Fabrication of nanocrystalline $LaFeO_3$: An efficient sol-gel auto-combustion assisted visible light responsive photocatalyst for water decomposition. Int. J. Hydrogen Energy 35 (2010) 12161–12168.

P. TANG, M. FU, H. CHEN, F. CAO, Mater. Syntesis and characterization of nano-$LaFeO_3$ powders by a soft-chemistry method and corresponding ceramics. Forum 694 (2011) 150–154.

M.B. BELLAKKI, B.J. Kelly, V. MANIVANNAN, J. Alloys Compd. 489 (2010) 64–71.

T. ARIMA, Y. TOKURA. Variation of optical gaps in perovskite – type 3 *d* transition-metal oxides. Phys. Rev. B48 (1993) 17006–17009.

M. SORESCU, T. XU, J.D. BURNETT, J.A. AITKEN, J. Mater. Sci. 46 (2011) 6709–6717.

TOBY, B. H. R factors in Rietveld analysis: How good is good enough? Powder Diffraction, Cambridge, v. 21, n. 1, p. 67–70, 2006.

CALLISTER, W. C.; RETHWISCH, D. G. Ciência e engenharia de materiais: Uma introdução. 9. ed. LTC, 2016. 667, 707 p.

MOLHABILIDADE SUPERFICIAL DE LÂMINAS DE MADEIRA TRATADAS POR PLASMA FRIO E SEU EFEITO DE ENVELHECIMENTO

Pedro Henrique Gonzalez de Cademartori[1]; Silvana Nisgoski[1]; Graciela Ines Bolzon de Muniz[1]; Washington Luiz Esteves Magalhães[2]

[1] Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brasil. pedrocademartori@gmail.com; nisgoski@ufpr.br; gbmunize@ufpr.br; [2] Embrapa Florestas, Colombo, Brasil. washington.magalhaes@embrapa.br

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio.

Resumo
O presente estudo investigou o efeito do plasma frio na molhabilidade das lâminas de madeira de red oak, white oak e maple tratadas sob diferentes condições em um reator de radiofrequência a baixa pressão. Parâmetros de molhabilidade foram determinados, o efeito do envelhecimento foi monitorado durante 30 dias e a adesão revestimento/madeira foi determinada por resistência a tração pelo método *pull-off*. Os principais resultados mostraram absorção total e espalhamento das gotículas de água em todas as lâminas de madeira. O aumento do ângulo de contato aparente em função do tempo de exposição ao ambiente, especialmente para as lâminas de red oak, confirmou a perda parcial do efeito do plasma e a recuperação da condição natural das lâminas. O aumento da adesão revestimento/madeira para as lâminas d white oak e maple foi parcialmente suportada pelo aumento da molhabilidade.
Palavras-chave: Descarga luminescente; Tratamento de superfície; Ângulo de contato; Adesão de superfície; Envelhecimento.

SURFACE WETTABILITY OF THREE PLASMA TREATED HARDWOOD VENEERS AND THEIR AGING EFFECT

Abstract
This study investigated the effect of low-pressure cold plasma in wettability of red oak, white oak and maple wood veneers treated under different conditions in a low-pressure radiofrequency reactor. The wettability parameters were determined, the aging effect was monitored for 30 days and the coating/wood adhesion was determined by pull-off strength. The main results full absorption and spreading of water droplets of all wood veneers. The increase of apparent contact angle as a function of exposure time, especially for red oak wood veneers, confirmed the partial loss of plasma effect and the recovery of natural conditions of the veneers. The increase of coating/wood adhesion of white oak and maple wood veneers was partially supported by the increase of wettability.
Keywords: Glow discharge; Surface treatment; Contact angle; Surface adhesion; Aging.

Publicações relacionadas: 1) CADEMARTORI, P.H.G.; STAFFORD, L.; BLANCHET, P.; MAGALHAES, W. L. E.; MUNIZ, G. I. B. Enhancing the water repellency of wood surfaces by atmospheric pressure cold plasma deposition of fluorocarbon film. RSC Advances, v. 7, p. 29159-29169, 2017.
2) CADEMARTORI, P.H.G.; CARVALHO, A. R.; MARANGONI, P. R. D.; BERTON, M. A. C.; BLANCHET, P.; MUNIZ, G. I. B.; MAGALHAES, W. L. E. Adhesion performance and film formation of acrylic emulsion coating on medium density fiberboard treated with Ar plasma. International Journal of Adhesion and Adhesives, v. 70, p. 322-328, 2016.
3) DE CADEMARTORI, PEDRO HENRIQUE GONZALEZ; DE MUNIZ, GRACIELA INÊS BOLZON; MAGALHÃES, WASHINGTON LUIZ ESTEVES. Changes of wettability of medium density fiberboard (MDF) treated with He-DBD plasma. Holzforschung, v. 69, p. 187-192, 2014.

1 INTRODUÇÃO

Durante a última década, o interesse em química verde e fontes renováveis devido as demandas ambientais (POPESCU et al., 2011). Entre as nanotecnologias de baixo impacto ambiental, o tratamento por plasma é comum em superfícies de materiais para múltiplas aplicações como fibras de carbono (SHELESTOVA et al., 2015) e polietileno de ultra alto peso molecular (BARTUSCH et al., 2014). Uma descarga de plasma atua na superfície do material, contribuindo para a formação de radicais livres e a dissociação da maioria das ligações químicas em estruturas orgânicas (DENES et al., 1997). Essas reações incluem cisão de cadeias, transferência de radicais, oxidação e recombinação de superfícies poliméricas (WU, 1982). O resultado da modificação da superfície influencia diretamente em propriedades como adesão e molhabilidade. O aumento da molhabilidade e da adesão superficial é uma alternativa interessante para materiais que necessitam de etapas de acabamento, tais como pintura e envernizamento, especialmente madeira e produtos à base de madeira expostos ao ambiente e a contaminantes, resultado na inativação da superfície.

No entanto, a modificação por plasma não é permanente. A superfície dos materiais tende a recuperar a sua condição natural (BUSNEL et al., 2010), especialmente devido ao efeito de envelhecimento da superfície, causado pela reorganização da superfície e a adsorção de contaminantes presentes no ambiente (GERENSER, 1993). Nesse contexto, o presente estudo investigou efeito do tratamento por plasma frio a baixa pressão na molhabilidade e grau de adesão de lâminas de madeira de red oak, white oak e maple. Os efeitos do envelhecimento foram estudados após exposição das amostras por 30 dias ao ambiente.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Lâminas de madeira de red oak (*Quercus* spp.), white oak (*Quercus* spp.) e maple (*Acer* spp.) foram preparadas com dimensões de 50 x 25 x 6 mm para os ensaios de molhabilidade e 50 x 50 x 6 mm (comprimento x largura x espessura) para os ensaios de resistência a tração pelo método *pull-off*.

Os tratamentos por plasma frio foram realizados em um reator de aço inoxidável desenvolvido na Embrapa Florestas. O reator à vácuo possui uma fonte de potência a radiofrequência (RF) de 13.5 MHz acoplada a um casador de impedância. A formação da descarga de plasma dá-se em um sistema capacitivo de eletrodos de aço inoxidável A pressão utilizada para modificação da superfície dos materiais foi 60-80 Pa. Após estabilização da pressão, gás argônio (Ar, >99% de pureza) foi introduzido no reator durante 180s com uma vazão de 20 sccm para remover impurezas. Após essa etapa, as descargas de plasma em atmosfera de Ar (20 sccm de vazão) foram realizadas considerando dois níveis de potência (100 e 200 W) e três tempos de tratamento (30, 60 e 120 s).

A influência do tratamento por plasma frio na molhabilidade das lâminas de madeira foi investigada por meio da técnica de ângulo de contato (método gota séssil) em um goniômetro Krüss DSA25. Seis gotículas (5 µl) de água deionizada foram dispensadas na superfície no sentido perpendicular as fibras e paralelo às fibras. Ângulo de contato (CA) aparente, energia livre de superfície (SFE) e trabalho de adesão (WoA) foram mensurados após 5 segundos da deposição na superfície. O efeito da exposição ao ambiente (*aging*) sobre o tratamento por plasma frio, as lâminas foram mantidas a 20°C e 60% de umidade relativa do ar durante 30 dias. O CA aparente foi mensurado após 1, 4, 18 e 30 dias de exposição.

Após os tratamentos por plasma frio, aspergiu-se um revestimento comercial a base de resina alquídica na superfície das lâminas de madeira não tratadas e modificadas por plasma frio a 100W-120s e 200W-120s. Após a secagem, peças metálicas foram coladas na superfície das lâminas com uma resina epóxi bi componente. Após 24 h de secagem, os ensaios foram realizados aplicando-se uma carga axial de tração constante (2,5 MPa/min) sob a peça metálica até o seu momento de ruptura (ASTM D4541).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Apenas o CA aparente do material sem tratamento foi passível de mensuração após 24 h da aplicação das descargas luminescentes de plasma frio (Tabela 1). Observa-se que os valores médios do CA aparente das lâminas de red oak e white oak foram similares em ambas as direções das fibras,

enquanto que as lâminas de maple apresentaram uma superfície mais hidrofílica, refletindo-se em maiores níveis de trabalho de adesão (WoA).

As lâminas modificadas por plasma frio apresentaram total absorção e rápido espalhamento da gotícula de água, indicando um aumento significativo da energia livre de superfície e, consequentemente, da molhabilidade da superfície.

Tabela 1. Parâmetros de molhabilidade das lâminas de madeira de red oak, white oak e maple não tratadas.

Parâmetro	Red Oak		White Oak		Maple	
	⊥	∥	⊥	∥	⊥	∥
CA (°)	67,43 (10,88)	49,7 (10,23)	65,36 (4,45)	50,10 (8,50)	44,90 (4,01)	33,16 (4,67)
SFE (mN/m)	42,8	55,7	44	53,1	56,1	62,3
WoA (mN/m)	99,33 (12,64)	120,01 (11,77)	102,08 (5,09)	117,44 (11,02)	123,05 (3,69)	132,28 (3,13)

CA= ângulo de contato aparente; SFE= energia livre de superfície; WoA= trabalho de adesão; ∥ = sentido paralelo às fibras; ⊥ = sentido perpendicular às fibras. Valor entre parênteses correspondem ao desvio-padrão.

No entanto, sabe-se que o efeito do tratamento por plasma na superfície dos materiais apresenta uma vida útil. Observou-se o aumento do CA aparente para uma exposição mais prolongada das lâminas de madeira, especialmente entre 4 e 18 dias (Figura 1). O período entre 18 e 30 dias denotou uma maior estabilização do CA aparente, principalmente para as lâminas de white oak e red oak. Esta perda de efeito do tratamento por plasma após os primeiros dias está relacionada com as reações entre o ar do ambiente e os grupos químicos ativos produzidos na superfície da madeira pela descarga luminescente(Odrášková *et al.*, 2008).

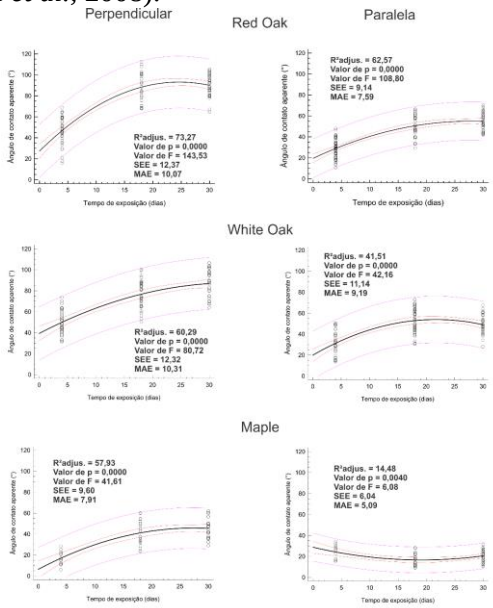


Figura 1. Modelos de regressão polinomial do ângulo de contato aparente em função do tempo de exposição para as lâminas de madeira de red oak, white oak e maple modificadas por plasma frio.

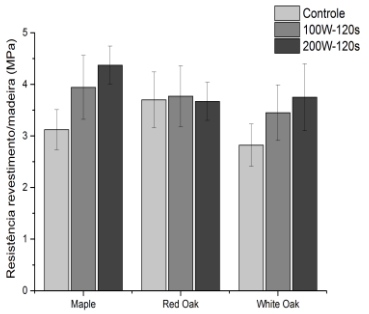


Figura 2. Adesão revestimento/madeira das lâminas de madeira de maple, red oak e white oak não tratadas e modificadas por plasma frio.

A resistência média do revestimento das lâminas de madeira de maple e white oak, ambas com influência significativa do tratamento por plasma frio, apresentou um comportamento crescente em função da potência aplicada (Figura 2). No entanto, a resistência do revestimento só se mostrou significativa em relação ao tratamento controle, isto é, não se observou distinção estatística entre os tratamentos a 100 W e 200 W para as lâminas de madeira de maple e white oak. As lâminas de maple tratadas a 200 W por 120 s apresentaram um incremento médio de 28,6% na resistência a tração, enquanto que as lâminas de white oak aumentaram esta propriedade em 24,8%. Por outro lado, a ausência de incremento significativo para as lâminas de red oak pode estar relacionada ao tipo de solvente utilizado e as características da superfície da madeira.

4 CONCLUSÕES

Os tratamentos por plasma promoveram uma absorção total e espalhamento das gotículas de água na superfície das lâminas a de madeira, mostrando a eficiência da tecnologia em modificar a estrutura da superfície em escala nanométrica e permitir um maior grau de adesão. As lâminas de madeira recuperaram parcialmente suas condições naturais após 4-18 dias de exposição em ambiente controlado. O aumento significativo da adesão revestimento/madeira – especialmente a 200 W – para as lâminas de madeira de white oak e maple foi suportado parcialmente pelo incremento da molhabilidade.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, processo 141260/2013-0) pelo suporte financeiro dado ao trabalho.

REFERÊNCIAS

ACDA, M. N. et al. Effects of plasma modification on adhesion properties of wood. International Journal of Adhesion and Adhesives**,** v. 32, n. 0, p. 70-75, 2012.

BARTUSCH, M. et al. Surface functionalisation of UHMW polyethylene textile with atmospheric pressure plasma. Fibers and Polymers**,** v. 15, n. 4, p. 736-743, 2014.

BUSNEL, F. et al. Modification of Sugar Maple (Acer saccharum) and Black Spruce (Picea mariana) Wood Surfaces in a Dielectric Barrier Discharge (DBD) at Atmospheric Pressure. Journal of Adhesion Science and Technology**,** v. 24, n. 8-10, p. 1401-1413, 2010.

DENES, F.; NEILSEN, L. D.; YOUNG, R. A. Cold Plasma State—A New Approach to Improve Surface Adhesion in Lignocellulosic Plastics Composites. Lignocellulic Plastics Composites**,** v. 1, p. 61-110, 1997.

GERENSER, L. J. XPS studies of in situ plasma-modified polymer surfaces. Journal of Adhesion Science and Technology**,** v. 7, n. 10, p. 1019-1040, 1993.

ODRÁŠKOVÁ, M. et al. Plasma Activation of Wood Surface by Diffuse Coplanar Surface Barrier Discharge. Plasma Chemistry and Plasma Processing**,** v. 28, n. 2, p. 203-211, 2008.

POPESCU, M.-C. et al. Grafting of softwood kraft pulps fibers with fatty acids under cold plasma conditions. International Journal of Biological Macromolecules**,** v. 48, n. 2, p. 326-335, 2011.

SHELESTOVA, V. A. et al. Surface modification of carbon fiber by fluoropolymer in a low-temperature plasma. Inorganic Materials: Applied Research**,** v. 6, n. 3, p. 219-224, 2015.

WU, S. Polymer Interface and Adhesion. 1. New York: CRC Press, 1982.

O PAPEL DO REVESTIMENTO POLÍMÉRICO SOBRE A DISPONIBILIDADE DE FOSFATO: VISÃO DA LIBERAÇÃO DE P POR REVESTIMENTOS DE POLIURETANA USANDO ÓLEO DE MAMONA

Diego F. da Cruz[1]; Ricardo Bortoletto-Santos[2]; Gelton G. F. Guimarães[2]; Wagner L. Polito[1]; Caue Ribeiro[2]

[1] Instituto de Química de São Carlos (IQSC), Universidade de São Paulo (USP), Campus de São Carlos, Av. Trabalhador São-Carlense 400, Arnold Schimidt, São Carlos, São Paulo, 13566-590, Brasil. Phone: +55 (16) 3373 9976.

[2] Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio (LNNA), Embrapa Instrumentação, Rua 15 de Novembro 1452, Centro, São Carlos, São Paulo, 13560-970, Brasil. Phone: +55 (16) 2107 2800

e-mail: diegofcruz@usp.br

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio.

Resumo

O revestimento de fertilizantes com polímeros é uma estratégia reconhecida para controlar a liberação de nutrientes e sua disponibilidade no solo. No entanto, a sua eficácia no caso de fertilizantes fosfatados solúveis ainda é incerta e falta informação sobre as propriedades e estruturas químicas desses revestimentos. Assim, propõe-se um sistema de polímero hidrofóbico à base de óleo vegetal para controle da liberação de fósforo a partir de grânulos Diamônio Fostado (DAP). Este material foi sistematicamente caracterizado, com avaliação do mecanismo de liberação e disponibilidade de fosfato em um solo ácido. Os resultados indicaram que os revestimentos mais espessos podem alterar a disponibilidade máxima de nutrientes em períodos mais longos, como, por exemplo, materiais empregando 4.5-7.5% de PU, que apresentaram as maiores concentrações em 336 h, em comparação com 168 h para o fertilizante não revestido. Em contraste, o DAP revestido com 9,0% de PU começou a aumentar a concentração após 168 h até resultar em liberação máxima a 672 h. Esses efeitos podem ser atribuídos à homogeneidade do polímero e à sua porosidade. Dessa forma, a estratégia de se empregar revestimentos à base de óleo de mamona permitiu com sucesso a disponibilidade de íons fosfatos em longo prazo.

Palavras-chave: Óleo de mamona; Liberação controlada; Fertilizantes; Fósforo; Polímeros.

ROLE OF POLYMERIC COATING ON THE PHOSPHATE AVAILABILITY AS A FERTILIZER: INSIGHT FROM PHOSPHATE RELEASE BY CASTOR POLYURETHANE COATINGS

Abstract

The coating of fertilizers with polymers is an acknowledged strategy for controlling the release of nutrients and their availability in soil. However, its effectiveness in the case of soluble phosphate fertilizers is still uncertain, and information is lacking concerning the chemical properties and structures of such coatings. Here, an oil-based hydrophobic polymer system (polyurethane) is proposed for the control of the release of phosphorus from diammonium phosphate (DAP) granules. This material was systematically characterized, with evaluation of the delivery mechanism and the availability of phosphate in an acid soil. The results indicated that thicker coatings can change the maximum nutrient availability toward longer periods, such as 4.5−7.5 wt % DAP coated, that presented the highest concentrations at 336 h, as compared to 168 h for uncoated DAP. In contrast, DAP treated with 9.0 wt % began to increase the concentration after 168 h until it results in maximum release at 672 h. These effects could be attributed to the homogeneity of the polymer and the porosity. The strategy successfully provided long-term availability of a phosphate source.

Keywords: Castor oil; Controlled release; Fertilizer; Phosphorus; Polymers.

Publicações relacionadas: Journal of Agricultural and Food Chemistry, 65, 5890-5895, 2017.

1 INTRODUÇÃO

Na agricultura, há uma crescente busca por materiais que constituem revestimento para que, ao serem aplicados sobre a superfície de sólidos (adubos ou substâncias empregadas para o controle de pragas), controlem a liberação de um nutriente ou de um princípio ativo (TRENKEL, 2010). No entanto, a efetividade desta estratégia depende que o revestimento formado apresente propriedades satisfatórias com o grânulo, como boa aderência e homogeneidade na aplicação, por exemplo. Também, para os fertilizantes, a utilização de revestimentos, além do controle da liberação das substâncias no solo, ajudam a reduzir perdas, como por exemplo, por lixiviação e imobilização. Assim, o presente trabalho avaliou a aplicação de um revestimento de poliuretana (PU) à base de óleo de mamona em grânulos de diamônio fosfato (DAP – $(NH_4)_2HPO_4$), analisando a influência da espessura aplicada, a estabilidade do revestimento, bem como a interface de deposição e o tempo total de liberação (em água e solo).

2 MATERIAL E MÉTODOS

A preparação do polímero de revestimento para os grânulos de DAP utilizou um sistema de resinas poliuretanas (PU) baseada em óleo de mamona. A resina foi sintetizada com MDI comercial (4,4'-difenilmetano diisocianato - Bayer) misturada ao óleo de mamona em uma proporção de 60:40 em massa (óleo:MDI), respectivamente. A quantidade de revestimento foi calculada a partir da massa de DAP, onde a resina recém-preparada foi dispersa sobre os grânulos, utilizando um prato rotativo metálico de rotação 30 rpm, com proteção lateral de 25 cm e capacidade de 1 Kg de amostra, com fluxo de ar aquecido entre 70-80ºC.

A morfologia do DAP+PU foi caracterizada por meio de digitalização de microscopia eletrônica de varredura (MEV), utilizando o microscópio JEOL, modelo JSM 6510. As imagens foram adquiridas utilizando as seguintes condições: 500x de ampliação, tensão de 10 kV e detector secundário. Também, foram feitos ensaios de liberação em água para determinar a taxa de liberação dos fertilizantes revestidos de acordo com o tempo, à temperatura ambiente (MANGRICH et al., 2001). As condições experimentais seguiram a metodologia descrita por Bortoletto-Santos e Ribeiro (2016). A determinação da concentração de fósforo (P) liberado foi analisada por meio de Espectrometria UV-Vis (equipamento Shimadzu-1601PC), utilizando o método colorimétrico adaptado de Murphy e Riley, 1986 (PLOTEGHER; RIBEIRO, 2016). O procedimento consiste na complexação de fósforo com molibdato de amônio e tartarato de antimônio e potássio, formando um complexo de coloração azulada (fosfoantimonilmolibdênio), sendo a concentração do complexo determinada com comprimento de onda fixo em 880 nm.

O experimento de incubação para avaliar a liberação de P no solo utilizou um Oxissolo coletado da camada superficial (0-20 cm) de um solo agrícola em São Carlos (São Paulo, Brasil). Os materiais foram incubados em placas de Petri contendo 20g de solo em uma proporção de P/solo de 1: 2000 (g g^{-1}). As amostras foram incubadas a uma temperatura controlada de 25°C durante 24, 72, 168, 336 e 662 h. Após a incorporação dos grânulos, retiraram-se os grânulos remanescentes no solo, bem como se estimou o teor de P a partir do teor de N residual utilizando-se um analisador elementar (CHN-S / O 2400 Series II, PerkinElmer). E, por fim, o P disponível no solo foi determinado pela extração de Mehlich-1 com uma razão solo/extrator de 1:50 (g mL^{-1}) a partir da metodologia descrita pela Embrapa (1979).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir da Figura 1, é possível notar a formação de um filme coeso sobre o grânulo, com espessura de, aproximadamente, 50µm. Também, é importante notar a diferença entre as superfícies dos materiais, uma vez que o DAP apresenta uma estrutura cristalina e bastante rugosa, enquanto o revestimento possui uma superfície mais homogênea. Dessa maneira, observa-se que houve uma boa interação (adesão) entre o grânulo e o revestimento, o que reflete em melhor acomodação, permitindo, consequentemente, obter recobrimentos com melhor adesão e flexibilidade.

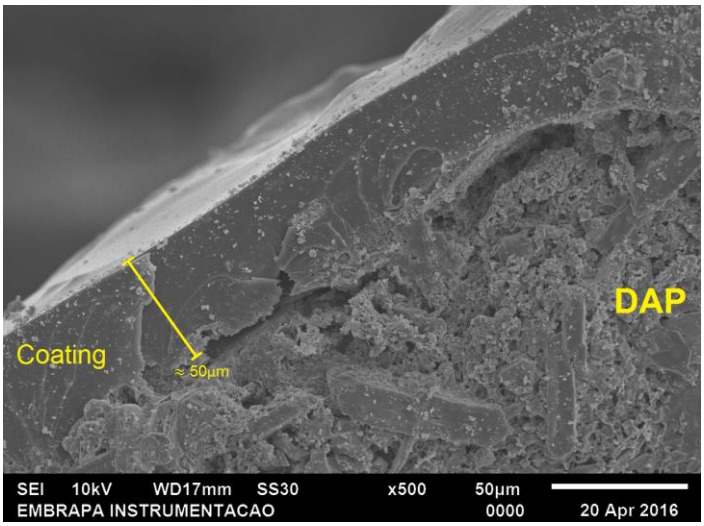


Figura 1. MEV da secção contendo a interface entre DAP e PU.

A Figura 2 mostra as curvas de liberação do DAP em água para diferentes teores de revestimento. Essa variação na porcentagem de revestimento é proporcional à taxa de liberação no meio. No entanto, nota-se que materiais com revestimento de 1,5% apresentaram taxa de liberação semelhante ao grânulo não revestido (uncoated), evidenciando que nessas condições (de baixa espessura), juntamente com a irregularidade dos grânulos de DAP comerciais, tem-se falhas (devido a aglomerações do filme protetivo) que ocasionam a má performance do revestimento.

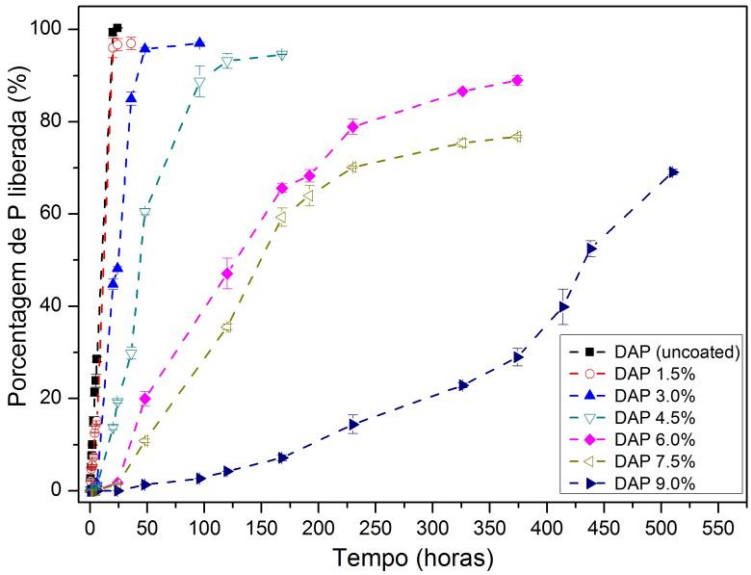
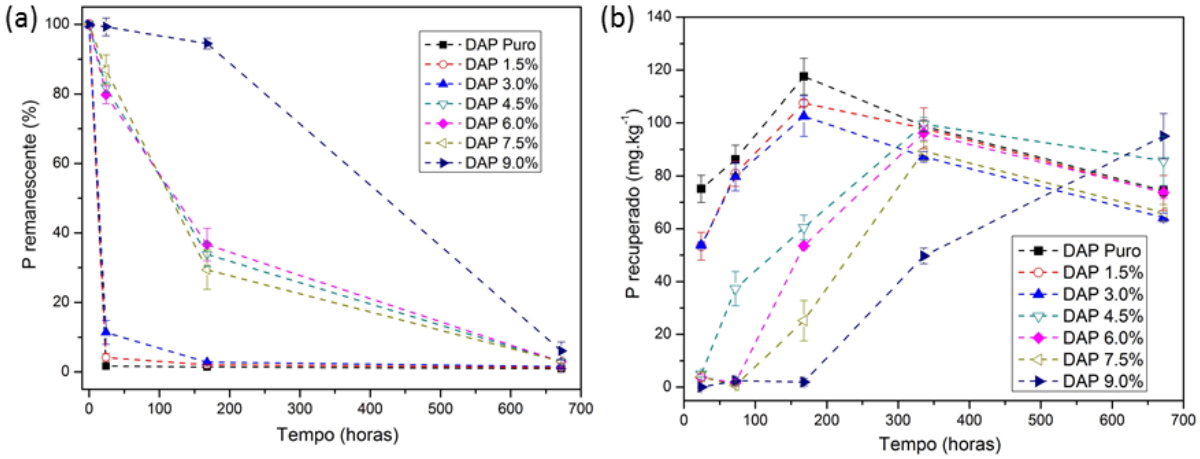


Figura 2. Curva de liberação média, em água, de DAP sem revestimento (puro) e revestido.

A Figura 4 apresenta as curvas do teor de P remanescente no grânulo (Figura 4a) e a quantidade de P disponível no solo (Figura 4b), respectivamente. A partir da Figura 4a, é possivel notar que os materiais podem ser classificados em três grupos, sendo: Liberação Rápida (DAP puro e com revestimento de 1,5 e 3,0%) com teor total de P liberado em, aproximadamente, 24h; Liberação Lenta (materiais com 4,5, 6,0 e 7,5% de PU) com 60% do teor de P liberado entre 168 e 672 h; e Liberação Extendida (material com revestimento espesso) com liberação inicial de 6,0% do teor total de P nas primeiras 168h e completa liberação apos 672h. A partir da Figura 4b e do perfil de recuperação do P disponível no solo para os diferentes materiais, nota-se que a concentração de P no solo reflete o perfil de liberação dos grânulos, de modo que os tratamentos poderiam ser agrupados da mesma forma que para os resultados mostrados na Figura 4a.



Figuras 4. (a) Perfil de recuperação do P remanescente em grânulos retirados após o período de incubação; (b) Perfil de recuperação do P disponível no solo em diferentes períodos de incubação.

4 CONCLUSÃO

Em resumo, o uso de revestimento para a liberação controlada de uma fonte de P solúvel (DAP), empregando PU a partir de óleo vegetal, permitiu obter uma superfície homogênea e com boa adesão, visto que esses grânulos apresentam irregularidades consideráveis. Os resultados, também, demonstraram que o revestimento do fertilizante teve um efeito apreciável sobre a disponibilidade de fósforo em um solo tropical ácido. Sendo esse efeito influenciado pela espessura do revestimento, uma vez que o uso de revestimentos finos resultou na formação de falhas e/ou rachaduras no filme protetivo, como resultado da irregularidade dos grânulos, causando liberação acelerada de fósforo. Os resultados mostraram que revestimentos mais espessos e homogêneos proporcionaram um controle satisfatório da liberação de P, levando a disponibilidade prolongada de P no solo por maiores períodos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio financeiro dado pela rede de pesquisa CNPq, CAPES, FAPESP, SISNANO / MCTI, FINEP e Embrapa AgroNano.

REFERÊNCIAS

BORTOLETTO-SANTOS, R.; RIBEIRO, C.; POLITO, W. L. Controlled release of nitrogen-source fertilizers by natural-oil-based poly(urethane) coatings: The kinetic aspects of urea release. Journal of Applied Polymer Science, v. 33, n. 133, p. 43790, 2016.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUARIA. Manual de399 Metodos de Análise de Solo , 2nd ed.; Centro Nacional de Pesquisa em Solos, Embrapa Solos, Rio de Janeiro, Brazil, 1979; pp 212.

MANGRICH, A. S.; TESSARO, L.C.; ANJOS, A. D.; WYPYCH, F.; SOARES, J. F. A slow-release K^+ fertilizer from residues of the Brazilian oil-shale industry: synthesis of kalsilite-type structures. Environmental Geology, 40, 1030–1036, 2001.

PLOTEGHER, F.; RIBEIRO, C. Characterization of single super-phosphate powders - A study of milling effects on solubilization kinetics. Mater. Res. 2016, 19 (1), 98−105.

TRENKEL, M. E. Slow- and Controlled-Release and Stabilized Fertilizers: An Option for Enhancing Nutrients Use Efficiency in Agriculture, 2nd ed.; International Fertilizer Industry Association (IFA): Paris, France, 2010; pp 159.

ESTUDO DA CINÉTICA DE LIBERAÇÃO DE FOSFATO EM FERTILIZANTE COMERCIAL REVESTIDO POR POLIURETANA À BASE DE ÓLEO DE MAMONA

Vanderlei Roncato Junior[1]; Ricardo Bortoletto-Santos[2]; Fábio Plotegher[2]; Wagner L. Polito[1]; Caue Ribeiro[2]

[1] Instituto de Química de São Carlos (IQSC), Universidade de São Paulo (USP), Campus de São Carlos, Av. Trabalhador São-Carlense 400, Arnold Schimidt, São Carlos, São Paulo, 13566-590, Brasil. Phone: +55 (16) 3373 9976.

[2] Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio (LNNA), Embrapa Instrumentação, Rua 15 de Novembro 1452, Centro, São Carlos, São Paulo, 13560-970, Brasil. Phone: +55 (16) 2107 2800

e-mail: vanderleironcatojunior@gmail.com

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio.

Resumo

O crescimento populacional mundial gera como consequência a procura por técnicas que possibilitam o aumento da produção de alimentos e que, também, a torne mais sustentável. No entanto, os fertilizantes apresentam sérias desvantagens quanto a perdas na aplicação como a imobilização. Desta forma, garantir uma adubação de reposição de nutrientes de forma lenta e controlada, permite que a planta consuma o nutriente disponibilizado conforme sua necessidade, bem como minimiza as perdas. Assim, o controle cinético da liberação nestes sistemas ainda precisa ser elucidado. Portanto, esse estudo avaliou a aplicação de um filme protetivo de poliuretanas (PU) à base de óleo de mamona em grânulos de MAP (monoamonio fosfato). Também, o projeto teve a finalidade de avaliar o perfil cinético de liberação de fósforo para diferentes porcentagens de recobrimento. Os resultados mostraram que a taxa de liberação de fósforo é proporcional à porcentagem de revestimento, onde grânulos com revestimentos mais espessos apresentaram uma taxa de liberação mais lenta.

Palavras-chave: Poliuretana; Liberação controlada; MAP; Fósforo; Óleo de mamona.

CONTROLLED RELEASE OF PHOSPHATE FERTILIZER USING POLYURETHANE COATING BASED ON CASTOR OIL: STUDY OF KINECT ASPECTS IN PHOSPHORUS LIBERATION

Abstract

Global population growth leads to demand for techniques that increase food production and make it more sustainable. However, fertilizers have serious disadvantages for nutrients loss such as immobilization. In this way, ensuring a nutrient replacement in a slow and controlled way, allows the plant to consume the nutrient available as needed, as well as minimizes losses. Thus, the kinetic control of the release in these systems still needs to be clarified. Therefore, this study evaluated the application of a protective film of polyurethanes (PU) based on castor oil on MAP granules (monoammonium phosphate). Also, the project aimed to assess the phosphorus release kinetic profile for different coverage percentages. The results showed that the phosphorus release rate is proportional to the percentage of coating which granules with thicker coatings exhibited a slower rate of release.

Keywords: Polyurethane; Controlled release; MAP; Phosphorus; Castor oil.

Publicações relacionadas: Em fase de publicação .

1. INTRODUÇÃO

O crescimento populacional mundial está diretamente relacionado com o aumento da produção de alimentos. Assim, faz-se necessário o desenvolvimento de técnicas e tecnologias que permitam suprir a demanda de produção, bem como garantir uma agricultura mais sustentável. Nesse contexto,

a adubação de reposição de nutrientes é considerada uma técnica barata e eficiente, no entanto, a aplicação de fertilizantes possuem desvantagens quanto a perdas de nutrientes por meio da lixiviação, volatilização ou imobilização (YAN et al., 2008; TRENKEL, 2010). Desta forma, garantir uma liberação lenta e controlada reduz as perdas consideravelmente, tendo em vista que os nutrientes devem ser liberados conforme a necessidade da planta.

Como alternativa para promover melhor disponibilidade dos nutrientes e minimizar processos associados às perdas destaca-se o uso de fertilizantes revestidos. Assim, esse estudo visou avaliar a cinética de liberação de fósforo a partir de grânulos de MAP (monoamonio fosfato) revestido com poliuretana à base de óleo de mamona.

2. MATERIAL E MÉTODOS

A preparação do polímero de revestimento para os grânulos de MAP utilizou um sistema de resinas poliuretanas (PU) baseada em óleo de mamona. A resina foi sintetizada com MDI comercial (4,4'-difenilmetano diisocianato - Bayer) misturada ao óleo de mamona em uma proporção de 60:40 em massa (óleo:MDI), respectivamente. A quantidade de revestimento foi calculada a partir da massa de MAP, onde a resina recém-preparada foi dispersa sobre os grânulos, utilizando um prato rotativo metálico de rotação 30 rpm, com proteção lateral de 25 cm e capacidade de 1 Kg de amostra, com fluxo de ar aquecido entre 70-80ºC.

Visando caracterizar o polímero sintetizado e seus materiais precursores, obtiveram-se os espectros FTIR a partir de pastilhas de KBr, usando um espectrofotômetro FTIR Nicolet, na faixa de frequência de 4000 a 400 cm^{-1} com resolução de 4 cm^{-1}. Também, foram feitos ensaios de liberação em água para determinar a taxa de liberação dos fertilizantes revestidos de acordo com o tempo, à temperatura ambiente (MANGRICH et al., 2001). As condições experimentais seguiram a metodologia descrita por Bortoletto-Santos e Ribeiro (2016). A determinação da concentração de fósforo liberado foi analisada por meio de Espectrometria UV-Vis (equipamento Shimadzu-1601PC), utilizando o método colorimétrico adaptado de Murphy e Riley, 1986 (PAI; YANG, 1990; PLOTEGHER; RIBEIRO, 2016). O procedimento consiste na complexação de fósforo com molibdato de amônio e tartarato de antimônio e potássio, formando um complexo de coloração azulada (fosfoantimonilmolibdênio), sendo a concentração do complexo determinada com comprimento de onda fixo em 880 nm.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 apresenta os espectros FTIR da poliuretana (PU) após a cura e dos reagentes utilizados para a formação do polímero. É possível destacar duas regiões no espectro que estão ligadas à formação da ligação uretana. As regiões podem ser encontradas na faixa de 2250 cm^{-1} e 3400 cm^{-1}, sendo que a primeira região é característica do grupamento NCO, presente no MDI, e a segunda região é característica de estiramento de ligação de hidrogênio (OH), presente no poliól. As bandas destacadas representam os sítios reacionais de cada reagente, evidenciando a formação da ligação uretana após a reação de policondensação. Também, é possível observar a formação da ligação uretana, representada pela banda de 3332 cm^{-1} que é característica de estiramento da ligação N-H amínico, bem como pelo desaparecimento das bandas características dos reagentes precursores.

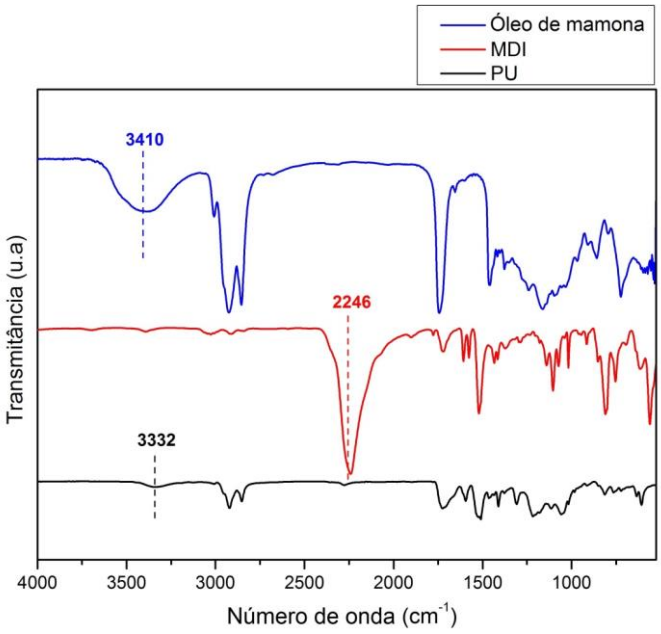


Figura 1. FTIR dos reagentes usados para formação da poliuretana.

A partir da Figura 2, é possível observar os diferentes perfis de liberação para cada revestimento. Também, pode-se notar que a porcentagem de revestimento é diretamente proporcional à taxa de liberação de fósforo no meio, bem como revestimentos mais espessos tendem a apresentar liberação mais lenta. Outro aspecto importante é a semelhança entre a taxa de liberação do grânulo puro (sem revestimento) e do grânulo revestido com 2,0% de PU. Essa semelhança pode ser correlacioanda aos defeitos (ou falhas) gerados na superfície do revestimento, uma vez que os grânulos de MAP comerciais apresentam irregularidades, ocasionando, assim, a má dispersão e performance do revestimento.

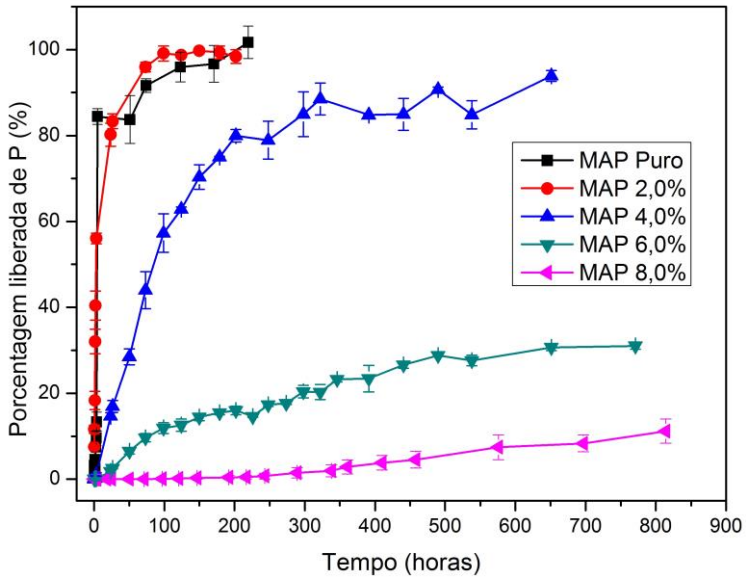


Figura 2. Curva de liberação média, em água, de MAP sem revestimento e revestido.

4. CONCLUSÃO

Os resultados sugerem que o uso de poliuretana à base de óleo de mamona permite produzir revestimentos com longos períodos de liberação, empregando-se baixos teores de polímero. E, também, é possível condicionar o perfil de liberação variando-se a porcentagens de polímero no grânulo.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio financeiro dado pela FAPESP (processo 2015/17588-6), CAPES, CNPq, SISNANO / MCTI, FINEP e Embrapa AgroNano.

REFERÊNCIAS

BORTOLETTO-SANTOS, R.; RIBEIRO, C.; POLITO, W. L. Controlled release of nitrogen-source fertilizers by natural-oil-based poly(urethane) coatings: The kinetic aspects of urea release. Journal of Applied Polymer Science, v. 33, n. 133, p. 43790, 2016.

MANGRICH, A. S.; TESSARO, L.C.; ANJOS, A. D.; WYPYCH, F.; SOARES, J. F. A slow-release K^+ fertilizer from residues of the Brazilian oil-shale industry: synthesis of kalsilite-type structures. Environmental Geology, 40, 1030–1036, 2001.

PAI, S. C.; YANG, C. C. Effects of acidity and molybdate concentration on the kinetics of the formation of the phosphoantimonylmolybdenum blue complex. Analytica Chimica Acta, v. 229, p. 115, 1990.

PLOTEGHER, F.; RIBEIRO, C. Characterization of single super-phosphate powders - A study of milling effects on solubilization kinetics. Mater. Res. 2016, 19 (1), 98−105.

TRENKEL, M. E. Slow- and Controlled-Release and Stabilized Fertilizers: An Option for Enhancing Nutrients Use Efficiency in Agriculture, 2nd ed.; International Fertilizer Industry Association (IFA): Paris, France, 2010; pp 159.

YAN, X.; JIN, J. J.; HE, P.; LIANG, M. Z. Recent advances in technology of increasing fertilizer use eficiency. Scientia AgriculturaSinica, 41, 450-459, 2008.

SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS BIOGÊNICAS DE TITÂNIO UTILIZANDO *TRICHODERMA HARZIANUM* PARA APLICAÇÃO NO CONTROLE DE *SCLEROTINIA SCLEROTIORUM.*

Tatiane Pasquoto-Stigliani[1*], Tais Germano da Costa[1], Mariana Guilger[1], Leonardo Fernandes Fraceto[2], Renata de Lima[1].

1. LABiToN - Universidade de Sorocaba – UNISO – Sorocaba, SP.
2. Departamento de Engenharia Ambiental - Universidade Estadual de São Paulo – UNESP – Sorocaba, SP.
**email de contato: pasquoto.tatiane@yahoo.com.br*

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio.

Resumo
Com o aumento populacional, o aperfeiçoamento no controle de pragas, como o fungo fitopatogênico *Sclerotinia sclerotiorum*, se torna indispensável para o futuro do agronegócio. Como alternativa temos os agentes de controle biológico, como o fungo *Trichoderma harzianum*, entretanto fatores ambientais podem reduzir sua eficiência. O uso de nanopartículas (NPs) para o controle de pragas vem sendo relatado na literatura e as NPs biogênicas apresentam diversas vantagens para este fim. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi sintetizar NPs biogênicas de titânio (Ti-NPs) a partir do fungo *T. harzianum*, visando sua aplicação no controle de *S. sclerotiorum*, realizar a sua caracterização, avaliar a sua toxicidade e a sua eficiência. As NPs foram sintetizadas utilizando o complexo enzimático do fungo *T. harzianum*, em seguida foram caracterizados o diâmetro médio (DM), índice de polidispersão (PDI), potencial zeta (ZP) e concentração. A partir disto foi analisada a toxicidade em células animais e vegetais. Por fim foi realizado um ensaio da ação das NPs na produção e germinação de escleródios de *S. slerotiorum in vitro*. A análise dos resultados aponta que as NPs apresentaram DM de 279,93 nm, PDI de 0,504, ZP de -12,9 mV e concentração de 2,34 x 10^{10} NPs/mL. A partir dos ensaios realizados foi possível notar a baixa toxicidade das NPs e eficiência no controle do fungo fitopatogênico *S. sclerotiorum*, porém, mais estudos serão necessários para comprovar esta eficiência.
Palavras-chave: Biossíntese de nanopartículas; *Trichoderma harzianum*; Nanopartículas de titânio; *Sclerotinia sclerotiorum*; Toxicidade.

SYNTHESIS OF BIOGENIC TITANIUM NANOPARTICLES USING *TRICODERMA HARZIANUM* FOR *SCLEROTINIA SCLEROTIORUM* CONTROL.

Abstract
With the increase in population, improvement in pest control, such as the phytopathogenic fungus *Sclerotinia sclerotiorum*, becomes indispensable for the future of agribusiness. As an alternative we have biological control agents, such as the fungus *Trichoderma harzianum*, however environmental factors can reduce its efficiency. The use of nanoparticles (NPs) for pest control has been reported in the literature and biogenic NPs have several advantages for this purpose. Thus, the objective of this work was to synthesize biogenic titanium NPs (Ti-NPs) from the fungus *T. harzianum*, aiming its application in the control of *S. sclerotiorum*, to perform its characterization, to evaluate its toxicity and its efficiency. The NPs were synthesized using *T. harzianum* enzyme complex, then mean diameter (MD), polydispersity index (PDI), zeta potential (ZP) and concentration were characterized. Posteriorly, toxicity was analyzed in animal cells and plant cells. Finally, an assay of the action of NPs on the production and germination of sclerotia of *S. slerotiorum* was made *in vitro*. Analysis of the results indicated that NPs presented MD of 279.93 nm, PDI of 0.504, ZP of -12.9 mV and concentration of 2.34 x 10^{10} NPs/mL. From the tests carried out, it was possible to note NPs low toxicity and efficiency in the control of phytopathogen *S. sclerotiorum*, however, more studies will be necessary to prove this efficiency.
Keywords: Biosynthesis of nanoparticles; *Trichoderma harzianum*; Titanium nanoparticles; *Sclerotinia sclerotiorum*; Toxicity.

1 INTRODUÇÃO

A população mundial vem crescendo exponencialmente nas últimas décadas, ocasionado uma alta demanda de cereais, que são amplamente utilizados para alimentação humana e animal. dentre os quais se encontra a soja (Glycinemax L.), que pode ser considerada garantia para a alimentação mundial. Apesar desta expansão, várias culturas vêm sendo afetadas por diversos fitopatógenos, como por exemplo, o fungo *Sclerotinia sclerotiorum*, causador de uma doença denominada mofo branco que apresenta uma estrutura de resistência denominada escleródio, o qual pode permanecer viável por um período de até 11 anos (BOLTON et al, 2006). Atualmente os principais compostos utilizados no seu controle são os agrotóxicos, que apesar da eficiência são capazes de produzir efeitos deletérios em organismos não-alvo e também levar à contaminação dos recursos hídricos, solo e ar (AKTAR; SENGUPTA; CHOWDURY, 2009).

Uma alternativa para isto é o uso de agentes de controle biológico, como o fungo *Trichoderma harzianum*, entretanto estes podem ter sua eficiência reduzida por fatores ambientais. Outra possível alternativa é a utilização da nanotecnologia que vem despontando na agricultura (PARISI; VIGANI; RODRIGUEZ-CEREZO, 2014).

Desta maneira o objetivo deste trabalho foi sintetizar nanopartículas biogênicas de titânio a partir do complexo enzimático do fungo *Trichoderma harzianum*, visando sua aplicação no controle de *Sclerotinia sclerotiorum*, avaliar a qualidade das nanopartículas sintetizadas, assim como sua eficiência e toxicidade.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Cultura de *Trichoderma harzianum* e síntese biogênica de nanopartículas de titânio

A cultura de *T. harzianum* foi realizada a partir do produto comercial Ecotrich WP (Balagro), na formulação pó molhável 1x10¹º UFC/g, de acordo com Guilger et al (2017).

Após o período de crescimento, a biomassa de *T. harzianum* foi filtrada, pesada, transferida para água em um volume dez vezes maior que a massa e mantida por 72 horas com agitação de150 rpm em temperatura ambiente e ao abrigo da luz. O filtrado aquoso foi utilizado para a síntese das Ti-NPs de titânio, adicionando Titanium (II) Oxide (Sigma AldrichChemistry) a uma concentração de 0,1M. A mistura foi mantida em agitação por 24 horas em temperatura ambiente até a formação das NPs.

2.2. Diâmetro, polidispersão e potencial zeta

A caracterização das NPs foi realizada por meio da análise da distribuição de tamanho e índice de polidispersão (PDI), realizadas pela técnica de Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS), análise do potencial zeta (ZP) pela técnica da Microeletroforese e a medida da concentração em nanopartículas/mL (NPs/mL) a partir da técnica de Rastreamento de Nanopartículas (NTA).

2.3. Ensaio de avaliação da atividade mitocondrial por redução do tetrazólio (MTT) e Ensaio de aberrações cromossômicas em *Allium cepa*

Os ensaios de atividade mitocondrial e de aberrações cromossômicas foram realizados segundo Pasquoto-Stigliani et al (2017), originando dados de citotoxicidade e genotoxicidade das NPs sintetizadas. Para o ensaio do MTT foram utilizadas quatro linhagens celulares: 3T3, Hela, HaCat e V79-4, e foram testadas concentrações entre 0,23 e 9,19 x 10^9 NPS/mL, enquanto que para o ensaio em *Allium cepa*, pelo qual foi possível analisar dois perfis: um com relação à divisão celular (Índice Mitótico-IM) e outro com relação à geração de danos (Índice de Alteração-IA) e foi testada a concentração de 2,34x10^{10}NPs/mL. A análise estatística foi feita usando ANOVA, seguida do Tukey's HSD *post hoc test.*

2.3.3. Avaliação da produção e germinação de escleródios e crescimento micelial *in vitro*

Para avaliar o controle de *S. sclerotiorum* foram preparadas placas de Petri com meio ágar batata-dextrose (BDA) complementado com as NPs biogênicas na concentração de 4,68 x 10^9 NPs/mL e placas controle contendo apenas meio ágar BDA, em triplicata. Foram colocados 3 escleródios por placa e as mesmas foram mantidas em temperatura ambiente, com fotoperíodo de 12 horas por 15 dias.

Após o período de cultura foi realizada a contagem de novos escleródios e a medição do crescimento micelial.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O índice de polidispersão, diâmetro e potencial zeta foram determinados logo após a preparação das formulações, sendo os resultados apresentados na Tabela 1:

Tabela 1. Características físico-químicas das nanopartículas biogênicas de titânio.

	Diâmetro Médio (DM)	Concentração (NPs/mL)	Índice de Polidispersão (PDI)	ZP (mV)
Ti-NPs	279,93 ±26,44	2,34 x 10^{10}	0,504±0,009	-12,90±2,11

Fonte: Elaboração própria.

O diâmetro médio das Ti-NPs apresentou um valor acima dos encontrados na literatura, o que pode ocorrer devido a diferentes fatores de síntese (ZAHIR *et al*., 2015).

3.1. Ensaio de avaliação da atividade mitocondrial por redução do tetrazólio (MTT) e Ensaio de aberrações cromossômicas em *Allium cepa*

A avaliação da viabilidade indireta das NPs a partir da atividade mitocondrial por redução do sal tetrazólio (MTT) mostrou uma diminuição da viabilidade celular nas linhagens HaCat, 3T3 e V79-4 não apresentando efeitos tóxicos significantes, enquanto a linhagem Hela apresentou uma viabilidade celular maior, indicando que as Ti-NPs estimularam seu crescimento (Figura 1A)

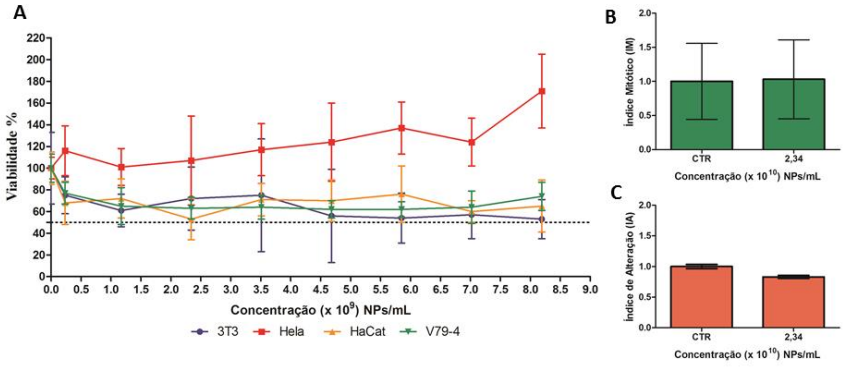


Figura 1. Análises de toxicidade das TI-NPs. **A**: Avaliação indireta da viabilidade celular pela técnica da redução do tetrazólio (MTT) em células das linhagens 3T3, HeLa, HaCat e V79-4; **B**: Índice Mitótico obtido pelo ensaio de aberrações cromossômicas em *A. cepa*; **C**: Índice de Alteração obtido pelo ensaio de aberrações cromossômicas em *A. cepa*.
Fonte:Elaboração própria.

Existem poucos estudos relacionados à análise da citotoxicidade de NPs biogênica de titânio, mas em geral, NPs de dióxido de titânio (TiO_2) possuem toxicidade relativamente baixa em comparação com outros sistemas de NPs.

Com relação ao ensaio de aberrações cromossômicas em *A. cepa* (Figura 1B e 1C), foi possível notar que na concentração de 2,34 x 10^{10}NPs/mL tanto o IM quanto o IA não apresentam diferença significativa em relação ao controle negativo para um período de exposição de 24h utilizado no teste. Geralmente, óxidos metálicos aumentam ou reduzem a germinação das sementes, o crescimento das raízes, da biomassa e das atividades fisiológicas e bioquímicas (SIDDIQI e HUSEN 2017). Entretanto, o ensaio A. cepa realizado neste trabalho, não apresentou diferenças significativas de IM ou IA, em relação ao controle negativo, para as condições analisadas.

3.2. Avaliação da produção e germinação de escleródios e crescimento micelial *in vitro*

Ao avaliarmos o potencial das Ti-NPs no controle do fungo *S. sclerotiorum* foi possível constatar que não houve germinação de escleródios na placa com meio BDA complementado com

20% de Ti-NPs, enquanto na placa controle, (escleródios cultivados sem Ti-NPs) foi observada a germinação dos mesmos, com produção de uma média de 36 novos escleródios (Figura 2B). Foi observado também o crescimento de *T. harzianum* na placa com meio BDA complementado com TiNPs (Figura 2A), sugerindo que após a síntese foi mantido material biológico deste fungo. A partir disto foi realizado um controle de meio BDA complementado com TiNPs sem escleródios (Figura 2C), havendo também o crescimento de *T. harzianum*. Mais análises serão necessárias para compreensão deste evento.

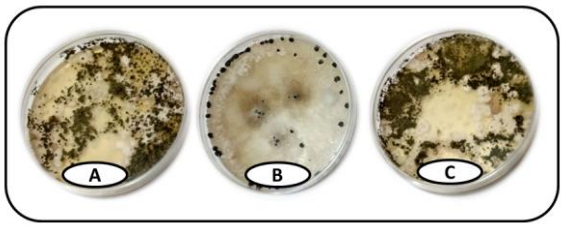


Figura 2. Avaliação da produção e germinação de escleródios e crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum in vitro*. **A:** Escleródios em meio BDA complementado com 20% de Ti-NPs,**B:** Controle de escleródios em meio BDA (sem TiNPs), **C:** Meio BDA complementado com 20% de Ti-NPs (sem escleródios).
Fonte:Elaboração própria.

4 CONCLUSÃO

A partir dos resultados nota-se a viabilidade da técnica adotada para a síntese biogênica de nanopartículas de titânio a partir do complexo enzimático do fungo *T. harzianum*, tendo o óxido de titânio (II) como precursor. É possível notar também a baixa toxicidade das nanopartículas sintetizadas e a sua possível eficiência no controle de *S.sclerotiorum*, bem como a não toxicidade destas em relação ao fungo de controle biológico *T. harzianum*, necessitando mais estudos para comprovar esta eficiência.

AGRADECIMENTOS

Ao PROBIC/Uniso; CNPQ e FAPESP, LABiToN (UNISO) e ao Departamento de Engenharia Ambiental pela disponibilidade de equipamentos.

REFERÊNCIAS

AKTAR, W.; SENGUPTA, D.; CHOWDHURY, A. Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards. Interdic Toxicol., v. 2, p. 1-12, 2009.

BOLTON, M. D.; THOMMA, B. P. H. J.; NELSON, B. D. Sclerotinia sclerotiorum (Lib) de Barry: biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen. Molecular Plant Pathology, v. 7 (1), p. 1-16, 2006.

GUILGER, M. et al. Biogenic silver nanoparticlesbased on trichoderma harzianum : synthesis, characterization, toxicity evaluation and biological activity.Scientific Reports, v. 7, p. 1-13, 2017

PARISI, C.; VIGANI, M.; RODRIGUEZ-CEREZO, E. Agricultural Nanotecnologies: What are the current possibilities? Nano Today, p. 1-4, 2014.

PASQUOTO-STIGLIANI, T. et al. Nanocapsules containing Neem (Azadirachta Indica)Oil: development, characterization and toxicity evaluation. Scientific Reports, v. 7, n.1, p. 1-12, 2017.

SANTHOSHKUMAR Thirunavukkarasu, *et al.* Green synthesis of titanium dioxide nanoparticles using Psidium guajava extract and its antibacterial and antioxidant properties. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, p. 968-976, 2014.

SIDDIQI, K. S. and HUSEN, A. Plant Response to Engineered Metal Oxide Nanoparticles. Nanoscale Research Letters, 12:92, 2017.

IMOBILIZAÇÃO E REAPROVEITAMENTO DE SEMICONDUTORES A BASE DE ZnO PARA APLICAÇÃO EM FOTOCATÁLISE

Luiz Otavio Ottonicar Peçanha*, Sylma Carvalho Maestrelly, Tania Regina Giraldi.

Universidade Federa de Alfenas – Instituto de Ciência e Tecnologia – Campus Poços de Caldas – MG
luizo.pecanha@gmail.com

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio

Resumo
No presente trabalho, fotocatalisadores imobilizados a base de ZnO foram obtidos pelos processos de conformação de prensagem e colagem de barbotina. Foram obtidas pastilhas a partir de prensagem em diferentes pressões, e peças a partir de barbotinas com diferentes quantidades de dispersante. As peças a verde foram submetidas a tratamento térmico de 800 °C por 10 horas. Foram realizados ensaios de densidade e porosidade das peças, e as mesmas foram também submetidas a ensaios fotocatalíticos sob radiação UVC para a degradação do corante Rodamina B. Cinco ciclos de degradação foram realizados para atestar o reaproveitamento das peças. Todas as peças produzidas promoveram degradação da Rodamina B e demonstraram serem reaproveitáveis, sendo a peça produzida a uma pressão de 25,92 MPa e a por colagem com concentração de dispersante de 6,81 mg/g as com melhor desempenho.
Palavras-chave: Fotocatálise; Peça; Reuso; Rodamina B; ZnO.

IMMOBILIZATION AND REUSE OF ZnO BASED SEMICONDUCTORS FOR PHOTOCATALYSIS APPLICATION

Abstract
In the present work, immobilized photocatalysts based on zinc oxide were obtained by the conforming processes of pressing and slip casting. The pieces were produced varying pressures; and the slips were produced varying the dispersant concentration. The green body went through heat treatment at 800 °C during 10 hours. Photocatalytic tests under UVC radiation for Rhodamine B degradation were conducted utilizing the produced pieces, and degradation cycles were realized to certify the reuse of the produced pieces. Every piece were successful in degrading Rhodamine B and demonstrated being reusable, being the piece produced at pressure of 25,92 MPa and the one produced by slip casting with 6,81 mg/g dispersant concentration the ones with the best performance.
Keywords: Photocatalysis; Piece, Reuse; Rhodamine B; ZnO.

1 INTRODUÇÃO

A água é de suma importância para a atividade humana. A atividade industrial tem gerado resíduos nocivos que contaminam afetam a sua qualidade. Dentre esses resíduos, destacam-se os pesticidas e corantes. Estes possuem alta toxidade, facilidade de serem absorvidos por organismos e alteram parâmetros da água, como a demanda bioquímica de oxigênio e a cor, sendo de grande importância a descontaminação dessas águas. Entre os métodos para descontaminação de águas destes poluentes, tem destaque a fotocatálise, que explora o uso de oxidantes fortes (fotocatálise homogênea) ou semicondutores (fotocatálise heterogênea) e luz UV para gerar radicais hidroxila fortemente reativos. Os radicais reagem com o poluente, favorecendo a transformação de contaminantes orgânicos em dióxido de carbono, água e íons inorgânicos. A fotocatálise heterogênea se destaca pela reutilização do catalisador, sistema de fácil operação e manutenção, processo de baixo custo, e elimina a adição de oxidantes químicos ao sistema reacional. (Bergamini, 2007)

Segundo Chen, Sivakumar e Ray (2000), na fotocatálise heterogênea os semicondutores devem preferencialmente possuir alta atividade, habilidade de utilizar a luz visível ou ultra violeta próximo ao visível para a fotocatálise, ser estável e inerte, reaproveitável, e barato. Pelas

características desejadas previamente citadas, são utilizados principalmente como fotocatalisadores o dióxido de titânio, óxido de ferro (III), óxido de zinco, e trióxido de tungstênio.

O semicondutor pode ser utilizado na fotocatálise em forma de suspensão na solução aquosa, porém este método requer que o semicondutor seja separado após o final do processo a fim de ser reaproveitado. Outras alternativas surgiram, e vêm surgindo, com o intuito de facilitar a reutilização e minimizar o desperdício de semicondutor, tais como a ancoragem do catalisador em um suporte adequado e a utilização em leito fluidizado. A ancoragem em um suporte é a opção que vem sido preferencialmente utilizada. No entanto, para um bom desempenho deve-se escolher com cuidado o suporte, levando em conta as suas características e a interação catalisador-suporte. (Saleiro et al., 2010)

Neste trabalho teve-se como objetivo imobilizar fotocatalisadores a base de ZnO a fim de serem reaproveitáveis e eficientes.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Para a obtenção de peças a base do semicondutor ZnO, foi utilizado óxido de zinco P.A. (Synth), as quais foram obtidas pelas técnica da prensagem e colagem de barbotina. Utilizou-se uma prensa uniaxial para a conformação das peças por prensagem. 18g do ZnO foi submetido a prensagem a 8,64 MPa, 17,28 MPa, e 25,92 Mpa. A barbotina foi preparada a partir de 70% (m/m) de óxido de zinco, 30% (m/m) de água deionizada (que corresponde a 21g de ZnO e 9g de água) e diferentes concentrações do dispersante poliacrilato de amônio (Disperlan L.A), sendo 6,22 mg/g, 6,58 mg/g, e 6,81 mg/g. A mistura foi adicionada em um recipiente de moagem a base de teflon, e o meio de moagem com esferas de alumina. A mistura foi mantida em agitação por 10minutos em moinho Mixer/Mill SPEX Sample Prep. A colagem de barbotina foi realizada em moldes de gesso. Após a colagem as peças obtidas passaram por um processo de secagem ambiente por 24 horas. O tratamento térmico das peças a verde foi realizado em um forno "EDG 3000 10P" a 800 °C durante 10h, com taxa de aquecimento de 3 °C/min até 100 °C e de 10 °C/min de 100 °C até 800 °C. A densidade e porosidade aparente foram calculadas pelo método baseado no princípio de Archimedes. Baseado neste método, as peças foram pesadas secas e imersas em água a temperatura ambiente por 24 horas, e posteriormente as massas das peças ainda submersas em água foram medidas; as peças foram retiradas da imersão, sendo o excesso de água das peças removido com um pano úmido, e foram pesadas.

A eficiência fotocatalítica das peças foi avaliada a partir da degradação de uma solução (5mg/l) de Rodamina B sob radiação UVC. As peças foram submersas em 16 ml da solução, as quais foram mantidas em câmara escura por 1 hora, Posteriormente, as lâmpadas UVC e o banho termostático foram ligados, com medidas de absorbância em intervalo de 15 minutos. A absorbância das soluções foi aferida em espectrofotômetro Cary 60 UV-Vis, da Agilent. Com o intuito de atestar o reaproveitamento das peças, foram realizados 5 ciclos. Ao final de cada ciclo, as peças foram tratadas termicamente a 300 °C, por 3 horas, com taxa de aquecimento de 3 °C/min até 100 °C, e 5 °C/min de 100 °C até 300 °C, para eliminação de espécies adsorvidas na superfície das peças.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As propriedades físicas das peças, entre elas, retração diametral, densidade aparente e porosidade aparente são apresentadas na Tabela 1. A barbotina de menor viscosidade apresentou maior porosidade. Isto porque a baixa viscosidade dificulta a ação de colagem das paredes do molde, diminuindo o empacotamento das partículas. Por outro lado, as barbotinas de viscosidade iguais produziram peças de porosidade aparente diferentes. Isto ocorreu possivelmente devido a maior presença de dispersante na barbotina, o que causou aparecimento de poros durante o tratamento térmico, por consequência da decomposição deste aditivo durante o tratamento térmico, o qual foi transformado em gás e migrou dos interiores da peça para a superfície. Em relação às peças produzidas por prensa, o aumento da pressão promoveu o aumento da densidade da peça, porém no caso em que a pressão foi de 25,92 MPa a densidade foi menor que a das outras peças produzidas pela prensagem devido ao retorno elástico durante a desmoldagem. De uma maneira geral, as peças

produzidas por colagem de barbotina apresentaram maior porosidade aparente e menor densidade aparente em comparação com as produzidas por prensagem.

Tabela 1. Propriedades físicas das peças

	Prensagem			**Colagem**		
	8,64 Mpa	17,28 Mpa	25,92 Mpa	6,22 mg/g	6,58 mg/g	6,81 mg/g
Viscosidade da barbotina (mPa.s)	-	-	-	1800	1600	1800
Retração diametral (%)	18.42	17.11	15.79	11.11	7.81	8.11
Densidade aparente (g/cm³)	4.954	5.462	4.232	3.577	3.268	3.417
Porosidade aparente (%)	4.60	0.69	3.61	36.86	40.88	38.35

As peças produzidas foram utilizada como fotocatalisadores para a degradação do corante Rodamina B, conforme apresentado na Figura 1. Vale ressaltar que a solução sem catalisador (denominada branco) teve em torno de 50% de descoloração. Acredita-se que a descoloração tenha ocorrido pelo fato do sistema ter sido mantido próximo as lâmpadas do reator.

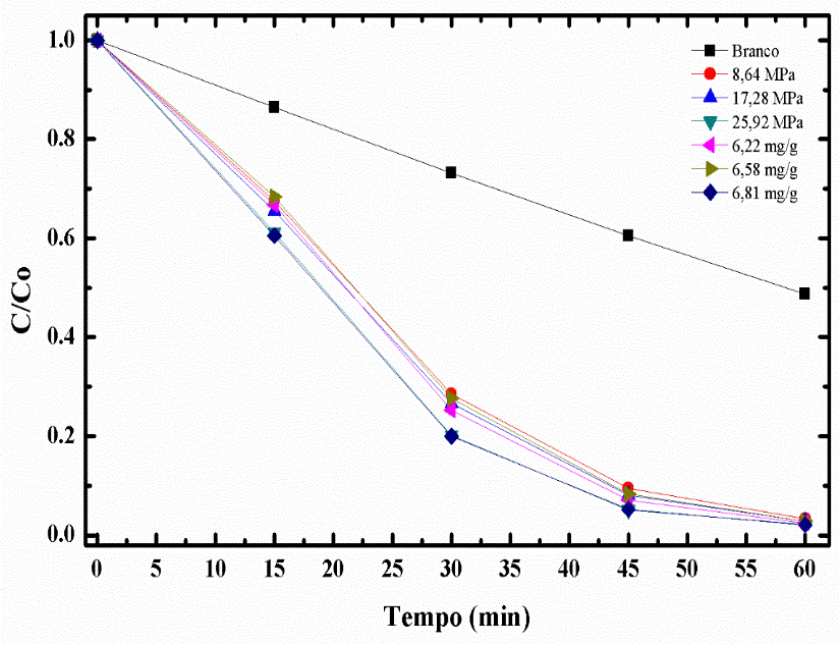


Figura 1. Primeiro ciclo de degradação da Rodamina B.

Ao final de 60 minutos todas as amostras promoveram praticamente 100% de degradação. No entanto, ao longo do processo, as peças de maiores desempenhos foram a prensada a 25,92 Mpa e a produzida a partir da colagem utilizando 6,81 mg/g de dispersante. Estas peças apresentaram porosidade intermediária em relação às outras peças estudas no presente trabalho. No entanto, além da porosidade, é relevante avaliar a rugosidade superficial das peças por análises de microscopia, pois possivelmente esta propriedade também influencia no potencial fotocatalítico das peças. Estas análises serão realizadas como próxima etapa do trabalho. As amostras que apresentaram melhor desempenho fotocatalítico ao longo do processo foram submetidas a 5 ciclos de fotocatálise para avaliação de reuso. Os resultados são apresentados na Figura 2.

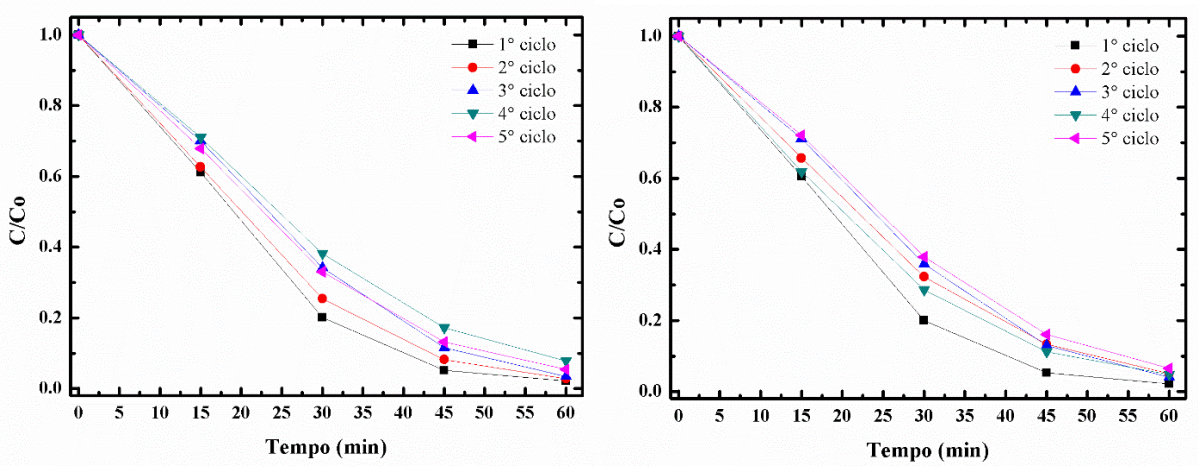


Figura 2. Ciclos de degradação de Rodamina B sob atividade fotocatalítica da peça produzida por (a) prensa a 25,92 MPa e (b) colagem de barbotina com 6,81 mg/g de dispersante.

Essas peças apresentaram serem reaproveitáveis sem processos de separação dos semicondutores. Houve um pequeno decréscimo no rendimento fotocatalítico das peças com a progressão dos ciclos, havendo tanto a diminuição da velocidade de degradação como na degradação total após 60 minutos, acredita-se que isto ocorre devido à mudanças na superfície do semicondutor, tais como desgaste e adsorção de substâncias indesejadas. Nota-se que há a possibilidade do desgaste melhorar a atividade fotocatalítica através de formação de novos sulcos na peça, aumentando a área superficial da mesma.

4 CONCLUSÃO

Este trabalho permitiu a obtenção de peças de ZnO tanto por colagem de barbotina quanto por prensagem. A imobilização do semicondutor mostrou-se eficiente tanto no quesito de degradação fotocatalítica do corante Rodamina B como no quesito de reaproveitamento. Destacaram-se as peças produzidas por prensa a 25,92 MPa e por colagem com 6,81 mg/g de dispersante na eficiência fotocatalítica, devido à maior pressão, exercida tanto pela prensa como pela parede do molde de gesso, durante a conformação das peças, permitindo peças com maior densificação e com porosidade suficiente para apresentar atividade fotocatalítica significativa.

AGRADECIMENTOS

À Embrapa – Instrumentação Agropecuária, ao CNPq, projeto 444117/2014-8 e a Fapemig, pelo apoio concedido.

REFERÊNCIAS

BERGAMINI, R. B. M. Degradação de Corantes Têxteis Ácidos e Reativos por Fotocatálise Heterogênea, Usando TiO2 como Fotocalisador. Dissertação de Mestrado, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2007.

CHEN, D.; SIVAKUMAR, M.; RAY, A. K. Heterogeneous Photocatalysis in Environmental Remediation. Dev. Chem. eng. Mineral Process, v. 8, n. 5/6, p. 505-550, 2000.

SALEIRO, G. T. et al. Avaliação das Fases Cristalinas de Dióxido de Titânio suportado em Cerâmica Vermelha. Cerâmica, v. 56, p. 162-167, 2010.

UTILIZAÇÃO DE TiO_2 E TiO_2-N PARA DEGRADAÇÃO DA FLUOXETINA POR FOTOCATÁLISE

Shena Rafaela Rebouças Padilha*, Ailton José Moreira, Gian Paulo Giovani Freschi, Tania Regina Giraldi

Universidade Federa de Alfenas – Instituto de Ciência e Tecnologia – Campus Poços de Caldas – MG
** shena_rrp@hotmail.com*

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio

Resumo
Este trabalho teve como objetivo avaliar a degradação da fluoxetina pelo processo de fotocatálise, utilizando-se TiO_2 e TiO_2 com a superfície modificada com nitrogênio. As amostras foram obtidas pelo Método dos Precursores Poliméricos. TiO_2 apresentou somente fase anatase, enquanto TiO_2-N apresentou, além da anatase, também a fase rutilo. Além disso, TiO_2-N apresenta grupos nitro adsorvidos em sua superfície. Nos ensaios fotocatalíticos, verificou-se que a amostra de TiO_2-N promoveu maior queda do pH, que possivelmente está relacionado com a etapa de fotólise da água e/ou desprotonação do metabólito 4-Trifluorometilfenol (TFMP). Isto ocorreu possivelmente devido a presença dos grupos nitro presente na superfície do fotocatalisador.
Palavras-chave: Fotocatálise; TiO_2; Fluoxetina.

UTILIZATION OF TiO_2 AND TiO_2-N FOR THE DEGRADATION OF FLUOXETINE BY PHOTOCATALYSIS

Abstract
This work aimed to evaluate the degradation of fluoxetine by the photocatalysis process, using TiO_2 and TiO_2 with the surfasse modified with nitrogen. The samples were obtained by the Polymeric Precursor Method. TiO_2 presented only anatase phase, while TiO_2-N presented, besides anatase, also the rutile phase. In addition, TiO_2-N presents nitro groups adsorbed on its surface. In the photocatalytic tests, it was verified that the TiO_2-N sample promoted a higher pH drop, possibly related to the water photolysis stage and/or deprotonation of the 4-Trifluoromethylphenol metabolite (TFPM). This was possibly due to the presence of nitro groups on the surface of the photocatalyst.
Keywords: Photocatalysis; TiO_2, Fluoxetine.

1 INTRODUÇÃO

Atualmente a sociedade vem enfrentando diversos problemas ambientais, e este fato tem gerado uma preocupação global, inclusive na comunidade científica. Dentre estes problemas, aproximadamente 3.000 substâncias são usadas como fármacos atualmente, incluindo analgésicos, antibióticos, antidepressivos, entre outros. Algumas toneladas de medicamentos são produzidas por ano e aplicadas na medicina humana e veterinária. Estudos demonstram que esses fármacos e, seus metabólitos, estão presentes em ambientes aquáticos no Brasil, evidenciando que mesmo sendo um afluente provindo de uma estação de tratamento de esgoto municipal, o processo tratamento apresenta-se ineficiente para degradação total dos respectivos compostos orgânicos (GRABICOVA et al., 2015). Neste contexto, este trabalho teve como foco estudar a degradação do fármaco fluoxetina, utilizando a fotocatálise, que consiste em uma variável dos Processos Oxidativos Avançados. Este processo explora o uso de oxidantes fortes e luz ultravioleta (UV) para gerar radicais hidroxilas fortemente reativos. Os radicais reagem com o poluente, favorecendo a transformação de contaminantes orgânicos em dióxido de carbono, água e íons inorgânicos (VLACK, 1920). Para isto, é necessário o uso de um semicondutor ativado com radiação, geralmente UV. Este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial fotocatalítico do TiO_2 e do TiO_2 com a superfície modificada pela adição de nitrogênio (TiO_2-N). A ideia deste estudo foi avaliar não somente a degradação da FLX, como também a formação e degradação de seus metabólitos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

A síntese do TiO_2 foi realizada utilizando o método dos precursores poliméricos. Para isso, fixou-se a razão molar de 3:1 entre o Ácido Cítrico (AC) e o Isopropóxido de Titânio (IT) a uma temperatura de 75ºC, com o intuito de preparar o Citrato de Titânio. O AC foi dissolvido em água deionizada sob agitação constante e aquecimento, em placa aquecedora. Para a síntese de TiO_2-N, além dos reagentes supracitados, também dissolveu-se ureia ($CO(NH_2)_2$) ao meio reacional. Em seguida, adicionou-se lentamente o IT à solução, obtendo um meio reacional límpido após a dissolução. O Citrato de Titânio foi polimerizado com a adição de Etilenoglicol (EG), em proporção em massa de 60:40EG:AC. Posteriormente a mistura foi agitada e aquecida em temperatura máxima em placa de agitação. A solução obtida foi submetida a um primeiro tratamento térmico (300ºC, 2h, 10ºC/min) para promover a pirólise da solução e posteriormente a um tratamento térmico de 500ºC por 12 horas, para a cristalização do material obtido. As amostras obtidas foram caracterizadas por difração de raios x (equip.), espectroscopia raman (equip) e espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (equip). Para os ensaios fotolíticos do fármaco fluoxetina, a solução padrão (estoque) de fluoxetina (FLX) (98,49%) e 4- (trifluorometil) fenol (TFMP) 97% (Sigma-Aldrich) 1000 mg L^{-1} foram preparadas por dissolução da Reagentes respectivos em metanol HPLC grade (JT Backer). Uma solução tampão de fosfato pH = 3,0 (10,0 mmol de L^{-1} KH_2PO_4) foi preparada dissolvendo os respectivos sais (Sigma Aldrich, EUA), ajustando o pH com ácido fosfórico 85% (Neon). Acetonitrilo e metanol, grau HPLC (JT Backer) foram utilizados na preparação de soluções e processos ligados à análise cromatográfica. Após a irradiação, as amostras foram monitoradas por HPLC UV / Vis e a taxa de remoção de FLX determinada nas amostras, sendo as condições cromatográficas: gradiente de eluição (v / v): 0 minutos, tampão (ACN)/ PO_4^{3-} nas seguintes proporções: 50%/50%, 0 a 1 minutos. 45%/55%, 1 a 4 min, 75%/25%, 4 a 5 min, 90%/10%, 5 a 7 min, 100%/00%, detectando 225 nm, um fluxo de fase móvel de 1 mL min^{-1} e uma temperatura controlada de 35 ° C. Também nesta etapa, uma outra alíquota da amostra foi enviada para quantificação de fluoreto através da potenciometria com eletrodo de íon seletivo de flúor (Agilent), e para esta análise, a força iónica da solução foi ajustada com tampão de acetato.

Para o estudo fotocatalítico, 5 mg dos catalisadores de TiO_2 e TiO_2-N foram adicionados em béquer de 50mL juntamente com 10mL de FLX 10,0 mg L^{-1} (pH = 5,95). As amostras foram irradiadas em reator composto por lâmpadas UVC, sob agitação e temperatura constante. Após a irradiação, as amostras são filtradas em filtros de 0,45µm para a remoção dos catalisadores e submetidas a análise química por cromatografia líquida de alta performance com detecção de UV, potenciometria com eletrodo de íons seletivo para determinação de fluoreto e análise de pH através de eletrodo de membrana de vidro. As análises foram feitas em um intervalo e 5 a 120 minutos.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO
4

A Figura 1a ilustra os padrões DRX das amostras de TiO_2 obtidas a partir da síntese com uréia (TiO2-N) e sem uréia (TiO_2). A amostra TiO_2 apresente somente fase anatase, (ficha JCPDS n° 21-1272). Por outro lado, TiO_2-N apresenta tanto a fase anatase quanto rutilo (ficha JCPDS n° 21-1276). Este é um indicativo de que não ocorreu dopagem com nitrogênio, pois, a adição deste elemento na estrutura inibe a formação da fase rutilo (PILLAI et al, 2007).

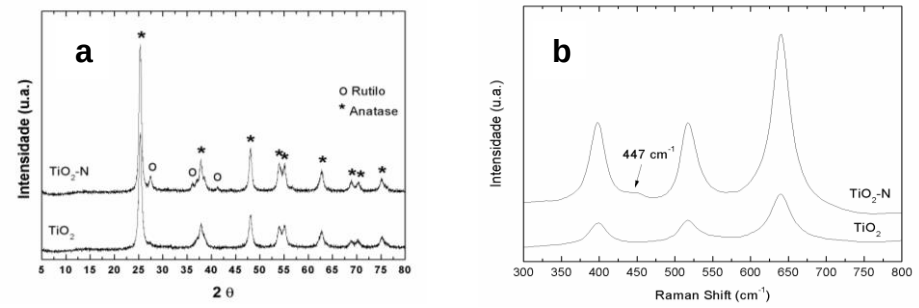


Figura 1.(a) Difração dos raios X e **(b)** espectro raman das amostras de TiO2 e TiO_2-N.

A Figura 1b ilustra os deslocamentos Raman das amostras preparadas. Os espectros Raman estão de acordo com os espectros já reportados na literatura para o TiO_2 na fase anatase. Esta fase é caracterizada por bandas raman a 143, 197, 396, 516 e 639 cm^{-1}, as quais são atribuídas aos modos raman-ativo com as simetrias de Eg, B1g, A1g / B1g e Eg, respectivamente. Os espectros de Raman evidencia que não ocorreu dopagem com nitrogênio, uma vez que uma inserção de nitrogênio na rede promove uma diminuição das bandas que caracterizam a fase ananase. Este fenômeno não ocorreu nas amostras presentes. Além disso, a fase rutilo pode ser determinada pela banda a 447 cm^{-1} (SOARES et al., 2011).

Tendo em vista de que não ocorreu dopagem com nitrogênio, as amostras foram submetidas a análises de FTIR para investigar possíveis espécies presentes na superfície das amostras. De acordo com a Figura 2 é possível observar que TiO_2 não apresenta bandas que se referem a compostos orgânicos. Por outro lado, a amostra sintetizada com ureia na solução precursora apresenta uma banda em 1633 cm^{-1}. Esta banda é referente ao alongamento assimétrico do grupo NO_2, o que permite confirmar presença de grupos nitro na superfície, provenientes de resíduos de síntese.

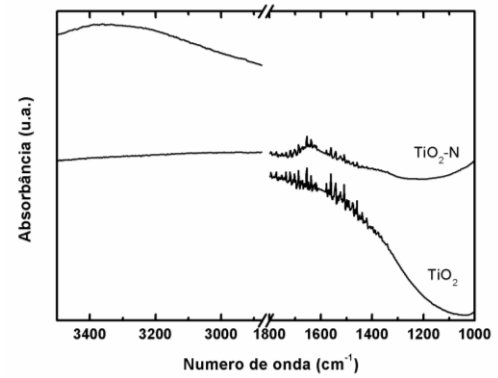


Figura 2. Espectros FTIR das amostras de TiO_2 e TiO_2-N

A Figura 3 apresenta os resultados de fotocatálise para a degradação da fluoxetina.

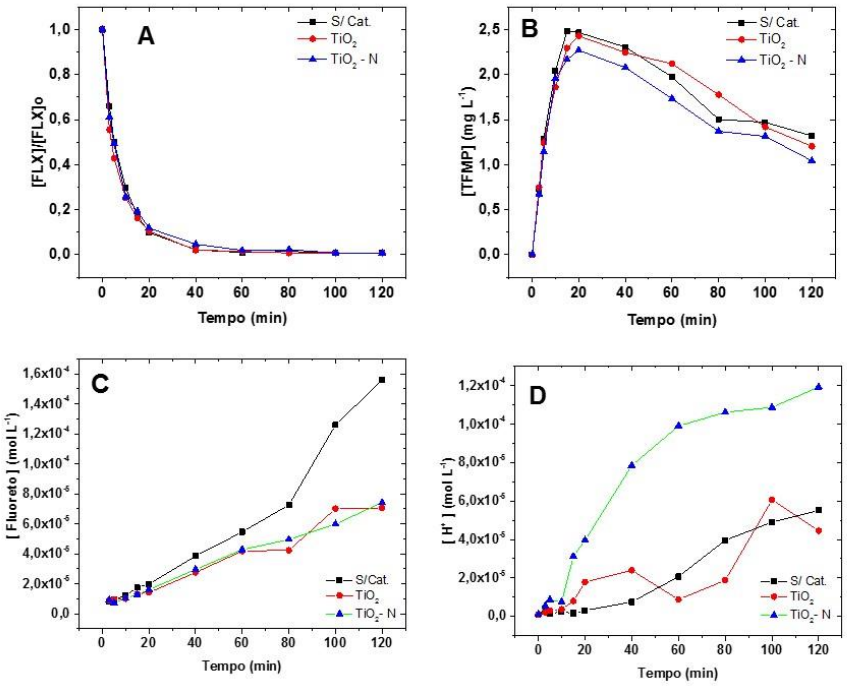


Figura 3. Taxa de degradação fotolítica e fotocatalítica de FLX (A) e variação quantitativa da formação de TFMP (B), fluoreto (C) e íons H^+ (D)

Verifica-se que a eficiência e processo fotocatalítico usando TiO_2 e TiO_2–N na região UV não possui variação significativa. Entende-se que a inserção dos fotocatalisadores não exercem uma influência positiva no processo de degradação do FLX (**Fig. 3A**). Entretanto, ao analisar os resultados da formação de TFMP (**Fig. 3B**), o processo fotocatalítico com TiO_2-N influencia a formação de TFMP, que forma um máximo de 2.27 mg L^{-1}, contra 2.44 mg L^{-1} e 2.49 mg L^{-1} verificado para os estudos com TiO_2 e sem catalisador, respectivamente. Também é possível verificar que o processo de deshalogenação (**Fig. 3C**) é mais eficiente para o sistema sem catalisador, onde 2,96 mg L^{-1} de formação de flúor são verificados. A formação de 1,35 mg L^{-1} e 1,41 mg L^{-1} são observados nos estudos fotocatalíticos utilizando TiO_2 e TiO_2-N, respectivamente. Assim, o processo de deshalogenação é 52,4% maior para o processo fotolítico quando comparado aos processos fotocatalíticos. Os resultados da deshalogenação com a amostra TiO_2-N, mostram que não há influência no mecanismo de deshalogenação, sendo os resultados quase idênticos no tempo de 120 minutos de degradação. Por outro lado, as análises de monitoramento de pH (**Fig. 3D**) mostraram uma alta influência da presença de grupos nitro na superfície da amostra, em comparação com os processos de degradação sem o uso do catalisador e TiO_2. Quando o processo de degradação sem catalisador foi comparado com o processo de TiO_2, a adição do catalisador permitiu um aumento de até 79% na desprotonação. Ao comparar os processos de degradação sem catalisador e com TiO_2 e TiO_2-N, verificou-se um aumento de desprotonação de 967% e 900%, respectivamente.

4 CONCLUSÃO

Este trabalho permitiu a obtenção de partículas de TiO2 e TiO_2 recoberto com grupos nitro, pelo Método dos Precursores Poliméricos. Foi realizado o estudo fotocatalítico da degradação da fluoxetina e seus metabólitos, e verificou-se que a presença dos grupos nitro na superfície do fotocatalisador influenciou no mecanismo de degradação, uma vez que promoveu maior queda do pH, que possivelmente está relacionado com a etapa de fotólise da água e/ou desprotonação do metabólito 4-Trifluorometilfenol (TFMP).

AGRADECIMENTOS

À Embrapa – Instrumentação Agropecuária, ao CNPq, projeto 444117/2014-8 e a Fapemig, pelo apoio concedido.

REFERÊNCIAS

GRABICOVA, K. et al. Presence of pharmaceuticals in benthic fauna living in a small stream affected by effluent from a municipal sewage treatment plant. Water Research, 72, p.145 e 153, 2015.

PILLAI, S.C. et al. Synthesis of high-temperature stable anatase TiO_2 photocatalyst**.** Phys. Chem. C, 111 p. 1605, 2007.

SOARES, G. B. et al. Facile synthesis of N-doped TiO_2 nanoparticles by a modified polymeric precursor method and its photocatalytic properties. Applied Catalysis B: Environmental. p. 287-294, 2011.

VLACK, L.H.V. Princípios de ciência e tecnologia dos materiais. 29ª reimpressão. Rio de Janeiro: ElsevierLtda, 1920.

OBTENÇÃO DE FILMES FINOS DE ZNO E SUA APLICAÇÃO E REUTILIZAÇÃO EM FOTOCATÁLISE

(Carly Mirela Baggio*, Jéssica Ariane de Oliveira, Tania Regina Giraldi)

*(Universidade Federal de Alfenas – Campus Poços de Caldas) *mirelabaggio@gmail.com*

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio

Resumo
O uso extensivo da água leva necessariamente a políticas de sua recuperação. Várias destas atividades estão diretamente associadas à atividade agrícola, como a recuperação de águas contaminadas por pesticidas em geral, e à atividade industrial, como o tratamento de efluentes industriais. Desta forma, este trabalho propõe o desenvolvimento de filmes de ZnO pelo método dos Precursores Poliméricos, com o intuito de utilizar esses filmes como semicondutores em processos oxidativos avançados. Por microscopia eletrônica de varredura (MEV-FEG) verificou-se que a superfície dos filmes é formada por grãos e poros em escala nanométrica. Estes foram utilizados em ensaios fotocatalíticos para a degradação do corante Rodamina B. Os filmes mais finos apresentaram maior eficiência fotocatalítica (em torno de 80%), devido a maior quantidade de poros. Foram realizados cinco ciclos de fotocatálise, e com isso foi possível concluir que os filmes são reaproveitáveis, podendo ser utilizados várias vezes, uma vez que a eficiência fotocatalítica se manteve em 65%.
Palavras-chave: ZnO; Semicondutores; Fotocatálise; Degradação.

OBTAINING OF ZNO THIN FILMS AND THEIR APPLICATION AND REUSE IN PHOTOCATALYSIS

Abstract
The extensive use of water necessarily leads to policies of its recovery. Several of these activities are directly associated with agricultural activity, such as the recovery of water contaminated by pesticides in general, and industrial activity, such as industrial effluent treatment. Thus, this work proposes the development of ZnO films by the Polymeric Precursors method, for their use as semiconductors in advanced oxidative processes. By scanning electron microscopy (SEM-FEG) it was verified that the surface of the films is formed by nanometric grains and pores. These were used in photocatalytic tests for the degradation of Rhodamine B dye. The thinner film presented higher photocatalytic efficiency (around 80%), due to the higher amount of pores. Five cycles of photocatalysis were performed, and it was possible to conclude that the films are reusable and can be used several times, since the photocatalytic efficiency remained at 65%.
Keywords: ZnO; Semiconductors; Photocatalysis; Degradation.

1 INTRODUÇÃO

A contaminação do meio ambiente tem sido apontada como um dos maiores problemas da sociedade principalmente quando se trata da contaminação de reservas hídricas por pesticidas e corantes. Isso se torna fator decisivo para a construção de métodos produtivos ambientalmente sustentáveis. Os Processos Oxidativos Avançados (POAs) é uma alternativa em especial em processos fotocatalíticos, para o tratamento de efluentes contaminados, principalmente por compostos orgânicos. Entre os POAs, a fotocatálise tem sido amplamente estudada principalmente nas últimas duas décadas (MOURÃO, 2009). A fotocatálise é assim chamada pois, nesse processo, fótons são utilizados para desencadear reações catalisadas por sólidos semicondutores. Um aspecto importante no uso dos fotocatalisadores é a possibilidade de reaproveitamento. Neste contexto, os materiais na forma de pó se tornam um problema, uma vez que após o processo fotocatalítico, se torna difícil a remoção e reaproveitamento do mesmo. Sendo assim, uma alternativa é a obtenção dos mesmos na forma imobilizada, como por exemplo, na forma de filmes finos, já que sua separação é mais simples e não há perda de material.

O presente trabalho teve como proposta obter fotocatalisadores imobilizados na forma de filmes finos a base de ZnO. O óxido de zinco é naturalmente um semicondutor do tipo *n*. Possui *bandgap* de 3,37eV e boa mobilidade eletrônica. Possui diversas aplicações, entre elas: diodos emissores de luz, sensores solares, detectores de luz visível, etc. (SEONGPIL et al, 2014) e vem sendo estudado como fotocatalisador por apresentar características desejáveis como: *bandgap* apropriado mediante excitação com radiação UV, baixo custo, estabilidade física e química, alta disponibilidade e baixa toxicidade (NAI-FENG et al, 2014). Assim, o objetivo do trabalho foi obter filmes finos de ZnO a partir de soluções sintetizadas pelo Método dos Precursores Poliméricos. Os fotocatalisadores foram obtidos variando-se a espessura. Foi investigada a microestrutura e atividade fotocatalítica dos mesmo de modo a avaliar a possibilidade de reutilização destes materiais.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O método utilizado para as sínteses da soluções foi o método dos precursores poliméricos. Os reagentes utilizados foram: acetato de zinco, ácido cítrico, álcool etílico, etilenoglicol e ácido nítrico. Acetato de zinco (ZnAc) (Ecibra) e ácido cítrico (AC) (Alfa Aesar) foram misturados em uma proporção molar de 1:3 Zn:AC. Em outro recipiente, foram colocados o álcool etílico (AE) (Synth) e o etilenoglicol (EG) (Ecibra), com proporções em massa de 40EG:60AC. Os dois conteúdos foram misturados e deixado sob constante agitação em uma temperatura de aproximadamente 70ºC. À mistura resultante, foi adicionado ácido nítrico para auxiliar na dissolução a qual continuou sob agitação por uma hora e aquecimento em torno de 90ºC para a liberação do NO_2. Ao final desse processo, foi obtida uma solução límpida de ZnO (OLIVEIRA, 2016). Para a obtenção dos filmes finos, a viscosidade das soluções obtidas foi ajustada a 10 cP em viscosímetro Brookfield. Os filmes foram obtidos por *dip-coating*, em que substratos de vidro (2 cm x 2 cm) foram submersos nas soluções precursoras, com curso de 40 mm e velocidade de 3 mm/min. Em seguida os filmes foram submetidos a um tratamento térmico para e decomposição da matéria orgânica (300^{o}C, 1^{o}C/min, 120 minutos) e cristalização dos filmes (450^{o}C, 1^{o}C/min, 120 minutos). Variou-se o número de camadas dos filmes: foram depositados filmes com uma camada e filmes com duas camadas.

Foram realizadas caracterizações nos materiais obtidos a fim de se entender a relação entre as microestruturas e a atividade fotocatalítica. Para análise de espessura, morfologia e tamanho das partículas e poros foi utilizada a técnica de microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (MEV-FEG). As análises foram realizadas em equipamento JEOL, modelo JSM-6701F, *Field Emission Scanning Electron Microscope*, com tensão de referência de 2,0 kV, instalado na Embrapa Instrumentação Agropecuária.

Os ensaios fotocatalíticos foram realizados em reator batelada, composto por uma caixa com quatro lâmpadas acopladas à tampa, e por um sistema de resfriamento constituído por serpentinas de cobre. Uma solução aquosa de RB 2,5 mg/L foi preparada. Em placas de petri foram adicionados 10 ml dessa solução e, em cada um, foram submersos os filmes finos. O sistema foi mantido à temperatura ambiente e iluminado por quatro lâmpadas UVC (*Philips TUV, 15W, emissão máxima de 254 nm*). A degradação do corante foi monitorada em diferentes tempos de exposição a luz, por medidas de absorbância, sendo sua absorbância máxima em 554 nm, realizadas em um espectrômetro UV-vis Cary 60 UV-Vis, da Agilent, instalado na Unifal - Poços de Caldas.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 ilustra imagens obtidas por FEG dos filmes finos de ZnO com uma camada (ZnO-1c) e de ZnO com duas camadas depositadas (ZnO-2c).

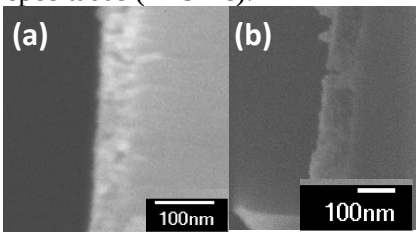


Figura 1. Seção transversal dos filmes finos: (a) ZnO-1c (b) ZnO-2c.

Pelas imagens foi possível obter a espessura dos filmes, sendo que o filme de ZnO-1c apresentou 67nm, e ZnO-2c apresentou espessura de 100 nm. Isto indica que, de acordo com o esperado, a espessura aumenta com o aumento de camadas.

A Tabela 1 apresenta o tamanho médio de grãos e poros para os filmes finos em estudo. Foi realizada a contagem de aproximadamente 100 grãos e 100 poros:

Tabela 1. Tamanho médio de grãos e de poros dos filmes obtidos

Amostra	Tamanho médio de grãos (nm)	Tamanho médio de poros (nm)
ZnO-1c	32	36
ZnO-2c	24	27

Ao avaliar o tamanho de grãos, verifica-se que o filme com 2 camadas apresenta menor tamanho de grãos do que o filme com 1 camada. Isto se justifica pelo fato de que, para a primeira camada, o substrato foi o vidro; e para a segunda camada, o substrato foi a primeira camada de filme. Consequentemente a forma de acomodação da solução polimérica e consequentemente a nucleação e crescimento das partículas ocorre de forma diferente. Este fato justifica grãos menores para a segunda camada em relação a primeira camada.

Ao avaliar o tamanho de poros, verifica-se, assim como nos tamanhos de grãos, que o filme com 1 camada apresentou poros maiores do que o filme com 2 camadas. Isto porque, ao depositar a segunda camada, os poros existentes (oriundos da primeira camada) são preenchidos. Assim, após o segundo tratamento térmico, são formados novos poros, porém com tamanhos menores.

Os resultados obtidos a partir dos ensaios fotocatalíticos com a utilização dos filmes em estudo são apresentados na Figura 2:

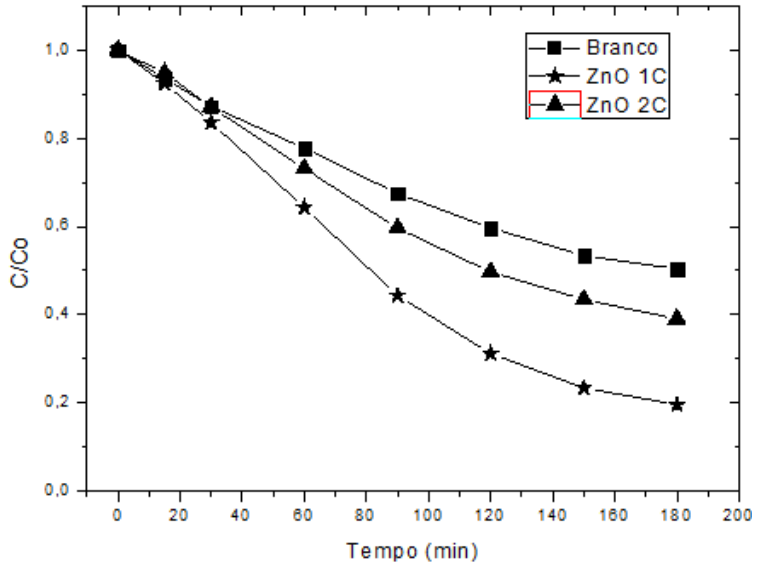


Figura 2. Resultados de fotodegradação da RB em função do tempo na região UVC.

Observa-se que o filme mais fino promoveu degradação de 80% do corante enquanto que o filme mais espesso degradou 60%. Isto é, verificou-se que a espessura dos filmes influenciou na eficiência da fotocatálise. Acredita-se que a espessura tenha influenciado na taxa de recombinação eletrônica. Quando um fóton incide no semicondutor com energia maior ou igual ao *bandgap* um elétron da banda de valência é promovido para a banda de condução, gerando o par elétron-buraco. Quando o elétron excitado retorna para a banda de valência, ocorre o fenômeno de recombinação eletrônica, e o processo de fotocatálise é interrompido. Assim, quanto menor a taxa de recombinação eletrônica, maior é a atividade fotocatalítica do semicondutor. Desta forma acredita-se que o filme mais fino apresentou uma menor taxa de recombinação eletrônica.

Os filmes foram submetidos a seis ciclos de fotocatálise com o objetivo de avaliar a possibilidade de reutilização dos mesmos. A Figura 3 apresenta a eficiência dos filmes conforme a sua reutilização.

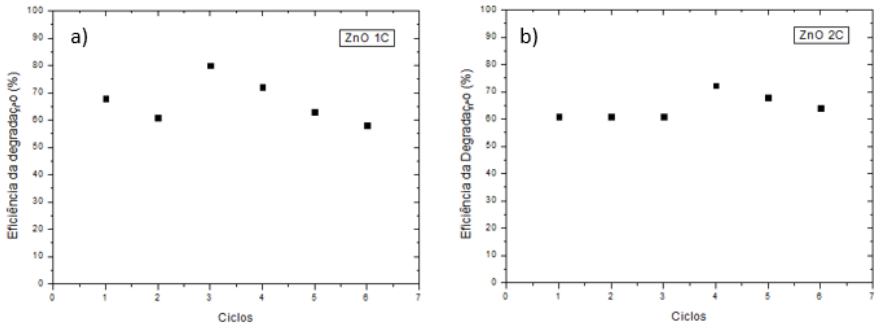


Figura 3. Eficiência fotocatalítica dos filmes em 180 minutos para cada ciclo: a) ZnO-1c, (b) ZnO-2c. Fonte:

Ao avaliar o potencial dos filmes para reuso, foram feitos seis ciclos de fotocatálise. A eficiência do processo de degradação foi de 60% para o primeiro e segundo ciclo. No terceiro ciclo ocorreu melhoria da eficiência fotocatalítica em torno de 80%. Esta diferença na estabilidade da eficiência do processo pode ter ocorrido devido a possíveis modificações na estrutura dos filmes após os primeiros ciclos de fotocatálise, como por exemplo, aumento da porosidade. No entanto, não foram feitas análises de FEG para os filmes após o uso, o que torna esta informação somente uma hipótese. Enfim, a estabilidade na eficiência de degradação indica que é possível a reutilização do filme.

Em linhas gerais, o filme mais fino apresentou maior tamanho médio de grãos e, consequentemente, maior tamanho de poros quando comparado ao filme com duas camadas depositadas. Teoricamente, a diminuição do tamanho de grãos, apresentada no filme mais espesso, deveria acarretar aumento da atividade fotocatalítica, uma vez que grãos menores apresentam maior área superficial. Por outro lado a diminuição do tamanho de poros acarreta na diminuição da atividade fotocatalítica pois poros menores dificultam a adsorção das moléculas na superfície do catalisador. Como o filme mais fino se mostrou mais eficiente, é possível concluir que, no presente trabalho, os poros possuem maior influência no processo fotocatalítico do que os grãos. Além disso, ambos os filmes se apresentaram reutilizáveis.

4 CONCLUSÃO

Filmes finos de ZnO foram obtidos com sucesso pelo Método dos Precursores Poliméricos. Os filmes se apresentaram homogêneos com grãos e poros em escala nanométrica. O filme com 1 camada apresentou maior eficiência fotocatalítica na degradação da RB, e nos estudos de reuso destes filmes, houve a degradação de até 80% do corante, sendo que os filmes passaram por seis ciclos de processo e a eficiência dos mesmos praticamente se manteve. Isto indica que os filmes são reutilizáveis para a degradação de corantes orgânicos.

.

AGRADECIMENTOS

À Embrapa – Instrumentação Agropecuária; CNPq, projeto 444117/2014-8 e Fapemig, pelo apoio concedido.

REFERÊNCIAS

MOURÃO, Henrique A. J. L. et al. Nanostructures in Photocatalysis: A Review about Synthesis Strategies of Photocatalysis in Nanometric Size. **Quimica Nova,** São Carlos, v. 32, n. 8, p.1-1, 06 out. 2009.

SEONGPIL, An et al. Electrospungraphene-ZnO nanofiber mats for photocatalysis applications. **Applied Surface Science,** Republic Of Korea, 294, p.24-28, jan. 2014.

NAI-FENG, H.; MING, C.; KUEI-TING, H. Rapid synthesis of ZnO dandelion-like nanostructures and their applications in humidity sensing and photocatalysis. **Materials Science in Semiconductor Processing,** Taiwan. 21, 200-205, 2014.

ESTUDO DAS PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS EM DUAS COLETAS, DOS NOVOS CLONES RRIM 711, RRIM 926 E RRIM 937

Otávio Luiz dos Reis[1], Maycon Jhony Silva[2], Joyci Camila da Silva[2], Erivaldo J. Scaloppi Jr.[3], Paulo de S. Gonçalves[4], Luiz Henrique Capparelli Mattoso[5]; Maria Alice Martins[5]

[1]Instituto de química, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP.
[2]Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos,
[3]Centro de Seringueira e Sistemas Agroflorestais, Votuporanga – SP
[4]Instituto Agronômico (IAC) / Embrapa, Campinas – SP
[5]Pesquisador (a) da Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP. maria-alice.martins@embrapa.br

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio.

Resumo
A borracha natural está presente em muitas espécies de plantas, sendo a seringueira *Hevea brasiliensis* a mais explorada comercialmente. Neste trabalho, as propriedades tecnológicas da borracha natural de quatro clones de seringueira, da série RRIM (600, 711, 926 e 937) foram analisadas e comparadas a partir das duas coletas realizadas em anos consecutivos. As propriedades analisadas foram plasticidade Wallace (P_0), viscosidade Mooney (V_R), extrato acetônico, teor de cinzas e teor de nitrogênio, e seus resultados comparados com a norma vigente. Dentre os clones analisados, o RRIM 926 teve o melhor desempenho. Já os clones RRIM 711 e 937 mostraram aquém dos padrões estabelecidos para as propriedades de PRI e viscosidade Mooney, e para PRI e extrato acetônico, respectivamente.
Palavras-chave: *Hevea brasiliensis*; Propriedades tecnológicas; Novos clones.

STUDY OF THE VARIATION OF TECHNOLOGICAL PROPERTIES IN TWO COLLECTION OF THE NEW CLONES RRIM 711, RRIM 926

Abstract
Natural rubber is present in many species of plants, with rubber tree *Hevea Brasiliensis* being the most commercially exploited. In this work, the technological properties of the natural rubber of four rubber tree clones, of the RRIM series (600, 711, 926 and 937) were analyzed and compared from the two collections carried out in consecutive years. The properties analyzed were Wallace plasticity (P_0), Mooney viscosity (V_R), acetone extract, ash content and nitrogen content, and their results compared to the current norm. Among the clones analyzed, the RRIM 926 had the best performance. However, the RRIM 711 and 937 clones showed inferior results from the established standards for the PRI and Mooney viscosity properties, and for PRI and acetone extract, respectively.
Keywords: Hevea Brasiliensis; Technological Properties; New Clones.

Publicações relacionadas: SILVA, M. J. et al. Characterization of the natural rubber from new clones: RRIM 926 and RRIM 937. In: 46th World Chemistry Congress e 40ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2017.

1 INTRODUÇÃO

A borracha natural é polímero de poli (cis1,4-isopreno), classificado como elastômero devido as suas propriedades. É extraída da seringueira (*Hevea brasiliensis*) na forma do látex, suspensão aquosa que contém partículas de borracha, além de diversos componentes minoritários, como proteínas e lipídeos (DALL'ANTONIA, 2003). Em razão de sua composição extremamente complexa, a borracha possui propriedades das mais variadas, o que por sua vez, torna à borracha possível encontrar emprego nas mais diversas áreas e produtos como pisos, revestimentos, materiais cirúrgicos, impermeabilizantes, pneus para automóveis, entre outros.

De acordo com Dall'Antonia (2003), no estado de São Paulo (maior produtor nacional), encontra-se o problema do cultivo monoclonal da espécie RRIM 600. Isto leva, naturalmente, a

problemas decorrentes da pouca variabilidade genética, como a extrema sensibilidade a pragas. Em razão disso, torna-se extremamente desejável a introdução de novos clones que possuam propriedades semelhantes ao atualmente utilizado, porém que também acarretem nos benefícios positivos da variabilidade genética. Dentro deste contexto, este trabalho, tem como objetivo avaliar as propriedades tecnológicas da borracha natural de três clones de seringueira, da série RRIM (600, 711, 926 e 937), tendo o clone RRIM 600 como controle, coletadas em 2 coletas em anos consecutivos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

As sangrias foram realizadas no Centro de Seringueira e Sistemas Agroflorestais – IAC em Votuporanga/SP, nos meses de março de 2016 e fevereiro de 2017. O látex dos clones RRIM 711, RRIM 926, RRIM 937 e RRIM 600 (controle) foram coletados no período da manhã, sendo retirados de três parcelas diferentes do seringal (cada parcela é composta por 10 árvores de cada clone). Para transporte e posterior análise laboratorial, as amostras foram estabilizadas com solução comercial de NH_4OH (4,7mL de estabilizante para cada 100mL de látex). O látex coletado foi coagulado quimicamente com solução de ácido acético 3 M, conforme mostra 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 (%) (ABNT NBR ISO 2007, NBR ISO 2930, respectivamente); viscosidade Mooney (NBR ISO 289-1); teor de cinzas (%) (adaptado da NBR ISO 247), teor de extrato acetônico (%) (NBR 11597) e teor de nitrogênio (NBR ISO 1656).

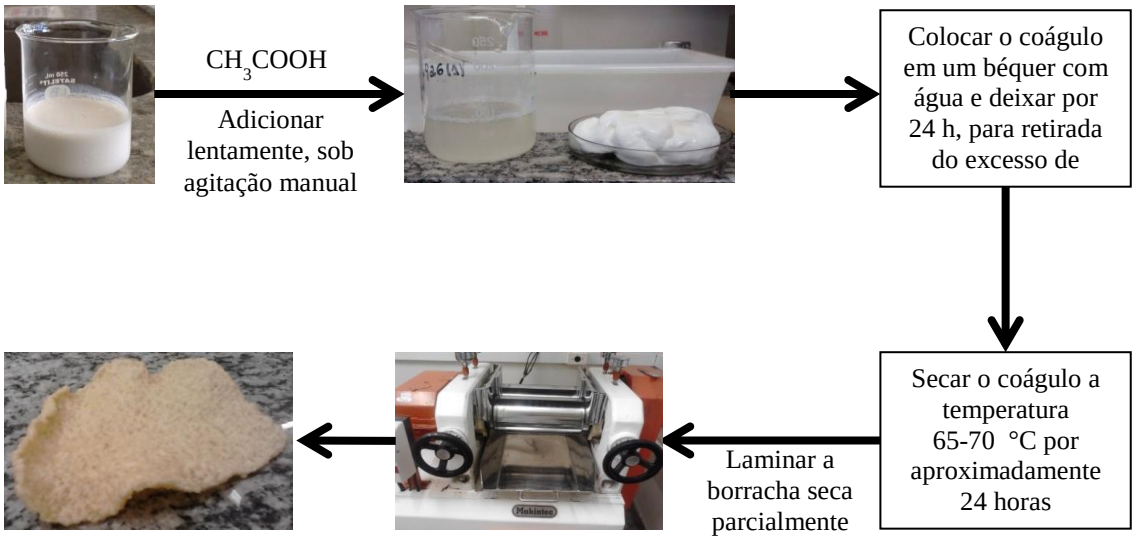


Figura 1. Esquema representando o processo de coagulação do látex para formação das mantas de borracha natural.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As amostras analisadas procedem de duas coletas realizadas no período em que a planta se encontrava na fase de área foliar máxima e no máximo de produção de látex. Considerando a temperatura média do mês que foi realizada a coleta (27 ± 1,0 para 1° Coleta e de 26 ± 1,4 para a 2° Coleta), não houve variação significa nessa variável. Já para precipitação, o valor acumulado no mês teve variação entre as coletas (228 mm para a 1°coleta e 161 mm para a 2°coleta), sendo que a distribuição foi mais heterogênea para primeira coleta.

As indústrias avaliam algumas propriedades da borracha natural para prever o comportamento durante o processamento do material, a P_0 e a V_R são utilizadas como importantes parâmetros para

estimar este comportamento, uma vez que borrachas com elevados valores nestas propriedades consomem excesso de mão de obra, energia e tempo durante o processamento (MORENO, 2002). A Figura 2 apresenta os valores encontrados para P_0, PRI e V_R. A P_0 fornece uma estimativa do comprimento da cadeia poli-isopreno (MORENO, 2008), sendo que a norma estabelece que borrachas de boa qualidade devem apresentar valores acima de 30 Wallace. A V_R por outro lado, é utilizado como um método rápido para determinar e checar a estabilidade das amostras e o PRI indica a resistência do material analisado em relação a termo oxidação, valores acima de 50% são considerado satisfatório de acordo com a norma (ABNT NBR ISSO, 200; GALIAANI, 2009). De acordo com os resultados obtidos todos os clones apresentaram valores de P_0 acima do estipulado pela norma, e o clone RRIM 926 apresentou valores superiores em relação aos demais estudados, demostrando assim uma cadeia polimérica maior. Considerando os valores médios e os desvios padrão de PRI, todos os clones apresentaram valores dentro da norma, exceto o clone RRIM 711 que apresentou o pior desempenho em ambas as coletas. Já para V_R, os clones apresentaram valores acima do que sugere a norma ISO 2000 (60 ± 5) para borracha de boa qualidade, exceto o clone RRIM 711 na segunda coleta.

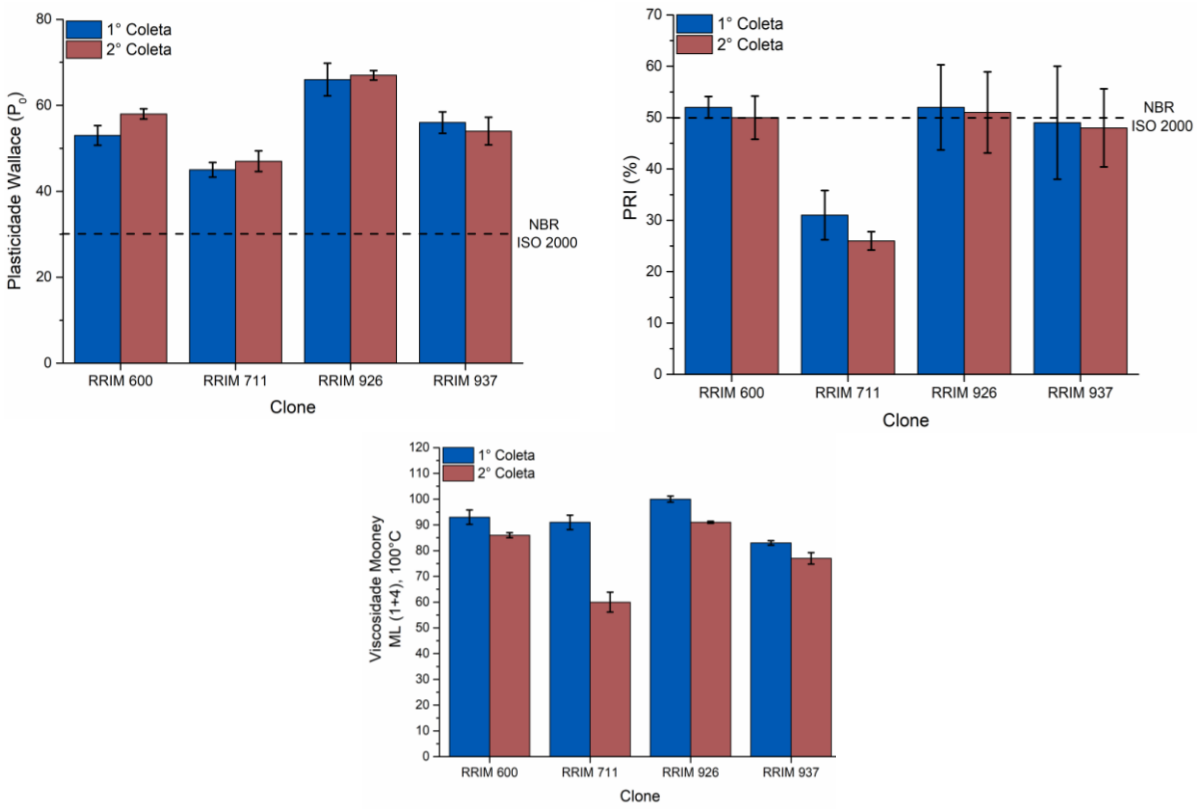


Figura 2. Plasticidade Wallace (P_0), Índice de Retenção de Plasticidade (PRI) e Viscosidade Mooney (V_R) para a borracha natural dos novos clones e do clone RRIM 600 (controle).

Os valores médios e os desvios padrão dos ensaios de teor de extrato acetônico, teor de cinzas e teor de nitrogênio estão apresentados na Tabela 1. O teor de extrato acetônico quantifica os constituintes não borracha solúveis em acetona, dos quais a maior porcentagem é de lipídios (GALIANI, 2008). A literatura apresenta que os valores para esta propriedade podem variar de 3,0 a 5,0%, porém a norma estabelece que borrachas de boa qualidade devem ter no máximo 3,5%. Todos os clones apresentaram valores dentro da norma, exceto o clone RRIM 937 que ficou acima em ambas as coletas. O teor de cinzas é associado à pureza da amostra. Os componentes do látex são degradados pela calcinação, sobrando apenas compostos inorgânicos, encontrados em baixas quantidades para amostras puras. O valor normativo máximo aceito (0,75%) é observado por todos. A quantidade de nitrogênio no látex advém, principalmente, de aminoácidos e proteínas. A concentração de proteínas é proporcional ao módulo de elasticidade do clone, em razão da participação de amino ácidos na formação de ligações entre cadeias. A norma estipula que a quantidade máxima para esta propriedade

deve estar abaixo 0,60%, sendo que borrachas de alta qualidade costumam ter valores acima de 0,2% (WISNIEWSKI, 1983). Ambos os valores são observados por todos.

Tabela 1. Valores médios e respectivos desvios-padrão das propriedades analisadas: extrato acetônico, teor de cinzas e teor de nitrogênio em ambas as coletas analisadas

Propriedades	Coleta	RRIM 600	RRIM 711	RRIM 926	RRIM 937
Teor de Extrato Acetônico (%)	1°	2,70±0,2	2,44±0,04	3,05±0,03	4,02±0,18
	2°	2,90±0,20	2,80±0,20	3,20±0,20	3,90±0,16
Teor de Cinzas (%)	1°	0,31±0,02	0,37±0,05	0,28±0,02	0,34±0,04
	2°	0,36±0,05	0,40±0,07	0,37±0,05	0,40±0,06
Teor de Nitrogênio (%)	1°	0,42±0,01	0,43±0,02	0,33±0,01	0,39±0,04
	2°	0,45±0,02	0,55±0,05	0,37±0,03	0,46±0,06

4 CONCLUSÃO

A avaliação das propriedades tecnológicas da borracha natural dos novos clones da série RRIM (711, 926 e 937), mostrou que o material produzido por estes clones apresenta boa qualidade com altos valores de P_0, PRI e V_R, exceto o clone RRIM 711 que para o PRI demostrou uma baixa resistência a termo oxidação. Considerando os valores de extrato acetônico, o clone RRIM 711 também apresentou as menores médias, demostrando uma menor quantidade de antioxidantes e que colaboram como agente para minimizar a oxidação das cadeias poliméricas. Os ensaios de nitrogênio e cinzas ficaram dentro dos padrões estabelecidos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a FAPESP (2015/17081-9), Embrapa, CNPq, Finep e Capes.

REFERÊNCIAS

DALL'ANTONIA, A. C.; Estudo do desempenho mecânico e térmico de compostos de borracha natural (NR) de diferentes clones. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, USP, São Carlos, 2003.

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. Tese de Doutorado, Universidade Federal de São Carlos, UFSCar, São Carlos, 2002.

GALIANI. P. D. Avaliação e caracterização da borracha natural de diferentes clones da seringueira cultivados nos estados do Mato Grosso e da Bahia. Tese, Universidade Federal de São Carlos, UFSCar, São Carlos, 2009.

WISNIEWSKI, R.; Látex e borracha. Belém, Ministério da Educação e Cultura, Faculdade de Ciências Agrárias do Pará, Serviço de Documentação e Informação, 1983.

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE MATERIAIS À BASE DE $SrTiO_3$ E SUA APLICAÇÃO NA DEGRADAÇÃO DE POLUENTES ORGÂNICOS

Meiriele A. Ferreira[1], Andréa R. Malagutti[2], Osmando F. Lopes[3], Gelson T. S. T. da Silva[4], Cauê Ribeiro[5], Henrique A. J. L. Mourão[6]

[1]PPGQ, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – UFVJM;
[2]DeFar – UFVJM;[3]IQSC/USP; [4]DQ/UFSCar; [5]Embrapa Instrumentação; [6]ICT/UFVJM
meirielealm@gmail.com

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio

Resumo
A fotocatálise com o uso de semicondutores tem sido estudada na degradação de uma grande variedade de compostos. Entre vários semicondutores, o $SrTiO_3$ possui algumas características interessantes para aplicações fotocatalíticas. Neste trabalho, amostras de $SrTiO_3$ e C_3N_4 foram sintetizadas pelo método dos precursores poliméricos (MPP). A síntese das heteroestruturas $SrTiO_3$ e C_3N_4 foi realizada pela mistura da fase pré-formada de $SrTiO_3$ com a melamina. As amostras obtidas foram caracterizadas por difração de raios X (DRX), infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), termogravimetria (TG) e suas fotoatividades foram avaliadas pela degradação de corante de azul de metileno (AM). Os resultados observados em DRX e FTIR das amostras de $SrTiO_3$ mostraram a presença da fase espúria, carbonato de estrôncio ($SrCO_3$). Nas amostras objetivando $SrTiO_3$-C_3N_4, as análises por TG e DRX indicaram a presença de C_3N_4 apenas na amostra $SrTiO_3$-C_3N_4-85%. A atividade fotocatalítica da amostra com 85% de C_3N_4 foi a maior durante a degradação do corante AM sob radiação visível, indicando que o C_3N_4 fotoativou o $SrTiO_3$.
Palavras-chave: Fotocatálise; Semicondutores; Heteroestruturas.

SYNTHESIS OF $SrTiO_3$-BASED MATERIALS BY THE POLYMERIC PRECURSOR METHOD AND THEIR APPLICATION IN PHOTOCATALYSIS

Abstract
Photocatalysis with semiconductors has been studied in the degradation of a great variety of compounds. Among several semiconductors, the $SrTiO_3$ has some interesting characteristics for photocatalytic applications. In this work, the $SrTiO_3$ samples were synthesized by the polymer precursor method (PPM). The synthesis of $SrTiO_3$ and C_3N_4 heterostructures was performed by mixing the preformed $SrTiO_3$ phase with melamine. The obtained samples were characterized by X ray diffraction (XRD), Fourier transform infrared (FTIR), thermogravimetry (TG) and their photoactivities were evaluated by methylene blue (MB) dye degradation. The results observed in XRD and FTIR of $SrTiO_3$ samples showed the presence of the spurious phase, strontium carbonate ($SrCO_3$). In samples $SrTiO_3$-C_3N_4, the DRX and TG analyses indicated the presence of C_3N_4 only in the $SrTiO_3$-C_3N_4-85% sample. The photoactivity of the sample with 85% C_3N_4 was the highest for degradation of MB dye under visible radiation, indicating that the C_3N_4 photoactived the $SrTiO_3$.
Keywords: Photocatalysis; Semiconductors; Heterostructures.

Publicações relacionadas: Este trabalho foi apresentado no XVI Encontro da Sociedade Brasileira de Pesquisa em Materiais – SBPMat em setembro de 2017.

1 INTRODUÇÃO

A contaminação do meio ambiente vem sendo apontada como um dos maiores problemas da sociedade atualmente. Dentre as poluições ambientais ressalta-se a contaminação aos recursos hídricos. As principais contaminações que deterioram as águas são o descarte de contaminantes, por

exemplo, do uso de pesticidas na agricultura e descarte de fármacos. Recentes estudos reportam métodos de remediação como a fotocatálise heterogênea com uso de semicondutores (BYRNE *et al.*, 2015). O processo fotocatalítico consiste na incidência de radiação (hυ*)* sobre um fotocatalisador em contato com um contaminante. Durante o processo, ocorre a formação de radicais oxidantes como o radical hidroxila (•OH), que promovem a degradação de contaminantes (MOURÃO *et al.*, 2009).

Recentemente, o uso de heteroestruturas em fotocatálise tornou-se promissor. Estas se baseiam no acoplamento de diferentes semicondutores com o objetivo de formar um único material e promover um aumento de degradação fotocatalítica. Neste sentido, este trabalho relata os resultados preliminares da síntese de materiais acoplados com $SrTiO_3$ e C_3N_4 utilizando o MPP. Os principais objetivos do trabalho foram estudar as características do material com o uso de várias técnicas e avaliar suas atividades fotocatalíticas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os materiais foram sintetizados utilizando o método MPP. Inicialmente, foi verificado o efeito da relação molar Sr:Ti na formação do $SrTiO_3$ sem mistura de fases e também o efeito da temperatura de calcinação na formação dos materiais, $SrTiO_3$ e C_3N_4. A síntese dos materiais visando à obtenção de heteroestruturas de $SrTiO_3$-C_3N_4, foi feita com proporções (em massa) de 15, 50 e 85% de C_3N_4. Estas amostras foram identificadas por estas composições nominais. Os materiais precursores usados para a obtenção das resinas de titânio (Ti) e estrôncio (Sr), em concentração de aproximadamente 0,1 mol/L, foram o cloreto de estrôncio e isopropóxido de titânio. Para obtenção do C_3N_4, foi realizada a decomposição da melamina em temperatura de acordo com trabalhos anteriores e uma triagem prévia.

Na primeira fase, foi estudada a formação do $SrTiO_3$ com proporções 1:1 ou 1:2 (resina de Sr : resina de Ti) e nas temperaturas de calcinação de 600 ou 550 °C por 2 horas. A síntese das heteroestruturas foi realizada pela mistura da fase pré-formada de $SrTiO_3$ (na proporção 1:2) com a melamina para a formação de $SrTiO_3$-C_3N_4 a 550 °C por 2 horas. Estas condições foram escolhidas, pois apresentaram menores quantidades de fase espúria durante a síntese do $SrTiO_3$.

As amostras sintetizadas foram caracterizadas por difração de raios X (DRX) para investigar a formação de fase cristalina. Foi feita a análise de infravermelho de transformação de Fourier (FTIR) para investigar a composição química dos materiais obtidos. E foi também realizada termogravimetria (TG), para estudar a quantidade de C_3N_4. As atividades fotocatalíticas das amostras foram avaliadas por fotodegradação de corante azul de metileno sob radiações ultravioleta (UVC) ou visível.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As amostras obtidas foram avaliadas por DRX para investigar a formação da fase $SrTiO_3$ e observar a estrutura cristalina nos materiais, sob a influência da temperatura e proporções molares de Sr:Ti. Os difratogramas obtidos estão ilustrados na Figura 1.

Na Figura 1, as amostras ($SrTiO_3$ com 1:1 ou 1:2 em diferentes temperaturas) revelaram a presença da fase cristalina de $SrTiO_3$ de estrutura perovskita. Os picos de difração foram indexados de acordo com a ficha (PDF 35-734 do Search Match). Devido ao aparecimento de pico relativo à fase carbonato de estrôncio (*****$SrCO_3$) em 2θ em aproximadamente 27° na amostra 1:1 (Sr:Ti), foram sintetizadas as amostras de $SrTiO_3$ 1:2. Esta apresentou novamente a fase carbonato porém visivelmente menos evidente no difratograma que a proporção 1:1.

Costa (2009), em estudo de dopagem de $SrTiO_3$ com samário, relata que a presença da fase carbonato possivelmente está relacionada com interação da amostra o ar ambiente. Possivelmente, isso pode ser confirmado, pois as amostras não foram isoladas do ar atmosférico durante a síntese. Foi observado também que o excesso de Ti diminuiu a quantidade de carbonato formada sem, no entanto, resultar na formação de outras fases, como por exemplo TiO_2. Com relação à temperatura, foi observada pouca influência na fase formada. Com isso, optou-se em trabalhar na temperatura menor (550 °C) durante as sínteses visando à obtenção das heteroestruturas, principalmente, pelo fato da baixa estabilidade térmica da melamina durante a formação do C_3N_4 por condensação térmica deste precursor. Na Figura 2, são apresentados os padrões de DRX para as amostras de $SrTiO_3$, C_3N_4 e também das amostras obtidas visando a síntese das possíveis heteroestruturas com três diferentes

proporções de C_3N_4. O difratograma do $SrTiO_3$ apresentou picos intensos, que indicam o crescimento de cristais com simetria em sua estrutura.

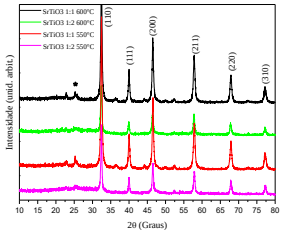


Figura 1. Padrões de DRX do $SrTiO_3$, obtido a 600 ou 550° C em diferentes proporções molares (Sr:Ti). Nota: Símbolo (*) relativo ao $SrCO_3$.

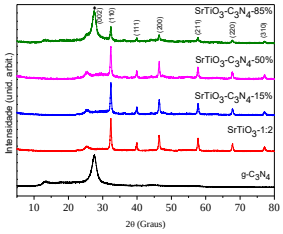


Figura 2. Padrões de DRX do $SrTiO_3$, C_3N_4, e possíveis heteroestruturas de $SrTiO_3$-C_3N_4 (15, 50 e 85%). Nota: Símbolo (♦) relativo ao plano 002 do C_3N_4.

O C_3N_4 é um semicondutor com pequeno grau de cristalinidade, exibe um pico de baixa intensidade e alargado em torno de 27°. A principal característica a ser observada na possível formação da heteroestrutura $SrTiO_3$-C_3N_4, é um pico de C_3N_4 referente ao plano (002) em torno de 27°, que pode ser identificado apenas na amostra $SrTiO_3$-C_3N_4 de composição nominal de 85% de C_3N_4. Este pico está associado ao empilhamento interplanar do C_3N_4 devido a sua estrutura com heterociclos de ligações C-N, como relata Kumar (*et al*, 2011) em estudo com g-C_3N_4/$SrTiO_3$ dopado com nitrogênio.

As figuras, a seguir, ilustram os espectros de FTIR obtidos para as amostras $SrTiO_3$ e C_3N_4, $SrTiO_3$-C_3N_4 com as proporções nominais de 15, 50 e 85%. Na Figura 3a são apresentadas, uma banda de absorção variando de 3600 a 3000 cm^{-1} de grupos hidroxilas (OH) de água, adsorvidos na superfície do material. A região de 500 a 750 cm^{-1} mostra uma banda de estiramento Ti-O, presente em titanatos. As bandas a 1500, 1100 e 850 cm^{-1} são provavelmente dos carbonatos formados durante a obtenção do $SrTiO_3$.

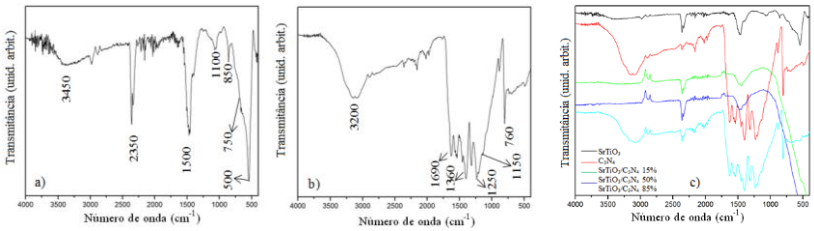


Figura 3. Espectros de absorção na região do infravermelho. a) $SrTiO_3$, b) C_3N_4 e c) $SrTiO_3$-C_3N_4 (composições nominais 15, 50 e 85%).

A Figura 3b apresenta as absorções do C_3N_4, com bandas na região de 3300 a 3000 cm^{-1} que revelam a presença de grupos OH adsorvidos na superfície do material. O máximo desta banda em aproximadamente 3200 cm^{-1} corresponde também ao estiramento da ligação N-H. As bandas intensas apresentadas em 1150 cm^{-1} e 1360 cm^{-1} são características das ligações aromáticas C-N, de acordo com tabelas de absorção na região do infravermelho descritas por Barbosa (2007). Além disso, na Figura 3c, é possível observar que apenas a amostra $SrTiO_3$-C_3N_4-85% apresentou bandas correspondentes às duas fases e também maiores quantidades de OH entre as amostras $SrTiO_3$-C_3N_4.

As Figuras 4 a) e b) mostram as curvas de fotodegradação do corante azul de metileno (AM) na presença das amostras, sob irradiação ultravioleta (UVC) ou visível (Vis), respectivamente. No teste sob radiação UVC, não se observou diferenças significativas entre as diferentes amostras sintetizadas.

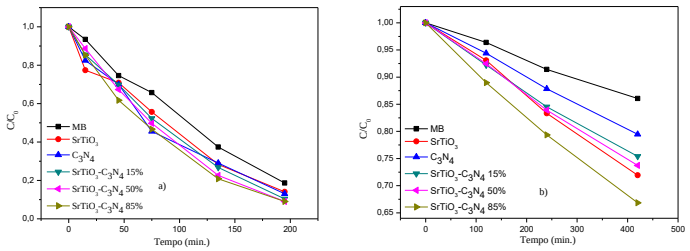


Figura 4. Curvas de fotodegradação do AM . sob irradiação UVC a) e Vis b).

Por outro lado, no teste sob radiação visível observou-se que a amostra com composição nominal de 85% de C_3N_4 apresentou maior eficiência fotocatalítica na degradação do corante. Este resultado indica que o C_3N_4 funcionou como fotoativador do $SrTiO_3$, visto que este último material não é ativo sob radiação visível. Embora sejam necessárias maiores investigações, o fato desta amostra ($SrTiO_3$-C_3N_4-85 %) apresentar eficência maior do que o C_3N_4 indica provavelmente uma interação favorável entre as duas fases, sugerindo a formação da heteroestrutura.

As amostras de $SrTiO_3$, C_3N_4 e $SrTiO_3$-C_3N_4 (de composições nominais 15, 50 e 85%) foram analisados por termogravimetria (TG), como apresentado na Figura 5. A região de perda de massa relativa ao C_3N_4 foi observada e o conteúdo de C_3N_4 foi determinado a partir das curvas termogravimétricas correspondentes. As análises de TG confirmaram a presença de C_3N_4 apenas na amostra $SrTiO_3$- C_3N_4-85% com aproximadamente 85% de C_3N_4 e 15% de $SrTiO_3$, igual à composição nominal desta amostra. O fato da quantidade de melamina influenciar na quantidade de C_3N_4 formada ainda não está totalmente esclarecido, mas possivelmente está relacionado com o grau de dispersão do precursor melamina da matriz de $SrTiO_3$. Quando a dispersão é muito grande não é possível ocorrer a condensação da melamina formando a estrutura do C_3N_4. No entanto, mais estudos são necessários para comprovar esta hipótese.

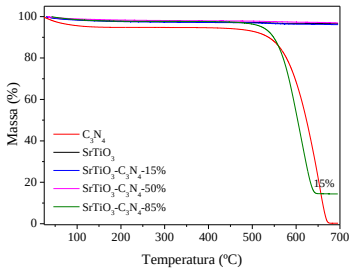


Figura 5. Curvas TG para algumas amostras sintetizadas.

4 CONCLUSÃO

Observou-se a formação de C_3N_4 além de $SrTiO_3$ apenas na amostra $SrTiO_3$- C_3N_4 - 85%. Esta amostra também apresentou o melhor desempenho fotocatalítico, especialmente sob radiação visível. Novas caracterizações serão realizadas para elucidação desse comportamento, visto que a quantidade de melamina utilizada durante a síntese apresentou forte influência na quantidade de C_3N_4 formada durante a calcinação.

AGRADECIMENTOS

À CAPES pela concessão da bolsa. Ao CNPq pelo projeto aprovado (454438/2014-1) e a Rede AgroNano.

REFERÊNCIAS

BYRNE, J. et al. A Review of Heterogeneous Photocatalysis for Water and Surface Disinfection. **Molecules,** v. 20, n. 4, p. 5574, 2015.

MOURÃO, H. A. J. L. et al. Nanoestruturas em fotocatálise: uma revisão sobre estratégias de síntese de fotocatalisadores em escala nanométrica. **Química Nova,** v. 32, p. 2181-2190, 2009.

COSTA, M. G. S. Caracterização estrutural de pós de $SrTiO_3$ puro e dopado com samário. Tese de Doutorado, Universidade Estadual Paulista, Unesp, Araraquara, 2009.

KUMAR, S. et al. Synthesis of novel and stable g-C_3N_4/N-doped $SrTiO_3$ hybrid nanocomposites with improved photocurrent and photocatalytic activity under visible light irradiation. **Dalton Transactions,** v. 43, n. 42, p. 16105-16114, 2014.

BARBOSA, L. C. A. Espectroscopia no infravermelho: na caracterização de compostos orgânicos. 1. ed. Visçosa: UFV, 2007.

O USO DE NANOPARTÍCULAS PARA A LIBERAÇÃO CONTROLADA DE SEMIOQUÍMICOS DE INSETOS E PLANTAS.

Hassemer, M.J.[1,4], Blassioli-Moraes, M.C.[1], Borges, M.[1], Laumann, R.A.[1], Bemquerer, M.[2], Rodrigues, M.[3], Costa, E.S.[5], Vaz Jr., S.[5], Magalhães, D. M[1], Michereff, M.F.F.[1]

[1]Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia-Laboratório de Semioquímicos
[2]Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia-Laboratório de Espectrometria de massas
[3]Instituto de Química-Universidade de São Paulo
[4]Universidade de Brasília – Departamento de Zoologia.
[5]Embrapa Agroenergia
E-mail:carolina.blassioli@embrapa.br

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio

Resumo
Semioquímicos de plantas e de insetos foram formulados em septos de borracha, que é o método amplamente utilizado para produtos comerciais na liberação controlada de semioquímicos. Foram formulados diferentes compostos com diferentes características físico- químicas nos septos de borrachas. Pretende-se formular esses mesmos compostos em partículas de sílica preparadas em escala nanométrica obtidas através da metodologia de sol-gel. Com o intuito de avaliar a aplicabilidade dessas partículas para liberação controlada de semioquímicos, inicialmente utilizou-se o composto *cis*-jasmona. Os resultados mostraram que os septos de borracha apresentam discriminação na liberação de compostos, dependendo da pressão de vapor dos mesmos. Compostos como os monoterpenos (*R*)-limoneno e (*E*)-ocimeno apresentaram liberação de 10 a 20 % da massa total impregnada, já compostos com maior afinidade pelo substrato e maior peso molecular como o sesquiqterpeno (*E*,*E*)-α-farneseno liberou somente 0.7% da massa total impregnada. Quando utilizou-se as nanopartículas de sílica calcinadas, a adsorção do composto foi alta, sendo menos de 1% da massa total impregnada perdida nos primeiros 12 dias de liberação. Já nas partículas de lignina essa perda em torno de 1% ocorreu nos nove dias avaliados.
Palavras-chave: feromônio, liberação controlada, lignina, sílica, septos de borracha.

NANOPARTICLES FOR CONTROLLED RELEASE OF SEMIOCHEMICALS OF INSECTS AND PLANTS.

Abstract
Semiochemicals of plants and insects have been formulated into rubber septa, which is the method widely used in commercial products for the controlled release of semiochemicals. Different compounds with different physical and chemical characteristics were formulated in order to evaluate the applicability of nanoparticles to controlled release of semiochemicals, the compound *cis*-jasmone was used as model in particles of silica and lignin. The results showed that the rubber septa present discrimination in the release of compounds depending on their vapor pressure. Compounds such as monoterpenes (*R*)-limonene and (*E*)-ocimene showed a release of 10 to 20% of the total impregnated mass, on the other hand compounds with higher affinity for the substrate and higher molecular weight as the sesquiterpene (*E*,*E*)-α-farnesene released only 0.7% of the total mass impregnated. When the calcined silica nanoparticles were used, the adsorption of *cis*-jasmone was high, with less than 1 % of the total impregnated mass being lost on the 12 days of release. In the lignin particles, this loss was also low by around 1% in the nine days evaluated.
K**eywords:** Pheromone, Release control, Lignin, Silica, Rubber septa.

1 INTRODUÇÃO

Os semioquímicos, como os feromônio sexuais dos insetos e os compostos orgânicos voláteis das plantas, vem sendo cada vez mais utilizados como ferramenta de controle no manejo integrado de pragas (MIP). Os semioquímicos são moléculas naturais, produzidas pelos organismos, que são

capazes de provocar uma mudança no comportamento ou fisiologia de outro organismo. Os semioquímicos podem ser divididos em feromônios, de ação intraespecífica, e aleloquímicos, que tem ação interespecífica (Borges e Blassioli-Moraes, 2017). Os mais conhecidos e utilizados em diferentes sistemas agrícolas são os feromônios sexuais. Por exemplo, o feromônio sexual do percevejo da soja *Euchistus heros* (Borges et al., 2011), que está sendo usado na cultura da soja e o da mariposa *Cydia pomonella*, que é usado há mais de 20 anos no MIP da cultura da maça no sul do Brasil para seu monitoramento. Os feromônios são importantes aliados no manejo das pragas, por que são específicos, não são tóxicos, são moléculas que se degradam facilmente na presença de radiação UV, reduzindo a exposição de outros organismos, e são altamente eficientes na atração de insetos. O desenvolvimento de ferramentas para aplicação de semioquímicos na natureza, para um manejo de pragas mais sustentável e menos tóxico ao homem e ao meio ambiente, é de grande interesse para a sociedade. Um dos principais gargalos do uso de feromônio no campo é a sua formulação; a eficiência dos feromônios depende das taxas de liberação que precisam mimetizar a liberação dos insetos na natureza. Para a aplicação destes feromônios, as moléculas são sintetizadas em laboratório e formuladas em substratos que farão a liberação controlada, sendo usados no geral os septos de borracha. Quando os componentes da mistura feromonal apresentam moléculas com características físico-químicas diferentes, como pressão de vapor, por exemplo, o procedimento geralmente adotado para garantir a proporção de liberação dos componentes, é formular cada componente em um septo de borracha diferente. Os sistemas existentes no mercado atual funcionam muito bem quando se trabalha com um único componente ou com misturas complexas de moléculas com características físico-químicas semelhantes, mas não apresentam bons resultados quando essas moléculas apresentam características físico-químicas distintas. Assim, se faz necessário desenvolver sistemas inteligentes capazes de controlar de forma eficiente a liberação dos compostos. Neste trabalho serão apresentados estudos de taxa de liberação de semioquímicos com diferentes características físico-químicas usando septos de borracha, bem como os trabalhos conduzidos pelo grupo usando substratos de nanopartículas de sílica e lignina para a liberação controlada de semioquímicos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Liberação controlada de semioquímicos a partir de septos de borracha.

Quatro compostos (*R*)-limoneno, *(E)*-ocimeno, (*R*)-dauceno e (*E*,*E*)-α-farneseno foram impregnados juntos em único septo ou separados, um em cada septo. Foi utilizada a seguinte quantidade de cada composto: (*R*)-limoneno 230 µg, (*E*)-ocimeno 160 µg, (*R*)-dauceno 80 µg e (*E*,*E*)-α-farneseno 230 µg. A taxa de liberação ao longo de nove dias foi avaliada usando 50 mg de adsorvente Tenax GR (Altech). O adsorvente foi eluído com hexano, concentrado a 50 µL e um padrão interno (β-cariofileno, concentração final de 0,01 mg/mL), foi adicionado à solução para análise quantitativa. Os extratos foram analisados por GC-FID e as áreas dos picos usadas para a quantificação.

Síntese das nanopartículas de sílica

As nanopartículas de sílica lamelar (NSL) foram preparadas sob agitação usando 0,13 g de brometo de hexadecil-trimetil-amônio dissolvidos em 12 mL de água, agitação por 1 min. Após esse período 1 g do composto *cis*-jasmona foi adicionado, antes da polimerização da partícula. Após 3 minutos de homogeneização foi adicionado o reagente de polimerização, 1.5 g de ortosilicato de tetraetila e após mais 3 minutos adicionou-se 2.5 mL de hidróxido de amônio. A mistura ficou sob agitação por 12 horas à temperatura ambiente. Desta reação obteve-se 668.8 mg de partícula impregnada com *cis*-jasmona. As partículas foram calcinadas antes da impregnação, para retirada de água. Cada 1 mg de partícula foi impregnada com 2 mg de *cis*-jasmona.

Taxa de liberação do *cis*-jasmona da partícula de sílica

Para avaliar a taxa de liberação foram preparados liberadores contendo aproximadamente 2 mg de partícula e os voláteis liberados da partícula foram capturados através da técnica de aeração. Os voláteis foram coletados a cada 24 horas através da coleta de voláteis em polímero adsorvente Tenax Gr (Altech) e os extratos obtidos da aeração analisados por CG-DIC para quantificação da taxa

de liberação usando o método do padrão interno (16-hexadecanolactona, concentração final de 0,01 mg/mL).

Preparo nanopartículas de lignina

A lignina (798 g/mol) foi lavada em banho de ultrassom com acetona e depois de seca foi novamente redissolvida em acetona contendo o composto *cis*-jasmona. Impregnou-se 1mg de *cis*-jasmona em 8 mg de lignina. A mistura foi deixada por 12 horas na solução, o excesso de solvente foi rotaevaporado, e o solvente restante foi evaporado por 12 horas à temperatura ambiente. Após esse período as partículas de lignina impregnadas com *cis*-jasmona foram submetidas à aeração como descrito acima e os extratos foram analisados por CG-DIC para quantificação de *cis*-jasmona sendo liberada, usando o método do padrão interno (16-hexadecanolactona, concentração final de 0,01 mg/mL).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Liberação de septos de borracha

A liberação dos compostos dos septos de borracha apresentou um perda inicial em torno de 10% da massa dos monoterpenos (*E*)-ocimeno e (*R*)-limoneno (Figura 1, Tabela 1); já para o composto (*E*,*E*)-α-farneseno a perda foi menor que 1%. Isso foi observado tanto quando os compostos foram impregnados juntos em um único septo (Tabela 2), quanto individualmente em septos separados (Tabela 1). Os sesquiterpenos (*E*,*E*)-α-farneseno e **(*R*)-dauceno** têm cinco carbonos a mais que os monorterpenos e apresentam menor pressão de vapor e maior afinidade pelo material do substrato. Estes compostos foram liberados de forma mais lenta e uniforme ao longo dos nove dias avaliados do que os dois monoterpenos, tanto nos septos impregnados com compostos individualmente (Figura 2), como quando foram impregnados juntos (Figura 3).

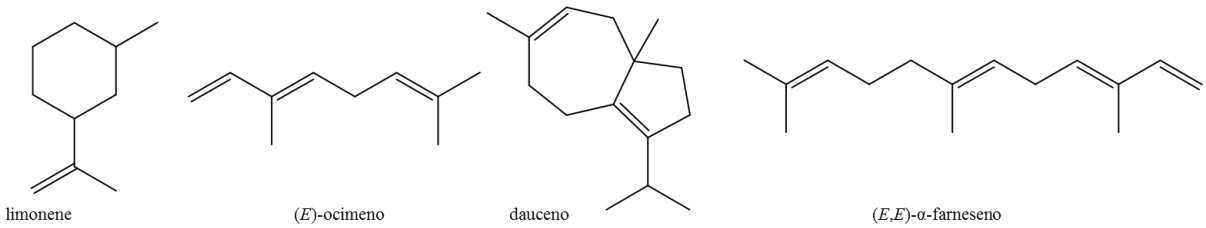


Figura1. Estrutura química dos quatro compostos impregnados nos septos de borracha.

Tabela 1. Taxa de liberação de 4 semioquímicos impregnados individualmente em septo de borracha

Compostos	Quantidade µg	Dia 1	Dia 2	Dia 3
(*R*)-limoneno	230	9.82 ± 1.15a*	8.10 ± 0.63ab	6.83 ± 0.75b
(*E*)-ocimeno	160	10.07 ± 0.74a	7.26 ± 0.27b	5.94 ± 0.61b
(*R*)-dauceno	80	1.63 ± 0.08a	1.31 ± 0.07ab	1.18 ± 0.12b
(*E*,*E*)-α-farneseno	230	0.37 ± 0.24a	0.81 ± 0.19a	0.51 ± 0.29a

Tabela 2. Taxa de liberação de 4 semioquímicos impregnados juntos em septo de borracha

Compostos	Quantidade µg	Dia 1	Dia 2	Dia 3
(*R*)-limoneno	230	10.54 ± 0.87a	9.51 ± 1.04ab	6.66 ± 0.47b
(*E*)-ocimeno	160	9.59 0.75a	7.11 ± 0.78ab	4.90 ± 0.33b
(*R*)-dauceno	80	1.89 ± 0.09a	1.59 ± 0.22a	1.31 ± 0.08a
(*E*,*E*)-α-farneseno	230	1.86 ± 0.41a	1.13 ± 0.09a	1.33 ± 0.22a

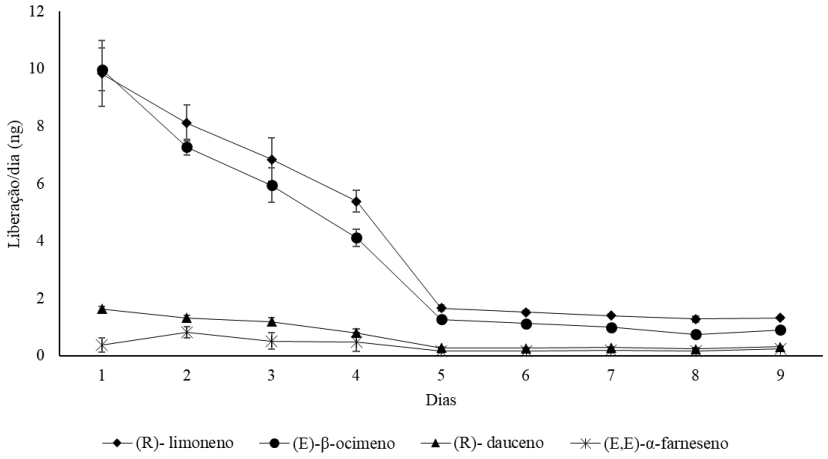


Figura 2. Taxa de liberação de semioquímicos (µg/dia) impregnados individualmente em septo de borracha ao longo de nove dias.

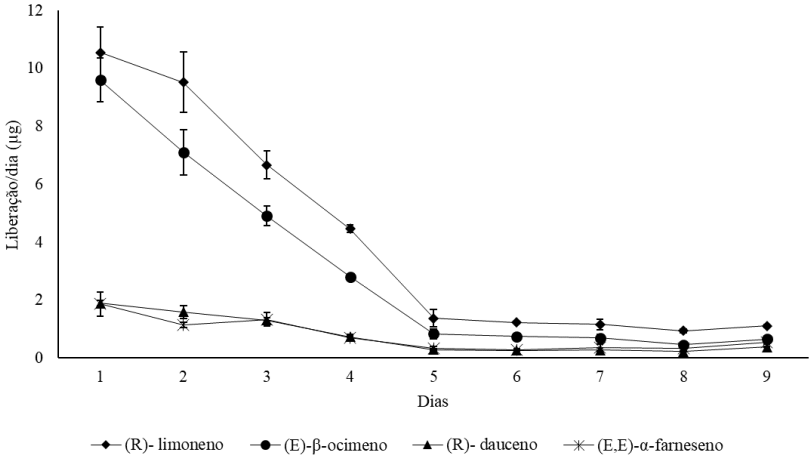


Figura 3. Taxa de liberação de semioquímicos (µg/dia) impregnados juntos em septo de borracha ao longo de nove dias.

3.2 Nanopartículas de sílica

A taxa de liberação das partículas foi avaliada ao longo de 23 dias consecutivos, o composto *cis*-jasmona foi identificado em todos os extratos. Nos quatro primeiros dias de coleta a quantidade média liberada foi alta (Figura 4) mostrando um decaimento exponencial até o vigésimo terceiro dia. A liberação foi lenta com perda de menos de 1 % de todo material impregnado nos primeiros 15 dias.

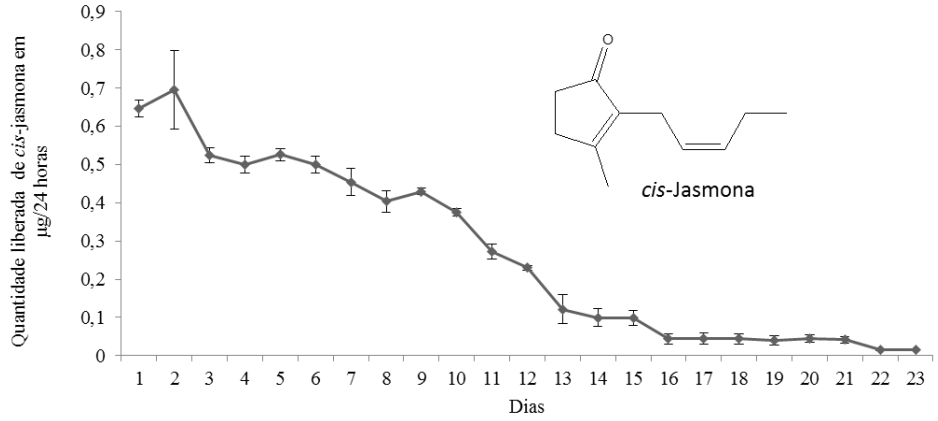


Figura 4. Taxa de liberação em mg/24 horas do *cis*-jasmona da partícula de sílica, ao longo dos 23 dias avaliados.

3.3 Nanopartículas de lignina

A taxa de liberação das partículas foi avaliada ao longo de 10 dias consecutivos, o composto *cis*-jasmona foi identificado em todos os extratos. Nos quatro primeiros dias de coleta a quantidade média liberada foi em torno de 1% massa total (Figura 5) mostrando um decaimento exponencial e uniforme até o décimo dia.

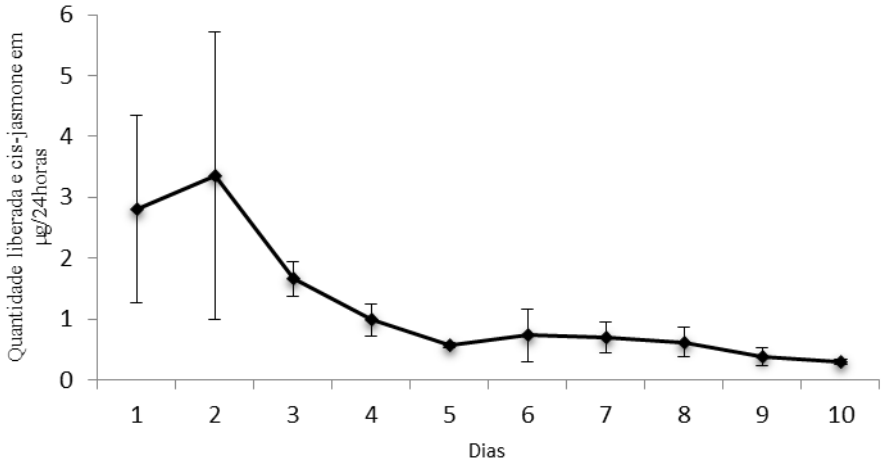


Figura 5. Taxa de liberação em mg/24 horas do *cis*-jasmona da partícula de lignina ao longo dos 10 dias avaliados

4 CONCLUSÃO

As nanopartículas de lignina mostraram um comportamento de liberação do composto contínuo e uniforme e com menor perda inicial do material impregnado quando comparado aos septos de borracha e às partículas de sílica. Novos compostos e misturas complexas serão testadas para avaliar a viabilidade da lignina para liberação controlada de semioquímicos. As partículas de sílica calcinadas também mostraram uma liberação lenta dos semioquímicos, com perda uniforme ao longo dos dias avaliados. Comparando as duas nanopartículas, estas mostraram ser bem mais eficiente do que o septo de borracha, apresentando uma liberação mais lenta do composto. Nos septos de borracha a perda de material nos primeiros dias ocorre provavelmente devido a não adsorção ao substrato.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq, Finep, Capes e Projeto MP1 Rede Agronano – Embrapa. Bolsa de doutorado da CAPES para Marla Juliane Hassemer, e CAPES_EMBRAPA para Eveline Costa.

REFERÊNCIAS

BORGES, M.; M. C. B. MORAES; M. F. PEIXOTO; C. S. S. PIRES; E. R. SUJII; R. A. LAUMANN. Monitoring the Neotropical brown stink bug *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae) with Pheromone baited traps in soybean fields. Journal of Applied Entomology 135: 68-80, 2011.

BLASSIOLI-MORAES, M. C. M. BORGES, R. A. LAUMANN. The application of chemical cues in arthropod pest management for arable crops, pp. 225-244. *In* E. Wajnberg and S. Colazza (Eds.), Chemical Ecology of Insect Parasitoids. Wiley-Blackwell, UK. 2013, p 225-239.

BORGES M. e BLASSIOLI-MORAES, M.C. Semiochemicstry of stink bugs in Stink Bugs Biorational control based on communication processes A. Cokl and M.Borges0 Eds.. CRC Press. 2017 . p. 95-124

LIBERAÇÃO CONTROLADA DE UREIA PROVENIENTE DE NANOCOMPÓSITOS REDUZ A VOLATILIZAÇÃO DE AMÔNIA E AUMENTA A EFICIÊNCIA DO USO DE NITROGÊNIO PELA PLANTA

Gelton G. F. Guimarães*[c], Elaine I. Pereira[a], Ana Rita A. Nogueira[a], Camila C. T. Cruz[b,c], Milene M. Foschini[c], Alberto C. C. Bernardi[a], Caue Ribeiro*[c]

*[a] Embrapa Pecuária Sudeste, Rodovia Washington Luiz, km 234, 13560-970, São Carlos, SP. [b]Universidade Federal de São Carlos, Departamento de Química, Rodovia Washington Luiz, km 235, 13565-905, São Carlos, SP. [c]Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro 1452, 13560-970, São Carlos, SP. *geltongfg@gmail.com; *caue.ribeiro@embrapa.br*

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio

Resumo

A rápida hidrólise da ureia aplicada à superfície do solo provoca altas taxas de volatilização de NH_3, levando a impactos ambientais adversos e à diminuição da absorção de N pelas culturas. Uma abordagem que pode ser usada para melhorar a eficiência do uso de ureia envolve estratégias para controlar sua liberação. Assim, propomos uma nova classe de fertilizantes nanocompósitos, baseados na esfoliação de argila em matrizes de ureia, com ou sem polimerização usando formaldeído para controlar a liberação de ureia. Um estudo comparativo foi realizado utilizando vários fertilizantes de liberação lenta, determinando as quantidades de amônia volatilizada, produção de matéria seca e eficiência da absorção de ureia-N por Azevém, em um ensaio realizado em casa de vegetação. Pode-se concluir que a liberação controlada de ureia dos nanocompósitos diminuiu a volatilização do NH_3, resultando em uma disponibilidade de N mais constante no solo e uma melhor sincronização com as demandas nutricionais das plantas. Os novos fertilizantes oferecem uma opção prática para aumentar a eficiência do N-ureia, reduzindo os impactos ambientais causados pela perda de NH_3 e melhorando a qualidade da forragem cultivada.

Palavras-chave: Fertilizante N; Volatilização de NH_3; Absorção de N; Ureia-paraformaldeído

CONTROLLED UREA RELEASE FROM NANOCOMPOSITES REDUCES AMMONIA VOLATILIZATION AND INCREASES THE EFFICIENCY OF NITROGEN USE BY PLANT

Abstract

The rapid hydrolysis of urea applied to the soil surface causes high rates of NH_3 volatilization, leading to adverse environmental impacts and decreased uptake of N by crops. One approach that can be used to improve the efficiency of urea use involves strategies to control its release. Thus, propose a novel class of nanocomposite fertilizers, based on clay exfoliation in urea matrices, with or without polymerization using formaldehyde to control urea release. A comparative study was performed using various slow-release fertilizers, determining the amounts of volatilized ammonia, dry matter production, and efficiency of urea-N uptake by ryegrass, in a trial carried out in a greenhouse. It could be concluded that the controlled release of urea from the nanocomposites decreased NH_3 volatilization, resulting in a more constant N availability in the soil and better synchronization with the nutritional demands of the plants. The new fertilizers offer a practical option for increasing urea-N efficiency, reducing environmental impacts caused by NH_3 loss, and improving the quality of forage grown.

Keywords: N fertilizer; NH_3volatilization; N uptake; Urea-paraformaldehyde

Publicações relacionadas: Elaine I. Pereira, Ana Rita A. Nogueira, Camila C. T. da Cruz, Gelton G. F. Guimarães, Milene M. Foschini, Alberto C. C. Bernardi, and Caue Ribeiro *Controlled urea release employing nanocomposites increases the efficiency of nitrogen use by forage* ACS Sustainable Chemistry & Engineering DOI: 10.1021/acssuschemeng.7b01919.

1. INTRODUÇÃO

Ureia é o fertilizante nitrogenado mais utilizado na agricultura brasileira. Porém, esse fertilizante apresenta baixa eficiência agronômica quando aplicada a superfície do solo, devido sua rápida hidrólise que favorece a perda de N por volatilização de NH_3 (ZHAO et al., 2009).

As perdas de N-NH_3 proveniente da ureia estão relacionadas a propriedades do solo (ABALOS et al., 2014), condições meteorológicas e o tipo de fertilizante (FAOSTAT, 2014). Dentre esses fatores relacionados, apenas o tipo de fertilizante pode ser facilmente modificado e vários estudos descreveram os impactos agronômicos de novas fontes de N de liberação lenta ou controlada (GUAN et al., 2014). Os produtos mais comuns empregam revestimentos poliméricos em grânulos de ureia, para evitar a rápida dissolução (LYU et al., 2015). No entanto, esses trabalhos não discutem o papel das propriedades dos materiais em relação aos aspectos agronômico e ambiental.

Nosso grupo de pesquisa propôs recentemente uma nova classe de fertilizantes de nanocompósitos à base de esfoliação de argila em matrizes de ureia, com ou sem polimerização com formaldeído ou mistura com hidrogéis (PEREIRA et al., 2012). Portanto, o presente trabalho apresenta uma avaliação comparativa de um conjunto de diferentes fertilizantes de liberação lenta, com determinação das quantidades de NH_3 volatilizada, produção de matéria seca e eficiência da absorção de N-ureia por Azevém, em um ensaio realizado em ambiente controlado.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Processamento dos nanocompósitos

Os nanocompósitos-fertilizantes foram processados como descrito por Pereira et al. (2012). Em resumo, os materiais foram preparados por pré-mistura dos componentes, seguidos pela passagem através de uma extrusora de duplo parafuso (ZSK 18, Coperion, Alemanha). Após a extrusão, as amostras foram secas à temperatura ambiente, exceto as que continham paraformaldeído, que foram secas e curadas a 80 °C. A composição (% em peso ou razão molar) e as nomenclaturas utilizadas para identificar os compósitos são mostradas na Tabela 1.

Tabela 1. Composição (% em massa ou razão molar) e nomenclatura utilizada para identificar os compósitos. MMT - argila montmorilonita; Ur - ureia; HG - hidrogel de poliacrilamida; Pf – paraformaldeído

Nomenclatura	MMT (%)	Ur (%)	HG (%)	Pf (razão molar)	N (%)
Ur	---	100,0	---	---	45,0
MU 1:4	20,0	80,0	---	---	34,8
MUHG 1:4/2	19,6	78,4	1,96	---	32,8
MUPf 1:4/0,5	20,0	80,0	---	0,5	30,3
MUPf 1:1/0,5	50,0	50,0	---	0,5	19,5
MUPf 1:1/1	50,0	50,0	---	1,0	21,8
***CCRF**	---	---	---	---	36,9

*Commercial controlled release fertilizer (CCRF) consisting of 36,9 % N and 16% S, coated with 3% vegetable polymer, were used in comparative fertilization experiment.

2.2 Volatilização de amônia, produção de matéria seca e eficiência de absorção de N

O experimento foi desenvolvido em casa de vegetação, utilizando um Latossolo com baixa teor de matéria orgânica, coletado na profundidade de 0 a 20 cm de um local de pastagem. O experimento foi disposto em delineamento em blocos casualizados com quatro repetições, totalizando 36 vasos preenchidos com 2,5 kg de solo com prévia correção de acidez. Antes do plantio do Azevém (*Lolium multiflorum Lam.*) o solo foi fertilizado com a incorporação de 1250 mg de vaso^{-1} de P como superfosfato simples e 300 mg de vaso^{-1} de K como cloreto de potássio. A umidade do solo foi ajustada a 80% de sua capacidade de retenção de água e foi mantida constante com regas diárias,

sempre que necessário. A adubação nitrogenada foi realizada uma semana após o plantio com aplicação de ~ 980 mg de N $vaso^{-1}$.

A volatilização de amônia foi avaliada 1, 2, 3, 4, 5, 7, 10, 13, 16, 19, 21, e 26 dias após a aplicação dos fertilizantes nitrogenados ao solo, como descrito por Alves et al. (2011). Após o período de avaliação da volatilização NH_3 o Azevém foi cortado aos 70 dias após o plantio e outros 3 cortes foram realizados em intervalos de 34 dias após o primeiro, para medir a produção de matéria seca e a eficiência de absorção de N. A concentração do N na matéria seca foi determinada por análise elementar (CHN), e a absorção total de N foi calculada a partir do teor de matéria seca (MS, em mg) e do teor de N da parte aérea da planta (%).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Diferenças na dinâmica da volatilização do NH_3 foram observadas neste experimento (Figura 1), diferenciando os compósitos da ureia convencional e do CCRF. A cinética de volatilização de NH_3 e a quantidade volatilizada foram diferentes para cada fertilizante-compósito. No entanto, os compósitos preparados com paraformaldeído apresentaram menor perda de N, em comparação a ureia. Os compósitos MUPf 1:4/0.5, MUPf 1:1/0.5, MUPf 1:1/1 e CCRF mostraram comportamento de liberação controlada, demonstrado indiretamente pelos perfis de volatilização do NH_3, que foram caracterizados por menores taxas em relação a ureia e aos compósitos MU 1:4 e MUHG 1:4/2 durante o período de avaliação.

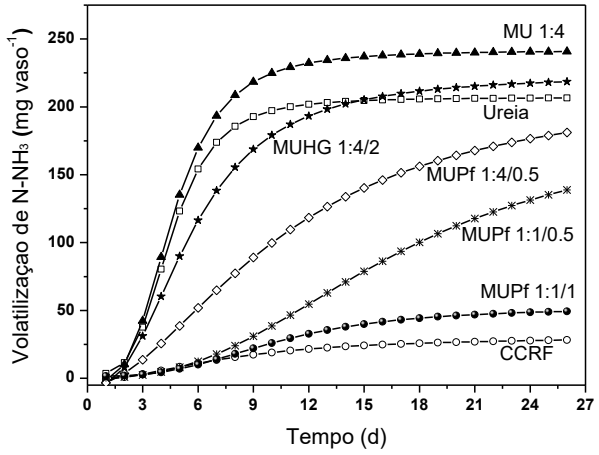


Figura 1. Volatilização de N-NH_3 acumulado para cada fertilizante-compósitos durante o período de incubação de 26 dias.

A Tabela 2 apresenta a volatilização total de NH_3, produção acumulada de MS, absorção total de N e recuperação aparente de N (RAN) referente à soma dos quatros cortes do Azevém. A ureia, MU 1:4 e MUHG 1:4/2 apresentaram volatilização de NH_3 superior a 20% do N total aplicado. A incorporação de montmorilonita e hidrogel a ureia (MU e MUHG) não reduziu a perda de N, apesar do compósito MUHG 1 4/2 apresentar um atraso significativo na volatilização de NH_3, em relação a ureia e ao MU 1:4. Em contraste, a incorporação de paraformaldeído (Pf) reduziu as perdas em até 4,3 vezes em comparação a ureia (Tabela 2).

O baixo teor de N natural do solo proporcionou uma menor produção acumulada de MS observado no tratamento controle (sem aplicação de N). Para todos os tratamentos, a produção de MS foi semelhante à obtida utilizando ureia e NH_4NO_3, com exceção dos tratamentos MUPf 1:4/0,5 e MUPf 1:1/0,5. Estes tratamentos apresentaram maior rendimento de MS e maior absorção de N, que excederam os valores obtidos por ureia e CCRF, porém, foram semelhantes às obtidas por NH_4NO_3. Em contraste, os compósitos MU 1:4 e MUHG 1: 4/2 apresentaram acúmulo de MS e absorção de N semelhantes ao observado com o uso de ureia ou CCRF. Portanto, em relação à recuperação aparente de N (RAN), o fertilizante NH_4NO_3 e os compósitos MUPf 1:4/0.5 e MUPf 1:1/0.5 foram superiores às outras fontes de N.

Tabela 2. Volatilização de NH_3 acumulada (N-NH_3) e produção de matéria seca acumulada (MS), absorção total de N e recuperação aparente de N (RAN) referente a soma dos quatro cortes do Azevém

Tratamentos	*N-NH_3 (mg vaso^{-1})	*MS (g vaso^{-1})	*Absorção de N (mg vaso^{-1})	**RAN (mg mg^{-1})
Solo (controle)	---	7,7 (1,11) A	111,5 (22,27) A	---
Ureia	208,2 CD	16,2 (1,43) B	402,3 (39,78) B	0,303 (0,41) A
NH_4NO_3	---	18,7 (3,19) BC	512,3 (84,84) C	0,417 (0,08) B
CCRF	28,6 A	21,3 (2,94) CD	367,8 (53,84) B	0,267 (0,05) A
MU 1:4	242,4 E	16,6 (3,30) B	403,9 (48,94) B	0,304 (0,05) A
MUHG 1:4/2	222,4 DE	17,6 (2,65) BC	400,1 (40,49) B	0,300 (0,04) A
MUPf 1:4/0.5	180,2 C	24,8 (1,81) D	576,6 (30,11) C	0,484 (0,03) B
MUPf 1:1/0.5	143,5 B	24,6 (1,81) D	507,3 (34,24) C	0,412 (0,03) B
MUPf 1:1/1	48,4 A	18,4 (2,51) BC	430,0 (53,96) C	0,331 (0,05) A

*Valores acumulados; ** RE = eficiência de recuperação. Os valores entre parênteses são os desvios-padrão. Os valores dentro de uma coluna seguida pela mesma letra não diferem significativamente (teste Duncan, p <0,05).

A baixa eficiência de recuperação de N pelo Azevém provavelmente está relacionada às altas perdas de N pela volatilização de NH_3, que excederam 20% para o uso de ureia, MU 1:4 e MUHG 1:4/2 (Tabela 2). Já a baixa eficiência obtida com o fertilizante CCRF e o composto MUPf 1:1/1 podem estar relacionadas à incompleta liberação de N durante o período experimental. Por outro lado, o fertilizante NH_4NO_3 e os compósitos MUPf 1:4/0,5 e MUPf 1:1/0,5 apresentaram maiores valores de RAN, variando de 41 a 48%. A maior RAN destes compósitos indica o potencial benefício do uso desses materiais para melhorar a produção e qualidade nutricional da forragem.

4 CONCLUSÃO

Nanocompósitos baseados na polimerização entre o paraformaldeído-ureia e processados por extrusão com montmorillonita apresenta-se como uma estratégia prática para aumentar a eficiência da ureia, reduzindo os impactos ambientais causados pelas perdas de N-NH_3 e melhorando a qualidade nutricional das culturas forrageiras cultivadas em solos de baixa fertilidade.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio das agências brasileiras de financiamento CNPq, CAPES, FINEP, FAPESP (concessões nº 2016/09343-6 e nº 2015/14488-0), a rede de pesquisa Embrapa AgroNano, SISNANO / MCTI e FINEP.

REFERÊNCIAS

ZHAO, X. et al. Nitrogen fate and environmental consequence in paddy soil under rice–wheat rotation in the Taihu lake region, Plant Soil, 319, 225-234, 2009.

TABATABAI, M. A.; BREMNER, J. M. Assay of urease activity in soils. Soil Biology & Biochemistry, 4, 479-487, 1972.

Faostat. Agriculture Environmental Indicators, Air and Climate Change. Disponível em: http://data.fao.org/dataset-data-filter?entryId=f25df775-e5da-4170-bc16-ef4ec030144f&tab=data. Acesso em: 12 mar. 2014.

GUAN, Y. et al. Increased maize yield using slow-release attapulgite-coated fertilizers. Agronomy for Sustainable Development, 34, 657-665. 2014.

LYU, et al. Polymer-coated tablet urea improved rice yield and nitrogen use efficiency, Agronomy Journal 107, 1837-1844, 2015.

PEREIRA, E. I. et al. Urea-montmorillonite-extruded nanocomposites: A novel slow-release material, J Agr Food Chem, 60, 5267-5272, 2012.

RECOBRIMENTO DE FERTILIZANTES: UMA ESTRATÉGIA PARA A VEICULAÇÃO E LIBERAÇÃO CONTROLADA DE NUTRIENTES.

Fábio Plotegher [1]; Ricardo Bortoletto-Santos[2]; Vanderlei Roncato[2]; Rafaela Ferraz Majaron[3]; Vinícius Ferraz Majaron[3]; Wagner Luiz Polito[2] e Caue Ribeiro[1].

1 - Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro 1452, São Carlos, SP, CEP: 13560-970, Brasil. E-mail: fabioplotegher@yahoo.com.br
2 - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, Campus de São Carlos, Avenida Trabalhador São-Carlense, 400, Arnold Schimidt, São Carlos – SP, CEP: 13566-590, Brasil.
3 - Universidade Federal de São Carlos, Departamento de Química, Rodovia Washington Luiz, km 235, São Carlos - SP, CEP: 13565-905, Brasil.

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio.

Resumo:
O Brasil é um dos maiores produtores de alimentos do mundo. Um dos principais fatores para o crescimento da produtividade foi uma maior e melhor fertilização dos solos. A maioria dos fertilizantes empregados são modelos voltados para solos de clima temperado, apresentando alta solubilidade e ocasionando grandes perdas dos nutrientes aplicados. O uso da estratégia de recobrimento vem para auxiliar tanto na veiculação como no controle da liberação desses nutrientes. Assim, esse trabalho propôs o recobrimento de grânulos de MAP comercial por uma suspensão de ZnO e outra de zeínas. Os resultados mostraram que a estratégia de recobrimento foi bastante eficiente para ambos os propósitos.
Palavras-chave: Fosfato, MAP, Zinco, Suspensão.

FERTILIZER COATING: A STRATEGY FOR VEHICULATION AND CONTROLLED RELEASE OF NUTRIENTS.

Abstract:
Brazil is one of the largest food producers in the world. One of the main factors for productivity growth was greater and better soil fertilization. Most of the fertilizers used are models oriented to temperate soils, presenting high solubility and causing great losses of applied nutrients. The use of the coating strategy comes to assist in both the delivery and the control of the release of these nutrients. Thus, this work proposed the coating of commercial MAP granules by a suspension of ZnO and another of zeins. The results showed that the coating strategy was quite efficient for both purposes.
Keywords: Phosphate, MAP, Zinc, Suspension.

1 INTRODUÇÃO

O Brasil figura entre os maiores produtores em muitas culturas de interesse. A agroindústria brasileira tem apresentado um crescimento contínuo e a alta na produtividade das lavouras é reflexo de uma maior e melhor fertilização dos solos (FAO, 2004 e CONAB, 2017). Os fertilizantes são adubos sintéticos ou naturais que disponibilizam os elementos vitais para o desenvolvimento das plantas. São classificados, em macro e micronutrientes, dependendo da exigência pelas plantas. O macronutriente fósforo é menos exigido pelas plantas, comparado a N e K, porém, é um dos principais limitadores da produtividade em solos pobres em matéria orgânica. Embora menos exigidos, os micronutrientes são indispensáveis para que a planta possa fechar o seu ciclo vegetativo(MALAVOLTA, 1981; MARSCHNER, 1995; ISHERWOOD, 2000 E SOUSA E LOBATO, 2004). A fertilização em países tropicais é um desafio pois, os fertilizantes são muito solúveis ocasionando perdas significativas. Nos últimos anos os fertilizantes inteligentes de ação controlada (TRENKEL, 2010), vem ganhando espaço tanto na pesquisa quanto no mercado. Sendo assim, o objetivo desse trabalho estudar o recobrimento de fertilizantes comerciais por suspensões de micronutrientes e zeínas, visando a veiculação de Macro e Micronutrientes em um só grânulo além da liberação controlada dos nutrientes.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Utilizando-se de uma drageadeira laboratorial com capacidade de 1 kg, 30 rpm e fluxo de ar quente (80 ^{o}C) (BORTOLETTO E RIBEIRO, 2016), os grânulos de fertilizante fosfatado comercial monofosfato de amônio (MAP da Adubos Vera Cruz) foram recobertos com 3% em massa de uma suspensão rica em óxido de zinco (ZnO NA da Votorantim Metais). Após a secagem, os grânulos foram novamente recobertos, agora por uma camada de zeínas (Sigma-Aldrich) a 2.5, 5, 7.5 e 10% (Tabela 1) em massa e secas por fluxo de ar quente.

Os grânulos foram caracterizados por Microtomografia de Raios X (Micro CT), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e testes de solubilidade em ácido cítrico 2%, com determinações quantitativas de fósforo por método colorimétrico seguindo metodologia proposta por Murphy e Riley, 1962 (PAI; YANG, 1990 e PLOTEGHER; RIBERIO 2016) e regulamentada pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – MAPA (MAPA, 2013) de zinco por espectroscopia de absorção de chama (FAAS).

Tabela 1. Composição e nomenclatura das amostras.

Composição	Nomenclatura	Composição	Nomenclatura
MAP sem recobrimento	MAP 0	MAP + ZnO + 5% Zeína	MAP 3
MAP + ZnO	MAP 1	MAP + ZnO + 7,5% Zeína	MAP 4
MAP + ZnO + 2,5% Zeína	MAP 2	MAP + ZnO + 10% Zeína	MAP 5

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 apresenta os resultados das caracterizações de Micro CT dos grânulos antes e após os recobrimentos. É possível observar o contorno de coloração branca mais intensa nas bordas dos grânulos das amostras MAP 1 e MAP 5, isto é decorrente da resistência a passagem dos raios X pela camada de óxido de zinco aplicada sob o grânulo, o mesmo não pôde ser observado na amostra MAP 0. Sendo as zeínas formadas por compostos orgânicos, sua resistência aos raios X é baixa, logo não se pode observar o contraste nas imagens de Micro CT, porém, na imagem de MEV (Figura 2) pode-se observar que houve de fato o recobrimento do grânulo por ambos os materiais. Com destaque em amarelo para a camada de zeínas, em azul para a camada de ZnO e em verde o grânulo de MAP.

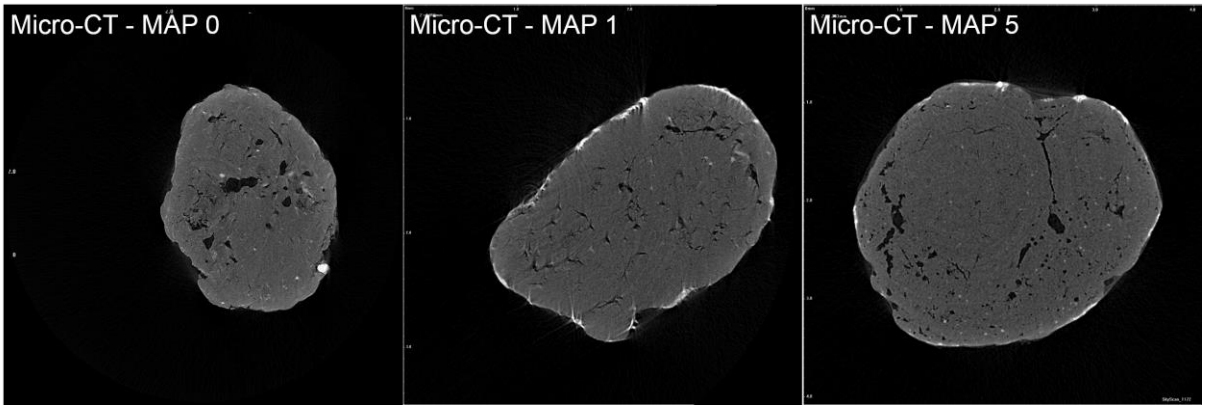


Figura 1: Micro CT das secções transversais dos grânulos de fertilizante.

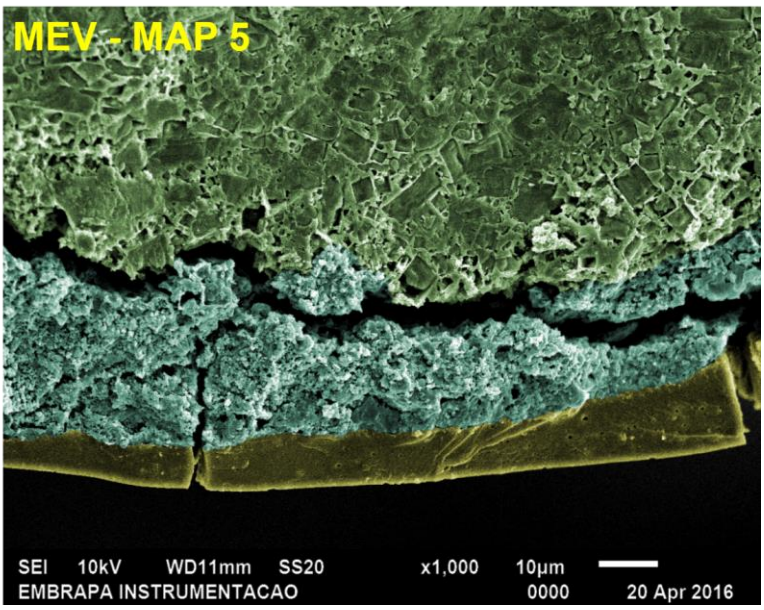


Figura 2: MEV da secção transversal de um grânulo da amostra MAP5.

A Figura 3 mostra os resultados para os ensaios de solubilidade em ácido cítrico para todas as amostras. Esse ensaio é bastante agressivo, principalmente em se tratando de um composto salino como o MAP. No entanto, as curvas obtidas mostraram que houve retardo na liberação tanto para o fósforo quanto para solubilização do óxido de zinco, composto de baixíssima solubilidade em água pura, ou seja, o aumento da espessura da camada de zeínas fez o papel de controle na liberação dos nutrientes.

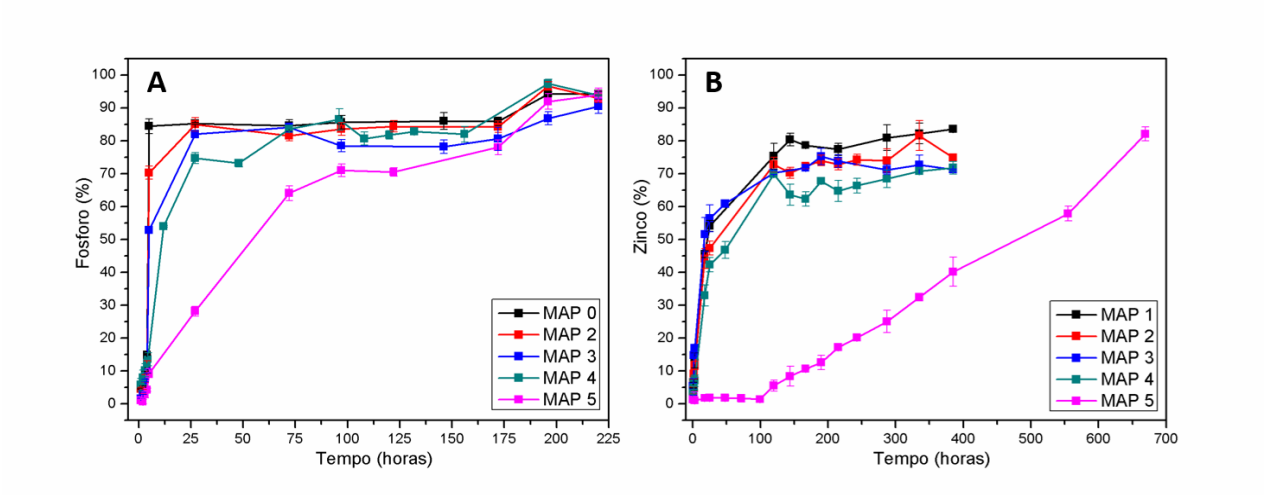


Figura 3: A – Liberação de fósforo e B – Liberação de Zinco, ambos em Ac. Cítrico 2%.

4 CONCLUSÃO

Esse estudo mostrou que é possível o recobrimento de fertilizantes convencionais por suspensões ricas em micronutrientes para um melhor manejo e veiculação do nutriente na lavoura. Além desse fator o recobrimento com zeínas se mostrou bastante promissor no sentido de retardar a liberação imediata dos nutrientes contido no grânulo de fertilizante.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio financeiro dado pela FAPESP (processos 2015/17588-6, 2016/15482-9), CAPES, CNPq, SISNANO / MCTI, FINEP e Embrapa AgroNano.

REFERÊNCIAS

BORTOLETTO, S, RICARDO .et al. Controlled release of nitrogen-source fertilizers by natural oil based poly(urethane) coatings: The kinetic aspects of urea release. Journal of Applied Polymer Science. v. 133, p.43790, 2016.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento, Séries históricas. [2017]. Disponível em: < http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/17_09_13_16_13_13_brasilprodutoseriehist.xls >. Acesso em: Set. 2017.

FAO. Fertilizer use by crop in Brazil. FAO - Food and Agriculture Organization Of The United Nations, Roma, 2004.

ISHERWOOD, K. F. Mineral Fertilizer use and the Environment, Rev. ed. Paris, IFA – International Fertilizer Industry Association, 2000.

MALAVOLTA, E. Manual de química agrícola: adubos e adubação. 3.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1981. 596p.

MAPA – Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, Manual de Métodos Analíticos Oficiais Para Fertilizantes e Corretivos. Brasília, 2013, 148 p.

MARSCHNER, H. Mineral Nutrition of higher plants. 2a ed. Londres, Academic Press, 1995.

MURPHY, J.; RILEY, J. P.; A Modified Single Solution Method For The Determination Of Phosphate In Natural Waters. Analytica Chimica Acta, 1962, 27, 31-36.

PAI, S. C.; YANG, C. C. Effects of acidity and molybdate concentration on the kinetics of the formation of the phosphoantimonylmolybdenum blue complex. Analytica Chimica Acta, v. 229, p. 115, 1990.

PLOTEGHER, F.; RIBEIRO, C. Characterization of single super-phosphate powders - A study of milling effects on solubilization kinetics. Mater. Res. 2016, 19 (1), 98−105.

SOUSA, D. M. G.; LOBATO, E.; Cerrado – Correção do solo e adubação. 2ª ed. Brasília, EMBRAPA, 2004.

TRENKEL, M. E. Slow- and Controlled-Release and Stabilized Fertilizers: An Option for Enhancing Nutrients Use Efficiency in Agriculture, 2nd ed.; International Fertilizer Industry Association (IFA): Paris, France, 2010; pp 159.

CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL E HIDROFILICAS DE HIDROGÉIS NANOESTRUTURADOS CONTENDO NANOARGILA PARA APLICAÇÃO NA AGRICULTURA

Uilian G. Yonezawa*, Marcia R. de Moura, Fauze A. Aouada

*UNESP – Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Grupo de Compósitos e Nanocompósitos Híbridos (GCNH), Departamento de Física e Química (DFQ), Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais, Faculdade de Engenharia da Unesp de Ilha Solteira (FEIS), Ilha Solteira, SP, Brasil. *e-mail: uilianyonezawa@gmail.com*

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio.

Resumo
No presente trabalho, foram sintetizados nanocompósitos a base de acrilamida, carboximetilcelulose e nanoargila cloisita-Na^+ via polimerização radical livre. As análises físico-químicas foram investigadas por meio de medidas de grau de intumescimento, perda de água e difração de raios-x. Os resultados demonstraram que a nanoargila influencia diretamente nas propriedades hidrofílicas e cinéticas, o que está diretamente ligada à intercalação das plaquetas da nanoargila com a matriz polimérica. Os nanocompósitos analisados evidenciam ser um produto promissor para a aplicação na agricultura.
Palavras-chave: Hidrogel; Nanocompósito; Grau de intumescimento; Nanoargila.

STRUCTURAL AND HYDROPHILIC CHARACTERIZATION OF NANOESTRUTURED HYDROGELS CONTAINING NANOCLAY FOR APPLICATION IN AGRICLTURE

Abstract
In this work, nanocomposites based on acrylamide, carboxymethylcellulose and cloisite-Na^+ nanoclay were synthesized via free radical polymerization. The physico-chemical properties were investigated by degree of swelling, water loss and x-ray diffraction. The results demonstrated that the nanoclay directly influences the hydrophilic and kinetic properties, which is directly linked to the intercalation of the nanoargila platelets with the polymer matrix. The nanocomposites synthesized prove to be a promising product for application in agriculture.
Keywords: Hydrogel; Nanocomposite; Degree of swelling; Nanoclay.

Publicações relacionadas: Apresentado parcial em forma de pôster no III Encontro de Pesquisadores em Ciência e Engenharia de Materiais; Apresentado parcial em forma de pôster no XV Brazil MRS Meeting.

1. INTRODUÇÃO

A busca por produções com qualidade no setor agronômico é cada vez mais crescente. Diversas pesquisas referentes à aplicação de hidrogel biodegradável para fins agrícolas mostram que o produto pode ser promissor desde que seja aplicado de maneira correta, pois melhora a disponibilidade de água e agroquímicos, minimiza o custo e a contaminação ambiental, melhora a aeração e drenagem do solo. Todos esses fatores resultam no desenvolvimento do sistema radicular e da parte aérea das plantas. (AOUADA, 2009; MAZIAD et al., 2016). Os hidrogéis são materiais poliméricos formados por redes tridimensionais, hidrofílicas, capazes de absorver e reter grandes quantidades de água. Esta característica depende dos grupos hidrofílicos, pH, intensidade iônica, temperatura e composição de solvente (CHAUHAN, 2015). A fim de melhorar certas propriedades do hidrogel, tem-se incorporado na matriz polimérica polímeros naturais, permitindo assim, maior hidrofilicidade, biodegrabilidade e biocompatibilidade (TAVAKOL et al., 2016).

Uma nova opção de materiais nanoestruturados obtidos de nanocompósitos tem despertado a atenção dos pesquisadores devido as suas propriedades, um exemplo é a produção de nanocompósito polímero/argila, que melhora a capacidade de troca catiônica, estabilidade térmica, capacidade de

absorção e velocidade de absorção de água (JUNIOR et al., 2017). Estudos desses materiais voltados para a aplicação na agricultura vêm crescendo nos últimos anos. Por exemplo, Rashidzadeh e Olad (2014) estudaram um nanocompósitos a base de alginato de sódio, ácido acrílico, poliacrilamida e montmorilonita via polimerização radical livre. Os autores concluíram que o nanocompósito sintetizado tem excelente perfil de liberação lenta e uma boa capacidade de retenção de água. Assim a adição de polímeros naturais e nanoargilas em matrizes poliméricas apresentam boas características e uma linha de pesquisa altamente promissora. Portanto, neste contexto, o presente trabalho, tem como objetivo sintetizar e avaliar as propriedades físico-químicas de hidrogéis nanoestruturados com nanocargas de argila.

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1. Síntese de hidrogel constituído por PAAm, CMC e nanoargila

Os hidrogéis nanocompósitos foram sintetizados a partir da incorporação de diferentes quantidades de nanoargila (0, 10 e 20 %) em solução contendo monômero acrilamida (AAm) e polissacarídeo carboximetilcelulose (CMC) e metilenobisacrilamida (MBAAm). Em seguida, adicionou-se N, N, N´,N´ - tetrametilenodiamida (TEMED) e por fim foi adicionado uma solução de persulfato de sódio ($Na_2S_2O_8$) com o intuito de iniciar uma reação de polimerização via radical livre.

2.2. Determinação do grau de intumescimento (Q) e parâmetros cinéticos

As propriedades hidrofílicas dos hidrogéis foram investigadas em relação ao grau de intumescimento e perda de água. O grau de intumescimento (Q) foi calculado através da massa do hidrogel intumescido (Mt) pela massa do hidrogel seco (Ms). Os valores de perda de água foram obtidos como proposto por Aouada (2009).

Os parâmetros cinéticos dos nanocompósitos foram obtidos por meio de análises das constantes ***n*** e ***k*** da equação 1, em que, ***t*** é o tempo, ***k*** é a constante de difusão e ***n*** é o expoente difusional. (RITGER e PEPPAS, 1987). O estudo de difusão da água para o interior da matriz dos hidrogéis foi realizado através coeficiente de difusão (***D***), equação 2.

$$\frac{M_t}{M_{eq}} = k \times t^n \quad (1)$$

$$D = \pi . r^2 \left(\frac{k}{4}\right)^{\frac{1}{n}} \quad (2)$$

2.3. Difração de raios-x (DRX)

Os espectros de difração de raios-x foram obtidos num difratômetro da marca Shimadzu, modelo XRD-6000 com fonte de raios-x de Cu; λ = 0,154 nm; voltagem = 30 kV; corrente = 40 mA; intervalo de 4 – 50º e velocidade de varredura de 1º/min. O espaçamento interplanar (d) das amostras foi determinado pela lei de Bragg.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de grau de intumescimento e liberação (perda) de água (P.A.) dos hidrogéis mostram que estes entram em equilíbrio em aproximadamente 24 e 32 horas, respectivamente (Figura 1). Valores do grau de intumescimento e dos parâmetros cinéticos ***n***, ***k*** e ***D*** para todas as amostras estudadas estão demonstrados na Tabela 1. Pose-se observar que a adição de 10 e 20% de nanoargila na matriz polimérica diminuiu a sua hidrofilicidade (quantificada pelo grau de intumescimento). Por outro lado, com as medidas das propriedades cinéticas (***k***) e coeficiente de difusão (***D***), foi possível observar que houve um aumento na velocidade de absorção de água. Além disso, os resultados de (***n***) indicam que o mecanismo de intumescimento passa de *anômalo* tendendo a *Fickiano* quando a nanoargila é incorporada na matriz. Os resultados do grau de intumescimento e parâmetros cinéticos apresentados estão relacionados ao fato que a presença de nanoargila na cadeia polimérica pode atuar como reticulador físico e/ou químico, aumentando a densidade de reticulação e diminuindo a elasticidade do polímero, o que conseqüentemente, contribui para um menor alojamento de água na

sua matriz. No entanto, os oxigênios presentes nas plaquetas de nanoargila podem estar interagindo com as moléculas de água o que contribui para o mecanismo de absorção de água, acelerando tal processo. Além disso, a nanocarga de argila atua como barreira no controle de liberação de água. Comportamento similar foi observado nos estudos realizados por Rashidzadeh e Olad, (2014).

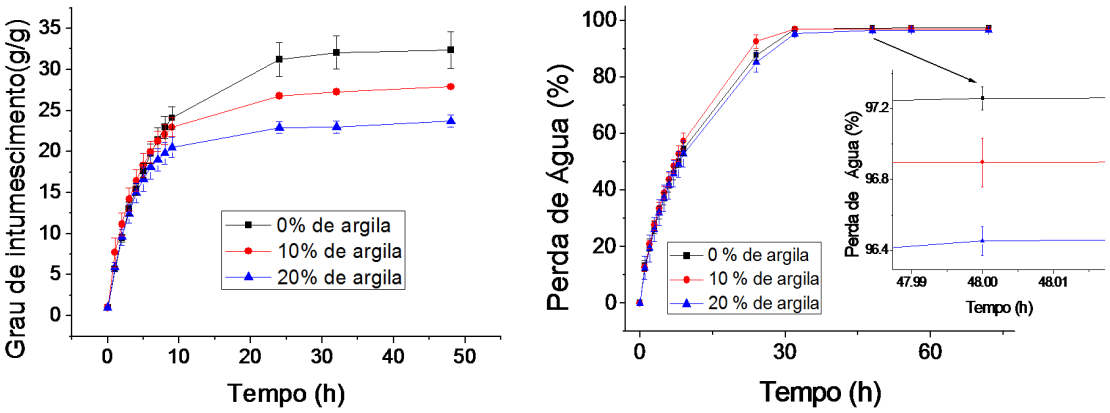


Figura 1: Gráficos de cinética de intumescimento e liberação (perda) de água em função do tempo dos hidrogéis com diferentes teores nanoargila.

Tabela 1: Valores do grau de intumescimento e dos parâmetros cinéticos ***n***, ***k*** e ***D*** para diferentes concentrações de nanoargila.

% de nanoargila	Q_{eq} (g/g)	***n***	***k*** (h^{-1})	***D*** ($10^3 cm^2/h$)
0 %	32,38 ± 2,24	0,66 ± 0,01	0,19 ± 0,01	6,09 ± 0,19
10 %	27,88 ± 0,25	0,53 ± 0,03	0,27 ± 0,03	5,50 ± 1,17
20 %	23,71 ± 0,77	0,57 ± 0,02	0,27 ± 0,02	8,58 ± 1,21

Os parâmetros obtidos da cinética de liberação de água com diferentes concentrações de nanoargila demonstram que a adição de nanoargila diminuiu os valores de P.A. de 97,29 ± 0,05 (nanoargila 0%) para 96,51 ± 0,07 (nanoargila 20 %) e ***k*** de 35,06 ± 1,43 (nanoargila 0%) para 27,32 ± 1,25 (nanoargila 20 %). Portanto os nanocompósitos apresentam uma perda de água mais controlada em relação aos hidrogéis sem nanoargila.

Os resultados de DRX indicaram que a característica amorfa do hidrogel é preservada em todos os nanocompósitos após o incremento de nanoargila (Figura 2a). Tornando assim, este material interessante para processos de sorção de pesticidas e fertilizantes.

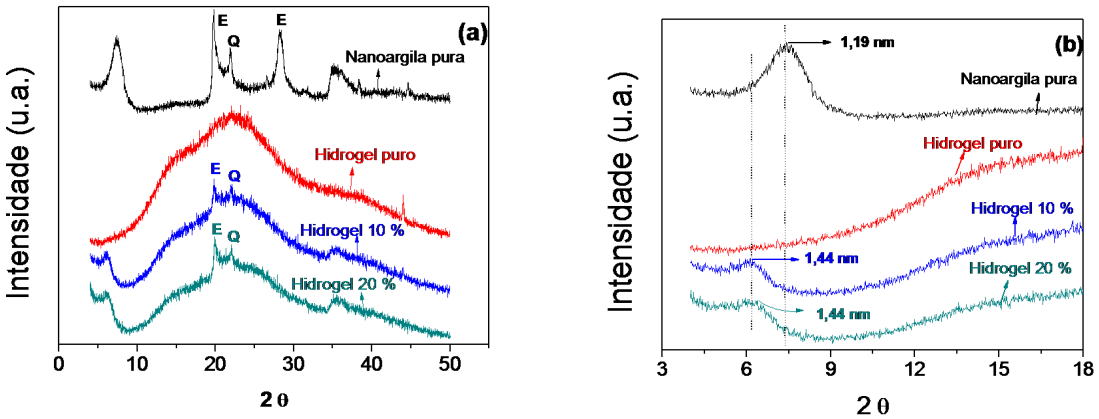


Figura 2: Difratogramas de raios-x da nanoargila pura, hidrogel puro e dos nanocompósitos contendo diferentes concentrações de nanoargila.

Além disso, observou-se um deslocamento do espaçamento basal do pico (d_{001}) da nanoargila de 2 θ = 7,4 (d_{001} = 1,19 nm) a 2 θ = 6,2 (d_{001} = 1,44 nm) para as amostras com 10 e 20 % de nanoargila, respectivamente (Figura 2b). Portanto, foi possível confirmar que a matriz polimérica está intercalada nas plaquetas de nanoargila.

4. CONCLUSÃO

As propriedades hidrofílicas e cinéticas analisadas foram influenciadas pela adição de nanoargila na matriz polimérica. A análise de DRX permitiu observar que as plaquetas de nanoargila se encontram intercaladas nos nanocompósitos, o que podem contribuir com a melhora dos processos de sorção de água e agroquímico, e tornar-se este processo de dessorção de soluto mais controlado. Estes resultados, mesmo que preliminares, indicam que os hidrogéis preparados possuem grande potencial para serem utilizados no ramo agronômico.

AGRADECIMENTOS

UNESP, CAPES, CNPq e Fapesp pelo apoio financeiro e concessão de bolsas de estudo e de pesquisa.

REFERÊNCIAS

AOUADA, F. A. Síntese e caracterização de hidrogéis de poliacrilamida e metilcelulose para liberação controlada de pesticidas. Tese de Doutorado, Universidade Federal de São Carlos, UFSCar, São Carlos, 2009.

CHAUHAN, S. Acrylic acid end methacrylic acid based hydrogels-A review. Pelagia Research Library, v. 6, n.1, p. 61-72, 2015.

JUNIOR, C. R. F.; de MOURA, M. R.; AOUADA, F. A. Synthesis and characterization of intercalated nanocomposites based on poly(methacrylic acid) hydrogel and nanoclay cloisite-Na^+ for possible application in agriculture. Journal of Nanoscience and Nanotechnology, v. 17, p. 1-6, 2017.

MAZIAD, N. A. et al. Radiation synthesis and characterization of super absorbent hydrogels for controlled release of some agrochemicals. Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, v. 307, n. 1, p. 513-521, 2016.

TAVAKOL, M. et al. Synthesis and characterization of na in situ forming hydrogel using tyramine conjugated high methoxyl gum tragacanth. Biomaterials Applications, v.30, p.1016-1025, 2016.

RASHIDZADEH, A.; OLAD, A. Slow-released NPK fertilizer encapsulated by NaAlg-g-poly(AA-co-AAm)/MMT superabsorbent nanocomposite. Carbohydrate Polymers, v. 114, p. 269-278, 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, United States, 1987.

PRODUÇÃO DE MEMBRANAS DE CELULOSE BACTERIANA USANDO MELAÇO DE SOJA

Erika F. Souza[1,2], Selma C. Terzi[1], Gabriela S. Santos[3], Sidinea C. Freitas[1], Otniel Freitas-Silva[1] e Leda M.F. Gottschalk[1]

[1] Embrapa Agroindústria de Alimentos
[2] Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro - PPGAN
[3] Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
e-mail: leda.fortes@embrapa.br

Classificação: Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio

Resumo
A celulose é composta de monômeros de glicose unidos por ligações glicosídicas β 1,4. Tradicionalmente é extraída de vegetais, e sua composição consiste de moléculas associadas à hemicelulose e à lignina. Já a celulose bacteriana (CB) compreende celulose pura possuindo propriedades únicas, como a alta cristalinidade, e é amplamente produzida por algumas das cepas dos gêneros *Acetobacter e Gluconacetobacter*. Há uma busca por uma fonte energética para otimização da produção e do rendimento de biomassa de CB que apresente maior sustentabilidade econômica e ambiental. Assim, o melaço de soja disponta como um subproduto potencialmente promissor. Neste contexto, foi investigada a produção de CB por *G. xylinus* (ATCC 53582) em cultura estática, usando melaço de soja hidrolisado como substrato em diferentes concentrações, durante 10 dias de incubação. O melaço de soja foi caracterizado químicamente, submetido a hidrólise ácida e avaliado em diferentes concentrações. O maior rendimento de CB foi obtido com 40 g/L de açúcares, com a produção de 1,71g/L. Assim o melaço de soja pode ser um candidato a substrato adequado e promissor para a produção de CB.
Palavras-chave: Celulose bacteriana; Melaço de soja; *Gluconacetobacter xylinus*; Resíduo agroindustrial

PRODUCTION OF BACTERIAL CELLULOSE MEMBRANES USING SOYBEAN MOLASSES

Abstract
Cellulose is composed of glucose monomers bound by β 1,4 glycosidic bonds. It is traditionally extracted from vegetables, and its composition consists of hemicellulose and lignin associated molecules. However, bacterial cellulose (CB) comprises pure cellulose having unique properties, such as high crystallinity and is widely produced by some strains from *Acetobacter* and *Gluconacetobacter* genera., There is a search for an energy source to optimize the production and yield of CB biomass that presents greater economic and environmental sustainability. Thus, soybean molasses provides as a potentially promising by-product. In this context, the CB by *G. xylinus* (ATCC 53582) production was investigated in static culture, using hydrolyzed soybean molasses as substrate in different concentrations during 10 days of incubation. Soybean molasses was chemically characterized, subjected to acid hydrolysis and tested at different concentrations. The highest yield of CB was obtained in 40 g/L of sugars, with the production of 1,71g/L. Thus, soybean molasses may be a suitable and promising substrate candidate for CB production.
Keywords: Bacterial cellulose; Soybean molasses; *Gluconacetobacter xylinus*; Agro-industrial waste

1 INTRODUÇÃO

A celulose sintetizada por micro-organismos, 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). 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 (SHAH et al., 2013). O primeiro uso da CB 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), entre outras aplicações.

Contudo, o custo de produção deste biopolímero ainda é caro comparado ao da celulose vegetal. 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. Por isso há grande interesse no uso de substratos alternativos de baixo custo como os resíduos agroindustriais (CARREIRA et al., 2011).

A soja é um grão muito versátil que dá origem a produtos e subprodutos muito usados pela indústria química e de alimentos. Durante o processamento da soja para a obtenção do óleo e da proteína, são gerados diversos subprodutos ricos em carboidratos tais como a casca, o melaço, o okara e a farinha. O subproduto do processo de obtenção do concentrado proteico da soja é o melaço de soja. (SILVA, 2011).

O melaço de soja apresenta de 55 a 60% de oligossacarídeos solúveis, 8 a 12% de proteína e 15 a 20% de gordura. Esses carboidratos podem ser fermentados por micro-organismos e assim usados para gerar biocombustíveis etanol e butanol, enzimas xilanases e lipases e outros produtos como o ácido oleico, ácido lático e polihidroxialcanoato (ABDULLAH; JU, 2016), características estas promissoras para o seu uso como substrato para fermentação de *G. xylinus*.

Nesse contexto, o objetivo desse trabalho foi produzir celulose a partir da fermentação da bactéria *G. xylinus* (ATCC 53582) usando o resíduo agroindustrial melaço de soja como meio de cultivo.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Caracterização do melaço de soja

O melaço de soja foi cedido pela empresa Selecta em Minas Gerais. Ele foi caracterizado em relação a umidade e cinzas em Analisador Termo Gravimétrico (TGA 2000 Las Navas Instruments T= 550°C, O_2, peso constante). O Nitrogênio Total foi determinado pelo método Kjeldahl e o extrato etéreo por extrator automático (ANKOM) de gordura da amostra por éter de petróleo.

2.2 Determinação do açúcar redutor

A concentração de açúcares redutores foi determinada pelo método do DNS (MILLER, 1959), utilizando glicose como padrão. As absorbâncias foram medidas a 540nm em Espectrofotômetro (Micronal AJX 1900).

2.3 Preparo dos meios

Foi preparado meio sintético HS (20 g/L de glicose, 5 g/L peptona, 5 g/L extrato de levedura, 1,15 g/L de ácido cítrico e 2,7 g/L de fosfato de sódio) (HESTRIN; SCHRAMM, 1954) e meios com melaço de soja diluídos. O melaço foi hidrolisado com adição de H_2SO_4 concentrado até o pH 1,5 e posterior aquecimento a 80°C por 10 min. O açúcar redutor foi determinado e o melaço diluído pela adição de água destilada nas concentrações de 20 (MSH 20), 40 (MSH 40), 80 (MSH 80), 100 (MSH 100) e 130g/L (MSH 130) de açúcar redutor. O pH em todos os meios foi ajustado para 6,0. As fermentações ocorreram em Frasco Schott de 250 mL contendo 70 mL de meio autoclavado a 121°C/15 minutos.

2.4 Produção de celulose

A cepa *G. xylinus* ATCC 53582, foi mantida em ágar manitol sob refrigeração a 4ºC. O pré-inoculo 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. xylinus* foi adicionado aos meios HS, MSH 20, MSH 40, MSH 80, MSH 100 e MSH 130. A fermentação foi realizada em duplicata a 28 °C por 10 dias.

2.5 Purificação de celulose bacteriana

As membranas obtidas 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 1 M a 80 °C por 30 min, e então lavadas várias vezes com água deionizada. Por fim, as membranas foram secas em estufa a 65-70 °C até peso constante.

2.6 Determinação do Brix

O Brix dos melaços após a diluição foi medido em refratômetro Atago, Modelo Pal-1.

2.7 Determinação do pH

O pH dos meios foi ajustado inicialmente a 6,0 e foi medido ao final da fermentação em pHmetro Ion, modelo PHB500.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização do melaço de soja

Os resultados obtidos pelas análises realizadas de umidade, cinzas, nitrogênio total, extrato etéreo, açúcar redutor e Brix estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Caracterização química do melaço de soja

UMIDADE (g/100g)	CINZAS (g/100g)	NITROGÊNIO TOTAL (g/100g)	EXTRATO ETÉREO (g/100g)	AÇÚCAR REDUTOR* (g/L)	BRIX*
27,99	11,62	0,92	7,50	148,90	62,5

* Considerando o melaço de soja hidrolisado

O resultado de açúcar redutor obtido após o processo de hidrólise foi satisfatório, possibilitando a disponibilidade dos açúcares redutores para a fermentação.

3.2 Produção de membrana

Em estudos preliminares onde o melaço de soja bruto foi usado, não foi observada a produção de membrana de CB. Posteriormente, o melaço foi hidrolisado com H_2SO_4 e utilizado para a produção da CB. Houve produção de membranas de CB nos meios com melaço de soja nas concentrações de 20 (MSH 20), 40 (MSH 40) e 80g/L (MSH 80) de açúcar redutor. As membranas foram formadas na superfície do meio devido ao processo estático. Nas concentrações de 100 g/L (MSH 100) e 130 g/L (MSH 130) não ocorreu a formação das membranas de CB, nem foi observado crescimento bacteriano significativo. Esse fato é reforçado pelo baixo consumo de açúcar redutor nesses meios, de 6,8 g/L e 5,5 g/L para os meios MSH 100 e MSH 130, respectivamente (Tabela 2).

A média dos resultados de concentração de açúcar redutor final (g/L), peso das membranas obtidas e o pH final estão mostrados na Tabela 2. Considerando o peso seco das membranas obtidas, o meio com melaço de soja hidrolisado que propiciou a maior produção da membrana de CB (1,71g/L) foi o meio MSH 40, com um consumo de 15,45 g/L de açúcar redutor em 10 dias. No entanto, a produção ainda foi inferior a obtida no meio sintético HS (5,77g/L) que teve um consumo semelhante de açúcar redutor (14,81 g/L). Maiores estudos devem ser realizados para aumentar a produção da CB em meio contendo melaço de soja.

Cakar et al. (2014) obteve resultado semelhante (1,64 g/L) produzindo CB a partir de melaço de cana em cultivo estático por 7 dias também com *G. xylinus*. Bae e Shoda (2004) usaram melaço de cana como substrato para produção de celulose por *Acetobacter xylinum* BPR2001. Nesse estudo o melaço também apresentou melhores rendimentos após a hidrólise do melaço com H_2SO_4 e com concentração de 20g/L (5,3 g/L).

Tabela 2. Parâmetros fermentativos da produção de celulose bacteriana após 10 dias de cultivo.

MEIO	AÇUCAR REDUTOR INICIAL (g/L)	°BRIX INICIAL	AÇUCAR REDUTOR FINAL (g/L)	PESO MEMBRANAS (g/L)	pH FINAL
HS	20	NA	5,19	5,77	4,31
MSH 20	20	6,3	11,04	1,21	5,70
MSH 40	40	12,2	24,55	1,71	5,50
MSH 80	80	20,8	55,02	0,60	5,20
MSH 100	150	35,4	143,2	NA	3,66
MSH 130	200	48,7	194,5	NA	2,28

NA, Não se aplica

4 CONCLUSÃO

O melaço de soja se mostrou uma fonte alternativa promissora para obtenção de celulose bacteriana. Foi possível obter CB a partir de melaço de soja hidrolisado e diluído até a concentração de 80 g/L de açúcar redutor. A produção foi maior na concentração de 40 g/L de açúcares redutores. Experimento futuros variando parâmetros de fermentação como volume de inóculo e suplementação do meio, devem ser realizados para aumentar a produção de CB.

AGRADECIMENTOS

Agradecimentos a Embrapa Agroindústria de Alimentos pela disponibilização dos laboratórios e o financiamento do estudo.

REFERÊNCIAS

ABDULLAH, A.; JU, L. Soybean carbohydrate as fermentation feedstock for production of biofuels and value-added chemicals. Process Biochemistry, v.51, n.8, p.1046-1057, 2016.

BAE, S.; SHODA, M. Bacterial Cellulose Production by Fed-Batch Fermentation in Molasses Medium. Biotechnology progress, v. 20, n. 5, p. 1366-1371, 2004.

CAKAR, Fatih et al. Improvement production of bacterial cellulose by semi-continuous process in molasses medium. Carbohydrate polymers, v. 106, p. 7-13, 2014.

CARREIRA, P. et al. Utilization of residues from agro-forest industries in the production of high value bacterial cellulose. Bioresource Technology, v. 102, n.15, p. 7354-7360, 2011.

CHAWLA, P.R.; BAJAJ, I.B.; SURVASE, S.A.; SINGHAL, R.S. Microbial cellulose: fermentative production and aplications. Food Technology Biotechnology, v. 47, n. 2, p. 107-124, 2009.

HESTRIN, S.; SCHRAMM, M. Synthesis of cellulose by Acetobacter xylinum. Preparation of freeze-dried cells capable of polymerizing glucose to cellulose. Biochemical Journal, v. 58, n. 2, p. 345-352, 1954.

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.

SHAH, N., et al. Overview of bacterial cellulose composites: a multipurpose advanced material. Carbohydrate Polymers, v. 98, n.2, p. 1585-1598, 2013.

SILVA, F.B. Produção de etanol a partir de melaço de soja hidrolisado enzimaticamente. Dissertação Universidade Federal de Uberlandia.p.120, 2011.

SINTESE SONOQUÍMICA DE HETEROESTRUTURAS g-C_3N_4/Nb_2O_5: AVALIAÇÃO DA PERFORMANCE FOTOCATALÍTICA PARA DEGRADAÇÃO DE POLUENTES ORGÂNICOS

Gelson T. S. T. da Silva[1,2*]; Kele T. G. Carvalho[2], Osmando F. Lopes[3]; Caue Ribeiro[2]

[1]Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos-UFSCar; [2]Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio (LNNA)-Embrapa Instrumentação; [3]Instituto de Química de São Carlos-IQSC, Universidade de São Paulo-USP.
**gelsonttavares@gmail.com*

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio.

Resumo
As heteroestruturas de g-C_3N_4/Nb_2O_5 foram preparadas com sucesso por um método sonoquímico baseado na heteroagregação por indução através da diferença das cargas superficiais dos dois materiais. Sob irradiação visível, as heteroestruturas de g-C_3N_4/Nb_2O_5 apresentaram maior atividade na fotooxidação do fármaco amilorida (AML) e do corante rodamina B (RhB), em comparação com as fases puras de g-C_3N_4 e Nb_2O_5. A melhora da atividade fotocatalítica das heteroestruturas pode ser atribuída à efetiva formação de heterojunções entre os semicondutores g-C_3N_4 e Nb_2O_5, causando a migração dos elétrons e buracos fotogerados, aumentando seu tempo de vida, o que pode ser confirmado pela fotoluminescência resolvida no tempo, na qual a heteroestrutura 3CN:1Nb apresentou um tempo de recombinação do par de elétrons/buraco maior que o g-C_3N_4 puro. Em resumo, a combinação de g-C_3N_4 com Nb_2O_5 para produzir uma heteroestrutura de tipo II é uma boa estratégia para superar desafios importantes na fotocatálise.
Palavras-chave: Nitreto de carbono grafítico; Método sonoquímico; Heterojunções; Fotooxidação; Tratamento de água.

SONOCHEMICAL SYNTHESIS OF g-C_3N_4/Nb_2O_5 HETEROSTRUCTURES: EVALUATION OF PHOTOCATALYTIC PERFORMANCE FOR DEGRADATION OF ORGANIC POLLUTANTS

Abstract
In this study, g-C_3N_4/Nb_2O_5 heterostructures were successfully prepared by a sonochemical method based on surface charge-induced heteroaggregation. Under visible irradiation, the heterostructured g-C_3N_4/ Nb_2O_5 samples exhibited higher activity in the photooxidation of the drug amiloride (AML) and rhodamine B dye (RhB), compared to the pure g-C_3N_4 and Nb_2O_5 phases. The enhanced photocatalytic activity of the heterostructures could be attributed to the effective formation of heterojunctions between the g-C_3N_4 and Nb_2O_5 semiconductors, causing the migration of photogenerated electrons and holes, hence increasing their lifetimes, which can be confirmed by time-resolved photoluminescence, in which the 3CN:1Nb heterostructure showed the longest electron/hole pair lifetime. In summary, the combination of g-C_3N_4 with Nb_2O_5 to produce a type-II heterostructure is a good strategy to overcome important challenges in photocatalysis.
Keywords: Graphitic carbon nitride; Sonochemical method; Heterojunction; Photooxidation; Water treatment

Publicações relacionadas: Applied Catalysis B: Environmental 216 (2017) 70–79

1 INTRODUÇÃO

A presença de contaminantes orgânicos como pesticidas, produtos farmacêuticos e corantes em rios e lagos, mesmo em baixa concentração pode causar sérios danos à saúde do ser humano e ao meio ambiente (AHMED et al. 2016). Desta forma, existe a necessidade de desenvolver tecnologias de

tratamento eficientes para a remoção destes compostos dessas fontes de água. Os processos oxidativos avançados (POA), como a fotocatálise heterogênea, têm grande destaque para este propósito, especialmente usando semicondutores que podem ser ativados sob irradiação visível. O nitreto de carbono grafítico (g-C_3N_4) foi identificado como um semicondutor orgânico que pode ser facilmente obtido por polimerização envolvendo a condensação térmica de precursores ricos em nitrogênio. Grande parte do interesse no uso deste material é devido ao seu valor de band gap (Eg~2.7 eV) e sua estrutura de banda adequada para direcionar reações de fotocatálise (LIU et al. 2011). No entanto, o g-C_3N_4 exibe uma área de superfície baixa e uma rápida recombinação de pares de elétrons/buracos fotogerados, o que reduz sua atividade fotocatalítica. Uma maneira efetiva de aumentar a fotoatividade é acoplar g-C_3N_4 com outro semicondutor por meio de heterojunções de tipo II. Entre os diversos semicondutores conhecidos, atualmente o Nb_2O_5 possui um grande potencial para catálise devido suas propriedades superficiais. No entanto, os métodos normalmente utilizados para obtenção dessas heterojunções não possui um controle de alguns parâmetros fundamentais de síntese como o pH. Sendo assim, o presente trabalho, tem como objetivo a síntese de heteroestruturas entre g-C_3N_4 e Nb_2O_5 pelo método sonoquímico.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O g-C_3N_4 foi preparado através de uma típica síntese de polimerização térmica da ureia em uma mufla sob atmosfera de oxigênio (LIU et al. 2011). As nanopartículas de Nb_2O_5 foram sintetizadas usando o método de peróxido oxidante (LOPES et al. 2014). Já as heteroestruturas entre os materiais foram preparados utilizando o método sonoquímico baseado na heteroagregação por indução, onde através da diferença de carga superficial dos materiais, ajustado a um determinado pH (SIEDL et al. 2012), as forças eletrostáticas são favorecidas e auxiliam na formação de heterojunções entre o g-C_3N_4 e o Nb_2O_5. Para preparação das heteroestruturas utilizou-se diferentes quantidades dos materiais previamente sintetizados (g-C_3N_4 e Nb_2O_5). Os materiais foram dispersos em uma solução aquosa, onde o pH foi ajustado para 3,6 com o auxílio de HNO_3, pois como pode ser observado na Figura 1, é o pH onde as cargas positivas e negativas apresentam maior atração. Logo após, os materiais foram submetidos ao processo ultrassônico por 2 horas. Por fim, os materiais foram lavados e secos a 50ºC por 12 h e nomeados de acordo com a quantidade m/m de cada semicondutor na reação.

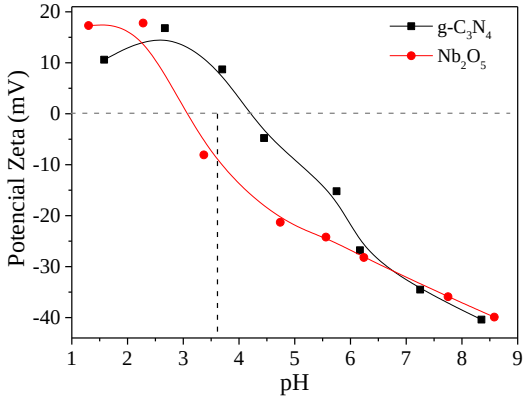


Figura 1- Potencial Zeta do g-C_3N_4 e do Nb_2O_5 em diferentes pH.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os padrões de DRX das amostras sintetizadas (g-C_3N_4, Nb_2O_5 e das heteroestruturas gC_3N_4/Nb_2O_5) são mostrados na Figura 2(a). O g-C_3N_4 puro exibiu dois picos de difração, um em 27,3º (002) e outro em 13,4º (100), atribuídos ao empilhamento interplanar de sistemas aromáticos e embalagens estruturais entre camadas da fase tetragonal, respectivamente (JCPDS 87-1526) Martha et al. 2013. O padrão de DRX do Nb_2O_5 puro mostrou vários picos de difração que podem ser indexados como a fase ortorrômbica do Nb_2O_5 (JCPDS 28-0317) (LOPES et al. 2014). Os padrões DRX das heteroestruturas g-C_3N_4/Nb_2O_5 apresentaram picos de difração correspondentes às fases g-C_3N_4 e Nb_2O_5, indicando que o método de síntese empregado não alterou a estrutura cristalina dos catalisadores. Além disso, observou-se que um aumento na razão m/m entre CN:Nb causou um

aumento gradual na intensidade dos picos característicos de g-C_3N_4, indicando a incorporação desta fase nas heteroestruturas.

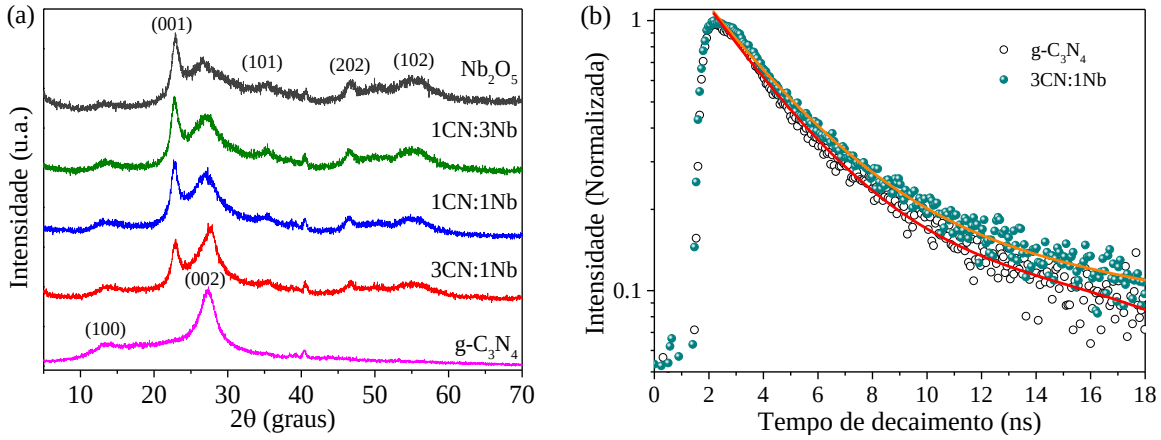


Figura 2- (a) Padrões de difração do g-C_3N_4 e Nb_2O_5 puro e heteroestruturas e (b) Fotoluminescência resolvida no tempo.

Na figura 3 a e b é apresentado a cinética de degradação do corante rodamina B e do fármaco amilorida, ambos os poluentes catalisados pelas amostras sintetizadas sob radiação visível. Como pode ser observado na Figura 3, todas as heteroestruturas preparadas apresentaram uma atividade fotocatalítica para degradação dos poluentes maior do que os semicondutores puros. Uma análise mais quantitativa foi obtida através do cálculo da constante cinética aparente (k_{app}) (Tabela 1), onde pode ser observado que para degradação da rodamina B (Figura 3a), a amostra 3CN:1Nb apresentou uma eficiência 2,2 e 9,4 vezes maior do que o g-C_3N_4 e Nb_2O_5 puros, respectivamente. Já para degradação da amilorida (Figura 3b) pode ser observado que a heteroestrutura 1CN:1Nb apresentou uma eficiência de 6,2 e 4,5 maior do que os puros. Outro fator que pode ser observado é que o aumento da quantidade de CN:Nb resultou em um aumento significativo da atividade fotocatalítica da heteroestrutura, indicando que a superior performance fotocatalítica é provavelmente devido a transferência de carga fotogeradas entre o g-C_3N_4 e Nb_2O_5. Isso pode ser confirmado através da análise de fotoluminescência resolvida no tempo (Figura 2b), onde demonstrou-se que o tempo de decaimento do elétrons fotogerados na heteroestrutura analisada (3CN:1Nb) é maior do que no g-C_3N_4 puro, como demonstrado na tabela 1, indicando assim, que a heteroestrutura possui uma migração das cargas fotogeradas no g-C_3N_4 para o Nb_2O_5, diminuindo assim a recombinação e aumentando a atividade fotocatalítica do material.

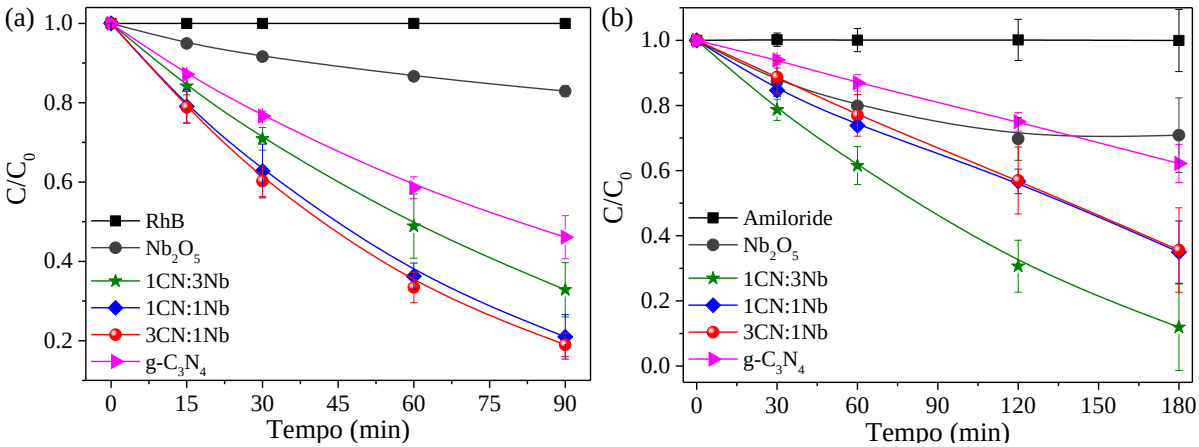


Figura 3- Curva de degradação da rodamina B (a) e da amilorida (b), fotocatalisadas sob radiação visível pela presença dos materiais sintetizados.

Tabela 1- Valores para constante cinética aparente (k_{app}) obtidas através da curva de oxidação da rodamina B e amilorida sob radiação visível na presença dos fotocatalisadores preparados e os tempo de vida dos transportadores de carga foto excitados em g-C_3N_4 e da heterostrutura 3CN:1Nb.

Fotocatalisadores	Rodamina B		Amilorida		τ_1[ns]	τ_2[ns]
	k_{app} x 10^3 (min^{-1})	R^2	k_{app} x 10^3 (min^{-1})	R^2		
Nb_2O_5	2.6	0.96657	1.8	0,90727	-	-
g-C_3N_4	9.4	0.99919	3.1	0,99383	2,03	14,38
1CN:3Nb	11.4	0.99878	13.7	0,94184	-	-
1CN:1Nb	18.9	0.99828	6.6	0,96503	-	-
3CN:1Nb	20.2	0.99874	6.3	0,98337	2,21	14,64

4 CONCLUSÃO

As heteroestruturas de g-C_3N_4/Nb_2O_5 com diferentes proporções de CN:Nb foram obtidas com sucesso usando um método eficiente e versátil baseado em heteroagregação induzida pela diferença de carga superficial entre os semicondutores, combinada com um tratamento sonoquímico. As heteroestruturas de g-C_3N_4/Nb_2O_5 apresentaram maiores atividades fotocatalíticas para a oxidação de RhB e AML sob radiação visível, do que as fases separadamente. As heteroestruturas 3CN:1Nb e 1CN:3Nb mostraram os maiores desempenhos fotocatalíticos na oxidação de RhB e AML, respectivamente. O aumento das suas atividades fotocatalíticas foi atribuído principalmente ao maior tempo de vida dos pares elétron/buraco fotogerados, devido à migração de portadores de carga entre g-C_3N_4 e Nb_2O_5.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao suporte financeiro dado pela CAPES, FAPESP (13/13888-0, 15/12304-0, 16/09746-3, 13/17639-4), CNPq (402.287/2013-4) e a Embrapa Rede AgroNano.

REFERÊNCIAS

AHMED, M. B., et al. Progress in the biological and chemical treatment technologies for emerging contaminant removal from wastewater: A critical review. Journal of Hazardous Materials, v. 323, p. 274–298, 2016.

LIU, J.; ZHANG, T.; WANG, Z.; DAWSON, G.; CHEN, W. Simple pyrolysis of urea into graphitic carbon nitride with recyclable adsorption and photocatalytic activity. Journal of Materials Chemistry, v. 21, n. 38, p. 14398, 2011.

LOPES, O. F.; PARIS, E. C.; RIBEIRO, C. Synthesis of Nb2O5 nanoparticles through the oxidant peroxide method applied to organic pollutant photodegradation: A mechanistic study. Applied Catalysis B: Environmental, v. 144, p. 800–808, 2014.

MARTHA, S.; NASHIM, A.; PARIDA, K. M. Facile synthesis of highly active g-C3N4 for efficient hydrogen production under visible light. Journal of Materials Chemistry A, n. 26, 2013.

SIEDL, N.; BAUMANN, S. O.; ELSER, M. J.; DIWALD, O. Particle networks from powder mixtures: Generation of TiO2-SnO2 heterojunctions via surface charge-induced heteroaggregation. Journal of Physical Chemistry C, v. 116, n. 43, p. 22967–22973, 2012.

FORMAÇÃO DE UM HÍBRIDO DE CELULOSE BACTERIANA E APATITA DOPADA COM ESTRÔNCIO: UMA PROPOSTA DE SISTEMA DE LIBERAÇÃO PARA REPARO ÓSSEO

LUZ, E. P. C. G. [1], VIEIRA, R. S.[1], PORTO, E. C. M.[1], BORGES, M. F.[2], ROSA, M. F.[2], SANTANA, B. C. [2]

[1] Universidade Federal do Ceará, Centro de Tecnologia, Departamento de Engenharia Química
[2] Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza-Ceará
erikapatriciagomes@alu.ufc.br

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio.

Resumo
Os biomateriais têm sido explorados na tentativa de obter uma combinação de propriedades para aplicações biomédicas. A liberação controlada de fármacos tem contribuído para os avanços na ciência, pois resulta numa baixa resposta inflamatória, num maior tempo de permanência na circulação e numa diminuição da dosagem. Os híbridos formados de celulose bacteriana (CB) e hidroxiapatita têm demonstrado potencial no reparo ósseo, assim como o metal estrôncio (Sr) que apresenta dupla ação nos mecanismos de remodelação óssea. Neste sentido, o presente estudo sintetizou um híbrido à base de celulose bacteriana e apatita formada, predominantemente, por fosfatos de estrôncio (ApSr). A CB foi obtida por um processo fermentativo da bactéria *Gluconacetobacter hansenii*. Essas películas de CB foram imersas em soluções de cloreto de estrôncio e fosfato de sódio dibásico, por ciclos de imersão, correspondendo à etapa de formação da apatita de estrôncio. O híbrido foi avaliado quanto à quantidade de estrôncio adsorvida em cada ciclo de imersão e quanto ao perfil de eluição desse metal. Os resultados mostraram que o material é capaz de adsorver 237,32 mg de Sr por g do adsorvente ao final de cinco ciclos de imersão. Já o perfil de dessorção apresentou uma liberação de 15,76% de Sr dessorvido, em 26 horas. Conclui-se que o híbrido consegue adsorver Sr em sua estrutura e sugere que o processo de eluição do Sr foi lento devido à ligação forte formada entre o adsorbato e a superfície do adsorvente.
Palavras-chave: Biomaterial; Reparo ósseo; Híbrido.

HYBRID BACTERIAL CELLULOSE AND APATITE AS RELEASE SYSTEM OF STRONTIUM

Abstract
Biomaterials have been explored in an attempt to obtain a combination of properties for biomedical applications. Controlled release of drugs has contributed to the advances in science, as it results in a low inflammatory response, a longer stay in circulation and a decrease in dosage. There are also benefits of proposing alternatives to the use of oral medications. The hybrids formed from bacterial cellulose (CB) and hydroxyapatite have shown potential in bone repair, as well as the strontium metal (Sr) that has a double action in the mechanisms of bone remodeling, inhibiting reabsorption and stimulating bone formation. In this sense, the present study synthesized a hybrid based on bacterial cellulose (CB) and apatite formed, predominantly, by strontium phosphates (ApSr). CB was obtained by a fermentative process of the bacterium *Gluconacetobacter hansenii*. These CB films were immersed in solutions of strontium chloride and dibasic sodium phosphate by immersion cycles, corresponding formation the strontium apatite. The hybrid was evaluated for the amount of strontium adsorbed in each immersion cycle and the elution profile of this metal. The results showed that the material is capable of adsorbing 237.32 mg of Sr per g of the adsorbent at the end of five immersion cycles. The desorption profile showed a 15.76% release of Sr desorbed in 26 hours. It is concluded that the hybrid is able to adsorb Sr in its structure and suggests that the Sr elution process was slow due to the strong bond formed between the adsorbate and the surface of the adsorbent.
Keywords: Biomaterial; Bone repair; Hybrid.

Publicações relacionadas:

Luz, E. P. C. G., Vieira, R. S., Borges, M. F., Rosa, M. F. Strontium adsorption and desorption on bacterial cellulose/hydroxyapatite matrixes for osseointegration. In: Sociedade Brasileira de Pesquisa em Materiais (SBPMat), 2015. Rio de Janeiro. Sociedade Brasileira de Pesquisa em Materiais (SBPMat), 2015.

Luz, E. P. C. G., Chagas, B. S., Vieira, R. S., Borges, M. F., Rosa, M. F. Adsorption and desorption of strontium on hybrid material of hydroxyapatite and bacterial cellulose. In: 10th World Biomaterials Congress, 2016, Canada.

Luz, E. P. C. G., Chagas, B. S., Porto, E. C. M., Vieira, R. S., Borges, M. F., Rosa, M. F. Biomaterial constituído de celulose bacteriana e apatita de estrôncio. In: XXI Congresso Brasileiro de Engenharia Química, 2016, Fortaleza.

Luz, E. P. C. G., Chagas, B. S., Queiroz, L. O., Vieira, R. S., Borges, M. F., Rosa, M. F. Desenvolvimento de materiais híbridos à base de celulose bacteriana e hidroxiapatita dopados com estrôncio. In: III Encontro de pós-graduação da Embrapa Agroindústria Tropical, 2016, Fortaleza.

Luz, E. P. C. G., Vieira, R. S., Borges, M. F., Rosa, M. F. Hybrid material based on bacterial cellulose and strontium. In: Pan-American Polymer Science Conference (PanPoly), 2017, São Paulo.

1 INTRODUÇÃO

Quem trabalha com biomateriais está numa busca incessante da combinação que faça a otimização das propriedades dos materiais de origem para que o material obtido sirva como substituinte de algum tecido danificado do organismo humano (ORÉFICE et al, 2006). O foco deste trabalho está no desenvolvimento de um biomaterial visando aplicações biomédicas no tecido ósseo.

Os compósitos produzidos a partir de celulose bacteriana e hidroxiapatita têm sido direcionados para aplicação em engenharia de tecidos ósseos, pois a interação desses dois tipos de materiais tem favorecido a reparação óssea por apresentar características como elevadas propriedades mecânicas, biocompatibilidade e biodegrabilidade ajustável, além de ter estabilidade em solução e ser excelente na adsorção de proteínas (DUARTE et al, 2015).

Muitos desses biomateriais produzidos têm o objetivo de serem sistemas de liberação controlada de fármacos, pois ocasionam vários benefícios, principalmente, comparado com sistemas convencionais. Pois resulta numa administração mais segura que não necessita de altas dosagens para haver eficácia (CUPPOK et al. 2011).

Além de sintetizar o híbrido (CB/Ap) é realizada a introdução do estrôncio (Sr) no material, Esse metal vem despertando um grande interesse nas pesquisas devido sua semelhança química com o cálcio (QUERIDO et al., 2016).

Estudos pré-clínicos demonstram os mecanismos de ação do estrôncio sobre o metabolismo ósseo e comprovam sua atuação como inibidor da reabsorção óssea, reduzindo a atividade dos osteoclastos (CAUDRILLIER et at., 2010), e também indutor na formação óssea, estimulando a atividade dos osteoblastos (MARIE et al., 2011).

Portanto, o objetivo deste trabalho foi produzir um híbrido dopado com estrôncio em matrizes de celulose bacteriana/apatita para avaliar sua funcionalidade como sistema de liberação para reparo ósseo.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Síntese do híbrido celulose bacteriana e apatita de estrôncio (CB/SrAp)

Foram cultivadas cepas bacteriana em tubos contendo caldo HS com adição de 5% (v/v) de inóculo e incubados à 30°C/6 dias. A bactéria produziu uma película de celulose, a partir de um processo fermentativo. Em seguida, foi removido o meio de cultivo e essa película foi submetida à purificação com NaOH 1%. O material híbrido foi obtido através dos ciclos de imersão utilizando-se o método proposto por Hutchens *et al.* (2006), adaptado.

2.2 Quantificação de estrôncio a partir dos ciclos de imersão

Adsorção de Sr foi verificada através do acompanhamento do procedimento de síntese do híbrido (CB/SrAp) a partir dos ciclos de imersão da CB para produção de apatita de estrôncio. Foram realizados cinco ciclos de imersão, com a utilização de 100 mg/L e 1000 mg/L de Sr, com intervalos de lavagens e retirada da mineralização residual. Alíquotas das soluções de imersão foram analisadas por espectrometria de absorção atômica (AAS) para medir a quantidade de Sr residual da solução e consequentemente, determinar a quantidade de Sr adsorvido no material.

2.3 Estudo de dessorção

Para avaliar a quantidade de estrôncio que pode ser dessorvido do material sintetizado, foram realizados ensaios com tampão fosfato salino de pH 7,4 a 37°C sob agitação, nos seguintes intervalos (0,5; 1; 2; 3; 4; 5; 24 e 26 horas). A cada ensaio foram coletadas alíquotas de 3mL da solução residual e analisadas por AAS para quantificação de estrôncio dessorvido.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Quantificações de estrôncio a partir dos ciclos de imersão

Na Figura 4 tem-se que a adsorção é maior nos primeiros ciclos, devido a disponibilidade de sítios ativos. A formação de hidroxiapatita de estrôncio pode ser observada devido à redução de estrôncio na concentração residual.

A concentração de 1000 mg/L conseguiu alcançar uma maior adsorção obtendo 237,32 mg/g do somatório de cada ciclo. Já a concentração de 100 mg/L alcançou apenas 109,54 mg/g de adsorvente. Com o decorrer dos ciclos há uma redução na adsorção podendo ser interpretada como ocupação dos sítios disponíveis. Esta etapa está atrelada a formação da apatita por precipitação química com a síntese de fosfatos de estrôncio.

Sugere-se que a adsorção que está ocorrendo nesse ensaio é uma ligação iônica, pois o adsorbato liga-se a superfície do adsorvente através de uma ligação forte, havendo, predominantemente, a formação de fosfatos de estrôncio.

3.2 Estudo de dessorção

No teste de eluição foi avaliado a capacidade do híbrido produzido em liberar estrôncio adsorvido. Na Figura 1 pode-se constatar que o CB/SrAp mostrou ter uma liberação mais lenta. Com trinta minutos de dessorção o material liberou 3,62% de Sr, com uma hora liberou mais 2,04% de Sr. De 2 horas até 24 horas o perfil de eluição encontrava-se numa fase estacionária liberando em torno de 1,8%. Completado às 26 horas foi contabilizado a liberação de apenas 15,76% de Sr.

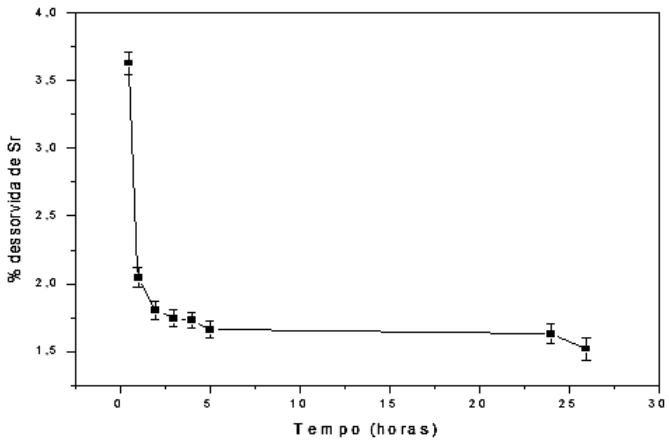


Figura 1. Perfil de dessorção de Sr do material produzido (CB/SrAp).

O resultado de dessorção do composto CB/SrAp mostra-se interessante para o uso *in vivo*. Além de ter sido capaz de adsorver elevada quantidade de estrôncio, realizou uma liberação lenta do metal durante às 26 horas de ensaio, mantendo em torno de 85% do estrôncio ainda incorporado em sua estrutura, demonstrando uma liberação controlada de Sr, tornando-o um material promissor no uso como carreador de fármacos.

4 CONCLUSÃO

Conclui-se que o material produzido é capaz de adsorver íons Sr^{2+} em solução. O teste de dessorção indica que o híbrido CB/SrAp libera estrôncio de forma controlada. Esse comportamento pode ser atribuído à interação forte entre o metal e a superfície do material, mostrando-se um material promissor para sistemas de liberação controlada de fármacos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Embrapa Agroindústria Tropical pelo financiamento desta pesquisa.

REFERÊNCIAS

CAUDRILLIER, A. et al. Strontium ranelate decreases receptor activator of nuclear factor-KB ligand-induced osteoclastic differentiation in vitro: involvement of the calcium-sensing receptor. *Mol. Pharmacol*., v. 78, n. 4, p. 569-576, 2010.

CUPPOK et al. Drug release mechanisms from Kolli coat SR: Eudragit NE coated pellets. *International Journal of Pharmaceutics*, 409 pp. 30–37, 2011.

DUARTE, E. B. et al. Production of hydroxyapatite–bacterial cellulose nanocomposites from agroindustrial wastes. *Cellulose*, v. 22, n. 5, p. 3177-3187, 2015.

HESTRIN, S.; SCHRAMM, M. Synthesis of cellulose by Acetobacter xylinum.Preparation of freeze-dried cells capable of polymerizing glucose to cellulose. *Biochem. J.*, v. 58, n. 2, p. 345-352, 1954.

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*, n. 27, p. 4661-4670, 2006.

MARIE, P. J.; FELSENBERG, D.; BRANDI, M. L. How strontium ranelate, via opposite effects on bone resorption and formation, prevents osteoporosis. *Osteoporos Int.*, v. 22, n. 6, p. 1659-1667, 2011.

ORÉFICE, R. L; PEREIRA, M. M.; MANSUR, H. S. *Biomateriais: fundamentos e aplicações*. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2006.

QUERIDO, W.; ROSSI, A. L.; FARINA, M. The effects of strontium on bone mineral: A review on current knowledge and microanalytical approaches. *Micron*, v. 80, p. 122-134, 2016.

INFLUÊNCIA DA ACIDEZ SUPERFICIAL DA NIOBIA PARA O PROCESSO DE FOTORREDUÇÃO DE CO_2

Gelson T. S. T. da Silva[1,2*]; André E. Nogueira[2]; Jessica A. Oliveira[2,3]; Letícia V. Jodar[2]; Juliana A. Torres[2]; Caue Ribeiro[2]

[1]Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos-UFSCar; [2]Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio (LNNA)-Embrapa Instrumentação; [3]Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos-UFSCar.
**gelsonttavares@gmail.com*

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio.

Resumo
O processo de fotorredução de CO_2 baseado na fotossíntese artificial, é hoje, uma das tecnologias de geração de energia renovável de maior interesse científico, devido a sua simplicidade e eficiência. Desta forma, se faz necessário entender os aspectos que podem de alguma forma influenciar na melhoria desses sistemas. Neste contexto, nós reportamos a síntese de nanopartículas de óxido de nióbio ($Nb_2O_5 \cdot nH_2O$) obtidas através do método de peróxido oxidante (OPM), seguida de um tratamento térmico a 200 e 400 ºC onde foi possível avaliar a influência da calcinação no processo de fotorredução de CO_2 sob radiação ultravioleta. Os materiais sintetizados foram caracterizados usando técnicas como a difração de raios X, espectroscopia de infravermelho e microscopia eletrônica de varredura. A amostra sem o tratamento térmico e a calcinada a 200 ºC apresentaram grupos superficiais ácidos (Brønsted), desempenhando grande influência no processo de fotorredução de CO_2, ao exibir seletividade para a geração de CO. Entretanto, tanto os materiais calcinados a 200 ºC, quanto a 400 ºC apresentaram uma melhor performance fotocatalítica para produção CH_4. Desta forma, podemos observar que o material calcinado a 200 ºC apresentou-se como um catalisador bifuncional.
Palavras-chave: Fotossíntese artificial; Óxido de nióbio, Metano; Semicondutor; Monóxido de carbono.

INFLUENCE OF NIOBIUM SURFACE ACIDITY FOR THE CO_2 PHOTOREDUCTION PROCESS

Abstract
The CO_2 photoreduction process based on artificial photosynthesis is today one of the technologies of renewable energy generation of greater scientific interest due to its simplicity and efficiency. In this way, it is necessary to understand the aspects that can somehow influence the improvement of these systems. In this context, we report the synthesis of niobium oxide nanoparticles ($Nb_2O_5 \cdot nH_2O$) obtained by the oxidative peroxide method (OPM), followed by thermal treatment at 200 and 400 ºC where it was possible to evaluate the influence of the calcination in the process of CO_2 photoreduction under ultraviolet radiation. The synthesized materials were characterized using techniques such as X-ray diffraction, infrared spectroscopy, and scanning electron microscopy. The sample without thermal treatment and calcined at 200 ºC presented superficial acidic groups (Brønsted), which had a great influence on the process of CO_2 photoreduction, in which these materials exhibited a selectivity for the generation of CO, however, the materials calcined at 200 and 400 ºC presented higher photocatalytic performance for CH_4 production. In this way, we can observe that the material calcined at 200 ºC presented itself as a bifunctional catalyst.
Keywords: Artificial photosynthesis; niobium oxide; methane; semiconductor; carbon monoxide.

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos os níveis de dióxido de carbono (CO_2), principal produto gerado na queima de combustíveis fósseis, vem aumentando consideravelmente (REITHMEIER et al. 2012). Embora este gás seja essencial para o processo de fotossíntese natural das plantas, em grandes concentrações

traz malefícios ao meio ambiente, como por exemplo, o chamado efeito estufa intensificado. Afim de diminuir esse efeito colateral provocado pela presença de CO_2 em excesso na atmosfera, algumas estratégias vem sendo estudadas, como a estocagem ou reaproveitamento desse gás. O processo de reaproveitamento se torna mais interessante devido a possibilidade de geração de produtos com alto valor comercial, como etanol, metano e ácido fórmico. Dessa forma o processo de fotorredução utilizando semicondutores óxidos, vem apresentando bons resultados na conversão de CO_2.

O pentóxido de nióbio (Nb_2O_5) é um semicondutor que apresenta propriedades (estabilidade, baixa toxicidade, entre outras) ideais para aplicação no processo de fotorredução de CO_2. Este óxido apresentou bons resultados no processo de degradação de poluentes orgânicos como corantes e pesticidas (LOPES et al. 2014). Portanto, o trabalho teve como objetivo, sintetizar o Nb_2O_5 através do método dos peróxidos oxidantes e avaliar a influência do tratamento térmico na atividade do semicondutor frente ao processo de fotorredução de CO_2 sob radiação UV.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O precursor oxalato amoniacal de nióbio (CBMM, Brazil) foi dissolvido em água destilada (140 mL) sob vigorosa agitação e após completa dissolução foi adicionado à solução 60 mL de peróxido de hidrogênio. A solução que inicialmente era transparente tonou-se amarela, que indica a formação de um peróxido complexo de nióbio (PCN). Ainda sob agitação a solução foi aquecida a 80 ºC por 1h para a formação de um gel amarelo. Após a completa formação do gel, o produto foi então esfriado a temperatura ambiente e finalmente separado via centrifugação. Logo após, o sólido foi seco a 60 ºC por 12h. O material formado, $Nb_2O_5 \cdot nH_2O$ com a superfície modificada, foi então nomeado de Nb_2O_5-OPM. O Nb_2O_5-OPM foi calcinado a duas temperaturas, 200 e 400 ºC, ambos tratamentos foram realizados por 2h com rampa de aquecimento de 10 °C·min^{-1} em cadinhos de alumina. As amostras calcinadas em diferentes temperaturas foram nomeadas como Nb_2O_5-200 °C and Nb_2O_5-400 ºC, para as amostras calcinadas a 200 e 400 ºC, respectivamente.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os padrões de DRX do precursor e das amostras de Nb_2O_5 sintetizadas estão apresentados na Figura 1(a). Através da intensidade e largura dos picos, pode se concluir que o oxalato amoniacal de nióbio (precursor) apresenta uma boa cristalinidade, diferentemente dos materiais sintetizados, onde até mesmo a elevadas temperaturas (400 ºC) os materiais apresentaram padrões de DRX característicos de materiais amorfos (picos alargados), típico estado cristalino do $Nb_2O_5 \cdot nH_2O$ com elevada acidez de Brønsted (LUISA MARIN et al. 2014). A Figura 1(b) exibe os espectros de infravermelho da amostra Nb_2O_5-OPM e dos materiais obtidos após a calcinação a 200 e 400 ºC (Nb_2O_5-200 ºC e Nb_2O_5-400 ºC). Como pode ser observado na Figura 1(b), as amostras de Nb_2O_5-OPM e Nb_2O_5-200ºC apresentam bandas em 1716, 1400, 1269 cm^{-1}, atribuídas aos grupamentos C=O, $C(=O)_2$ e N-O, demonstrando que ambas as amostras ainda apresentam resíduos do precursor. As bandas em 3132 e 3454 cm^{-1}, podem ser atribuídas a hidroxilas e moléculas de águas adsorvidas na superfície do semicondutor. A diminuição da intensidade dessas bandas principalmente a de 3132 cm^{-1} (ESTEVES et al. 2008), está diretamente relacionada com a diminuição da acidez superficial do material, uma vez que essas hidroxilas, nesse caso, se comportam como um ácido de Brønsted, grupamentos doadores de prótons. A Figura 1(c-e) apresenta as imagens representativas das amostras sintetizadas. Na Figura 1(c) pode ser observado que as amostra sem tratamento térmico (Nb_2O_5-OPM) apresentam nanopartículas esféricas aglomeradas. As amostras calcinadas apresentam também morfologia esférica, no entanto pode ser observado a presença de algumas placas, devido ao processo de sinterização das nanopartículas a altas temperaturas, demonstrando assim, que não há uma diferença significativa na morfologia dos materiais preparados.

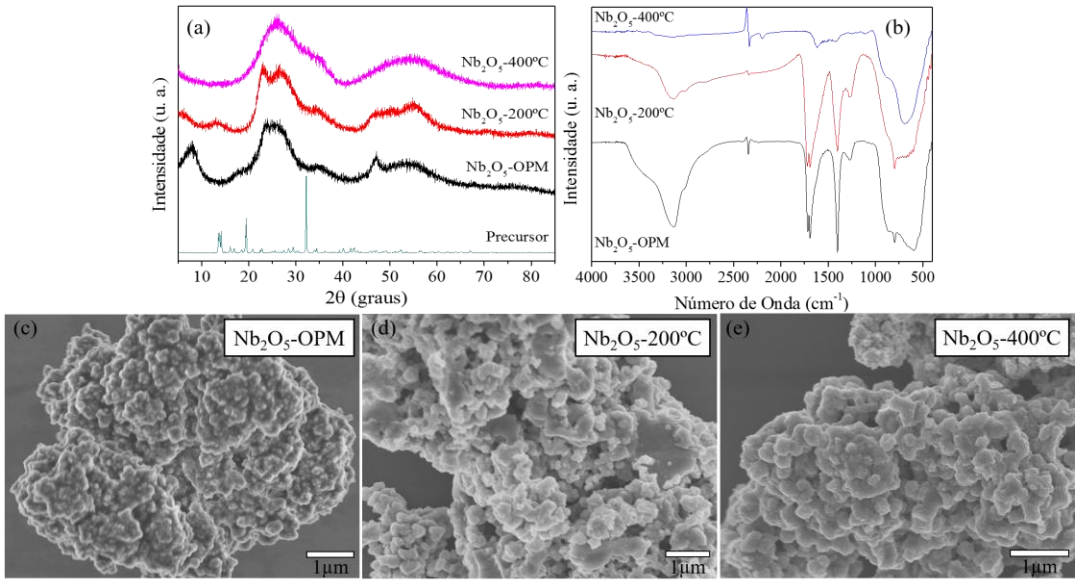


Figura 1. DRX (a), FTIR (b) e MEV (c-e) da amostra de Nb_2O_5-OPM e dos materiais calcinados a 200 e 400ºC.

A Figura 2 apresenta a produção de CH_4 e CO usando os diferentes catalisadores sintetizados. Na Figura 2(a) pode ser observado que todos os materiais sintetizados apresentam potenciais como fotocatalisadores para conversão de CO_2 em CH_4, embora a amostra Nb_2O_5-200 ºC apresenta uma maior eficiência comparado com as demais. Na Figura 2 (b), pode ser observado que a amostra Nb_2O_5-200 ºC também apresentou uma maior atividade para conversão de CO_2 em CO, com relação as demais amostras. A amostra que apresentou a menor eficiência para conversão de CO_2 em CO foi a Nb_2O_5-400 ºC, indicando que uma menor acidez superficial pode trazer uma maior seletividade para formação de CH_4 do que CO.

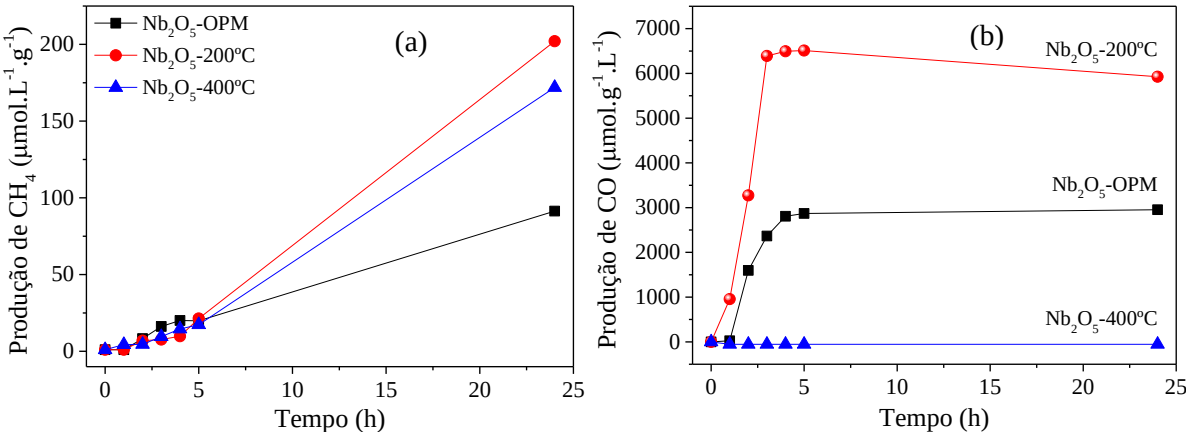


Figura 2- Reação de fotoredução de CO_2 para produção de CH_4 (a) e CO (b), catalisada pela presença das amostras sintetizadas.

4 CONCLUSÃO

As nanopartículas de óxido de nióbio sintetizadas apresentaram características amorfas típico do estado cristalino do $Nb_2O_5 \cdot nH_2O$ com elevada acidez de Brønsted, além de morfologias semelhantes, com presença de partículas esféricas. Estes materiais apresentaram uma elevada eficiência na fotorredução de CO_2, com seletividade para produção tanto de CH_4 quanto de CO. Entre eles, destaca-se o Nb_2O_5 calcinado a 200 ºC, o qual apresentou características bifuncionais com maior rendimento para os dois principais produtos. Além disso, observou-se que a acidez de Bronsted está

diretamente relacionada com a conversão de CO_2 em CH_4, já que amostra com menor acidez apresentou uma maior conversão deste produto.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao suporte financeiro dado pela CAPES, FAPESP (16/21515-7), CNPq (402.287/2013-4) e a Embrapa Rede AgroNano.

REFERÊNCIAS

ESTEVES, A.; OLIVEIRA, L. C. A.; RAMALHO, T. C.; et al. New materials based on modified synthetic Nb2O5 as photocatalyst for oxidation of organic contaminants. Catalysis Communications, v. 10, n. 3, p. 330–332, 2008.

LOPES, O. F.; PARIS, E. C.; RIBEIRO, C. Synthesis of Nb2O5 nanoparticles through the oxidant peroxide method applied to organic pollutant photodegradation: A mechanistic study. Applied Catalysis B: Environmental, v. 144, p. 800–808, 2014.

LUISA MARIN, M.; HALLETT-TAPLEY, G. L.; IMPELLIZZERI, S.; et al. Synthesis, acid properties and catalysis by niobium oxide nanostructured materials. Catalysis Science and Technology, v. 4, n. 9, p. 3044–3052, 2014.

REITHMEIER, R.; BRUCKMEIER, C.; RIEGER, B. Conversion of CO2 via Visible Light Promoted Homogeneous Redox Catalysis. Catalysts, v. 2, n. 4, p. 544–571, 2012.

NANOCRISTAIS DE CELULOSE A PARTIR DE FIBRAS DE MESOCARPO DO DENDÊ (OPMF) POR HIDRÓLISE ÁCIDA E MICROFLUIDIZAÇÃO

Vanessa Bolzan Rodrigues[1]*, Adriana de Campos[2], Ana Carolina Correa[2], José M. Marconcini[2]

[1] Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), Rod. Washington Luiz, km 235 - SP-310, São Carlos, SP, 13565-905, Brasil;
[2] Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio (LNNA),Embrapa Instrumentação, Rua XV de novembro, 1452, Centro, São Carlos, SP, 13560-970, Brasil)
**vanessabolzanrodrigues@gmail.com*

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio.

Resumo
As fibras de mesocarpo do dendê (OPMF), um resíduo agroindustrial da produção de óleo de palma, foram utilizadas para obter nanocristais de celulose. Estes foram obtidos a partir do branqueamento de fibras, seguido de hidrólise ácida e microfluidifização. Os resultados mostraram que os nanocristais obtidos por hidrólise ácida durante 105 min resultaram em estruturas com um comprimento médio (L) de 117 ± 54 nm e diâmetro (D) de 10 ± 5 nm. Após 105 min de hidrólise ácida, a suspensão foi dialisada e a suspensão neutra foi submetida a microfluidação. Os nanocristais apresentaram as mesmas dimensões, mesmo com a desintegração de fibras de fases amorfas e cristalinas, durante a microfluidificação. Após a microfluidização, a amostra apresentou uma suspensão mais estável, apresentando menor cristalinidade. Aumentando o tempo de hidrólise de 105 a 140 min, obtiveram-se mais nanocristais sulfonados, apresentando menor estabilidade térmica, mas maior cristalinidade do que a amostra microfluidizada. Este estudo provou que é possível obter nanocristais de celulose de fibras de mesocarpo do dendê, ajudando a reduzir o impacto ambiental desses resíduos, além de proporcionar a obtenção de um alto valor agregado produtos.
Palavras-chave: Nanocristais; dendê; hidrólise ácida; microfluidização.

NANOCRISTALS FROM OIL PALM MESOCARP FIBERS BY ACID HYDROLYSIS AND MICROFLUIDIZATION

Abstract
Oil palm mesocarp fibers (OPMF), an agroindustrial residue from the production of palm oil, were used to obtain cellulose nanocristals. These were obtained from the bleaching of fibers, followed by hydrolysis using sulfuric acid and microfluidifization. The results showed that nanocristals obtained by acid hydrolysis for 105 min resulted in structures having an average length (L) of 117 ± 54 nm and diameter (D) of 10 ± 5 nm. After 105 min of acid hydrolysis, the suspension was dialyzed and the neutral suspension was subjected to microfluidization. The nanocristals presented the same dimensions, even with the disintegration of fibers of amorphous and crystalline phases, during the microfluidization. After the microfluidization, the sample presented a more stable suspension, presenting lower crystallinity. Increasing the hydrolysis time from 105 to 140 min, more sulfonated nanocristals were obtained, presenting lower thermal stability, but higher crystallinity than the microfused sample. This study proved that it is possible to obtain cellulose nanocristals from the mesocarp fibers of the palm oil, helping to reduce the environmental impact of such residues, in addition to providing high value-added products.
Keywords: Nanocristals; oil palm; acid hydrolysis; microfluidization.

Publicações relacionadas: Campos et al. Production of Cellulose Nanowhiskers from Oil Palm Mesocarp Fibers by Acid Hydrolysis and Microfluidization. *J. Nanosci. Nanotechnol*. 17, 4970–4976, (**2017**).

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos 30 anos, a produção de óleo de palma cresceu a uma taxa de 9% ao ano (SOUZA et al., 2015). Porém, sua produção gera uma grande quantidade de resíduo, que quando deixado no campo, este resíduo pode criar sérios problemas ambientais (SKREEKALA, KUMARAN E THOMAS, 1997). Os resíduos sólidos gerados após o processo industrial do óleo de palma também podem fornecer uma matéria-prima importante (SOUZA et al., 2015), uma vez que pode ser usada como fonte de nanocristais celulósicos (após tratamentos químico e físicos (FERRER et al., 2012)) e a ser aplicado como reforço em polímeros. Os nanocristais de celulose podem ser considerados como um elemento estrutural importante em diferentes aplicações, como reforço em plásticos, formação de gel e agentes espessantes (BENHAMOU et al., 2014). Eles apresentam maior superfície, cristalinidade e capacidade de retenção de água do que a fibra de celulose (BENHAMOU et al., 2014). É um nanomaterial natural que pode fornecer propriedades superiores em diferentes produtos finais, em uma ampla gama de possibilidades (BENHAMOU et al., 2014, FERRER et al.,2012).

Os nanocristais de celulose extraídos de fibras de dendê atraem um interesse crescente devido às suas características únicas, incluindo baixo custo, baixa densidade, alta resistência especifica, boas propriedades térmicas e biodegradabilidade. No presente estudo, as nanocristais de celulose foram preparadas a partir de fibras de mesocarpo de dendê (OPMF) por hidrólise ácida, após tratamentos químicos de branqueamento de OPMF seguido de microfluidização. As técnicas experimentais usadas para caracterizar os nanocristais obtidos foram DRX and MET. O objetivo deste estudo foi obter nanocristais de celulose com alta cristalinidade, área superficial e alta razão de aspecto, para serem utilizados como reforço em compósitos. A pesquisa também teve como objetivo reduzir o tempo de reação química e obter nanoestruturas estáveis. Neste trabalho, existe uma combinação de tratamentos químicos e mecânicos para obter nanoestruturas celulósicas a partir de fibras de mesocarpo de dendê.

2 MATERIAL E MÉTODOS

As fibras do mesocarpo do dendê (OPMF) foram fornecidas pela Embrapa Amazônia Ocidental (Belém-PA, Brasil). O peróxido de hidrogênio (Synth) e o hidróxido de sódio (Qhemis) foram utilizados para o tratamento alcalino e o branqueamento das fibras de dendê. As fibras foram hidrolisadas com ácido sulfúrico (Synth) e a membrana de celulose (Sigma-Aldrich: D9402) foi utilizada para dialisar as suspensões de nanocristais de celulose.

A OPMF foi caracterizada e os extrativos foram determinados pela TAPPI CM-97, utilizando 10g de fibras, previamente autoclavadas por 30 minutos e mantidas em soxhlet com hexano por 24 horas. A lignina foi determinada pela TAPPI T222om-02, aplicando-se 5% em massa de fibras em ácido sulfúrico 72% por 24 horas sob agitação constante e, após esse tempo, foram adicionados 500ml de água destilada, seguidos de 4 horas de refluxo sob aquecimento. O teor de holocelulose (hemicelulose + celulose) foi determinado pelo padrão TAPPI T19m-54, adicionando a fibra em ácido acético e cloreto de sódio em água de banho a 70°C sob agitação constante.

OPMF foram moídas em moinho Wiley com peneira de 7 mesh e secas em estufa por 24 horas a 50°C. O pré-tratamento alcalino foi realizado com solução de hidróxido de sódio a 2% (m/v) a 70°C por 1 hora. A temperatura da solução foi levada a 25°C, filtrada e neutralizada com água deionizada. Após a neutralização, as fibras foram secas em estufa a 50°C até massa constante. As fibras pré tratadas com solução alcalina foram duas vezes branqueadas com solução de peróxido de hidrogênio a 10% (v/v) a 55°C sob agitação mecânica por 90 minutos e, posteriormente, neutralizadas e secas em estufa a 50°C até peso constante. Os nanocristais foram obtidos adicionando-se 5,0g de fibras branqueadas a 100ml de ácido sulfúrico 6M a 45°C sob agitação mecânica. As hidrólises ácidas foram realizadas durante 45, 75 e 105 minutos. A suspensão foi diluída em 500ml de água deionizada fria e centrifugada a 10.000 rpm a 10 minutos e, posteriormente, dialisada em membrana de celulose em água deionizada até atingir pH 6-7. Em seguida, as dispersões foram submetidas à microfluidização em 16 passagens a 30.000 psi.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A OPMF crua apresentou alto teor de lignina (43,5%) e holocelulose (35,2%: 17,3% de celulose e 17,9% de hemicelulose). O teor de extrativos (óleos essenciais, graxas, pigmentos) apresentado foi de 16,5%. Os altos teores de extrativos e lignina mostra a importância do uso dos tratamentos químicos prévios (tratamento alcalino e branqueamento) para extração eficaz de nanocristais.

O branqueamento removeu a maior parte da cor amarela da OPMF crua, indicando que parte da lignina e cromóforos foram removidos. A cor restante na OPMF (Figura 1) é devido à lignina solúvel (11,4%) e à lignina insolúvel (0,2%). O tratamento alcalino removeu parte de componentes não celulósicos e ceras, levando a uma superfície mais áspera da OPMF, devido a substâncias não-polares e estruturas de sílica embutidas na superfície dos feixes de fibras.

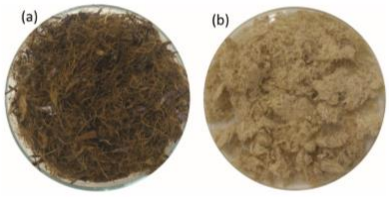


Figura 1. OPMF crua (a) e OPMF branqueada (b).

As imagens de MET (Fig.2) mostraram que os nanocristais diminuíram com o aumento do tempo de hidrólise ácida (Fig. 2a) e após a microfluidização (Fig. 2b). Mesmo após 105 minutos de hidrólise, os nanocristais são longos, com comprimento médio de 117 ± 54 nm e diâmetro de 10 ± 5 nm (L/D 12). As mesmas amostras que foram submetidas a microfluidização apresentaram comprimento médio de 104 ± 52 nm e diâmetro de 9 ± 4 nm (mesmo L/D 12). Após a microfluidização, os nanocristais se mostraram estáveis, não sedimentando.

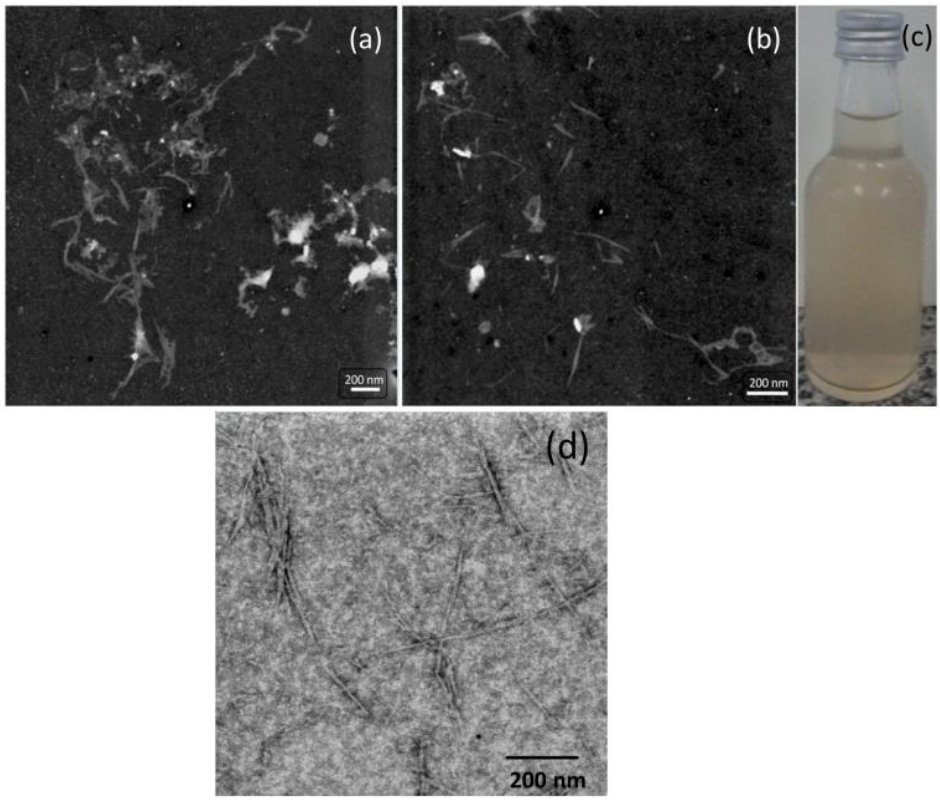


Figura 2. MET das amostras de OPMF (a) após 105 min de hidrólise ácida, (b) 105 min de hidrólise ácida + microfluidização, (c) imagem de nanocristais após 105 min de hidrólise ácida + microfluidização em suspensão aquosa e (d) após 140 min de hidrólise ácida.

Os difratogramas de raios-X (Figura 3) exibem tipo I de polimorfia de celulose (picos típicos a 12.3 e 22.1) (KLEMM et al., 2005). As fibras branqueadas e nanocristais, obtidas por hidrólise ácida, apresentaram maior cristalinidade quando comparadas as OPMF cruas, indicando a remoção de grande parte da fase amorfa. O aumento da cristalinidade dos nanocristais pode ser devido à penetração do ácido sulfúrico na fase amorfa da celulose, causando clivagem hidrolítica de ligações de glicosídeos e quebras individuais de cristalitos (LI et al., 2009). Após a hidrólise ácida com microfluidizador, verifica-se diminuição da cristalinidade, indicando papel efetivo de desintegração da fase amorfa e parcialmente de cristalina.

Um número maior de passagens no microfuidizador leva a desintegração mais eficiente. BENHAMOU et al. (2014) estudaram a extração de nanofibras de celulose usando aumento do tempo de oxidação e microfluidização. Observaram que, após 15 ciclos, o índice de cristalinidade diminuiu consideravelmente devido à desintegração de nanocristais. A combinação de tratamento de oxidação e microfuidização melhorou a homogeneidade do material e as características geométricas das fibras extraídas. Neste trabalho, a microfluidização ajudou a manter a estabilidade da suspensão aquosa pela homogeneização das características geométricas.

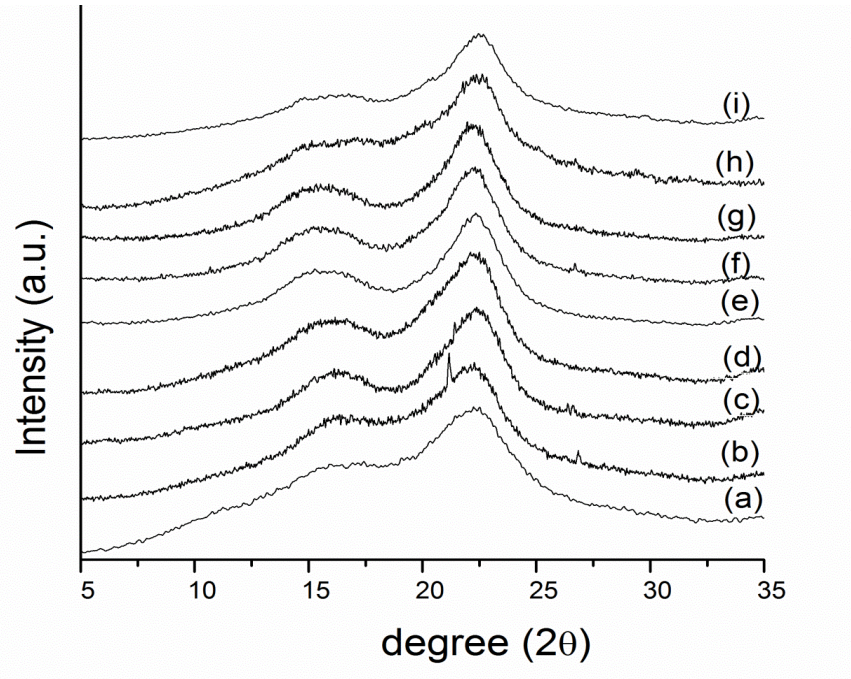


Figura 3. Difratograma de (a) OPMF crua, (b) após tratamento alacalino, (c) fibras branqueadas 1, (d) fibras branquadas 2, (e) nanofibras, 45 min, (f) nanofibras, 75 min, (g) nanofibras, 105 min, (h) nanofibras 105 min + microfluidização, (i) e nanocristais 140 min.

4 CONCLUSÃO

Os nanocristais de celulose de OPMF obtidos por hidrólise ácida com ácido sulfurico com prévio tratamento alcalino apresentaram longas estruturas que interagem entre si. Após a microfluidização, foi possível obter uma suspensão mais homogênea e estável, apesar da diminuição da cristalinidade. Os nanocristais de celulose apresentaram estabilidade térmica e cristalinidade, permitindo sua utilização em aplicações em compósitos poliméricos. Este estudo também demonstrou que é possível obter nanocristais de celulose a partir de um resíduo agroindustrial da produção do óleo de palma, bem como a possibilidade de fornecer um produto de alto valor agregado.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio financeiro fornecido pelo CNPq (Processos n°s 383890/2014-4, 402287/2013-4, 303796/2014-6), FINEP, MCT e Embrapa.

REFERÊNCIAS

E. B. FITZHERBERT ET AL. TRENDS *ECOL. EVOL.* 23, 583, 2008.

N. F. SOUZA ET AL. *J. BIOBASED. MATER. BIOENERGY* 9,1, 2015.

M. S. SKREEKALA, M. G. KUMARAN AND S. THOMAS *J. APPL. PLYM. SCI*. 66, 821, 1997.

A. FERRER ET AL. *BIORESSOURCE TECHNOL*. 125, 249, 2012.

K. BENHAMOU ET AL. *CARBOHYD. POLYM*. 99, 74, 2014.

A. FERRER ET AL. *CELLULOSE* 19, 2179, 2012.

D. KLEMM ET AL. *CHEM. INT.* 44, 2, 2005.

R. LI ET AL. *CARBOHYDR. POLYM.* 76, 94, 2009.

E. M. TEIXEIRA ET AL. *IND. CROP. PROD.* 33, 63, 2011.

N. WANG AND W. T. WINTER *BIOMACROMOLECULES* 5, 1671, 2004.
G. E. A. SWANN AND S. V. PATWARHAN CLIM. PAST. 7, 65, 2011.

E. K. BAHRIN ET AL. *BIORESOURCES* 7, 1784, 2012.

DESENVOLVIMENTO DE SISTEMA PARA SÍNTESE HIDROTÉRMICA DO Nb_2O_5 E AVALIAÇÃO DE SEU POTENCIAL FOTOCATALÍTICO

Paulo Henrique Eleuterio Falsetti[1], Douglas Mendes da Silva Del Duque[2], Thaís Aparecida Rodrigues[3], Vagner Romito de Mendonça[4]

[1] Graduando em Licenciatura em Física, IFSP, Câmpus Itapetininga, paulohefal7@gmail.com
[2] Graduado em Licenciatura em Física, IFSP, Câmpus Itapetininga, douglas.duque@ifsp.edu.br
[3] Graduanda em Licenciatura em Física, IFSP, Câmpus Itapetininga, thaisaprodrigues3@gmail.com
[4] Doutor em Ciências / Físico – Química, IFSP, Câmpus Itapetininga, vrm@ifsp.edu.br

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio

Resumo: Apesar de o Brasil ser o maior produtor de minerais contendo nióbio no mundo, programas governamentais sobre sua adequada exploração e comercialização são escassos. O óxido de nióbio (Nb_2O_5), se destaca por conta de suas promissoras características estruturais, eletrônicas e superficiais. Assim, fica clara a necessidade de pesquisas envolvendo aplicações destes em concordâncias com interesses nacionais. Desta forma, este projeto visou o desenvolvimento de um sistema para síntese do óxido utilizando-se metodologia conhecida. Como precursor do Nb foi utilizado o oxalato amoniacal de nióbio, que recebeu tratamento térmico à 100 ºC em frascos de vidro em diferentes sistemas, estufa e banho de glicerina. Ambos os sistemas apresentaram resultados semelhantes no que concerne às características macroscópicas. Entretanto, como o sistema de aquecimento em estufa possibilita a síntese de um maior número de amostras concomitantemente, foi escolhido para prosseguimento dos estudos. Uma vez desenvolvido o sistema, o material foi sintetizado em diferentes condições de tempo e os sólidos resultantes foram empregados na degradação do corante azul de metileno por fotocatálise heterogênea. Todos os materiais mostraram poder de adsorção do corante, e aquele obtido em menor tempo apresentou maior eficiência. Os resultados demonstram a aplicabilidade do processo na busca de materiais de interesse ambiental.
Palavras-chave: Óxido de Nióbio; Nanomateriais; Síntese Hidrotérmica; Fotocatálise Heterogênea

DEVELOPMENT OF A SYSTEM FOR HYDROTHERMAL SYNTHESIS OF Nb_2O_5 AND EVALUATION OF THE PHOTOCATALYTIC POTENTIAL

Abstract: Despite the fact that Brazil is the largest niobium-containing minerals producer in the world, government programs on its proper exploitation and commercialization are scarce. Niobium oxide presents promising structural, electronic and surface characteristics. Considering the above, it is clear the need for basic research involving the preparation and applications of Nb_2O_5 in accordance with national interests. Thus, this project aimed the development of a system for hydrothermal systhesis of Nb_2O_5 by applying a known methodology. Niobium ammonium oxalate was used as Nb source, reacted with H_2O_2 and treated at 100 ºC in glass bottles in different systems, lab stove and glycerin bath. Both systems presented similar results. However, since the lab stove makes possible various synthesis in the same time, it was chosen for the study. The materials were then synthesized at different times and further tested for their photoactivity against Methylene Blue (MB) photodegradation. All of the materials showed great adsorption capability of the cationic dye, and the material obtained in lower treatment time presented higher efficiency. The results demonstrate the applicability of the process in the search for materials of environmental interest.
Keywords: Niobium Oxide; Nanomaterials; Hydrothermal Synthesis; Heterogeneous Photocatalysis

1 INTRODUÇÃO

O nióbio é um metal raro, sendo sua abundância de 20 ppm (LOPES, 2013, p. 12). No entanto, cerca de 98% das reservas conhecidas desse elemento se encontram no Brasil, o que o torna um

verdadeiro monopólio brasileiro. Sendo o Brasil maior detentor das reservas exploráveis do metal nióbio mundiais, o maior produtor e exportador (LOPES *et.al.*, 2015), além do atual crescente uso deste na indústria tecnológica, o Ministério de Minas e Energia do Brasil (LIMA, 2010) publicou material incentivando o seu uso nas indústrias siderúrgicas e metalúrgicas, o que refletiu no aumento do fomento de pesquisas de diferentes setores que empreguem este metal. O nióbio possui várias aplicações, dentre elas: automóveis; turbinas de avião; gasodutos; tomógrafos de ressonância magnética; indústrias aeroespacial, bélica e nuclear. Sob essas circunstâncias, é imprescindível que o Brasil invista em pesquisas direcionadas a esse metal, visando valorizar as suas.

O pentóxido de nióbio (Nb_2O_5) é um dos mais importantes compostos do nióbio. O Nb_2O_5 é um sólido branco, estável no ar e insolúvel em água. Possui características anfotéricas, podendo ser dissolvido em ácidos fortes e em bases fracas. O Nb_2O_5 apresenta alta complexidade estrutural por causa do polimorfismo encontrado neste material, o qual está relacionado às variáveis de preparação, como a natureza dos precursores, o tempo e a temperatura de tratamento. Suas propriedades físicas e químicas o fazem um material promissor para aplicação em sensor de gases, catálise, células fotovoltaicas e em componentes eletrocrômicos (LOPES, 2013, p. 12-13).

O dióxido de titânio, graças às suas propriedades, é o semicondutor mais utilizado e que possui melhores resultados em processos de fotocatálise heterogênea para a degradação de contaminantes em corpos aquáticos. Contudo, vem surgindo incentivos para que se possa utilizar outros óxidos alternativos. Neste contexto se insere o Nb_2O_5, que possui adequados valores de banda proibida (TANAKA *et.al.*, 1993) e potenciais de oxidação e redução de elétrons e buracos formados quando excitado, fazendo com que este se torne uma viável alternativa ao TiO_2. (PRADO, PEDROSO e MOURA, 2008).

Diante do exposto, este trabalho teve por objetivo o desenvolvimento de um sistema para a síntese hidrotérmica do Nb_2O_5, aplicação deste sistema para obtenção de uma coleção de amostra e o estudo de suas propriedades frente á capacidade de remoção do corante Azul de Metileno (MB) de sistemas aquosos, como alternativa ao TiO_2, de modo a se agregar valor a este metal de grande importância econômica para o país.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Síntese - Anteriormente às sínteses, realizou-se testes com o sistema reacional de autoclave de frasco de vidro tendo em vista conhecer as suas condições de funcionamento. Definida as limitações do funcionamento do sistema, as sínteses (LEITE, 2006) consistiram em dissolver 2,0 g de oxalato amoniacal de nióbio ($NH_4[NbO(C_2O_4)_2(H_2O)_2]n.H_2O$, fornecido pela CBMM) em 50 mL de uma solução aquosa contento 4 mL de H_2O_2 (30 %, Dinâmica). Posteriormente à dissolução do sólido, houve a formação de uma solução de coloração amarelada a qual foi tratada termicamente a uma temperatura controlada de 100 ºC por 3 horas em diferentes sistemas: estufa e banho de glicerina com agitação. Os pós obtidos foram lavados até que o sobrenadante atingisse o pH da água de lavagem, centrifugados e submetidos a um processo de secagem a 50 ºC em estufa. Esses materiais serão posteriormente caracterizados com o objetivo de se conhecer as fases cristalinas formadas. Posteriormente, a síntese foi efetuada em estufa por diferentes períodos de tempo. As amostras foram identificadas de acordo com o tempo de tratamento.

Estudo das Propriedades Fotocatalíticas dos Materiais - Para os testes de fotocatálise heterogênea, foram adicionados em béqueres 20 mL de solução de MB a 10 $mg.L^{-1}$ e 5 mg dos compostos previamente sintetizados. Em um dos béqueres foi colocado apenas a solução do corante, para ser o branco do experimento. Para verificar a capacidade de adsorção dos materiais, os béqueres foram deixados no escuro por 30 minutos antes de começar os testes. Os béqueres foram posicionados simetricamente no fotorreator e expostos à radiação UV (254 nm) por diferentes períodos de tempo. Para medida do decaimento percentual da concentração do MB foi utilizado espectrofotômetro FEMTON 600 S no comprimento de onda de máxima absorção do corante – 664 nm.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A síntese foi realizada em duas situações diferentes. Na estufa a síntese foi realizada com a temperatura controlada, no entanto não havia garantia de homogeneidade da solução aquosa no

interior da autoclave (Fig. 1a). Desta maneira, a síntese foi testada em um outro sistema, banho de glicerina (Fig. 1b), com controle da temperatura através de um termopar acoplado e agitação magnética, a qual proporcionava maior homogeneidade térmica da solução no interior da autoclave. Ambos os testes resultaram em materiais macroscopicamente semelhantes.

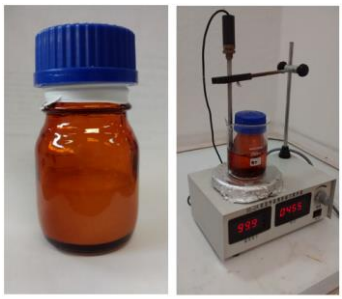


Figura 1. (a) Autoclave de frasco de vidro utilizada nas sínteses; (b) Sistema de aquecimento acoplado à agitação.

Estes materiais foram testados quanto suas capacidades em descolorir uma solução de MB e os resultados são apresentados na Fig. 2. O sistema permaneceu no escuro por 12 h antes do ensaio fotocatalítico para verificar a capacidade de adsorção do corante sobre o óxido.

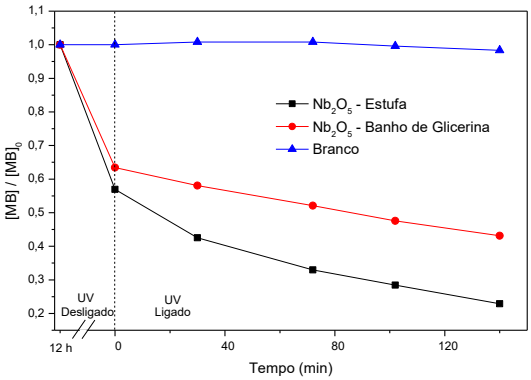


Figura 2. Decaimento percentual de [MB] (mg/L) com o tempo (min).

No período de 12 h no qual os sistemas permaneceram no escuro, nota-se que houve diminuição da concentração do corante, em torno de 40 %. Além disso, foi possível observar visualmente que houve adsorção do corante sobre os pós utilizados na fotocatálise. Como observado na Fig. 1, o material obtido na síntese realizada em estufa apresentou uma maior eficiência do que aquele obtido em banho de glicerina, mesmo o primeiro não apresentando uniformidade de temperatura em seu interior durante a formação do óxido. Desta forma, em estudos seguintes a estufa foi sistematicamente empregada na síntese do material, uma vez que este sistema permite a realização de diversas sínteses de forma concomitante, aumentando-se assim o rendimento energético da reação.

A Tabela 1 apresenta o rendimento das reações em diferentes tempos de tratamento, mostrando que o rendimento máximo é obtido por volta de 24 h de tratamento nas condições impostas.

Tabela 1. Rendimento em massa das reações em diferentes tempos de tratamento hidrotérmico.

Amostra	4 h	12 h	24 h	48 h
Massa (g)	0,0364	0,2496	0,2906	0,2808

A Figura 3 apresenta o decaimento percentual da concentração de MB com o tempo. Todas as amostras apresentaram alto poder de adsorção após 30 minutos na ausência de luz.

O gráfico demonstra o potencial de aplicação do Nb_2O_5 no processo estudado, visto que todos os pós aceleraram a degradação do corante frente ao branco de experimentos. Interessantemente, nota-se que variando o tempo de síntese, o potencial fotocatalítico das amostras também se altera. Isto

ocorre, possivelmente, devido a variações nas características morfológicas e superficiais das amostras, fato este que está sob investigação.

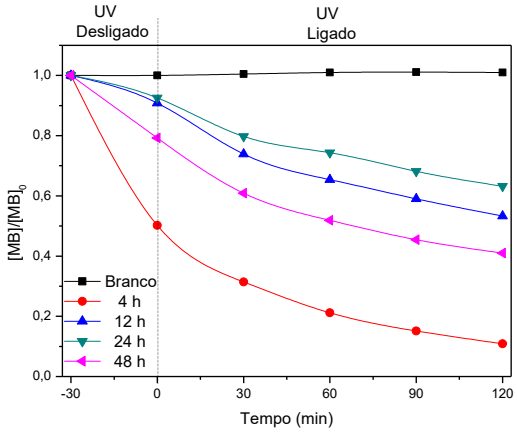


Figura 3. Decaimento percentual da concentração do MB com o tempo após exposição à radiação UV.

Ainda, para verificação da capacidade total de adsorção das amostras, estas foram deixadas com a solução do corante por várias horas e a absorbância final foi desprezível, confirmando-se a alta capacidade do material de se adsorver compostos catiônicos, tais quais o MB.

4 CONCLUSÃO

Este trabalho demonstra a aplicabilidade da técnica de síntese estudada na obtenção de materiais com potencial atividade fotocatalítica. As diferentes fotoatividades dos compostos alcançadas variando-se apenas um único parâmetro de síntese, o tempo de tratamento, mostra que o sistema é adequado para a obtenção de uma gama de compostos com diferentes características morfológicas, estruturais e superficiais.

AGRADECIMENTOS

IFSP pela bolsa concedida (PIBIFSP - Edital nº 723/2016), CNPq pelo auxílio financeiro (Processo 468956/2014-0) e bolsa PIBITI (Processo 800694/2016-3) e CBMM – Cia Brasileira de Metalurgia e Mineração, fornecedora do oxalato amoniacal de nióbio.

REFERÊNCIAS

LIMA, J. M. G. Relatório Técnico 20 – Perfil da Mineração do Nióbio, Ministério de Minas e Energia, 2010.

LOPES, O. F. et. al. Niobium oxides: An overview of the synthesis of Nb2O5 and its application in heterogeneous photocatalysis. Quím. Nova **2015**, 38, 106.

PRADO, A. G. S. et. al. Nb_2O_5 as efficient and recyclable photocatalyst for indigo carmine degradation. Appl. Catal. B: Environ. **2008**, 82, 219.

TANAKA, T. et. al. Preparation of highly dispersed niobium oxide on silica by equilibrium adsorption method. Catal. Today **1993**, 16, 297.

LEITE, E. R. et. al. Synthesis of niobia nanocrystal with controlled morphology. J. Phys. Chem. C, **2006**, 110 (37), 18088.

LIBERAÇÃO LENTA/CONTROLADA DE NUTRIENTES POR MEIO DE HIDROGÉIS NANOCOMPÓSITOS MODIFICADOS COM ALTOS TEORES DE ARGILOMINERAL.

Adriel Bortolin[1,2], Fauze A. Aouada[3], Luiz H. C. Mattoso[2], Caue Ribeiro[2]

[1]Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, 13565-905, São Carlos, SP, Brazil (adrielbortolin@gmail.com)
[2]Laboratório Nacional de Nanotecnologia aplicado ao Agronegócio (LNNA) - Embrapa Instrumentação (CNPDIA), 13560-970, São Carlos, SP, Brazil
[3]Departamento de Física e Química, Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista – UNESP, 15385-000 Ilha Solteira – SP, Brazil.

Classificação: Liberação controlada de Fertilizantes.

Resumo
Umas das alternativas interessantes para a otimização do uso de fertilizantes e nutrientes na agricultura é o uso de hidrogéis como veículos carreadores. Nesse trabalho desenvolveu-se um hidrogel nanocompósito de poliacrilamida e carboximetilcelulose modificados com altos teores de argilomineral utilizados em sistemas de liberação lenta/controlada de ureia. Parte dos nanocompósitos foram submetidas a um tratamento de hidrólise, o qual melhorou significativamente a capacidade de retenção e liberação de ureia pela matriz polimérica chegando a valores expressivos, como cerca de 80g de nutriente liberado por grama de nanocompósito seco.
Palavras-chave: Hidrogel Nanocompósito, Poliacrilamida, Montmorilonita, Liberação Controlada de Fertilizantes.

TÍTULO EM INGLÊS: CONTROLLED/LOW RELEASE OF NUTRIENTS BY NANOCOMPOSITE HYDROGES MODIFIED WITH HIGH ARGILOMINERAL CONTENT

Abstract
One of the interesting alternatives for optimizing the use of fertilizers and nutrients in agriculture is the use of hydrogels as carrier vehicles. In this work, a nanocomposite hydrogel composed of polyacrylamide and carboxymethylcellulose modified with high amount of clay was developed and applied in slow / controlled release systems of urea. Part of the nanocomposites were subjected to a hydrolysis treatment, which improved significantly the retention and release capacity of urea by the polymer matrix reaching expressive values, such as about 80 g of nutrient released per gram of dry nanocomposite.
Keywords: Nanocomposite Hydrogel; Polyacrylamide; Montmorillonite clay; Controlled Release of Fertilizer.

Publicações relacionadas: Bortolin, A et al. Macro- and Micronutrient Simultaneous Slow Release from Highly Swellable Nanocomposite Hydrogels. Journal Agriculture and Food Chemistry – 2016.

1 INTRODUÇÃO

O nitrogênio é um dos elementos essenciais para a boa fertilidade do solo, dentre as opções comerciais disponíveis para a sua aplicação, um dos economicamente viáveis é a ureia $CO(NH_2)_2$. No entanto, este a ureia em si não é muito eficiente como fertilizante (Ni, B et al.,2011). A perda de nitrogênio via volatilização da amônia é um dos principais fatores responsáveis pela baixa eficiência da ureia aplicada na superfície do solo. A quantidade de nitrogênio perdido através da volatilização, após a aplicação da ureia na superfície do solo, pode atingir valores extremos próximos de 80% (Pereira, E. I. et al., 2012). Isso justifica o grande interesse em desenvolver alternativas que permitam a liberação controlada/lenta de nitrogênio no solo, gerando uma melhor administração desse nutriente, e um dos candidatos para ser o veículo carreador são os hidrogéis.

Neste trabalho, foi realizado a síntese de um novo hidrogel nanocompósito, composto de poliacrilamida (PAAm), utilizando o polissacarídeo biodegradável carboximetilcelulose (CMC) e o argilomineral montmorilonite cálcica (MMt) como modificantes. Tais materiais foram caracterizados frente às suas propriedades hidrofílicas, espectroscópicas, cinéticas, estruturais, morfológicas, térmicas e capacidade de dessorção controlada da ureia.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os hidrogéis compostos de PAAm, CMC e MMt foram obtidos através da reação de polimerização via radical livre do monómero de acrilamida (AAm, Fluka) em solução aquosa contendo carboximetilcelulose (CMC) e montmorilonita cálcica (MMt). Adicionou-se a mistura N, N, N ', N' - tetrametiletilenodiamina (TEMED) como catalizador. A concentração de MMT foi variada em relação à massa de AAm + MC utilizada na síntese. A síntese de hidrogéis foi iniciada por uma primeira solubilização de AAm em água seguido por uma dispersão de MMT em solução de AAm. O agente de reticulação MBAAm e TEMED foram adicionados e foram agitados mecanicamente durante 30 min. Depois de preparar a mistura, borbulhou nitrogênio na solução por 20 minutos para remover o oxigênio. Finalmente, foi adicionado persulfato de sódio ($Na_2S_2O_8$) para iniciar a reação de polimerização via radical livre. Os hidrogéis foram então designados como hidrogel (1:1) ou (50% de hidrogel: 50% MMt em peso); hidrogel (3:1) ou (75% de hidrogel e 25% de MMt); hidrogel (1:0) ou (hidrogel puro), sem a presença de argilominaral.

O processo de hidrólise consiste em um tratamento iniciado com hidrogéis secos que foram colocados em uma solução de NaOH 0,5 mol L^{-1} onde foram levados a estufa e mantidos a 75 ºC durante 18 horas. Os hidrogéis hidrolizados foram colocados em água Milli-Q® e o grau de intumescimento foi monitorado durante 24 horas.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 apresenta os difratogramas de raios-X dos nanocompósitos sintetizados que passaram ou não pelo tratamento de hidrólise.

O difratograma de raios-X da argila pura mostrou um pico intenso em 2 = 6,56º, referente ao plano basal e correspondendo a uma distância interlamelar d001 = 1,35 nm, na qual identifica-se a fase montmorilonita, como esperado. Observa-se ainda os picos a 25 e 27º, correspondentes a possíveis contaminações com quartzo, comumente identificadas em materiais de origem mineral (Jiantao, L., et al, 2009). Pode-se observar ainda para o hidrogel puro picos de difração em 28, 31, 38 e 45º, correspondendo a distancias interplanares de 3.18, 2.88, 2.63 e 2.09 Å. Nos materiais nanocompósitos, não foram observados picos característicos da argila na região entre 2 = 3-10º, indicando boa nanodispersão (intercalação) e esfoliação das plaquetas de argila na matriz de hidrogel para todas as condições, à exceção da condição 50% MMt [hidrogel (1:1)], onde o plano basal deslocou-se para 3,90º, o que corresponde a d_{001} = 2,26 nm. Este comportamento era esperado, visto que neste maior teor de argila, há menor quantidade de hidrogel para separação das lamelas. Porém, o deslocamento do plano basal mesmo nesta condição indica a boa interação do argilomineral com o hidrogel. Por outro lado, observou-se que o processo de hidrólise facilitou a nanodispersão (intercalação) e esfoliação das plaquetas de argila na matriz de hidrogel, permitindo mesmo na condição com maior teor de MMt (Hidrogel 1:1 Hd.) o desaparecimento do plano basal.

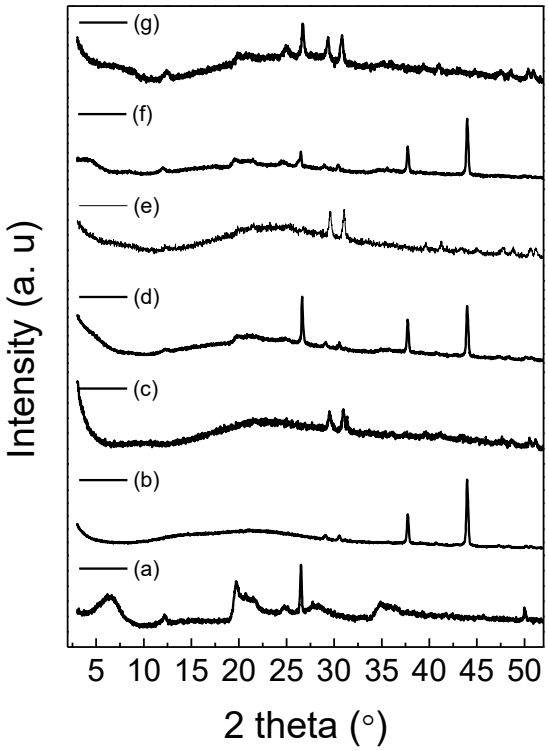


Figura 1. Difratrogramas (DRX) para (a) argilomineral MMT; (b) (1: 0) hidrogel puro; (c) (1: 0) hidrogel puro hidrolisado; (d) (3: 1) hidrogel; (e) (3: 1) hidrogel hidrolisado; (f) (1: 1) hidrogel; (g) (1: 1) hidrogel hidrolisado.

Os ensaios de liberação controlada de ureia foram realizados em diferentes valores de pHs (4, 7 e 9) e observou-se que em todos os nanocompósitos a liberação é influenciada pela mudança de pH, tanto os hidrogéis hidrolisados como não hidrolisados que apresentaram a mesma tendência de liberação, ou seja, quanto maior o valor de pH, maior os valores absolutos de liberação de ureia, porém além de aumentar a capacidade de intumescimento, melhorar a dispersão da argila no polímero, o tratamento de hidrólise interfere significativamente no processo de dessorção controlada de ureia aumentando em média 7 vezes a quantidade de nutriente liberado para os hidrogéis com maiores teores de montmorilonita cálcica (1:1). Foi também observado que o tempo de dessorção aumentou de 72 horas para valores próximos a 200 horas. Sendo que a partir desse tempo a liberação permaneceu sustentada, o que é altamente recomendado quando se visa à aplicação de hidrogéis em sistemas de liberação prolongada. A Figura 2 mostra as curvas de dessorção controlada de ureia em função do tempo para os diferentes tipos de hidrogéis hidrolisados e diferentes valores de pH.

Nota-se que os hidrogéis nanocompósitos hidrolisados conseguem carrear consigo uma quantidade de ureia muito superior a sua massa inicial, chegando em alguns casos a valores como 80 gramas de ureia por 1 grama de hidrogel.

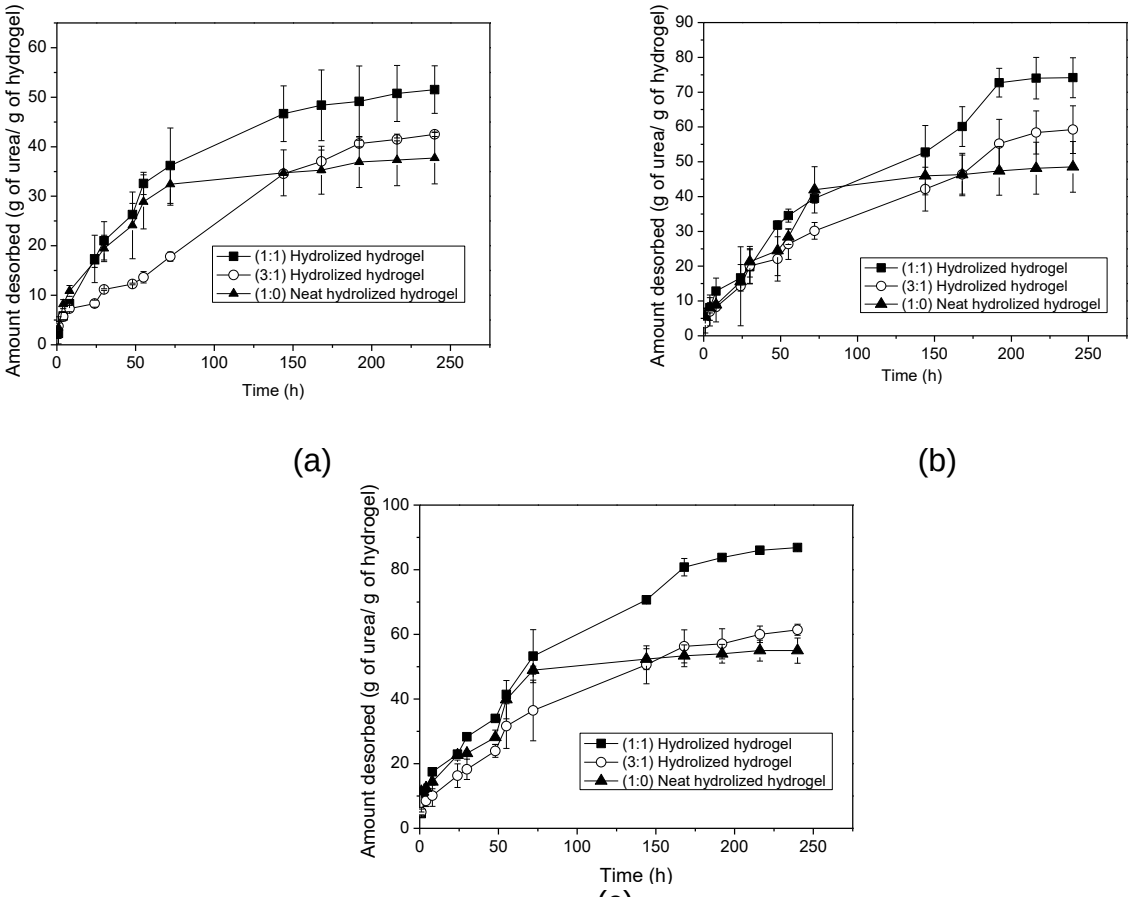


Fig. 2. Dessorção controlada de ureia em diferentes valores de pH`s (a) 4; (b) 7 e (c) 9; para os hidrogéis hidrolisados.

4 CONCLUSÃO

A hidrólise dos hidrogéis facilita grandemente a dispersão de MMt. De uma maneira geral, a presença do mineral de argila melhora algumas propriedades dos hidrogéis e eles fazem com que o hidrogel libera o nutriente de uma maneira mais prolongada, liberando a ureia cerca de 72 vezes mais lenta no hidrogel sem o tratamento de hidrólise e para cima para 192 vezes mais lenta para os hidrogéis hidrolisados, se comparado a liberação da ureia pura em água. Com base nesses resultados, destacamos o potencial e a viabilidade da aplicação desses nanocompósitos em sistemas de liberação lenta ou controlada de ureia. Além disso, estes hidrogéis de nanocompósitos apresentaram uma capacidade de carregamento e liberação de ureia ainda não relatada na literatura, cerca de 80 g por g de hidrogel hidrolisado seco.

AGRADECIMENTOS

EMBRAPA – FAPESP – UFSCar (departamento de Química) – CNPQ – CAPES - FINEP

REFERÊNCIAS

Ni, B et al., Agriculture and Food Chemistry. 59, 10169, 2011
Pereira, E. I. et al., Agriculture and Food Chemistr., 60, 5267, 2012
Jiantao, L.; Shimei, X. A.; Xiaomei, S.; Shun, F.;Jide, W. Polym. Advan. Technol., 2009, 20, 645.

INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DE NANOARGILA CLOISITA-NA$^+$ NA ESTABILIDADE TÉRMICA DE HIDROGÉIS NANOCOMPÓSITOS INTERCALADOS DE ALGINATO DE CÁLCIO

Renan S. Fernandes*, Marcia R. de Moura e Fauze A. Aouada

*UNESP – Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Grupo de Compósitos e Nanocompósitos Híbridos (GCNH), Departamento de Física e Química (DFQ), Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais, Faculdade de Engenharia da Unesp de Ilha Solteira (FEIS), Ilha Solteira, SP, Brasil. *e-mail: r.feernandes@yahoo.com.br*

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio.

Resumo
O presente trabalho apresenta a síntese de hidrogéis nanocompósitos obtidos por meio de alginato de sódio e nanoargila cloisita-Na$^+$ reticulados com cloreto de cálcio (íons Ca^{2+}). O objetivo do trabalho foi determinar a conformação da nanoargila na estrutura polimérica e analisar sua influência nas propriedades térmicas de seus nanocompósitos. Mediante a técnica de difração de raios-X foi possível determinar a intercalação da nanoargila nos hidrogéis, e observou-se por meio da análise termogravimétrica TG que a estabilidade térmica dos hidrogéis aumentou significativamente com a intercalação da mesma.
Palavras-chave: Hidrogel; Nanoargila; Nanocompósito; Alginato de sódio; Estabilidade térmica.

INFLUENCE OF THE CONCENTRATION OF CLOISITE-NA$^+$ NANOCLAY ON THERMAL STABILITY OF INTERCALATED CALCIUM ALGINATE NANOCOMPOSITE HYDROGELS

Abstract
The present work presents the synthesis of nanocomposite hydrogels obtained by sodium alginate and cloisite-Na$^+$ nanoclay crosslinked with chloride calcium (ions Ca^{2+}). The purpose of this work was to determine the conformation of the nanoclay in the polymeric structure and to analyze its influence on the thermal properties of these nanocomposites. From X-ray diffraction technique, it was possible to determine the intercalated of the nanoclay in the hydrogel matrix. In addition, it was observed from thermal analysis that the thermal stability of the nanocomposites improved with the intercalation of the nanoclay.
Keywords: Hydrogel; Nanoclay; Nanocomposite; Sodium alginate; Thermal stability.

Publicações relacionadas: Apresentado de forma oral no 14° Congresso Brasileiro de Polímeros (CBPol); FERNANDES, R. S.; MOURA, M. R. de; AOUADA, F. A. Otimização da síntese de hidrogéis nanocompósitos intercalados para possível aplicação na área médica. Química Nova. v. 40, n. 1, p. 60-67, 2017.

1 INTRODUÇÃO

Atualmente a classe de materiais poliméricos se destaca devido as suas excelentes propriedades e facilidade de aplicação. Aplicações passando desde biomedicina até a agricultura revelam a potencialidade desses materiais. Para utilização na medicina os principais requisitos é que o material seja atóxico, compatíveis ao tecido vivo e oferecer bem-estar ao indivíduo (AMARAL, 2009).

O alginato de sódio é um polissacarídeo que tem sido intensamente estudado, visto que estes apresentam atoxicidade, biodegradabilidade, biocompatibilidade, baixo custo, entre outras propriedades (LEE e MOONEY, 2012). O alginato de sódio é estruturado por blocos de ácido β-D-manurônico (M) e ácido α-L-gulurônicos (G) (WILLIAMS, 2009).

Por sua vez, os hidrogéis são polímeros constituídos por redes poliméricas tridimensionais hidrofílicas, capazes de absorver elevada quantidade água em seu interior. Os hidrogéis possuem a

característica de liberação controlada de água ou fluído biológico, isso traz ao consumidor um maior tempo de exposição do solvente no local aplicado em concentrações específicas. Deste modo, a utilização de hidrogéis para liberação controlada de fármacos mostra-se interessante e promissora. Os sistemas de liberação controlada especificamente para área médica têm o objetivo de diminuir o número de dosagens e manter a concentração do fármaco a níveis efetivos (LYRA et al., 2007).

A utilização de nanoestruturas para formulações de hidrogéis para aplicação nesses sistemas é cada vez mais constante, visto que esses materiais promovem de alguma forma a melhora das propriedades da matriz, seja mecânica, térmica ou da absorção ou liberação lenta. Um desses materiais utilizados são as nanoargilas. Argilas são argilominerais inorgânicos compostos por silicatos de Al, Mg, e Fe hidratados. Sua estrutura é constituída por repetições de camadas tetraédricas de SiO_4 organizados de modo hexagonal compactados em camadas octaédricas de hidróxidos dos metais (Al, Mg, Fe) com átomos trocáveis entre elas (PAIVA et al., 2008). Quando a argila é incorporada na matriz polimérica, esta apresenta mais que um possível tipo de conformação. A maneira a qual esta se entende ao longo da cadeia polimérica interfere nas propriedades do nanocompósito final. As conformações atribuídas a este material são: intercalada ou esfoliada, ou a combinação de ambas (GARCIA, 2010).

Com base nas propriedades desses materiais, o objetivo deste trabalho foi sintetizar hidrogéis nanoestruturados com nanoargila Cloisita-Na^+ em diferentes formulações e verificar sua influência nas propriedades térmicas e estruturais dos nanocompósitos obtidos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Síntese dos hidrogéis nanocompósitos com nanoargila Cloisita-Na^+

Na síntese dos nanocompósitos utilizou-se 3 béqueres, sendo adicionadas em cada um as respectivas concentrações de cloreto de cálcio ($CaCl_2$): 1; 2,5 e 5%. Sobre a solução salina gotejou controladamente uma solução de 2% alginato de sódio + 1% de argila. Os grânulos de hidrogéis nanocompósitos formados ficaram sob agitação magnética na solução reticuladora. Logo após o tempo determinado, os grânulos foram separados e secos em temperatura ambiente. O mesmo procedimento foi utilizado para realização da síntese dos hidrogéis contendo 2,5% e 5% argila.

2.2 Caracterização estrutural por difração de raios-X

As propriedades estrutural e de conformação da nanoargila cloisita-Na^+ na matriz polimérica foram determinadas por meio da técnica de difração de raios-X. O espaçamento interplanar (d) foi determinado segundo a lei de Bragg, representada na Eq. 1:

$$n.\lambda = 2.d.sen\theta \quad (1)$$

onde n corresponde o número inteiro de comprimento de onda; λ representa o comprimento de onda da radiação incidente; θ representa o ângulo de incidência que é medido entre o feixe incidente e o plano da amostra.

2.3 Análise termogravimétrica (TG) e análise termogravimétrica diferencial (DTG)

Amostras entre 7 a 10 mg foram aquecidas aplicando uma rampa de aquecimento de temperatura ambiente até 800°C com razão de aquecimento de 10°C/min. As vazões de gás nitrogênio foram de 40,0 mL/min na balança e 60,0 mL/min na amostra.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Difração de raios-X

De acordo com o espectro da nanoargila (Fig. 1), o pico característico do plano cristalino (001) foi encontrado em 2θ = 7,4° com espaçamento basal d = 1,18 nm. Já para os hidrogéis nanocompósitos, o pico característico de difração da cloisita-Na^+ foi encontrado em 2θ = 5,7° para todas as formulações. Deste modo, o espaçamento basal aumentou de 1,18 nm na nanoargila pura para

1,54 nm nos hidrogéis nanocompósitos. Este aumento é um indício significativo de que a nanoargila está conformada na matriz polimérica de maneira intercalada, visto que intercalações causam diminuição no ângulo 2θ e consequentemente um aumento no espaçamento basal. O aumento do espaçamento pode ser atribuído ao hidrogel e suas maiores dimensões, que provavelmente está ocupando o lugar dos íons sódio entre as camadas da nanoargila e expandindo-as (MALLAKPOUR e SHAHANGI, 2013; WOKADALA et al. 2015).

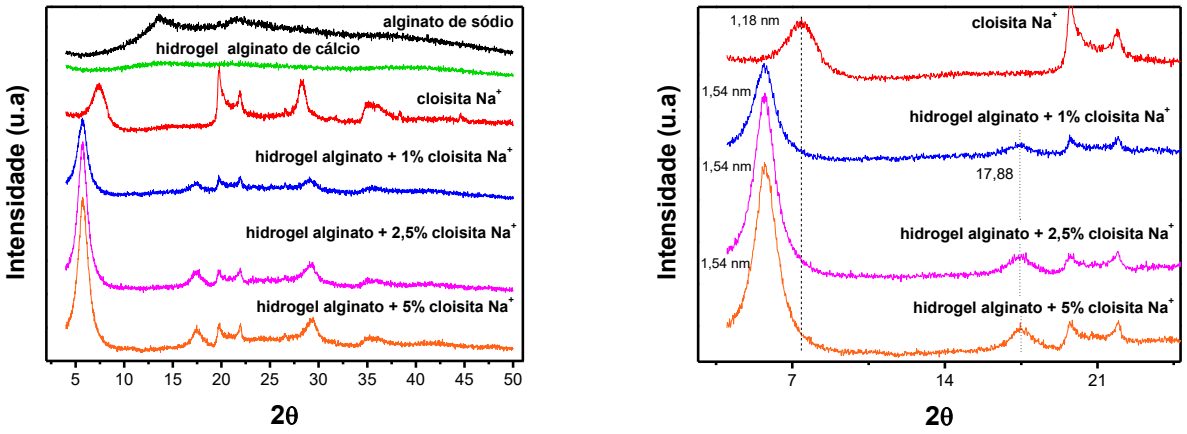


Figura 1. (a) difratograma de raios-X do alginato de sódio, do hidrogel de alginato de cálcio e dos hidrogéis nanocompósitos contendo argila; (b) ampliação do difratograma na região de intercalação.

3.2 Análise termogravimétrica (TG) e análise termogravimétrica diferencial (DTG)

Com o intuito de determinar a estabilidade térmica dos hidrogéis, foram realizadas análises de TG da nanoargila pura e dos hidrogéis nanocompósitos. Pode-se observar nos termogramas (Fig. 2a e 2b) que a temperatura inicial para degradação, atribuída à quebra da cadeia carbônica, aumentou gradativamente de 212 para 222°C quando o teor de argila variou de 0 para 5%. Esse resultado comprova que a nanoargila aumenta a estabilidade térmica dos hidrogéis.

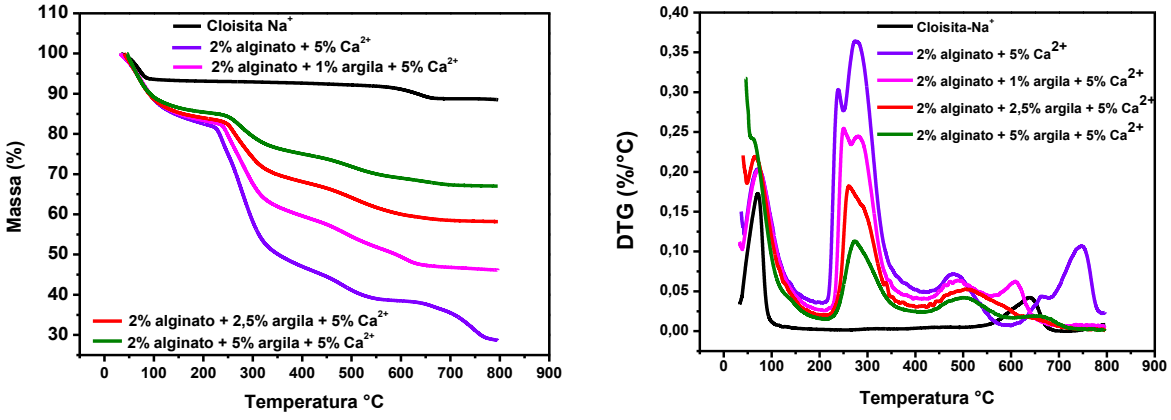


Figura 2. Curvas termogravimétricas (a) e termogravimétricas diferencias (DTG) (b) da cloisita-Na^+ pura, dos hidrogéis de alginato de cálcio e dos hidrogéis nanocompósitos contendo diferentes teores de nanoargila.

Em relação aos hidrogéis nanocompósitos observa-se que a quantidade de massa perdida pela cadeia polimérica é cada vez menor quando se aumenta a concentração da nanoargila (Fig. 2b). Portanto, como o alginato e a nanoargila são miscíveis entre si houve uma facilidade para que os hidrogéis se intercalassem entre as camadas da nanoargila. Desta maneira, os grupos carboxílicos (-

COO^-) do alginato provavelmente estão interagindo com os grupamentos hidroxilas (-OH) da nanoargila (FERNANDES et al., 2017) promovendo interações do tipo ligações de hidrogênio, necessitando de uma energia extra para fragmentar as mesmas cadeias poliméricas. As camadas da nanoargila possivelmente estão funcionando também como uma barreira protetora, evitando o contato do material orgânico com o calor externo, fazendo com que haja um aumento no isolamento térmico reduzindo a taxa de degradação do hidrogel (RAFIEI e GHOMI, 2013; ILIESCU et al., 2014).

4 CONCLUSÃO

De acordo com a técnica de difração de raios-X foi possível determinar a conformação intercalada da nanoargila na matriz polimérica do hidrogel. Além disso, a técnica termogravimétrica TG comprovou que a nanoargila aumentou a estabilidade térmica dos hidrogéis e também atuou como uma barreira protetora diminuindo a quantidade de massa perdida.

AGRADECIMENTOS

UNESP, CNPq (132357/2014-3.), FAPESP e EMBRAPA INSTRUMENTAÇÃO pela ajuda técnica, apoio financeiro e concessão da bolsa de estudo e de pesquisa.

REFERÊNCIAS

AMARAL, R. H. Estudo da incorporação e liberação de um extrato de algas vermelhas em membranas de hidrogel. Dissertação de Mestrado, Instituto de Pesquisa Energética e Nucleares, Universidade de São Paulo, USP, São Paulo, 2009.

FERNANDES, R. S.; MOURA, M. R. de; AOUADA, F. A. Otimização da síntese de hidrogéis nanocompósitos intercalados para possível aplicação na área médica. Química Nova, v. 40, n. 1, p. 60-67, 2017.

GARCIA, C. P. Síntese e caracterização de nanocompósitos à base de poliuretano dispersos em água com argilas hidrofílicas e organofílicas. Dissertação de Mestrado, Instituto de Química, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, UERJ, Rio de Janeiro, 2010.

ILIESCU, R. I. et al. Montmorillonite-alginate nanocomposite as a drug delivery system – incorporation and in vitro release of irinotecan. International Journal of Pharmaceutics, v. 463, n. 2, p. 184 – 192, 2014.

LEE, K. Y.; MOONEY, D. J. Alginate: Properties and biomedical applications. Progress in Polymer Science, v. 37, n. 1, p. 106–126, 2012.

LYRA, M. A. M. de. et al. Sistemas matriciais hidrofílicos e mucoadesivos para liberação controlada de fármacos. Latin American Journal of Pharmacy, v. 26, n. 5, p. 784–793, 2007.

MALLAKPOUR, S.; SHAHANGI, V. Preparation and characterization of poly(vinyl alcohol)/organo-modified cloisite Na^+ with chiral *L*-leucine amino acid/TiO_2 nanocomposites. Polymer Science Series B, v. 55, n. 1–2, p. 44–51, 2013.

PAIVA, L. B. de; MORALES, A. R.; DÍAZ, F. R. V. Argilas organofílicas: características, metodologias de preparação, compostos de intercalação e técnicas de caracterização. Cerâmica, v. 54, n. 30, p. 213–226, 2008.

RAFIEI, B.; GHOMI, F. A. Preparation and characterization of the Cloisite Na^+ modified with cationic surfactants. Iranian Journal of Crystallography and Mineralogy, v. 21, n. 2, p. 25–32, 2013.

WILLIAMS, D. F. On the nature of biomaterials. Biomaterials, v. 30, n. 30, p. 5897–5909, 2009.

WOKADALA, O. C. et al. Morphology, thermal properties and crystallization kinetics of ternary blends of the polylactide and starch biopolymers and nanoclay: The role of nanoclay hydrophobicity. Polymer, v. 71, p. 82–92, 2015.

PROPRIEDADES HIDROFÍLICAS E ESPECTROSCÓPICAS DE BIONANOCOMPÓSITOS FORMADOS POR NANOARGILA LAPONITA RD E HIDROGEL DE POLI(ÁCIDO METACRÍLICO)

Carlos R. F. Junior*, Marcia R. de Moura, Fauze A. Aouada

*UNESP - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Grupo de Compósitos e Nanocompósitos Híbridos (GCNH), Departamento de Física e Química (DFQ), Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais, Faculdade de Engenharia da Unesp de Ilha Solteira (FEIS), Ilha Solteira, SP, Brasil. *e-mail: carlosjunior.engmec@gmail.com*

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio.

Resumo
Neste trabalho, foram sintetizados bionanocompósitos a partir de ácido metacrílico e composições variadas de nanoargila laponita RD por polimerização/reticulação via radical livre. As propriedades hidrofílicas foram investigadas por meio de medidas de grau de intumescimento e as espectroscópicas por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) com o objetivo de se obter bionanocompósitos com potencialidade de aplicação como veículos em sistemas de liberação controlada de insumos agrícolas.
Palavras-chave: Hidrogel; Nanocompósito; Hidrofilicidade; Propriedade espectroscópica.

HYDROPHILIC AND SPECTROSCOPIC PROPERTIES OF BIONANOCOMPOSITES FORMED FROM LAPONITE RD NANOCLAY AND POLY(METHACRYLIC ACID) HYDROGEL

Abstract
In this work, bionanocomposites formed from methacrylic acid (MAA) and laponite RD nanoclay in different concentration were synthesized by free radical polymerization reaction. The hydrophilic properties were investigated by swelling degree (Q) and the spectroscopic characterization was done by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), aiming to obtain bionanocomposites with great applicability as carrier vehicles in agricultural controlled release systems.
Keywords: Hydrogel; Nanocomposite; Hydrophilicity; Spectroscopic property.

Publicações relacionadas: Apresentado de forma oral no 14° Congresso Brasileiro de Polímeros (CBPol).

1 INTRODUÇÃO

Os polímeros são uma das classes de materiais mais versáteis com relevantes aplicações na área médica, engenharia e agricultura (VILLANOVA et al. 2010). Dentre as possíveis opções com potencialidade de aplicação na agricultura, mais especificamente em sistemas de liberação controlada de água e insumos agrícolas destacam-se matrizes poliméricas com excelente capacidade de absorção de água, denominadas por hidrogéis. A adequação dos hidrogéis como veículos de liberação controlada surgiu como um meio promissor por apresentarem propriedades tais como: biodegradabilidade, biocompatibilidade, atoxidade, baixo custo, etc. (HOFFMAN, 2012). Os hidrogéis são materiais hidrofílicos e insolúveis em água, sendo que suas cadeias poliméricas são formadas por reticulação química e/ou física (AHMED, 2015). Estes são capazes de absorver uma grande quantidade de água em um curto espaço de tempo e liberá-la controladamente. Podem ser quimicamente estáveis (hidrogéis químicos) ou podem se desintegrar e dissolver após um estímulo externo (hidrogéis físicos) (HOFFMAN, 2012). Fertilizantes e águas são fatores importantes que limitam a produção da agricultura, dependendo das condições climáticas e técnica de aplicação, a maior parte destes nutrientes podem não chegar ao seu destino (POURJAVADI, et al. 2012). Nesse

caso, o sistema de liberação controlada é uma excelente alternativa, pois liberam água e nutrientes de forma gradativa (AOUDA et al. 2010).

Uma estratégia importante para potencializar as propriedades do hidrogel está relacionada com a inclusão dos silicatos nanoestruturados, como zeólitas e nanoargilas. A incorporação destes materiais à matriz polimérica pode apresentar maior estabilidade térmica, resistência mecânica, capacidade de intumescimento, entre outras propriedades (MU et al. 2015). Do ponto de vista estrutural, a laponita RD, que foi a argila utilizada no trabalho, é uma hectorita sintética, que é caracterizada pela presença de folhas octaédricas contendo íons Mg^{2+} e L^{i+} intercalados entre folhas de sílica tetraédrica. Sua composição química é $Na_{0,7}[(Mg_{5,5}Li_{0,4})\ Si_8O_{20}(OH)_4]$ e possui algumas vantagens sobre as argilas naturais, como por exemplo a ausência de impurezas (óxidos de ferro, carbonatos, etc.). Apresenta uma célula unitária de forma semelhante a um disco com diâmetro cerca de 25 nm e uma espessura de 1 nm (CATALDO et al. 2015 e PEROTTI et al. 2014).

O objetivo desse trabalho foi avaliar a influência da concentração da nanoargila laponita RD nas propriedades de absorção de água dos bionanocompósitos formados por hidrogéis de poli(ácido metacrílico) (PMAA), assim como possíveis pontos de interações entre a matriz de PMAA e camadas de nanoargilas por meio da técnica de Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR).

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Síntese dos hidrogéis nanocompósitos contendo nanoargilas Laponita RD

Os nanocompósitos constituídos de PMAA e laponita RD foram obtidos através da polimerização e reticulação química dos monômeros (MAA) e agente de reticulação N'-N-metilenobisacrilamida (MBAAm) por polimerização via radical livre utilizando persulfato de potássio como iniciador.

2.2 Determinação do grau de intumescimento (Q)

A capacidade de absorção de água foi investigada por meio de medidas de grau de intumescimento (Q) em função do tempo. Os valores de Q foram determinados pelo quociente da massa intumescida (M_t) pela massa seca (M_s) dos hidrogéis.

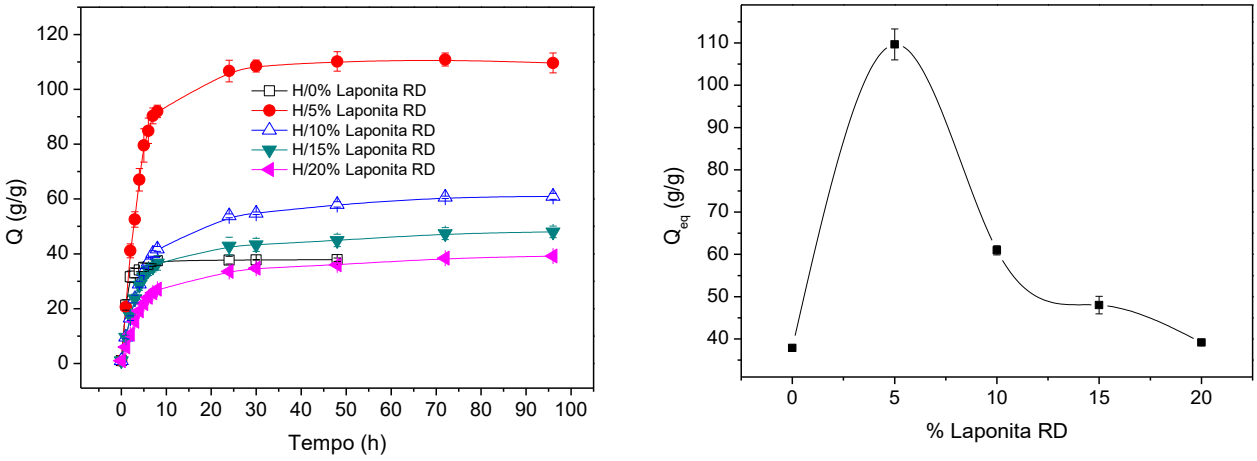
2.3 Espectroscopia de absorção no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Os hidrogéis intumescidos foram macerados e secos, posteriormente misturados a brometo de potássio (KBr) e prensados formando uma pastilha. Os espectros foram obtidos utilizando um espectrofotômetro Nicolet–NEXUS 670 FTIR, sendo registradas 128 varreduras de 4000 a 400 cm^{-1}, com resolução de 2 cm^{-1}.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Grau de Intumescimento (Q)

A Fig. 1a indica que inicialmente todos os nanocompósitos exibem rápida absorção de água, independente da concentração de nanoargila, diminuindo essa com o tempo até atingir o equilíbrio em aproximadamente 48 horas. A relação entre capacidade de absorver água no estado de equilíbrio (Q_{eq}) e quantidade de laponita RD nos nanocompósitos é mostrada na Fig. 1b. Em baixas concentrações, a presença da nanoargila aumenta a capacidade de intumescer do bionanocompósito, como pode-se observar na incorporação de 5% a ocorrência de um máximo no processo de absorção de água. Acredita-se que esse comportamento está relacionado ao fato que cátions presentes na nanoargila estar dispersos na rede polimérica aumentando a hidrofilicidade do bionanocompósito e o gradiente de pressão osmótica entre a rede e a solução externa, o que reflete em uma maior absorção de água pelos bionanocompósitos. No entanto, para maiores concentrações, as estruturas de nanoargila estão atuando como pontos adicionais de reticulação física entre as cadeias dos hidrogéis, o que as tornam menos flexíveis (RODRIGUES et al. 2013 e XIE e WANG, 2009), diminuindo sua capacidade de absorção de água.



(a) (b)

Figura 1. (a) Dependência do grau de intumescimento (Q) em função do tempo para diferentes concentrações de laponita RD; **(b)** Variação do grau de intumescimento no estado de equilíbrio (Qeq) em função da concentração de laponita RD.

3.2 Espectroscopia de absorção no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A técnica de FTIR foi utilizada para identificar os grupos principais da nanoargila laponita RD, PMAA e possíveis pontos de interações entre os mesmos nos bionanocompósitos, Fig. 2.

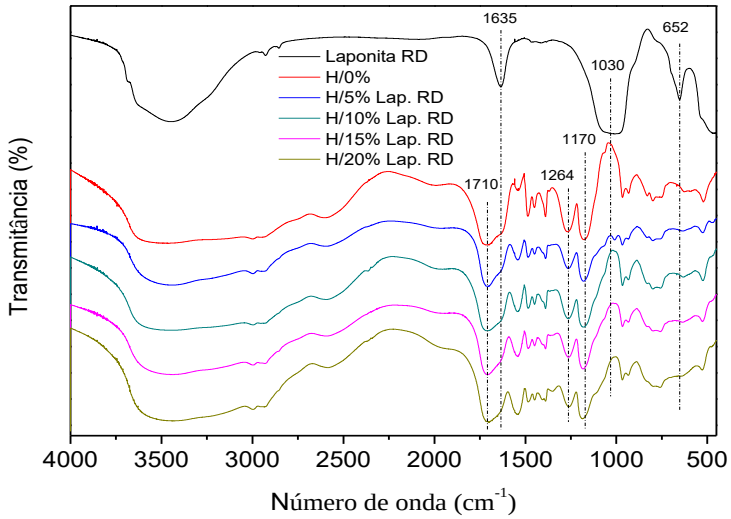


Figura 2. Espectros de FTIR referentes à laponita RD, PMAA e nanocompósitos PMAA/n% laponita RD.

O espectro de FTIR da Laponita RD mostrou bandas resultantes do alongamento assimétrico Si-O-Si da camada de silicato em 1030 cm^{-1}, e O-H estrutural e água adsorvida em 3300-3600 cm^{-1} e 1635 cm^{-1}, respectivamente. O pico em 652cm^{-1} é atribuído ao estiramento vibracional do grupo Si-OH (NAIR et al., 2016 e OLIVEIRA et al., 2014). No espectro do hidrogel de PMAA, há uma banda alargada entre 3260 e 3670 cm^{-1} atribuída às vibrações do grupo –COOH do ácido metacrílico intensificada pelos grupamentos N-H do agente de reticulação MBAAm. A banda intensa em 1710 cm^{-1} refere-se à deformação axial do grupamento C=O. Vibrações dos grupos C-C-O, C-O e deformação axial do C=O estão identificadas na banda 1264 cm^{-1}. Ainda com relação ao grupamento C-O, deformações axiais desse também está representada na banda em 1170 cm^{-1} (NIKOLIC et al., 2012 e AOUADA et al., 2012). Além disso, à medida que aumenta a concentração de laponita RD nos nanocompósitos, a intensidade da banda do grupamento C=O (1710 e 1264 cm^{-1}) diminui, e ainda há um pequeno deslocamento da banda em 1170 para 1183 cm^{-1} (deformação vibracional axial da ligação C-O), isto é um indício que nessas regiões ocorrem possíveis interações da laponita RD com o PMAA.

4 CONCLUSÃO

Resultados de FTIR apontam um possível ponto de interação entre a nanoargila e a matriz polimérica, o que é compatível com a formação dos nanocompósitos. Resultados de Q_{eq} indicam que os hidrogéis são altamente influenciados pela concentração de argila na matriz, onde os mesmos apresentaram um máximo em 5% de Laponita RD na sua formulação. Conclui-se, portanto, que esses bionanocompósitos possuem potencialidade de aplicação em sistemas de liberação controlada de insumos agrícolas, sendo que estudos de liberação controlada de insumos agrícolas estão em andamento para comprovar tal aplicabilidade.

AGRADECIMENTOS

UNESP, CAPES, CNPq e Fapesp pelo apoio financeiro e concessão de bolsas de estudo e de pesquisa.

REFERÊNCIAS

AHMED, E. M. Hydrogel: preparation, characterization and applications: a review. Journal of Advanced Research, v. 6, n. 2, p. 105 - 121, 2015.

AOUADA, F. A. et al. Synthesis and characterization of novel pH sensitive PAAm-PMAA-CMC hydrogels and their applications in the controlled release of fertilizer. In: Hydrogels: Synthesis, Characterization and Applications. Ed.; Hauppauge, New York, 2012, p. 279-298.

AOUADA, F. A. et al. Polyacrylamide and methylcellulose hydrogel as delivery vehicle for the controlled release of paraquat pesticide. Journal of Materials Science, v. 45, n. 18, p. 4977 - 4985, 2010.

CATALDO, et al. Enhancement of adsorption ability of calcium alginate gel beads towards Pd(II) ion. A kinetic and equilibrium study on hybrid Laponite and Montmorillonite–alginate gel beads. Applied Clay Science, v. 118, n. 9, p. 162 - 170, 2015.

HOFFMAN, A. S. Hydrogels for biomedical applications. Advanced drug delivery reviews, v. 64, p. 18 - 23, 2012.

MU, Y. et al. Preparation and performance of poly (acrylicacid–methacrylic acid)/montmorillonite microporous superabsorbent Nanocomposite. Materials Letters, v. 142, p. 94 - 96, 2015.

NAIR, B. P. et al. Polycaprolactone-laponite composite scaffold releasing strontium ranelate for boné tissue engineering applications. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, v. 143, p. 423 - 430, 2016.

NIKOLIC, V. et al. Amine activators influence on grafting reaction between methacrylic acid and starch. Carbohydrate polymers. v. 88, n. 4, p. 1407 - 1413, 2012.

OLIVEIRA, M. J. A. et al. Influence of chitosan/clay in drug delivery of glucantime from PVP membranes. Radiation Physics and Chemistry, v. 94, p. 194 - 198, 2014.

PEROTTI, et al. Biopolymer-Clay Nanocomposites: Cassava Starch and Synthetic Clay Cast Films. Journal of the Brazilian Chemical Society, v. 25, n. 2. p. 320 - 330, 2014.

POURJAVADI, A. et al. Synthesis and characterization of a novel (salep phosphate)-based hydrogel as a carrier matrix for fertilizer release. Reactive & Functional Polymers, v. 72, n. 10, p. 667 - 672, 2012.

RODRIGUES, F. et al. Síntese e caracterização de hidrogéis compósitos a partir de copolímeros acrilamida/acrilato e caulim: Efeito da constituição de diferentes caulins do nordeste. Quimica Nova, v. 36, n. 1, p. 40 - 45, 2013.

VILLANOVA, et al. Aplicações Farmacêuticas de Polímeros. Polímeros: Ciência e Tecnologia, v. 20, n. 1, p. 51 - 64, 2010.

XIE, Y. e WANG, A. Study on superabsorbent composites XIX. Synthesis, characterization and performance of chitosan-g-poly (acrylic acid)/vermiculite superabsorbent composites. Journal of Polymer Research, v. 16, n. 2, p. 143 - 150, 2009.

NANOFIBRAS DE POLI(ε -CAPROLACTONA)/TIO_2 PREPARADAS PELA TÉCNICA DE FIAÇÃO POR SOPRO EM SOLUÇÃO

Rodrigo G. F. Costa*[1], Caue Ribeiro[1], Luiz H. C. Mattoso[1]

Embrapa Instrumentação, Laboratório Nacional de Nanotecnologia Aplicado ao Agronegócio, Rua Quinze de Novembro, 1452, São Carlos, SP 13560-970, Brasil
e-mail de contato: rodrigoguerreiro.costa@gmail.com*

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio

Resumo
Neste trabalho, nanofibras de PCL e PCL/TiO_2 foram preparadas pela técnica de fiação por sopro em solução (FSS). As nanofibras foram caracterizadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e difração de raios-X (DRX). Os resultados obtidos demonstraram que a técnica de FSS pode ser usada para produzir nanofibras de PCL/TiO_2 com diâmetros médios e morfologias comparáveis à eletrofiação.
Palavras-chave: Fiação Por Sopro em Solução; Nanofibras; Nanopartículas; Poli(ε-caprolactona); Dióxido de Titânio

NANOFIBERS OF POLY(ε-CAPROLACTONE)/TIO_2 PREPARED BY SOLUTION BLOW SPINNING TECHNIQUE

Abstract
In this work, nanofibers of PCL and PCL/TiO_2 were prepared by the solution blow spinning (SBS) technique. The nanofibers were characterized by scanning electron microscopy (SEM) and X-Ray Difraction. The obtained results demonstrated that the FSS technique can be used to produce PCL/TiO_2 nanofibers with average diameters and morphologies comparable to the electrospinning technique.
Keywords: Solution Blow Spinning; Nanofibers; Nanoparticles; Poly(ε-caprolactone); Titanium Dioxide

Publicações relacionadas: COSTA, R. G. F. et al. XRD and SEM study of nanocomposite fibers based on poly(ε-caprolactone). In: XIII Brazilian MRS Meeting, 2014.

1- INTRODUÇÃO

A técnica mais utilizada, atualmente, para a produção de nanofibras poliméricas é a eletrofiação (*electrospinning*) (COSTA et al., 2012). No entanto, esta técnica apresenta dificuldades para o escalonamento da produção em grandes quantidades, em função principalmente da necessidade de aplicação de altos campos elétricos (DARISTOTLE et al., 2016). Buscando minimizar este problema, foi desenvolvido um novo método de fiação de fibras poliméricas, denominado de fiação por sopro em solução ou *solution blow spinning* em inglês. Este método utiliza elementos conceituais de eletrofiação e fiação convencional, permitindo obter fibras com diâmetros variando na faixa entre poucos nanômetros a alguns micrômetros. As vantagens da FSS em relação à eletrofiação são a alta taxa de produção de material e a possibilidade de deposição *in situ* (MEDEIROS et al., 2009). A poli(ε-caprolactona) (PCL) é um polímero biocompatível, biodegradável e processável. A incorporação de nanopartículas inorgânicas na matriz de PCL pode melhorar as suas propriedades, sendo que a eficiência das nanopartículas depende da sua forma, tamanho, características da superfície, grau de dispersão e ligação interfacial entre a matriz polimérica e a nanocarga (TAMJID et al., 2011).

Este trabalho tem como objetivo aplicar a técnica de FSS para produzir nanofibras de PCL e PCL/TiO_2 e estudar a influência das nanopartículas de TiO_2 na morfologia e na cristalinidade das fibras.

2- MATERIAL E MÉTODOS

Para a preparação das soluções de PCL/TiO_2 anatase utilizou-se o seguinte procedimento: a poli(ε-caprolactona) (Perstop, massa molar = 50.000 g/mol), na concentração de 8% (m/v), foi solubilizada em diclorometano com agitação magnética por 1 hora. Após a solubilização completa do polímero, as nanopartículas de TiO_2 anatase comercial (Sigma-Aldrich) foram adicionadas às soluções de PCL nas quantidades de 5, 10 e 20% (massa de TiO_2/massa de PCL). Estas soluções foram agitadas na temperatura ambiente por 1 hora e transferidas para uma seringa de vidro de 20 mL, para depois serem preparadas as nanofibras com o equipamento de fiação por sopro em solução (FSS) da Embrapa Instrumentação. Os experimentos de FSS, com as soluções de PCL e PCL/TiO_2 anatase, foram realizados em uma capela fixando-se a distância de trabalho (12 cm), a velocidade de rotação (180 rpm), a taxa de injeção (3,6 $ml.h^{-1}$) e a pressão de ar (30 psi).

A investigação morfológica por MEV das nanofibras foi feita utilizando-se um microscópio eletrônico de varredura marca JEOL (modelo JSM -6510). Para a medida dos diâmetros médios (DM) e os respectivos desvios-padrão foi utilizado o software IMAGE J. Para estas medidas escolheu-se ao menos 80 fibras de cada amostra.

Os difratogramas de raios-X das nanofibras de PCL/TiO_2 foram obtidos utilizando-se um equipamento Rigaku modelo D Max 2500 PC (radiação CuKα). As varreduras foram feitas em uma faixa de 10^o - 40^o(2Θ), com passo de $1^o.min^{-1}$.

3- RESULTADOS E DISCUSSÃO

As micrografias obtidas (Figuras 1a,1b,2a,2b) mostraram que não houve variação significativa na morfologia e no diâmetro médio (DM) das fibras, indicando que apesar das altas porcentagens de TiO_2 anatase, 10 e 20 wt.%, não foi observado a formação de aglomerados de TiO_2.

Estes resultados confirmam que a metodologia usada para dispersar as nanopartículas com tamanhos médios de 5 nm, nas soluções de PCL em diclorometano, com o banho de ultrassom, foi eficiente.

Nos difratogramas de raios-X do TiO_2 anatase comercial (Fig. 3a) e das fibras de PCL/TiO_2 (Fig. 3b) pode-se observar o principal pico do TiO_2 na fase anatase em 2Θ = 25,4º. Para as nanofibras de PCL/TiO_2, nota-se claramente a presença dos principais picos do polímero, destacados com asteriscos (*) nos difratogramas, indicando que o processamento do PCL pela técnica de fiação por sopro em solução não impediu a sua cristalização.

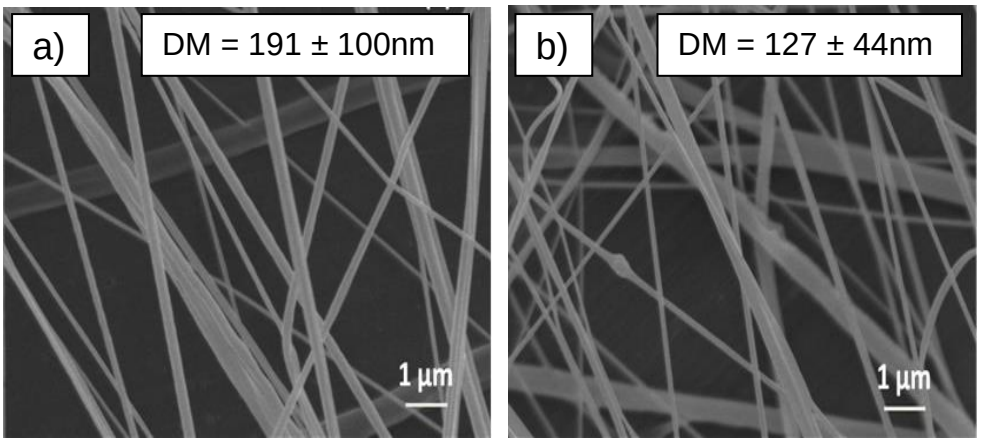


Fig. 1 – Micrografias obtidas por MEV das nanofibras: a) PCL, b) PCL/TiO_2 (5 wt.%).

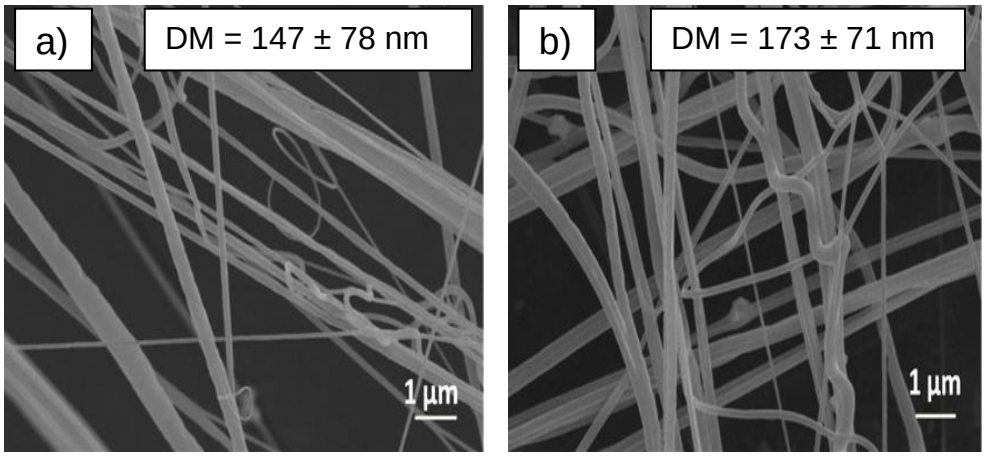


Fig. 2 – Micrografias obtidas por MEV das nanofibras: a) PCL/TiO_2 (10 wt.%), b) PCL/TiO_2 (20 wt.%).

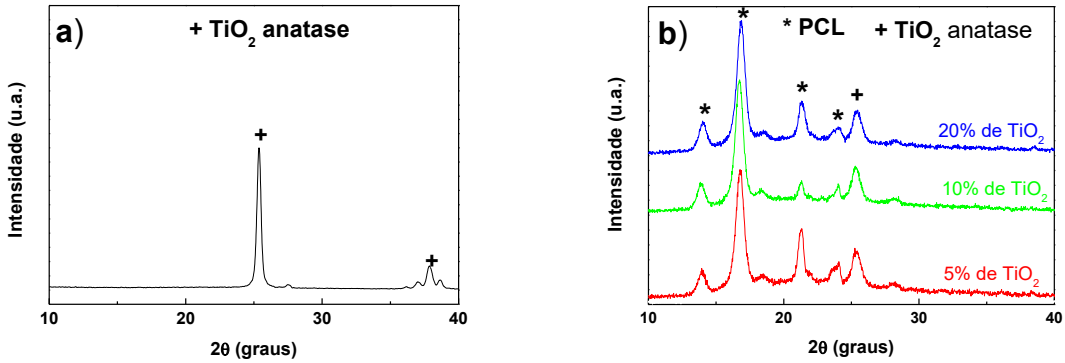


Fig. 3 – Difratograma de Raios-X: a) TiO_2 anatase comercial, b) PCL/TiO_2 (5 wt.%), PCL/TiO_2 (10 wt.%) e PCL/TiO_2 (20 wt.%).

4 - CONCLUSÃO

O presente trabalho mostrou que é possível utilizar o método de FSS para produzir nanofibras de PCL e PCL/TiO_2 com diâmetros médios e morfologias comparáveis às fibras produzidas pela técnica de eletrofiação. A caracterização morfológica por MEV mostrou que não houve variação significativa na morfologia das fibras mesmo com o carregamento com altas porcentagens de TiO_2 (10 e 20 wt.%), indicando a boa dispersão das nanopartículas de TiO_2 nas fibras dos polímeros e a eficiência da metodologia de preparação. Os difratogramas de raios-X confirmaram que o processamento do polímero pela técnica de FSS não impediu a sua cristalização.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq (process no. 301173/2013-3), CAPES e FAPESP.

REFERÊNCIAS

COSTA, R. G. F. et al. Eletrofiação de Polímeros em Solução: Parte II: Aplicações e Perspectivas. Polímeros, v. 22, p. 178-185, 2012.

DARISTOTLE, J. L. et al. A review of the fundamental principles and applications of solution blow spinning. Acs Applied Materials & Interfaces, v. 8, p. 34951-34963, 2016.

MEDEIROS, E.S.et al. 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.

TAMJID, E. et al. Effect of TiO2 morphology on in vitro bioactivity of polycaprolactone/TiO2 nanocomposites. Materials Letters, v.65, p. 2530–2533, 2011.

INFLUÊNCIA DO TEOR DE ZEÓLITA NA ESTABILIDADE TÉRMICA DE NANOCOMPÓSITOS AVALIADA POR ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA

Helena A. G. B. de Araujo [1,*], Adriel Bortolin [2], Márcia R. de Moura [1], Fauze A. Aouada [1]

*[1] UNESP - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Grupo de Compósitos e Nanocompósitos Híbridos (GCNH), Departamento de Física e Química (DFQ), Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais, Faculdade de Engenharia da Unesp de Ilha Solteira (FEIS), Ilha Solteira, SP, Brasil. [2] Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, 13566-905, São Carlos-SP- *helenagba@yahoo.com.br*

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio.

Resumo
Matrizes híbridas são excelentes sistemas carreadores biodegradáveis amplamente utilizadas tanto como condicionadores de solo quanto como sistemas de liberação controlada de insumos agrícolas. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi desenvolver hidrogéis nanoestruturados a partir de acrilamida (AAm), carboximetilcelulose (CMC) via polimerização radical livre, mantendo as concentrações fixas de AAm e CMC, variando a concentração de zeólita entre 0-30% (m/m). Foi possível verificar a partir da técnica termogravimétrica (TG-DTG) eventos térmicos relevantes, dos quais observou-se que até a temperatura aproximada de 400ºC os hidrogéis analisados apresentaram comportamento semelhante em relação à perda de massa, porém com alguma discrepância em torno de 200-300ºC, indicando o aumento da estabilidade térmica dos nanocompósitos devido ao incremento do teor de zeólita.
Palavras-chave: Nanocompósitos; Hidrogéis; Zeólitas; Polissacarídeo; Intumescimento.

INFLUENCE OF ZEOLITE CONTENT ON THERMAL STABILITY OF NANOCOMPOSITES EVALUATED BY THERMOGRAVIMETRIC ANALYSIS

Abstract
Hybrid matrices are excellent biodegradable carrier systems widely used as soil conditioners and as controlled release systems of agricultural inputs. Thus, the aim of this study was to develop hydrogels nanostructured from acrylamide (AAm), carboxymethylcellulose (CMC) obtained by free-radical polymerization, fixing the concentrations of AAm and CMC, and varying the zeolite concentration from 0-to 30 % (w/w). From thermogravimetric analysis (TG-DTG), it was possible to observe some relevant thermal events, indicating similar weigth loss among nanocomposites until 400 °C. However, some discrepancies were observed around 200-300 °C, confirming the improve of thermal stability of the nanocomposites when zeolite concentration was increased.
Keywords: Nanocomposites; Hydrogels; Zeolites; Polysaccharide; Swelling Degree.

Publicações relacionadas: Apresentado de forma oral no 22° Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais (CBECIMat); http://www.cbecimat.com.br/program-detalhes-info.php?cod=3214

1 INTRODUÇÃO

Materiais altamente hidrofílicos (AOUADA, 2009), os hidrogéis podem ser importantes aliados em sistemas de liberação controlada (SLC), agindo como carreadores de água devido à excelente e rápida retenção de líquido (intumescimento) ou como carreadores de insumos agrícolas, como fertilizantes, tendo valor comercial aliado às excelentes propriedades de biodegradabilidade e baixa toxicidade.

O processo de incorporação de fertilizantes a hidrogéis pode melhorar a nutrição das plantas, minimizar o impacto ambiental, reduzir as perdas de água por evaporação e diminuir a frequência de

irrigação. Além da manutenção hídrica do solo, é possível a adição de substratos poliméricos às soluções contendo fertilizantes, os quais realizam o equilíbrio necessário entre nutrientes, minerais e futuros agroquímicos a serem utilizados.

Visando novos materiais aliados aos hidrogéis, para futuras aplicações em SLC, encontram-se as zeólitas, as quais são aluminosilicatos com alta capacidade de troca de cátions, alta capacidade de retenção de água livre nos canais e alta habilidade na captura de íons, o que a torna bastante utilizável, para a área médica com liberação de fármacos (SOTOUDEH, 2012), e na agricultura (BERNARDI et. al. 2008), melhorando a eficiência do uso de nutrientes; no aproveitamento do nitrogênio disponível no solo, enriquecendo os substratos; dentre outras.

Buscando desenvolver novos sistemas carreadores biodegradáveis para possível aplicação em SLC de insumos agrícolas, o objetivo desse estudo foi verificar a estabilidade térmica desses novos nanocompósitos por meio de análise termogravimétrica (TG-DTG).

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Síntese dos nanocompósitos de hidrogéis biodegradáveis

Neste trabalho, os hidrogéis de poliacrilamida (PAAm) e carboximetilcelulose (CMC) foram obtidos por meio de polimerização química do monômero acrilamida (AAm) em solução aquosa contendo zeólita previamente dispersa em água, CMC, agente de reticulação N' -N-metilenobisacrilamida (MBAAm), e catalisador N, N, N', N' -tetrametiletilenodiamina (TEMED). Depois de preparar a mistura, borbulhou-se N_2 na solução durante 10 minutos para eliminação de oxigênio. A solubilização dos reagentes e a síntese dos hidrogéis foram realizadas em temperatura ambiente.

Por fim, tal mistura foi posta em molde e deixou-se em repouso até a completa polimerização. Após esse intervalo de tempo, o hidrogel foi posto em água deionizada/destilada para purificação por no mínimo 5 dias, havendo troca diária da água de diálise. Na Fig. 1 é mostrada uma fotografia digital (a) de um hidrogel nanocompósito no estado de equilíbrio de intumescimento e (b) de um hidrogel cortado e desidratado.

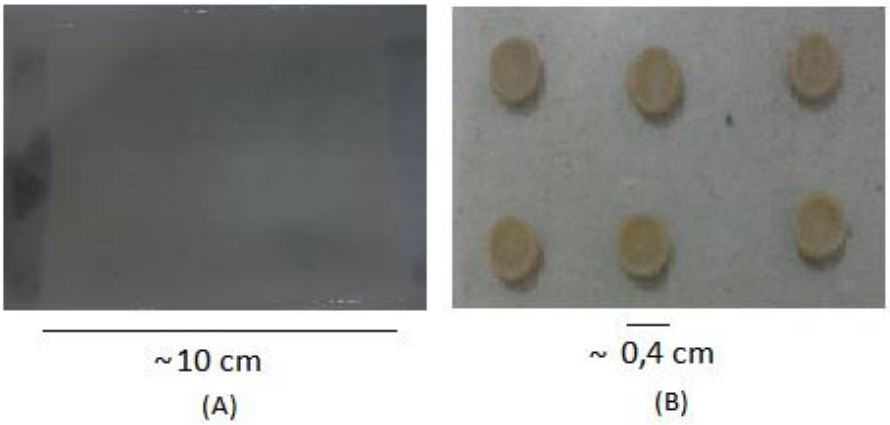


Fig. 1: Fotografia digital de uma amostra de hidrogel (a) intumescido no estado de equilíbrio contendo 20% de zeólita e (b) de um hidrogel cortado e desidratado.

2.2. Propriedades térmicas: Análise termogravimétrica (TG-DTG)

Análises térmicas referem-se ao uso de uma ou mais técnicas termo-analíticas, nas quais propriedades física ou química de uma substância, ou de seus produtos de reação, são monitoradas em função do tempo ou temperatura (CARBINATTO, 2010; ALVES, 2011).

Dentre as análises térmicas destaca-se a termogravimetria/ termogravimetria derivada (TG/ DTG), na qual mede-se a mudança de massa de uma substância em função da temperatura sob programação controlada devido à interação com a atmosfera, vaporização e decomposição.

Os parâmetros utilizados nesse trabalho estão descritos abaixo:

- TG (TA Instruments TGA Q-500) = massa de amostra entre 7 e 10 mg; rampa de aquecimento entre temperatura ambiente até 800 ^{0}C, com razão de aquecimento de 10 $^\circ$C/min; vazões de gás nitrogênio na balança de 40,0 mL/min e na amostra de 60,0 mL/min.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Analisando os gráficos de TG e DTG indicados na Fig. 2, tem-se de maneira geral até a temperatura aproximada de 400ºC, que os hidrogéis analisados apresentam comportamento semelhante em relação à perda de massa, porém com alguma discrepância em torno de 200-300ºC, como discutido a seguir. Para todos os materiais analisados podemos perceber que em torno dos 100° ~ 150ºC há ligeira perda de massa a qual pode estar relacionada à evaporação de água e outros voláteis (CARBINATTO, 2010; AOUADA et. at. 2008). Em aproximadamente 200ºC, a perda de massa pode estar relacionada à degradação do grupo amida, presente na PAAm e/ou segmentos de MBAAm, assim como em 250ºC há perda de H_2O, NH_3 e CO_2 provenientes da degradação de tais grupamentos. Em aproximadamente 290ºC as imidas se decompõem em nitrilas, formando na cadeia polimérica, hidrocarbonetos. Concomitantemente, eventos relacionados à CMC podem estar ocorrendo dentro das faixas de temperaturas mencionadas, o que pode mascarar tais eventos e, portanto, tais picos não foram observados. Por exemplo, nas faixas de temperatura de 100ºC e 280-290ºC ocorrem provavelmente à evaporação de água e inicia-se a decomposição de polissacarídeos, respectivamente (AOUADA et. al. 2008).

Pode-se observar também nos hidrogéis e nos nanocompósitos até 15 %(m/m) zeólita um evento térmico entre 450-600 $^\circ$C. Acredita-se que esse evento esteja relacionado a queima total da fração polimérica e dos possíveis hidrocarbonetos formados a partir da decomposição dos grupamentos imidas. Esse evento não é observado em quantidades maiores de zeólitas, atribuindo então esse efeito a um aumento de estabilidade térmica. Além disso, outros indícios que podem estar relacionados ao provável aumento de estabilidade térmica com a adição de zeólita são: 1) aumento da temperatura inicial de degradação do grupamento amida: essa temperatura sofre incremento de 208 $^\circ$C para (H-0) e (H-5), para 223 $^\circ$C (H-15), 231 $^\circ$C (H-20), 226 $^\circ$C (H-25) e 230 $^\circ$C (H-30); 2) aumento da temperatura inicial de degradação da imida: 288 $^\circ$C para (H-0); 295 $^\circ$C (H-5), 300-305 $^\circ$C para os demais nanocompósitos. Tal incremento térmico foi também constatado nas análises térmicas de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) (dados não mostrados).

Em relação à fase final das curvas TG, foi observado que a análise do resíduo final está coerente com a composição dos nanocompósitos. Uma vez que a zeólita apresenta somente eventos térmicos relativos à dessorção de água e voláteis, observado em temperatura até 100-120 $^\circ$C e perda de possível matéria orgânica entre 120-200 $^\circ$C, já era esperado que quantidades maiores dessa estrutura apresentassem quantidades maiores de resíduos até a faixa de temperatura analisada. Pois para observar sua degradação seria necessária temperatura mais elevada.

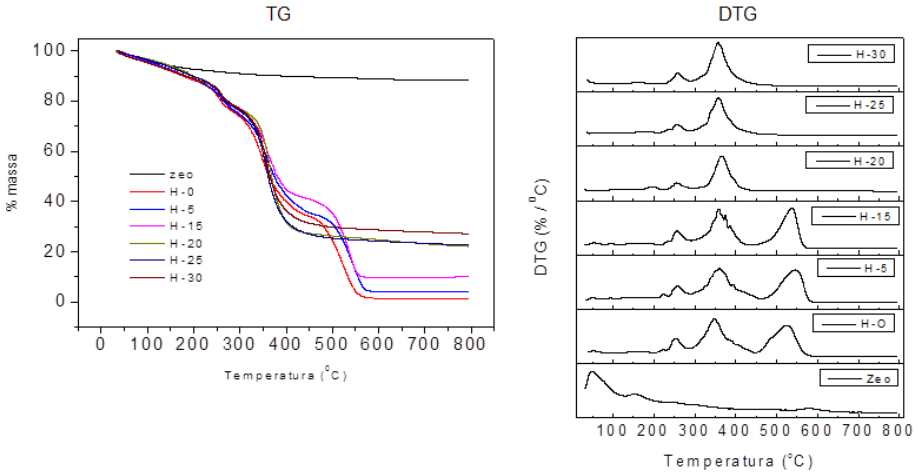


Fig. 2: Curvas TG e DTG para hidrogéis H- Zeo, H-0, H-5, H-15, H20, H-25 e H-30.

4 CONCLUSÃO

A partir da síntese dos novos nanocompósitos formados por hidrogéis polissacarídicos e zeólitas, foi possível observar por meio das análises térmicas de TG-DTG que a zeólita pode aumentar a estabilidade térmica dos nanocompósitos. Testes de sorção/dessorção de herbicidas estão sendo realizados, a fim de comprovar uma possível aplicação tecnológica desses nanocompósitos como veículos carreadores em liberação controlada.

AGRADECIMENTOS

UNESP, CAPES, CNPq e Fapesp pelo apoio financeiro e concessão de bolsas de estudo e de pesquisa.

REFERÊNCIAS

ALVES, T. V. G. Obtenção e caracterização de hidrogéis de poliacrilamida-co-metilcelulose como sistemas carreadores de cloridrato de propranolol. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Pará, UFPA, Pará, 2011.

AOUADA, F. A. Síntese e caracterização de hidrogéis de poliacrilamida e metilcelulose para liberação controlada de pesticidas. Tese de Doutorado, Universidade Federal de São Carlos, UFSCar, São Carlos, 2009.

AOUADA, F. A. et al. Caracterização de hidrogéis condutores constituídos por paam e pedot/pss por meio de planejamento fatorial. Polímeros: Ciência e Tecnologia, v. 18, n. 2, p. 126-131, 2008.

BERNARDI, A. C. C. et al. Potencial de uso de zeólitas na agropecuária. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/49218/1/Documentos85.pdf>. Acesso em 22 jun. 2016.

CARBINATTO, F. M.; Matrizes poliméricas reticuladas de alta amilose e pectina para liberação controlada de fármacos. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista- UNESP, Araraquara, 2010.

SOTOUDEH, S.et al. Antibiotic release process from hydrogel nano zeolite composites. Middle-East Journal of Scientific Research, v. 12, n. 3, p. 392- 396, 2012.

OBTENÇÃO E AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE ABSORÇÃO DE ÁGUA DE NOVOS BIONANOCOMPÓSITOS HÍBRIDOS

João Antonio F. Garcia[1,*], Uilian G. Yonezawa[1], Marcia R. de Moura[1,2], Fauze A. Aouada[1,2]

[1]Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP), Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira (FEIS), Grupo de Compósitos e Nanocompósitos Híbridos (GCNH), Programa de Pós-graduação em Ciência dos Materiais, Ilha Solteira, SP, Brasil.
[2]Departamento de Física e Química (DFQ), FEIS, Ilha Solteira, SP, Brasil.
**e-mail: farinelligarcia@gmail.com*

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio.

Resumo
O objetivo do trabalho foi sintetizar novos bionanocompósitos híbridos a partir de poliacrilamida (PAAm) e carboximetilcelulose (CMC) contendo teores diferentes de laponita RDS. Foi feito um estudo de intumescimento e dos parâmetros cinéticos em função do teor da nanocarga, obtendo como resultados principais a determinação do comportamento de transporte anômalo do solvente para o interior do hidrogel, com valores de n entre 0,5 e 1,0. Além disso, as propriedades hidrofílicas indicaram que em baixas concentrações da nanoargila laponita RDS ocorreu uma diminuição do grau de intumescimento ($Q_{0\%}$ = 33,7 ± 0,8 g/g para $Q_{2\%}$ = 23,8 ± 0,1 g/g), seguido de um acréscimo com o aumento da concentração de laponita ($Q_{5\%}$ = 33,1 ± 0,4 g/g).
Palavras-chave: Bionanocompósitos; Grau de Intumescimento; Parâmetros cinéticos; Laponita RDS; Hidrogéis.

OBTAINING AND EVALUATION OF WATER ABSORPTION PROCESS OF NOVEL HYBRID BIONANOCOMPOSITES

Abstract
The focus of this work was to produce novel hybrid bionanocomposites constituted of polyacrylamide (PAAm) and carboxymethylcellulose (CMC) containing different nanoclay laponite RDS content. It was realyzed a study of swelling degree and kinectis parameters as a function of nanoclay amount, obtaining as main results the determination of anomalous trasport of solvent into hydrogel, with values between 0,5 e 1,0. Besides, the hydrophilic properties indicated that at low concentration of nanoclay provoked a decrease of swelling degree ($Q_{0\%}$ = 33.7 ± 0.8 g/g to $Q_{2\%}$ = 23.8 ± 0.1 g/g), folowed of an increment by increasing of laponite concentration ($Q_{5\%}$ = 33.1 ± 0.4 g/g).
Keywords: Bionanocomposites; Swelling Degree; Kinetcs parameters; Laponite RDS; Hydrogels.

Publicações relacionadas: Apresentado em formato pôster no 14° Congresso Brasileiro de Polímeros (CBPol).

1 INTRODUÇÃO

Os hidrogéis são materiais inovadores sendo focos de inúmeras pesquisas devido sua vasta possibilidade de aplicações (AOUADA, 2009). Desde tratamentos médicos até na agricultura, tendo em vista suas propriedades como biodegradabilidade, biocompatibilidade, atoxicidade, hidrofilicidade (propriedade de intumescer na presença de água e fluidos biológicos), entre outras propriedades provenientes que podem ser oriundas da incorporação de aditivos, como complexos orgânicos e inorgânicos, magnetita, caracterizando os hidrogéis funcionalizados.

Os hidrogéis são formados por polímeros que passaram por um processo de reticulação de suas cadeias poliméricas (AOUADA, 2009) e (PAULINO et al., 2012). O processo de reticulação nos hidrogéis pode ter um caráter físico constituindo um hidrogel físico ou temporário devido sua instabilidade oriunda das interações físicas (tais como força de van der Waals e ligações de hidrogênio), podendo ser revertido o processo de reticulação por um estímulo externo, como mudança

de pH, temperatura e interação com soluções salinas. O processo de reticulação pode também ter um caráter químico constituindo então um hidrogel químico ou permanente, não podendo ser revertido o processo de reticulação (AOUADA, 2009).

Os hidrogéis podem ser obtidos através de polímeros naturais ou sintéticos. Quando obtidos a partir de polímeros sintéticos como a poliacrilamida (PAAm) e poli(ácido metacrílico) (PMMA), possuem excelentes propriedades mecânicas e hidrofílicas. No entanto alguns não apresentam biocompatibilidade e biodegradabilidade restringindo assim suas aplicações em algumas áreas. Já os hidrogéis oriundos de polímeros naturais como quitosana, alginato de sódio e carboximetilcelulose (CMC) possuem excelentes propriedades bioativas, porém suas propriedades mecânicas podem ser insatisfatórias, o que pode limitar grande parte de suas aplicações em áreas tecnológicas. Desse modo, sintetizando hidrogéis através da combinação de polímeros naturais e sintéticos obtêm-se compósitos com propriedades de ambos, ampliando suas áreas de aplicação (BORTOLIN et al., 2012). Nessa vertente, encontra-se também na literatura, a incorporação de nanoargilas na síntese de hidrogéis como a laponita RDS, e em matriz de amido termoplástico (ATP), montimorilonita em matriz de álcool polivinílico (PVA), que melhoram as propriedades mecânicas e resistência dessas matrizes, promovendo, por exemplo, maior estabilidade de nanocompósitos (MAHDAVINIA et al., 2016).

Portanto, o objetivo do presente trabalho foi sintetizar hidrogéis constituídos de carboximetilcelulose (CMC), poliacrilamida (PAAm) e diferentes concentrações de nanoargila laponita RDS e avaliar a influência dessa nanocarga no grau de intumescimento e propriedades cinéticas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Síntese dos Hidrogéis Nanocompósitos

Os hidrogéis bionanocompósitos foram sintetizados através da polimerização via radical livre. As concentrações de carboximetilcelulose (CMC) e acrilamida (AAm) foram fixadas em 1% (m/v) e 6% (m/v), respectivamente. Foram estudadas diferentes concentrações de nanoargila: 0% referência, 1%, 2%, 4% e 5%. Para etapa de polimerização/reticulação, utilizou-se o agente de reticulação N'-N-metilenobisacrilamida (MBAAm), catalisador N,N,N',N'-tetrametil-etilenodiamina e o iniciador persulfato de sódio. Após adicionado o iniciador, a solução foi mantida em repouso por 24 horas à temperatura ambiente, em seguida, os hidrogéis e seus nanocompósitos foram purificados por diálise em água destilada por no mínimo 7 dias, a fim de se eliminar os reagentes que não participaram efetivamente da reação de polimerização.

2.2 Estudo do grau de intumescimento (Q)

Após as etapas de síntese e purificação, os hidrogéis foram cortados em formato cilíndrico e secos em estufa com temperatura controlada. Os estudos de intumescimento dos nanocompósitos foram feitos com o objetivo de investigar a capacidade de absorção de água dos mesmos. O grau de intumescimento (Q) foi determinado relacionando a massa intumescida (M_t) em um determinado tempo (t) pela massa seca inicial (M_s), segundo a (Equação 1):

$$Q = \frac{M_t}{M_s} \tag{1}$$

2.3 Parâmetros Cinéticos dos Hidrogéis

Os parâmetros cinéticos dos nanocompósitos, sendo o expoente difusional (n) que permite determinar o tipo de mecanismo de transporte do solvente para o interior do hidrogel, o coeficiente de difusão (k) que depende do tipo de hidrogel e do meio de intumescimento e M_{et} que é a massa do hidrogel no estado de equilíbrio (BORTOLIN et al., 2012), foram obtidos através da (Equação 2):

$$\frac{M_t}{M_{eq}} = k.t^n \tag{2}$$

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Grau de Intumescimento (Q)

O estudo de intumescimento foi realizado com hidrogéis de CMC/PAAm, e diferentes concentrações de laponita RDS, sendo os resultados mostrados nas Figs. 1 (a) e (b). É observado que em baixas concentrações da nanoargila laponita RDS (1% e 2%), houve uma diminuição considerável da absorção de água pelos hidrogéis em relação ao hidrogel sem nanoargila. No entanto, conforme a concentração de laponita foi elevada a 4 e 5% de nanoargila, observa-se um aumento na capacidade de absorção de água dos hidrogéis nanocompósitos. Isso foi atribuído ao fato da nanoargila agir como reticulador físico em baixas concentrações. O que provoca a diminuição da capacidade de expansão das cadeias poliméricas e consequente acúmulo de água, refletindo na diminuição das propriedades hidrofílicas das matrizes. Já em concentrações mais altas (4 e 5%), os cátions presentes na nanoargila são dispersos na rede polimérica aumentando a diferença de pressão osmótica entre a rede polimérica e a solução de intumescimento, aumentando sua absorção de água (JUNIOR et at., 2017).

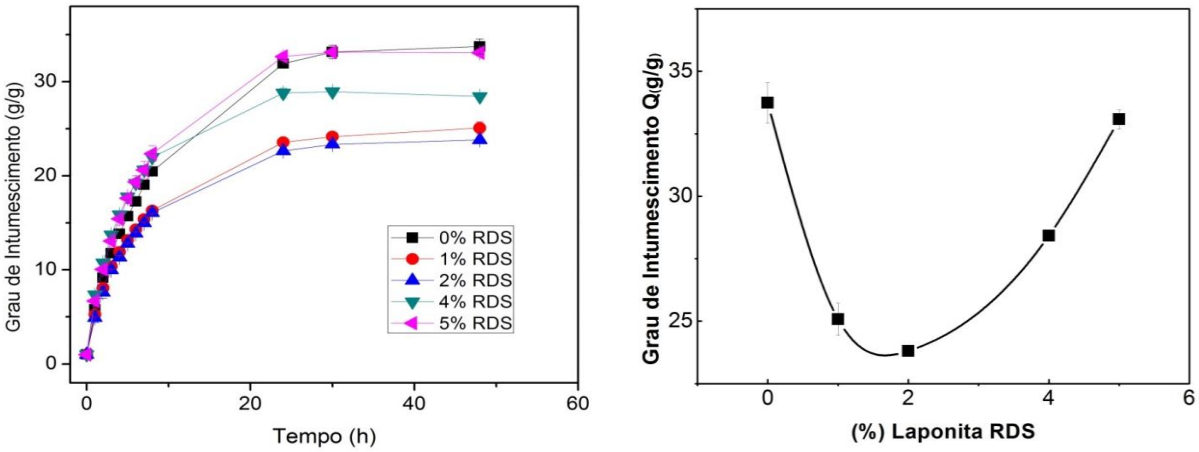


Figura 1. (a) Dependência do grau de intumescimento em função do tempo para os hidrogéis de CMC/PAAm e diferentes teores de laponita RDS. (b) Dependência do grau de intumescimento no estado de equilíbrio em função da % de nanoargila.

3.2 Parâmetros cinéticos expoente difusional (n) e coeficiente de difusão (k)

Os valores médios do ensaio em triplicata para diferentes concentrações de nanoargila dos parâmetros estão representados na (Tabela1). Observa-se que o expoente difusional *(n)* possui valores entre 0,5 e 1,0, correspondendo ao mecanismo de transporte anômalo, em que ocorre o processo de difusão *Fickiana* do solvente para o interior do hidrogel concomitantemente ao mecanismo de transporte por relaxamento das cadeias na rede tridimensional. Estatisticamente os valores de *n* e de *k* não tiveram variação significativa com a variação da nanoargila, ou seja, sua adição não influenciou no mecanismo e na velocidade de transporte do solvente para o interior do hidrogel.

Tabela 1: Valores dos parâmetros cinéticos *(n)* e *(k)* para hidrogéis com diferentes concentrações de nanoargila laponita RDS

Laponita RDS (%)	*Q(g/g)*	*n*	*k* (h^{-1})
0	**$33,7^{a**} \pm 0,8$**	**$0,60^{a}$ ***	**$0,18^{a} \pm 0,01$**
1	**$25,1^{b} \pm 0,6$**	**$0,54^{a} \pm 0,01$**	**$0,22^{a} \pm 0,01$**
2	**$23,8^{c} \pm 0,1$**	**$0,57^{a} \pm 0,04$**	**$0,21^{a} \pm 0,02$**
4	**$28,4^{d} \pm 0,2$**	**$0,53^{a} \pm 0,01$**	**$0,26^{a}$ ***
5	**$33,0^{a} \pm 0,4$**	**$0,58^{a}$ ***	**$0,20^{a} \pm 0,01$**

*desvio padrão < 0,01.
** letras diferentes diferem estatisticamente entre si seguindo o teste de Tukey com nível de confiança de 95 %.

4 CONCLUSÃO

Foi possível obter com sucesso novos nanocompósitos híbridos a partir de poliacrilamida (PAAm), carboximetilcelulose (CMC) e laponita RDS. Os estudos de grau de intumescimento mostraram a capacidade de controlar a absorção de água pelos hidrogéis em função da concentração de laponita RDS. Os parâmetros cinéticos revelaram um mecanismo de transporte anômalo da água para o interior do hidrogel, e que estatisticamente os parâmetros *n* e *k* não mostraram variação quanto à concentração da laponita RDS.

AGRADECIMENTOS

UNESP, CAPES, CNPq e Fapesp pelo apoio financeiro e concessão de bolsas de estudo e de pesquisa.

REFERÊNCIAS

AOUADA, F. A. Síntese e caracterização de hidrogéis de poliacrilamida e metilcelulose para liberação controlada de pesticida. Tese de Doutorado, Universidade Federal de São Carlos, UFSCar, São Carlos, 2009.

BORTOLIN, A. et al. Investigação do Processo de Absorção de Água de Hidrogéis de Polissacarídeo: Efeito da Carga Iônica, Presença de Sais, Concentrações de Monômero e Polissacarídeo. Polímeros. v. 22, n. 4, p. 311-317, 2012.

JUNIOR, C. R. F.; MOURA, M. R.; AOUADA, F. A. Synthesis and Characterization of Intercalated Nanocomposites Based on Poly(methacrylic acid) Hydrogel and Nanoclay Cloisite-Na^+ for Possible Application in Agriculture. Journal of Nanoscience and Nanotechnology, v. 17, p. 1-6, 2017.

MAHDAVINIA, G. R. et al. Magnetic hydrogel beads based on PVA/sodium alginate/laponite RD and studying their BSA adsorption. Carbohydrate Polymers v. 147, p. 379-391, 2016.

PAULINO, A. T. et al. Natural polymer-based magnetic hydrogels: Potential vectors for remote-controlled drug release. Carbohydrate Polymers, v. 90, p. 1216-1225, 2012.

RESULTADOS PRELIMINARES DE DESSORÇÃO DO FERTILIZANTE KH_2PO_4 POR MEIO DE NANOCOMPÓSITOS DE HIDROGÉIS DE POLISSACARÍDEO E ZEÓLITA

Fabrício N. Tanaka[1,*], Adriel Bortolin[2], Caue Ribeiro[2], Luiz H. C. Mattoso[2], Marcia R. de Moura[1], Fauze A. Aouada[1]

*[1]UNESP - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Grupo de Compósitos e Nanocompósitos Híbridos (GCNH), Departamento de Física e Química (DFQ), Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais, Faculdade de Engenharia da Unesp de Ilha Solteira (FEIS), Ilha Solteira, SP, Brasil; [2] Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio (LNNA), Embrapa Instrumentação, 13560-905, São Carlos, SP. *e-mail: tanaka.fabricio@gmail.com*

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio.

Resumo
A aplicação de agrotóxicos e fertilizantes, utilizando matrizes poliméricas hidrofílicas, pode minimizar danos causados ao meio ambiente e a saúde humana, causados pelo uso demasiado destes. Neste trabalho, as propriedades relacionadas com estrutura-cristalinidade, e a capacidade de dessorção dos hidrogéis nanoestruturados de poli(ácido metacrílico-co-acrilamida) PMAA-co-PAAm com carboximetilcelulose (CMC) e zeólita foram investigadas. Nos resultados de difração de raios-X foram observados picos cristalinos oriundos da zeólita nos difratogramas dos nanocompósitos comprovando a incorporação da nanoestrutura zeolítica na matriz polimérica. Os resultados de dessorção mostraram que o nanocompósito obteve valores mais expressivos de liberação de fertilizante em comparação ao hidrogel puro. Evidenciando assim, que a adição de zeólita pode ter otimizado a capacidade de dessorção dos hidrogéis, fazendo com que esses alojem uma concentração maior do fertilizante em seu interior. Os resultados obtidos até o presente momento indicam que tais nanocompósitos podem ser materiais promissores para uso na agricultura como veículos carreadores de insumos agrícolas.
Palavras-chave: Hidrogéis; Zeólita; Nanocompósito; Fertilizante; Dessorção controlada.

PRELIMINARY RESULTS OF DESORPTION OF THE KH_2PO_4 FERTILIZER BY NANOCOMPOSITES FORMED BY ZEOLITE AND POLYSACCHARIDE HYDROGELS

Abstract
The application of agrochemicals and fertilizers, through hydrophilic polymer matrices, can minimize the damage to environment and human health caused by its overuse. In this work, the properties related to sctructure-crystallinity and the desorption capacity of poly(methacrylic acid-co-acrylamide) PMAA-co-PAAm nanostructured hydrogels with carboxymethylcellulose (CMC) and zeolite were investigated. In the x-ray diffraction, crystalline zeolite peaks were observed in the nanocomposite diffractograms, confirming the incorporation of the zeolite nanostructure in the polymeric matrix. The desorption results showed that the nanocomposite had more expressive values of fertilizer released when compared to the pure hydrogel. Thus, the addition of zeolite may have optimized the desorption capacity of the hydrogels, making the hydrogel be capable to retain a higher concentration of fertilizer therein. The results obtained at present moment indicate that such nanocomposites can be promising materials for use in agriculture as carriers of agricultural inputs.
Keywords: Hydrogels; Zeolite; Nanocomposite; Fertilizer; Desorption.

Publicações relacionadas: Apresentado de forma oral na 5ª Jornada Científica da UEMS/Naviraí.

1 INTRODUÇÃO

Hidrogéis são estruturas poliméricas, que se mantem unidas através de reticulações causadas por ligações covalentes, forças iônicas, ligações de hidrogênio, interações causadas por afinidade ou bio-reconhecimento, interações hidrofílicas, ou combinação de mais de uma dessas interações

(PEPPAS; HOFFMAN, 2013). Uma maneira de melhorar as propriedades de sorção e dessorção de insumos agrícolas, além de reduzir significativamente o custo dos nanocompósitos, é por meio da inserção de argilominerais e zeólitas na matriz do hidrogel. Zeólitas são aluminosilicatos cristalinos hidratados, nanoestruturalmente organizados. Sua estrutura básica primária tetraédrica pode levar a formação de redes tridimensionais bastante diversificadas, que geram sistemas porosos particulares e tornam as zeólitas importantes em processos de purificação, adsorção e catálise (WAKIHARA et al., 2010).

Encontra-se na literatura trabalhos relacionado com o uso de zeólitas para obtenção de nanocompósitos com potencialidade de aplicação na agricultura. Por exemplo, Rashidzadeh, Olad e Salari (2014) estudaram os efeitos da adição da zeólita clinoptilolita em nanocompósitos de hidrogéis de alginato de sódio-g-poli(ácido acrílico-co-acrilamida) para liberação controlada de fertilizantes. Os resultados mostraram um incremento nas propriedades hidrofílicas dos nanocompósitos com a adição da zeólita para concentrações de até 10% da massa de zeólita em relação a massa de alginato. A investigação dos mecanismos de liberação de fertilizantes dos nanocompósitos indicou que o sistema de liberação de nutrientes ocorreu através de um mecanismo de transporte do tipo de difusão *Fickiana*. Os resultados também mostraram que os nanocompósitos não só possuem propriedades de liberação lenta, mas também apresentam uma boa capacidade de adsorção de água, com isso podendo reduzir a perda de fertilizantes e melhorar a utilização de água na agricultura.

O presente trabalho teve como objetivo estudar a influência da zeólita na estrutura-cristalinidade do hidrogel de poli(ácido metacrílico-co-acrilamida) PMAA-co-AAm e carboximetilcelulose (CMC). Além de estudar o potencial uso do hidrogel e seu nanocompósito como veículos carreadores de agroquímicos, através da análise das propriedades de dessorção do fertilizante KH_2PO_4.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Difração de Raio-X (DRX)

A análise de difração de raios-x (DRX) foi realizada para estudar a estrutura-cristalinidade dos hidrogéis de PMAA-co-PAAm com CMC e seus nanocompósitos contendo 0,5; 1 e 1,5% de zeólita. Foi utilizado um difratômetro Shimadzu, modelo XRD-600, os parâmetros de analise foram: fonte de raio x de Cu, λ= 0,154 nm, voltagem 30KV, corrente 40mA, intervalo angular de 4 à 50^o, velocidade de varredura 1^o/min. Os valores de d correspondem a distância interplanar basal e foram obtidos de acordo com a equação 1.

$$n.\lambda = 2.d.sen\theta \quad (1)$$

Onde θ = ângulo de incidência, n = ordem de reflexão e λ= comprimento de onda da radiação incidente.

2.2 Estudos de Dessorção Controlada de Fertilizantes

Foram utilizados aproximadamente 0,5 g do hidrogel de PMAA-co-PAAm com CMC e do hidrogel nanoestruturado com 1,5% de zeólita. Para a análise de dessorção, foi utilizado um condutivimetro digital (GEHAKA CG 2000). Para isso, as amostras foram imersas em soluções do fertilizante KH_2PO_4, durante 7 dias, com concentrações de 200 e 2000 ppm. Em seguida foram retiradas e imersas em 100 mL de água destilada, sendo então monitorada a condutividade do meio de liberação. Para a obtenção da concentração de fertilizante liberada, foi construída uma curva de calibração (R^2 = 0,9998).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Difração de Raios-X (DRX)

A Figura 1 mostra os diferentes difratogramas obtidos para os hidrogéis e seus nanocompósitos com diferentes teores de zeólita. O difratograma correspondente ao hidrogel PMAA-co-PAAm com CMC (em vermelho) mostra os padrões de difração característicos de uma estrutura amorfa, o que era esperado, já que hidrogéis são formados por cadeias reticuladas. Os padrões

correspondentes aos hidrogéis PMAA-co-PAAm com CMC e zeólita 0,5, 1 e 1,5% mostram o mesmo padrão de uma estrutura amorfa mostrado na difração do hidrogel puro. Entretanto também apresentam os picos característicos da zeólita em 2θ = 9,770º (d = 1,10 nm); 22,280º (d = 2,51 nm); 26,520º (d = 2,98 nm) e 29,920º (d = 3,35 nm), que se tornam mais nítidos à medida que aumenta a concentração da zeólita nos hidrogéis. Esses picos nos padrões de DRX dos hidrogéis nanocompósitos, em conjunto com os dados obtidos pela análise de FTIR (dados não mostrados), confirmam a presença da zeólita na composição dos hidrogéis.

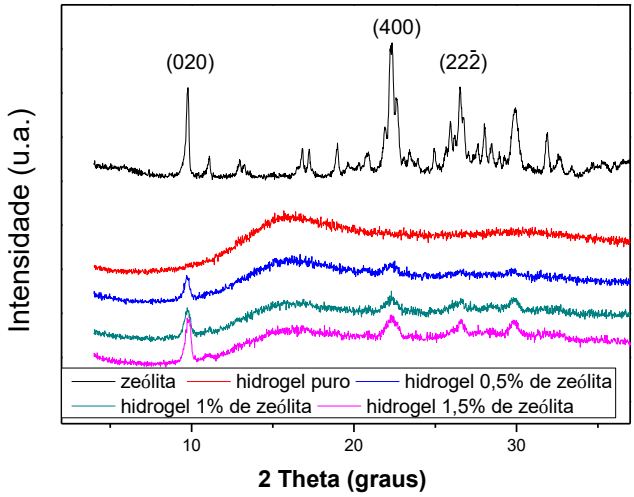


Figura 1. Padrões de DRX da zeólita pura (em preto), hidrogel de PMAA-co-PAAm com CMC (em vermelho), PMAA-co-PAAm com CMC e 0,5% de zeólita (em azul), PMAA-co-PAAm com CMC e 1% de zeólita (em verde) e PMAA-co-PAAm com CMC e 1,5% de zeólita (em rosa).

3.2 Estudos de Dessorção Controlada de Fertilizantes

A Figura 2a-b representa a liberação do fertilizante por grama em diferentes períodos de tempo, por meio do hidrogel e hidrogel nanoestruturado, carregados em soluções contendo 200 e 2000 ppm de KH_2PO_4, respectivamente. Em ambos os gráficos, nota-se que o hidrogel nanoestruturado com 1,5% de zeólita, liberou uma quantidade maior de fertilizante. Provavelmente, a zeólita aumentou a capacidade de dessorção da matriz, o que pode estar relacionado à sua capacidade intrínseca de alocar moléculas em suas cavidades. Esse resultado, ainda que preliminar é bastante promissor, indicando a real potencialidade (que deve ser comprovada com estudos mais detalhados) de aplicação desses hidrogéis nanoestruturados em sistemas carreadores de liberação controlada de fertilizantes.

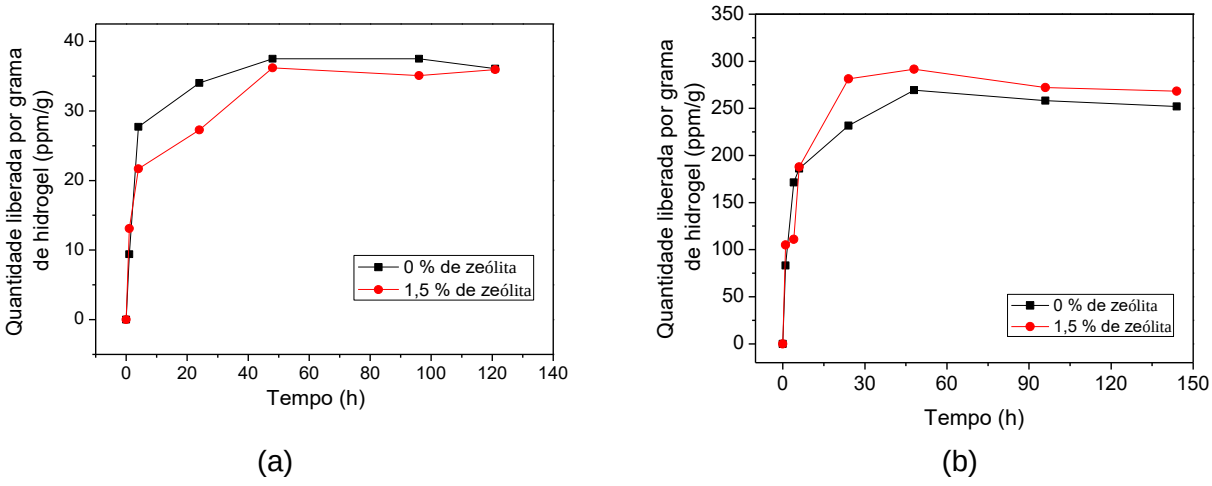


Figura 2. Gráficos cinético da razão da concentração do fertilizante KH_2PO_4 (a) 200 ppm, b) 2000 ppm), pela massa seca, liberada em água para o hidrogel de PMAA-co-PAAm com CMC e hidrogel nanoestruturado de PMAA-co-PAAm com CMC e 1,5% de zeólita.

4 CONCLUSÃO

Por meio da técnica DRX, foi possível observar a presença de picos bem definidos oriundos da estrutura da zeólita nos difratogramas dos nanocompósitos. Confirmando a incorporação da zeólita nas matrizes dos hidrogéis de PMAA-co-PAAm com CMC. Os resultados preliminares de liberação controlada de fertilizantes, indicaram que o nanocompósito, possui uma capacidade de dessorção superior ao do hidrogel puro, indicando que a inserção de zeólita na matriz do hidrogel pode causar uma maior interação entre as cadeias hidrogel e as moléculas de fertilizantes, fazendo com que esses possam alojar uma concentração maior do fertilizante em seu interior. Demonstrando, portanto, uma potencialidade para serem aplicados na agricultura como veículos carreadores de insumos agrícolas, podendo comprovar tal potencialidade através de estudos mais detalhados.

AGRADECIMENTOS

UNESP, CAPES, CNPq e Fapesp pelo apoio financeiro e concessão de bolsas de estudo e de pesquisa.

REFERÊNCIAS

PEPPAS, N. A.; HOFFMAN, A. S. Biomaterials science (third edition): an introduction to materials in medicine. Academic Press, New York, 2013. p. 166-179.

RASHIDZADESH, 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, n. 2, p. 1-15, 2014.

WAKIHARA, T. et al. Changes in the medium-range order of zeolite A by mechanical and thermal amorphization. Microporous and Mesoporous Materials, v. 136, n. 3, p. 92-96, 2010.

EFEITO DE ADIÇÃO DE ARGILA NA CAPACIDADE DE ABSORÇÃO DE ÁGUA EM HIDROGÉIS HÍBRIDOS NANOESTRUTURADOS

Denis Welton da Silva Nascimento[1,*], Luiz Henrique Capparelli Mattoso[2], Marcia Regina de Moura[1], Fauze Ahmad Aouada[1]

*[1] UNESP - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Grupo de Compósitos e Nanocompósitos Híbridos (GCNH), Departamento de Física e Química (DFQ), Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais, Faculdade de Engenharia da Unesp de Ilha Solteira (FEIS), Ilha Solteira, SP, Brasil, [2]Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio (LNNA), Embrapa Instrumentação, 13560-905, São Carlos, SP - *denis.feis@gmail.com*

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio.

Resumo
Neste trabalho, foi estudada a influência da argila cloisita-Na^+ na capacidade de absorção de água e nas propriedades cinéticas expoente difusional (*n*), constante de difusão (*k*) e coeficiente de difusão (*D*) de hidrogéis constituídos de poliacrilamida (PAAm) e carboximetilcelulose (CMC). Os resultados mostraram que a adição da argila diminuiu significativamente os valores de grau de intumescimento no estado de equilíbrio (*Qeq*). Por exemplo, a adição de 20 % de argila, reduziu *Qeq* de 42,4 ± 0,6 para 32,0 ± 1,4 g/g, o que implica na diminuição da capacidade de absorção de água dos mesmos. Notou-se também que a adição de argila aumentou os valores dos parâmetros cinéticos *k* e *D*. Portanto, embora diminua a capacidade de absorção de água, a presença de argila aumenta a velocidade de absorção de água pelos nanocompósitos. Além disso, não foi observada variação significativa no parâmetro *n*, *n* = 0,6 (difusão por transporte anômalo).
Palavras-chave: Nanocompósitos; Hidrogéis; Liberação Controlada.

EFFECT OF ADDITION OF THE CLAY ON WATER ABSORTION CAPABILITY IN NANOSTRUCTURED HYBRID HYDROGELS

Abstract
In this work, the influence of cloisite-Na^+ clay on the water absorption capability and kinetic properties – diffusional exponent (*n*), diffusion constant (*k*) and diffusion coefficient (*D*) of the hydrogels constituted by polyacrylamide (PAAm) and carboxymethylcellulose (CMC) was studied. The results showed that the addition of the clay significantly decreased the values of degree of swelling in the equilibrium state (*Qeq*). For example, the addition of 20% of clay decreased the *Qeq* from 42.2 ±0.6 to 32.0 ± 1.4 g/g, which implies in the decrease of the capacity of water absorption of the hydrogels. It was also noted that the addition of clay increased the values of the *k* and *D* kinetic parameters. Therefore, although it decreases the capacity of water absorption, the presence of clay increases the speed of water absorption by the nanocomposites. Furthermore, significant variation in the parameter n was no observed, *n* = 0.6 (diffusion by anomalous transport).
Keywords: Nanocomposites; Hydrogels; Controlled Release.

Publicações relacionadas: Apresentado de forma de pôster no 21° Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais (CBECIMat); NASCIMENTO, D. W. S.; MOURA, M. R. de; MATTOSO, L. H. C.; AOUADA, F. A. Journal of Nanoscience and Nanotechnology, v. 17, p. 821-827, 2017.

1 INTRODUÇÃO

Dentre as diversas classes de materiais poliméricos, os hidrogéis vêm se tornando uma excelente opção tecnológica devido a suas inerentes propriedades, tais como: capacidade de liberação prolongada de água e solutos; facilidade de síntese em diferentes moldes; gama variada de monômeros precursores; síntese rápida com alta reprodutibilidade e baixo custo; além das propriedades inerentes aos materiais poliméricos.

Hidrogéis são materiais poliméricos reticulados que possuem a característica de absorver grande quantidade de água, comprovado no estudo sobre sensores para metais pesados (TOU et al., 2014), esses podem ainda liberar a água absorvida controladamente, sendo que suas propriedades podem ser variadas e controladas ajustando as condições de síntese, mais especificamente: concentrações de monômeros, reticulantes, iniciador e catalisador (Nascimento et al. 2017).

Segundo Li et al. (2008), Li et al. (2009), Kabiri et al. (2011) e Yi et al. (2011) uma nova classe de hidrogéis compósitos e nanocompósitos tem sido estudada, vislumbrando a potencialidade de aplicação desses como veículos carreadores para atuação em sistemas de liberação controlada de pesticidas e fertilizantes. Um método de síntese utilizado na obtenção de hidrogéis nanocompósitos consiste na inserção de argilominerais do tipo argila na solução formadora dos hidrogéis comprovado no estudo sobre hidrogéis nanocompósitos (HARAGUCHI; TAKEHISA, 2002).

A argila intercalada nas cadeias poliméricas pode atuar como um reticulante de cadeias poliméricas possuindo características superiores aos agentes reticulantes orgânicos comumente usados, sendo que hidrogéis nanocompósitos híbridos obtidos a partir desses materiais possuem excelentes transparência ótica e propriedades mecânicas, elevado grau de intumescimento e sensibilidade a estímulos externos comprovados no estudo sobre sínteses e propriedades de materiais nanocompósitos (HARAGUCHI, 2001).

O objetivo principal desse trabalho foi investigar a influência da argila cloisita-Na^+ nas propriedades hidrofílicas e cinéticas, por meio de medidas de grau de intumescimento, dos hidrogéis nanocompósitos biodegradáveis constituídos de poliacrilamida (PAAm) e carboximetilcelulose (CMC) para aplicação em sistemas de liberação controlada de insumos agrícolas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Síntese dos hidrogéis, grau de intumescimento e determinação dos parâmetros cinéticos

Os parâmetros cinéticos de intumescimento foram calculados por meio de medidas de grau de intumescimento em função do tempo em água destilada para hidrogéis de PAAm, CMC e argila cloisita-Na^+, que foram obtidos por meio de polimerização/reticulação química via radicalar, catalisada por N,N,N',N'-tetrametil-etilenodiamina, iniciada por persulfato de sódio e reticulada por N'-N-metilenobisacrilamida (Nascimento et al. 2017). Os nanocompósitos foram obtidos variando a concentração de argila cloisita-Na^+ (0 a 20% m/v), mantendo constante as concentrações de AAm e polissacarídeo CMC. Para cada curva, o expoente difusional (*n*) e constante de difusão (*k*) foram calculados utilizando a Equação a seguir:

$$kt^n = \frac{M_t}{M_o} \quad (1)$$

onde *t* é o tempo, *K* é conhecida como 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 liberação/adsorção de um dado soluto, *Mt* é a massa do hidrogel em intumescimento medida em um tempo *t* (h) e M_0 é a massa do hidrogel seco.

O grau de intumescimento foi obtido a partir da razão entre a massa do hidrogel intumescido em um tempo t e a massa seca desse, ou seja, antes de iniciar o experimento. Foram realizadas triplicatas e os resultados indicam a média seguida pelo desvio padrão.

2.2 Cálculo do coeficiente de difusão ''*D*''

O estudo de difusão do solvente para o interior dos hidrogéis foi realizado através das análises dos valores do coeficiente *D*, obtidos a partir da equação a seguir:

$$D = \pi r^2 \left(\frac{k}{4}\right)^{1/n} \quad (2)$$

onde *D* é dado em cm^2/s e *r* é o raio do hidrogel seco.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Propriedades hidrofílicas dos hidrogéis nanocompósitos

A Fig. 1 apresenta o estudo cinético da capacidade de absorção de água dos hidrogéis em função da concentração de nanoargila. Onde foi possível observar que os hidrogéis aumentaram o grau de intumescimento (Q) rapidamente nas 8 primeiras horas do estudo. Sendo que a partir de 24 horas os hidrogéis atingiram o estado de equilíbrio. Ou seja, a partir desse ponto a capacidade de absorção de água pelas matrizes híbridas foi saturada. Os resultados indicaram também que a adição de argila cloisita-Na^+ diminuiu significativamente o grau de intumescimento, dos hidrogéis com 1% de CMC em suas matrizes, no estado de equilíbrio (*Qeq*) (nesse caso, *Qeq* corresponde ao valor de *Q* após 48 horas de intumescimento), o que implica na diminuição da capacidade de absorção de água dos mesmos, como podemos ver na Fig. 2. Esse efeito é um indicativo que a nanoargila esteja atuando como reticulante físico das cadeias poliméricas. Logo, possuem menor capacidade de expansão.

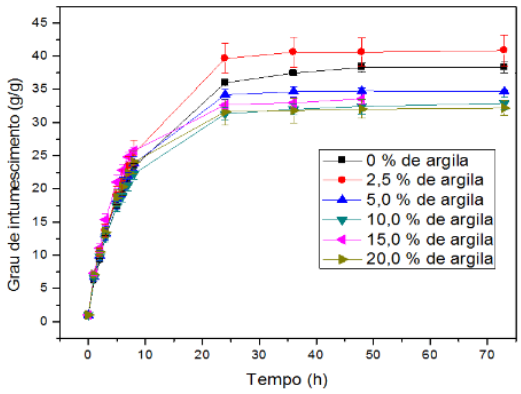


Fig. 1: Influência da nanoargila no grau de intumescimento de hidrogéis.

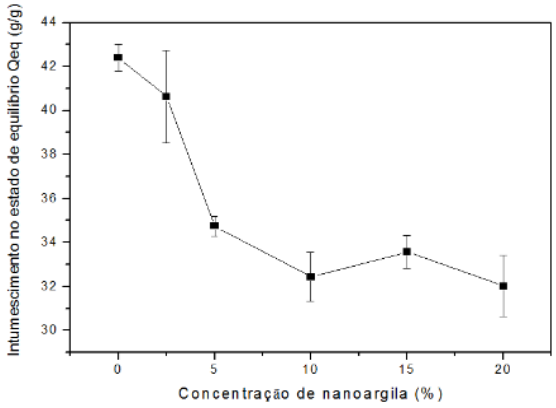


Fig. 2: Dependência do grau de intumescimento no estado de equilíbrio em função da concentração de nanoargila.

3.2 Influência da nanoargila sobre os parâmetros cinéticos

Foi calculado o valor dos parâmetros cinéticos para os mesmos hidrogéis estudados anteriormente, onde se observou que a adição de argila aumentou os valores dos parâmetros cinéticos *K* e *D* (Tab. 1), aumentando assim a velocidade de absorção de água pelos hidrogéis.

Tabela 1. Valores de n, K e D para diferentes concentrações de argila nos hidrogéis

Nanoargila	n	k (h^{-1})	D (10^{-3} cm^2/h)
0 %	0,64 ± 0,01	0,16 *	3,2 ± 0,2
2,5 %	0,62 ± 0,02	0,17 ± 0,01	3,4 ± 0,2
5 %	0,62 ± 0,02	0,19 ± 0,02	4,5 ± 0,4
10 %	0,59 ± 0,01	0,20 *	4,0 ± 0,2
15 %	0,62 ± 0,02	0,22 ± 0,02	6,6 ± 0,2
20 %	0,59 ± 0,03	0,22 *	4,7 ± 0,5

** desvio padrão < 0,01.*

Além disso, não foi observada variação significativa no parâmetro *n* como podemos ver na tabela abaixo. Como os valores de *n* permaneceram entre 0,5 e 1,0, o processo de difusão ocorre por transporte anômalo, ou seja, tal processo é conduzido ao mesmo tempo por difusão e por relaxação das cadeias do hidrogel.

4 CONCLUSÃO

Foi possível obter com reprodutibilidade novos hidrogéis baseados no polissacarídeo CMC e acrilamida com diferentes teores de argila. Os resultados indicaram que a adição de argila cloisita-Na^+ diminuiu a capacidade de absorção de água, porém aumentou a velocidade de absorção de água. Como o expoente difusional (*n*) manteve–se praticamente constante em $n = 0,6$, podemos concluir que as difusões se dão por transporte anômalo. A partir dessas caracterizações, foi possível selecionar os de melhores desempenhos para futuro estudos sobre liberação controlada de insumos agropecuários.

AGRADECIMENTOS

UNESP, CAPES, CNPq e Fapesp pelo apoio financeiro e concessão de bolsas de estudo e de pesquisa.

REFERÊNCIAS

HARAGUCHI, K. Polymer Journal, v. 43, n. 3, p. 223-241, 2011.

HARAGUCHI, K.; TAKEHISA, T. Advanced Materials, v. 14, n. 16, p. 1120-1124, 2002.

KABIRI, K.; OMIDIAN, H.; ZOHURIAAN-MEHR, M. J.; DOROUDIANI, S. Polymer Composites, v. 32, n. 2, p. 277-289, 2011.

LI, J.; LI, Y.; DONG, H. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 56, n.4, p. 1336-1342, 2008.

LI, J.; LU, J.; LI, Y. Journal of Applied Polymer Science, v. 112, n. 1, p. 261-268, 2009.

NASCIMENTO, D. W. S.; MOURA, M. R. de; MATTOSO, L. H. C.; AOUADA, F. A. Journal of Nanoscience and Nanotechnology, v. 17, p. 821-827, 2017.

TOU, Z. Q.; KOH, T. W.; CHAN, C. C. Sensors and Actuators B: Chemical, v. 202, p. 185-193, 2014.

YI, Y.; XU, S.; SUN, H.; CHANG, D.; YIN, Y.; ZHENG, H.; XU, H.; LOU, Y. Carbohydrate Polymers, v. 86, n. 2, p. 1007-1013, 2011.

AUMENTO DA SOLUBILIDADE DA HIDROXIAPATITA A PARTIR DO USO DE POLÍMEROS BIODEGRADÁVEIS À BASE DE AMIDO E PECTINA

Camila R. Sciena[1,2*], Maria F. do Santos[2], Francys K. V. Moreira[1], José M. Marconcini[2], Elaine C. Paris[2]

1 – UFSCar, Rodovia Washington Luiz, Km 235, SP 310. 13565-905, São Carlos, SP
2 – LNNA – Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro 1452, 13560-970, São Carlos, SP
**carsciena@gmail.com*

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio

Resumo
O Brasil apresenta grande dependência externa na utilização de fertilizantes, devido sua alta demanda e baixa produção interna. Mais de 70% dos fertilizantes utilizados em solo nacional são atualmente importados. Assim, é necessário o estímulo produção desses materiais, de modo a diminuir essa necessidade. Para isso, o desenvolvimento de metodologias que aumentem a área superficial e facilitem a liberação de nutrientes, potencializarão o efeito dos fertilizantes, minimizando a quantidade de produto aplicado. Neste contexto, tem-se como objetivo avaliar a dependência da solubilidade de nanopartículas de hidroxiapatita (HAP). Para melhorar a liberação de íons de fósforo da HAP, visando a aplicação como fertilizante mineral, a metodologia utilizada baseou-se na embalagem das nanopartículas em sachês biodegradáveis, compostos por diferentes porcentagens de amido termoplástico (TPS) e pectina (PEC). Os resultados mostraram que, após o armazenamento dentro dos sachês poliméricos, todas as amostras sintéticas apresentaram solubilidade superior à liberação dos pós de HAP livres. Conclui-se que a incorporação de HAP dentro dos sachês pode aumentar a liberação de fósforo devido à diminuição do pH, independentemente do tamanho, forma e cristalinidade das nanopartículas.
Palavras-chave: Nanopartículas; Hidroxiapatita; Amido; Pectina; Liberação.

INCREASE OF HYDROXYPATITA SOLUBILITY FROM THE USE OF BIODEGRADABLE POLYMERS BASED ON STARCH AND PECTIN

Abstract
Brazil has great external dependence on the use of fertilizers, due to its high demand and low internal production. More than 70% of the fertilizers used in national soil are currently imported. Thus, it is necessary to stimulate the production of these materials, in order to reduce thissupply . Due to this, methods that increase the surface area and improve the release of nutrients are highly important, since it would potentiate the effect of the fertilizers. In this context, the objective of this this work was to evaluate the dependence of the solubility of synthetic hydroxyapatite nanoparticles (HAP). The methodology was based on the packaging of the nanoparticles in biodegradable sachets, composed of different percentages of thermoplastic starch (TPS) and pectin (PEC) to improve the release of phosphorus ions from HAP, aiming the application as mineral fertilizer. The results showed that, after storage inside the polymer sachet, all the synthetic samples presented higher solubility compared to the liberation of the free HAP powders. It is concluded that the incorporation of HAP into the sachets can increase the release of phosphorus due to pH decreasing, regardless of the size, shape and crystallinity of the nanoparticles.
Keywords: Nanoparticles; Hydroxyapatite, Starch, Pectin, Release.

Publicações relacionadas: Dissertação de Mestrado: Acondicionamento de Hidroxiapatita Nanoparticulada em Sachês Biodegradáveis para Aplicação como Fertilizante Mineral.

1 INTRODUÇÃO

Grande parte dos fertilizantes utilizados em solo nacional são importados, devido ao alto consumo e baixíssima produção. Assim, há a necessidade de obtenção desses materiais, a fim de diminuir a dependência do mercado externo, visto que a produção de *commodities* agrícolas brasileiras é extremamente dependentes da manutenção do solo. Entretanto, o uso indiscriminado de fertilizantes pode acarretar em problemas ambientais, causando danos ao meio ambiente e aos seres vivos. O aumento da solubilidade das fontes de fertilizantes minerais é uma alternativa para melhorar a disponibilidade de nutrientes ao solo e reduzir custos, já que grande parte dos fertilizantes minerais, como apatitas e óxidos, apresentam baixa solubilidade. Assim, a utilização de nanopartículas é extremamente relevante, devido ao aumento da área superficial e consequentemente da solubilidade do material. Por outro lado, a diminuição do tamanho das partículas utilizadas pode facilitar processos de intoxicação por inalação dos pós ou, até mesmo, processos de lixiviação. Pensando nisso, a utilização de polímeros biodegradáveis que acondicionem esses materiais pode amenizar situações deste tipo.

Em respeito aos fertilizantes, o fósforo é um macronutriente essencial para o crescimento e desenvolvimento de organismos vegetais (Malavolta, 2008). A produção tradicional de fertilizantes de fósforo é dispendiosa e apresenta alto custo. Além disso, a partir desse método de produção há a formação de fosfogesso, um subproduto que não apresenta aplicação final, causando problemas ambientais (BECKER, 1989). Desse modo, o uso de rochas fosfáticas naturais é essencial para a redução de problemas causados a partir da produção de fertilizantes fosfatados. A apatita é a rocha fosfática mais abundante e apresenta-se em várias subclasses de acordo com o ânion presente. A hidroxiapatita (HAP) tem fórmula $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ e é um material biocerâmico, podendo ser uma alternativa para aumentar a concentração de fósforo no solo, beneficiando a produção agrícola.

Sistemas que aumentem a solubilidade de rochas fosfáticas a partir do uso de fungos e bactérias têm sido estudadas (Cabello, 2005). Esses métodos são mais caros e sofisticados quando comparados aos sistemas poliméricos biodegradáveis. Também foram encontrados métodos de liberação controlada a partir de polímeros (Qiao, 2016), entretanto, esses métodos visam a proteção do material a ser liberado, de modo a ocorrer uma liberação constante das substâncias, e não o aumento da solubilidade do mesmo.

Deste modo, o presente trabalho visa potencializar a utilização de nanopartículas de HAP para aumentar a liberação de fósforo utilizando sachês de polímeros biodegradáveis compostos por amido e pectina.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Sachês Biodegradáveis.

A blenda polimérica foi produzida de acordo com Moreira *et al.* (2012). Para isso foram utilizados Amido 4001 (Corn Products) (TPS), Pectina Genu USP B (CPKelco) (PEC), glicerol (Synth), Ácido Esteárico (Synth) e água deionizada. Foram preparadas diferentes proporções de TPS:PEC (100:0; 75:25; 50:50; 25:75; 0:100) em um misturador do tipo Haake com rotações a 160 rpm, a 130°C durante 4 minutos. Para formação dos filmes, os grânulos termoplásticos obtidos no misturador foram prensados a 140°C durante 7 minutos. Foi avaliado o tempo de degradação dos filmes para escolha do material ideal para produção dos sachês.

Já para a preparação dos sachês, os filmes foram cortados em quadrados de 2 x 2 cm. Em seguida, dois quadrados foram sobrepostos e 3 bordas foram seladas a 140°C. Em seguida, 50 mg de HAP foram colocados no interior do sachê e a quarta borda foi selada, sem submeter a HAP ao aquecimento.

2.2 Ensaio de liberação

Foi avaliada a solubilidade das amostras de HAP dentro e fora dos sachês. Para isso, 50 mg de HAP foram colocadas em 50 mL de água deionizada. Alíquotas foram recolhidas durante diferentes períodos de tempo (2, 4, 8, 12, 24, 32 e 48 h). Para análise da quantidade de fósforo presente, foi utilizado o método colorimétrico azul de molibdênio e em seguida feito o espectro UV-Vis (Shimadzu®, modelo UV-1601PC.). Já para as amostras acondicionadas nos sachês, os tempos de retirada de alíquotas foram 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216 e 240 h. O procedimento de análise supracitado foi utilizado também para essas amostras.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 1 pode ser observado a degradação das blendas produzidas quando permanecidas em água.

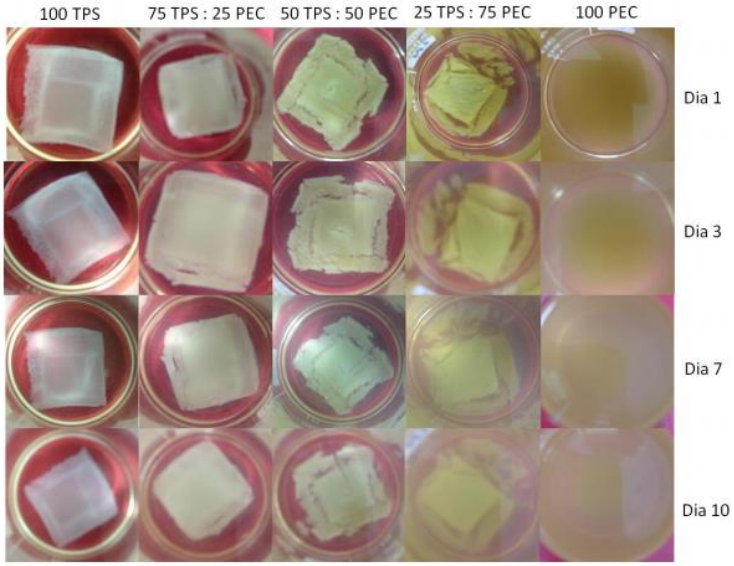


Figura 1: Degradação das blendas de amido e pectina em água durante 10 dias.

Verificou-se que o filme de pectina puro foi solubilizado em menos de 24 horas, inviabilizando a sua utilização. Notou-se também que sua resistência à degradação aumenta à medida que os teores de amido aumentam na blenda. Entretanto, as blendas 50 TPS:50 PEC e 25 TPS:75 PEC apresentaram trincas nos dias iniciais de degradação, também inviabilizando as suas utilizações. Já o filme composto somente por amido apresentou grande resistência ao desgaste permanecendo praticamente intacto ao decorrer do ensaio. Assim, a blenda que não apresentou rachaduras durante os dias iniciais, mas também não se apresentou tão duradoura quanto a amostra composta por somente amido, foi a selecionada para produção dos sachês para a liberação, sendo esta a blenda de 75 TPS:25 PEC.

Já na Figura 2 podemos observar a liberação dos íons fósforo durante o tempo.

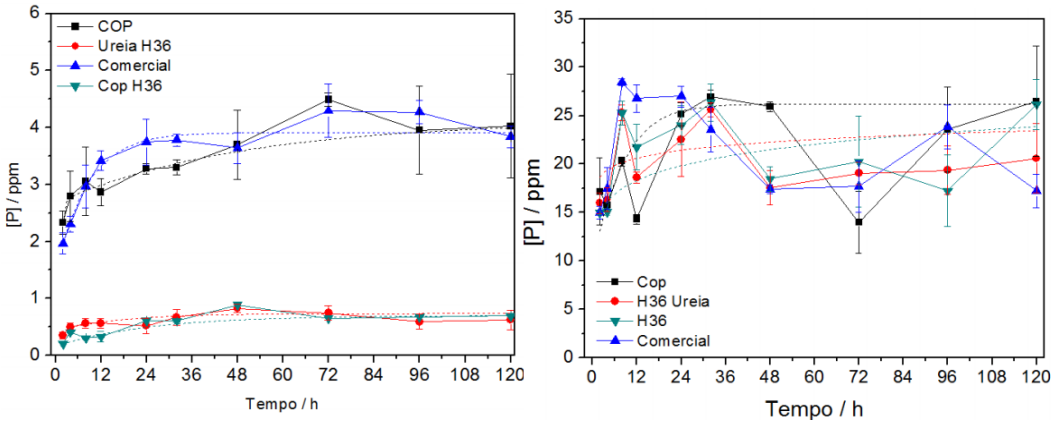


Figura 2: a) liberação das HAP pura em meio aquoso. b) liberação de HAP acondicionada no sachê em meio aquoso.

Analisando a Figura 2a, pode-se notar que as amostras Cop e Comercial apresentam maior solubilidade (de 2 a 4 ppm aproximadamente) comparadas às amostras Ureia H36 e Cop H36 (de 0 a 1 ppm). Nota-se também, que para todas as amostras, a liberação máxima ocorre entre 12 a 24 horas, sendo que após este período a solubilização permanece praticamente constante, indicando que o comportamento tende ao equilíbrio. Pela análise da Figura 2b, verifica-se que a liberação de íons fósforo, teve o valor máximo a partir de 48 a 120 h para todos os sistemas, apresentando valores entre

24 e 36 ppm, correspondentes a 65 e 97% do valor máximo esperado. Este fato pode ser atribuído ao início do processo de decomposição dos sachês, possibilitando a passagem dos íons fósforo para o meio aquoso. Para períodos superiores à 168 h não houve variações no comportamento, sugerindo que o limite de solubilidade do sistema foi atingido. Realizando-se uma análise comparativa para a liberação máxima das nanopartículas de HAP livres e acondicionadas em sachês, verifica-se que o acondicionamento resultou em um aumento considerável da solubilidade da HAP para todas as amostras.

4 CONCLUSÃO

Pode-se concluir que após o armazenamento de nanopartículas nos sachês poliméricos, as nanopartículas apresentaram aumento na solubilidade devido à diminuição do pH da degradação dos sachês TPS:PEC. Esses resultados demonstram a viabilidade do uso estratégico de nanopartículas HAP armazenadas em sachês poliméricos de amido:pectina para aumentar a liberação de fósforo, independentemente do tamanho, cristalinidade e forma das nanopartículas.

AGRADECIMENTOS

Técnicos e Analistas da Embrapa Instrumentação pelo suporte técnico. Alunos do Grupo de pesquisa pela parceria. SISNANO/MCTI, CNPq, CAPES, FINEP, e Embrapa/Rede AgroNano pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

MALAVOLTA, E. O futuro da nutrição das plantas tendo em vista aspectos agronômicos, econômicos e ambientais. Disponível em: https://www.ipni.net/ppiweb/brazil.nsf/87cb8a98bf72572b8525693e0053ea70/d20fb44d85259bf7032572530062870e/$file/jornal-121.pdf Acesso em: 20 Set. 2017.

BECKER, P. Phosphates and Phosphoric Acid—Raw Materials, Technology, and Economics of the Wet Process. 2th ed. Marcell Dekker, 1989. 740 p.

CABELLO, M. et al. Effect of an arbuscular mycorrhizal fungus, Glomus mosseae, and a rock-phosphate-solubilizing fungus, Penicillium thomii, on Mentha piperita growth in a soilless medium in J. Basic Microbiol. v 45, p.182-189, 2005.

Qiao, D. L. et al. Preparation and characterization of slow-release fertilizer encapsulated by starch-based superabsorbent polymer in Carbohydrate Polymers, v.147, p. 146-154, 2016.

MOREIRA, F. K. V.; MARCONCINI, J. M.; MATTOSO, L. H. C. Analysis of the influence of composition and processing parameters on the mechanical properties of biodegradable starch/pectin blends in Polym. Bull, v. 69, p. 561-577, 2012.

ENGENHARIA DE CRISTAIS DE SAIS ORGÂNICOS DE AMETRINA: UMA TECNOLIGIA EFETIVA PARA REDUÇÃO DE IMPACTOS AMBIENTAIS.

Paulo S. Carvalho Jr, Caue Ribeiro

Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio (LNNA), EMBRAPA Instrumentação, São Carlos, SP, Brasil. paulquim@gmail.com

Classificação: Tecnologia para redução de impacto ambientais.

Resumo
Defensivos agrícolas de alta eficiência e mínimos impactos ambientais são amplamente requeridos nas práticas agrícolas. Dentre os fatores da aplicação destes compostos a solubilidade é a principal variável, pois determina a disponibilidade destes compostos para os alvos de atuação (pragas). É desejável que estes compostos pudessem ser veiculados em formas de solubilidade controlada, permitindo assim que a aplicação se desse por suspensões (e não soluções) de cristais de propriedades bem conhecidas. Neste trabalho, apresenta-se a síntese supramolecular de modificações cristalinas do herbicida Ametrina (AMT). Três sais orgânicos com ácidos fumárico e maléico foram obtidos e caracterizados via difração de raios X, análises térmicas e solubilidade. A melhoria das propriedades físico-químicas de AMT sugere a redução do ativo nas formulação e aplicações agrícolas.
Palavras-chave: Engenharia de cristais; Ametrina; modificações cristalinas.

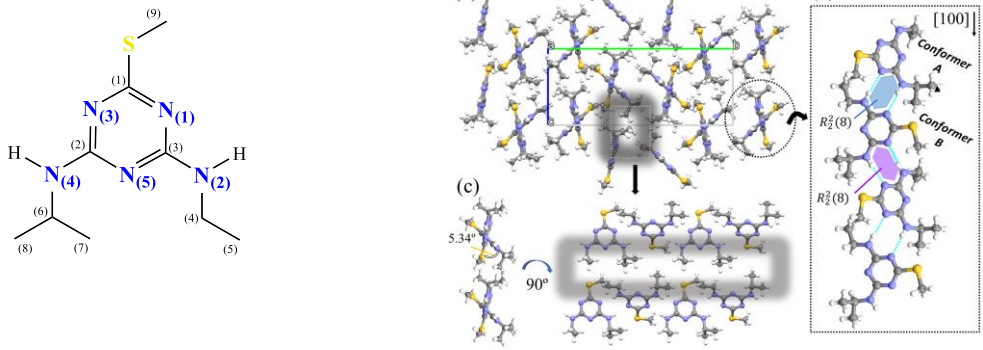
ENGINEERED ORGANIC SALTS OF AMETRYN HERBICIDE: AN EFFECTIVE AGROCHEMICAL TECHNOLOGY FOR REDUCING ADVERSE IMPACTS ON THE ENVIRONMENT
Highly efficient agricultural defenses and minimal environmental impacts are widely required in agricultural practices. Among the factors of the application of these compounds, solubility is the main variable, since it determines the availability of these compounds to the targets of action (pests). It is desirable for these compounds to be conveyed in controlled solubility forms, thus allowing the application to be by suspensions (not solutions) of crystals of well-known properties. In this work, we present the supramolecular synthesis of crystal modifications for herbicide Ametryn(AMT). Three organic salts with fumaric and maleic acids were obtained and characterized by X-ray diffraction, thermal analysis and solubility. The improvement of physicochemical properties of AMT suggests the reduction of the active component in the formulation and agricultural applications.
Keywords: Crystal engineering; Ametryn; Herbicides; solid-state**;**

1 INTRODUÇÃO

A busca por uma produção sustentável de alimentos e biocombustíveis que abasteça o crescimento da população mundial (~7 bilhões de pessoas) exige abordagens integradas e diversificadas(Delaney, Clarke et al. 2006; Powles and Yu 2010; Schleifer 2013). Reconhece-se que os produtos agroquímicos (IAQs), *i.d* pesticidas, fungicidas e herbicidas, são necessários para assegurar a produtividade. Por outro lado, a eficácia destes relaciona-se à sua capacidade de produzir impactos ambientais reduzidos(Tilman, Fargione et al. 2001; Tilman, Cassman et al. 2002; Powles and Yu 2010). Sendo manufaturados e formulados, é preciso considerar a sustentabilidade como uma característica ótima da forma sólida dos IAQ's. Através da engenharia de cristais, obtém-se uma abordagem para o desenvolvimento confiável de materiais funcionais(Bernstein 2002; Hilfiker 2006; Wouters, Quere et al. 2011). Para herbicidas, a temática assume uma importância vital, uma vez que os compostos efetivos, solúveis e estáveis são necessários para evitar a aplicação e perda de lixiviação.

Ametrina (AMT), Figura 1-(1), é um derivado de *s*-triazina usado como herbicida sistêmico seletivo de pré e pós-emergência em todo o mundo. No entanto, a AMT é uma IAQ pouco solúvel em água (~ 0,209 mg mL-1) e baixa biodisponibilidade (classe toxicológica III pela EPA). Apesar do uso

generalizado e da relevância agroquímica da AMT, sua estrutura cristalina não foi elucidada. Neste trabalho, apresenta-se a estrutura cristalina de AMT e seus adutos cristalinos com ácidos orgânicos.



(1) (2)

Figura 1. (1) Estrutura molecular do herbicida Ametrina. Numeração para os atamos encontram-se em parênteses. (2) Estrutura cristalina do herbicida Ametrina (AMT).

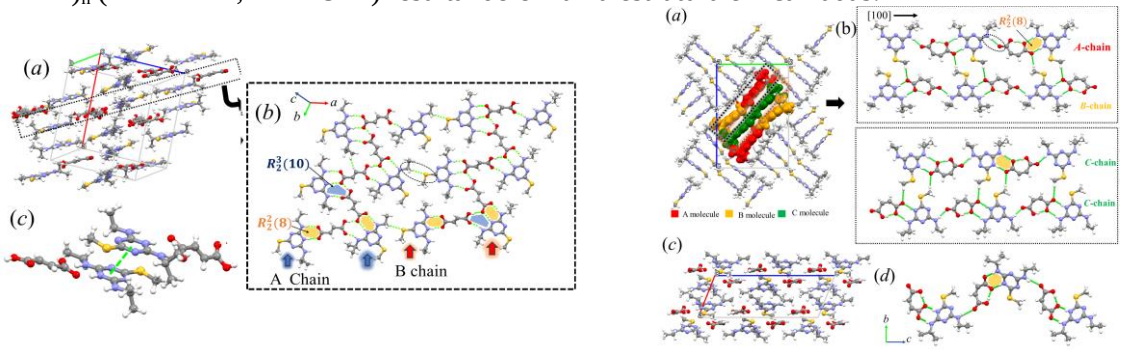
2 MATERIAL E MÉTODOS

Síntese supramolecular. Um sistema de proporção 1:1 para AMT e o ácido correspondente (acidos maléico e fumarico) foram misturadas mecanicamente e posteriormente dissolvidos em 10mL etanol 98%. Este sistema foi agitado e aquecido a 50 ºC por 1h. Após esta etapa, 4 mL de água destiladas são adicionados. A técnica de evaporação lenta a 25 ºC e a 10ºC foi utilizada para obtenção de cristais adequados para as medidas de difração e raios-X por monocristal. Caracterização das formas sólidas obtidas incluem difração de raios-X para amostras policristalinas, Termogravimetria, Calorimetria Explanatória de Varredura e medidas de solubilidade (método do saturação de Erickson(Eirkson C 1987)).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

AMT cristaliza em um grupo espacial $P2_1/c$ com Z '= 2. As moléculas independentes por simetria (conformador: A e B) são acopladas por ligações NH•••N (Figura 1-(2)) para formar um *synthon* $R_2^2(8)$. Assim, as moléculas AMT formam uma cadeia 1D ao longo do eixo *a*, com um ângulo de 55,34º entre o plano de triazina das moléculas A e B. As cadeias AMT definem uma região de ligação de hidrogênio polar no cristal cercada por uma região hidrofóbica formada pelos grupos N-alquilo (destacada como região cinza na Figura 1-(2)).

Os cristais de AMT-FUM são prismas e pertencem ao grupo espacial $P2_1/c$. A estrutura AMT-FUM (1: 1, Z '= 2) é estabelecida pelos sythons $R_2^2(8)$ and $R_2^3(10)$ formandos entre ácido•••amino-triazina (Figura 2-(1)). Como esperado, no sal, o ânion FUM^- atua como espaçador molecular produzindo domínios hidrofílicos. Cada par iônico AMT^+FUM^- arranja-se em cadeia com o padrão $(ABAB)_n$ (A = AMT^+, B = FUM^-) resultando em uma estrutura em camadas.



(1) (2)

Figura 2. Estrutura cristalina para o sal (1) Fumarato de Ametrina (AMT-FUM) e (2) Maleato de Ametrina-Forma I (AMT-MAL-I).

Maleato de ametrina leva à formação de diferentes fases polimórficas, denominadas AMT-MAL-I e AMT-MAL-II. A 270 K, a cristalização do sal resulta em cristais prismáticos e sua estrutura (AMT-MAL-I, 1: 1, $P2_1/c$ e Z '= 3) é caracterizada pela presença de três conformeros (A, B e C) exibindo diferentes estados protonados. No sal AMT-MAL-I, cada cátion AMT^+ cristalograficamente independente associa-se a um ânion via um synthon $R_2^2(8)$ (Figura 2-(2)). Assim, cada conformador se estende em um a cadeia 1D ao longo do eixo *a*.

Como esperado da multiplicidade conformacional e de estados ionizados de AMT, uma fase polimórfica, AMT-MAL-II, foi obtida. Esta fase ocorre como grandes blocos prismáticos. Os cristais de AMT-MAL-II pertencem ao grupo espacial $P2_1/c$ (Z '= 1). Em AMT-MAL-II, o par iônico é estabilizado através do mesmo synthon $R_2^2(8)$ observado na Forma I, no entanto, com orientação diferente entre cátion e ânion. Assim, pares iônicos são arranjados em uma cadeia curvada orientada ao longo da direção *a* (Figura 2-(2b)). Além do polimorfo, a cristalização do sal usando apenas água resulta em um sal de hemiidrato (P-1, Z '= 1), o (AMT-MAL) H_2O. A estrutura de cristal contém um par iónico AMT^+MAL e duas moléculas de água adicionais.

Os padrões de DRX e as curvas DSC/TGA dos sais de AMT são apresentados na Figura 3. Uma fase única é obtida para todos os sais. Estes são termicamente mais estáveis do que AMT pura. De fato, a inclusão de um coformador polar aumenta o número de ligações gerando uma estrutura coesa e termicamente estável. Por outro lado, também impacta na solubilidade e dissolução. A solubilidade aquosa de AMT-FUM (1,89 $mg.mL^{-1}$), AMT-MAL-I (4,67 $mg.mL^{-1}$) e AMT-MAL-II (4,04 $mg.mL^{-1}$) é notavelmente maior do que o AMT (0,209 $mg.mL^{-1}$).

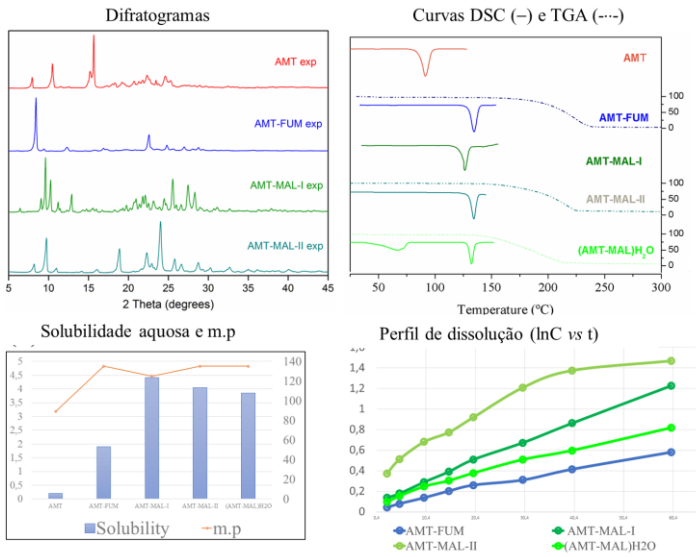


Figura 3. Propriedades físico-química para os sais de Ametrina apresentados neste estudo.

Dado o propósito do aprimoramento na solubilidade e estabilidade térmica da AMT, as a taxa de dissolução intrínseca (IDR) para os sais AMT foram realizadas em meio aquoso por 60 minutos a 22 ºC. Os sais apresentam maior IDR do que AMT pura. A ordem de IDR é AMTMAL-II >> AMTMAL-I> (AMTMAL)H_2O> AMT-FUM >> AMT (Figura 3). Entre AMT-MAL-I e AMT-MAL-II, que possuem a mesma composição, a fase que possui um *m.p* menor tem maior solubilidade.

4 CONCLUSÃO

Pela engenharia de cristais, três modificações cristalinas foram obtidas para AMT. Estas novas forma sólidas exibem solubilidade e estabilidade térmicas aprimoradas com relação a forma pura. Estes resultados caracterizam uma tecnologia que permite repensar a diminuição de doses

AGRADECIMENTOS
Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (2016/09198-6)

REFERÊNCIAS

BERNSTEIN, J. (2002). Polymorphism in Molecular Crystals, Clarendon Press.

DELANEY, J., E. CLARKE, ET AL. (2006). "Modern agrochemical research: a missed opportunity for drug discovery?" Drug Discovery Today **11**(17–18): 839-845.

EIRKSON C, H. M., OSBOURNE CM, SAYRE PG, ZEEMAN M (1987). Water solubility. Environmental assessment technical assistance handbook. U. S. F. a. D. Administration. Washington DC. **31:** 1-11.

HILFIKER, R. (2006). Polymorphism: In the Pharmaceutical Industry, Wiley.

Powles, S. B. and Q. Yu (2010). "Evolution in Action: Plants Resistant to Herbicides." Annual Review of Plant Biology **61**(1): 317-347.

SCHLEIFER, K. (2013). "Challenges in agrochemicals design." Journal of Cheminformatics **5**(Suppl 1): O17.

TILMAN, D., K. G. CASSMAN, ET AL. (2002). "Agricultural sustainability and intensive production practices." Nature **418**(6898): 671-677.

TILMAN, D., J. FARGIONE, ET AL. (2001). "Forecasting Agriculturally Driven Global Environmental Change." Science **292**(5515): 281-284.

WOUTERS, J., L. QUERE, Et al. (2011). Pharmaceutical Salts and Co-crystals, Royal Society of Chemistry.

SÍNTESE DE NANOESTRUTURAS DE ZnO PELOS MÉTODOS DE PRECIPITAÇÃO E HIDROTERMAL

Bárbara Alves Bernardi Pedreira[1,2*], Tuany Chiliti[1,2], Elaine Cristina Paris[2]

1 – UFSCar, Rodovia Washington Luiz, Km 235, SP 310. 13565-905, São Carlos, SP
2- LNNA – Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro 1452, 13560-970, São Carlos, SP
**beeabp@gmail.com*

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio

Resumo
O objetivo deste trabalho é sintetizar nanopartículas de óxido de zinco utilizando os métodos de precipitação e hidrotermal, variando as condições de síntese e caracterizar o produto obtido. Para as sínteses por precipitação e hidrotermal, o precursor de zinco foi solubilizado em uma solução básica sob agitação por uma hora. A seguir, a suspensão obtida foi submetida à hidrotermalização, ou teve o pH ajustado entre 6 e 7 por lavagem seguida de secagem, para o método de precipitação. A hidrotermalização foi realizada em diferentes tempos, seguida da lavagem até pH 6 e secagem em estufa. De acordo com as difrações de raios X e microscopia eletrônica de varredura foram obtidas nanoestruturas cristalinas de óxido de zinco, na forma de nanoplacas com diferentes espessuras. Com isso foi possível concluir que tais sínteses são capazes de produzir nanoplacas de óxido de zinco e que a variação das condições e da rota sintética resultam em alterações na forma das partículas.
Palavras-chave: Óxido de zinco; Precipitação; Hidrotermal; Nanoestrutura

ZnO SYNTHESIS BY PRECIPITATION AND HYDROTHERMAL METHODS

Abstract
The objective of this work is to synthesize zinc oxide nanoparticles using the precipitation and hydrothermal methods, varying the synthesis conditions and characterize the resulting product. For precipitation and hydrothermal synthesis, the zinc precursor was solubilized in a basic solution under stirring for one hour. Next, the suspension obtained was subjected to hydrothermal treatment or washed until the pH was adjusted between 6 and 7 which was followed by drying in the oven. According to the X-ray diffraction and scanning electron microscopy, crystalline zinc oxide nanostructures were obtained in the form of nanoplates with different thicknesses. It was thus possible to conclude that these synthesis were capable to produce zinc oxide nanoplates and also the variation of the conditions and the synthetic route result in changes in the shape of the particles.
Keywords: Zinc oxide; Precipitation; Hydrothermal; Nanostructure

1 INTRODUÇÃO

Atualmente, a agricultura é uma das principais bases da economia brasileira, fazendo necessário o uso de fertilizantes, tal como, fontes de zinco, por conta da sua deficiência em solos brasileiros. A principal forma de disponibilizar o zinco para as plantas é por meio de sais solúveis, como o sulfato de zinco.

Tendo em vista que a maioria dos sais utilizados como fonte de nutrientes tem uma baixa porcentagem mássica de zinco, opta-se pelo uso do seu óxido (ZnO) com 80% do íon metálico. Apesar da baixa solubilidade das partículas micrométricas de ZnO, faz-se uso de uma outra abordagem utilizando o óxido nanoparticulado (BROADLEY et al., 2007). Segundo Ishaaya et al. (2007), a diminuição do tamanho de partícula contribui para a solubilidade do composto, e de acordo com Burda et al. (20015) a morfologia e a cristalinidade também influenciam na solubilidade.

De acordo com Burda et al. (2005), as sínteses pelo método hidrotermal e por precipitação são feitas em uma solução supersaturada do precursor de zinco, permitindo que seu tamanho seja controlado (BØJESEN, E. et al., 2014). No caso da síntese por precipitação o crescimento é

interrompido após a nucleação das partículas, se forem empregados agentes surfactantes efetivos para esse processo. No método hidrotermal o tamanho é controlado através da constante precipitação e ressolubilização das partículas em um solvente acima da sua temperatura de ebulição.

Dessa forma, é de interesse deste trabalho otimizar as sínteses por precipitação e hidrotermal, utilizando diferentes condições reacionais, a fim de obter partículas menores.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Os precursores de zinco usados foram o nitrato de zinco hexahidratado ($Zn(NO_3)_2.6H_2O$ - Synth, 96%) e o acetato de zinco dihidratado ($Zn(CH_3COO)_2.2H_2O$ - Synth, 98%). Os agentes mineralizantes usados foram o hidróxido de sódio (NaOH - LSChemicals) e o hidróxido de potássio (KOH - Vetec). O tempo de hidrotermalização utilizados foram 30 e 120 minutos.

2.1 Síntese pelo Método de Precipitação

Para síntese por precipitação, adicionou-se 50 mL de água deionizada em um béquer de 250 mL e colocou-se o sistema sob agitação. Assim, aumentou-se o pH dessa solução para 14 adicionando uma solução 6 $molL^{-1}$ do mineralizante. Em seguida, adicionou-se precursor suficiente para produzir 1g de ZnO e manteve-se sob agitação por uma hora, conservando-se o pH em 14.

Após esse tempo, realizou-se a lavagem do produto utilizando uma centrífuga Hettich, a 7°C e 11000 rpm por 15 minutos e água destilada até obter-se uma suspensão com pH 7. Por fim, o precipitado foi transferido para uma placa de Petri usando etanol e realizou-se sua secagem na estufa a 60°C. O material resultante foi homogeneizado em um almofariz de ágata e reservado em um frasco tipo Eppendorf.

2.1 Síntese pelo Método Hidrotermal

A precipitação ocorreu como descrita no procedimento anterior, desde o preparo da solução até a agitação durante uma hora. Em seguida, realizou-se a manutenção do pH para 14 usando a solução 6 $molL^{-1}$ do agente mineralizador previamente preparada. Assim, essa suspensão foi transferida para um frasco cilíndrico de Politetrafluoretileno (PTFE) e colocado na hidrotermal a 150°C por 30 e 120 min. Após o tempo programado, lavou-se a suspensão da mesma forma descrita anteriormente.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Cristalinidade e Formação do ZnO

A cristalinidade do ZnO sintetizado foi analisada por meio da Difração de Raios X (DRX) e os resultados são exibidos na Figura 1.

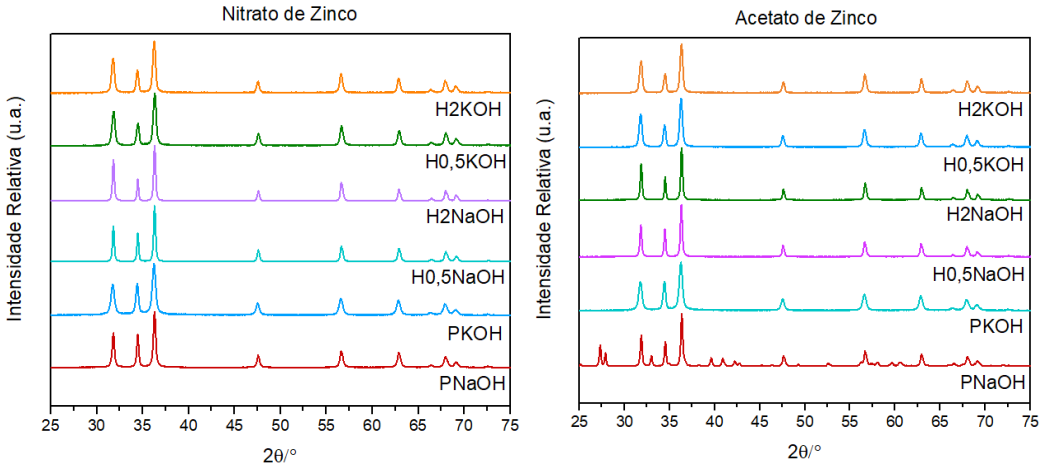


Figura 1. Difratogramas das amostras sintetizadas utilizando nitrato de zinco ou acetato de zinco como precursor. Na imagem indicou-se o método de síntese: hidrotermal (H) ou precipitação (P), seguido do tempo de hidrotermalização em horas (no caso do método hidrotermal) e a base utilizada.

Ao analisar os difratogramas presentes na Figura 1, é possível verificar a cristalinidade do produto e confirmar que essas amostras correspondem a fase esperada do ZnO. Já examinando o difratograma da síntese por precipitação utilizando acetato de zinco e NaOH, é possível perceber que também existem sinais adicionais indicando que, além da fase esperada, existe outro composto cristalino presente na amostra, podendo ser resultado de uma contaminação do precursor.

3.2 Tamanho e Forma das Partículas de ZnO

Nessa etapa foi utilizada a técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura com Emissão de Campo (*Field Emission Gun - FEG*) para capturar imagens das partículas. As imagens das amostras obtidas são exibidas nas Figuras 2 e 3. Analisando tais figuras é possível notar que as partículas possuem forma de placas com espessura nanométrica, como esperado. Também pode-se observar que as diferentes condições de síntese alteraram a espessura e o formato do particulado.

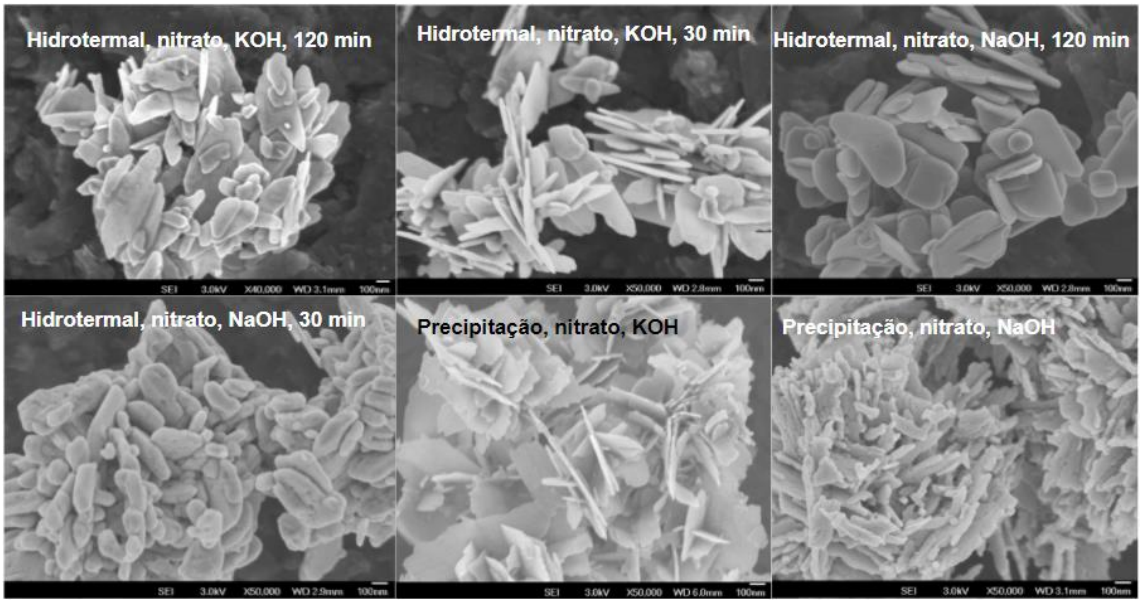


Figura 2 . FEG das amostras sintetizadas pelos métodos de precipitação e hidrotermal, utilizando nitrato de zinco como precursor.

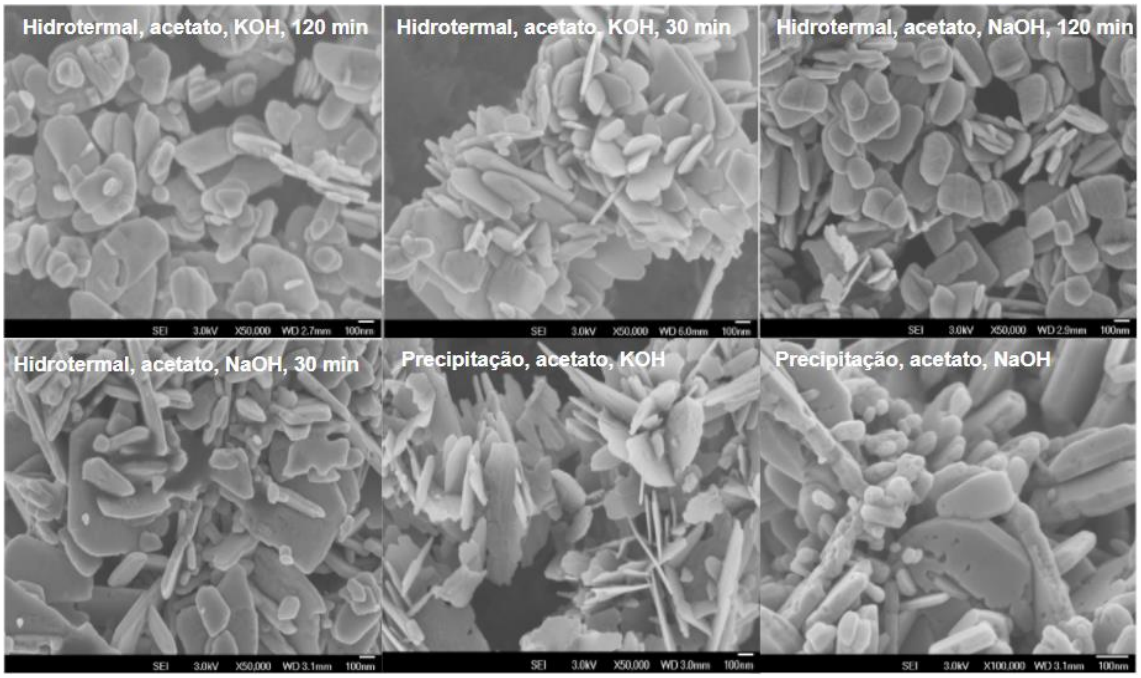


Figura 3. FEG das amostras sintetizadas pelos métodos de precipitação e hidrotermal, utilizando acetato de zinco como precursor.

4 CONCLUSÃO

A partir dos resultados apresentados é possível concluir que as metodologias de síntese são eficazes para obter placas de óxido de zinco com espessura nanométrica. Além disso, estabeleceu-se uma relação entre a rota sintética, assim como suas condições, e o tamanho de partícula.

AGRADECIMENTOS

Técnicos e Analistas da Embrapa Instrumentação pelo suporte técnico. Alunos do Grupo de pesquisa pela parceria. Fapesp, CAPES e CNPq pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

BROADLEY, M. R. et al., Zinc in plants. New Phytologist, v. 173, n.4, p. 677–702, 2007.

ISHAAYA, I.; NAUEN, R.; HOROWITZ, A.R., Insecticides Design Using Advanced Technologies. Netherlands: Springer, 2007. 314 p.

BURDA, C. et al. Chemistry and properties of nanocrystals of different shapes. Chem. Rev., v. 105, n. 4, p. 1025-1102, 2005.

BØJESEN, E. D. et al. In Situ Powder Diffraction Study of the Hydrothermal Synthesis of ZnO Nanoparticles. Crystal Growth & Design, v .14, n. 6, p. 2803- 2810, 2014.

SÍNTESE DE ÓXIDO DE ZINCO PELO MÉTODO DOS PRECURSORES POLIMÉRICOS E AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS DE SÍNTESE NO CONTROLE DE FORMAÇÃO DE FASE

Tuany Chiliti*[1,2], Bárbara Alves[1,2], Camila Rodrigues Sciena[1,2], Elaine Cristina Paris[2]

1 – UFSCar, Rodovia Washington Luiz, Km 235, SP 310. 13565-905, São Carlos, SP
2 – LNNA – Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro 1452, 13560-970, São Carlos, SP
**tchiliti@hotmail.com*

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio

Resumo
O zinco é um dos nutrientes essenciais para o crescimento vegetal, sendo um micronutriente cuja aplicação é fundamental. Seus métodos de uso ocorrem, em geral, por meio de sais solúveis, tais como, $ZnSO_4$. Entretanto, os contra-íons desses sais armazenam grande porcentagem na massa de fertilizante, tornando o óxido de zinco um composto atrativo nesse aspecto. A problemática do ZnO é sua baixa solubilidade. O objetivo deste projeto é sintetizar o ZnO pelo método dos Precursores Poliméricos com diferentes variáveis de síntese, tais como, o regente precursor, temperatura de calcinação, e proporção do agente complexante e íon metálico, a fim de estudar a forma, distribuição e tamanho de partículas. Observou-se que o método dos precursores poliméricos é eficaz na síntese de óxido de zinco monofásico com partículas nanométricas aglomeradas. Notou-se também, um aumento da cristalinidade do ZnO com o aumento da temperatura de calcinação para todos os sais precursores utilizados.
Palavras-chave: Óxido de Zinco; Nanopartículas; Precursores poliméricos.

SYNTHESIS OF ZINC OXIDE BY THE METHOD OF POLYMERIC PRECURSORS AND EVALUATION OF SYNTHESIS PARAMETERS IN THE CONTROL OF PHASE FORMATION

Abstract
Zinc is one of the essential nutrients for plant growth, being a micronutrient whose application is fundamental. Their methods of use generally occur by means of soluble salts, such as, ZnSO4. However, the counter-ions of these salts store a large percentage in the fertilizer mass, making the zinc oxide an attractive compound in this respect. The problem with ZnO is its low solubility. The objective of this project is to synthesize the ZnO by the polymeric precursor method using distinct synthesis conditions, such as the precursor regent, calcination temperature, and proportion of the complexing agent and metal ion, in order to study the shape, distribution and size of particles. It has been found that the polymer precursor method is effective in the synthesis of monophasic zinc oxide with agglomerated nanometric particles. An increase in the crystallinity of ZnO was also noted with increasing calcination temperature for all precursor salts used..
Keywords: Zinc Oxide; Nanoparticles; Polymeric precursors**.**

1 INTRODUÇÃO

1.1. Óxido de zinco como fertilizante

O Zinco é um micronutriente essencial para plantas, agindo na regulagem da síntese de hormônios e outros metabolismos. Sua ausência afeta o crescimento internodal e, como resultado, gera folhas com tons rosas, pequenas e retorcidas.

Para que um composto seja usado como fertilizante, é necessário que esse seja solúvel e absorvível pela planta. O óxido de zinco tem baixa solubilidade em meio aquoso, porém, quando nanoparticulado, esta propriedade é favorecida, ocorrendo a solubilização e facilitando o processo de absorção do íon Zn^{2+} pelas plantas. Partículas nanométricas são objetos de interesse de estudo pois

resultam em uma área superficial maior, aumentando tanto a efetividade do fertilizante quanto a disponibilidade de zinco a ser absorvido e solubilizado. Um dos compostos de zinco utilizados como agroquímico é o $ZnSO_4$, porém o contra íon sulfato (SO_4^{2-}) armazena grande porcentagem da massa da molécula e assim, numa quantidade fixa de fertilizante, possui menor quantidade de zinco do que o ZnO, que tem uma relação maior do micronutriente por molécula.

Quanto à solubilidade, partículas nanométricas apresentam maior tendência a se solubilizarem. Assim, observa-se que partículas nanométricas podem ser até 10.000 vezes mais solúveis do que partículas micrométricas. Essa relação de solubilidade-tamanho de partículas pode ser melhor entendida ao estudar-se a equação de Ostwald-Freundlich:

$$S_d = S_0 . exp^{\left(\frac{\gamma V_m}{RTd}\right)} \quad (1)$$

na qual R é a constante dos gases, T é a temperatura absoluta, V_m é o volume molar do soluto, S_d é a solubilidade de pequenas partículas com diâmetro d, S_0 é a solubilidade do equilíbrio e γ a tensão superficial.

Desse modo, faz-se necessário o uso de métodos de síntese eficientes para produção de ZnO, a fim de controlar o tamanho de partículas e correlacionar essa variável com a solubilidade do material.

1.2. Método dos Precursores Poliméricos

O método dos precursores poliméricos é baseado num sistema poliálcool-ácido cítrico, no qual uma grande variedade de sais metálicos é solúvel. Primeiramente ocorre a formação de um complexo muito estável entre o cátion metálico e o ácido cítrico em uma solução aquosa. Então, ao adicionar-se um glicol, neste caso o etilenoglicol, se procede uma reação de poliesterificação entre 90 e 100 ºC, obtendo-se um poliéster com os íons metálicos distribuídos homogeneamente na solução.

Após formação do precursor polimérico, esse é tratado termicamente a temperaturas entre 300 à 400 ºC, na qual ocorre a pirólise, eliminando o excesso de matéria orgânica e podendo ocorrer a formação de um carbonato misto dependente do cátion metálico presente. Então, para obtenção do composto inorgânico, realiza-se a calcinação a temperaturas mais elevadas.

Deste modo, este trabalho tem como objetivo a síntese do óxido de zinco pelo Método dos Precursores Poliméricos, variando-se a temperatura de calcinação, proporção dos reagentes e sal precursor, com intuito de estudar forma, distribuição e tamanho de partículas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os reagentes utilizados foram ácido cítrico (Sigma-Aldrich, 99,5 % de pureza), etilenoglicol (Synth, 99 % de pureza), sal precursor de zinco (acetato de zinco ($Zn(CH_3COO)_2.2H_2O$, Synth, 98 % de pureza) ou nitrato de zinco (($Zn(NO_3)_2.6H_2O$), Synth, 96 % de pureza) e água deionizada.

Solubilizou-se ácido cítrico na proporção estequiométrica em mol (6:1 ou 3:1 de ácido cítrico: sal de zinco) em água deionizada sob agitação. Solubilizou-se o sal de zinco em outro béquer, também em água deionizada, e adicionou-se ao primeiro. Aqueceu-se a solução sob agitação a 90ºC para redução do volume de água até atingir um leve tom amarelo. Em seguida, adicionou-se cerca de 1 mL de ácido nítrico concentrado e então, após desprendimento dos gases NO_x, adicionou-se etilenoglicol na proporção 3:2 ácido cítrico:etilenoglicol. Manteve-se a temperatura em 90 ºC e a agitação até a formação do poliéster.

Após a obtenção de uma solução viscosa (resina), levou-se o béquer para a mufla e realizou-se a pirólise à 300 ºC por 2 horas. Então, desaglomerou-se o material resultante com um almofariz de ágata até obter-se pós finos. Estes pós foram colocados em uma placa de petri refratária e levado à mufla para calcinação a temperaturas de 500, 600 e 700 ºC.

Para a análise, utilizou-se difração de raios X (DRX) e microscopia eletrônica de varredura com fonte de emissão de campo (FEG-SEM).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Difração de raios X (DRX)

A fim de estudar a cristalinidade do composto foram obtidos os difratogramas de raios X ilustrados na Figura 1. Pelos resultados de DRX pode-se observar que o composto apresenta estrutura hexagonal wurtzita, como esperado para o ZnO. Nos difratogramas referentes a síntese com acetato (3:1) observa-se alguns picos adicionais, que indicam presença do composto $Zn(OH)_2$.

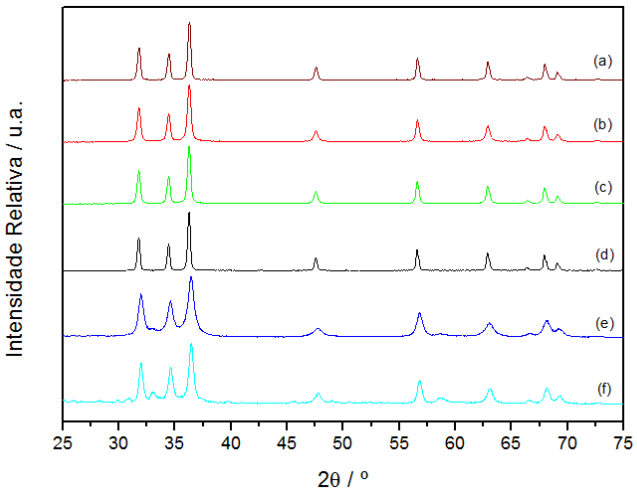


Figura 1. Difratogramas de raios X: (a) Nitrato 700 ºC; Acetato 6:1 (b) 500 ºC, (c) 600 ºC e (d) 700 ºC; Acetato 3:1 (e) 500 ºC e (f) 600 ºC.

Nota-se que com o aumento da temperatura de calcinação, ocorre uma melhora na cristalinidade em todos os difratogramas. Isso ocorre já que o aumento da temperatura favorece o rearranjo cristalino da estrutura em temperaturas maiores.

Dentre as análises, as com maior cristalinidade são Nitrato (6:1) 700 ºC e Acetato (6:1) 700 ºC.

3.2. Microscopia eletrônica de varredura com fonte de emissão de campo

Figura 2 ilustra as imagens de microscopia dos compostos obtidos.

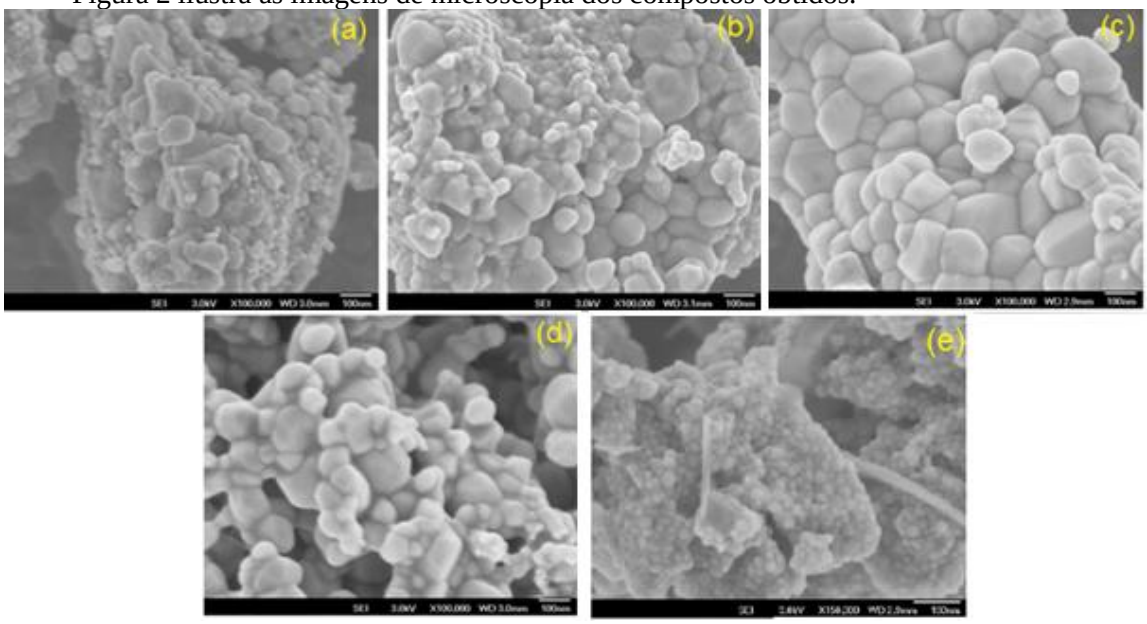


Figura 2. FEG-SEM das partículas de ZnO: Acetato (6:1) (a) 500 ºC, (b) 600 ºC, (c) 700 ºC, Nitrato (6:1) (d) 700 ºC e Acetato (3:1) (e) 500 ºC.

As amostras encontram-se com aglomeração/agregação, que pode ser explicada pelo fato de que a decomposição dos compostos orgânicos gera calor adicional ao sistema e leva a formação de aglomerados parcialmente sinterizados.

4 CONCLUSÃO

Concluiu-se que o método dos precursores poliméricos é eficaz na síntese de óxido de zinco monofásico com partículas nanométricas. As partículas apresentaram-se aglomeradas/agregadas com formato indefinido. Observou-se um aumento da cristalinidade do ZnO com o aumento da temperatura de calcinação tanto para o sal precursor de acetato, quanto para de nitrato.

AGRADECIMENTOS

Técnicos e Analistas da Embrapa Instrumentação pelo suporte técnico. Alunos do Grupo de pesquisa pela parceria. SISNANO/MCTI, CNPq, CAPES, FINEP e Embrapa/Rede AgroNano pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

BARROS, B. S. et al. Synthesis and x-ray diffraction characterization of nanocrystalline ZnO obtained by Pechini method. Inorganic Materials, [s.l.], v. 42, n. 12, p.1348-1351, dez. 2006.

ISHAAYA, I., Nauen, R.,Horowitz, A.R., Insecticides Design Using Advanced Technologies. Agronomia/Agricultura, ed. Ny, S.V. 2007, Nova York: Springer Verlag Ny.

SÁNCHEZ, C. et al. Nanocystalline ZnO films prepared via polymeric precursor method (Pechini). Physica B: Condensed Matter, **[**s.l.], v. 405, n. 17, p.3679-3684, set. 2010.

BARROS, B. S. et al. Synthesis and x-ray diffraction characterization of nanocrystalline ZnO obtained by Pechini method. Inorganic Materials, [s.l.], v. 42, n. 12, p.1348-1351, dez. 2006.

IMOBILIZAÇÃO DE ZEÓLITA FAU EM FIBRAS POLIMÉRICAS PARA A ADSORÇÃO DE CORANTES

Bruno Cano Mascarenhas[1,2], Francine Aline Tavares[1,2], Elaine Cristina Paris[2]

1 – UFSCar, Rodovia Washington Luiz, Km 235, SP 310, 13565-905, São Carlos, SP
2- LNNA – Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro 1452, 13560-970, São Carlos, SP
elaine.paris@embrapa.br

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio

Resumo
Devido aos problemas ocasionados pela poluição das águas, a busca por recursos que minimizem a degradação dos recursos hídricos tem aumentado. Há grande interesse no desenvolvimento de métodos de tratamento de ambientes aquáticos que promovam eficiente remoção de poluentes, dentre estes, se destaca o processo de adsorção. A grande problemática no uso de adsorventes é uma imobilização adequada, que proporcione a remoção e a reutilização. Neste trabalho foram obtidas partículas de zeólita faujasita (FAU) impregnadas em fibras poliméricas de ácido polilático (PLA), e a capacidade de adsorver corantes (rodamina B e azul de metileno) em meio aquoso foi avaliada. As fibras compósitas foram obtidas via eletrofiação, apresentando-se uniformes com 20% de partículas de FAU (m/m). As fibras compósitas revelaram-se promissoras, pois adsorveram com eficiência os corantes rodamina B (acima de 80%) e o azul de metileno (90%), após 90 min de contato com a solução de corante. Portanto, a impregnação de FAU em matriz de PLA viabilizou a aplicabilidade do material final como potencial adsorvente, pois diferentemente do particulado disperso em solução, este é facilmente retirado do meio mecânico.
Palavras-chave: Zeólita FAU; Fibras poliméricas, Compósito, Adsorção, Corantes.

IMMOBILIZATION OF ZEOLITE FAU IN PLA FIBERS TO BE USED AS DYE ADSORBENT

Abstract
Due to the problems caused by water pollution, the search for resources that minimize the degradation of water resources has increased. There is a great interest in the development of methods for treatment of aquatic environments that promotes the efficient removal of pollutants, among them, the adsorption process. The major problem in the use of adsorbents is an adequate immobilization, which provides their removal and reuse. In this work, we obtained zeolite FAU (Faujasite) impregnated in polymeric fibers (poly (acidic), PLA) and its capacity to adsorb dyes (rhodamine B and methylene blue) in aqueous medium was evaluated. The electro-spinning method produced uniform fibers with 20% FAU particles (m/m) with good distribution. The composite fibers were promising because they efficiently adsorbed the dyes rhodamine B (above 80%) and methylene blue (90%) after 90 minutes of contact with the dye solution. Therefore, the impregnation of FAU in PLA matrix allowed the applicability of the final material as a potential adsorbent because, unlike the particulate dispersed in solution, it is easily removed from the mechanical medium.
Keywords: Zeolite FAU; Polymeric fibers, Composite, Adsorption, Dyes.

Publicações relacionadas: MASCARENHAS, B. C. A. Avaliação de diferentes condições de imobilização e funcionalização de zeólitas nanoestruturadas para a adsorção de poluentes orgânicos. Dissertação de Mestrado, PPGQ/UFSCar, São Carlos, 2017.

1 INTRODUÇÃO

A produção de novos compostos químicos, destinados a satisfazerem as necessidades de subsistência ou para potencializar a criação de novos mercados consumidores emergentes, contribuem

para a poluição atmosférica, terrestre e ambientes aquáticos. As principais fontes de poluição dos recursos hídricos são os efluentes domésticos e industriais (ROCHA *et al*., 2012). Uma das principais formas de poluição dos recursos hídricos está relacionada à presença de compostos orgânicos, tais como os corantes; os quais apresentam alta toxicidade sendo prejudiciais à saúde humana (AKSU *et al.*, 2005).

Os métodos comuns de tratamentos de recursos hídricos usados na remoção de efluentes contendo corantes têxteis apresentam desvantagens, como um elevado custo operacional (XINBO *et al.*, 2012). Dentre as técnicas de tratamento de efluentes, o processo de adsorção, utilizando-se adsorventes sólidos apresenta-se como um método eficaz para a remoção de contaminantes orgânicos. Um dos compostos adsorventes utilizados são as zeólitas, tais materiais proporcionam elevada capacidade para aplicação industrial, visto que, apresentam propriedades físico-químicas que favorecem seu uso como adsorvedores, trocadores iônicos, catalisadores e peneiras moleculares, pois oferecem várias possibilidades em termos de tamanho dos poros (OLIVEIRA *et al*., 2014). Dentre esses materiais, destaca-se a zeólita Y, pertencente à família das zeólitas Faujasitas (zeólita FAU), em que a sua elevada capacidade de adsorção é atribuída principalmente à elevada área superficial e estrutura porosa complexa, com diâmetro de amplo poro (7,4 □) (CHAOUATI *et al*., 2013).

Apesar da técnica de adsorção ser eficiente para remoção de poluentes, existe a dificuldade de remoção das partículas suspensas após o processo. Uma solução para este problema é desenvolver suportes para imobilização e remoção das partículas dos adsorventes empregados. Uma metodologia para a imobilização é a adição das nanopartículas em uma matriz polimérica via eletrofiação. As micro ou nanofibras apresentam propriedades únicas, como alta porosidade e área de superfície, sendo amplamente utilizadas para a adsorção (LI *et al.*, 2016). Dentre os polímeros mais estudados, o ácido polilático (PLA) tem despertado grande interesse na literatura (HADJIZADEH *et al*., 2016), decorrente da sua versatilidade de aplicações. Nanofibras de PLA têm sido avaliadas como matriz para remoção de corantes e/ou íons Ni^{2+} e Cd^{2+} em meio aquoso (ISARANKURA *et al*., 2016).

Este trabalho teve como objetivo a imobilização de partículas de zeólita FAU incorporadas em matriz polimérica de PLA (compósito PLA: FAU), a fim de avaliar a capacidade de adsorção de corantes em solução aquosa e a capacidade de remoção e reutilização do adsorvente.

2 MATERIAL E MÉTODOS

A incorporação de zeólita (FAU) pura e/ou funcionalizada em matriz de PLA (FAU:PLA) foi realizada pelo método de eletrofiação, em que diferentes concentrações de FAU (m/m) foram adicionadas à matriz de PLA (relação de 10 a 40% (massa zeólita/massa PLA). A escolha e proporção de solventes empregados para a obtenção das fibras foram baseadas no trabalho prévio de MALAFATTI, 2016. As soluções de PLA foram preparadas e em seguida quantidades de material particulado foram dispersos via agitação magnética por 5 h. Após a dispersão da zeólita na solução polimérica, as fibras de PLA foram obtidas pelo método de eletrofiação, empregando-se 5 cm de distância entre a agulha e o coletor, e tensão elétrica de 20 kV. As vazões de trabalho foram avaliadas para cada solução polimérica, sendo variadas de 1,0 a 5,0 mL h^{-1}. A caracterização foi realizada por meio de DRX e MEV-FEG.

Após a obtenção das fibras foram então realizados os ensaios de adsorção. As soluções dos corantes rodamina B e azul de metileno em concentrações de 5 ppm foram adicionadas a Erlenmeyers contendo massas previamente estabelecidas de zeólita pura e/ou funcionalizada. As concentrações de material particulado empregados foram mantidas na faixa de 0,1 a 3,0 g L^{-1}. Todos os ensaios foram realizados em triplicata. Os experimentos foram conduzidos sob agitação magnética (900 rpm) por 24 h e a temperatura controlada (25ºC) e posteriormente submetidos à centrifugação (11000 rpm 5 min^{-1}). Em seguida, alíquotas da solução do sobrenadante foram analisadas através de UV-vis. As concentrações do corante no sobrenadante foram avaliadas em λ = 554 e 664 nm, para a rodamina B e o azul de metileno, respectivamente. Os ensaios de adsorção seguiram-se com os parâmetros (massa e tempo) otimizados conforme descritos acima. Os ensaios empregando-se fibras foram realizados nos mesmos moldes dos ensaios descritos para as partículas em solução. As concentrações de fibra utilizadas foram na faixa de 0,25 a 4,0 gL^{-1}. A eficiência do material FAU:PLA foram comparados aos pós sem fixação.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As imagens obtidas por MEV indicaram que a concentração de polímero de 15% m/v era a ideal, notou que houve a formação de fibras uniformes mais homogêneas e ausentes de beads. Após obter a condição ideal das fibras de PLA, foi realizada a incorporação de 20% FAU sobre a matriz polimérica; a imagem de MEV para as fibras de PLA:FAU retrata a influência do material particulado na matriz polimérica e a formação de fibras uniformes.

A inserção efetiva do material zeolítico na matriz polimérica foi evidenciada por intermédio de DRX, em que foi observado que a fibra de PLA exibe um sinal na região de $2\theta = 16{,}8^{o}$, caracterizando a fase α do material. O mapeamento da dispersão das partículas de fase cerâmica sobre as fibras poliméricas foi realizado por EDS, na qual se revelaram a presença dos elementos Sódio (Na), Silício (Si) e Oxigênio (O) característicos da fase zeolítica distribuídas ao longo das fibras.

Os resultados obtidos nos ensaios de aplicação da fibra 15%PLA:20%FAU na adsorção de corantes azul de metileno e rodamina B em meio aquoso foram realizados e um "branco" foi feito para a certificação de quão eficiente é a fibra de PLA na adsorção de corantes em solução aquosa. A fibra de PLA pura degradou-se durante o processo, tornando-a inapta para o uso como possível potencial adsorvente. Os espectros de UV-vis (Figura 1) retratam a eficiência do material compósito na remoção dos corantes Azul de Metileno e Rodamina B em função do tempo. Foram necessárias concentrações de 1,0 e 4,0 g L^{-1} de fibras para a remoção do corante, comparado ao resultado de adsorção para o particulado disperso em solução, não há mudanças significativas de concentração mínima necessária para a efetiva remoção de azul de metileno (0,2 g FAU em 1,0 g fibra). Contudo, em termos da rodamina B a massa real de FAU empregada é menor (0,8 g FAU em 4 g de fibras), isso é um indicativo de que boa parte do corante é adsorvido pelo PLA, correspondendo a cerca de 63% do total removido. Em ambos os casos, há equilíbrio de adsorção em cerca de 90 min.

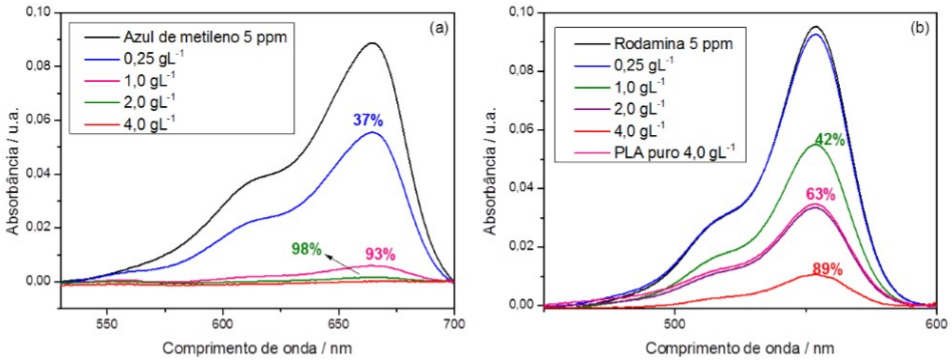


Figura 1. UV-vis para os ensaios de remoção de corante azul de metileno (a) e rodamina B (b) de meio aquoso empregando-se fibra 15%PLA:20%FAU.

Observa-se na Figura 2 que a impregnação de Faujasita em matriz de PLA viabilizou a aplicabilidade do material final como potencial adsorvente, pois diferentemente do particulado disperso em solução, este é facilmente retirado do meio mecânico.

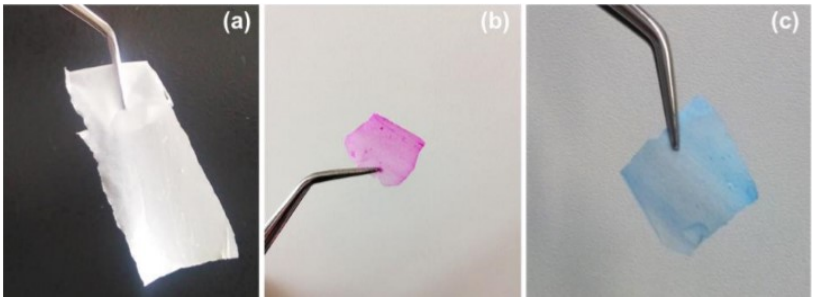


Figura 2. Fibras de 15%PLA: 20%FAU, antes (a) e após contato com corantes rodamina B (b) e azul de metileno (c).

De modo geral, a obtenção do compósito 15%PLA:20%FAU para a remoção de azul de metileno e rodamina B em meio aquoso foi satisfatória, sendo removido facilmente do meio em que foi empregado.

4 CONCLUSÃO

Foi possível obter fibras de PLA e PLA:FAU com sucesso via eletrofiação, com concentrações de FAU até 20% (m/m) e vazão de 2,0 mL h^{-1}, em que as fibras apresentaram-se uniformes. As fibras de PLA:FAU apresentaram boa eficiência em remoção de corantes em solução, sendo passíveis de remoção do meio aquoso por meio de separação mecânica.

AGRADECIMENTOS

Técnicos e Analistas da Embrapa Instrumentação pelo suporte técnico. Alunos do Grupo de pesquisa pela parceria. SISNANO/MCTI, CNPq, CAPES, FINEP, e Embrapa/Rede AgroNano pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

AKSU, Z.; TEZER, S. “Biosorption of reactive dyes on the green alga Chlorella vulgaris”. Process Biochemistry, v. 40, n. 3, p.1347-1361, 2005.

CHAOUATI, N.; SOUALAH, A. & CHATER, M. "Adsorption of phenol from aqueous solution onto zeolites Y modified by silylation". C. R. Chim., v.16, n. 3, p. 222, 2013.

HADJIZADEH, A.; SAVOJI, H.; A.; AJJI, A.; “A Facile Approach for the Mass Production of Submicro/Micro Poly (Lactic Acid) Fibrous Mats and Their Cytotoxicity Test towards Neural Stem Cells,” BioMed Research International, p.1-12, 2016.

ISARANKURA, N. Z. S. et al. “Effect of clay content on morphology and processability of electrospun keratin/poly(lactic acid) nanofiber”. Int J Biol Macromol. v.2016, n. 85, p. 585, 2016.

LI, G. et al. “Rapid capture of Ponceau S via a hierarchical organic–inorganic hybrid nanofibrous membrane”. J. Mater. Chem. A, v. 4, p. 5423-5427, 2016.

MALAFATTI, J. O. Obtenção do sistema biodegradável PLA: amido para a incorporação do micronutriente manganês. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de São Carlos, UFSCar, São Carlos, 2016.

OLIVEIRA, T. G. et al. “Adsorção de CO_2 em peneiras moleculares micro e mesoporosas”. Química Nova, v.37, n.4, p.610-617, 2014.

ROCHA, O. R. Sá da et al. “Avaliação do processo adsortivo utilizando mesocarpo de coco verde para remoção do corante cinza reativo BF-2R”. Química Nova, v.35, n.7, p.1369-137, 2012

XINBO, W. et al. “Adsorption of basic yellow 87 from aqueous solution onto two different mesoporous adsorbents”. Chem. Eng. J., v.180, p. 91-98, 2012.

COMPÓSITO BACTERICIDA MAGNETITA:HIDROXIAPATITA:ÓXIDO DE CÚPRICO PARA TRATAMENTO DE POLUENTES EM ÁGUA

Lilian C. Santos[1,2], João O. D. Malafatti[1,2], Camila R. Sciena[1,2], Joana D. Bresolin[2], Elaine C. Paris[2]

1 – UFSCar, Rodovia Washington Luiz, Km 235, SP 310. 13565-905, São Carlos, SP
2 – LNNA – Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro 1452, 13560-970, São Carlos, SP
**elaine.paris@embrapa.br*

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio

Resumo
A presença de poluentes como corantes, fármacos e pesticidas é um dos principais problemas relacionados à contaminação das águas. Um método utilizado para diminuir a concentração de poluentes é por meio dos processos fotocatalíticos (POAs). Porém, este método é inviabilizado em grande escala devido à dificuldade de recuperação do material ativo do meio aquoso. De forma a possibilitar o uso de catalisadores, é necessário o desenvolvimento de metodologias de ancoragem e remoção, como a via magnética. Neste trabalho, foi utilizado o óxido de cúprico (CuO) como material ativo no processo fotocatalítico. Além disso, essas nanopartículas foram ancoradas em um suporte magnético de hidroxiapatita e magnetita a fim de facilitar a remoção do material do meio. Para isto foi obtido o CuO via coprecipitação química e, com auxílio do ultrassom, foi ancorado em um suporte poroso de hidroxiapatita e magnetita. O uso do compósito magnético apresentou atividade, quando em presença de peróxido (H_2O_2), em luz visível na remoção do corante azul de metileno, degradando cerca de 80% em 2 h. Também, foi observado a presença da atividade antimicrobiana em bactérias do tipo *S. aureous* (gram-positiva), bem como a manutenção da característica magnética, garantindo a remoção do compósito.
Palavras-chave: Compósito; CuO; Magnetita; Bactericida, Fotocatálise.

BACTERICIDE COMPOSITE MAGNETITE:HYDROXYAPATITE:CUPRIC OXIDE FOR REMOVAL POLLUTANTS IN WATER

Abstract
The presence of pollutants such as dyes, drugs and pesticides is one of the main problems related to water pollution. One method used to reduce the pollutants concentration is through photocatalytic processes (POAs). However, this method is unviable on a large scale due to the high difficulty in recovering the active material from the aqueous medium. In order to enable the use of these promising catalysts, anchoring and removal methodologies are being developed such as magnetic path. In this work, copper oxide (CuO) was the active material in the photocatalytic process. In addition, it was anchored in a magnetic support of hydroxyapatite and magnetite in order to promote its removal. The use of the magnetic composite for methylene blue dye degradation showed activity when in presence of peroxide (H_2O_2) in visible light, degrading about 80% in 2 h. Also, the presence of bactericidal activity in *S. aureous* (gram-positive) bacteria was observed, as well as the maintenance of the magnetic characteristic, guaranteeing the removal of the composite.
Keywords: Composite; CuO; Magnetite; Bactericide, Photocatalysis.

Publicações relacionadas: Santos, L.C. Avaliação da atividade fotocatalítica do óxido de cobre imobilizado em suporte magnético nanoestruturado. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de São Carlos, UFSCar, São Carlos, 2015.

1 INTRODUÇÃO

Os processos oxidativos avançados (POAS) podem ser utilizados na remoção de poluentes do meio aquoso como uma alternativa de alta eficiência, menor custo e simplicidade operacional, quando comparado aos métodos convencionais. Nesta metodologia há a formação de radicais hidroxila (·OH), espécies oxidantes altamente reativas com capacidade de mineralizar a matéria orgânica poluente (STASINAKIS, 2008).

A maior parte dos semicondutores utilizados em fotocatálise apresenta atividade apenas sob luz ultravioleta, diminuindo sua eficiência sob luz solar (visível). Segundo NEZAMZADEH-EJHIEH et al. (2013), o óxido de cobre (CuO), que apresenta estrutura cristalina monoclínica, possui energia de banda proibida de 1,2 a 1,5 eV, tornando-o ativo na região da luz visível. Outra característica importante das nanopartículas de CuO, apresentada por SHAFFIEY (2013), é sua capacidade bactericida e fungicida. Assim, o CuO como material antimicrobiano, aliado à sua capacidade fotocatalítica, pode possibilitar a remoção de microrganismos presentes na água, aumentando a eficácia no tratamento de efluentes aquáticos.

Contudo, a maior limitação do método fotocatalítico está na dificuldade de recuperação dos catalisadores utilizados (CAO et al., 2015). A fim de viabilizar a fotocatálise heterogênea, destaca-se a imobilização dos fotocatalisadores em sistemas de ancoragem, tal como em nanopartículas magnéticas, separando o composto do meio em que foi disperso pelo uso de um campo magnético (BIAN et al., 2015).

Desse modo, o presente trabalho, visou o desenvolvimento de um compósito magnético fotocatalítico composto pelo material ativo CuO, ancorado sob um suporte poroso de hidroxiapatita impregnado com nanopartículas de magnetita (HAP:MAG:CuO). Associado à atividade fotocatalítica, buscou-se a resposta antimicrobiana do compósito, a fim de melhorar a resposta diante ao tratamento de água.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Síntese Hidroxiapatita:Magnetita

Para a obtenção do compósito (HAP:MAG:CuO) foi realizada a obtenção do CuO a partir da metodologia apresentada por ZHU et al. (2004). Após a obtenção do óxido, foi realizado a obtenção do suporte magnético de acordo com a metodologia de YANG et al. (2010). Em seguida, o óxido e o suporte foram misturados na proporção de 1:4 em ultrassom de ponta, durante1 h. O compósito obtido foi seco em estufa de circulação à 60ºC.

2.2. Atividade Fotocatalítica

Para o teste fotocatalítico de degradação do corante azul de metileno pelo compósito, foi preparado 100 mL de solução de azul de metileno, sendo adicionados a concentração de 100 mg L^{-1} do suporte magnético e 5 mL de H_2O_2. O teste foi realizado sob luz visível por 2 h.

2.3. Atividade Bactericida

Para o teste bactericida, foi utilizado o método de disco de difusão com o uso de bactérias *Staphylococcus aureus* (gram–positiva) e *Escherichia coli* (gram–negativa). Inicialmente, foi feita a inoculação e padronização das bactérias segundo o padrão McFarland 0,5 (1.10^6 células mL^{-1}). Seguido da inoculação das bactérias com ágar, foi inserido as nanopartículas de CuO, do suporte e do compósito em triplicata, sendo realizado o crescimento microbiano por 24 h em estufa de circulação. Após este período, foi analisado o aparecimento de halo de inibição.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização do Compósito HAP:MAG:CuO e Atividade Fotocatalítica

Foi observado a formação do compósito HAP:MAG:CuO via microscopia eletrônica de varredura, como apresentado na Figura 1. Por meio desta técnica não foi possível observar a diferença das fases do compósito, mas a presença de aglomerados menores de 100 nm (Figura 1a). Com o uso da espectrometria de energia dispersiva de raios X (EDS), é possível notar a formação do compósito

HAP:MAG:CuO via ultrassom (Figura 1b). Além disso, foi observada a presença do CuO disperso em todo o suporte.

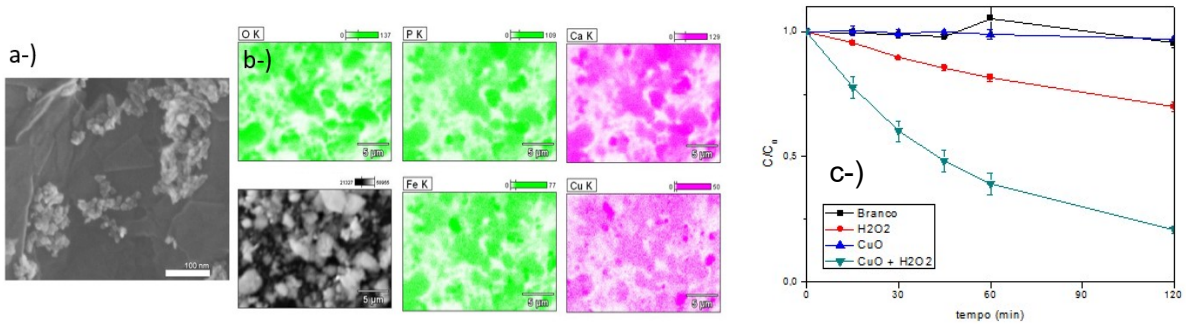


Figura 1. Imagem de microscopia eletrônica do compósito HAP:MAG:CuO: a) FEG, b) MEV-EDS e c)teste de fotodegradação da Rodamina B sob luz visível com uso do compósito e H_2O_2.

Após a realização do teste fotocatalítico, foi analisado a degradação do corante azul de metileno pelo compósito, como apresentado na Figura 1-c. Notou-se a degradação de aproximadamente 80% do corante após 2 h de fotocatálise.

O resultado obtido corrobora com MIYAUCHI et al. (2002), no qual a capacidade fotocatalítica do CuO de degradar poluentes ocorre somente na presença de peróxido de hidrogênio (Figura 1-c). A atividade de degradação do corante pelo compósito na presença do H_2O_2 foi superior quando comparado ao peróxido isolado, indicando a atividade fotocatalítica do material produzido.

3.2 Atividade Bactericida

Ao avaliar a atividade bactericida do compósito HAP:MAG:CuO foi observado a atividade antimicrobiana sob bactérias do tipo *S. aureous* (gram-positiva), apresentado na Figura 2 e Tabela 1.

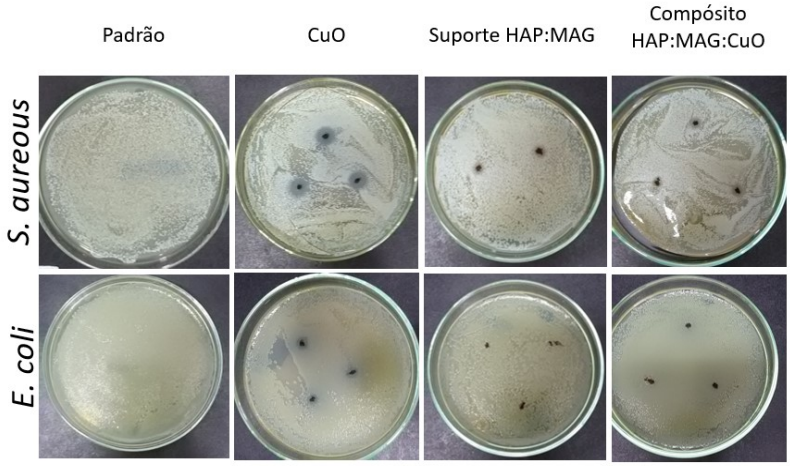


Figura 2. Atividades bactericidas em bactérias *E. coli* e *S. aureous*

Tabela 1. Diâmetro médio dos halos de inibição dos materiais perante a bactérias *S. aureous* e *E. coli.*

Bactéria	Padrão	CuO	Suporte HAP:MAG	Compósito HAP:MAG:CuO
S. aureous	-	0,83 ± 0,02 cm	-	0,47 ± 0,03 cm
E. coli	-	0,54 ± 0,03 cm	-	-

Foi verificado na Figura 2, que o fotocatalisador CuO apresenta atividade bactericida tanto para bactéria *E.coli*, apresentando halo de inibição de 0,54 ± 0,03 cm, quanto para a bactéria *S. aureous*, com halo de 0,83 ± 0,02 cm (Tabela 1). O suporte magnético (hidroxiapatita e magnetita), em contato com ambos microrganismos não apresentou atividade antimicrobiana (Figura 2). Contudo, o compósito HAP:MAG:CuO, formado pelo suporte juntamente com o fotocatalisador CuO, apresentou atividade bactericida em relação a bactéria *S. aureous* halo de 0,47 ± 0,03 cm (Figura 2 e Tabela 1).

4 CONCLUSÃO

Foi possível obter um compósito fotocatalítico magnético de HAP:MAG:CuO, que possui capacidade de degradação do corante azul de metileno em meio aquoso, sendo passível de remoção magnética. Além disso, o compósito apresentou um resultado positivo perante a capacidade bactericida visando ação ao tratamento de água.

AGRADECIMENTOS

Técnicos e Analistas da Embrapa Instrumentação pelo suporte técnico. Alunos do Grupo de pesquisa pela parceria. SISNANO/MCTI, CNPq, CAPES, FINEP e Embrapa/Rede AgroNano pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

STASINAKIS, A. S. Use of selected advanced oxidation processes (aops) for wastewater treatment – a mini review. Global NEST Journal, v. 10, n.3, p. 376, 2008.

NEZAMZADEH-EJHIEH, A.; AMIRI, M. CuO supported Clinoptilolite towards solar photocatalytic degradation of p-aminophenol. Powder Technol., v. 235, p.279, 2013.

SHAFEEY, S. F. Synthesis and evaluation of bactericidal properties of CuO nanoparticles against Aeromonas hydrophila. Nanomedicine Journal, v.1, n.3, p. 198, 2013.

CAO, G.S. et al. Photocatalytic removal of Rhodamine B using Fe3O4/BiOBr magnetic microsphere under visible-light irradiation. Micro & Nano Letters, v. 10, n. 2, p. 115, 2015.

BIAN, X.F. et al. Functional hierarchical nanocomposites based on zno nanowire and magnetic nanoparticle as highly active recyclable photocatalysts. Journal of Physical Chemistry C, v. 119, n. 4, p. 1700, 2015.

ZHU, J. et al. Highly dispersed CuO nanoparticles prepared by a novel quick-precipitation method. Materials Letters, v. 58, n. 26, p. 3324, 2004.

YANG, Z. P.; GONG, X. Y.; ZHANG, C. J. Recyclable Fe3O4/hydroxyapatite composite nanoparticles for photocatalytic applications. Chemical Engineering Journal, v. 165, n. 1, p. 117, 2010.

MIYAUCHI, M. et al. Photocatalysis and photoinduced hydrophilicity of various metal oxide thin films. Chemicals Material, v. 14, p. 2812, 2002.

EXTRAÇÃO, PURIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE BIOPOLÍMEROS DE *S. aureus* COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

(Cynthia Penoni Volpi Abreu[1], Camila Guimarães de Almeida[2], Raimundo Vicente de Sousa[1], Humberto de Mello Brandão[2])

([1] Universidade Federal de Lavras; [2] Embrapa Gado de leite, Juiz de Fora, MG;)
cynthiapenoni@yahoo.com.br

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio

Resumo
A mastite é uma das principais doenças que acomete os rebanhos leiteiros mundialmente, e tem como principal agente etiológico o *Staphylococcus aureus*; que recentemente entrou para a lista da Organização Mundial de Saúde como uma das 12 bactérias multirresistentes que representam as maiores ameaças para a saúde e, portanto, necessitam de amplo esforço de pesquisa e desenvolvimento para novos medicamentos e vacinas mais eficazes. Um importante fator de virulência produzido por esta bactéria é o biofilme, que tem como principal componente o poli-N-acetilglicosamina (PNAG). Dessa forma, o presente trabalho propõe o estudo por espectroscopia vibracional do PNAG de S. aureus e sua aplicação como alternativa não destrutiva para determinação do grau de desacetilação deste polímero, bem como avaliação da toxicidade celular. A caracterização do polissacarídeo foi realizada pelos métodos de ressonância magnética nuclear, raman, infravermelho e espalhamento de luz dinâmico. Este é um estudo com potencial aplicação para o desenvolvimento de imunoestimuladores para o tratamento da mastite bovina.
Palavras-chave: Mastite, *Staphylococcus aureus*, Raman

TÍTULO EM INGLÊS: EXTRACTION, PURIFICATION AND CHARACTERIZATION OF *S. aureus* BIOPOLYMERS WITH BIOTECHNOLOGICAL POTENTIAL

Abstract
Mastitis is one of the principal diseases that affects dairy herds wordwide. According WHO, Staphylococcus aureus, the main etiological agent of this disease, was recently included in global priority list of antibiotic-resistant bacteria. This pathogen causes extreme threats to health and therefore, requires extensive research and efforts for development of new and effective drugs and vaccines. The biofilm, an important factor of virulence produced by this bacteria, has as the main component the exopolysaccharide (PNAG). Thus, the present research proposes the vibrational spectroscopy evaluation of S. aureus PNAG and its application as non - destructive alternative to determine the degree of polymer deacetylation, and the possible polymer cellular toxicity. The PNAG characterization was performed by nuclear magnetic resonance, Raman, infrared and dynamic light scattering. This study has potential application for the development of immunostimulators for bovine mastitis treatment.
Keywords: Mastitis, *Staphylococcus aureus*, Raman

1 INTRODUÇÃO

O *Staphylococcus aureus* é uma das 12 bactérias que compõe a lista da World Health Organization com bactérias multirresistentes que representam as maiores ameaças para a saúde humana e, portanto, necessitam de amplo esforço de pesquisa para o desenvolvimento de novos medicamentos (WILLYARD, 2017) e de vacinas mais eficazes (SALGADO-PABÓN et al, 2014). Por possuir grande variação de hospedeiros e elevada possibilidade de emergência de estirpes bacterianas com adaptação interespécies o S. aureus também possui grande importância na saúde animal (SAKWINSKA et al., 2011; VAN BALEN et al., 2017).

O biofilme é um importante fator de virulência do *S. aureus* associado à persistência de infecção, ao retardo da fagocitose, à resistência aos antimicrobianos e a persistência do patógeno no ambiente (STOODLEY et al., 2004).

O principal componente do biofilme do S. aureus é um exopolissacarídeos formado por Poli-N-acetilglucosaminas (PNAG) (ARCIOLA et al., 2015). A desacetilação do PNAG faz com que a cadeia polimérica fique parcialmente protonada em ambientes neutros e ácidos, aumentando a estabilidade do biofilme por favorecer a interligação das células bacterianas (OTTO, 2008).

Utilizando ressonância magnética nuclear Joyce e colaboradores (2003), identificaram a estrutura química do PNAG/PIA produzidos por S. aureus utilizando a técnica de ressonância magnética nuclear 1D e 2D.

Há algum tempo, as técnicas de espectroscopia vibracional de reflexão total atenuada no infravermelho (FT-ATR) e Raman, vem sendo muito utilizadas para a caracterização de amostras. Sua vantagem está relacionada ao caráter não destrutivo, a rápida aquisição de dados, a possibilidade de análise micrométrica e a necessidade de pouco ou nenhum tratamento prévio da amostra. Estudos microbianos com esta abordagem é frequentemente referido como a obtenção de uma impressão digital da amostra, já que cada diferente microrganismo pode produzir um espectro único (ASHTON et al, 2011). Uma vez que a espectroscopia Raman e no infravermelho estão baseadas em fenômenos físicos diferentes essas técnicas podem se complementar, levando a elucidação da estrutura química de compostos biológicos. Dessa forma, o presente trabalho propôs o estudo por espectroscopia vibracional do PNAG de S. aureus e sua aplicação como alternativa não destrutiva para determinação do grau de desacetilação deste polímero, bem como avaliação da toxicidade celular.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Cultivo de bactérias

Foi utilizada a estirpe 2309 de *S. aureus* isolada de mastite bovina, pertencente a Coleção de Microrganismos de Interesse da Agroindústria e Pecuária, da Embrapa Gado de Leite, sediada em Juiz de Fora, Minas Gerais. O cultivo foi realizado em ágar BHI em placas descartáveis para o crescimento bacteriano por 24 horas a 37 °C em estufa.

2.2 Produção, extração e purificação do exopolissacarídeo

O inóculo foi produzido a partir de uma alçada da cepa de interesse em caldo TSB e armazenadas numa estufa a 35° ± 2 °C/72 horas para o crescimento bacteriano e formação do biofilme. Após remoção mecânica do biofilme com pérolas de vidro foram adicionados solução de NaOH 1M. A amostra foi incubada à 20°/3 horas e depois centrifugada, e o sobrenadante dialisado por 24 horas em membrana MWCO 12-14KDa. Após a diálise do material, adicionou-se ácido tricloroacético, incubou-se por 30 min e centrifugou. Ao sobrenadante foi adicionado etanol e condicionado à 4°C/24 horas e centrifugado. A mistura foi resfriada até 10 °C, e depois o sobrenadante foi removido. O corpo de fundo foi ressuspenso em H_2O ultrapura e submetido a diálise por 24 horas. O material dialisado foi filtrado em membrana de nylon 0,22 μm.

2.3 Desacetilação do polímero

Para remover os substituintes ligados ao nitrogênio (N_2) o polímero purificado foi dissolvido em NaOH 5 N e incubado sob ambiente de N_2 durante 20 horas a 37 °C. A mistura foi resfriada até 10°C em banho de gelo e neutralizada por adição lenta de HCl 5N, também em gelo. O material polimérico foi concentrado em membrana de diálise durante três dias a 4 °C e liofilizado.

2.4 Espectroscopia Raman

Foram realizados espectros do PNAG nativo e do PNAG desacetilado (PIA). As medições de Raman foram realizadas com um espectrômetro Bruker RFS 100, laser Nd^{+3}/YAG operando a 1064 nm, com detector InGaAs. Os espectros foram adquiridos com resolução de 4 cm^{-1}, média de 2000 varreduras e potência de laser de 60 Mw. O grau de desacetilação foi calculado segundo (ZAJAC et al, 2015; MANSUR et al, 2015).

2.5 Ressonância Magnética Nuclear

Preparou-se uma solução 24,17 mg/mL em D_2O contendo tetrametilsilano. Em seguida foram realizadas as análises de RMN ^{1}H, ^{13}C e HSQC no Espectrômetro Avancer III HD Bruker 500 MHz.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao analisar o espectro Raman do PNAG nativo (Figura 1) verificou-se a presença da banda em 1381 cm^{-1}, característica do estiramento simétrico do grupamento COO-, presente na estrutura dos polissacarídeos. Além desta, notaram-se as bandas atribuídas aos modos vibracionais, $\delta(CH_2)$, $\delta(CH)$, $\nu(C–O)/\nu(C–C)/\delta(C–OH)$, $\nu(O\text{-}CH_3)$ e $\nu(C\text{-}O\text{-}C)$ da ligação glicosídica, presentes na estrutura química dos polissacarídeos (IVLEVA et al, 2009). Por sua vez, no PNAG nativo também pôde-se observar a presença de uma banda característica de polissacarídeos nitrogenados em 288 cm^{-1}, atribuída ao modo vibracional $\delta(C\text{-}NH\text{-}C)/\gamma(OH)$. Notou-se ainda, bandas em 748, 687 e 434 cm^{-1} atribuídas respectivamente aos modos $\delta(CH_2)$, $\delta(COO\text{-})$ e $\delta(C\text{-}C\text{-}O)/\delta(C\text{-}C\text{-}C)$ presentes na estrutura química do anel glicosídico (ALMEIDA et al, 2010). A presença de diferentes bandas atribuídas a mesma substância é explicada pelas diferentes interações dos componentes da amostra (IVLEVA et al, 2009).

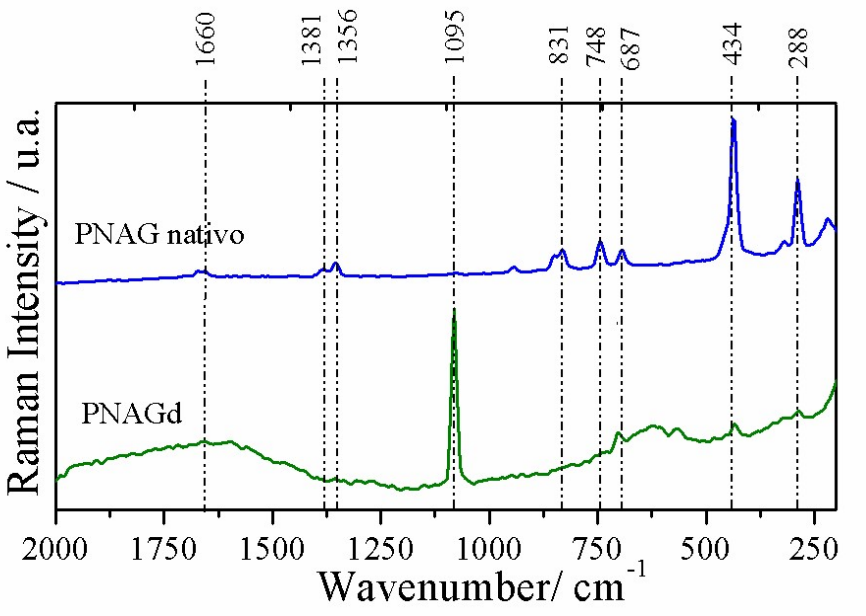


Figura 1. Espectro Raman dos polímeros PNAG nativo e PNAGd.

Para demonstrar que a técnica de espectroscopia Raman pode ser utilizada para avaliar o grau de desacetilação do PNAG nativo, foi desacetilado o mesmo polímero utilizado no experimento (PNAGd). No espectro Raman do PNAGd, diferentemente do espectro do PNAG nativo, há a presença de uma banda intensa em 1081 cm^{-1}. Esta banda pode ser atribuída aos modos vibracionais $\nu(C\text{-}O\text{-}C)/\nu(C\text{-}OH)/\nu(C\text{-}C)$ (RAMYA et al., 2010). Esse fato indica que o processo de desacetilação altera tanto os modos vibracionais relacionados ao grupamento amina, quanto os modos vibracionais da estrutura polimérica, a qual não foi diretamente modificada pelo processo de desacetilação. Por fim, o polímero nativo extraído da estirpe 2309 apresentou-se em 60% e, quimicamente, conseguiu-se expandir esta percentagem para 92%.

A técnica de ressonância magnética nuclear foi utilizada para auxiliar na elucidação da estrutura nuclear do polissacarídeo acetilado. No espectro de RMN de ^{1}H (figura 2) do polissacarídeo acetilado pôde-se observar um sinal em δ 2,08 referente ao grupo $C\mathbf{H_3}CO\text{-}$; multipletos na região de δ 3,47-4,54 atribuídos aos hidrogênios do anel *N*-glicosídico e um sinal em δ 6,16 que pode ser atribuído aos hidrogênios do grupo $GlcNH_3^+$. A presença do hidrogênio anomérico em campo mais alto e a elevada constante de acoplamento ($J_=$ 5,2 Hz) caracterizaram a configuração β para o polímero em questão. No RMN de ^{13}C notaram-se sinais na região de δ 58,1- 95,8 associados aos carbonos do anel *N*-glicosídico, bem como, em δ 19,9 e δ 166,2-167,1 sinais referentes aos carbonos metila e carboxílico do grupo acetil (figura 3). Há sinais nestes espectros que podem ser atribuídos a resíduos de alanina e glicerol. Todos as atribuições puderam ser confirmadas pelo espectro de RMN 2D-HSQC.

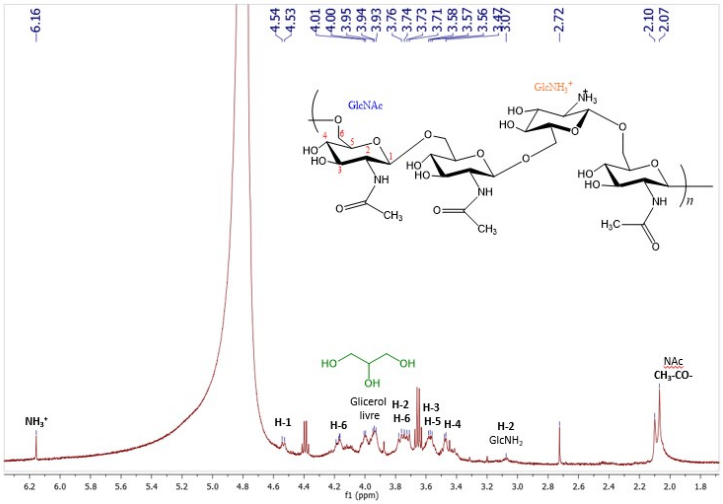


Figura 2. Espectro de RMN de ^{1}H do biofilme produzido por SAE (D_2O, 500 MHz)

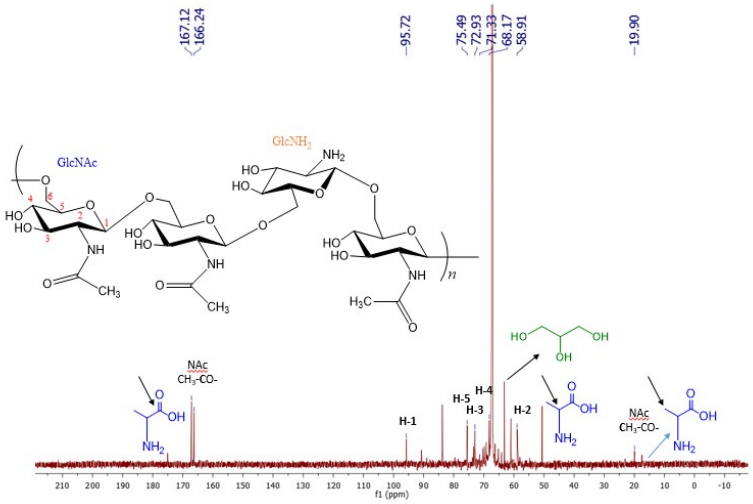


Figura 3. Espectro de RMN de ^{13}C do biofilme produzido por SAE (D_2O, 125 MHz)

AGRADECIMENTOS

CNPq, Fapemig, Capes, Rede Agronano, NanoReg

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, M.R.; et al.Determination of amylose content in starch using Raman spectroscopy and multivariate calibration analysis. **Bioanal Chem**, 397, 2693-2701. 2010

ARCIOLA, C. R., et al. Polysaccharide intercellular adhesion in biofilm: structural and regulatory aspects. **Cell and Inffec Mic**. v5, p.1-10, 2015

ASHTON, L.; et al. Raman spectroscopy: lighting up the future of microbial identification, **Future Microbiol.** v. 6(9), p.991997, 2011

IVLEVA, N.P.; et al.. Towards a nondestructive chemical characterization of biofilm matrix. Raman microscopy **Bioanal Chem**., 393, 197-206. 2009

JOYCE, J. G. et al. Isolation, structural characterization, and immunological evaluation of a high-molecular-weight exopolysaccharide from Staphylococcus aureus. **Carb Research.** v. 338 p.903–922, 2003.

MANSUR, A.A.P.; et al. Cytocompatible Fluorescent Quantum Dot/PEG-Chitosan Bioconjugates for Nanomedicine Applications. **European Journal of Inorganic Chemistry**, , 4555-4564. 2015

OTTO M. Staphylococcal biofilms. **Curr Top Microbiol Immunol** v.322, p.207–228. 2008

RAMYA, S. et al.. Detection of algae and bacterial biofilms formed on titanium surfaces using micro-Raman analysis. **Applied Surface Science**, 256, 5108-5115. 2010

SAKWINSKA, O., et al. Staphylococcus aureus host range and human-bovine host shift. **Appl and Envir Mic**. V.77-17, p 5908-5915, 2011

SALGADO-PABÓN, W., CASE-COOK, L. C., SCHLIEVERT, P. M., Molecular analysis of Staphylococcus aureus superantigens. **Methods Mol Biol**, v.10, p 169-185, 2014

STOODLEY, L.H.; COSTERTON, J.W.; STOODLEY, P. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. **Nature Reviews** – Microbiology, London, v.2, p.95-108, 2004.

VAN BALLEN, P., SIMON, A. P., HEIJS, L. Mismatched HLA-DRB3 can induce a potent responde after HLA 10/10 matched stem cell transplantation. **Transplantation**, v3, p 1534-1543, 2017.

WILLYARD, C. Drug-resistant bacteria ranked. **Nature**. V. 543. P.15, 2017

ZAJĄC, A.; et al. L. Determination of N-acetylation degree in chitosan using Raman spectroscopy. Spectrochim **Acta A Mol Biomol Spectrosc**., 134, 114-120. 2015

SÍNTESE DE MATERIAIS À BASE DE TiO_2, ZnO E SiO_2 E AVALIAÇÃO DE SEU POTENCIAL NA ADSORÇÃO DE Mn^{2+}

Patrícia Gonçalves*, Roberto Bertholdo, Jéssica Ariane de Oliveira, Tania Regina Giraldi

*Universidade Federal de Alfenas – Campus Poços de Caldas, *pattypgpatty@gmail.com*

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio

Resumo
Atividades minerárias, essenciais para o desenvolvimento da sociedade, podem causar contaminação de ambientes aquáticos por metais tóxicos. A fim de mitigar tal impacto, o presente estudo teve como objetivo a síntese de materiais, pelos métodos dos precursores poliméricos (PP) e sol-gel (SG), à base de TiO_2, ZnO e SiO_2, e seu estudo para remoção de Mn^{2+} por adsorção, com variação de pH. Os óxidos foram caracterizados por BET, MEV-FEG e potencial zeta. Para ensaios de adsorção foram utilizadas soluções de Mn^{2+} em concentração 2mg.L^{-1}. Maiores adsorções para todos os óxidos ocorreram em pH 8 e 8,5, com adsorções de Mn^{2+} variando de 40 a 60%.
Palavras-chave: TiO_2; ZnO; SiO_2; Manganês (II); Adsorção.

SYNTHESIS OF MATERIALS BASED ON TiO_2, ZnO, AND SiO_2 AND EVALUATION OF ITS POTENTIAL IN THE ADSORPTION OF Mn^{2+}

Abstract
Mining activities, essential for the development of society, cause contamination of aquatic environments by toxic metals. In order to mitigate such impact, the present study aimed to synthesize materials by the methods of polymeric precursors (PP) and sol-gel (SG), based on TiO_2, ZnO, and SiO_2, and its study to remove Mn^{2+} by adsorption, with pH variation. Oxides were characterized by BET, MEV-FEG and zeta potential. Higher adsorptions for all oxides occurred at pH 8 and 8.5, with adsorption of Mn^{2+} ranging from 40 to 60%.
Keywords: TiO_2; ZnO; SiO_2; Manganese (II); Adsorption.

Publicações relacionadas:
GONÇALVES, P. **Síntese de materiais à base de TiO_2, ZnO e SiO_2: tratamento de degradadas e efluentes**. 2017. 102 f. Dissertação de Mestrado em Engenharia Química, Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas, 2017.

1 INTRODUÇÃO

Metais como cobalto, cobre, manganês e zinco são benéficos aos seres vivos pois participam de processos vitais em seus organismos, porém em altas quantidades eles passam a se tornar tóxicos e contaminar o meio ambiente. A presença de manganês em altas concentrações em corpos d'água, oriunda geralmente de processos industriais como mineração e beneficiamento de minérios, causa poluição inorgânica devido ao fato do metal não ser biodegradável, apresentar toxicidade e poder se acumular nos seres humanos e animais, causando reações adversas (GILLISPIE et al., 2016). Dessa forma, a presenças de manganês em efluentes é controlada no país de acordo com a Resolução nº 430/2011 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), sendo o valor máximo de concentração de manganês dissolvido permitido para lançamento de efluentes de 1,0 mg/L.

ZnO, SiO_2 e TiO_2 são óxidos amplamente estudados para auxiliar na descontaminação ambiental e vem sendo utilizados em estudos de adsorção de íons metálicos. A adsorção na superfície de um sólido depende de suas características, como estrutura cristalina, morfologia e presença de defeitos e impurezas, podendo ser influenciada também por fatores como pH e temperatura. Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo investigar a viabilidade de aplicação de materiais à base de TiO_2, ZnO e SiO_2, sintetizados por dois métodos consolidados na literatura – PP e SG, para auxiliar na descontaminação de ambientes aquáticos por meio da adsorção de Mn^{2+}, com variação de pH.

2 MATERIAL E MÉTODOS

TiO_2, ZnO e SiO_2 foram obtidos por duas vias, os métodos PP e SG, seguindo as metodologias adaptadas de Pechini (1967) e Stöber, Fink e Bohn (1968). No processo de síntese por PP foram utilizados acetato de zinco (AZ), isopropóxido de titânio (IT) e tetraetilortossilicato (TEOS) como reagentes precursores para obtenção de ZnO, TiO_2 e SiO_2, respectivamente. Ácido cítrico (AC) foi adicionado ao precursor na proporção molar 1:3 (precursor:AC) sob agitação. Após dissolução e complexação dos metais no AC, formou-se o citrato metálico. A este foi adicionado etileno glicol (EG) na proporção mássica de 60:40 (EG:AC), sob agitação e aquecimento (~70 ºC) para polimerização do citrato. À esta solução foram realizados dois tratamentos térmicos, sendo o primeiro a 300 ºC, 10 ºC/min, por 2 h para eliminação de matéria orgânica e o segundo a 600 ºC/min, 10 ºC/min, durante 2 h, para cristalização. Já no processo por SG, por via básica, os reagentes precursores foram os mesmos utilizados no processo por PP. Para a dissolução do precursor, utilizou-se álcool etílico P.A. como solvente. Com a modificação do pH da solução, por meio da adição de hidróxido de amônio P.A., promoveu-se reações de hidrólise e policondensação. A mistura resultante foi centrifugada a 345 rad/s por 40 min. O sobrenadante foi descartado e o material precipitado foi submetido a tratamento térmico, a 520 ºC, por 2 h e taxa de aquecimento de 5 ºC/min. Os óxidos obtidos foram caracterizados por BET, MEV-FEG e potencial zeta. Então procedeu-se a ensaios de adsorção de Mn^{2+}, que foram realizados em meio aquoso, temperatura ambiente e em pHs 4, 5, 6, 7, 8 e 8,5 para cada material. Preparou-se uma solução de Mn^{2+} de 2 mg/L utilizando-se acetato de manganês II P.A. tetrahidratado e água Milli-Q. Uma suspensão contendo 1 g/L de óxido (material adsorvente), foi preparada utilizando-se a solução de Mn^{2+} com o pH ajustado. A suspensão foi deixada em agitação por 1 h. A suspensão foi centrifugada a 324,6 rad/s por 30 min. O sobrenadante foi então analisado em espectrômetro de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua, ContrAA®300 (Analytik Jena), para se determinar as concentrações de Mn^{2+}. Os ensaios de adsorção descritos foram realizados em triplicata.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Por BET (Tabela 1), observou-se que os materiais obtidos apresentaram baixa área específica, exceto SiO_2 PP, que se destacou por apresentar maior área específica, de 226 m^2/g. SiO_2 PP apresentou volume de poro superior em relação às outras estudadas neste trabalho. Já quanto aos tamanhos médios de poro, o SiO_2 PP apresentou menor valor, correspondente a escala microporos enquanto os demais estiveram na escala mesoporosa (ASEFA; TAO, 2012).

Tabela 1. ***Dados de potencial zeta e estabilidade dos óxidos***

Material	*ZnO PP*	*ZnO SG*	*SiO_2 PP*	*SiO_2 SG*	*TiO_2 PP*	*TiO_2 SG*
Área específica (m^2/g)	4	6	226	6	11	10
Volume de poro (cm^3/g)	0,0045	0,0029	0,0541	0,0013	0,0206	0,0134
Tamanho médio de poro (nm)	4,2	3,7	1,8	4,4	6,2	4,9

Por MEV-FEG (Figura 1), verificou-se, majoritariamente partículas nanométricas, variando entre 47 e 86 nm, exceto SiO_2 SG que apresentou tamanho médio de partícula de 620 nm. Maiores tamanhos médio de partícula foram exibidos pela metodologia SG para TiO_2 e SiO_2.

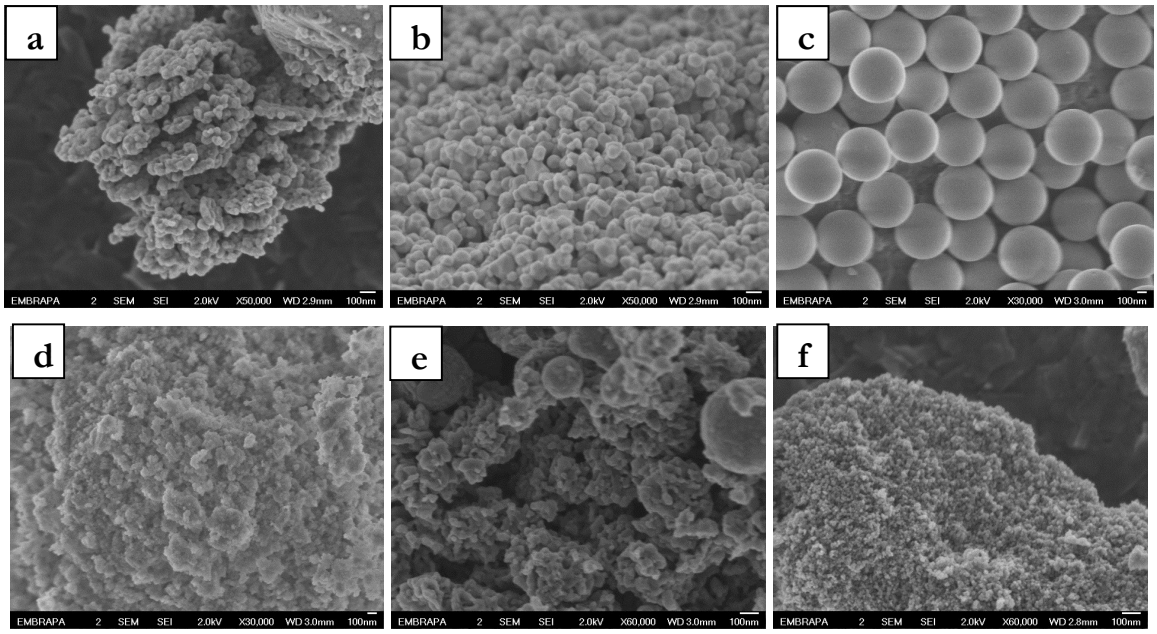


Figura 1. Micrografias por MEV-FEG das amostras obtidas: a) ZnO SG, b) ZnO PP, c) SiO_2 SG, d) SiO_2 PP, e) TiO_2 SG e f) TiO_2 PP.

Os resultados de potencial zeta (Tabela 2) evidenciam que o método de síntese influencia na estabilidade das partículas, o que pode repercutir diretamente na capacidade adsortiva dos materiais.

Tabela 2. ***Dados de potencial zeta e estabilidade dos óxidos***

Material	*ZnO PP*	*ZnO SG*	*SiO_2 PP*	*SiO_2 SG*	*TiO_2 PP*	*TiO_2 SG*
PI	pH = 3,2	pH = 3,5	pH = 2,1	pH = 2,1	pH = 4,2	pH = 4,8
Estabilidade	pH > 9,5	pH > 10	pH > 6	pH > 3,5	pH > 6 e pH ≈ 2	pH > 6 e pH ≈ 3

A Figura 2 ilustra os resultados de ensaios de adsorção de Mn^{2+} em função do pH das suspensões.

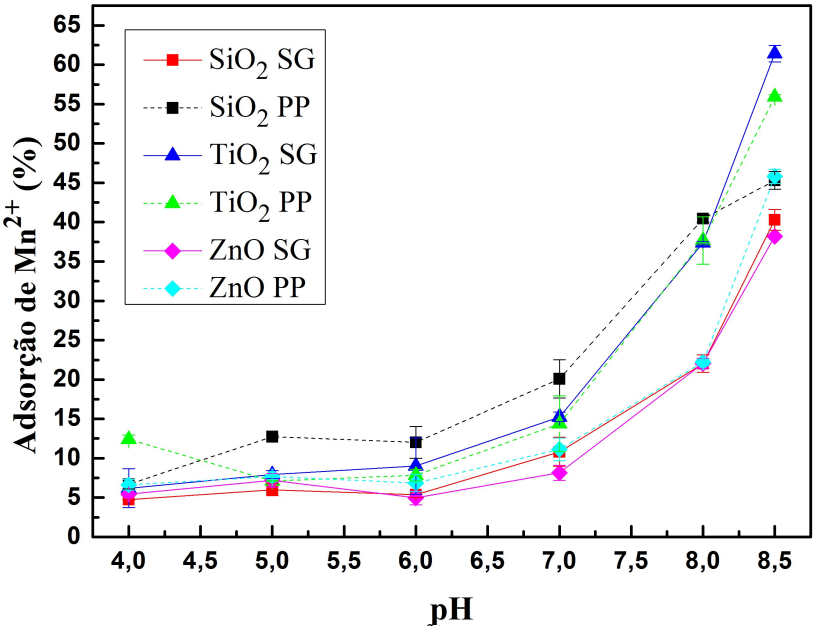


Figura 2. Adsorção de Mn^{2+} de acordo com o pH.

De acordo com os resultados dos ensaios de adsorção de Mn^{2+} com variação de pH para os óxidos sintetizados, observou-se que o pH possuiu grande influência na adsorção de íons metálicos de

Mn^{2+}, uma vez que ele influencia na carga superficial e estabilidade das partículas em suspensão. Para todas os materiais adsorventes testados, a adsorção mostrou-se relativamente maior nos pHs básicos 8 e 8,5. Isso decorre da carga superficial e estabilidade das partículas em suspensão (potencial zeta abaixo de -30 mV), que está presente, majoritariamente, em pHs maiores que 6, nos quais as partículas possuem superfície negativa, o que é favorável para que haja adsorção do Mn^{2+}.

Vale ressaltar que não foi observada precipitação do Mn^{2+} nos pHs mais altos, fato comprovado pela medição da concentração da solução sem adsorvente (branco). De acordo com os resultados presentes na Figura 2, observou-se que ZnO apresentou adsorção na ordem de 45% somente em pH 8,5. Abaixo deste pH, a adsorção não passou de 23%. Isto é, das três composições estudadas, o ZnO apresentou a menor adsorção. As amostras de TiO_2 e SiO_2 PP apresentaram maior adsorção em pHs acima de 8,0. Embora o SiO_2 SG tenha a maior estabilidade entre os óxidos aqui estudados, o seu resultado de adsorção não está entre os melhores para nenhum pH em específico, o que pode estar relacionado ao seu baixo volume de poro, baixa área específica e tamanho médio de partículas na escala mesoporosa. Ademais, os maiores valores médios de adsorção, relativos aos seis pHs em questão, foram apresentados majoritariamente pelos óxidos sintetizados pelo método PP, que por sua vez foi o método que repercutiu em maiores valores de área específica e volume de poro que se constituem em fatores propícios à adsorção.

4 CONCLUSÃO

Por meio dos resultados do presente trabalho, pode-se afirmar que os métodos de síntese dos PP e SG permitiram a obtenção de partículas de ZnO, TiO_2 e SiO_2. Para o TiO_2 e ZnO, o método dos PP repercutiu em similar área específica e menor tamanho médio de partícula. As amostras apresentaram escala nanométrica, exceto SiO_2 SG que apresentou tamanho de partículas de 620 nm. Por outro lado, as amostras apresentaram baixa área específica, exceto SiO_2 PP que apresentou área de 226 m^2/g.

Os resultados dos ensaios de adsorção de Mn^{2+} revelaram a influência exercida pelo pH da solução e foram observadas relações entre valores de adsorção e de volume de poro e tamanho de partícula. Maiores valores de adsorção foram exibidos em pHs básicos, 8 e 8,5 para ZnO, SiO_2 e TiO_2, indicando o potencial de adsorção dos óxidos sintetizados. Amostras obtidas pelo método PP proporcionaram, no geral, melhores adsorções.

AGRADECIMENTOS
À Embrapa – Instrumentação Agropecuária, ao CNPq, CAPES e Fapemig, pelo apoio concedido.

REFERÊNCIAS

ASEFA, T.; TAO, Z. Mesoporous silica and organosilica materials — Review of their synthesis and organic functionalization. **Canadian Journal of Chemistry**, v. 90, n. 12, p.1015-1031, 2012. DOI: 10.1139/v2012-094.

PECHINI, M. P. Method of preparing lead and alkaline earth titanates and niobates and coating method using the same to form a capacitor. **US Patent 3.330.697**, 1967.

STÖBER, W.; FINK, A.; BOHN, E. Controlled growth of monodisperse silica spheres in the micron size range. **Journal of Colloid and Interface Science,** v. 26, n. 1, p.62-69, 1968. DOI: 10.1016/0021-9797(68)90272-5.

ATIVAÇÃO BIOLÓGICA DA ROCHA FOSFÁTICA E EFEITO DO TAMANHO DE PARTÍCULA PARA OBTENÇÃO DE BIOFERTILIZANTE FOSFATADO

R. Klaic[a], F. Plotegher[b], C. Ribeiro[b], T.C. Zangirolami[a], C.S. Farinas[a,b,*]

[a]Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos, SP, Brasil. [b]Embrapa Instrumentação, SP, Brasil. rodrigoklaic@yahoo.com.br

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio.

Resumo
A solubilização biológica da rocha fosfática (RF) é uma alternativa para obter fertilizantes com baixo impacto ambiental a partir do cultivo microbiano em conjunto com a RF. Entretanto, é necessário estudar estratégias para aumentar a solubilização da RF por processo microbiológico. Portanto, este trabalho propõe avaliar o efeito de quatro diferentes meios nutrientes no cultivo do fungo *Aspergillus niger* (microrganismo solubilizador) com duas RFs de diferentes origens a RF Itafós e a RF Bayóvar. O efeito do tamanho de partícula da RF (ativação mecânica) na solubilização também foi avaliado a partir da moagem da RF. Os resultados mostram que o meio nutriente utilizado no cultivo microbiano tem elevado impacto na solubilização da RF, proporcionando um aumento de até 50% na solubilização da RF e uma ativação mecânica de apenas 10 min possibilitou um aumento de solubilização de 60%, sendo o tempo de moagem (tamanho de partícula) que resultou na maior eficiência de solubilização.
Palavras-chave: Biofertilizante; Rocha fosfática; Tamanho de partícula; *Aspergillus niger*.

BIOLOGICAL ACTIVATION OF PHOSPHATE ROCK AND EFFECT OF THE PARTICLE SIZE FOR OBTANING A PHOSPHATE BIOFERTILIZER

Abstract
The biological solubilization of phosphate rock (RF) is an alternative to obtain fertilizers with low environmental impact from microbial culture with RF. However, it is necessary to study strategies to increase RF solubilization by microbiological process. Therefore, this work proposes to evaluate the effect of four different nutrients medium in the cultivation of the fungus *Aspergillus niger* (solubilizing microorganism) with two RFs of different origins, RF Itafós and RF Bayóvar. The effect of RF particle size (mechanical activation) on solubilization was also evaluated from RF milling. The results show that the nutrient medium used in the microbial culture has a high impact on RF solubilization, providing an increase of up to 50% in RF solubilization and a mechanical activation of 10 min allowed an increase of 60% in the solubilization, the time of grinding (particle size) which resulted in the highest solubilization efficiency.
Keywords: Biofertilizers; Rock phosphate; Particle size; *Aspergillus niger*.

Publicações relacionadas: R. Klaic; F. Plotegher; C. Ribeiro, T.C. Zangirolami; C.S. Farinas. A novel combined mechanical-biolobical approach to improve rock phosphate solubilization. International Journal of Mineral Processing, 161, 50-58, 2017 (DOI: 10.1016/j.minpro.2017.02.009).

1 INTRODUÇÃO

Fertilizantes químicos fosfatado são utilizados em todo o mundo para melhorar a produtividade agrícola. Entretanto, o processo de produção destes fertilizantes envolve altos custos, uso intenso de ácidos inorgânicos fortes e pode causar danos ambientais. A aplicação de micro-organismos capazes de solubilizar fosfatos (MSP) tem sido considerada uma potencial estratégia para obter biofertilizantes via solubilização de rocha fosfática (RF) (KLAIC et al., 2017; MENDES et al., 2014). A solubilização biológica acontece pela acidulação natural, produção de ácidos orgânicos, proporcionada por um microrganismo (MENDES et al., 2014). Por estas razões, é de grande interesse o estudo de técnicas de cultivo submerso utilizando MSP e estratégias para aumentar a produção dos

ácidos orgânicos e a interação destes ácidos com as partículas de RF presentes no meio de cultivo. Portanto, este trabalho propõe avaliar o efeito de quatro diferentes meios nutrientes no cultivo do fungo *Aspergillus niger* com duas RFs de diferentes origens, RF Itafós e RF Bayóvar. As RFs também foram ativadas mecanicamente por moagem e os diferentes tamanhos de partículas obtidos utilizando diferentes tempos de moagem foram avaliados na solubilização biológica. Caracterizações detalhadas das RFs também foram realizadas para entender melhor o processo de solubilização do fósforo (P) presente nessas rochas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Microrganismo

O isolado *Aspergillus niger* C foi obtido da coleção da Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. Este fungo foi selecionado entre oito fungos filamentoso como o melhor para solubilizar rocha fosfática (KLAIC et al., 2017).

2.2 Rochas fosfáticas

Neste estudo foram utilizadas duas RFs de diferentes origens. A RF Bayòvar (RFB) de origem sedimentar da região de Sechura (Peru), com 30.7% P_2O_5 e a RF Itafós (RFI) de origem ígnea da região Arraisas (Brasil), com 20.3% P_2O_5. Caracterizações físico-químicas foram realizadas para obter a composição e a mineralogia das RFs por Fluorescência de Raios-X (FRX) e Difração de Raios-X (DRX), além disso, a morfologia das RFs foi observada utilizando Microscopia Eletrônica de Varredura com Emissão de Campo (MEV-FEG). A área superficial também foi determinada. As metodologias de caracterização utilizadas estão descritas em Klaic et al. (2017).

2.3 Solubilização das rochas fosfáticas

A solubilização das RFs foi avaliada por cultivo submerso utilizando o fungo *A. niger* adicionando-se uma concentração de 5 g L^{-1} de RF ao meio. As fontes de fosfato foram analisadas individualmente e todos os ensaios foram realizados em triplicatas utilizando quatro meios nutrientes propostos na literatura. Pikvoskaya (PVK), constituído l^{-1}: glucose, 10 g; $(NH_4)_2SO_4$, 0.5 g; NaCl, 0.2 g; $MgSO_4.7H_2O$, 0.1 g; KCl, 0.2 g; extrato levedura, 0.5 g; $MnSO_4.H_2O$, 0.002 g e $FeSO_4.7H_2O$, 0.002 g (PIKVOSKAYA, 1948). Czapek constituído l^{-1}: Sacarose, 30 g; $NaNO_3$, 2 g; K_2HPO_4, 1 g; $MgSO_4.7H_2O$, 0,5 g; KCl, 0,5 g e $FeSO_4.7H_2O$, 0,1 g (GRAYSTON, 1986). NBRIY constituído l^{-1}: glucose, 10 g; $(NH_4)_2SO_4$, 0.5 g; NaCl, 0.2 g; $MgSO_4.7H_2O$, 0.1 g; KCl, 0.2 g; $MnSO_4.H_2O$, 0.002 g e $FeSO_4.7H_2O$, 0.002 g (NAUTIYAL, 1999). NBRIP constituído l^{-1}: glucose, 10 g; $MgCl_2.6H_2O$, 5 g; $MgSO_4.7H_2O$, 0.25 g; KCl, 0.2 g e $(NH_4)_2SO_4$, 0.1 (NAUTIYAL, 1999). A metodologia detalhada utilizada nos ensaios de solubilização está descrita em Klaic et al. (2017). Após 96 h de cultivo o material foi filtrado em papel filtro e posteriormente centrifugado a 12000 rpm, 20 °C por 20 min e, o sobrenadante foi analisando pelo método da calorimetria (MURPHY; RILEY, 1986).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização das rochas fosfáticas

As caracterizações foram realizadas para avaliar a natureza química e física das RFs. As análises de DRX para RFB (Figura 1a) revelaram duas principais fases cristalinas correspondente a alfa-quartz (SiO_2, PDF2 pattern file #01-089-8934) e uma fase fluoropatita ($Ca_5(PO_4)_3F$, PDF2 pattern file #01-087-2462). Estudos anteriores mostraram que a principal fase cristalina desta rocha é um tipo de fluorapatita modificada denominada francolita ou carbonato-fluorapatita $\{Ca_{10}[(PO_4)_{6-X}(CO_3,SO_4)_X]F_2\}$, alguns grupos fosfato (PO_4^{3-}) no retículo cristalino podem ser substituídos por carbonato (CO_3^{2}) ou sulfato (SO_4^{2-}) grupos. Isso resulta em modificação das propriedades físico-químicas do material, como sua reatividade e solubilidade (MCARTHUR, et al. 1986). O DRX para a RFI (Figura 2b) revelou a presença de três fases cristalinas correspondente a alfa-quartz (SiO_2, PDF2 pattern file #01-089-8934) e duas fases ricas em fosfato belinita ($Al(PO_4)_3$, PDF2 pattern file #01-076-0228) e hidroxiapatita ($Ca_5(PO_4)_3OH$, PDF2 pattern file #01-086-0740). A Tabela 1 mostra a composição química detalhada destes materiais e confirma a presença das fases fosfáticas e alfa-quartz observadas pelo DRX. Também se observa que a RFB apresenta uma fase fosfática mais rica com

30,72 % P_2O_5 e a RFI 20,29 % P_2O_5 e uma área superficial maior que da RFI. Portanto, os materiais apresentaram diferenças em suas estruturas químicas e diferentes fases de fosfato.

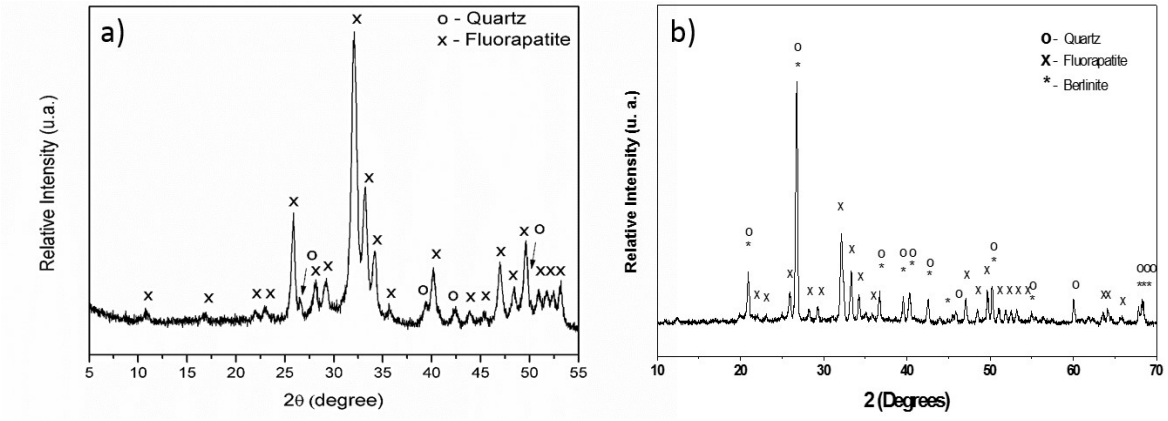


Figura 1. DRX a) Rocha fosfática Bayóvar b) Rocha fosfática Itafós.

Tabela 1. Composição química e área superficial das rochas fosfáticas.

Espécies	Itafós	Bayóvar
	% Massa	
SiO_2	36,4	4,42
Al_2O_3	4,60	0,96
Fe_2O_3	2,03	0,87
CaO	30,4	46,6
MgO	0,52	0,53
TiO_2	0,22	0,07
P_2O_5	20,29	30,72
Na_2O	0,30	1,98
K_2O	0,88	0,30
MnO	0,10	0,01
Loss on ignition	4,33	10,57
Total	100	97,03
F*	-	2,24
C**	-	2,23
Área Superficial (m^2/g)	3,02	19,3

(*) – Fluorine determined by specific ion analysis. (**) – Carbon determined by infrared spectroscopy.

3.2 Solubilização das rochas fosfáticas

Os resultados mostram que a solubilização do P presente nas RFs diferente utilizando os meios de cultivo propostos. A solubilização do P quando utilizado a RFB foi mais eficiente quando utilizado o meio de cultivo NBRIP (60% solubilização), seguido pelo meio Czapek (57% solubilização), NBRIY (48% solubilização) e PVK (40% solubilização). Para a RFI os meios de cultivo Czapek, NBRIP e NBIY, apresentaram uma solubilização entre 45-48%, já utilizando o meio PVK a solubilização foi de apenas 35%. Estes resultados mostram que a escolha e a otimização do meio de cultivo são etapas fundamentais para aumentar a solubilização da RF. Observa-se que a solubilidade da RFB é maior que da RFI, isto deve as diferenças das fases fosfáticas presentes em cada rocha como observado na etapa de caracterização (Secção 3.1). A RFI apresenta uma fase alfa-quartz mais intensa que a RFB e uma fase de fosfato de alumínio (Berlinita) de difícil solubilização, isto faz com que a eficiência de solubilização seja menor para a RFI.

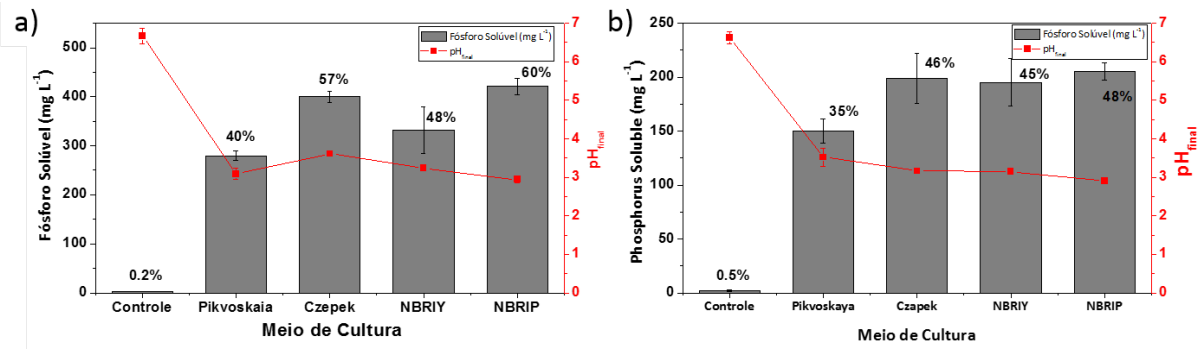


Figura 2. Solubilização da rocha fosfática em diferentes meios de cultivos por cultivo submerso. a) Rocha fosfática Bayóvar b) Rocha fosfática Itafós.

3.3 Efeito do tamanho de partícula da rocha fosfática na solubilização do fósforo

Nessa etapa a RFB foi utilizada como uma rocha modelo para avaliar o efeito do tamanho de partícula no cultivo submerso. A RFB foi ativada mecanicamente em um moinho laboratorial utilizando diferentes tempos de moagem (2,5; 5; 10; 20; 40; 80 e 160 min) e o material obtido foi utilizado no cultivo submerso, assim a solubilidade pode ser aumentada em decorrência da maior área superficial juntamente com a alteração local do pH, devido aos ácidos orgânicos produzidos durante o cultivo. Os resultados mostraram um aumento na solubilização de 60% em relação a RF sem ativação mecânica em apenas 10 min de moagem (Figura 3a), sendo este o tempo de moagem que se obteve a maior solubilização. A partir de 10 min de moagem não foi observado um aumento na eficiência de solubilização embora o tamanho de partícula tenha reduzido. A Figura 3b mostra a morfologia e a área superficial da RF para cada tempo de moagem, observa-se que a partir de 10 min de moagem uma tendência de formação de aglomerados que pode ter prejudicado a solubilização.

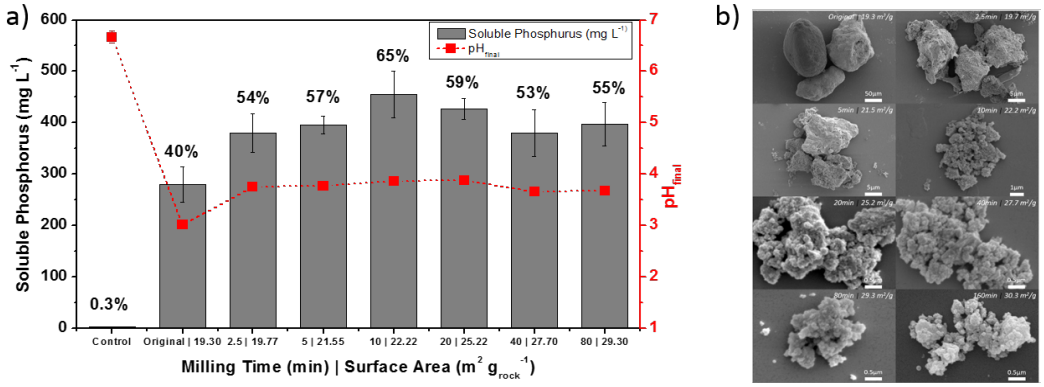


Figura 3. a) Solubilização da rocha fosfática e pH_{final} usando diferentes tamanhos de partículas em cultivo submerso. b) MEV-FEG, tamanho de partícula e área superficial para os diferentes tempos de moagem.

4 CONCLUSÃO

Os resultados mostram que o meio nutriente utilizado no cultivo microbiano tem elevado impacto na solubilização, proporcionando um aumento de até 50% na solubilização da RF. A ativação mecânica mostrou-se uma potencial estratégia para melhorar a solubilização da RF. Reduzidos tempos de moagem (10 min, tempo de moagem que resultou na maior eficiência de solubilização) resultaram em um aumento de solubilização de 60% quando comparado com a rocha natural. Estes resultados contribuem para avanços e novas estratégias para o desenvolvimento industrial de bioprocessos para solubilização microbiológica da RF.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o suporte financeiro Conselho Nacional de (CNPq) e a Empresa Brasileira de Pesquisa Agronômica (Embrapa).

REFERÊNCIAS

GRAYSTON, S.J. et al. Sulphur oxidation by fungi. Transactions of the British Mycological Society, v. 87, p. 193–198, 1986.

KLAIC, R. et al. A novel combined mechanical-biolobical approach to improve rock phosphate solubilization. International Journal of Mineral Processing, v. 161, p. 50-58, 2017.

MCARTHUR, J. M. et al. Stable isotopic characterization of francolite formation. Earth and Planetary Science Letters, v. 77, p. 20-34, 1986.

MENDES, G.D. et al. Mechanisms of phosphate solubilization by fungal isolates when exposed to different P sources. Annals of Microbiology, v. 64, n. 1, p. 239-249, 2014.

MURPHY, J.; RILEY, J. P. Citation-classic - a modified single solution method for the determination of phosphate in natural-waters. Current Contents/Agriculture Biology & Environmental Sciences, v. 12, p. 16-16, 1986.

NAUTIYAL, C.S. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. FEMS Microbiol. Lett, v. 170, n.1, p. 265–270, 1999.

PIKVOSKAYA. Mobilization of phosporus in soil connection with the vital activity of some microbial species. Microbiology, p. 362-370, 1948.

SÍNTESE VERDE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA UTILIZANDO EXTRATOS VEGETAIS PARA O CONTROLE DE *Meloidogyne incognita*

(POLEZ,V.L.P[1]; ROCHA,T.L[1]; JESUS, K.R[2]; SOLL,C.B[1]; PUPE,J[1]; VIEIRA, R.F.[1]; SILVA, D.B[1]; ALVES, R.B. N[1], COSTA,D.C[1], ABIORAMA,A.F[1]; BONATTO,C.C[1]; SILVA,L.P[1])

([1]Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia e [2]Embrapa Meio Ambiente) vera.polez@embrapa.br

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio.

Resumo

O fitonematoide *Meloidogyne incognita* é responsável pela redução na produtividade e na qualidade dos produtos agrícolas em termos mundiais. O controle deste fitoparasita permanece centrado no uso de nematicidas sintéticos, problemáticos à saúde humana, animal e ao meio ambiente. Assim, a nanotecnologia verde está sendo proposta visando ao controle de *M. incognita*. A síntese verde de nanopartículas (NPs) apresenta custo baixo, biocompatibilidade, ausência/baixa toxicidade e um menor impacto ao meio ambiente. Neste caso, foi proposta a síntese de nanopartículas de prata (AgNPs) utilizando-se extratos vegetais aquosos de dez espécies pertencentes à Coleção de Germoplasma de Plantas Medicinais e Aromáticas da Embrapa visando ao controle de *M. incognita*. A síntese de AgNPs foi realizada utilizando-se extratos aquosos e nitrato de prata na concentração de 1mM. O diâmetro hidrodinâmico das AgNPs variaram entre 68,5±2,4 a 329,8±44,13nm no período de seca e 39,7±8,9 a 218,0±3,1nm no período chuvoso. Todas as AgNPs apresentaram ação nematotóxica. Duas foram selecionadas devido à estabilidade e ação nematotóxica. A avaliação dos riscos das AgNPs está sendo realizada pela formulação de indicadores específicos dos riscos ambientais e ecotoxicológicos e serão testados durante a execução da pesquisa para garantir o desenvolvimento de forma sustentável e segura para o meio ambiente.

Palavras-chave: Nanopartículas; Síntese verde; Banco de Germoplasma; Controle; *Meloidogyne incognita*;

GREEN SYNTHESIS OF SILVER NANOPARTICLES USING PLANT EXTRACTS FOR THE CONTROL OF *Meloidogyne incognita*

Abstract

The phytonematode *Meloidogyne incognita* is responsible for the reduction in productivity and quality of agricultural products in world terms. The control of this phytoparasite remains centered on the use of nematicides synthetics, problematic to human health, animal and the environment. Thus, the green nanotechnology is being proposed for the control of *M. incognita*. The nanoparticles (NPs) synthesis show low cost, biocompatibility, absence/low toxicity, as well as a lesser impact on the environment. In this case it was proposed the silver nanoparticles (AgNPs) synthesis using plant extracts of 10 species belonging to the Germplasm Medicinal and Aromatic Plants Collection from Embrapa aiming the control of *M. incognita*. The AgNPs synthesis was performed using aqueous extracts and silver nitrate at concentration of 1mM. The AgNPs hydrodynamic diameter ranged from 68.5±2,4 to 329.8±44,13nm during the dry season and 39.7±8,9 to 218,0±3,1nm in the rainy season. All the AgNPs presented nematotoxic action. Two were selected due to the stability and nematototoxic action. The risk assessment of AgNPs is being performed, so specific indicators of environmental and ecotoxicological risks are being formulated and will be tested during the execution of the research to ensure the development in a sustainable and safe way for the environment.

Keywords: Nanoparticles; Green synthesis; Germplasm Bank; Control; *Meloidogyne incognita*.

1 INTRODUÇÃO

A nanobiotecnologia é uma área promissora que integra diferentes ciências como a química, a física, a biologia e a ciência de materiais. As nanopartículas metálicas (NPMs) podem ser geradas por métodos químicos, físicos e biológicos. Os métodos químicos e físicos utilizam substâncias tóxicas,

logo, suas aplicações nas áreas de saúde e ambiental são limitadas (SILVA et al., 2017). Por outro lado, a síntese biológica de nanomateriais (nanotecnologia verde) visa ao aproveitamento da biodiversidade, sendo uma importante estratégia devido ao custo-benefício, à biocompatibilidade, à ausência ou toxicidade baixa e ao baixo impacto ambiental. Neste caso, este tipo de síntese de NPMs pode ser proveniente de organismos procariontes ou eucariontes, e pode constituir organismo inteiro, parte dele ou apenas compostos (BONATTO & SILVA, 2014; SILVA et al., 2017). Os recursos biológicos provenientes de plantas são fontes significativas de moléculas redutoras e estabilizadoras para a síntese de NPMs, tais como: metabólitos secundários (alcaloides, terpenoides, ácido cumárico), proteínas, entre outros (SILVA et al., 2017). Os bancos ativos de germoplasmas são fontes importantes de recursos biológicos para a síntese de NPMs pois, congregam algumas das características desejáveis em tais processos como a rastreabilidade dos materiais biológicos e o conhecimento de inúmeras características das plantas como por exemplo perfis fitoquímicos determinados. As NPMs apresentam aplicações em diversos setores tais como na biotecnologia, na saúde e na agropecuária.

O fitonematoide *Meloidogyne incognita* se destaca por parasitar um número significativo de culturas de interesse econômico tais como a cana-de-açúcar, o café, a soja, o feijão, o algodão, entre outras (BRASS et al., 2008; LOPES et al., 2011). Atualmente, o método mais explorado para o controle desse organismo está centrado na utilização intensa de nematicidas sintéticos, os quais podem resultar em diversos danos para o meio ambiente e para a saúde animal e humana (CABONI, 2014). Nesse contexto, o uso de estratégias mais sustentáveis e ambientalmente mais seguras vem sendo apresentadas como alternativas para o controle de pragas/patógenos.

Assim, o objetivo do trabalho foi sintetizar e iniciar a caracterização físico-química e biológica das nanopartículas de prata (AgNPs) utilizando extratos de folhas de plantas medicinais proveniente da Coleção de Germoplasma de Plantas Medicinais e Aromáticas da Embrapa visando ao controle de *M. incognita*.

Na literatura, até o momento, não existem artigos referentes à ação de AgNPs, via síntese verde, para o controle de fitonematoides mas existem trabalhos preliminares gerados pela equipe que demonstram esse potencial (SILVA, 2014; BONATTO, 2016). Outra vertente importante refere-se às avaliações de segurança das AgNPs que vem sendo desenvolvidas e já estão disponíveis para uso e comercialização sem que reflexões sobre seu uso seguro. Desta forma, é de extrema importância a formulação de parâmetros técnicos que identifiquem esses riscos com a finalidade de auxiliar os desenvolvedores destas tecnologias de forma segura e sustentável (JESUS & MASSINI, 2016).

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Desenvolvimento e caracterização das AgNPs

Material biológico: No presente trabalho foram utilizadas folhas expandidas de 10 espécies de diferentes famílias selecionadas da coleção de Germoplasma de Plantas Medicinais e Aromáticas da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. As amostras de folhas frescas foram coletadas, higienizadas e congeladas (-40°C) para posterior extração aquosa. As coletas foram realizadas em dois períodos do ano (seca e chuva). O voucher de cada espécie foi depositado no herbário da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia sendo fiel depositário para amostras do patrimônio genético. Todos os procedimentos para coleta e acesso foram realizados de acordo com a legislação brasileira (Lei 131232015) seguindo todas as recomendações e as normas da Embrapa.

Síntese das AgNPs: As reações de sínteses das AgNPs foram realizadas de acordo com Bonatto e Silva (2014) onde foram realizadas apenas uma síntese em cada período (seca e chuva) e as folhas coletadas no inverno foram realizadas as sínteses com as folhas congeladas e liofilizadas. Os controles foram os extratos aquoso das folhas e o nitrato de prata. A reação de síntese foi realizada a 70°C durante 2 horas e 30 minutos e as absorbâncias das amostras foram mesuradas a cada 30 minutos em seguida foram armazenadas a –4°C.

Caracterização das AgNPs: As AgNPs foram analisadas por espalhamento de luz dinâmico e potencial Zeta. As AgNPs foram caracterizadas referente ao diâmetro hidrodinâmico-DH (nm), ao índice de polidispersividade - PdI, Potencial Zeta (mV) e condutividade elétrica (mS/cm). As amostras foram analisadas após diluição em água ultrapura (1:10 v/v). As medidas foram realizadas em triplicata conforme procedimento padronizado.

2.2. Exposição dos nematoides às AgNPs

Bioensaios com *Meloidogyne incognita*: Os nematoides foram mantidos em casa de vegetação em plantas de *Nicotiana tabacum* infestadas. A extração dos ovos de *M. incognita* foi realizada após três meses de infestação. O processo de extração dos ovos nas raízes foi realizado de acordo com adaptação de Hussey e Barker (1973). O preparo dos ovos para a eclosão e ensaios foram realizados conforme procedimento padronizado. As AgNPs e seus respectivos controles (extrato folha e nitrato de prata) foram transferidos individualmente para tubos de microcentrífuga contendo cada um 60 nematoides na fase infectiva (J2) em um volume final de 500 µL em quatro diferentes concentrações de AgNPs e seus respectivos controles. Os tubos foram mantidos a 25ºC e após 48 horas os nematoides foram contados com o auxílio de microscópio óptico e lâmina de Peters. Os ensaios foram realizados em triplicata, e tiveram como controle positivo (água) e negativo (álcool 70%).

2.3. Formulação dos indicadores de riscos para ensaios com nematoides expostos às AgNPs.

Os indicadores de riscos ecotoxicológicos foram formulados por intermédio de uma minuciosa análise da literatura científica referente ao tema sendo elaborados 10 indicadores (JESUS & MASSINI, 2016) que retrataram os aspectos mais relevantes concernente ao desenvolvimento de uma NPM, sua efetividade para o organismo alvo e não alvo do controle para ensaios preliminares que possam indicar o potencial de risco da tecnologia. Os indicadores empregados para os testes com nematoides estão apresentados na Tabela 2 e permitem embasar a avaliação da segurança das AgNPs de modo incipiente na pesquisa. Novos indicadores estão sendo propostos pela equipe e serão empregados nos experimentos.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O monitoramento por espectroscopia de absorção durante o período de síntese indicou diferenças nos perfis de absorção indicativos de formação das AgNPs, sendo observadas influências interespecíficas e intersazonais. Adicionalmente, foram observadas diferenças nos picos referentes à RPS (Ressonância de Plasmônica de Superfície). A caracterização das AgNPs por DLS indicou formação de partículas de tamanho na faixa nanométrica, PdI variado e estabilidade coloidal incipiente e moderada (Tabela 1).

Tabela 1. Caracterização das AgNPs sintetizadas (diâmetro hidrodinâmico-DH, PdI e potencial zeta).

Coleta	DH(nm)	PdI	Potencial Zeta
Período de seca	68,5±2,4 329,8±44,13	0,275±0,005 0,662±0,187	-22,1±9,6 -36,5±0,9
Período de chuva	39,7±8,9 218,0±3,1	0,236±0,034 0,801±0,174	-5,1±4,0 -37,0±3,3

Todas as AgNPs apresentaram ação nematotóxica. Duas foram selecionadas devido à estabilidade coloidal (inferida pelo potencial Zeta) e ação nematotóxica mais pronunciada onde foi detectado que as AgNPs podem matar os nematoides (observação de formação de vacúolos na região intestinal sugerindo um mecanismo de ruptura de membrana – dados não demonstrados) ou podem comprometer o movimento de forma irreversível o que poderá resultar no impedimento da infestação da planta sendo essa ação dose-dependente. Adicionalmente, apesar da solução de nitrato de prata resultar na morte de 100% do J2 de *M. incognita* (Figura 1) vale enfatizar que o composto está na sua forma livre (Ag^{+}) enquanto que nas AgNP-4 e AgNp-10 encontram-se na forma nanoestruturada que poderá ser liberada de uma forma gradual e sustentada.

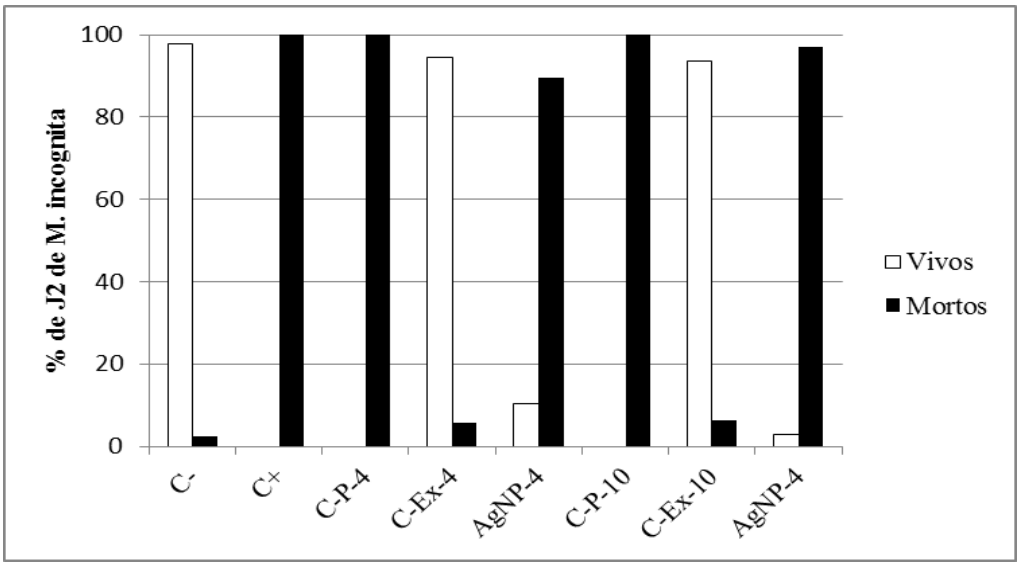


Figura 1. Bioensaio *in vitro* com as AgNP-4 e AgNP-10 contra J2 de *M. incognita*. Controles: água (C-); etanol (C+); nitrato de prata (C-P-4 e C-P-10) e extrato aquoso da folha (C-Ex-4 e C-Ex-10).

Os riscos envolvidos em todos os momentos de exposição às NPs, desde a produção, até a limpeza, o estoque e o transporte, devem ser estudados e enumerados. Devido ao fato das NPs serem frequentemente formuladas para apresentarem propriedades muito específicas é possível que esta nova estrutura possa apresentar efeitos ecototoxicológicos incomuns quando acumulados ou disperso no meio ambiente. Neste contexto, foram testados pela equipe alguns indicadores de riscos ecotoxicológicos (JESUS & MASSINI, 2016) propostos por pesquisas anteriores da Rede AgroNano (Tabela 2) e estão apresentados abaixo os testes realizados de modo incipiente, mas estão previstos ensaios para avaliações de riscos mais amplas em pesquisas futuras.

Tabela 2. Lista preliminar de indicadores de riscos ecotoxicológicos para testes de segurança e efetividade da exposição de nematoides às AgNPs

Área Ecotoxicologia	Resultados das avaliações com AgNPs
1- Resultado positivo para o teste de toxicidade *in vitro*	Resultado positivo para o teste *in vitro*: AgNPs tem ação efetiva.
2- Resultado positivo do Teste de toxicidade *in vivo*	Resultado em andamento
3- Avaliação da relação dose/resposta das AgNPs com potencial tóxico antes da sua liberação	Não foi feita liberação no ambiente.
4- Presença de partícula tóxicas associados a NPs (óxidos de metais, prata, fulereno, etcs)	Foram empregados nitrato de prata, indicando necessidade de protocolos específicos para descartes. Em formulação pela equipe.
5- Relato de ocorrência anterior de algum dano à saúde humana e animal ocasionado pela exposição às AgNPs.	Não existe relato de dano associado com outras partículas ou substância de origem vegetal.

4 CONCLUSÃO

A Coleção de Germoplasma de Plantas Medicinais e Aromáticas apresenta-se como uma fonte importante para a obtenção de extratos para a síntese de AgNPs. Todas as AgNPs apresentaram ação nematotóxica principalmente as AgNP-4 e AgNP-10 indicando potencial para o controle do fitonematoide *M. incognita*.

AGRADECIMENTOS
Agradecimento ao suporte financeiro EMBRAPA (SEG:03.14.03.010.00.00; 08/2016 a 07/2019).

REFERÊNCIAS

BONATTO, C. C.; SILVA, L. P. Higher temperatures speed up the growth and control the size and optoelectrical properties of silver nanoparticles greenly synthesized by cashew nutshells. Industrial Crops and Products, v. 58, p. 46-54, 2014.

BONATTO, C.C. Desenvolvimento e avaliação de atividades biológicas in vitro e in vivo de micro- e nanopartículas de prata utilizando plantas do Cerrado. Tese de Doutorado. Universidade de Brasília, UnB, DF, 2016.

BRASS, F.E.B.; VERONEZZE, N.C.; PACHECO, E. Aspectos biológicos do Meloidoyne spp. relevantes a cultura de café. Rev. Cient. Eletron. Agron., número 14. 2008.

CABONI , AND N. G. NTALLI. Botanical Nematicides, Recent Findings. In Biopesticides: State of the Art and Future Opportunities, American Chemical Society), pp. 145–157. 2014.

HUSSEY, R. S., BARKER, K. R. A comparison of methods for colecting inocula of *Meloidogyne* spp. including a new technique". Plant Disease Reporter, 57 (12): 1025-1028.1973.

JESUS, K. R. E.; MASSINI, K. C. Risk indicators of the nanoparticles-a decision making process aiming to support the nanomaterials development. In: ENCONTRO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PESQUISA EM MATERIAIS, 15., 2016, Campinas. [Abstracts...] Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Pesquisas em Materiais, 2016. Resumo B62K. p. 1625.

LOPES, E.; DALLEMOLE-GIARETTA,R.; VIEIRA, B.S. 2011.Nematoides das galhas. Artigo revisado partir de Mitkowski, N.A. and G.S. Abawi. The Plant Health Instructor. 2003.

SILVA, L. P.; BONATTO, C. C.;PEREIRA, F. D. E. SOARES; SILVA, L. DIAS; ALBERNAZ, V. L.; POLEZ, V. L. P. Nanotecnologia verde para síntese de nanopartículas metálicas. In: RESENDE, R.R (Coord). Biotecnologia Aplicada à Agro&Indústria. Editora Blucher, 2017. v. 4, p. 967-1012.

SILVA, L.D. Síntese verde, caracterização e atividade biológica de nanopartículas de prata obtidas utilizando extratos de *Hancornia speciosa* Gomes - Apocynaceae (mangabeira). Dissertação de Mestrado. Universidade de Brasília, UnB, DF, 2014.

OBTENÇÃO DE COMPÓSITO MAGNÉTICO À BASE DE ZEÓLITA FAU PARA ADSORÇÃO CONTAMINANTES

Oneide Chire Quispe[1]*; Henrique Cesar Musetti[1,2]; Elaine Cristina Paris[2]

[1] UFSCar, Rodovia Washington Luiz, Km 235, SP 310. 13565-905, São Carlos, SP
[2] LNNA – Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro 1452, 13560-970, São Carlos, SP
**oneide_quispe@hotmaill.com*

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio

Resumo
A poluição aquática vem ganhando atenção cada vez maior nos últimos anos. Assim, é necessário o desenvolvimento de metodologias para descontaminação da água, tal como, o processo de adsorção. A problemática no uso de adsorventes está na dificuldade de imobilização, a fim de remover e reutilizar estes compostos. Assim, o presente trabalho teve como interesse a obtenção e modificação superficial da zeólita FAU, para avaliar a resposta deste material frente ao poluente fenol. A zeólita, impregnada com nanopartículas magnéticas, foi utilizada para avaliar a capacidade de adsorção de íons Pb^{2+}. A síntese foi feita pelo método sol-gel e modificada com surfactante. A ferrita de cobalto, material magnético, foi obtida por coprecipitação, enquanto que o compósito magnético foi obtido dispersando-se a zeólita em solução aquosa contendo $CoFe_2O_4$. Os estudos de adsorção foram realizados frente ao poluente (fenol 25 ppm ou íons Pb^{2+} 190 ppm) em concentração inicial conhecida. A zeólita, apesar de hidrofobizada com sucesso, não apresentou adsorção efetiva para o fenol. Já o compósito magnético apresentou remoção eficaz (cerca de 98%) dos íons Pb^{2+} em meio aquoso. Assim, verifica-se que o compósito de zeólita:ferrita é um candidato promissor para a remoção de íons metálicos em meio aquoso.
Palavras-chave: Zeólita; Ferrita; Compósito; Adsorção

MAGNETIC COMPOSITE OBTENTION BASED ON ZEOLITE FAU FOR CONTAMINANTS ADSOPRTION

Abstract
Water pollution has been gained attention in recent years. Thus, it is necessary to develop methodologies for water decontamination, such as the adsorption process. The problem in the use of adsorbents is related to the difficulty of immobilization in order to remove and reuse these compounds. In this way, the present work had as interest the obtaining and superficial modification of FAU zeolite, in order to evaluate the response of this material to the phenol pollutant. Zeolite, impregnated with magnetic nanoparticles, was used to evaluate the adsorption capacity of Pb^{2+} ions. The synthesis was done by the sol-gel method and modified with surfactant. The cobalt ferrite (magnetic material) was obtained by coprecipitation, while the magnetic composite was obtained by dispersing the zeolite in aqueous solution containing $CoFe_2O_4$. The adsorption studies were carried out against the pollutant (phenol 25 ppm or Pb^{2+} ions 190 ppm) at a known initial concentration. The hydrophobized zeolite did not present effective adsorption to the phenol. However, the magnetic composite presented effective (about 98%) removal of Pb^{2+} ions in aqueous medium. In conclusion, it was verified that zeolite:ferrite composite is a promising candidate for the removal of metallic ions in aqueous medium.
Keywords: Zeolite; Ferrite; Composite; Adsorption

Publicações relacionadas: MUSETTI, H. C. Síntese de zeólita FAU e obtenção de compósito magnético: funcionalização de superfície e adsorção de poluentes em meio aquoso. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de São Carlos, UFSCar, São Carlos, 2016.

1 INTRODUÇÃO

A adsorção é um fenômeno de superfície que ocorre quando uma espécie solúvel (soluto) entra em contato com uma superfície sólida porosa, que apresenta afinidade pela substância solubilizada (GRECCO, 2013).

As zeólitas são aluminossilicatos cristalinos e hidratados que apresentam alta porosidade e elevados valores de áreas superficiais (internas e externas), da ordem de centenas de metros quadrados por grama de material. Tais materiais podem ser facilmente regenerados e ter sua superfície facilmente modificada, facilitando a aplicação como adsorvente (CHAOUATI, 2013). As zeólitas contribuem para um ambiente mais limpo e seguro de várias maneiras. De fato, quase todas as aplicações de zeólitas foram impulsionadas por preocupações ambientais ou desempenham um papel importante na redução de resíduos tóxicos (TEODOSIU,2008)

A modificação de superfície da zeólita, para sua possível interação com determinados grupos de contaminantes, se constitui basicamente na fixação de um agente de interesse à superfície de um determinado material, de modo que estes permaneçam efetivamente ligados após o procedimento, preservando a estrutura do material (BUSCA, 2008). Uma vez obtida a zeólita FAU, que possui característica hidrofílica, torna-se necessário modificar a superfície, de modo a aumentar a hidrofobicidade, tornando-a eficiente para a adsorção.

Compósitos magnéticos obtidos por meio da combinação de zeólitas e materiais magnéticos, tais como, óxidos de ferro, podem oferecer uma interessante alternativa para remoção de poluentes em meio aquoso, podendo ser removidos após o uso por meio de separação magnética (PERGHER, 2005).

Assim, visa-se obter da zeólita FAU e funcionalizar a superfície de modo a aumentar o caráter hidrofóbico e a afinidade por fenol, bem como obter um compósito de zeólita:ferrita de modo a avaliar a capacidade de adsorção por íons de metais pesados como Pb^{2+}, presentes em meio aquoso.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Síntese da Zeólita Faujasita e Funcionalização

Como fonte de SiO_2 utilizou-se sílica vaporizada (Aerosil 380, Evonik Degussa®) e como fonte parcial de íons Na^+ utilizou-se Hidróxido de sódio (Synth®). Aluminato de sódio (Sigma Aldrich ®) foi utilizado como fonte de íons Al^{3+} e também, como fonte parcial de íons Na^+.

Dissolveu-se NaOH em água deionizada, sob agitação magnética vigorosa, até obter uma solução translúcida. A seguir, foi adicionado aluminato de sódio a esta solução, ainda sob agitação magnética, e aguardou-se a completa dissolução e hidrólise do sal. Adicionou-se SiO_2 gradativamente, sob agitação manual, obtendo-se um gel homogêneo. Em seguida, esse gel foi envelhecido por 24 horas e submetido a tratamento hidrotérmico, por 6 horas, à temperatura de 100ºC, sob agitação magnética. A suspensão obtida foi submetida a lavagens e seco em estufa a 60ºC.

Para a obtenção de zeólita hidrofóbica, foi realizada a funcionalização de sua superfície com HDTMA-Br. Neste tipo de modificação, o surfactante foi solubilizado em água e, em seguida, a zeólita foi adicionada à solução, a qual permaneceu sob agitação a 40°C durante por 24 horas. Ao fim dessa reação, a zeólita foi separada por centrifugação e lavada até teste negativo para brometo com solução de $AgNO_3$.

2.2 Síntese da Ferrita de Cobalto e produção do Compósito (Zeólita:CoFe2O4)

Duas soluções contendo sais de ferro (III) (0,40 mol L^{-1}) e de cobalto (0,20 mol L^{-1}) foram preparadas separadamente. Em seguida, as duas soluções foram misturadas e deixadas sob agitação por 15 minutos. Posteriormente, foi adicionada solução aquosa de NaOH (3 mol L^{-1}) ao meio reacional. Este foi deixado em agitação por 30 minutos. Em seguida, a suspensão final foi submetida a lavagem e o precipitado seco em estufa. O sólido seco foi submetido a um tratamento térmico de 300ºC por 4 horas, seguido de um segundo tratamento a 700ºC por 3 horas, sendo novamente desagregado e caracterizado.

Para formação de um compósito, 0,5 g de ferrita foi suspensa em 40 mL de água destilada. Em seguida, 1,5 g de zeólita foi adicionado lentamente à suspensão, de modo a alcançar uma proporção de zeólita:ferrita (m/m) igual a 3:1. Após este processo o sistema foi submetido à sonicação. Uma vez

realizada a dispersão dos materiais, o sistema foi submetido à sonicação por mais uma 1 hora e depois centrifugado para separação e, seco em estufa por 12 horas.

2.3 Ensaios de Adsorção

Alíquotas de 40 mL de uma solução aquosa de Fenol (Sigma Aldrich®) de concentração 25 ppm foram adicionadas a frascos contendo massa previamente estabelecida de zeólita, sem e com modificação superficial (1,0 ou 10,0 g L-1). Os experimentos foram conduzidos sob agitação magnética por 24 h. Em seguida, alíquotas da solução foram analisadas através de Espectrofotometria de UV-vis (269,5 nm).

Já para a adsorção do íon chumbo, alíquotas de 40 mL de uma solução aquosa de Nitrato de Chumbo II (Synth®) de concentração 180-220 ppm foram adicionadas a frascos contendo massa previamente estabelecida de zeólita (0,05 a 1,0 g L^{-1}). Os experimentos foram conduzidos sob agitação magnética. Decorridas 24 horas de ensaio, alíquotas da solução sobrenadante foram analisadas por intermédio de Espectrometria de Absorção Atômica com chama (283,31 nm).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A fim de avaliar a capacidade de adsorção de fenol pelo adsorvente obtido, foram obtidos os espectros de UV-Vis para a zeólita FAU sintetizada com e sem modificação pelo surfactante HDTMA-Br. Esses resultados podem ser observados na Figura 1a:

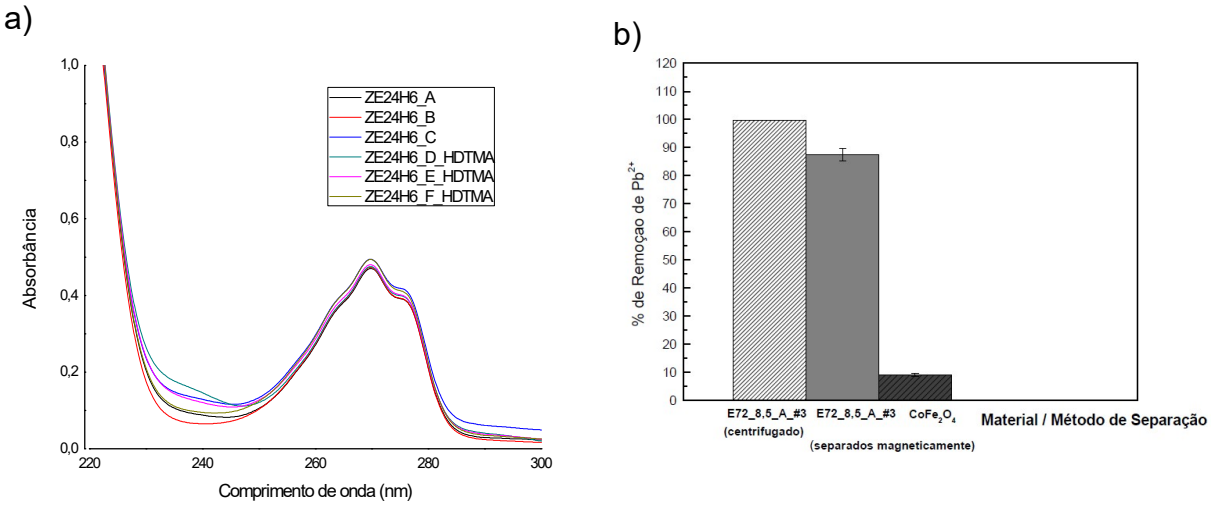


Figura 1: a) Espectro de UV-vis (300-220 nm) da alíquota da solução aquosa de Fenol (25 ppm) submetida a 24 horas de agitação magnética (280 rpm), na presença da zeólita FAU sintetizada com e sem modificação por HDTMA-Br. b) Porcentagem de remoção de íons Pb^{2+} de solução aquosa (concentração inicial de chumbo: 230 ppm) por ferrita de cobalto e compósito zeólita:ferrita de cobalto (3:1) a 1,0 g L^{-1}, após 24 horas sob agitação mecânica (90 rpm).

Pode-se observar que não houve adsorção de fenol pela zeólita FAU, mesmo com a superfície modificada.

Já para a adsorção de chumbo, observa-se que o compósito removido por centrifugação atingiu praticamente 100% de remoção de íons do metal. Já a ferrita de cobalto, em igual concentração, não atingiu remoção significativa deste poluente, subtraindo cerca de 5% de sua concentração inicial.

4 CONCLUSÃO

Foram obtidas nanopartículas de zeólita FAU nas condições de síntese empregando-se 24 horas de envelhecimento estático e por 6 horas de hidrotermalização a 100ºC. A hidrofobização da zeólita foi alcançada empregando-se o surfactante HDTMA-Br. Entretanto, não apresentou-se eficiente para remoção de fenol de meio aquoso por meio de adsorção. Ferritas de cobalto

nanoparticuladas, foram obtidas com sucesso por meio de coprecipitação química. Foram obtidos compósitos magnético de zeólita FAU:$CoFe_2O_4$ (3:1) (m/m) com boa distribuição do material magnético sobre a matriz zeolítica, preservando a estrutura de ambos os componentes. Além disso, os compósitos obtidos mostraram-se interessantes para a remoção de íons chumbo (Pb^{2+}) em meio aquoso por adsorção, e com bom potencial de reutilização neste processo.

AGRADECIMENTOS
Técnicos e Analistas da Embrapa Instrumentação pelo suporte técnico. Alunos do Grupo de pesquisa pela parceria. SISNANO/MCTI, CNPq, CAPES, FINEP e Embrapa/Rede AgroNano pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

GRECCO, S. D. T. F.; DO CARMO RANGEL, M. & URQUIETA- GONZÁLEZ, E. A. "Zeólitas Hierarquicamente Estruturadas". Quim. Nova, 36 (1): 131, 2013.

CHAOUATI, N.; SOUALAH, A. & CHATER, M. "Adsorption of phenol from aqueous solution onto zeolites Y modified by silylation". C. R. Chim., 16 (3): 222, 2013.

TEODOSIU, C.; CATRINESCU C.; APREUTESEI E. R.; "SURFACTANT-MODIFIED NATURAL ZEOLITES FOR ENVIRONMENTAL APPLICATIONS IN WATER PURIFICATION". Environ. Engineering and Management Journal, Vol.7, (2): pag:149-161, 2008.

BUSCA, G.; BERARDINELLI, S.; RESINI, C. & ARRIGHI, L. "Technologies for the removal of phenol from fluid streams: a short review of recent developments". J. Hazard. Mater., 160 (2): 265, 2008.

PERGHER, S. B.; OLIVEIRA, L. C.; SMANIOTTO, A. & PETKOWICZ, D. I. "Materiais magnéticos baseados em diferentes zeólitas para remoção de metais em água". Quim. Nova, 28 (5): 751, 2005.

SÍNTESE QUÍMICA DE ZNO PARA APLICAÇÃO EM PROCESSOS DE FOTOCATÁLISE HETEROGÊNEA

Mateus Tofoli Corrêa, Rafaella Hissae, Douglas Mendes da Silva Del Duque, Vagner Romito de Mendonça.

IFSP – Campus Itapetininga. E-mail de contato: mateustofolic@gmail.com; rafa_hissae@hotmail.com; del-duque@hotmail.com; vagneromito@gmail.com.

Classificação: Cinética Química e Catálise

Resumo

A literatura de monstra o emprego de semicondutores nanométricos no tratamento de efluentes orgânicos via fotocatálise heterogênea. Nanocristais de ZnO tem sido estudados como alternativa ao TiO_2 (o semicondutor mais utilizado) e é consenso que estes materiais apresentam alta fotoatividade. Este trabalho demonstra a síntese de nanopartículas de ZnO por um método de precipitação para obtenção do precursor, seguido por calcinação ou tratamento hidrotérmico deste. Os materiais sintetizados foram empregados em processos de degradação de contaminante orgânico, a saber, o corante Azul de Metileno, por fotocatálise heterogênea. Foram estudados, no processo de calcinação, a temperatura de tratamento térmico para formação do óxido, e no processo de tratamento hidrotérmico, o ambiente de síntese variando-se o pH do meio. O processo de calcinação resultou em materiais mais fotoativos que o precursor, independente da temperatura utilizada. Por outro lado, o tratamento hidrotérmico produziu materiais menos fotoativos, tendo sido o precursor tratado em meio neutro ou básico. Os resultados demonstram a aplicabilidade do método de calcinação para extensão deste trabalho e obtenção de materiais de interesse ambiental.

Palavras-chave: ZnO; Nanocristais; Fotoatividade; Contaminante

ZNO CHEMICAL SYNTHESIS FOR APPLICATION IN HETEROGENEOUS PHOTOCATALYZATION PROCESSES

Abstract

It has been widely reported in the literature the use of nanometric semiconductors in the treatment of organic effluents via heterogeneous photocatalysis. Nanocrystals of ZnO have been studied as an alternative to TiO2 (the most used semiconductor) and it is agreed that these materials have high photoactivity. This work demonstrates the synthesis of nanoparticles of ZnO by a precipitation method to obtain the precursor, followed by calcination or hydrothermal treatment of this precursor. The materials synthesized were used in degradation processes of organic contaminant, namely the methylene blue dye, by heterogeneous photocatalysis. The thermal treatment temperature for oxide formation was studied in the calcination process, and in the hydrothermal treatment process the synthesis environment was varied by pH of the medium. The calcination process resulted in more photoactive materials than the precursor, regardless of the temperature used. On the other hand, the hydrothermal treatment produced less photoactive materials, the precursor being treated in neutral or basic medium. The results demonstrate the applicability of the calcination method for the extension of this work and the obtaining of materials of environmental interest.

Keywords: ZnO; Nanocrystals; Photoactivity; Contaminant.

1 INTRODUÇÃO

A aplicação de nanomateriais no tratamento de águas contendo contaminantes orgânicos denomina-se fotocatálise heterogênea, onde um semicondutor é ativado pela ação de luz e promove reações de

oxirredução em sua superfície que levam à degradação do contaminante (GIRALDI *et al*, 2012). O semicondutor mais estudado para este fim é o TiO_2, especialmente na forma anatase. Porém, por questões diversas, são buscados materiais alternativos ao TiO_2, se destacando dentre estes o ZnO (BAGNARA, 2016). Interessantemente, os primeiros relatos do processo de fotocatálise são do ano de 1964 e envolvem a utilização do ZnO na oxidação do CO (DOERFLER *et al*, 1964).

A relação entre estrutura e propriedade em materiais nanométricos é de suma importância para a adequada aplicação de um material. Entretanto, para se controlar a morfologia de um material é necessário o desenvolvimento de metodologias de síntese que resulte em materiais estruturalmente diferentes por conta de pequenas variações no procedimento de síntese (GIRALDI *et al*, 2012). Assim, este trabalho teve como objetivo a síntese de ZnO por diferentes metodologias e o estudo das propriedades fotocatalíticas deste na degradação do corante Azul de Metileno (MB) sob radiação UV.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Síntese

- *Síntese do Precursor:* sob vigorosa agitação em todo o processo da síntese foram adicionados á 500 mL de água, 37 μL de HNO_3 e 3,7187g de $Zn(NO_3)_2$. Posteriormente, foram adicionados 2 mL de NH_4OH, formando-se um corpo de fundo. O precipitado foi lavado, centrifugado em seco em estufa a 50 °C. Este material foi identificado como Prec.

- *Calcinação:* O Precursor obtido anteriormente foi9 calcinado em mufla em duas diferentes temperaturas – 190 e 400 °C. As amostras foram nomeadas como ZnO 190 e ZnO 400, respectivamente.

- *Tratamento Hidrotérmico:* O material Prec. foi disperso em água pura e em solução de KOH a pH 14 e foi tratada hidrotermicamente a 100 °C por X h sob agitação constante. Os materiais foram nomeados como TH PH 7 e TH PH 14.

2.2 Fotocatálise Heterogênea

Para os testes de fotocatálise heterogênea, 5 mg dos materiais previamente sintetizados foram depositados em 20 mL de solução de MB a 5 $mg.L^{-1}$ (DE MENDONÇA, 2014). Os béqueres foram dispostos simetricamente na base do fotoreator e foram removidos pequenos volumes de tempos em tempos para medida do decaimento da degradação do corante utilizando espectroscopia UV-vís no comprimento de onda de máxima absorção do corante (λ = 665 nm).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 apresenta o decaimento percentual da concentração do corante MB com o tempo para as diferentes amostras sintetizadas. O branco foi feito unicamente com a solução do corante, mostrando que todas as amostras aceleraram sua degradação.

As amostras obtidas após calcinação do precursor apresentaram maior fotoatividade, independente da temperatura utilizada. Este fator pode estar relacionado com a formação do óxido a partir do precursor hidróxido (estruturas a serem confirmadas via difratometria de raios-X). Por outro lado, o tratamento hidrotérmico provocou uma queda na fotoatividade dos materiais, independente do pH em que esta foi tratada. Possivelmente, a temperatura aplicada – limitada pelo aparato utilizado - não foi suficiente para formação do óxido.

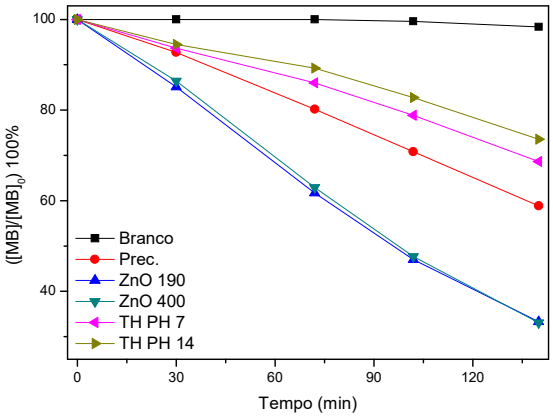


Figura 1: Decaimento percentual da concentração de MB com o tempo

4 CONCLUSÃO

Os resultados aqui apresentados demonstram a aplicabilidade da metodologia de síntese na obtenção de materiais fotocatalisadores a base de ZnO. No presente trabalho, o método de calcinação do precursor foi mais eficiente que o tratamento hidrotérmico por conta da temperatura aplicada, que possibilitou a formação do óxido. Entretanto, novos estudos serão efetuados para a obtenção do ZnO via tratamento hidrotérmico, uma vez que esta é uma metodologia mais versátil que a calcinação, o que permite a obtenção de uma gama variada de compostos em diferentes composições e morfologias variadas.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao IFSP pela bolsa concedida no programa PIBIC e PIBIFSP ao CNPq pelo auxílio financeiro (Processo 468956/2014-0)

REFERÊNCIAS

BAGNARA, M. Investigação dos efeitos das variáveis de síntese na atividade fotocatalítica de nanobastões de ZnO e sua aplicação na degradação de compostos orgânicos voláteis. 105f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016.

DOERFLER, W.; HAUFFE, K. J. Heterogeneous photocatalysis II. The mechanism of the carbon monoxide oxidation at dark and illuminated zinc oxide surfaces. Journal of Catalysis
Volume 3, Issue 2, April 1964, Pages 171-178

GIRALDI, T. R.; SANTOS, G. V. F.; DE MENDONÇA, V.R.; RIBEIRO, C.; WEBER, I.T. Effect of synthesis parameters on the structural characteristics and photocatalytic activity of ZnO. Materials Chemistry and Physics Volume 136, Issues 2–3, 15 October 2012, Pages 505-511.

DE MENDONÇA, V. R. Síntese e propriedades fotocatalíticas de heteroestruturas de TiO2/SnO2. 100 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2014.

CARACTERIZAÇÃO REOLÓGICA DE GÉIS DE AMIDO CATIÔNICO MODIFICADO COM ÁCIDOS ORGÂNICOS

Matheus Foloni Leite, José Álvaro Previato Sardelli, Francys Kley Vieira Moreira*

*Departamento de Engenharia de Materiais (DEMa), Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), São Carlos, SP, Brasil. *moreira.fkv@dema.ufscar.br*

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio

Resumo
Este estudo foi dedicado à reticulação de géis de amido catiônico por ácido cítrico. Géis com concentração polimérica de 10% e com diferentes concentrações de ácido cítrico foram caracterizados quanto ao comportamento reológico. Testes adicionais envolvendo a reticulação em meio alcalino, e com diferentes ordens de incorporação do ácido cítrico também foram conduzidos. A reticulação foi mais efetiva para baixas concentrações do ácido e sua incorporação ao gel de amido após solubilização do polímero. O aumento do pH do meio reacional favoreceu o processo de reticulação. A viscosidade do gel foi maior quando preparado em meio alcalino sem adição de ácido cítrico.
Palavras-chave: Plástico de Amido; Sensibilidade à Água; Reticulação; Viscosimetria.

RHEOLOGICAL CHARACTERIZATION OF CATIONIC STARCH GELS MODIFIED WITH ORGANIC ACIDS

Abstract
This study was dedicated to the cross-linking of cationic starch gels by citric acid. Starch gels having 10 wt.% polymer concentration and various concentrations of citric acid were characterized in terms of their rheological behavior. Further experiments involving cross-linking at high pH and different citric acid incorporation steps were carried out. Citric acid cross-linking was more effective for low citric acid concentrations and its addition after starch gelatinization. Increasing pH favored the cross-linking process. Cationic starch gels viscosity was highest when they were prepared in alkaline medium with no citric acid.
Keywords: Starch plastic; Water sensibility; Cross-linking, Viscosity Measures.

1 INTRODUÇÃO

Polímeros provenientes de fontes renováveis têm sido foco de pesquisa para o desenvolvimento de novas tecnologias que visam substituir plásticos convencionais oriundos do petróleo. Neste contexto, o amido apresenta elevado potencial para produzir plástico biodegradáveis, por ser um polímero natural de baixo custo e de alta disponibilidade. Plásticos de amidos, em sua maioria, apresentam boas características de barreira contra o oxigênio, entretanto, uma série de limitações, tais como hidrofilicidade e baixa permeabilidade ao vapor d'água (MATTA, 2010).

A aplicação do amido na produção de plásticos se baseia nas propriedades físico-químicas para formar géis e na sua capacidade para formar filmes (WURZBURG, 1986). A dependência das propriedades mecânicas do amido em relação à umidade e sua solubilidade em água restringem suas aplicações industriais. A fim de melhorar sua resistência à tração e diminuir o grau de dissolução dos plásticos de amido em água, é necessário submeter o polímero processo de reticulação. Embora a reticulação seja uma abordagem comum para melhorar as propriedades dos produtos de amido, os métodos atuais de reticulação são caros, tóxicos ou não conferem as propriedades desejadas aos materiais reticulados. Segundo Reddy e Yang (2010) a reticulação de filmes de amido usando ácido cítrico (ACi) para melhorar sua resistência e estabilidade é viável, visto que os filmes de amido reticulados de ácido cítrico foram 150% mais resistentes, inclusive comparáveis a outros materiais produzidos a partir da combinação de amido com plásticos sintéticos.

O objetivo deste estudo foi avaliar a reticulação de géis de amido por ácido cítrico buscando o futuro desenvolvimento de plásticos biodegradáveis à prova d'agua. Para isto, foi utilizado um amido

catiônico a fim de se maximizar a eficiência de reticulação. Os perfis de viscosidade dos géis foram avaliados em função da concentração de ACi e pH.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Materiais

Foram utilizados amido catiônico (Amido Modificado FOXHEAD® 5804, Ingredion Brasil Ingredientes Ltda), ácido cítrico (Synth) e hidróxido de sódio (Synth). Todas as amostras foram preparadas utilizando exclusivamente água deionizada (ρ = 18,2 MΩ cm).

2.2 Preparação dos géis de amido catiônico

Os géis de amido catiônico foram preparados pela gelatinização do polímero a 85 °C. Inicialmente, massas precisas de amido foram adicionadas em água pré-aquecida à 70 – 80 °C para formação de géis com concentração mássica de amido catiônico 10 %. O aquecimento foi mantido sob agitação variada de 1000 - 2000 rpm por 1 h para completar a gelatinização do polímero. Quantidades de ACi foram adicionadas nas concentrações de 5 e 10 %. A adição do ACi foi realizada antes e após aquecimento, de forma a avaliar o efeito do tratamento térmico sobre as propriedades reológicas dos géis. Experimentos adicionais foram realizados mediante a obtenção de gel de amido em solução NaOH 1%. Todas as amostras foram centrifugadas (Heraeus Multifug x1, Thermo Scientific) a 10000 rpm por 5 min para remoção de microbolhas.

2.3 Caracterização reológica

A viscosidade dinâmica (η) dos géis de amido foi determinada em um reômetro rotacional ARES (Rheometrics) operado pelo Software RSI, utilizando geometria de cilindros concêntricos. Os perfis de viscosidade foram registrados na temperatura de 25 °C variando a taxa de cisalhamento (γ) entre 0,01 e 100 s^{-1}.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A caracterização reológica dos géis de amido catiônico com variadas concentrações de ACi foi feita mediante o registro dos perfis de viscosidade dinâmica, Figura 1. A Figura 1a apresenta um comparativo dos perfis de viscosidade dos géis em pH neutro e indica que todas as amostras apresentaram comportamento pseudoplástico e elevada viscosidade especialmente a baixas γ.

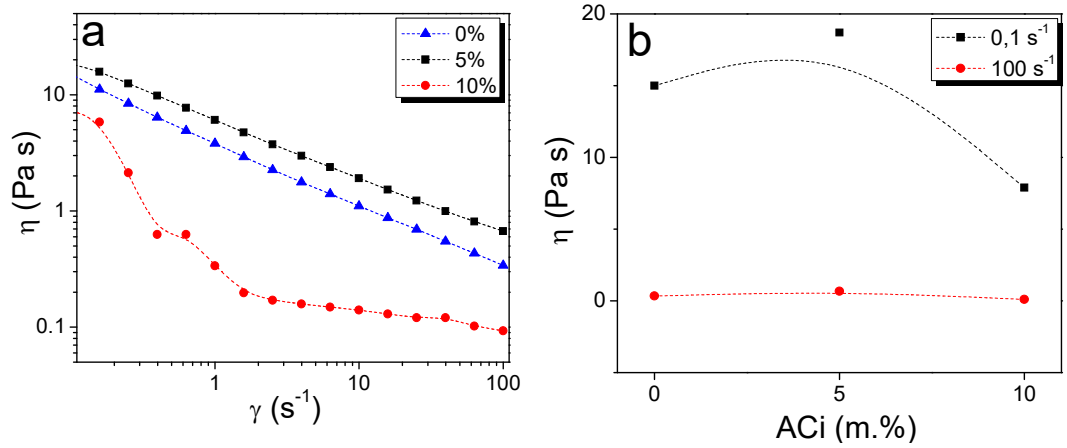


Figura 1. (a) viscosidade dinâmica (η) vs. taxa cisalhamento (γ) para géis de amido catiônico com diferentes concentrações de ACi (25°C). (b) viscosidade dinâmica (η) em função da concentração de ACi (γ = 0,1 e 100 s^{-1})

O gel de amido catiônico com 10% ACi teve os menores valores de viscosidade, o que sugere diminuição da massa molar. É possível que a adição de ACi a 10% interferiu na capacidade de gelificação do amido catiônico, consequentemente reduzindo a viscosidade do sistema. Estudos mostraram que concentrações de ACi superiores a 5 % tendem a reduzir a resistência mecânica dos filmes de amido (REDDY & YANG, 2010).

Na Figura 1b, pode ser observado que o gel constituído de 5% de ACi teve maior viscosidade. Isto pode ser explicado pelas ligações cruzadas covalentes formadas durante a gelificação (REDDY & YANG, 2010). A Figura 2 aponta a estrutura molecular do ACi, tratando-se de um triácido, logo, o ACi pode formar ligações cruzadas com no mínimo três cadeias moleculares de amido.

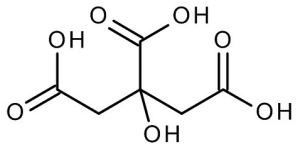


Figura 2. Estrutura molecular do ácido cítrico (ACi) (Fonte: http://structuresearch.merck-chemicals.com/cgi-bin/getStructureImage.pl?owner=MDA&unit=CHEM&product=100244) Acessado em 22/09/20170.

A ordem de incorporação do ACi durante a preparação dos géis de amido catiônico tende a gerar resultados distintos. O tratamento térmico do gel de amido na presença do ACi tende a favorecer as reações de hidrólise do polímero devido ao baixo pH. Quanto maior a concentração de ACi, menor o efeito da hidrólise, como sugerido pelos resultados da Figura 1. Por outro lado, quanto o ACi é incorporado após a obtenção do gel, tem-se uma maior eficiência de reticulação.

A Figura 3 mostra o perfil de viscosidade para o gel de amido com adição de 10% ACi pré-tratamento térmico e para os géis sem e com adição de 10% ACi pós-tratamento térmico em pH alcalino (adição de NaOH 0,1%). As amostras também apresentaram comportamento pseudoplástico, dado que o pH da solução foi alterado.

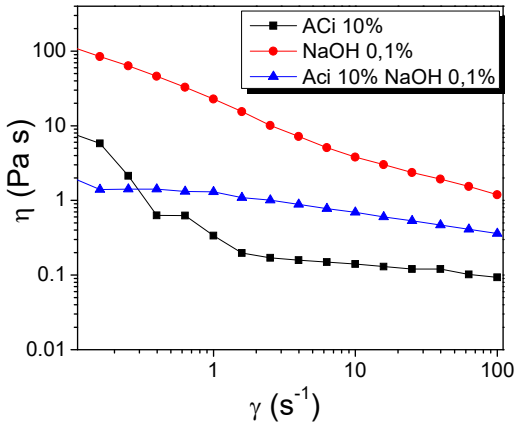


FIGURA 3. Viscosidade dinâmica (η) vs. taxa cisalhamento (γ) para géis de amido catiônico 10% com concentração de ACi 10% e com adição do emulsificante Hidróxido de Sódio (NaOH) (25 °C).

Uma comparação entre a curva do gel com 10% ACi pré-tratamento térmico e do gel com 10% ACi pós-tratamento em meio alcalino revela um desvio do comportamento pseudoplástico para newtoniano, sugerindo que a ordem de adição do ACi e o pH influenciam o comportamento de gelificação do amido catiônico. Segundo Raghed et al (1995) e Roberts et al (2002) a adição de NaOH pode levar à gelificação instantânea de soluções de amido não modificado dependendo da concentração empregada. É possível também que a gelificação a 85 ºC em meio alcalino tenha provocado remoção dos grupos laterais de modificação do amido catiônico, convertendo-o em um amido regular que em geral apresenta elevada capacidade gelificante. Outra explicação seria a indução de reações químicas entre esses grupos laterais, acarretando em um processo alternativo de reticulação do amido. Tais suposições serão confirmadas por espectroscopia FTIR em trabalhos futuros.

4 CONCLUSÃO

A reticulação de amido catiônico por ácido cítrico foi avaliada por viscosimetria dinâmica neste estudo. A reticulação tende a ser mais para baixas concentrações do ácido e sua incorporação ao gel de amido após solubilização do polímero. O aumento do pH do meio reacional favorece o processo de reticulação. A caracterização dos géis de amido por espectroscopia FTIR está em andamento.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao DEMa/UFSCar, CNPq, FAPESP e FINEP pelo apoio financeiro

REFERÊNCIAS

MATTA JUNIOR, M. D. et al. Propriedades de Barreira e Solubilidade de Filmes de Amido de Ervilha Associado com Goma Xantana e Glicerol. Scielo Brasil, v.1, n. 1, p. 1-6, 2010.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F. Filmes de amido: produção, propriedades e potencial de utilização. Semina: Ciências Agrárias, v.1, n.31, 137-156, 2010.

RAGHEB, A.A., EL-THALOUTH, A., TAWFIK, S., Gelatinisation of starch in aqueous alkaline solutions. Starch, 1995. **46**(9): p. 338-345

REDDY N., YANG Y., Citric acid cross-linking of starch films. Food Chemistry, v.1, n. 118, p.702-711, 2010.

WURZBURG O. B., Modified starches: Properties and uses, CRC Press, Boca Raton, Florida.v.1, n.1, p. vi-277, 1986.

INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DE ARGILAS E DOS TIPOS DIFERENTES DE MODIFICADORES ORGÂNICOS NA PROPAGAÇÃO DE CHAMA EM COMPÓSITOS COM PMMA

Camilla T.A. Almeida[1], Laurenice M. Pereira[2]*, Murilo J.P. Macedo[2], Amanda M.D. Leite[3], Edson N. Ito[4]*

[1]Graduação em Engenharia de Materiais, UFRN, Natal – RN
[2]Pós-graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, UFRN, Natal – RN
[3]Escola de Ciências e Tecnologia, UFRN, Natal – RN
[4]Departamento de Engenharia de Materiais, UFRN, Natal – RN
*E-mail de contato: *laurenice_martins@yahoo.com.br, ito@ufrnet.br*

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio.

Resumo
O presente estudo visou avaliar a influência da concentração e do tipo de oargilas montmorilonita organicamente modificado (OMMT) nas propriedades de propagação à chama dos compósitos produzidos com poli(metacrilato de metila) (PMMA). Os compósitos PMMA/OMMT foram produzidos com concentrações de 15, 20 e 25 % em massa de argilas, utilizando uma extrusora de rosca simples e em seguida, moldados por injeção. Os corpos de prova moldados por injeção foram utilizados para realizar a análise de taxa de queima e a presença de reações entre o PMMA e as argilas foram analisadas pela espectrometria no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR). Os espectros indicaram que ocorreram interações entre o PMMA e as argilas, que ficou evidenciado pelo desaparecimento das bandas referentes as hidroxilas livres. A taxa de queima diminuiu gradativamente à medida que a quantidade de argila aumentou, e as maiores reduções na propagação à chama foram verificadas nos compósitos PMMA/30B. A mistura por extrusão com adição de 25% em massa de argilas foi possível, possibilitando o uso desses materiais em aplicações no qual a propagação rápida de chamas poderia causar riscos de segurança e outros fatores.
Palavras-chave: Compósitos; PMMA; Argilas; Taxa de queima.

INFLUENCE OF CLAY CONCENTRATION AND DIFFERENT TYPES OF ORGANIC MODIFIERS ON FLAME PROPAGATION IN POLY (METHYL METHACRYLATE) COMPOSITES

Abstract
The aim of this study was evaluating the influence of the concentration and type of organically modified montmorillonite clays (OMMT) on the flame propagation properties of composites produced with poly (methyl methacrylate) (PMMA). All samples were obtained with 15, 20 and 25 wt% of clays using a single screw machine followed by injection molding. The injection molding specimens were used to perform the burn rate analysis and the presence of reactions between the PMMA and the clays were analyzed by Fourier Transform Infrared Spectrometry (FTIR). The spectra indicated that interactions occurred between PMMA and clays, which it was evidenced by the disappearance of the free hydroxyl bands. The burning rate decreased gradually as the amount of clay increased, and the greatest reductions in flame propagation were observed in the PMMA/30B composites. The extrusion mixing with addition of 25 wt% of clays was possible, allowing the use of these materials in applications in which the fast propagation of flames could cause safety risks and other factors.
Keywords: Composites; PMMA; Clays; Burning rate.

1 INTRODUÇÃO

Modificações em materiais para obtenção de novas características e ajuste de propriedades vem crescendo em função da necessidade de materiais para aplicações específicas, como a obtenção de

compósitos para melhoramento de uma determinada propriedade indesejada ao polímero. Nanocompósitos de PMMA reforçados com montmorilonita organicamente modificada têm atraído interesse devido à capacidade de melhorar as propriedades do polímero puro. Dentre as características que podem ser melhoradas, pode-se citar: o aumento do módulo de elasticidade (Liaw Jr *et al.*, 2007), a resistência mecânica (Medeiros, 2010), a estabilidade térmica (Kumar *et al.*, 2003), além do aumento da biodegradabilidade e retardo de propagação à chama (Sahoo e Samal, 2007). O PMMA apesar de ser um material de características ópticas e mecânicas elevadas, um fator limitante no seu uso é a alta inflamabilidade, com índice de limite de oxigênio de apenas 18%, que pode acompanhar a produção de gases tóxicos e gerar fumaça durante sua combustão (Brydson, 1999; Laoutid *et al.*, 2009).

A obtenção de compósitos por meio da adição de argilas organofílicas, produz um sistema híbrido polímero/argila com propriedades de resistência à chama mais elevadas quando comparadas ao polímero puro. Apesar dessa possibilidade, os ganhos reais de propriedade somente ocorrem se houver uma boa compatibilização entre a matriz polimérica (normalmente hidrofóbica) e a argila, que atua como reforço ou carga (normalmente hidrofílica). Assim, modificações na superfície da argila tem sido mostrado como caminhos viáveis para tal compatibilização (Medeiros, 2010).

Em aplicações nas quais os materiais podem ser submetidos a condições extremas de temperatura para o polímero, é importante que o compósito tenha a capacidade de se manter estável durante a solicitação. Alguns estudos têm mostrado resultados relevantes nesse sentido. A adição de baixas concentrações de nanoargilas em matrizes poliméricas tem sido mostrada como um caminho para a redução na taxa de queima e inflamabilidade dos compósitos obtidos, sem prejuízo significativo nas propriedades mecânicas (Sahoo e Samal, 2007; Wang *et al.*, 2010).

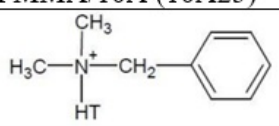
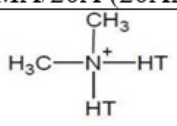
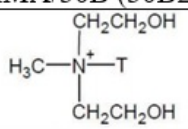
Nesse sentido, o presente trabalho avaliou a influência dos modificadores organicos das argilas montmorilonita organicamente modificada que proporcionou uma maior redução na taxa de queima dos compósitos PMMA/OMMT, assim como, a resposta dos compósitos em função dos limites de incorporação de argila na matriz de PMMA.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados neste trabalho o poli(metacrilato de metila) (PMMA AFP100 - Unigel) e argilas montmorilonita organicamente modificadas Cloisite® 10A, Cloisite® 20A e Cloisite® 30B (Southern Clay Products, INC).

Os compósitos PMMA/OMMT foram produzidos por mistura no estado fundido, utilizando extrusora de rosca simples, com diâmetro de rosca de D = 16 mm e L/D = 26 em equipamentos AX Plásticos Máquinas Técnicas Ltda. O perfil de temperatura usado para todas as formulações foi de 200/220/230 °C da alimentação até a matriz e velocidade de rotação de rosca de 50 rpm. A Tabela 1 mostra em detalhes os materiais processados. Após a mistura por extrusão dos polímeros e dos compósitos PMMA/OMMT, corpos de prova foram moldados por injeção em equipamento Arburg, modelo Allrounder 270S, com perfil de temperatura de 210/220/230/240/240ºC, da alimentação ao bico de injeção e temperatura de molde de 40ºC e tempo de resfriamento de 40 segundos.

Tabela 1. Composições dos compósitos PMMA/OMMT e as estruturas químicas dos modificadores orgânicos de cada argila

Materiais			Composição (% em massa)
PMMA			100
PMMA/10A (10A15)	PMMA/20A (20A15)	PMMA/30B (30B15)	85/15
PMMA/10A (10A20)	PMMA/20A (20A20)	PMMA/30B (30B20)	80/20
PMMA/10A (10A25)	PMMA/20A (20A25)	PMMA/30B (30B25)	75/25
			

As medidas de propagação à chama foram realizadas segundo a norma ASTM D635, onde se mediu a taxa de queima linear em mm/min.

Os espectros de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) foram obtidos em um espectrômetro FT-IR Vertex 70 da Bruker no modo transmitância, com 16 varreduras por amostra na faixa de 4000 a 400 cm^{-1} e resolução de 4 cm^{-1}.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 apresenta os resultados do ensaio de propagação à chama para o PMMA e os compósitos PMMA/OMMT.

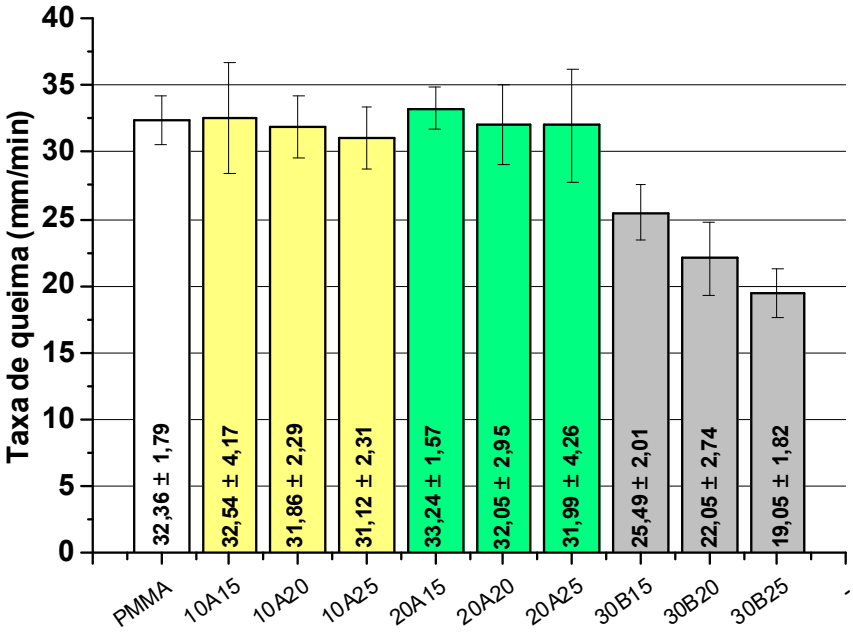


Figura 1. Taxa de queima para o PMMA e os compósitosPMMA/OMMT

Os compósitos PMMA/30B apresentaram uma redução significativa na taxa de queima, chegando a 60% do valor da taxa de queima do polímero puro para todas as composições avaliadas, indicando uma possível reação da argila com a matriz polimérica, fornecendo uma maior estabilidade térmica para o compósito PMMA/OMMT. Os compósitos com a argila 20A apresentaram ligeiras alterações no valor de taxa de queima, essa estrutura da argila 20A apresenta uma extremidade com gordura hidrogenada, o que poderia, em algumas situações, até promover um aumento na queima do material, como na composição com 15% em massa que apresenta um leve indicativo desse aumento. Os compósitos com a argila 10A presenta um anel aromático na sua composição, e nesse compósito não observou alterações na propriedade de propagação de chamas.

Os espectros e as bandas características obtidas por FTIR do PMMA e das argilas utilizadas estão apresentadas na Figura 2.

O PMMA apresenta carbonilas e um grupo éster na sua composição principal, que é identificada pelas características em 1722 cm^{-1} e 1143 cm^{-1}, além de outra banda relevante, em torno de 1385 cm^{-1}, deformação de O- CH_3. As bandas em torno de 2950 cm^{-1} e 1435 cm^{-1} são atribuídas ao estiramento e deformação angular da ligação C-H (dos grupos CH_3 e CH_2), respectivamente, e em 748 cm^{-1} advinda do estiramento C-C. Ligações C-N (aminas alifáticas) são identificadas pela banda em torno de 1010 cm^{-1}. Esta banda é importante, dado que ela é pertinente aos três tipos de argilas, pois esta ligação está presente independente do processo que foi utilizado para a organofilização da argila.

Para os três sistemas pode-se observar a presença de bandas comuns ao PMMA e às argilas (2950 cm^{-1} e 1435 cm^{-1}) referentes às vibrações de estiramento e angular dos grupos CH_2 e CH_3; além das bandas 1722 cm^{-1} e 1143 cm^{-1}, características do grupo éster do PMMA, e da banda em torno de 1010 cm^{-1} decorrente da ligação C-N das aminas alifáticas. A presença de bandas características dos dois materiais indica a formação de compósitos, pois a banda da montmorilonita (1010 cm^{-1}) se mostrou mais larga, com intensidade mais baixa e ligeiramente deslocada (aproximadamente 1037 cm^{-1}). Além disso, as bandas correspondentes às ligações de ficaram menos intensas, o que juntamente com a alteração das bandas do OH livre pode ser indício de interações entre o PMMA e as argilas.

Bandas (cm^{-1})	Modo de vibração
2950	Estiramento C-H
1722	C=O do grupo éster
1435	Deformação C-H
1385	Deformação O-CH_3
1237, 1142	C-O [do grupo C(=O)-C]
1062	Deformação C-C
987, 966	O-CH_3 "rocking"
839	CH_2 "rocking"
748	Estiramento C-C
3630	OH livre
2920, 2850	Estiramento C-H
1468	Deformação C-H
1010	Estiramento CN não conjugada
722	Deformação CH_2
727, 701	Deformação C-H de anel aromático
3450-3190	Deformação O-H associado

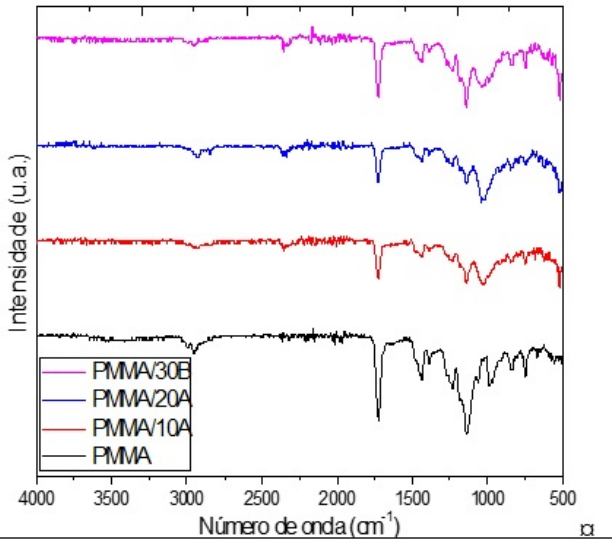


Figura 2. Espectros e bandas características do PMMA e dos compósitos com 25% de argila

4 CONCLUSÃO

O PMMA é altamente inflamável e a redução nas propriedades de inflamabilidade dos compósitos PMMA com argilas organofílicas foi obtida com sucesso. Entre as argilas avaliadas, os compósitos com a argila *Cloisite*® 30B obteve melhores resultados na diminuição da taxa de queima. A mistura por extrusão com adição de 25% em massa de argilas foi possível, possibilitando o uso desses materiais em aplicações no qual a propagação rápida de chamas poderia causar riscos de segurança e outros fatores.

AGRADECIMENTOS

Os autores aos órgãos de fomento CNPq, FINEP, MCTI e CAPES pela infraestrutura para a realização deste trabalho.

REFERÊNCIAS

BRYDSON, J. A. **Plastics Materials**. Butterworth-Heinemann, 1999. ISBN 0080514081.

KUMAR, S.; JOG, J. P.; NATARAJAN, U. Preparation and characterization of poly (methyl methacrylate)–clay nanocomposites via melt intercalation: the effect of organoclay on the structure and thermal properties. **Journal of Aapplied Polymer Science,** v. 89, n. 5, p. 1186-1194, 2003. ISSN 1097-4628.

LAOUTID, F. et al. New prospects in flame retardant polymer materials: from fundamentals to nanocomposites. **Materials Science and Engineering: R: Reports,** v. 63, n. 3, p. 100-125, 2009. ISSN 0927-796X.

LIAW JR, H. et al. Twin-screw compounding of poly (methyl methacrylate)/clay nanocomposites: effects of compounding temperature and matrix molecular weight. **Polymer International,** v. 56, n. 8, p. 1045-1052, 2007. ISSN 1097-0126.

MEDEIROS, A. M. **Desevolvimento de nanocompósitos de poli (metacrilato de metila)/argila processados por mistura no estado fundido**. 2010. Dissertação de mestrado (Mestre). Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN)

SAHOO, P. K.; SAMAL, R. Fire retardancy and biodegradability of poly (methyl methacrylate)/montmorillonite nanocomposite. **Polymer Degradation and Stability,** v. 92, n. 9, p. 1700-1707, 2007. ISSN 0141-3910.

WANG, L. et al. A comparison of the fire retardancy of poly (methyl methacrylate) using montmorillonite, layered double hydroxide and kaolinite. **Polymer Degradation and Stability,** v. 95, n. 4, p. 572-578, 2010. ISSN 0141-3910.

USO DA VULCANIZAÇÃO INVERSA PARA A PRODUÇÃO DE FERTILIZANTES MULTIFUNCIONAIS DE ENXOFRE

(Stella Fortuna do Valle[a,b], Amanda Soares Giroto[a,b] e Caue Ribeiro[b])

([a]Universidade Federal de São Carlos, [b]Embrapa Instrumentação) stellafvalle@gmail.com

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio.

Resumo
O enxofre (S) é um macronutriente importante para o desenvolvimento vegetal e sua deficiência nos solos tem sido um problema em muitas regiões agrícolas atualmente. O objetivo deste estudo é o desenvolvimento de um fertilizante à base de enxofre elementar (S_8) com uma estrutura mais acessível aos microrganismos que promovem a oxidação deste elemento. Para isso, utilizou-se a técnica de vulcanização inversa, com o S_8 e óleo vegetal como reagentes, obtendo-se assim materiais funcionais com cadeias de enxofre polimérico. Na caracterização por FTIR observou-se o rompimento das insaturações do óleo e o surgimento de ligações S-S e C-S. A análise por MEV revelou uma morfologia homogênea, formada por uma única fase, confirmando a formação do material proposto.
Palavras-chave: Vulcanização Inversa; Enxofre; Polímero; Fertilizante.

USE OF INVERSE VULCANIZATION FOR THE PRODUCTION OF MULTIFUNCTIONAL SULFUR FERTILIZERS

Abstract
Sulfur (S) is an important macronutrient for vegetable development and it's deficiency in soils has been a problem in several agricultural regions nowadays. The aim of this study is the development of a fertilizer based on elemental sulfur (S_8) with a more accessible structure for the microorganisms which promote the element's oxidation. In order to achieve that, the inverse vulcanization technique was performed, with S_8 and vegetable oil as reagents, hence producing functional materials with polymeric sulfur chains. Through FTIR characterization was possible to observe the rupture of the oil's unsaturated bonds and the appearance of S-S and C-S bonds. The SEM analysis revealed a homogeneous morphology, containing a single phase, confirming the formation of the proposed material.
Keywords: Inverse Vulcanization; Sulfur; Polymer; Fertilizer.

1 INTRODUÇÃO

O enxofre (S) é um macronutriente essencial para o crescimento vegetal e, ainda assim, pouca atenção foi direcionada a esse nutriente nas últimas décadas, visto que a quantidade demandada pelas plantações já era adequadamente fornecida pelos próprios solos e por meio de deposição atmosférica (SCHERER, 2001). Contudo, a tendência observada atualmente em muitas regiões agrícolas é de solos com deficiência neste elemento, havendo uma crescente preocupação em se adotar fertilizantes à base de enxofre (DEGRYSE et al., 2016). A aplicação do enxofre elementar (S_8) tem despertado interesse como fertilizante, principalmente em função de seu elevado teor em S. Nesta forma o elemento não se encontra prontamente disponível para ser absorvido pelas plantas, sendo necessário primeiramente sua oxidação em sulfato (SO_4^{2-}), processo biológico mediado por fungos e bactérias (DEGRYSE et al., 2016; ZHAO et al., 2017). A baixa taxa de oxidação do S_8 é uma das grandes limitações de suas aplicações mais tradicionais, sendo assim essencial investigar novas estratégias para facilitar o processo oxidativo (HOROWITZ; MEURER, 2006). Uma alternativa para tal seria desenvolver materiais nos quais as cadeias de enxofre estejam mais acessíveis para o contato com os microrganismos que promovem a oxidação.

Sob condição ambiente, o enxofre elementar existe predominantemente na forma de anéis contendo 8 membros. Quando aquecido acima de 159ºC inicia-se o processo de polimerização por abertura do anel (*ring opening polimerization*, ROP), gerando assim cadeias poliméricas de enxofre

com elevado peso molecular. Entretanto, devido à reversibilidade desta reação, ocorre a despolimerização do produto ao resfriar o mesmo (GRIEBEL et al., 2016; WORTHINGTON; KUCERA; CHALKER, 2017). Para contornar esse problema Pyun e colaboradores desenvolveram uma técnica denominada vulcanização inversa, que consiste na estabilização dos dirradicais de S polimérico a partir de sua copolimerização com pequenos teores de dienos, gerando materiais estáveis e funcionais (CHUNG et al., 2013). Essa técnica é vantajosa também do ponto de vista da química verde, em função da ausência de solventes na reação e da economia atômica envolvida (SALMAN et al., 2016; WORTHINGTON; KUCERA; CHALKER, 2017).

O objetivo do presente trabalho é estudar reações que promovam uma mudança estrutural nas cadeias do enxofre elementar para que o mesmo se torne mais disponível para a oxidação biológica, e uma maneira de atingir esse propósito é a utilização do mecanismo de vulcanização inversa. O óleo vegetal é uma opção vantajosa para ser aplicado como dieno por se tratar de uma matéria-prima barata, abundante, biodegradável e renovável. Além de atuar como agente de ligação para o S, pode ter papel nutritivo para os microrganismos responsáveis pela oxidação do enxofre, favorecendo assim o processo oxidativo do mesmo. Polímeros desse tipo podem ser ainda utilizados como matriz na obtenção de nanocompósitos fertilizantes. Assim, esta pesquisa tem como finalidade a obtenção de um material rico em enxofre para futura aplicação como fertilizante multifuncional, fazendo-se a síntese por vulcanização inversa e caracterizando-se os materiais propostos para a elucidação de sua estrutura química e morfológica.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os materiais poliméricos foram sintetizados a partir da técnica de vulcanização inversa, com base nas metodologias descritas na literatura (CHUNG et al., 2013; CROCKETT et al., 2016; HOEFLING; LEE; THEATO, 2017; SALMAN et al., 2016). As reações foram conduzidas em frascos abertos sob sistema de aquecimento com banho de óleo e agitação magnética, adotando enxofre elementar (S_8) e óleo vegetal (OV) como reagentes em proporções variadas. Primeiramente, o S_8 foi fundido (120ºC) e aquecido até 160ºC para permitir o processo de ROP e, em seguida, o OV foi adicionado, mantendo-se a temperatura a 165ºC e agitação vigorosa por cerca de 30 minutos. Os polímeros obtidos foram então caracterizados por Espectroscopia na Região do Infravermelho (FTIR), utilizando o Espectrofotômetro Shimadzu FTIR-8300 Instrument, e por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), com o microscópio JEOL modelo JSM 6510.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Preparo dos materiais poliméricos

Durante a vulcanização inversa observou-se uma sequência de transições na coloração do meio reacional, indicando as diferentes etapas reacionais. Ao adicionar o OV no enxofre fundido a 160ºC formou-se uma mistura homogênea de coloração alaranjada, que se tornou cada vez mais escura e viscosa com o tempo. Após um período de aproximadamente 30 minutos obteve-se então um material de coloração marrom, homogêneo e amorfo, com textura semelhante à da borracha.

3.2 Caracterização

3.2.1 FTIR

A técnica de espectroscopia na região do infravermelho é essencial para a identificação da composição dos materiais produzidos e das ligações químicas presentes nos mesmos. Comparando-se o polímero com o óleo vegetal (Figura 1) foi possível observar que as bandas atribuídas à presença de carbono insaturado do óleo (3008 cm^{-1} do estiramento H-C=C e 1650 cm^{-1} do estiramento C=C) estão ausentes para o polímero, confirmando que a conversão dos reagentes ocorreu como previsto. Além disso, houve o aparecimento de duas bandas novas, em torno de 465 cm^{-1} pelo estiramento S-S e em 500 cm^{-1}, possivelmente relacionado ao estiramento C-S.

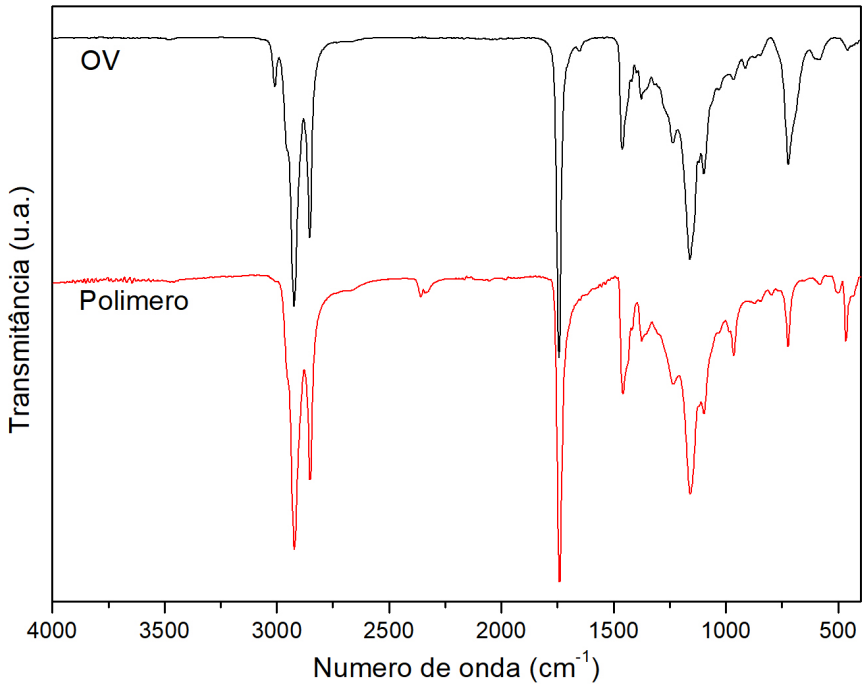


Figura 1. Espectrograma de FTIR do óleo vegetal e do polímero.

3.2.2 MEV

A partir das imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura foi possível conhecer as características morfológicas dos materiais produzidos (Figura 2). Em geral, os produtos apresentaram morfologias semelhantes, com superfície lisa e homogênea e poucos defeitos. Não foram observadas partículas dispersas, indicando que os materiais possuem apenas uma única fase, confirmando assim a modificação química dos reagentes com a polimerização, com o consumo total de ambos os reagentes.

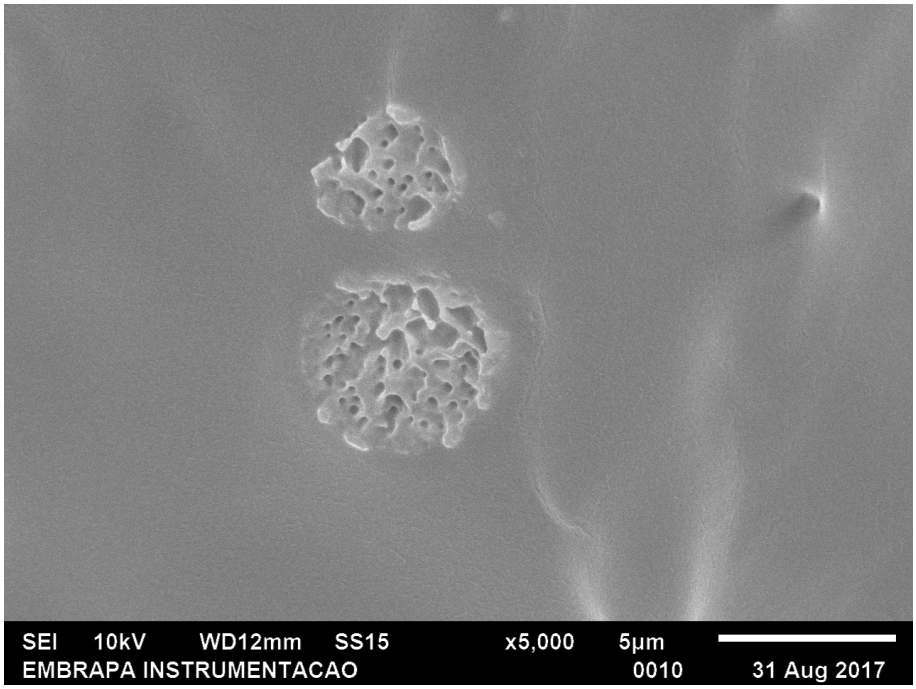


Figura 2. Imagem de MEV do polímero.

4 CONCLUSÃO

A partir da reação de vulcanização inversa entre o enxofre elementar e o óleo vegetal foram obtidos materiais poliméricos homogêneos, com aspecto semelhando ao da borracha. A análise de FTIR confirmou o rompimento das insaturações e a formação de ligações de enxofre, enquanto a caracterização por MEV revelou a presença de uma única fase uniforme, sem partículas dispersas. Os resultados indicaram que a conversão dos reagentes foi em geral bem sucedida, produzindo-se assim materiais funcionais e estáveis, conforme proposto.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à colaboração de todos do Grupo de Pesquisa da Embrapa Instrumentação – São Carlos, e ao apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), ano de 2017, processo 133960/2017-0.

REFERÊNCIAS

CHUNG, W. J. et al. The use of elemental sulfur as an alternative feedstock for polymeric materials. **Nature Chemistry**, v. 5, n. June, p. 518–524, 2013.

CROCKETT, M. P. et al. Sulfur-Limonene Polysulfide : A Material Synthesized Entirely from Industrial By-Products and Its Use in Removing Toxic Metals from Water and Soil. **Angewandte Chemie - International Edition**, n. 55, p. 1714–1718, 2016.

DEGRYSE, F. et al. Availability of fertiliser sulphate and elemental sulphur to canola in two consecutive crops. **Plant and Soil**, v. 398, n. 1–2, p. 313–325, 2016.

GRIEBEL, J. J. et al. Polymerizations with elemental sulfur: A novel route to high sulfur content polymers for sustainability, energy and defense. **Progress in Polymer Science**, v. 58, p. 90–125, 2016.

HOEFLING, A.; LEE, Y. J.; THEATO, P. Sulfur-Based Polymer Composites from Vegetable Oils and Elemental Sulfur: A Sustainable Active Material for Li–S Batteries. **Macromolecular Chemistry and Physics**, v. 218, n. 1, p. 18–21, 2017.

HOROWITZ, N.; MEURER, E. J. Oxidação do enxofre elementar em solos tropicais. **Ciência Rural**, v. 36, n. 3, p. 822–828, 2006.

SALMAN, M. K. et al. Elemental sulfur-based polymeric materials : Synthesis and characterization. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 43655, p. 1–10, 2016.

SCHERER, H. W. Sulphur in crop production - invited paper. **European Journal of agronomy**, v. 14, n. 2, p. 81–111, 2001.

WORTHINGTON, M. J. H.; KUCERA, R. L.; CHALKER, J. M. Green chemistry and polymers made from sulfur. **Green Chemistry**, v. 19, p. 2748–2761, 2017.

ZHAO, C. et al. Abundance and diversity of sulphur-oxidising bacteria and their role in oxidising elemental sulphur in cropping soils. **Biology and Fertility of Soils**, v. 53, n. 2, p. 159–169, 2017.

DESENVOLVIMENTO DE SENSOR DE PRESSÃO POR MEIO DE UM COMPÓSITO DE PLASTISOL E NEGRO-DE-FUMO

M.T. Neiva[1], J. C. Ugucioni[2], A.R.S. Neto[1], J.E. de Oliveira[1]*

[1]Departamento de Engenharia - Universidade Federal de Lavras
[2]Departamento de Física – Universidade Federal de Lavras
**juliano.oliveira@deg.ufla.br*

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio.

Resumo
O objetivo deste trabalho consiste em desenvolver um sensor de pressão associando as propriedades elásticas do plastisol com as propriedades elétricas do negro-de-fumo. Para isto, foram utilizados plastisol Redelease SQ-5225 e negro de fumo. Solubilizou-se o negro-de-fumo em diferentes concentrações (0%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25% e 30% v/v) no plastisol. Em seguida, as soluções foram depositadas em placas de teflon de 39x70x1mm e levadas a uma estufa Odontobrás MOD-EL-1.0, regulada a uma temperatura de 160ºC durante 10 minutos. Os resultados obtidos foram promissores, uma vez que indicam uma viabilidade na utilização deste material compósito para a produção de sensores de pressão, devido a constatação de variação nas propriedades elétricas do material quando submetido a uma variação de pressão.
Palavras-chave: Plastisol; Negro-de-Fumo; Compósito; Sensor de pressão.

TÍTULO EM INGLÊS

Abstract
The objective of this work is to develop a pressure sensor by associating the elastic properties of plastisol with the electrical properties of carbon black. For this, we used Redelease SQ-5225 plastisol and carbon black. The carbon black was solubilized in different concentrations (0%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25% and 30% v/v) in the plastisol. The solutions were then deposited on teflon plates of 39x70x1mm and taken to a Odontobrás MOD-EL-1.0, set at a temperature of 160°C for 10 minutes. The results obtained were promising, since they indicate a feasibility in the use of this composite material for the production of pressure sensors, due to the high degree of homogeneity of the films and their good elasticity.
Keywords: Plastisol; Carbon Black; Composite; Pressure Sensor.

1 INTRODUÇÃO

Com o avanço do uso de automação e controle em processos industriais, a demanda por sensores de alta qualidade e baixo custo cresceu. Hoje em dia no mercado, há poucos sensores com esta característica e menos ainda de tecnologia nacional. (ROSÁRIO, 2009).

A nanotecnologia abriu a possibilidade destes tipos de sensores se tornarem mais presentes no mercado, visto que, com a redução da escala de materiais já conhecidos e que possuem baixo custo, este materiais ganham novas características e podem ter novas aplicações. (FORINI, 2008).

Uma das variáveis mais utilizada em controle de processos industriais é a pressão. (ROSÁRIO, 2009). Com isto, viu-se a possibilidade de ser utilizada nanotecnologia para o desenvolvimento de um sensor de pressão de baixo custo, utilizando negro-de-fumo para alterar as propriedades elétricas do plastisol.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Materiais

2.1.1 Preparo dos Filmes

Plastisol (Redelease SQ-5225) foi adquirido da Redelease (Brasil) e o negro-de-fumo obtido por doação pela Embrapa Instrumentação. Os insumos supracitados foram utilizados como recebidos. Para a deposição dos filmes, utilizou-se placas de teflon de 39x70x1mm. Foi também utilizado um agitador magnético Diagtech DT3120H para a homogeneização da solução, uma estufa odontológica Odontobrás MOD-EL-1.0 para a fusão do plastisol, além de uma balança de precisão Shimadzu ATY224 para a aferição da massa de negro-de-fumo.

2.1.2 Análises

Multímetro Minipa MDM8156A, utilizado para a análise das propriedades elétricas em corrente contínua. Para a análise das propriedades elétricas dos filmes em corrente alternada, foi utlilzado um analisador LCR de mão Agilent/Keysight U1733C. Para as duas análises, utilizou-se duas placas de alumínio circulares com diâmetro de 38mm.

2.2 Métodos

2.2.1 Preparo das soluções

No preparo das soluções em concentrações de 0%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25% e 30% v/v, despejou-se em um béquer de 100 ml os volumes de cada produto para cada concentração. Levou-se a solução para o agitador magnético até a sua completa homogeneização, que se deu em todos os casos por volta de 5 minutos. (NUNES, 2002).

2.2.2 Preparo dos filmes

Após a homogeneização, as soluções foram despejadas em placas de teflon e levadas à estufa aquecida à 175ºC, por 10 minutos, para a fusão do plastisol e formação dos filmes compósitos. (NUNES, 2002).

2.2.3 Análises

As análises foram feitas com as placas aplicando e não aplicando pressão nos filmes. A pressão foi fornecida por dois prendedores de papel.

2.2.3.1 Corrente Contínua

Utilizando o multímetro, foram aferidas as resistências de cada filme. Para isto, utilizou as placas de alumínio em paralelo, com o filme entre as placas. Foram feitas aferições com e sem a aplicação de pressão. (CANEVAROLO, 2003).

2.2.3.2 Corrente Alternada

Utilizando o analisador LCR, foi feita a aferição da impedância dos filmes, utilizando uma frequência de 1kHz. A montagem do experimento foi a mesma para a análise em corrente contínua.

2.2.3.3 Quantificação de Bolhas

Utilizando o software ImageJ, fez-se a contagem das bolhas por centímetro quadrado e mensurou o diâmetro médio das mesmas. (CANEVAROLO, 2003).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como observado na Tabela 1 e Figura 1 abaixo, houve variação das propriedades elétricas dos filmes e da quantidade de bolhas com o crescimento da concentração.

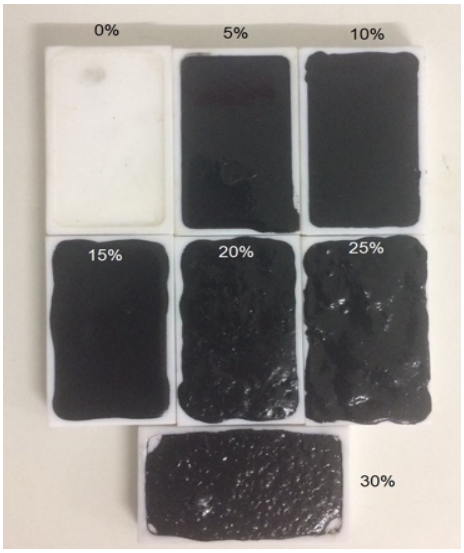


Figura 1. Filmes compósitos com diferentes concentrações.

Tabela 1. Propriedades dos filmes

	R_{DC} (MΩ)		R_{AC} (MΩ)		Capacitância		Bolhas	
	Sem Pressão	Com Pressão	Sem Pressão	Com Pressão	Sem Pressão	Com Pressão	Bolhas /cm²	Área Bolhas
0%	3,6391	2,0761	0,845	4,654	60,149pF	82,166pF	0	0 mm²
5%	2,9134	2,1954	0,573	4,458	98,304pF	68,307pF	0	0 mm²
10%	3,4691	2,8162	0,514	0,231	69,774pF	0,125nF	13	0,9695 mm²
15%	3,4756	2,5647	0,620	0,225	66,844pF	0,154nF	32	11,6631 mm²
20%	3,7233	2,6497	0,612	0,201	43,953pF	0,142nF	36	26,6338 mm²
25%	3,6451	1,6554	0,571	0,225	59,788pF	0,290nF	28	28,0965 mm²
30%	3,8419	2,9751	0,436	0,155	46,105pF	0,225nF	7	36,8553 mm²

Percebe-se que o aumento da concentração de negro-de-fumo ocasionou em um acréscimo na área superficial das bolhas presentes no filme. Devido a ampla área superficial do soluto, sua difícil solubilização na matriz de plastisol, aliados com a alta temperatura de processamento, faz com que o negro-de-fumo reaja com o oxigênio, formando monóxido e dióxido de carbono, os quais ficam presos na matriz devido à alta viscosidade da mesma. (NUNES, 2002). Com isto, deduz-se que ocorre a degradação do negro-de-fumo no processo de formação do filme, ocasionando a formação de bolhas.

Também a partir da Tabela 1, percebe-se que as concentrações de 0% e 5% apresentam comportamentos elétricos semelhantes, visto que na corrente alternada, a aplicação da pressão nos filmes ocasionou em um aumento da resistência, fazendo saltar de 0,845 MΩ para 4,654 MΩ e de 0,573 MΩ para 4,458 MΩ nas concentrações de 0% e 5% respectivamente. Esse fenômeno é explicado pelo fado de que o negro-de-fumo ainda não alcançou uma concentração suficiente para que, com o aumento da pressão, suas partículas se aproximem de forma a conduzir corrente elétrica, prevalecendo as propriedades dielétricas do plastisol, o qual é composto majoritariamente por PVC. (TIPLER, 2009).

Na corrente contínua, todos os filmes reduziram a resistência com o aumento da pressão, como pode ser visto na Tabela 1, devido ao fato desta corrente não alternar seu sentido e não haver interrupções, facilitando a polarização do filme e a condução da corrente. (TIPLER, 2009).

Também pode ser observado pela Tabela 1 que, tanto na corrente alternada quanto na corrente contínua, os filmes com concentração de negro-de-fumo acima de 5% demonstraram uma queda na resistência com a variação na pressão, visto que as partículas de negro-de-fumo presentes nestes filmes se aproximaram suficientemente a fim de facilitar a condução de corrente elétrica por meio destes.

Percebe-se também a partir da Tabela 1, que nos filmes de 0% e 5%, a capacitância não foi afetada significativamente com o aumento da pressão, também devido ao fato da concentração ainda não ter chegado em um ponto significativo. (TIPLER, 2009).

Nos filmes com concentração acima de 5%, pode se observar na Tabela 1 que houve uma grande queda na capacitância, com uma ordem de aproximadamente 10^1, visto que a concentração de negro-de-fumo foi suficiente para conduzir bons valores de corrente elétrica e alterar significativamente as propriedades elétricas do plastisol.

4 CONCLUSÃO

Em vista dos resultados obtidos até o momento, faz-se mister a melhora do processo de homogeneização do negro-de-fumo na matriz, visto que ele degrada na temperatura de fusão do plastisol, devido ao aumento da área superficial das bolhas com o aumento da sua concentração. Para conseguir contornar este problema, pode dissolver a solução em etanol PA, afim de facilitar a homogeneização da solução, e após os filmes nas placas, realizar a evaporação do etanol, para que ele também não seja o causador de bolhas.

Outro método que pode ser utilizado para contornar este problema é o uso de um misturador a vácuo, já que tem um poder de homogeneização maior que o agitador magnético. Também pode ser utilizado uma estufa com atmosfera inerte, afim de não promover a degradação do negro-de-fumo. Pode também ser utilizado silicone em substituição ao plastisol, devido ao fato deste não ir em fornos ou estufas para a cura.

A associação do negro-de-fumo com o plastisol se mostrou promissora para o desenvolvimento de sensores de pressão, devido ao fato dos filmes responderem a variação de pressão de forma significativa.

Faz-se necessária a realização de novas análises elétricas dos filmes com metodologias mais precisas, afim de se comprovar veementemente a viabilidade do sensor, além de determinar a concentração ótima de negro-de-fumo no compósito.

AGRADECIMENTOS

Agradecimento ao Departamento de Física da Universidade Federal de Lavras e ao Prof. Dr. Joaquim Paulo da Silva, pelo apoio prestado a este trabalho.

REFERÊNCIAS

NUNES, L.R.; RODOLFO, A. Jr.; ORMANJI, W. Tecnologia do PVC. 18ª ed. São Paulo: Pro Editores / Braskem, 2002. 400 p.

CANEVAROLO, S. V. Jr. Técnicas de Caracterização de Polímeros. 1ª ed. São Paulo: Artliber Editora, 2003. 438 p.

TIPLER, P. A. Física, Vol. 3. 6ª ed. Rio de Janeiro: Editora LTC, 2009. 556 p.

FORINI, S. H. Estudo da Dispersão e Incorporação de Argilas Esmectíticas em Plastisol. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, USP, São Paulo, 2008.

ROSÁRIO, J. M. Automação Industrial. 1ª ed. São Paulo: Editora Braúna, 2009. 516 p.

DESENVOLVIMENTO DE COMPÓSITOS MAGNÉTICOS POROSOS VISANDO APLICAÇÕES EM ADSORÇÃO

Lilian C. Santos[1,2], Henrique C. Musetti[1,2], Oneide C. Quispe[1,2], Camila R. Sciena[1,2], João O. Malafatti[1,2], Elaine C. Paris[2*]

1 Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP;
2 LNNA - Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro 1452, 13560-970, São Carlos, SP.
**elaine.paris@embrapa.br*

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio

Resumo

O desenvolvimento de sistemas de adsorção vem sendo alvo de grande interesse para aplicação em diferentes processos com alto grau de especialização. Estes materiais podem ser aplicados em processos como de purificação, fixação de ativos, remoção de poluentes, beneficiamento industrial e interação biológica, como em enzimas. A característica de alta área superficial e reatividade perante a modificações de superfície permite a estes materiais uma maior efetividade de ação e uma melhor afinidade de interação no adsorbato desejado. Atualmente, o grande desafio no uso de materiais na forma de pós é a imobilização adequada, que proporcione a remoção e a reutilização destes compostos. Assim, o presente trabalho teve como interesse a obtenção de compósitos zeólita faujasita (FAU) e ferrita de cobalto ($CoFe_2O_4$), FAU:ferrita, assim como a produção de compósito hidroxiapatita (HAP):magnetita (Fe_3O_4) para possível utilização para adsorção de ativos, tais como, catalisadores e enzimas em sistemas biológicos, seguido de separação magnética do meio. Os compósitos foram obtidos por coprecipitação. Tanto a magnetita quanto a ferrita proporcionaram ao suporte a atividade magnética necessária para a remoção do material do meio aquoso.
Palavras-chave: Compósito; Zeólita; Hidroxiapatita; Magnetita; Ferrita de cobalto.

DEVELOPMENT OF POROUS MAGNETIC COMPOSITES FOR ADSORPTION APPLICATIONS

Abstract

The development of adsorption systems has become of great interest in different process applications with a high degree of specialization. These materials can be applied in processes such as purification, assets immobilization, removal of pollutants, industrial processing and biological interaction, as in enzymes. The high surface area and reactivity allows the surface modifications in order to increase the action effectiveness and a better affinity of interaction in the desired target. Currently, the major challenge in the use of powdered materials is the adequate immobilization, which provides the removal and reuse of these compounds. Thus, the present work aim the obtaining of faujasitezeolite (FAU) and cobalt ferrite ($CoFe_2O_4$) composite, FAU:ferrite, as well as the production of hydroxyapatite (HAP): magnetite (Fe_3O_4) composite for possible use in adsorption of active substances, pollutants, catalysts and enzymes in biological systems, followed by magnetic separation. The composites were obtained by coprecipitation method. Both, magnetite and cobalt ferrite provide the magnetic activity to composite to remove the material from the aqueous medium.
Keywords: Composite; Zeolite; Hydroxyapatite; Magnetite; Cobalt ferrite.

Publicações relacionadas: Dissertações de mestrado: Santos, L.C. Avaliação da atividade fotocatalítica do óxido de cobre imobilizado em suporte magnético nanoestruturado. Universidade Federal de São Carlos, UFSCar, São Carlos, 2015. MUSETTI, H. C. Síntese de zeólita FAU e obtenção de compósito magnético: funcionalização de superfície e adsorção de poluentes em meio aquoso. Universidade Federal de São Carlos, UFSCar, São Carlos, 2016.

1 INTRODUÇÃO

Materiais porosos vêm apresentando destaque no desenvolvimento de sistemas de adsorção. Estes materiais possuem como características a elevada área de superfície, decorrente da porosidade e da alta reatividade superficial, possibilitando a realização de modificações, tornando-os mais específicos a determinado grupo de interesse. Dentre estas modificações, pode ser realizada a hidrofobização com o uso de silanos e até mesmo a ancoragem de enzimas. Desta forma, estes materiais podem atuar na remoção de poluentes como corantes, pesticidas, inseticidas, metais, fármacos, hormônios, fenóis e compostos orgânicos (ROUQUEROL, 2013).

Zeólitas são aluminossilicatos cristalinos hidratados que apresentam estrutura em "gaiola" e altos valores de áreas superficiais. Além disso, possuem elevada capacidade de regeneração e são facilmente modificáveis, podendo ter seu caráter hidrofílico, tamanho de poros, acidez, etc. alterados com relativa facilidade (CHAOUATI, 2013). Já a hidroxiapatita, HAP, de fórmula química, ($Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$), é o maior constituinte dos ossos e dos tecidos pesados de mamíferos. Este material apresenta diversas aplicações ortopédicas, dentárias e maxilofaciais. Como um nanomaterial é potencialmente útil, devido à sua estabilidade estrutural, habilidade de substituição iônica e capacidade de adsorção (KHALID, 2013).

A grande dificuldade de remoção dos adsorventes do sistema é o principal problema encontrado para aplicação em futura escala industrial destes materiais porosos. Sendo assim, há necessidade de utilização de técnicas para facilitar a utilização dos mesmos em suspensões aquosas, como a incorporação de nanopartículas magnéticas, por exemplo.

Ferritas são óxidos duplos de ferro e outro metal de fórmula geral MFe_2O_4, onde M é um elemento metálico bivalente. A estrutura cristalina mais comum é a do tipo espinélio (AB_2O_4). Entretanto, podem se apresentar com estrutura do tipo granadas, hexagonal e perovskita. A ferrita de cobalto é uma das ferritas de maior relevância, possuindo notável estabilidade química e dureza mecânica. Apresenta estrutura cristalina espinélio, com comportamento ferrimagnético característico (OMER, 2013). A magnetita, Fe_3O_4, é um tipo de ferrita de estrutura cristalina espinélio inversa. Tal estrutura é formada por sítios octaédricos e tetraédricos (ARANTES, 2010). Dentre as diversas propriedades da magnetita, deve-se ressaltar a sua não toxicidade, a qual justifica a sua vasta aplicação em biomedicina (CAI, 2007).

Deste modo, este trabalho visa a obtenção dos compósitos FAU:ferrita de cobalto e HAP:magnetita, possibilitando a aplicação destes na área de adsorção de ativos e descontaminação em ambientes aquáticos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Compósito Hidroxiapatita:Magnetita

A obtenção do compósito hidroxiapatita:magnetita foi realizada via síntese de coprecipitação química. Para isso, a magnetita foi dispersada em 50 mL água em um balão sob fluxo de nitrogênio constante. Neste meio reacional foram adicionados os precursores da hidroxiapatita (nitrato de cálcio e fosfato de amônio) na razão molar de 1:5 em relação à magnetita, obtendo uma solução com coloração turva marrom. Em seguida, o sistema foi aquecido a 90ºC por 2 h e, após resfriado, foi submetido ao envelhecimento por 12 h à temperatura ambiente. O precipitado obtido passou por etapas de lavagem com água até pH 7 e seco à temperatura 60°C, sob vácuo.

2.2 Compósito Zeólita:Ferrita

Inicialmente, 0,5 g de ferrita foi suspenso em 40 mL de água destilada sob agitação manual com auxílio de sonicação. Em seguida, 1,5 g de zeólita foi adicionado lentamente à suspensão, de modo a alcançar uma proporção de zeólita:ferrita (m/m) igual a 3:1. Este processo foi executado durante aproximadamente 30 minutos e durante a realização, o sistema foi submetido à sonicação e agitação manual. Após completa dispersão dos materiais, o sistema foi submetido à sonicação por mais 1 hora e, posteriormente, submetido a ciclos de centrifugação (10.000 rpm por 5 min) para a separação do sólido. Após isso, este foi seco em estufa a 60ºC por 12 horas, desagregado e caracterizado.

Para caracterização dos materiais obtidos foram utilizadas as técnicas de microscopia eletrônica de transmissão (MET) e adsorção/dessorção de N2 pelo método de BET.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A seguir pode-se observar as imagens de microscopia de transmissão obtidas para os compósitos sintetizados:

a) b)

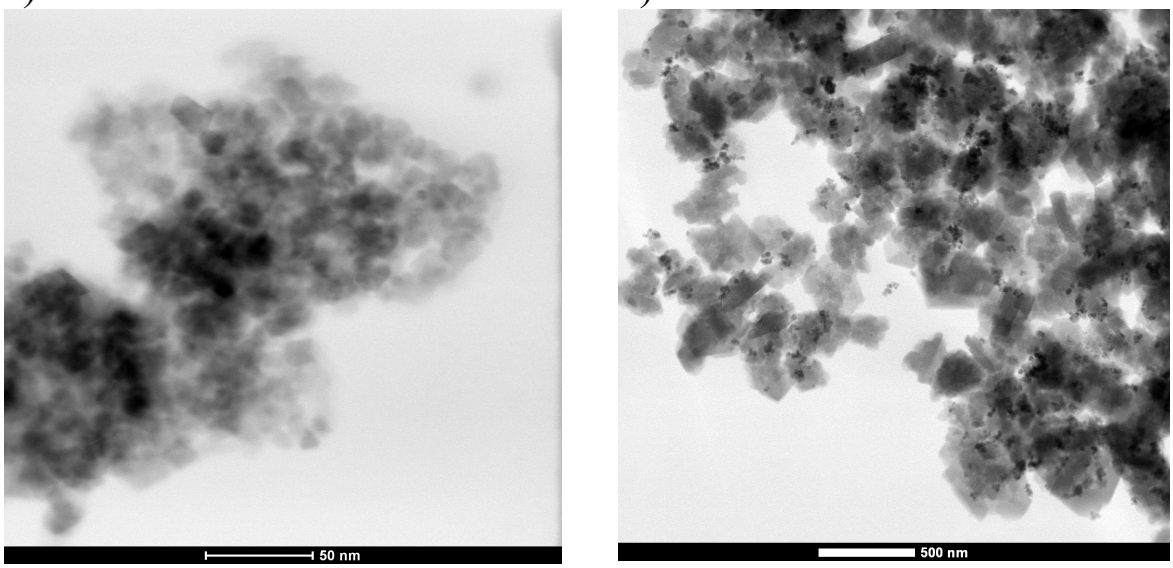


Figura 1: Imagens de microscopia de transmissão dos compósitos: a) HAP:magnetita e b) FAU:ferrita de cobalto.

As nanopartículas utilizadas de magnetita utilizadas para obtenção do compósito HAP:magnetita (Figura 1a) apresentaram diâmetros inferiores à 20 nm. Essas partículas não apresentaram forma definida e estão aglomeradas. A morfologia semelhante foi verificada por IWASAKI et al. (2013) obtido pelo processo de coprecipitação.

Já na Figura 1b encontra-se apresentada uma imagem de microscopia eletrônica de transmissão do compósito FAU:ferrita de cobalto. É possível verificar que as partículas de ferrita foram incorporadas à estrutura da zeólita, mantendo uma interface entre ambos os materiais. Esses resultados, permitem evidenciar que a obtenção de material compósito foi bem-sucedida por meio da metodologia utilizada.

Pela análise de adsorção/dessorção de N2 no BET foi calculado a área superficial específica, apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Valores de Área Superficial específicos para os compósitos sintetizados.

	HAP:Magnetita	FAU:Ferrita de Cobalto
Área Superficial / $m^2\ g^{-1}$	119,6	434,4

Os valores obtidos para área superficial, apresentam-se elevados indicando uma porosidade eficiente para ambos os materiais. Como esperado, devido à maior porosidade da zeólita, o compósito FAU:Ferrita apresenta área de superfície mais elevada em relação à HAP:Magnetita.

4 CONCLUSÃO

A partir dos resultados observados, pode-se concluir que os compósitos obtidos apresentam elevadas áreas superficiais específicas, possibilitando o uso para possível aplicação como adsorventes de ativos e de poluentes aquáticos.

AGRADECIMENTOS

Técnicos e Analistas da Embrapa Instrumentação pelo suporte técnico. Alunos do Grupo de pesquisa pela parceria. SISNANO/MCTI, CNPq, CAPES, FINEP, e Embrapa/Rede AgroNano pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

ROUQUEROL, J. et al. Adsorption by powders and porous solids: principles, methodology and applications. Academic press, 2º th ed. Amsterdam. Elsevier. 2013. 626 p.

GUARATINI, C. C. I.; ZANONI, M. V. B. Corantes têxteis. Química Nova, v.23, p.13, 2000.

CHAOUATI, N.; SOUALAH, A. & CHATER, M. Adsorption of phenol from aqueous solution onto zeolites Y modified by silylation. Comptes Rendus Chimiev. 16, p. 222, 2013.

KHALID, M. et al. Effect of surfactant and heat treatment on morphology, surface area and crystallinity in hydroxyapatite nanocrystals. Ceramics International, v. 39, p. 39, 2013.

OMER, M. I.; ELBADAWI, A. & YASSIN, O. Synthesis and Structural Properties of MgFe2O4 Ferrite Nano-particles. JAIS, v.1, p. 20, 2013.

ARANTES, F. R. Estudo do Comportamento Magnético de Nanopartículas de Magnetita e Nanofios de Níquel Diluídos em Cristais Líquidos Liotrópicos. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, USP, São Paulo, 2010.

CAI, W.; WAN, J. Facile synthesis of superparamagnetic magnetite nanoparticles in liquid polyols. Journal of Colloid and Interface Science, v. 305, p. 366, 2007.

IWASAKI, T. et al. Simple and Rapid Synthesis of Magnetite/Hydroxyapatite Composites for Hyperthermia Treatments via a Mechanochemical Route. Trends in International Journal of Molecular Sciences, v. 14, p. 9365, 2013.

SURFACE MODIFICATION ON CELLULOSE NANOCRYSTALS (CNC) TOWARDS ORGANIC REDOX - BATTERIES

Sebastian Raja* and Luiz Henrique Capparelli Mattoso

LNNA-Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro 1452, 13560-970
sebastianrajaorg@gmail.com

Classification: New materials and processes in nanotechnology and its applications in agribusiness

Abstract
The global mission is achieving sustainable growth for humankind within this century has demanded the development of novel materials that meet our needs and at the same time "eco-friendly" from the renewable resources. In this context, we report, here in, the surface modification of cellulose nanocrystals (CNC) with *4*-hydroxy-2,2,6,6-Tetramethylpiperidin-1-oxyl (4-hydroxy TEMPO) *via mitsunobu* reaction. The modified CNC were characterized from Fourier-transform infrared (FT-IR), Electron paramagnetic resonance (EPR) and elemental analysis. Further the electrochemical mesurements and battery properties are under progress.
Keywords: Celulose nanocrystals (CNC); TEMPO; Mitsunobu and organic redox-batteries

1 INTRODUCTION

The global mission is achieving sustainable growth for humankind within this century has demanded the development of novel materials that meet our needs and at the same time "eco-friendly" from the renewable resources. Furthermore, the ability to take a cheap and abundant material and generate products with value-added properties is desirable. Polymers derived from plants, especially those from non-food resources, are gaining more attention of governments, industries and institutes, mainly due to their environmental compatibility, superior physical properties and low stable market prices which are becoming competitive with petroleum-derived polymers.

Cellulose constitutes the most abundant renewable polymer resource available today, with an annual production estimated to be over 7.5 x 10^{10} tons. This fascinating and almost inexhaustible sustainable polymer possesses remarkable chemical and physical attributes allowing its use in different forms for a wide range of materials and products. Acid hydrolysis of cellulose fibers yield defect-free, rod-like crystalline residues, the "so called" cellulose nanocrystals (CNC). CNC have gained a tremendous level of attention because of their unsurpassed quintessential physical and chemical properties along with their inherent renewability and sustainability in addition to their abundance. They have been the subject of a wide array of research efforts as reinforcing agents in nanocomposites due to their low cost, availability, renewability, light weight, nanoscale dimension, and unique morphology (HABIBI, 2010; TONOLI, 2012). Besides, they play a pivotal role in energy applications such as fuel cell, solar cell and Li-ion batteries (LIBs) (WEI et al., 2014).

Organic radical compounds have extensively been explored as the electrode materials in energy storage applications because of their fast transport kinetics of ions and electrons, cost effective and environmentally friendly (ZHANG et al., 2016). The *4*-hydroxy-2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-oxyl (*4*-hydroxy TEMPO), a representative example of most used organic radical, is a promising electrode material owing to their two redox couple process of the nitroxide radicals (DU et al., 2014). Thus for most of the studies have been carried out with synthetic polymers. However there is growing interest in natural polymers and their derivatives for practical applications from the viewpoint of biotechnology, environmental protection and so forth (QU et al., 2008).

In the present investigation, we report the surface modification of cellulose nanocrystals (CNC) by a simple etherification reaction with organic radicals (4-hydroxy TEMPO). Generally etherification of cellulose materials has been reported in harsh condition like high basic condition and elevated temperature, but, for the first time, we report the etherification of cellulose nanocrystals

(CNC) under an ambient condition using the Mitsunobu reaction. The TEMPO modified CNC characterized by Fourier transform infrared (FTIR), electron paramagnetic resonance (EPR) and elemental analysis (CHN).

2 MATERIALS AND METHODS

White (commercial type) (CW) cotton linter were supplied from Cremer. S. A; Indústria Brasileira. Cellulose was hydrolyzed with 6.5 M sulfuric acid (Synth) and cellulose membrane (Sigma–Aldrich: D9402) was used to dialyze the products. *4*-hydroxy-TEMPO, diisopropyl azodicarboxylate (DIAD), triphenyl phosphine (TPP) and DMF were purchased from Sigma-Aldrich and used without further purification.

2.1 Preparation of cellulose nanocrystals (CNC):

Cellulose nanocrystals were prepared according to the literature reported from our research group earlier (TEIXEIRA et al., 2010). Briefly, about 5.0 g of fibers were dispersed in 100 mL of 6.5 M sulfuric acid at 45 ^{o} C and stirred vigorously for 75 min. After that, 500 mL of cold distilled water was added to stop the reaction. The sulfuric acid was partially removed from the resulting suspension by centrifugation at 10,000 rpm for 10 min. The non reactive sulfate groups are removed by centrifugation following by dialysis. Them the fibers were resuspended and dialyzed against tap water with a cellulose membrane, until the pH reached 6-7. The resulting suspension was ultrasonicated for 5 min and stored in a refrigerator after the addition of drops of chloroform. The yield of cellulose nanocrystals was determined by weighing a 10 mL aliquot of the suspension after standing overnight to dry. Yield (%) and concentration (g mL-1) were calculated from the difference between initial and final weight.

2.2 Synthesis of CNC - TEMPO:

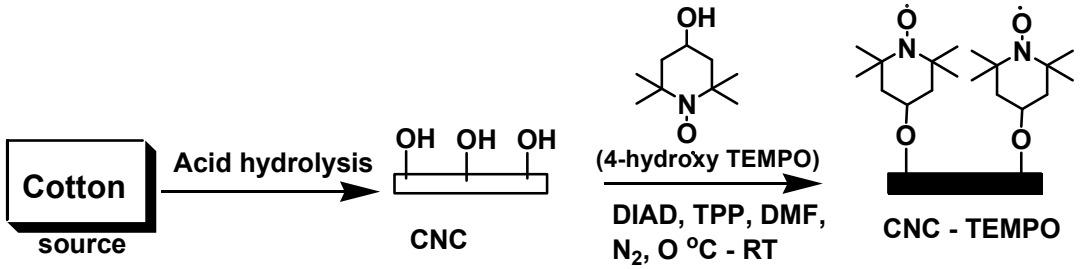
This surface modification was carried out based on the literature reported earlier (YANG et al., 2001). Briefly, DIAD (1.31 mL, 13.4 mmol) was added to the mixture of CNC (0.25 g, 3.1 mmol glucopyanose units), 4-hydroxy TEMPO (0.97 g, 11.4 mmol), TPP (1.30 g), and 30 mL of anhydrous DMF in a 250 mL flask cooled in ice bath. The mixture was stirred for one week at room temperature under nitrogen atmosphere and then added into 150 mL of methanol. The precipitate was isolated by centrifuge. Any unreacted 4-hydroxy TEMPO was removed by repeated dissolutions and precipitations with DMF and methanol. The precipitate was then washed with distilled water and freeze-dried to give surface modified CNC. The degree of substitution (DS) of polymer was determined on the basis of the %N detrmined by elemental analysis. The DS for the surface modified CNC is 0.47. Theoretically, the maximum DS would be 3 if all the hydroxyl groups were substituted by 4-hydroxy TEMPO chromophores on each glucose ring. yield 85%. FT-IR: 2977, 2931, 2850, 1643, 1566, 1457 (N-O), 1376, 1311, 1241, 1107, 918, 879, 555, 505. Anal. Calcd for $C_{32}H_{56}O_{12}N$ (Scheme 1): C, 41.33; H, 5.87; N, 1.16. Found: C, 41.60; H, 5.81; N, 1.01.

2.3. Characterization:

Infrared spectra were recorded on a BRUKER VERTEX 70 FT-IR spectrometer with ATR diamond crystal technique. Elemental analysis was performed with Perkin Elmer EA2400 CHN elemental analyzer. EPR spectra were measured on a BRUKER EMX X-band 9.6 GHz spectrometer.

3 RESULTS AND DISCUSSION

Nanocellulose carrying TEMPO radicals were synthesized by the reaction of *4*-hydroxy-TEMPO with cellulose nanocrystals (CNC) *via* a Mitsunobu reaction. In this reaction, CNC treated with TEMPO in the presence of diisopropyl azodicarboxylate (DIAD) and triphenyl phospine (TPP) in DMF under N_2 at room temperature for one week afforded the radical functionalized CNC in 85 % of yield. The schematic representation is depicted in Scheme 1.



Schem1. Synthesis of CNC-TEMPO by the Mitsunobu reaction.

The IR spectrum of CNC displays a broad peak characteristic of the residual hydroxyl groups (3550 cm^{-1}), while CNC-TEMPO newly showed an absorption at 1457 cm^{-1}, which is attributable to the N-O stretching of the TEMPO radical (Qu J et al).

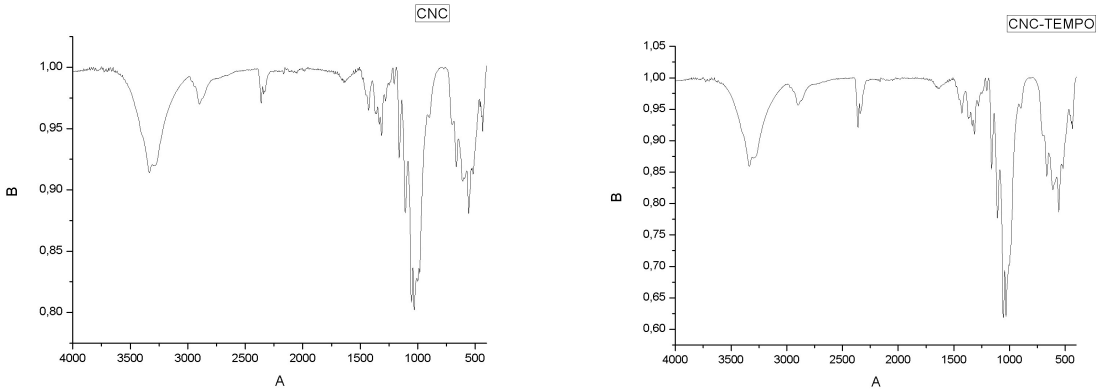


Figure 1. FT-IR spectrum of CNC (left) and CNC-TEMPO (right)

Fig. 2 shows the derivative spectra of the electron spin resonance (EPR) of CNC-TEMPO. EPR spectra is further revealed that the presence of TEMPO radicals on CNC after surface modification. The shape which is similar to that of the TEMPOL (4-hydroxy-2,2,6,6-tetramethylpiperidine-1-oxyl) radical crystals.

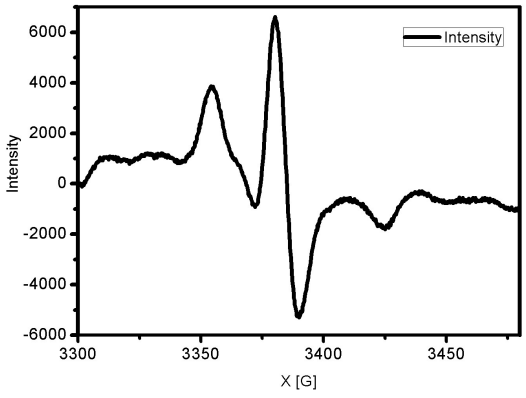


Figure 2. EPR spectrum of CNC-TEMPO

4 CONCLUSION

We have successfully synthesized a new category of cellulose nanocrystal (CNC) carrying TEMPO radicals by Mitsunobu reaction for the first time. The nitroxy radical on the surface of CNC were confirmed from FT-IR, EPR and elemental analysis. Further, the electrochemical and battery properties are under progress.

Acknowledgements:

The authors gratefully acknowledge the financial support provided by FAPESP (Process No. 2015/00094-0), CNPq and EMBRAPA.

REFERENCES

HABIBI, Y. Key advances in the chemical modification of nanocelluloses. Chem. Soc. Rev.*, v. 43, p. 1519 - 1542, 2014.*

TONOLI, G. H. D. et al. Cellulose micro/nanofibres from Eucalyptus kraft pulp: preparation and properties. Carbohydr Polym., v. 89, p. 80 - 88, 2012.

WEI, H. et al. Environmental science and engineering applications of nanocellulose-based nanocomposites. Environ. Sci.: Nano, v.1, p. 302 - 316, 2014.

ZHANG, K. et al. Stable organic radical polymers: synthesis and applications. Polym. Chem.*, v. 7, p. 5589 - 5614, 2016.*

DU, Z. et al. Organic radical functionalized graphene as a superior anode material for lithium-ion batteries. J. Mater. Chem. A*, v. 2, p. 9164 - 9168, 2014.*

QU, J. et al. Synthesis and charge/discharge properties of cellulose derivatives carrying free radicals. *Polymer* v. 49, p. 1490 – 1496, 2008.

TEIXEIRA E. M. et al. Cellulose nanofibers from white and naturally colored cotton fibers. Cellulose v. 17, p. 595–606, 2010.

QU. J et al. Synthesis and Properties of Polyacetylene and Polynorbornene Derivatives Carrying 2,2,5,5-Tetramethyl-1-pyrrolidinyloxy Moieties. Macromolecules v. 40, p.3136 – 3144, 2007.

CARACTERIZAÇÃO DA ESTRUTURA E FORMA DE COMPÓSITOS DE FIBRAS DE PLA:AMIDO:Mn PARA LIBERAÇÃO DE MANGANÊS

João O. D. Malafatti[1,2], Vanessa P. Scagion [1,2], Camila R. Sciena[1,2], Wilson A. Ribeiro Neto[2], Elaine C. Paris[2]*

1 Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP;
2 LNNA - Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro 1452, 13560-970, São Carlos, SP.
**elaine.paris@embrapa.br*

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio

Resumo
A incorporação de fertilizantes particulados em fibras poliméricas tem como objetivo a liberação destes ativos a partir de um suporte com alta área superficial e propriedades biodegradáveis. Desta forma, visa-se minimizar a perda por lixiviação ao ser aplicado diretamente no solo e aumentar a eficiência de absorção nos nutrientes liberados pelas raízes. Assim, o presente trabalho teve como interesse a obtenção de um compósito com matriz biodegradável de PLA (ácido poli-L-lático):amido na forma de fibras, com a impregnação de sólidos particulados que possam atuar como fontes de íons manganês. As fibras de PLA:amido:Mn incoporadas com manganês foram obtidas empregando-se o método de eletrofiação com uso de MnO, MnO_2, $MnCO_3$ e $MnSO_4$ como precursores de Mn^{2+}. Foram realizadas caracterizações da forma e estrutura do compósito com o uso da técnica de difração de raios X (DRX) e pela técnica de microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (SEM-FEG). Assim, foram obtidas fibras compósitos de PLA:amido com incorporação de 12,5% (m/m) de manganês na matriz polimérica. Contudo, não foram observadas alterações na estrutura da fibra de PLA:amido:Mn nesta concentração de manganês, possibilitando a manutenção das características iniciais do suporte.
Palavras-chave: ácido poli-L-lático; amido; manganês; fibras; fertilizante.

STRUCTURE AND FORM CHARACTERIZATIONS OF PLA:STARCH:Mn COMPOSITES FIBERS FOR MANGANESE RELEASE

Abstract
The incorporation of particulate fertilizers into polymer fibers aims to release these compounds from a carrier with a high surface area and biodegradable properties. In this way, it is aimed to minimize the loss by leaching when applied directly to the soil and increase the absorption efficiency by the roots. Thus, the present work had as interest the obtaining of a composite with biodegradable matrix of poly-L-lactic acid (PLA):starch in the form of fibers, with the impregnation of particulate solids that can act as sources of manganese ions. The PLA:starch:Mn fibers were obtained using the electrospinning method under the addition of MnO, MnO_2, $MnCO_3$ and $MnSO_4$ as Mn^{2+} precursors. X-ray diffraction (XRD) technique and the field scanning electron microscopy technique (SEM-FEG) were used to characterize the shape and structural characteristics of the composite. Thus, were obtained PLA:starch:Mn fibers composite with the 12.5% (m/m) of manganese incorporation in the polymer matrix. It was not observed changes in the structure of the PLA:starch:Mn fibers in this concentration of manganese, allowing the maintenance of the initial characteristics of the support.
Keywords: poly-L-lactic acid; starch; manganese; fibers; fertilizer

Publicações relacionadas: MALAFATTI, J. O. D. Obtenção blenda biodegradável PLA:amido para a incorporação do micronutriente manganês. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de São Carlos, UFSCar, São Carlos, 2016.

1 INTRODUÇÃO

Na agricultura o uso de fertilizantes como insumos tem a finalidade de garantir o fornecimento necessário de nutrientes minerais para as plantas. Os nutrientes minerais estão presentes em diversas atividades metabólicas das plantas como fotossíntese, respiração e produção de energia (MENGEL, K., 1978). O manganês, bem como os outros nutrientes, é absorvido pela planta na forma de íons. Porém, ao ser aplicado no solo, grande parte do fertilizante é perdido devido ao processo de lixiviação, diminuindo a eficácia da absorção pela planta (DUCIC,2005).

Um método de melhorar a eficácia no fornecimento do fertilizante é por meio de uso de suportes de liberação. Estes suportes podem ser formados a partir de biopolímeros, obtidos de fontes renováveis, em abundância e de baixo preço. Além disso, a combinação de dois ou mais biopolímeros permite o melhoramento das características mecânicas e térmicas, a fim de possibilitar a moldagem em diferentes processamentos e obter distintas propriedades (LOPEZ, 1992).

O ácido poli-L-lático (PLA) é um biopolímero semicristalino com propriedade plastificante, o que permite a aplicação desde sacolas plásticas à materiais cirúrgicos (BRITO,2011). Na liberação de fertilizante a partir de uma matriz de PLA, o mesmo pode demorar cerca de meses para se decompor (METTERS, 2000). Para o melhoramento e redução do tempo da decomposição, pode ser utilizado blendas com outros polímeros hidrofílicos, como o polietilenoglicol (PEG) e amido, na qual permite maior contato com a superfície aquosa e consecutiva degradação, bem como a redução de custos (NAMPOOTHIRI, 2010). O amido é um polissacarídeo formado por duas unidades básicas: a amilose e a amilopectina. As hidroxilas presentes ao longo da cadeia polimérica geram alta hidrofilicidade favorecendo a degradação (SHI, 2013).

Portanto, este trabalho visou a obtenção de fibras de PLA:amido via eletrofiação, nas quais incorporou-se fontes de manganês com distintas solubilidades. Assim, foi obtida uma matriz polimérica com alta área superficial e biodegradável para futura aplicação em fertilidade do solo.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Preparação da Solução Polimérica

Inicialmente foi preparada a solução polimérica de PLA:amido:Mn. Para isso, foram solubilizados 0,8 g de PLA (MM: 66.000g/mol) - Nature Works em 6 mL de clorofórmio P.A sob agitação em temperatura ambiente até a completa solubilização dos granulos. Paralelamente 0,16 g de amido solúvel (Sinth) foram dispersados em 2 mL de N,N dimetilformamida P.A à temperatura ambiente por 30 minutos. Em seguida 0,1 g de manganês proveniente dos sais e óxidos de manganês (MnO, MnO_2, $MnCO_3$ e $MnSO_4$) foram adicionados na solução de amido e homogeneizados por 30 minutos à temperatura ambiente. Na sequência foi realizada a mistura das soluções e homogeneizadas por 1 hora sob agitação magnética à temperatura ambiente.

2.2 Eletrofiação

Processualmente, foi realizada a obtenção das fibras PLA:amido:Mn por meio da técnica de eletrofiação. Para tal, utilizou-se a condição de 5 cm de distância do coletor, vazão de 0,6 mL h^{-1} e tensão entre 14-30 kV.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi realizada a caracterização estrutural das fibras de PLA:amido:Mn por meio da técnica de difração de raios X, como apresentada na Figura 1. Por meio do difratograma é possível observar que a incorporação de manganês na concentração de 12,5% (m/m) com PLA não acarretou na alteração da cristalinidade da fibra de PLA:amido. Foi observado os picos referentes a semicristalinidade do PLA da fase α em 2θ = 16º e 19º (SCHLEMMER, 2010).

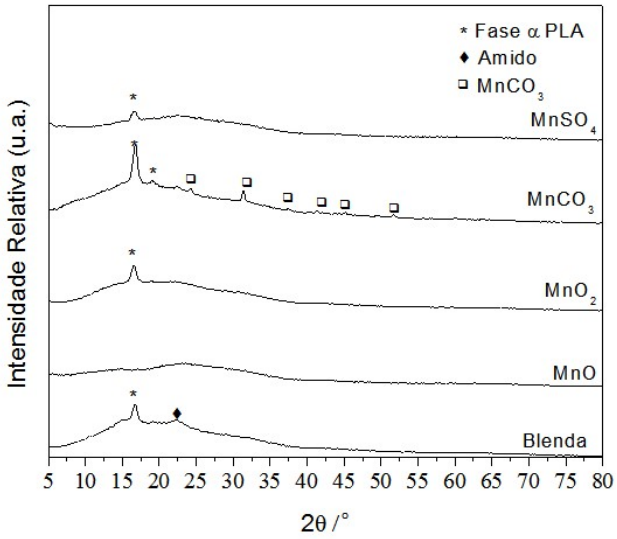


Figura 1. Difratogramas de raios X dos sais e óxidos de manganês incorporados ao compósito PLA:amido:Mn.

Para o compósito de PLA:amido:Mn obtido à partir do $MnCO_3$ foi observado os picos característicos do sal, sendo o mais relevante em 2θ = 32º (NASSAR, 2016). A ausência dos demais picos da fase, pode estar relacionada à incorporação inferior ao limite de detecção do equipamento. Os resultados obtidos são semelhantes aos compósitos de PLA com óxidos de alumínio 3% (PLA/AlOx) obtidos por CAILLOUX *et al*. (2016), que apresentaram o mesmo comportamento de semicristalinidade do PLA quando puro, sem a alteração dos picos do polímero.

Abaixo encontra-se a imagem de microscopia realizada, Figura 2, a fim de confirmar a presença dos particulados na matriz do compósito.

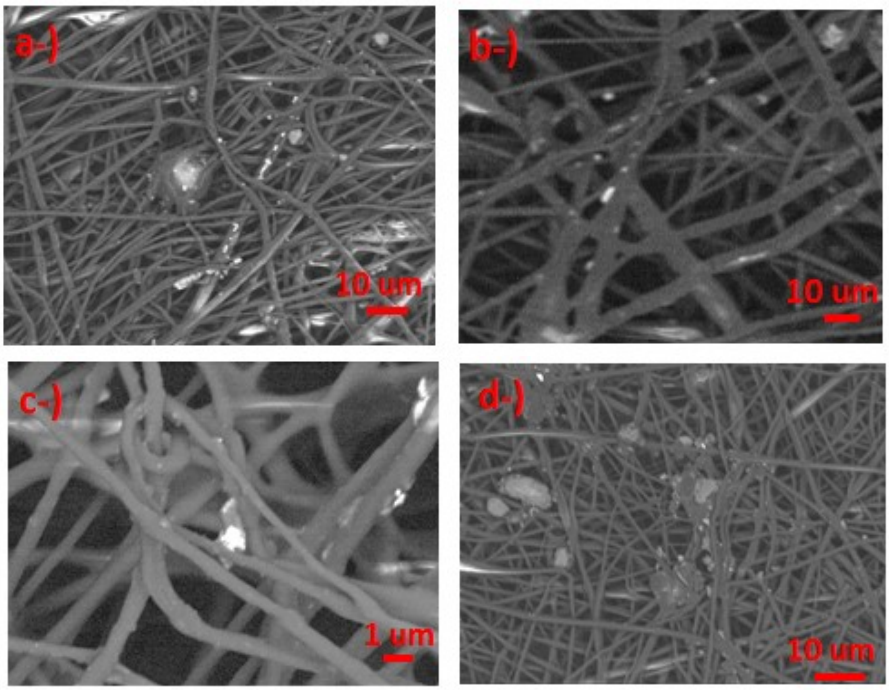


Figura 2. Imagens de FEG dos compósitos com incorporação de a-) $MnSO_4$, b-) $MnCO_3$, c-) MnO e d-) MnO_2.

Por meio da detecção por elétrons retroespalhados foi observado a presença dos sais e óxidos de manganês (coloração mais clara) na superfície das fibras de PLA:amido:Mn (coloração mais escura). Portanto, ocorreu a incorporação de distintas fontes de sais e óxidos de manganês nas fibras de PLA:amido.

4 CONCLUSÃO

Por meio da técnica de eletrofiação é possível obter um suporte biodegradável de fibras de PLA:amido:Mn com alta área superficial e com capacidade de ser impregnada por fontes de manganês com diferentes características de solubilidade. Além disso, a incorporação da concentração de 12,5% (m/m) de manganês não alterou as características da matriz polimérica, garantindo a manutenção das propriedades do suporte.

AGRADECIMENTOS

Técnicos e Analistas da Embrapa Instrumentação pelo suporte técnico. Alunos do Grupo de pesquisa pela parceria. SISNANO/MCTI, CNPq, CAPES, FINEP, e Embrapa/Rede AgroNano pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

MENGEL, K. & KIRKBY, E. A. Principles of plant nutrition. Principles of plant nutrition.1978. 1th ed. Berne. International Potash Institute. 593 p.

DUCIC, Tanja; POLLE, Andrea. Transport and detoxification of manganese and copper in plants. Brazilian Journal of Plant Physiology, v. 17, n. 1, p. 103-112, 2005.

LOPES, A. & GUILHERME, L. Uso eficiente de fertilizantes e corretivos agrícolas: aspectos agronômicos. ver. e atual. São Paulo. Boletim Técnico, ANDA. 64 p. 1992.

BRITO, G. F. et al. Biopolímeros, polímeros biodegradáveis e polímeros verdes. Revista Eletrônica de Materiais e Processos, v. 6, n. 2, p. 127-139, 2011.METTERS, A. T.; ANSETH, K. S.; BOWMAN, C. N. Fundamental studies of a novel, biodegradable PEG-b-PLA hydrogel. Polymer, v. 41, n. 11, p. 3993-4004, 2000.

NAMPOOTHIRI, K. Madhavan; NAIR, Nimisha Rajendran; JOHN, Rojan Pappy. An overview of the recent developments in polylactide (PLA) research. Bioresource technology, v. 101, n. 22, p. 8493-8501, 2010.

SHI, Ai-min et al. Characterization of starch films containing starch nanoparticles: Part 1: Physical and mechanical properties. Carbohydrate polymers, v. 96, n. 2, p. 593-601, 2013.

SCHLEMMER, Daniela; SALES, Maria JA; RESCK, Inês S. Preparação, caracterização e degradação de blendas PS/TPS usando glicerol e óleo de buriti como plastificantes. Polímeros: Ciência e Tecnologia, v. 20, n. 1, p. 6-13, 2010.

NASSAR, Mostafa Y. et al. Sphere-like Mn_2O_3 nanoparticles: Facile hydrothermal synthesis and adsorption properties. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, v. 64, p. 79-88, 2016..

CAILLOUX, Jonathan et al. Reactive extrusion: A useful process to manufacture structurally modified PLA/o-MMT composites. Composites Part A: Applied Science and Manufacturing, v. 88, p. 106-115, 2016.

O USO DE BIOFILMES COMO BARREIRA FÍSICA PARA A PROTEÇÃO DE CÉLULAS DE RIZÓBIOS EM SEMENTES DE SOJA PRÉ-TRATADAS COM FUNGICIDA.

Fábio Plotegher [1]; Rafaela Ferraz Majaron[2]; Mariangela Hungria[3] e Caue Ribeiro[1].

1 - Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro 1452, São Carlos, SP, CEP: 13560-970, Brasil. E-mail: fabioplotegher@yahoo.com.br
2 - Universidade Federal de São Carlos, Departamento de Química, Rodovia Washington Luiz, km 235, São Carlos - SP, CEP: 13565-905, Brasil.
3 – Embrapa Soja, Rodovia Carlos João Strass S/N, Acesso Orlando Amaral, Distrito da Warta, Londrina – PR, CEP: 86001-970, Brasil.

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio.

Resumo:
A principal cultura de verão no Brasil é a Soja, com mais de 57% da área de plantio. O crescimento da produtividade das lavouras nas últimas décadas se deve, principalmente, aos avanços na pesquisa e em tecnologia. Uma das tecnologias mais aplicadas na cultura da soja é a fixação biológica do nitrogênio (FBN) que consiste em utilizar bactérias especializadas, principalmente os rizóbios, que garante a planta um suplemento contínuo desse elemento. No plantio, a semente de soja é o principal veículo para disseminação de pragas e doenças dessa cultura, sendo assim, é necessário a utilizar defensivos agrícolas no tratamento das semente o que ocasiona a mortalidade de mais de 90% das células responsáveis pela FBN. Sendo assim, esse trabalho investigou o uso de biofilmes como barreia física entre os fungicidas aplicados no tratamento de sementes e os inoculantes contendo os rizóbios. Os resultados da recuperação de células viáveis mostraram que o uso dos biofilmes se mostrou muito promissor.
Palavras-chave: Recobrimento, polímeros, carboidratos.

THE USE OF BIOFILMS AS A PHYSICAL BARRIER FOR THE PROTECTION OF RIZOBIAN CELLS IN SOYBEAN SEEDS PRE-TREATED WITH FUNGICIDE.

Abstract:
The main summer culture in Brazil is Soja, with more than 57% of the planting area. The growth of crop productivity in the last decades is mainly due to advances in research and technology. One of the most applied technologies in soybean cultivation is biological nitrogen fixation (BNF), which consists of using specialized bacteria, mainly rhizobia, which guarantees the plant a continuous supplement of this element. In planting, soybean seeds are the main vehicle for the spread of pests and diseases of this crop, so it is necessary to use agricultural pesticides in the treatment of seeds, which causes the mortality of more than 90% of the cells responsible for BNF. Thus, this work investigated the use of biofilms as a physical barrier between the fungicides applied in the treatment of seeds and the inoculants containing the rhizobia. The results of viable cell recovery showed that biofilm use was very promising.
Keywords: Coating, polymer, carbohydrates.

Publicações relacionadas: "Biofilmes parcialmente hidrofílicos: uma alternativa para a proteção celular de rizóbios em sementes pré-tratadas" Resumo submetido ao XXVII Reunião Latinoamericana de Rizobiologia – RELAR, Londrina 2016.

1 INTRODUÇÃO

A principal cultura de verão do Brasil é a soja, que representou na safra 2015/2016, cerca de 57% de toda a área de plantio de grãos do país (CONAB, 2017 e MAPA, 2017). O crescimento na produtividade da soja nas últimas três décadas se deve, principalmente, aos inúmeros avanços em

pesquisa, tecnologia e inovação. Uma das principais tecnologias utilizadas na cultura de soja é a fixação biológica de nitrogênio (FBN). Segundo CAMPO et al. (2009), a FBN tem um papel fundamental na cultura da soja pois, pode garantir cerca de 95% de todo o nitrogênio (N) utilizado pelas plantas na lavoura e assim diminuir os custos da produção, pois não serão utilizados fertilizantes nitrogenados na adubação. No entanto, para se ter uma boa produtividade, além de garantir o suprimento completo de nutrientes é necessário escolher sementes com padrão genético, fisiológico e sanitário adequados. De acordo com GOULART (2004 e 2011) e HENNING (2004) no plantio, a semente de soja é o principal veículo para disseminação de doenças de importância econômica desta forma o tratamento da semente com fungicidas se faz necessário para o estabelecimento da lavoura. Porém, segundo CAMPO et al. (2009), esse tratamento com fungicidas influenciam negativamente a FBN, pois a mortalidade das células das bactérias podem chegar a 90% em um período de poucas horas após a inoculação dos rizóbios nas sementes tratadas com fungicida, comprometendo assim a eficiência da FBN.

Uma alternativa para diminuir os efeitos de toxidez dos fungicidas às células bacterianas é a utilização biofilmes ou mesmo compósitos à base de polímeros naturais a fim de formar uma barreira física entre o fungicida e as células das bactérias dando-lhes sobrevida até que entrem em contato com o solo no plantio e assim, colonizar as raízes das plantas de soja.

Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi desenvolver uma proteção celular a base de polímeros naturais hidrofílicos para o recobrimento das sementes de soja pré-tratadas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram preparadas suspensões aquosas de 5 diferentes polímeros naturais e hidrofílicos. As sementes foram recobertas por essas suspensões poliméricas na proporção de 2% em massa com relação a massa de semente.

Após a secagem do material, as sementes foram congeladas em nitrogênio líquido e fraturas para se observar a espessura da camada obtida por meio da técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV).

As análises de recuperação e viabilidade das bactérias nas sementes inoculadas foram realizadas no Laboratório de Biotecnologia dos Solos da Embrapa Soja em Londrina – PR, seguindo normas da Instrução Normativa Nº 30 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento - MAPA (MAPA, 2010).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As micrografias apresentadas na Figura 1, mostram que os recobrimentos com todos os 5 polímeros se mostraram uniformes e que, de fato, houve a formação de um biofilme sobre toda a extensão da casca do grão.

A Tabela 1, mostra os resultados do ensaio de recuperação de células viáveis de todos os tratamentos feitos. O tratamento controle não apresentou adição de fungicida na semente logo sua recuperação foi da ordem de 10^5 célula mL^{-1}. No tratamento T-5 foi utilizado um polímero comercial que possui em sua composição agentes antimicrobianos mesmo tendo formado a camada mais espessa dentre todos os tratamentos, a presença dos compostos antimicrobianos afetou, e muito, o número de células viáveis recuperadas (10^2). Os demais tratamentos T-1 a T-4, obtiveram resultados similares e com maior número de células recuperadas que no tratamento controle, mostrando que o uso dessa tecnologia é promissora.

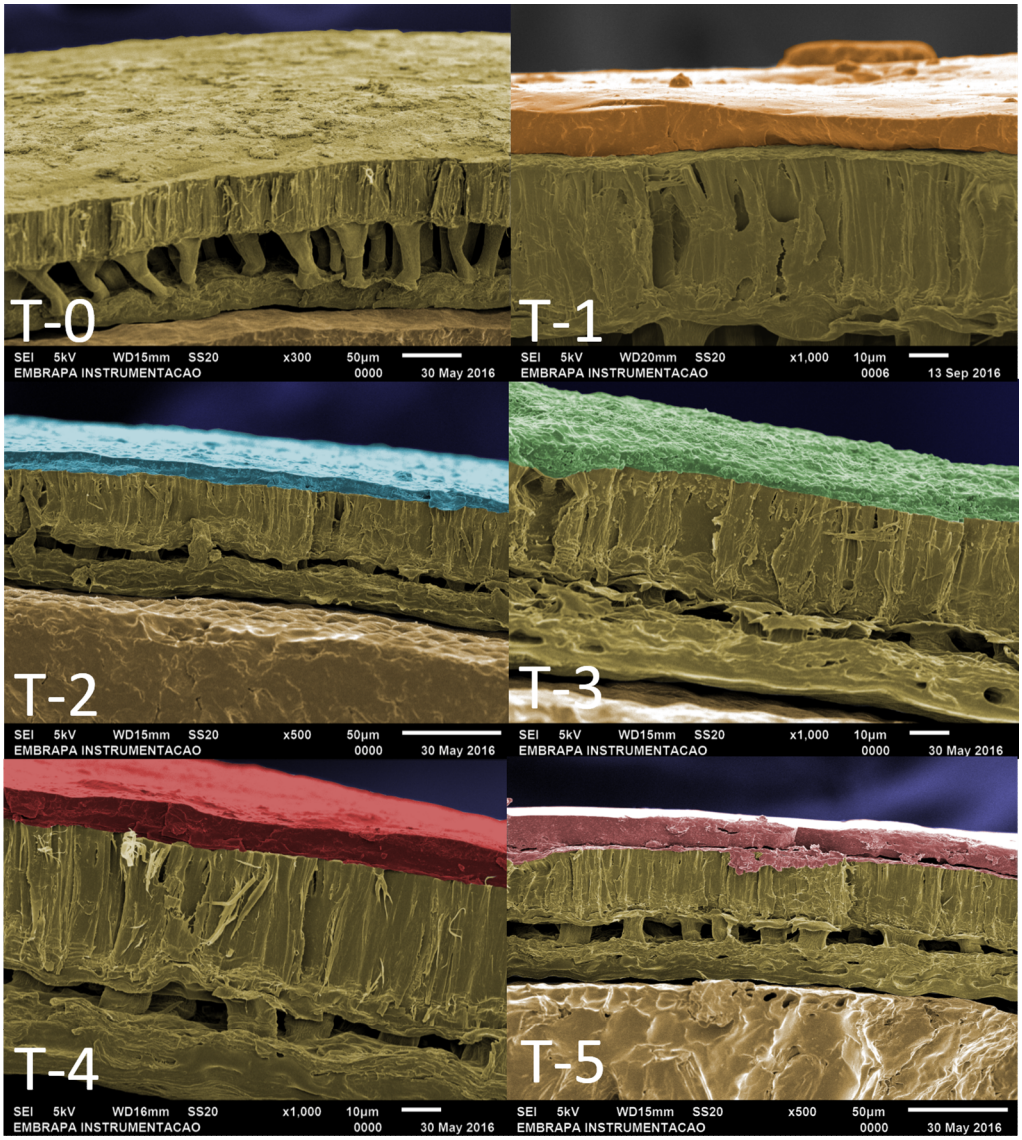


Figura 1: MEV das secções transversais dos grãos de soja recobertos com os biofilmes. (T-O = Grão de soja sem recobrimento, T-1 a T-5 = Grão de soja recobertos pelos polímeros)

Tabela 1: Resultados da recuperação de células das sementes em todos os tratamentos.

Tratamento	Número de células recuperadas (UFC/mL)
T-Controle	*1,95 x 10^5*
T-1	1,05 x 10^6
T-2	8,22 x 10^5
T-3	4,76 x 10^5
T-4	1.10 x 10^6
T-5	3,33 x 10^2

- - UFC: Unidade Formadora de Colônia.

4 CONCLUSÃO

É possível usar biofilmes para atuar como uma barreira física entre sementes tratadas com fungicidas e as células de rizóbios. Os resultados das análises de recuperação de células viáveis mostrou que essa tecnologia é promissora, sendo necessário agora ensaios em campo para comprovar o aumento do número de nódulos nas raízes das plantas do soja e por consequência o aumento na fixação do nitrogênio.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio financeiro dado pela FAPESP (2016/15482-9 e 2017/11149-6), CAPES, CNPq, SISNANO / MCTI, FINEP, Embrapa Soja e Embrapa Instrumentação e Rede AgroNano.

REFERÊNCIAS

CAMPO, R. J.; ARAUJO, R. S.; HUNGRIA, M.; Nitrogen fixation with the soybean crop in Brazil: Compatibility between seed treatment with fungicides and bradyrhizobial inoculants. Symbiosis, 48, 154-163, 2009.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento, Séries históricas. [2017]. Disponível em: < http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/17_09_13_16_13_13_brasilprodutoseriehist.xls >. Acesso em: Set. 2017.

GOULART, A. C. P., Fungos em sementes de soja: Detecção, Importância e Controle. Embrapa, Dourados, 2004, 72p.

GOULART, A. C. P., Tratamento de Sementes de Soja com Fungicidas. In: Mercosoja 2011 – Quinto Congreso de la Soja del Mercosur, 1-5, 2011.

HENNING, A. A.; Patologia e Tratamento de Sementes: Noções Gerais. Documentos 235, Embrapa, 2004, 54p.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C., Fixação biológica do nitrogênio na cultura de soja. Circular Técnica, Embrapa, 2001, 48p.

MAPA – Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, Instrução Normativa Nº 30, de, 12 de novembro de 2010. Brasília, 2010, 28p.

MAPA – Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, Projeções do Agronegócio – Brasil 2016/17 a 2026/27 – Projeções de Longo Prazo. Brasília, 2017, 123 p.

OBTENÇÃO DE FIBRAS INORGÂNICAS DE Nb_2O_5 VIA ELECTROSPINNING & SOLUTION BLOW SPINNING

Edson Tobias de Jesus[1,2]; Mayara Coelho Sá[1,2]; Aline Aparecida Becaro[2]; Edjane Rocha dos Santos[2] ; Elaine Cristina Paris[2]

[1] Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) - Departamento de Química, Rodovia Washington Luiz, s/n, Km 235 13565905, São Carlos, SP.
[2]LNNA- Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro 1452, 13560-970, São Carlos, SP. e-mail de contato: tobiasedson@ifma.edu.br

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio

Resumo
Micro e nanofibras têm sido produzidas por diferentes materiais, incluindo carbono, polímeros e metais. Porém, com o desenvolvimento da técnica de electrospinning (ES), diferentes fibras cerâmicas têm sido produzidas, a saber: TiO_2, SnO_2, V_2O_5, Nb_2O_5 etc. Neste trabalho, compósitos de nióbio/polivinilpirrolidona (Nb/PVP) foram sintetizados por electrospinning (ES) e Solution Blow Spinning (SBS). Após tratamento térmico à 600°C, fibras cerâmicas de Nb_2O_5 foram obtidas. Essas fibras foram caracterizadas por espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), Difração de raios X (DRX) e Microscopia eletrônica de varredura (MEV-FEG). Assim, foram possíveis obter fibras cerâmicas, utilizando concentração do precursor de Nb_2O_5, no SBS com concentração, pelo menos, 10 vezes maior daquelas produzidas por ES, com diâmetro de 44 nm e de 144 nm no SBS. Ambas formaram a fase hexagonal do Nb_2O_5 (T-ortorrombica).

Palavras-chave: Nb_2O_5; Fibras cerâmicas; Nanofibras

TITLE: OBTENTION OF INORGANIC FIBERS FROM Nb_2O_5 BY ELECTROSPINNING AND SOLUTION BLOW SPINNING

Abstract
Micro and Nanofibers have been fabricated in various materials, including carbons, polymers and metals. Moreover, the development of electrospinning technique offers various ceramic fibers, namely; TiO_2, SnO_2, V_2O5, Nb_2O_5 etc., In this work, micro and nanofiber composites of niobium/polyvinylpyrrolidone (PVP) were synthesized by electrospinning (ES) and solution blow spinning (SBS) techniques. By using these techniques, ceramic nanofibers of Nb_2O_5 were obtained by the heat treatment at 600° C. The fibers were characterized by Fourier-transform infrared spectroscopy (FT-IR), X-ray diffraction (XRD) analysis, and Field-emission gun scanning electron microscopy (FEGSEM). From this investigation, it is observed that the fibers obtained in the SBS technique 10 times greater than the electrospinnig technique in terms of concentration, with an average diameter of 144 nm and 44 nm, respectively. The heat treatment of fibers from both the techniques resulted in the formation of hexagonal phase of Nb_2O_5 (T-orthorhombic).
Keywords: Nb_2O_5; Ceramic fibers; Nanofibers

1 INTRODUÇÃO

A literatura tem reportado diferentes fibras inorgânicas de TiO_2, SnO_2, V_2O_5, Nb_2O_5 entre outras, obtidas pela técnica de ES (electrospinning) e mais recentemente, fibras cerâmicas de TiO_2 produzidas pela técnica SBS (WANG et al 2017). Essas fibras contêm formas e espessuras definidas, orientadas em uma dimensão (1D), as quais podem ser medidas nas escalas micro ou nanométrica. Algumas apresentam boas propriedades elétricas, grande área superficial, porosidade e muitas delas têm sido aplicadas em sensores, catálise, baterias solares e tratamento de água (TOLASA et al, 2016).

Neste trabalho, foram obtidas fibras inorgânicas de pentóxido de nióbio, Nb_2O_5, com utilização do método sol gel, pelas técnicas de ES e SBS. Esta última, com o objetivo de reduzir o

custo e aumentar o rendimento do material no final do processo. Uma vez que a técnica SBS é bem mais acessível e permite produzir uma quantidade de fibras muito maior, em um curto intervalo de tempo, comparada com a ES. Outra vantagem é o fato de que ao invés de usar tensão elétrica no processamento das fibras, como na ES, usa-se ar pressurizado.

Assim, a partir das caracterizações iniciais de DRX pode observar fases inorgânicas como T-ortorrômbica do pentóxido de nióbio nas fibras produzidas por ES, que corroboram com os resultados reportados por Leindecker, Alves e Bergmann (2014). Por outro lado, as fibras cerâmicas produzidas por SBS também confirmaram essa fase. No entanto, depois da avaliação das propriedades elétricas desses materiais, pretende-se aplicá-los em sensores e verificar se esses materiais possuem atividades fotocatalíticas frente a compostos orgânicos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Nessa etapa, foram utilizadas as técnicas ES e SBS. A primeira consiste basicamente de uma fonte de alimentação de alta voltagem, uma bomba, um injetor com agulha metálica e um coletor. A segunda, ao em vez de utilizar uma fonte de alimentação de alta voltagem, utiliza-se uma fonte de ar pressurizado. Os demais componentes e o modo de funcionamento são semelhantes, conforme ilustrado na Figura 1.

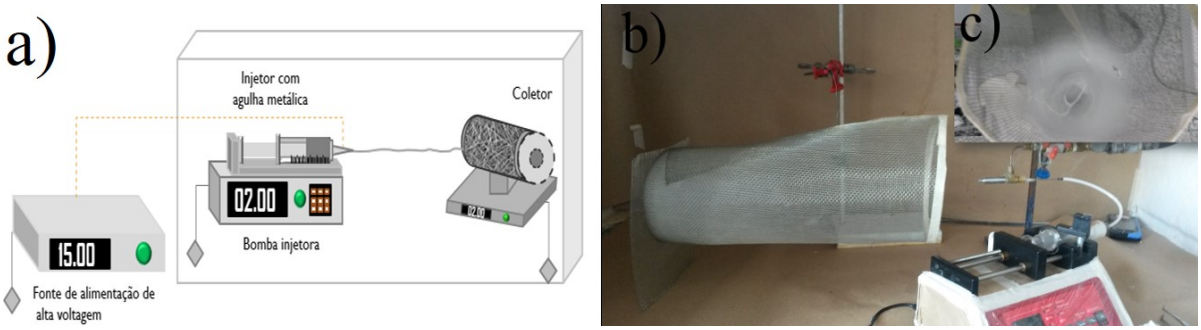


Figura 1. a) Sistema de electrospinning (ES) e b) Sistema de blow spinning (SBS): c) Aparato de coleta das mantas de fibras (compósito).

Para obtenção das fibras foram preparadas soluções utilizando o polímero polivinilpirrolidona (PVP), etanol e o oxalato amoniacal de nióbio (OAN). Inicialmente, o precursor (OAN), em proporções adequadas de PVP, foi adicionado numa solução de 10% (PVP/etanol), depois de certo tempo de agitação, a solução foi levada tanto para o sistema de ES como para o SBS para produção dos filmes (Mantas). Depois de seca em estufa, para eliminação do solvente residual, os filmes (Mantas) foram submetidos ao tratamento térmico à 600°C/3h para obtenção das fibras inorgânicas.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir dos difratogramas de raios X foi possível obter informações sobre os padrões de difração do material, analisado em média e longa distância. Sendo assim, a Figura 2a apresenta os difratogramas de raios X das fibras inorgânicas. Observa-se a definição dos picos característicos do material, com padrões de difração das amostras obtidas, semelhantes a fase Tortorrômbica, T-Nb_2O_5, de acordo com o Joint Committe on Powder Diffractions Standards (JCPDS, nº 007-0061 para a T-ortorrômbica). Esses resultados corroboram com aqueles reportados por Tamura (1972) e Nico & Monteiro, (2016) afirmam que a fase T-ortorrômbica é esperado entre 600°C e 800°C. Além disso, foi utilizada a análise de espectroscopia na região de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), com o intuito de complementar a análise estrutural, verificando se há espécies absorvidas na superfície das amostras, com observação dos modos vibracionais presentes na região do infravermelho, Figura 2b.

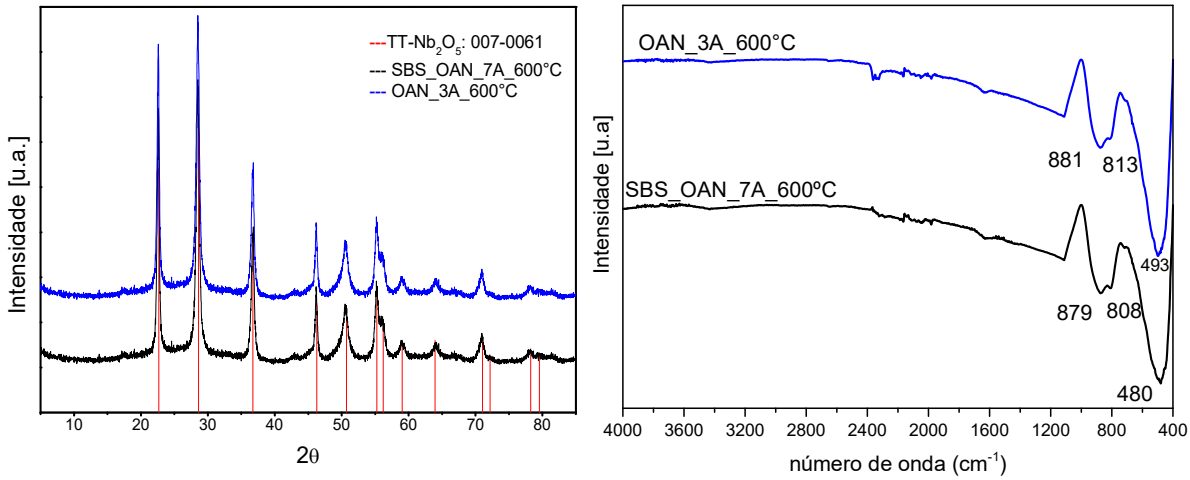


Figura 2. a) Difratogramas de raios X de nanofibras inorgânicas e b) Espectros de FTIR das fibras inorgânicas de Nb_2O_5 calcinadas à 600°C/ 3 h.

De acordo com a Figura 2a, as bandas entre 500 e 1000 cm^{-1} são características das ligações de nióbio e oxigênio, podendo ser atribuídas ao estiramento da ligação Nb=O e as vibrações angulares da ligação Nb-O-Nb (Lopes et al, 2014).

Para analisar a forma, tamanho das fibras cerâmicas de Nb_2O_5 produzidas por ES e SBS, calcinadas à 600°C/3h, foram obtidas imagens de microscopias de varredura, (MEV-FEG), conforme Figura 3.

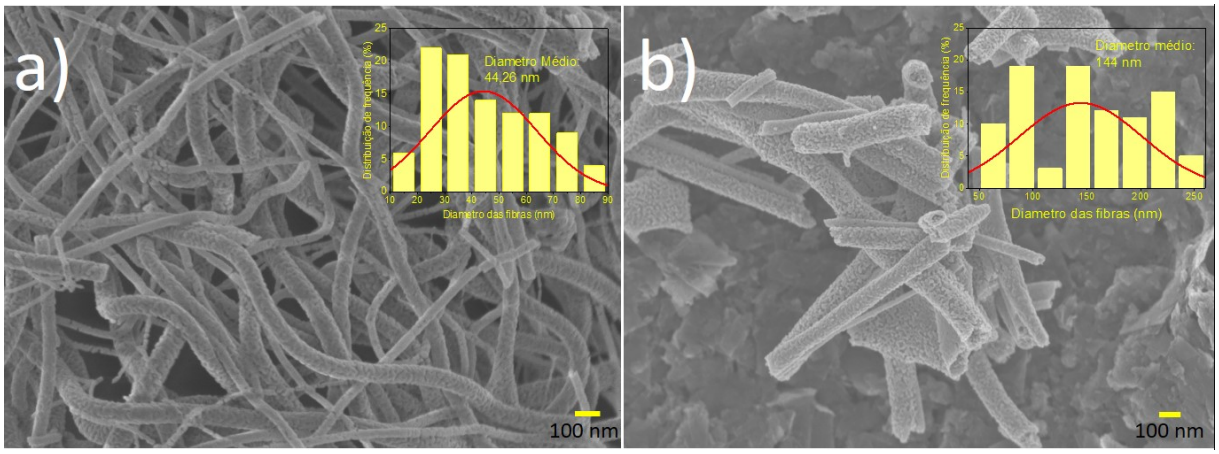


Figura 3. Imagens de MEV_FEG das fibras inorgânicas obtidas por: a) ES, OAN_3A e b) SBS, OAN_7A.

A Figura 3 apresentam as morfologias das fibras obtidas por ES e SBS. As fibras cerâmicas Nb_2O_5 produzidas por ES apresentam tamanho médio de aproximadamente 44 nm (Figura 3a), enquanto aquelas produzidas por SBS apresentam tamanho médio de 144 nm (Figura 3b). Por outro lado, a técnica de SBS apresenta vantagens no que se refere ao custo, como também no rendimento final do material produzido, uma vez que através dessa técnica é possível aumentar a concentração de OAN em pelo menos 10 vezes mais em relação à concentração utilizada para produzir fibras por ES. No entanto, pode-se observar que as fibras cerâmicas apresentam porosidade semelhantes em ambas imagens (Figura 3).Por outro lado, a obtenção das fibras de Nb_2O_5, além do controle de viscosidade, envolve diferentes etapas durante o processo, a saber: a) evaporação do polímero PVP; b) nucleação e crescimentos dos cristais de Nb_2O_5 e c) transporte de massa na calcinação das mantas para formação das fibras sem a destruição do formato (1D). (LE VIET et al, 2010).

4 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados foram obtidas fibras inorgânicas de Nb_2O_5 utilizando o oxalato amoniacal de nióbio como precursor e PVP, através das técnicas de ES e SBS. Contudo, as fibras obtidas por ES apresentaram tamanhos menores (44 nm), comparada com aquelas produzidas por SBS (144 nm). No entanto, o SBS é uma técnica mais acessível e permite aumentar a concentração da solução (OAN) em pelo menos 10 vezes mais que àquela adequada para produzir fibras (OAN) por ES, possibilitando o aumento do rendimento final do material.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos aos técnicos e analistas da Embrapa Instrumentação pelo suporte técnico. Alunos do Grupo de Pesquisa pela parceria. SISNANO/MCTI, CNPQ, CAPES, FINEP, IFMA e Embrapa/ Rede AgroNano pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

LE VIET, A. et al Nanostructured Nb2O5 Polymorphys by Eletrospinning for recheargeable lithium batteries. Journal Physis Chemistry, v.144, p.664-671, 2010.

LEINDECKER, G. C.; ALVES, A. K.; BERGMANN, C.P. Synthesis of niobium oxide fibers by electrospinning and characterization of their morphology and optical properties. Ceramics Internacional, v.40, p. 16195-16200, 2014.

LOPES, O.F.; PARIS, E. C.; RIBEIRO, C. Synthesis of Nb2O5 nanoparticles through the oxidant peroxide method applied to organic pollutant photodegradation: A mechanistic Study. Applied Catalysis B: Environmental, v. 144, p.800–808, 2014.

TOLOSA, A. et Al. Niobium carbide nanofibers as a versatile precursor for high power supercapacitor and high energy battery electrodes. Jounal of Materials Chemistry A, v.4, p.16003-16016, 2016.

WANG, H. et al. Ultralight, Scalable, and high-temperature-resilient ceramic nanofiber sponges. Science Advance, v.3, p.1-9, 2017.

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE ÓXIDO DE ZINCO PELO METODO DE SOL-GEL

Victor Cunha Castro[1,2*], Elaine Cristina Paris[2]

1 – UFSCar, Rodovia Washington Luiz, Km 235, SP 310. 13565-905, São Carlos, SP
2 – LNNA – Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro 1452, 13560-970, São Carlos, SP
**victorcunha09@hotmail.com*

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio

Resumo
Há uma grande dependência externa na utilização de fertilizantes no Brasil, devido à alta demanda e a baixa produção interna. Devido a isso, é necessário o estímulo à produção desses materiais, de modo a diminuir essa dependência. Os nanoparticulados vêm sendo estudados como uma alternativa para fertilização do solo devido a sua alta solubilidade e dispersão ocasionada pela diminuição do tamanho da partícula. Para isto, é importante o desenvolvimento de métodos de modo a controlar o crescimento desse material durante a síntese. Neste contexto, tem-se como objetivo avaliar a formação de ZnO obtido pela síntese sol-gel em diferentes condições, a fim de otimizar o material de interesse formado. Para avaliar a formação e a fase de ZnO obtida foi realizado a caracterização estrutural dos materiais obtidos por meio da técnica de difração de raios X (DRX) e pela técnica de espectrofotometria na região do infravermelho com transformado de Fourier (FTIR). Os resultados das sínteses via sol-gel mostraram a obtenção da estrutura cristalina de ZnO, sem a presença de impurezas.
Palavras-chave: Nanopartículas, Óxido de zinco, Sol-gel, Fertilizante.

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF ZINC OXIDE BY THE SOL-GEL METHOD

Abstract
There is great external dependence on the use of fertilizers in brazil, due to high demand and low domestic production. It is necessary to stimulate the production of these materials in order to reduce this need. Nanometric particles are being used as a solution for soil fertilization due to their high solubility and dispersion, however, large-scale methods for the preparation of fertilizers like nanoparticles are still necessary to develop this technology in a consistent way. For this, methods and routes that can be used at industrial scales are important to supply the domestic market more easily. In this context, this project aims to evaluate the formation of ZnO obtained by the sol-gel synthesis in different concentrations and volumes to analyse which is more feasible to scale up. To evaluate the formation and the ZnO phase formed, was made x-ray diffraction (XRD) test and compared with the commercial ZnO standard, and the purity was evaluated by infrared (FTIR). The results showed that the ZnO phase obtained by all syntheses was the same as commercial ZnO, even at lower temperatures secondary phases wasn't detected and ftir only presented peaks common to commercial ZnO.
Keywords: Nanoparticles; Zinc Oxide, Sol-gel, Fertilizer.

INTRODUÇÃO

O Brasil possui grande dependência dos fertilizantes importados devido ao alto consumo e a baixa produção. Visto que o Brasil é um país de grande produção agrícola, essa dependência é bastante prejudicial ao mercado nacional, deixando clara a necessidade da criação de materiais novos a fim de abastecer o mercado interno e diminuir a dependência exterior. O aumento da solubilidade de fertilizantes minerais vem sendo uma alternativa para a disponibilidade de nutrientes no solo e reduzir custos. Grande parte desses fertilizantes minerais apresenta baixa solubilidade, dessa forma a utilização de nanopartículas é extremamente relevante, devido ao aumento da área superficial do material.

O zinco está entre os micronutrientes cuja aplicação regular é uma das mais necessárias, devido à carência generalizada nos solos brasileiros. Sua deficiência compromete diretamente o crescimento foliar e o número produzido de sementes (LIN e XING, 2008). Entre os materiais passíveis de serem utilizados, o óxido de zinco é o que apresenta o maior teor de zinco por grama de fertilizante, apresentando 80% do íon metálico, tendo maior ganho no transporte deste nutriente. No entanto, comparativamente aos demais fertilizantes minerais utilizados, o ZnO tem comportamento insolúvel, o que diminui sua aplicação, já que fertilizantes são absorvidos pela planta na forma de íons solúveis (LIN e XING, 2008). No entanto, os atuais métodos como micronização e ressuspensão, não são completamente efetivos em larga escala para preparação de particulados de ZnO mais solúvel.

O método sol-gel possibilita a obtenção de materiais nanoparticulados devido ao controle do crescimento do tamanho das partículas. A partir da otimização das condições de síntese como pH, concentração do precursor e do agente mineralizante é possível obter um material com fase, pureza, cristalinidade e tamanho desejados (MORAES, E. A., 2002).

Deste modo, o presente trabalho visa utilizar o método sol-gel, a fim de obter nanopartículas de ZnO para possível aplicação como fertilizantes a partir do estudo de solubilidade das mesmas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Métodos de síntese

O processo de síntese foi baseado no método de Giraldi, T. R., et al. (2011). Na síntese foi utilizado o acetato de zinco dihidratado [$Zn(CH_3COO)_2.2H_2O$] (Synth) como precursor, HNO_3 (Protoquimio, 68%, PA), NH_4OH (Synth) e água destilada como solvente. Foram preparadas diferentes soluções de acetato de zinco com a concentração de 0,025 M, visando a obtenção de 1 grama de material. Outras duas soluções foram preparadas variando a concentração e volume de modo a obter 3 gramas de rendimento. Em seguida, ajustou-se o pH das soluções para 3, utilizando-se HNO_3 concentrado. Posteriormente foi adicionado NH_4OH concentrado até o alcance de pH 8, momento no que houve a formação dos géis. Após isso, todas as soluções foram centrifugadas à 8000 rpm por 10 min à 10°C e calcinadas. A calcinação foi realizada nas temperaturas de 350ºC a 500ºC, com taxa de 5ºC por min por 2 horas, para eliminação de compostos orgânicos remanescentes e obtenção da fase.

2.2 Análise do ZnO

Foram avaliadas a fase obtida e a pureza por Difratometria de raios X (DRX) (Shimadzu®, modelo LabX XRD-6000) quando comparado com as fichas cristalográficas de um banco de dados como a JCPDS (Joint Committee of Diffraction Standarts) e Espectroscopia de Infravermelho com Transformadas de Fourier (FTIR)(Bruker VERTEX FT-IR), os resultados foram obtidos com 32 varreduras de 4000 a 400 cm^{-1} e resolução de 4 cm^{-1} .

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a realização da síntese via sol-gel seguida pela calcinação do material, foram obtidos os produtos a partir da variação da concentração do precursor de zinco. Na Tabela 1 abaixo são mostrados a nomenclatura e condições de cada amostra.

Tabela 1. Nomenclatura das amostras em relação aos tratamentos

Amostra	Concentração de $Zn(CH_3COO)_2$/M	Volume/mL
A1	0,075	500
A2	0,025	1500
A3	0,025	500

As temperaturas de calcinação de cada material foram adicionadas como sufixo dos materiais, A1 350, A1 500, A2 350, A2 500, A3 350 e A3 500.

Os materiais obtidos foram caraterizados estruturalmente pela técnica de difração de raios X, como apresentado na Figura 1, e realizado a comparação com o ZnO comercial.

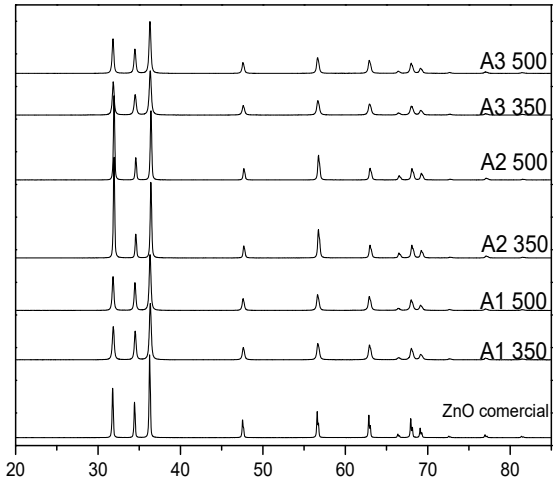


Figura 1. Difratogramas de raios X de ZnO das amostras obtidas via sol-gel e comercial.

Verificou-se pelos difratogramas de raios X (Figura 1) a obtenção da fase cristalina característica do ZnO, já relatada na literatura Hasnidawani, J. N., et al. (2016). Assim, as variações das condições não interferiram na formação da fase do ZnO. Também, não foi observado o aparecimento de fases secundárias, bem como a presença de impurezas cristalinas pela técnica. A fim de averiguar a obtenção da fase e pureza do material obtido, foi realizada a espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), apresentada na Figura 2.

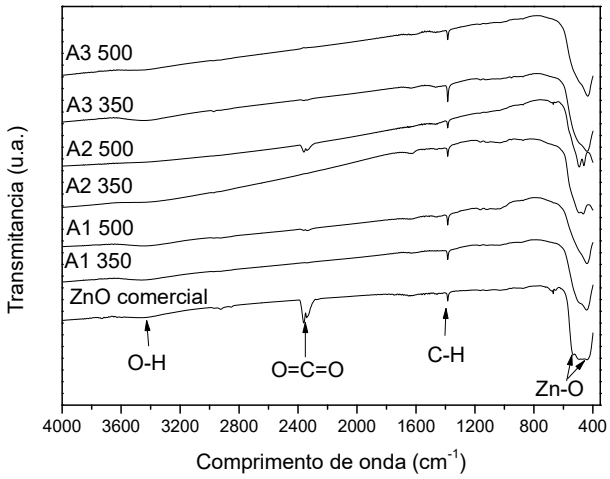


Figura 2. Espectros de FTIR das amostras de ZnO obtidas via sol-gel e comercial.

Por meio dos resultados de FTIR, apresentados na Figura 2, é possível observar as bandas vibracionais típicas do ZnO, sendo os picos entre 514 e 442 cm^{-1} característicos da vibração Zn-O (Jurablu, 2015). As bandas vibracionais encontradas em 2390 cm^{-1} são atribuídas à presença de dióxido de carbono, enquanto as bandas vibracionais em 1384 cm^{-1} são atribuídas ao alongamento de C-H. Assim, tanto o ZnO comercial quanto os obtidos via sol-gel mostraram a presença de impurezas (Figura 2).

4 CONCLUSÃO

Portanto, o método sol-gel permite a obtenção de óxido de zinco com a fase cristalina do ZnO característica e equivalente ao material comercial. Além disso, a variação do volume da solução e concentração do precursor permitiu a obtenção do material desejado, não influenciando negativamente na produção do material.

AGRADECIMENTOS

Técnicos e Analistas da Embrapa Instrumentação pelo suporte técnico. Alunos do Grupo de pesquisa pela parceria. SISNANO/MCTI, CNPq, CAPES, FINEP, e Embrapa/Rede AgroNano pelo apoio financeiro**.**

REFERÊNCIAS

Giraldi, T. R., et al. (2011). Annealing Effects on the Photocatalytic Activity of ZnO Nanoparticles. Journal of Nanoscience and Nanotechnology.

MORAES, E. A. Incorporação de Er em SnO_2 obtido via sol-gel: uma análise de xerogéis e filmes finos. Dissertação de Mestrado. Pós-graduação em Ciência e Engenharia de Materiais. USP. São Carlos (2002).

Hiratsuka, R. S., Santilli, C. V., & Pulcinelli, S. H. (1995). O processo sol-gel: uma visão físico-química. Química Nova.

Rayerfrancis, A., et al. (2015). Effect of pH on the morphology of ZnO nanostructures and its influence on structural and optical properties. Physica B: Condensed Matter, 457(3), 96–102.

Giraldi, T. R., et al. (2012). Effect of synthesis parameters on the structural characteristics and photocatalytic activity of ZnO. Materials Chemistry and Physics, 136(2–3), 505–511.

Naveed, A., et al. (2017). Synthesis Approaches of Zinc Oxide Nanoparticles: The Dilemma of Ecotoxicity, 2017(Table 1).

Assi, N., et al. (2016). Studies on photocatalytic performance and photodegradation kinetics of zinc oxide nanoparticles prepared by microwave-assisted sol-gel technique using ethylene glycol. Journal of the Iranian Chemical Society, 13(9), 1593–1602.

BHADANE, H., SAMUEL, E., & GAUTAM, D. K. (2014). Influence of post annealing on sol-gel deposited ZnO thin films. Surface Review and Letters, 21(4), 1450046.

Hasnidawani, J. N., et al. (2016). Synthesis of ZnO Nanostructures Using Sol-Gel Method. Procedia Chemistry, 19, 211–216.

LIN e XING, Environ. Sci. Yechnol, 42, 2008, p. 5580-5585

S. Jurablu, M. Farahmandjou, T. P. Firoozabadi (2015). Sol-Gel Synthesis of Zinc Oxide (ZnO) Nanoparticles: Study of Structural and Optical Properties. Journal of Sciences, Islamic Republic of Iran 26(3): 281 – 285

MOAGEM DE ÓXIDO DE ZINCO EM MOINHO ATRITTOR E AVALIAÇÃO DO CONTROLE DE MORFOLOGIA DE PARTÍCULA

Túlio Jardini Aímola*[1], Elaine Cristina Paris[2]

(1 – UFSCar, Rodovia Washington Luiz, Km 235, SP 310. 13565-905, São Carlos, SP
2 – LNNA – Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro 1452, 13560-970, São Carlos, SP
**tjaimola@gmail.com*

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio.

Resumo
O zinco (Zn) é um micronutriente essencial para plantas, dada sua presença em diversas enzimas responsáveis em diversos processos metabólicos nas sementes e plantas. Sais de zinco são amplamente utilizados em plantações, sendo ZnSO4 e ZnO as fontes mais comuns. Estes são comumente aplicados com fertilizantes NPK, utilizando principalmente sais de zinco granulados. Entretanto, boa parte destes sais possuem contra íons muito pesados, aumentando os custos de transporte e armazenagem destes produtos. O ZnO apresenta uma grande vantagem neste sentido, porém também apresenta baixa solubilidade. O tamanho de grânulo deste sal altera significativamente sua solubilidade e, consequentemente, sua disponibilidade em solos, sendo importante estudarmos métodos de controlar a morfologia das partículas deste sal. O objetivo deste projeto foi estudar como a moagem em moinho mecânico de alta energia (atrittor) afetariam sua morfologia, controlando parâmetros como o solvente utilizado e o tempo de moagem. As técnicas de análise empregadas foram a espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier e microscopia eletrônica de varredura com fonte de emissão de campo. Concluímos que a moagem é eficaz em fornecer um produto muito mais homogêneo e com tamanhos de partícula menores utilizando tempos curtos de moagem e solventes baratos como água.
Palavras-chave: Óxido de Zinco; Partículas nanométricas; Moagem mecânica de alta energia.

HIGH-ENERGY MECHANIC MILLING (ATRITTOR) OF ZINC OXIDE AND ANALYSIS ON THE CONTROL OF PARTICLE MORPHOLOGY

Abstract
Zinc (Zn) is an essential micronutrient for plant growing. It is a key component in many enzymes, acting in many metabolic processes in plants and seeds. Zinc salts are largely employed on crops, being ZnSO4 and ZnO the most common sources. Zinc fertilizers are commonly applied with NPK fertilizers, mainly employing granulated zinc salts. However, the majority of zinc salts consists of heavy counter-ions (like ZnSO4) which increases the transportation and storage costs of those products. ZnO exhibits a great advantage in spite of that, but its downside is its poor solubility. Since particle size significantly affects the solubility of ZnO and consequently its availability in soils, it is very important to develop methods to control its morphology. The main goal in this project is to study how the high-energy mechanic milling (atrittor) of ZnO would affect its morphology. We controlled parameters like solvent and milling time. We employed infrared spectroscopy with Fourier transformation and scanning electron microscope with field emission gun as analytical tools for evaluation. We concluded that wet milling is an effective method to obtain a product with high homogeneity and smaller particle size employing short milling times and cheap solvents like water.
Keywords: Zinc Oxide; Nanometric particles; High-energy mechanic milling.

1 INTRODUÇÃO

1.1. Fertilizantes de Zinco

O Zinco (Zn) é um micronutriente essencial para plantas com atuação em diversos processos bioquímicos, como síntese de clorofila e integridade da membrana celular. Sua deficiência afeta a coloração da folhagem e a homeostase das células da planta, limitando seu crescimento.

Um bom fertilizante requer que este possua alta solubilidade em meio aquoso e boa disponibilidade no solo para absorção pelas plantas. O óxido de zinco apresenta baixa solubilidade em meio aquoso, mas exibe uma boa absorção por plantas quando este se encontra em partículas nanométricas. Partículas manométricas apresentam uma área superficial maior quando comparadas com o material grosso, que consequentemente aumenta a disponibilidade de zinco a ser absorvido e solubilizado em solos, tornando-se um fertilizante melhor. Um dos compostos de zinco mais utilizados em formulações de fertilizantes é o $ZnSO_4$, porém o alto peso molecular do contra íon sulfato (SO_4^{2-}) aumenta custos de armazenagem e transporte numa quantidade fixa de fertilizante em comparação ao ZnO. Ainda falando sobre uma mesma quantidade destes sais, o $ZnSO_4$ possui menor quantidade de zinco do que o ZnO, que tem uma relação maior do micronutriente por molécula

É conhecido que partículas menores tem maior tendência a se solubilizar do que partículas maiores. A relação entre a solubilidade e o tamanho de partícula pode ser descrita através da equação de Ostwald-Freundlich:

$$S_d = S_0 \,.\, exp^{\left(\frac{V_m}{RTd}\right)} \quad (1)$$

na qual R é a constante dos gases, T é a temperatura absoluta, V_m é o volume molar do soluto, S_d é a solubilidade de pequenas partículas com diâmetro d, S_0 é a solubilidade do equilíbrio e γ a tensão superficial. Logo, é possível observar que o diâmetro d das partículas afetará a sua solubilidade em uma relação inversa. Portanto, é de grande interesse desenvolvermos metodologias e estudos na obtenção de materiais nanoparticulados.

1.2. Objetivos

Este trabalho tem como objetivo a obtenção do óxido de zinco nanoparticulado através de moagem em fase líquida variando-se o solvente utilizado e o tempo de moagem, com intuito de estudar forma, distribuição e tamanho de partículas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os reagentes utilizados foram oxido de zinco em pó (fornecido em parceria pela empresa citada), isopropanol (Synth, 100% de pureza) e água deionizada. O moinho utilizado neste estudo é o moinho de laboratório Netzsch PE075 com pás de cerâmica e bolas de moagem de óxido de zircônio.

Preparou-se uma suspensão de proporção 2:1 do solvente/ZnO em massa sob agitação manual. A suspensão foi colocada no compartimento de moagem juntamente com as bolas de moagem, em uma proporção em volume de 40% de suspensão de ZnO e 60% de bolas. Deixou-se a moagem proceder sob o tempo pré-determinado para o experimento. Em todos os experimentos a taxa de rotação do moinho foi programada para 500 RPM. Ao final do tempo, todo o material foi recuperado com lavagens de água deionizada e a suspensão final foi centrifugada a 10000 RPM por 8 minutos para precipitação do ZnO moído. Estes pós foram colocados em uma placa de petri refratária e levado à estufa para secagem por 12h a temperaturas de 70 ºC.

Para a análise, utilizou-se espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier e microscopia eletrônica de varredura com fonte de emissão de campo.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Microscopia eletrônica de varredura com fonte de emissão de campo

Algumas das imagens de microscopia dos compostos obtidos encontram-se na Figura 8 abaixo.

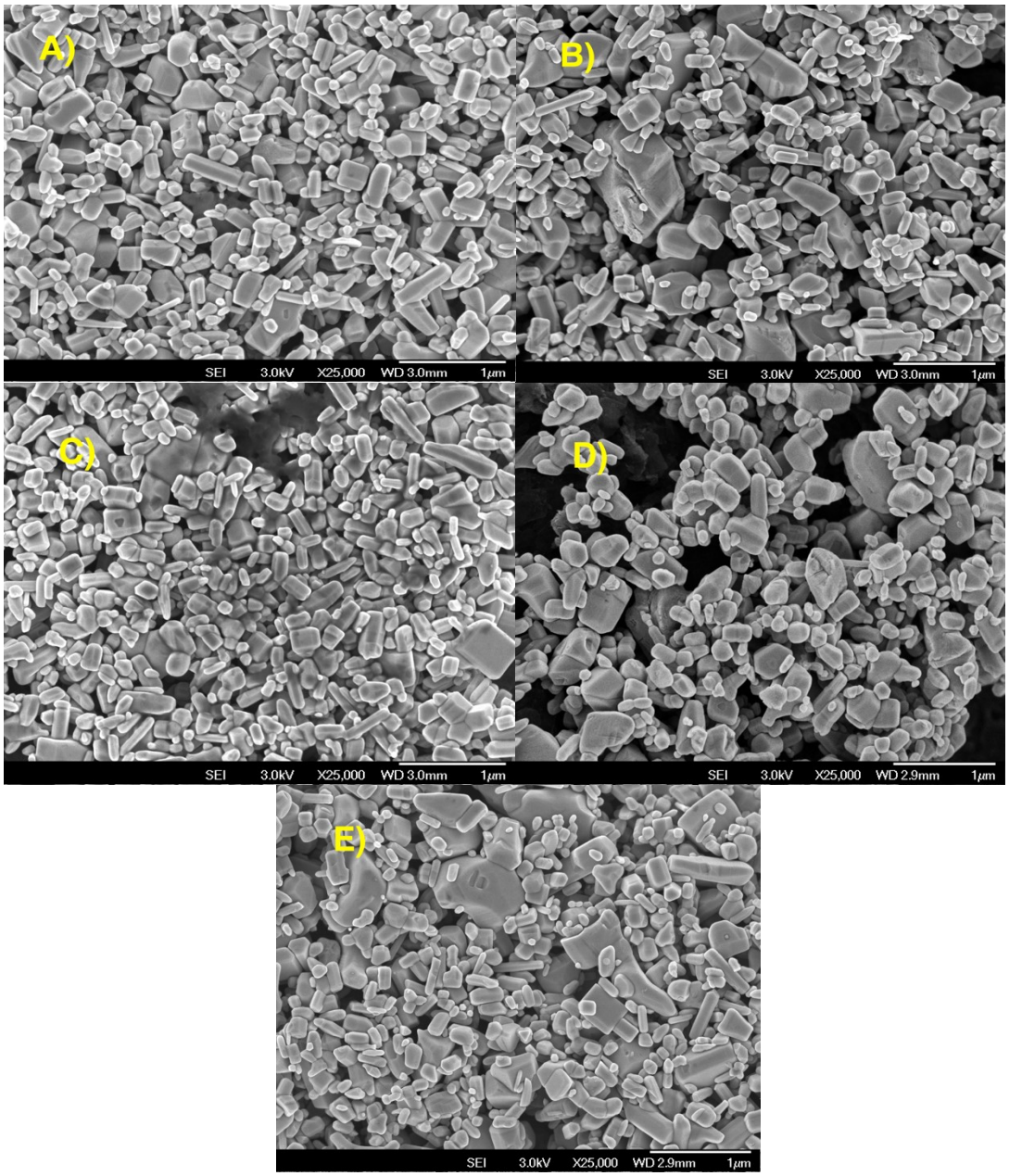


Figura 1. FEG-SEM dos ZnO obtidos. (A) 1h em água, (B) 2h em água, (C) 1h em isopropanol, (D) 2h em isopropanol e (E) amostra comercial.

Tabela 1. ***Tamanho médio de partícula para cada uma das condições estudadas.***

Condição de Moagem	Tamanho Médio de Partícula (nm)
1h/Água (A)	155.9 ± 62.6
2h/Água (B)	144.5 ± 54.2
1h/Isopropanol (C)	143.6 ± 48.3
2h/Isopropanol (D)	174.6 ± 66.8
Amostra Comercial (E)	184.1 ± 58.7

A partir da observação das amostras no FEG-SEM pudemos notar que todas as condições de moagem foram efetivas em diminuir o tamanho de partícula médio. A amostra comercial (E) apresenta diversas partículas de grande tamanho e, após a moagem, a quantidade observada destas partículas diminuiu. As medições de tamanho de partícula a partir das imagens obtidas no FEG-SEM mostram

que a condição que apresenta a maior homogeneidade e menor tamanho de partícula é em 1h de moagem em Isopropanol. Nenhuma das amostras apresentou grandes quantidades de agregados.

3.2. Espectrocopia de Infravermelho com Transformada de Fourier

Os espectros na região do infravermelho dos produtos obtidos encontram-se na Figura 2 abaixo.

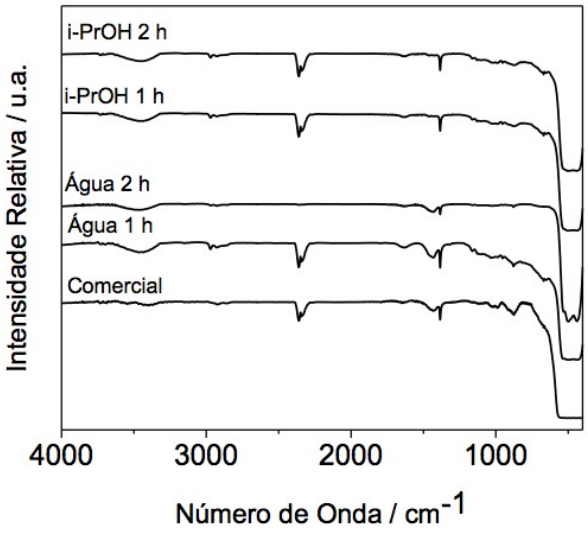


Figura 2. - Espectros na região do infravermelho dos ZnO obtidos.

Pelos espectros obtidos é possível observar que não há grande quantidade de impurezas nas amostras analizadas. Os picos entre 514 e 442 cm^{-1} são característicos de vibrações do ZnO (JURABLU, S. Et al). Todos os espectros observados estão em grande acordo com a literatura.

4 CONCLUSÃO

Concluiu-se que o método dos precursores poliméricos é eficaz na síntese de óxido de zinco nanoparticulado com alta homogeneidade. A condição com menor tamanho médio de partícula foi a moagem em isopropanol por 1h. Entretanto, resultado similar pode ser obtido com moagem em água por 2h, o que apresenta vantagens econômicas e ambientais comparado ao uso de isopropanol.

AGRADECIMENTOS

Técnicos e Analistas da Embrapa Instrumentação pelo suporte técnico. Alunos do Grupo de pesquisa pela parceria. SISNANO/MCTI, CNPq, CAPES, FINEP, e Embrapa/Rede AgroNano pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

YAKUSHOVA, N. D. et al. Research of structural properties of zinc oxide nanopowders obtained by high-energy mechanical milling (attritor) using Raman spectroscopy. 2017 J. Phys.: Conf. Ser. 872 012032.

MORTVEDT, J. J., GILKES R.J. Zinc Fertilizers. Zinc in Soils and Plants. Developments in Plant and Soil Sciences, v. 55., pp 33-44, 1993.

USO DE NANOCOMPÓSITOS FERTILIZANTES PARA DISPONIBILIZAÇÃO EFICIENTE DE FÓSFORO E NITROGÊNIO PARA O SOLO

Amanda S. Giroto[1,2], Gelton Geraldo Fernandes Guimarães[2], Caue Ribeiro[2]

1Universidade Federal de São Carlos, Departamento de Química - Rod. Washington Luiz, km 235, São Carlos - SP, CEP: 13565-905, Brasil (asgiroto@gmail.com)
2Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro, 1452, São Carlos - SP, CEP: 13560-970, Brasil (caue.ribeiro@embrapa.br)

Classificação: 4 - Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio
4.1- Nanoestruturas para a Liberação controlada

Resumo
O desenvolvimento de práticas de fertilização eficazes tornou-se cada vez mais importante devido à demanda global cada vez maior de produção de alimentos. Uma abordagem para melhorar a eficácia da fertilização com fosfato e uréia é realizar a incorporação desses compostos em nanocompósitos que de forma a controlar a liberação de ureia e fósforo (P) no solo. Assim, o trabalho consistiu na preparação de nanocompósitos a partir da dispersão de partículas de hidroxiapatita em ureia (Ur) ou misturas de amido/ureia termoplástico (TPSUr) como matrizes, nas proporções de 50% e 20%. Esses materiais foram submetidos a testes em solo de forma a simular o comportamento dos compósitos em sistemas mais próximo do real. partir. Foi possível verificar que a interação resultante da dispersão de Hap na matriz de ureia reduziu a adsorção de fósforo e consequentemente proporcionou maior disponibilidade de desse nutriente após 4 semanas de incubação no solo.
Palavras-chave: Liberação Lenta; Fosfatos; Dispersão; Ureia.

USE OF COMPOSITES FERTILIZER FOR PHOSPHORUS AND NITROGEN AVAILABILITY IN SOIL

Abstract
The development of effective fertilization practices has become increasingly important due to the ever-increasing global demand for food production. One approach to improve the efficiency of fertilization with phosphate and urea is to incorporate these compounds into nanocomposites that control the release of urea and phosphorus (P) in the soil. Thus, the work consisted in the preparation of nanocomposites from the dispersion of hydroxyapatite particles in urea (Ur) or mixtures of thermoplastic starch / urea (TPSUr) as matrices, in proportions of 50% and 20%. These materials were subjected to soil tests in order to simulate the behavior of the composites in systems closer to the real. leave. It was possible to verify that the interaction resulting from the dispersion of Hap in the urea matrix reduced the adsorption of phosphorus and consequently provided greater availability of this nutrient after 4 weeks of incubation in the soil.
Keywords: ControlledRelease; Phosphate; Dispersion; Urea.

Publicações relacionadas: Publicado em Scientific Reports 7:46032. doi: 10.1038/srep46032

1 INTRODUÇÃO

O nitrogênio (N) e o fósforo (P) são dois importantes macronutrientes responsáveis pelo crescimento e rendimento de culturas agrícolas. O desenvolvimento de práticas eficientes de fertilização tornou-se cada vez mais importante devido à crescente demanda global por produtos alimentares. Cerca de 40-70% de N e 80-90% de P aplicados como fertilizantes normais são perdidos para o ambiente ou ligados quimicamente no solo e não estão disponíveis para plantas (LARA-CABREZAS et al., 1999; Guo et al., 2005; JAROSIEWICZ, TAMASZEWSHA, 2003; WU, LIU, 2015; EL-AILA et al. 2015).

A baixa eficiência dos fertilizantes de P é atribuída à formação de óxidos à base de Fe e Al, especialmente em solos tropicais. A maioria dos P liberados da matéria orgânica e dos fertilizantes são rapidamente eliminados por minerais do solo e transformado em compostos inorgânicos insolúveis que são suscetível a lixiviação (ANSTOETZ et al., 2015). As concentrações de PO_4^{3-} no solo são normalmente muito baixas (menos de 0,01 a 1,00 ppm) (JUO, FOX, 2015; BORGGAARD et al., 1990). Por outro lado, a alta volatilização de NH_3 devido a uma hidrólise rápida da ureia, leva a uma acumulação de NH_4^+ e aumento do pH do solo. Recentemente, o uso de fertilizantes de liberação lenta (SRF) foi considerado uma estratégia promissora para melhorara utilização de macronutrientes. Os fertilizantes de liberação lenta são projetados para liberar gradualmente seus teores de nutrientes para coincidir com a necessidade de nutrientes das plantas. A combinação de ureia e fosfato dentro de uma única matriz tem o potencial de diminuir a fixação P no solo. O alto pH criado na matriz de amido da conversão de ureia a NH_4^+ pode mudar a dinâmica de fixação química do fósforo no solo. Portanto, a dispersão de minerais ricos em fosfato e uréia em amido termoplástico para a formação de nanocompósitos pode fornecer controle sobre a liberação de ureia e aumento da disponibilidade de P no solo.No presente trabalho, apresentamos a síntese de nanocompósitos produzidos a partir de TPS, ureia e fosfato como uma matriz de fertilizante de liberação lenta. E foram avaliados os papéis sinérgicos desempenhados pelas matrizes hospedeiras na prevenção da imobilização de fosfato e volatilização de nitrogênio quando em contato com o solo.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Liberação e Disponibilidade de fósforo em solo

A liberação de fósforo no solo foi avaliada usando amostras de solo (50 g amostra^{-1}) seguida da incubação de Hap, SSP (Super Simples, fertilizante comercial) ou nanocompósitos na razão de 5000:1 solo:P (g g^{-1}) em sacos plásticos com capacidade de 300 mL. Água destilada foi adicionada para manter a umidade do solo em 80% de sua capacidade de retenção de água. Amostras foram incubadas por0 e 42 dias em temperatura e umidade controlada. Depois do período de incubação, os solos foram secos em ar e passados em peneira de 2 mm. O fósforo disponível foi extraído com água e resina aniônica conforme proposto por Quaggio e Raij (2001). A extração de P com água foi realizado na razão de 1:5 água:solo. Onde 5 g de solo foi pesados em tubos Falcon de 50 mL e adicionados a eles 25 mL de água. Agitou-se os tubos e após a agitação a suspensão foi centrifugada a 3000 rpm por 15 min e o sobrenadante (extrato) foi coletado para determinação de P disponível. Este procedimento de extração foi repetido três vezes para cada tratamento. O conteúdo de P extraído (P-água) e (P-resina) foi medido por espectrometria de absorção molecular. O conteúdo de P no solo no momento inicial da incubação (0 dia) também foi determinado assim como o pH (H_2O) do solo (razão solo: água, 1:2,5) utilizando um eletrodo de vidro.

As quantidades de P disponível foram expressas pela porcentagem do total de P aplicado ao solo. As porcentagens de P extraído pela água foram expressas como a soma das três sucessivas extrações.As diferenças entre os valores médios foram determinadas pela análise de variância (ANOVA) e teste F. As diferenças entre pares de tratamento foram determinadas pelo teste de Duncan com nível de significância de 0,05.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A liberação de P a partir das fonte Hap, SSP ou nanocompósitos aplicados ao solo foi avaliada em 0 após 42 dias de incubação aeróbia com temperatura e umidade controladas. A fração de fósforo disponível (lábil) foi extraída em água e resina aniônica. A disponibilidade de P no solo exibiu um comportamento semelhante para ambos os extratores, mas com diferentes extensões. A resina de troca de ânions promoveu uma maior extração da fração de P disponível, com valores entre 44 e 97% do total de P aplicado, enquanto a água extraiu somente uma pequena fração de P disponível, com valores variando entre 1 e 26%.

A Tabela 1 mostra a fração de P disponível em água no início (0 dia) e após o período de incubação (42 dias), em relação ao P total incubado no solo. O SSP e Hap pura tiveram solubilidade em água semelhante no início da incubação, com uma média de 26 e 21% do P total, respectivamente. A dispersão de Hap dentro da matriz de ureia, como nos nanocompósitos UrHap50 e UrHap20, não

aumentou a liberação de P em comparação com o Hap puro. Por outro lado, a matriz TPSUr diminuiu a liberação de P da Hap.Este resultado pode ser atribuído a maior solubilidade em solo da Hap, semelhante à da SSP, que não refletiu o efeito da dispersão da matriz solúvel quando aplicado ao solo. Para a matriz TPSUr pode ser atribuída o efeito de retenção e o controle de liberação fornecido pelo polímero, atuando como uma barreira física e retardando a liberação de P para o solo, diferente da observada na solução de liberação de ácidos cítrico a 2%.

Após 42 dias houve uma redução da fração lábil de P no solo extraído com água para SSP e Hap, em comparação com o P disponível no início da incubação. Essa redução é atribuída à adsorção de P pelos colóides do solo. O solo possui características que promoveram uma alta adsorção de P, como:baixo pH, baixo teor de P disponível, pouco teor de P remanescente e alto potencial de acidez. Além disso, a prevalência de óxidos de Fe e Al em neste solo torna o P mais suscetível à adsorção.

Tabela 1. P disponível na fração de solo extraída com água (P-água) e extraída por resina aniônica (resina P) após o período de incubação aeróbia SSP de Hap e nanocompósitos em comparação com o P aplicado ao solo.

Tratamento	% P disponível				
		0 dia	42 dias	0 dia	42 dias
Hap	P-água	21.0 ab*	2.9 c	96.2 a	44.1 d
SSP		25.9 a	3.4 c	91.8 a	49.1 d
UrHap20		19.6 b	25.6 a	97.5 a	87.3 a
UrHap50		19.9 b	22.3 a	81.9 a	88.6 a
TPSUr/Hap20		11.4 c	0.7 d	76.0 a	62.6 bc
TPSUr/Hap50		4.6 d	10.6 b	69.2 a	73.8 ab

* Valores médios relatados por incubações triplicadas. Os valores dentro de uma coluna seguida pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Duncan com um nível de significância de 0,05.

Enquanto que os nanocompósitos UrHap50 e UrHap20 apresentaram uma maior disponibilidade de P após o período de incubação, mostrando uma diminuição da adsorção de P pelo solo em comparação com SSP e Hap. Este resultado pode ser explicado por dois fatores: o primeiro está relacionado ao aumento do pH do solo em torno das partículas devido à hidrólise da ureia, que pode atingir o valor entre 8 a 9. O segundo fator é a interação entre o íons NH_4^+ formados durante a hidrólise da liberação de ureia e ânion P de Hap, proporcionando uma redução na adsorção de fósforo.

A Tabela 2 mostra a mudança de pH após a incorporação dos fertilizantes ou nanocompósitos no solo no tempo inicial (0 dia) e 42 dias após a incubação. O pH do solo aumentou para Hap e os tratamentos com compósitos no tempo inicial, que pode ser atribuído ao maior pH dessas fontes (pH ≈ 6 para Hap e 7 para ureia) em relação ao pH inicial do solo (pH = 5,19).

Tabela 2. Valor do pH após o período de incubação aeróbia do solo, SSP, Hap e nanocompósitos no solo.

Tratamento	pH depois da incubação		Δ pH [2]	
	0 dia	42 dias	0 dia	42 dias
Solo	5,19 ± (0,04)[1]	4,94 ± (0,03)	-	-
Hap	6,09 ± (0,04)	4,85 ± (0,02)	0,90	- 0,08
SSP	4,91 ± (0,02)	5,24 ± (0,04)	- 0,28	0,30
UrHap20	6,36 ± (0,03)	7,20 ± (0,01)	1,17	2,26
UrHap50	7,09 ± (0,05)	7,90 ± (0,05)	1,90	2,97
TPSUr/Hap20	5,84 ± (0,01)	6,30 ± (0,06)	0,65	1,37
TPSUr/Hap50	6,31 ± (0,02)	7,58 ± (0,06)	1,12	2,65

1 Valores médios relatados a partir de três núcleos de solo replicados, com desvios padrão entre parênteses.

2Diferença em pH de cada tratamento em relação ao solo.

Por outro lado, observou-se uma pequena diminuição no pH do solo após a incorporação do SSP, relacionada ao seu caráter ácido. Após 42 dias de incubação, o pH do solo fertilizado com Hap ou SSP manteve-se próximo do pH do solo sem a fertilização, com pH em torno de 5. No entanto, no

mesmo período, o solo incubado com os nanocompósitos mantiveram um pH maior em comparação com o solo controle, apresentando valores entre 6,30 e 7,90. Esse aumento no pH local é provocado pela hidrólise da ureia seguido pela baixa CEC e capacidade tampão do solo.Assim, os resultados indicaram que a interação entre ureia e Hap, para ambos os nanocompósitosUrHap50 e UrHap20, proporcionaram disponibilização do fósforo mais homogênea durante toda a incubação.

A extração do P disponível pela resina aniônica apresentou a mesma tendência que para o P extraído por água. No entanto, através do uso da resina é possível extrair uma maior fração de P-lábil (Tabela 1). Após 42 dias de incubação da Hap e SSP, a disponibilidade de P diminuiu para 42 e 52%, respectivamente, demonstrando uma adsorção P. Por outro lado, os nanocompósitos contendo Ur/Hap apresentaram pouca variação durante o mesmo período e apresentaram uma maior disponibilidade de P com valores entre 82 e 97% em relação ao P total aplicado ao solo. Da mesma forma, os nanocompósitos contendo TPSUr/Hap também apresentaram uma disponibilização de fósforo mais homogênea durante o período de incubação, porém com valores um pouco menores que variaram entre 62 e 76%.

4 CONCLUSÃO

The control over the nutrient release and homogenous availability of nutrients in the soil are desirable characteristics of fertilizers that have increased interest in research. In this paper we present the results of the P-availability in the soil. In the conditions tested in this work, the interaction between Hap and urea are probably the responsible factors that reduced phosphorus immobilization and consequently greater P availability in the soil during the incubation period.

REFERÊNCIAS

1. LARA-CABEZAS, W. A. R. et al. Calibration of a semi-open static collector for determination of ammonia volatilization from nitrogen fertilizers. Communications soil science plant analysis, v. 30, 389-406, 1999.

2. GUO, M. Y. et al. Preparation and properties of a slow-release membrane-encapsulated urea fertilizer with superabsorbent and moisture preservation. Industrial & Engineering Chemistry Research, v. 44, 4206-4211, 2005.

3. JAROSIEWICZ, A.; TOMASZEWSKA, M. Controlled-release NPK fertilizer encapsulated by polymeric membranes. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 51, 413-417, 2003.

4. WU, L.; LIU, M. Preparation and properties of chitosan-coated NPK compound fertilizer with controlled-release and water retention. Carbohydrates Polymers, v.72**,** 240–247, 2008.

5. EL-AILA, H. I.; EL-SAYED, S. A. A; YASSEN, A. A. Response of Spinach Plants to Nanoparticles Fertilizer and Foliar Application of Iron. International Journal of Environmental Science and Technology, v.4**,** 181-185, 2015.

6. Anstoetz, M. *et al.* Novel Applications for Oxalate-Phosphate-Amine Metal-Organic-Frameworks (OPA-MOFs): Can an Iron-Based OPA-MOF Be Used as Slow-Release Fertilizer? Plos One v.10**,** n.12**,** 1-16**,** 2015.

7. JUO, A. S. R.; FOX, R. L. Phosphate sorption capacity of some benchmark soils in West Africa. Soil Science. v. 124, 370-376, 1977.

8. BORGGAARD, O. K. et al. Influence of organic matter on phosphate adsorption by aluminum and iron oxides in sandy soils. European Journal of Soil Science, v. 41, 443-449, 1990.

9**.** QUAGGIO, J. A.; RAIJ, B. van. Determinação do pH em cloreto de cálcio e da acidez total in Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais (eds Raij, B. van, Andrade, J. C., Cantarella, H. & Quaggio, J. A.) 181–188 (Instituto Agronômico, 2001).

OBTENÇÃO DE NANOFIBRAS DE AMIDO POR ELETROFIAÇÃO

Mayara Coelho Sá[1,2]; Edson Tobias de Jesus[1,2]; Aline Aparecida Becaro[2]; Edjane Rocha dos Santos[2]; Elaine Cristina Paris[2]

[1] Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) - Departamento de Química, Rodovia Washington Luiz, s/n, Km 235 13565905, São Carlos, SP.
[2]LNNA- Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro 1452, 13560-970, São Carlos, SP. e-mail de contato: mayara.sa@ifma.edu.br

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio

Resumo
O objetivo principal desse trabalho é desenvolver nanofibras de amido através da eletrofiação. Na metodologia os grânulos de amido foram caracterizados por difração de raio-X e Infravermelho com propósito de verificar contaminantes existentes e a classificação do amido. Em seguida, as soluções poliméricas foram preparadas com diferentes concentrações, a saber: 15%; 16% e 17% (m/v) de amido, solubilizadas em ácido fórmico por 24 horas em temperatura ambiente e agitação mecânica constante. Os resultados da Micrografia Eletrônica de Varredura apresentaram nanofibras de diâmetro entre 40 a 240 nm. Foi possível obter nanofibras de amido com a técnica empregada, com potencial para aplicação nas áreas biomédicas, principalmente por sua elevada área superficial.
Palavras-chave: Síntese; Nanofibras; Amido.

OBTENTION OF NANOFIBERS OF STARCH BY ELECTROSPINNING

Abstract
This work had as main objective the development of nanofibers of starch through the electrospinning. In the methodology of the starch granules were characterized by ray diffraction and infrared in order to verify existing contaminants and the type of starch used in the electrospinning of different concentration: 15%; 16 and 17% starch in formic acid stirred for 24 hours at room temperature, in addition to viscosity measurements. The results indicated that as nanofibers had a diameter of 40 to 240 nm, for the amylose and amylopectin starch. Finally, it was possible to obtain starch nanofibers, with potential for application in the biomedical areas, mainly due to the superficial surface.
Keywords: Synthesis; Nanofibres; Starch;

1 INTRODUÇÃO

O amido é constituído pela amilose e amilopectina. A primeira macromolécula é linear com unidades de glicose unidas por ligações glicosídicas nas posições α-1,4, cristalina e solúvel em água fervente, com massa molar média de 5 x 10^6 g mol^{-1} que apresenta aproximadamente 20% em porcentagem em massa de amido. A segunda macromolécula tem estrutura ramificada formada por unidades de glicose unidas em α-1,4 e α-1,6, apresenta composição média de 80% em massa, é insolúvel em água fervente e tem massa molar com variação de 1 x 10^8 a 4 x 10^8 g mol^{-1} (LANCUSKI et al 2015). As principais aplicações do amido estão voltadas para as indústrias têxteis, alimentícias, plásticas e farmacêuticas devido às suas vantagens que incluem ser um recurso natural com baixo custo, além de ser biocompatível e biodegradável (GOK et al 2016).

No entanto, existem algumas limitações durante a aplicação do amido e seus derivados, como por exemplo, a presença dos grupamentos hidroxila, na molécula do amido, conferindo propriedades hidrofílicas, que tornam os compostos derivados do amido sensíveis à umidade, além da baixa resistência mecânica e rápida biodegradação. Assim, para satisfazer as demandas industriais o amido tem sido cada vez mais investigado, principalmente, por apresentar potencial para a fabricação de nanofibras através da eletrofiação, sendo explorados em sistemas de liberação de fármacos, curativos e engenharia de tecidos (LANCUSKI et al 2015). Contudo, o principal desafio da síntese de amido por eletrofiação está associado a sua própria estrutura química, uma vez que a presença da amilopectina,

constituinte ramificado da macromolécula não permite movimentações das fibras e nem mesmo orientação durante o processo de eletrofiação, uma alternativa seria a purificação da amilose, componente com liberdade de movimentação e orientação de suas cadeias que conduzem a formação de ligações de hidrogênio, porém a produção em larga escala é dispendiosa (CHEN et al, 2015). Diante do exposto, o principal objetivo é desenvolver fibras de amido, contendo amilose e amilopectina, para tornar viável a síntese de nanofibras de amido.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Para obtenção de fibras puras de amido foram testadas as seguintes concentrações de amido/solvente: 15%, 16% e 17% (m/v), em ácido fórmico (Synth®), as quais foram agitadas por 24 horas em temperatura ambiente para completa solubilização do amido. A solução polímera foi colocada em uma seringa de vidro 20 mL, com agulha de 18 G, onde a seringa foi adaptada a uma bomba de infusão com fluxo de 0,3 mL/h e posicionada a 5 cm de distância do coletor, logo em seguida foi aplicado tensão de 20 kV que projetou a solução polimérica em direção ao coletor com uma folha de alumínio. Conforme ilustração, Figura 1.

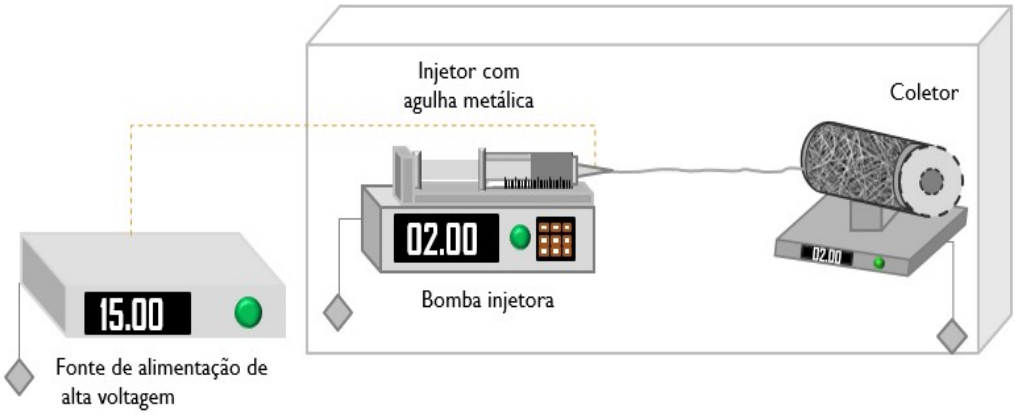


Figura 1. Sistema de eletrofiação

2.1 Caracterização das nanofibras

Inicialmente os grânulos de amido foi caracterizado através da difração de Raio X (DRX), no equipamento Shimadzu®, modelo LabX XRD-6000, utilizando radiação Cu-Kα de λ=1,5406 Å. As condições de análise foram de θ-2θ com 2θ variando de 5 a 40°, velocidade de varredura contínua de 1°min-1, na qual a amostra foi preparada pelo método do pó. Foi utilizada a espectrofotometria na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), com o propósito de observar a presença de espécies na superfície da amostra, para essa análise foi utilizado o modo de transmitância no equipamento Bruker VERTEX FT-IR realizando-se 32 varreduras de 4000 a 400 cm-1 e resolução de 4 cm- 1. E por fim, para a determinação de forma, tamanho e distribuição das fibras foi utilizado o Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) com fonte de emissão de campo, SEM-FEG (Scanning Electron Microscopy - Field Emission Gun) JEOL 6701, com fibras depositas sobre os stubb que foram recobertas com ouro.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de DRX e FTIR estão apresentadas na Figura 2a e 2b, respectivamente.

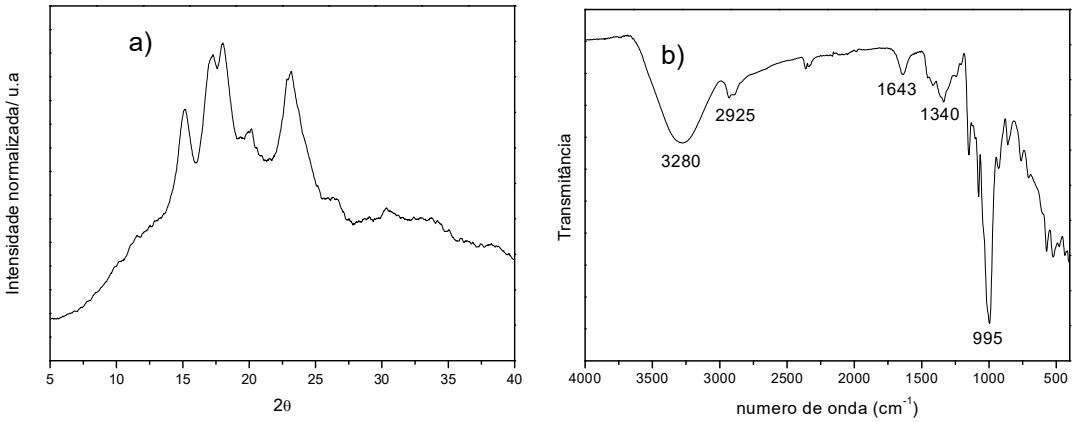


Figura 2.a) Difratograma de raios X (amidex 3001) e b) Espectro de FTIR do amido

Os grânulos de amido nativo, Figura 2a, apresentaram uma cristalinidade tipicamente A, evidenciada por picos de difração característicos em 15,0°; 17,2°; 18,0° e 23,2° (2θ). A formação de estruturas cristalinas no amido é fortemente influenciada pela razão amilose/amilopectina e pelas condições de armazenamento (tempo, temperatura e umidade) das amostras, os resultados corroboram com aqueles reportados na literatura. Na Fig 2b, foi possível identificar nos grânulos de amido a banda larga na região de 3400-3000 e 1643 cm^{-1} atribuídas ao estiramento e a deformação angular de ligações O-H da unidade glicosídica. Além dessas bandas, é possível observar a banda próximo a 2925 cm^{-1}, atribuída a deformação axial de ligações C-H do anel. Já as bandas na região de 1200 a 1000 cm^{-1} são consideradas bandas características do amido e são atribuídas a vibrações de deformação axial de C-O em alcoóis e a vibrações de deformação axial do sistema O-C-O. (CHEN et al, 2015)

Para fabricar nanofibras de amido, estudo das propriedades reológicas das soluções são necessários para produzir nanofibras por eletrofiação, sendo assim às três soluções apresentaram comportamento pseudoplástico (diminuição da viscosidade com o aumento da taxa de cisalhamento), conforme Figura 3.

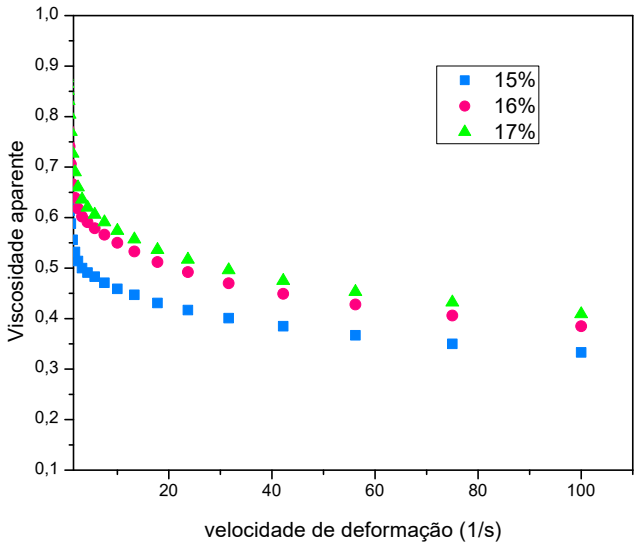


Figura 3. Viscosidade aparente em função da velocidade de deformação

Na Figura 3, observou-se que as diferentes concentrações dos amidos em solução de ácido fórmico mostrou uma rápida diminuição da viscosidade à medida que as taxas de cisalhamento aumentaram de 0,1 para 100 s^{-1}. Conforme reportado na literatura ocorre uma rápida diminuição na viscosidade é o resultado da lixiviação de amilose que diminuem a rede de emaranhamento. (LANCUSKI et al, 2015).

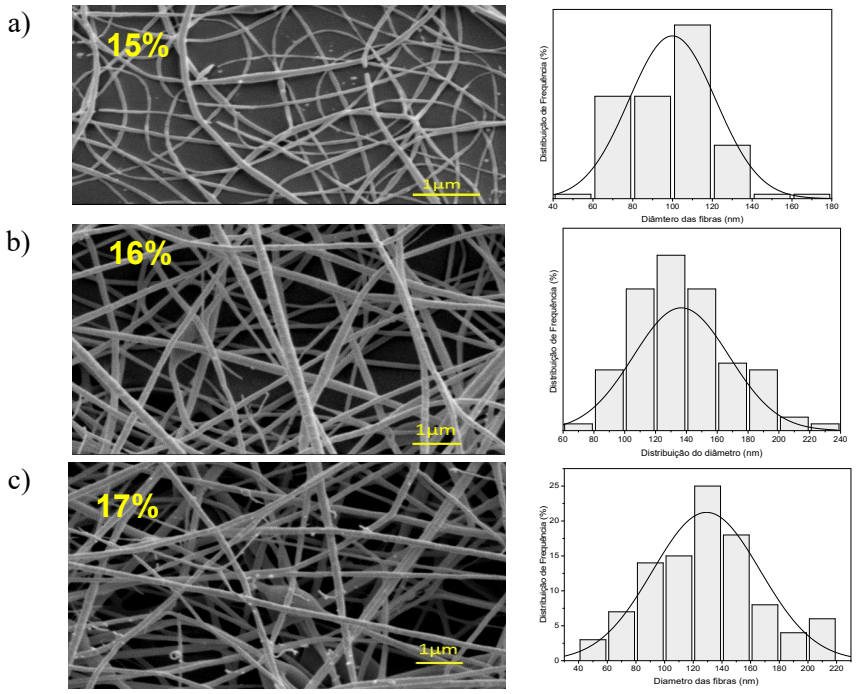


Figura 4. Fibra de amido e Distribuição de frequência do diâmetro das fibras em diferentes concentrações: a) 15%; b)16% e c) 17% de amido

De acordo com a Figura 4, as fibras quanto ao aspecto morfológico não houve alinhamento ou direcionamento específico, na concentração de 15% o diametro médio de aproximadamente de 99,91 nm, na concenração de 16% o diamêtro foi de 136,68 nm e 17% apresentou diametro de 129,22 nm.

4 CONCLUSÃO

Os resultados indicaram que foi obtida satisfatoriamente nanofibras por eletrofiação utilizando o amido contendo amilopectina e amilose. Essas fibras podem apresentar potencial para serem aplicadas na área farmacêutica, incluindo liberação de fármacos, curativos para feridas e engenharia de tecidos, devido principalmente a relação área superficial/volume ser elevada, ter propriedades biocompatíveis, biodegradáveis e bioabsorvíveis.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos aos técnicos e analistas da Embrapa Instrumentação pelo suporte técnico. Alunos do Grupo de Pesquisa pela parceria. SISNANO/MCTI, CNPQ, CAPES, FINEP e Embrapa/ Rede AgroNano pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

CHEN. A. et al. Recent Progress in chemical modificitaion of starch and its aplications. RSC Adv, v.5, p. 67459-67474, 2015.

GÖK, M. K. et al. Development of starch based mucoadhesive vaginal drug delivery systems for application in veterinary medicine. Carbohydrate Polymers, v.136, p. 63–70, 2016

LANCUSKI, A. et al. Rheological Properties and Electrospinnability of High-Amylose Starch in Formic Acid. Biomacromolecules, p. A-D, 2015.

AVALIAÇÃO E IMOBILIZAÇÃO DE DIFERENTES FONTES DE SiO_2 NANOPARTICULADA PARA ADSORÇÃO DE FÁRMACOS

Edjane Rocha dos Santos[*1], Francine Aline Tavares[1,2], Elaine Cristina Paris[1]

[1]LNNA-Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro 1452, 13560-970
2UFSCar-Universidade Federal de São Carlos, Rodovia Whashington Luiz, Km 235, SP 310, 13565-905, São Carlos, SP
edjanemrocha@gmail.com

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio.

Resumo
O desenvolvimento de métodos para o estudo do mecanismo de liberação de fármacos é necessário, já que é importante saber o alvo para o qual o fármaco se destina. Para isso, é proposto o uso de nanopartículas de SiO_2 de diferentes fontes, a qual permite aumentar a disponibilidade e a efetividade de fármacos. Deste modo obteve-se nanopartículas de SiO_2 imobilizadas em fibras poliméricas de poliácido lático (PLA) de modo a resultar em um compósito com alta capacidade de adsorção de fármacos utilizados no tratamento da mastite bovina, com a finalidade de estudar posteriormente o mecanismo de liberação do mesmo. Nanopartículas de SiO_2 foram obtidas empregando-se o método sol-gel e por meio de extração da casca de arroz. A fim de aumentar o caráter hidrofóbico e consequentemente a afinidade pelo fármaco de interesse, a superfície da SiO_2 foi modificada com reagentes organosilanos. Após obtenção e funcionalização das nanopartículas, estas foram imobilizadas em fibras de PLA via técnica de eletrofiação. Os resultados dos ensaios de adsorção das nanopartículas de SiO_2 mostraram-se bastante promissores, tendo em vista que a eficiência na adsorção do fármaco aumentou de maneira significativa após a hidrofobização da superfície da sílica, obtendo-se até 99 % de adsorção do fármaco.
Palavras-chave: Nanopartículas; Sílica; Fibras de PLA; Adsorção de Fármacos.

EVALUATION AND IMMOBILIZATION OF DIFFERENT SOURCES OF NANOPARTICULATED SiO_2 FOR DRUG ADSORPTION

Abstract
The development of methods for the study of drug delivery mechanism is necessary since it is important to know the target for which the drug is intended. For this, it is proposed the use of nanoparticles of SiO_2 from different sources, which allows the increase in the availability and effectiveness of the drugs. In this way, SiO_2 nanoparticles immobilized on polymer fibers of polylactic acid (PLA) were obtained aiming to get a high adsorption composite for drugs used in the treatment of bovine mastitis, in order to study the release mechanism of the drug. Nanoparticles of SiO_2 were obtained using the sol-gel method and by extraction of rice husks. In order to increase the hydrophobic character and consequently the affinity for the drug, the SiO_2 surface was modified with organosilane reagents. After obtaining and functionalizing the nanoparticles, they were immobilized in PLA fibers by electrospinning technique. The results of the tests of adsorption in SiO_2 nanoparticles were quite promising, considering that the efficacy in the adsorption of the drug increased significantly after the hydrophobization of the silica surface, obtaining up to 99% of adsorption of the drug.
Keywords: Nanoparticles; Silica; PLA Fibers; Adsorption of Drugs.

Publicações relacionadas: TAVARES, F. A. Avaliação e Imobilização de diferentes fontes de SiO_2 nanoparticulada para adsorção de poluentes orgânicos. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de São Carlos,UFSCar, São Carlos, 2017

1 INTRODUÇÃO

A agropecuária desempenha um papel de grande importância no cenário da economia nacional; o Brasil ocupa um dos primeiros lugares em produção agrícola e pecuária. Por isso, a mastite bovina torna-se um problema, sendo considerada um dos principais desafios na produção de leite e seus derivados. Atualmente, os países produtores de leite têm uma perda em torno de 35 milhões de dólares/ano. A fim de solucionar esses inconvenientes, muitos pesquisadores têm estudado o desenvolvimento de nanocarregadores de fármacos (DIMER, 2013). Uma das vantagens de utilizar nanopartículas em sistemas de transporte de fármacos (MOHANRAJ et al., 2006) é o tamanho das partículas e as características da superfície que podem ser facilmente manipuladas de modo a atingir tanto passiva como ativamente um alvo farmacológico.

Existem diferentes tipos de NP que são usadas em diversas aplicações e em diferentes áreas. Neste trabalho foram utilizadas as nanopartículas de sílica (NPS) sintética e as nanopartículas de sílica da casca de arroz. A sílica na forma amorfa possui uma superfície com boa reatividade química, estabilidade térmica, elevada área superficial e uma estrutura porosa (ROSTAMIAN et al., 2011; YAGUB et al., 2014); a qual têm sido amplamente utilizadas para várias aplicações dentre estas a adsorção (SHEN et al., 2014; WU et al., 2014). Os métodos de preparação de nanosílica são simples e bem conhecidos como por exemplo os processos sol-gel (RAHMAN et al., 2012; STOBER et al., 1968). Um outro método para a obtenção de nanosílica é através da extração da casca de arroz, um resíduo agrícola empregado como grande fonte de SiO_2, o qual é disponível em abundância no Brasil (UGHEOKE et al., 2012). Em virtude de suas características especiais como alto teor de sílica, estrutura porosa e elevada área superficial, este resíduo tem sido utilizado em diversas aplicações tecnológicas, tais como, adsorventes, geração de energia, pigmentos, etc. Este resíduo agrícola possui a vantagem de ser ambientalmente correto e econômico, já que não requer nenhuma etapa dispendiosa de pré tratamento (SOLTANI et al., 2015).

Uma das vantagens de utilizar nanofibras para a liberação do fármaco está associada a elevada área superficial quando confrontada com filmes e hidrogéis, além do que as nanopartículas em matrizes poliméricas apresentam uma fase com liberação sustentada do medicamento (WANG, 2016). Por isso tem-se como objetivo desenvolver diferentes fontes de SiO_2 nanoparticulada e incorporadas em matrizes poliméricas de PLA para adsorção de fármacos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

As nanopartículas de SiO_2 foram sintetizadas pelo método sol-gel, empregando o procedimento desenvolvido por Stöber (STOBER et al., 1968). A síntese foi realizada utilizando 150,0 mL de H_2O; 8,0 mL de NH_4OH; 100,0 mL de Etanol; 7,5 mL de TEOS. Após adição dos reagentes, a solução foi mantida em agitação constante por 1 h à temperatura ambiente, em seguida evaporou a solução até obtenção de um material sólido. Este material foi submetido a tratamento térmico por 3 h a 350 °C e 2 h 400 ºC. Enquanto que as SiO_2 obtidas da casca de arroz (CA) foram adquiridas através da lavagem da CA com água e depois secas em estufa, em seguida estas foram imersas em solução de HCl (3 M), as quais foram filtradas, lavadas com água destilada e secas em estufa à 80 ºC. Posteriormente, as CA´s foram submetidas a tratamento térmico com temperatura de 600 ºC a fim de obter um material com elevada pureza e alta área superficial. A funcionalização das partículas de SiO_2 foi realizada utilizando o 3-aminopropiltrietoxisilano (APTES).

As fibras de PLA e PLA:SiO_2 foram obtidas via eletrofiação. O PLA foi solubilizado em 3,0 mL de clorofórmio e após completa homogeneização da solução polimérica, adicionou-se 1,0 mL de dimetilsulfóxido (DMSO). A massa de PLA utilizada foi de 12% em relação ao volume total de solução. Os parâmetros utilizados para a eletrofiação das fibras foram: tensão aplicada: 20 kV, distância 5 cm e vazão de 2,0 mL h^{-1}. Para a obtenção das fibras de PLA com nanopartículas de SiO_2 modificadas, após completa solubilização do PLA adicionou-se SiO_2 funcionalizada 40 % em relação a massa do PLA. Após homogeneização das nanopartículas, a solução polimérica iniciou-se o processo de eletrofiação para obtenção das fibras de PLA:SiO_2. Após a obtenção dos materiais, estes foram caracterizados por: DRX, FTIR, RMN de ^{29}Si no estado sólido, análises de adsorção / dessorção de N_2 pelo método BET (Brunauer, Emmett e Teller), MEV-FEG e EDS, MET, TGA, potencial Zeta, Medidas de ângulo de contato.

Para os estudos de adsorção, foram adicionados 1 g L^{-1} dos materiais adsorventes em uma solução aquosa contendo o fármaco de interesse (concentração 5 ppm) e mantida sob agitação constante durante 24 horas. Todos os experimentos foram realizados em triplicatas, sob agitação constante de 800 rpm e à temperatura de 25 ºC. Ao final dos ensaios, os adsorventes foram removidos do meio aquoso por centrifugação e a solução residual analisada por espectroscopia no ultravioleta-visível (UV-vis) em um equipamento Shimadzu, modelo UV-1601PC.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através das análises de DRX das amostras de SiO_2 antes e depois de silanizadas, pode-se verificar que para ambas as amostras, preparadas pelo método sol-gel e extraídas das CA´s, o padrão de difração é largo em 2θ igual a 22,5º, característico da sílica amorfa. Além disso, os padrões de DRX não mostraram picos de estrutura cristalina, indicando ausência de contaminantes cristalinos nestes materiais e não foi verificado alterações em decorrência do processo de funcionalização. Em seguida, realizou-se análises de FTIR, observou-se que todas as amostras exibiram as bandas características dos principais modos vibracionais de sílica; além das bandas características da ligação $Si\text{-}CH_3$ nas amostras modificadas (Figura 1).

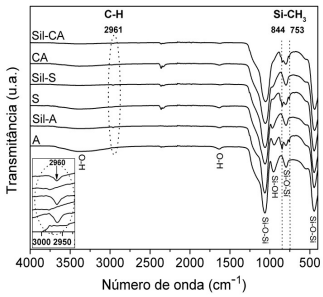


Figura 1. Espectros de FTIR de SiO_2 antes (A, S e CA) e após silanização (Sil-A, Sil-S e Sil-CA).

Através das imagens de MEV-FEG (Figura 2), foi possível observar que as partículas sintetizadas de SiO_2 pelo método sol-gel apresentaram tamanhos inferiores a 30 nm (Figura 2a). Para melhor visualização destas partículas, foram feitas análises de MET (Figura 2b).

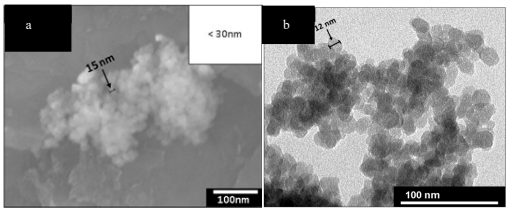


Figura 2. Imagens de MEV-FEG (a) e Análises de MET (b) das amostras de SiO_2 obtidas por sol-gel

Para SiO_2 extraídas das CA´s não foi possível verificar por MEV (Figura 3), entretanto, mesmo considerando a presença de partículas maiores, o tamanho das esferas de SiO_2 fica abaixo de 50 nm. Portanto, destaca-se que a partir da utilização de resíduos orgânicos foi possível a obtenção de nanopartículas de SiO_2.

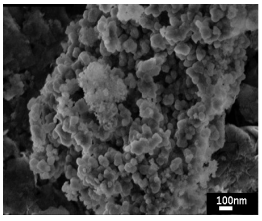


Figura 3. Imagens de MEV-FEG da amostra de SiO_2 extraídas das CA´s após lixiviação ácida e tratamento térmico a 600ºC.

Para as amostras de SiO_2 pelo método sol-gel os valores obtidos de AS_{BET} foram de 536 $m^2 g^{-1}$ enquanto para SiO_2 extraídas das CA´s foi de AS_{BET} de 245 $m^2 g^{-1}$. Estes valores são próximos da área de 235 $m^2 g^{-1}$ de trabalhos descritos na literatura (XIONG et al, 2009). Para SiO_2 pelo método sol-gel os valores obtidos de área superficial foram elevados e superiores quando comparado a outros trabalhos relatados na literatura (entre 100 e 480 $m^2 g^{-1}$). Conclui-se que a amostra obtida pelo método sol-gel deve apresentar um maior potencial para aplicação em processos de adsorção, visto que esta possui menor tamanho de partícula e maior área de superfície quando comparada com as amostras SiO_2 extraídas das CA´s. Porém a utilização de sílica obtida a partir de resíduos agrícolas na adsorção de fármacos é uma forma de diminuir a produção de rejeitos e, principalmente, gerar um produto de maior pontencial econômico.

Após as caracterizações dos materiais funcionalizados, foram iniciados os testes de adsorção do fármaco. Por meio dos espectros obtidos, foi possível observar uma melhor capacidade de adsorção para as amostras funcionalizadas. Dentre as amostras funcionalizadas, aquela obtida via sol-gel foi a que apresentou melhor capacidade de adsorção, alcançando 99% de adsorção do fármaco, enquanto que a amostra SiO_2 extraída da CA obteve 83% de adsorção do fármaco.

Após o estudo do material particulado, fez-se então a imobilização das amostras de SiO_2 funcionalizadas em fibras de PLA (PLA:SiO_2). Ao analisar as micrografias das fibras de PLA e SiO_2 foi observada a formação de fibras uniformes sem a presença de "beads. Quando a fibra de PLA puro é comparada com PLA:SiO_2 observa-se uma estrutura mais rugosa e com poucos poros. Possivelmente a presença das nanopartículas dificultou a obtenção de uma estrutura altamente porosa.

4 CONCLUSÃO

Nanopartículas de SiO_2 com diâmetros inferiores a 20 nm foram obtidas de maneira simples através da metodologia sol-gel e por meio de extração de casca de arroz. Obtendo partículas menores e de elevada área superficial (536 $m^2 g^{-1}$), para as amostras obtidas pelo metodo sol-gel. Quanto ao emprego das cascas de arroz, pode-se concluir que a utilização deste resíduo possibilitou a obtenção de nanopartículas de SiO_2 com elevada pureza e área superficial de 245 $m^2 g^{-1}$.

A modificação da superfície das nanopartículas de SiO_2 atribuiu melhor desempenho nos processos de adsorção do fármaco. Os materiais particulados modificados alcançaram valores significativos na adsorção do fármaco. Após modificação, as nanopartículas obtidas via sol-gel e por meio de extração das cascas de arroz, conseguiram adsorver 99 e 97% do fármaco, respectivamente.

A partir da técnica de eletrofiação foi possível obter fibras uniformes sem a presença de "beads.

AGRADECIMENTOS

CNPq, CAPES, SISNANO/MCTI, FINEP, Embrapa/Rede AgroNano pelo apoio financeiro, aos Técnicos e Analistas da Embrapa Instrumentação pelo suporte técnico.

REFERÊNCIAS

DIMER, F. *Quim. Nova*, v.36, p.1520, 2013.
MOHANRAJ,V.; CHEN,Y. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, v. 5, p.561, 2006.
RAHMAN, I.A.; PADAVETTAN, V. *J. Nanomater*, 1, 2012.
ROSTAMIAN, R.; NAJAFI, M.; RAFATI, A.A. *Chem. Eng. J.* v. 171, p.1004, 2011.
SHEN, Y.; ZHAO, P.; SHAO, Q. *Microporous Mesoporous Mater.* v.188, p. 46, 2014.
SOLTANI, N.; BAHRAMI, A.; PECH-CANUL, M. I.; GONZALEZ, L. A. *Chem. Eng. J.*, v. 264, p. 899, 2015.
STOBER, W.; FINK, A.; BOHN, E. *J Colloid Interface Sci*, v.26, p.62, 1968.
UGHEOKE, I.B.; MAMAT, O. *Maejo Int. J. Sci. Technol.,* v.6, p. 430, 2012.
YAGUB, M.T.; SEN,T.K.; AFROZE, S.; Ang, H.M. *Adv. Colloid Interface Sci.,* v.209, p. 172, 2014.
WANG, X. *Carbohydrate Polymers*, v.138, p.192, 2016.
WU, C.; YUAN, W.; AL-DEYAB, S.S.; ZHANG, K.Q. *Appl. Surf. Sci.* v.313, p.389, 2014.
XIONG, L.; *et al*. *J. Met. Mater. Miner.*, v.19, p.95, 2009.

DESENVOLVIMENTO DE TRAÇADORES PARA IDENTIFICAÇÃO DE FONTES DE SEDIMENTOS

João Marcos Villela[1], André Esteves Nogueira[2], Caue Ribeiro de Oliveira[2], Silvio Crestana[2]

[1](Universidade de São Paulo, Departamento de Engenharia Ambiental, São Carlos-SP), [2](Embrapa Instrumentação, São Carlos-SP). e-mail: jomarvile@usp.br

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio

Resumo
A principal causa da degradação dos solos em ambientes tropicais e subtropicais é a erosão hídrica. Embora existam metodologias para monitorar a quantidade e qualidade dos sedimentos, em relação à identificação das fontes, esses métodos ainda não são adequados para serem utilizados como uma ferramenta de gestão aplicável. Como alternativa a essa problemática, a pesquisa em andamento propõe o desenvolvimento de traçadores de erosão hídrica que permita identificar a origem dos sedimentos. A etapa inicial para o desenvolvimento do traçador foi selecionar alternativas de alguns materiais e técnicas de síntese que atendessem os critérios de um bom traçador. Os elementos de Terras Raras (ETR) foram selecionados para compor a assinatura química. A síntese e caracterizações do traçador foram realizadas e confirmaram a incorporação do La^{3+} na estrutura da argila. Outras caracterizações químicas e físicas serão realizadas com o objetivo de se obter parâmetros suficientes para os experimentos que avaliarão o seu transporte, e o processo de modelagem.
Palavras-chave: Erosão hídrica; Traçadores; Sedimentos.

TRACERS DEVELOPMENT FOR IDENTIFICATION OF SEDIMENTS SOURCES

Abstract
The main cause of soil degradation in tropical and subtropical environments is water erosion. Although there are methodologies for monitoring the quantity and quality of sediments in relation to the identification of sources, these methods are not yet suitable for use as an applicable management tool. As an alternative to this problem, the ongoing research proposes the development of tracers of water erosion to identify the origin of the sediments. The first step for tracer development was to select alternatives of some materials and synthesis techniques that met the criteria of a good tracer. Rare Earth elements (ETR) were selected to compose the chemical signature. The synthesis and characterization of the tracer were performed and confirmed the incorporation of La^{3+} in the clay structure. Other chemical and physical characterizations will be performed with the objective of obtaining sufficient parameters for the experiments that will evaluate its transport, and the modeling process.
Keywords: Water erosion; Tracers; Sediments.

1. INTRODUÇÃO

A erosão do solo pela ação da água é a principal causa da degradação de terras agrícolas em todo o mundo. Estima-se que 60% da erosão do solo seja induzida pela atividade humana, e que o avanço das áreas agrícolas no século passado tenha aumentado esse potencial de erosão em cerca de 17% (YANG et al., 2003; PIMENTEL, 2006). Além da perda de áreas cultiváveis, a erosão pode incorrer elevados custos sobre a produção agrícola com a perda de fertilidade do solo, e ainda gerar grandes impactos ambientais e econômicos como a diminuição da qualidade da água pelo aporte de contaminantes, eutrofização, perda da biodiversidade aquática, assoreamento de canais e reservatórios (CARVALHO, 2008). A dimensão dos impactos apresentados evidencia a necessidade de realizar o monitoramento dos processos hidrossedimentológicos de forma qualitativa e quantitativa, além de identificar e quantificar as fontes potencias de sedimentos existentes na bacia. Segundo Walling (1990), a realização de um manejo eficiente do controle dos sedimentos erodidos em uma bacia requer a obtenção de informações de vários processos que afetam a emissão de sedimentos, dentre estes a

identificação da contribuição de fontes primárias de sedimentos. No entanto, existe uma grande complexidade envolvendo os mecanismos de conectividade que controlam o regime hidrossedimentológico entre as vertentes e os rios, que dificulta a obtenção destas informações de forma confiável.

Existem vários métodos para a identificação de fontes de sedimentos, sendo estes classificados como indiretos e diretos. Segundo Collins e Walling (2004), o método indireto utiliza técnicas como fotogrametria, sensoriamento remoto, mapeamento, topografia e modelos hidrológicos e geomorfológicos para avaliar a importância relativa de cada fonte. Os métodos diretos utilizam substâncias ou elementos como traçadores, podendo estes serem artificiais (propriedades ativas) ou naturais (propriedades passivas), no processo de identificação (MINELLA, 2003). Segundo Zhang et al. (2001), um traçador ideal deve apresentar as seguintes características: propriedades físicas semelhantes à da partícula que se deseja imitar, elevada sensibilidade analítica, ser ausente ou ter baixa concentração no solo, baixo custo, fácil quantificação e não ser maligno ao ambiente. Entre as principais substâncias e elementos naturais ou artificiais que vem sendo utilizados como traçadores estão: susceptibilidade magnética (LIU et al., 2010); mineralogia (WALL; WILDING, 1976); carbono orgânico (BEN SLIMANE et al., 2013); radionuclídeos naturais 238U, 232Th, 40K; e radionuclídeos 137Cs, 210Pb, e 7Be (WALLING, 2013). De modo geral, as limitações mais comuns apresentadas por estas abordagens são: comportamento não conservador, exigências de equipamentos e tratamentos estatísticos sofisticados, que demandam uma equipe multidisciplinar, ligação preferencial às partículas mais finas do solo e limitações geográficas de aplicação.

Diante da abrangência dos problemas relacionados à erosão hídrica, a importância da identificação das fontes de sedimentos e a necessidade do aperfeiçoamento das técnicas juntamente com a carência de trabalhos relacionado ao tema em âmbito nacional, o presente estudo propõe o desenvolvimento de um traçador para a identificação da origem dos sedimentos. O traçador foi sintetizado a partir de uma argila montmorilonita, utilizando como marcador químico o lantânio (La^{3+}). Após a etapa de síntese do traçador, eles foram caracterizados por difratometria de raios X, microscopia eletrônica de varredura (MEV) com sistema de dispersão de energia (EDS), para a análise química das argilas comprovando a incorporação da assinatura química.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Para a síntese da argila marcada (traçador) utilizou o método descrito por Kaloidas et al. (1995), sendo que 1g de montmorilonita foram separados e saturados com 25ml de uma solução de 0,1mol/L de $LaCl_3$, em um béquer. Após permanecer 24h sem agitação, o material foi centrifugado por 5min a 7000rpm para a retirada do sobrenadante. Feito isso, uma nova solução de $LaCl_3$ (25ml) na mesma concentração foi deixada em contato com a argila por mais 72h. A argila trocada foi recuperada após a etapa de centrifugação (5min a 7000rpm). Para remoção dos cloretos, foram feitas inúmeras lavagens com álcool etílico ou água, seguido de centrifugações, até que o resultado negativo do teste de $AgNO_3$. Para a realização do teste de $AgNO_3$, algumas gotas do $AgNO_3$ foram adicionadas no álcool utilizado para a lavagem e recuperado após a centrifugação.

Os difratogramas das argilas foram obtidos no difratômetro da marca Shimadzu, modelo XRD-6000 com radiação Cu-Kα, variando o ângulo de difração (2θ) de 2 a 50º, em intervalos de 0,02º. As distâncias basais foram calculadas a partir da Lei de Bragg, utilizando a Equação 1.

$$2d \sin\theta = n\lambda \quad (1)$$

Sendo: n um nº inteiro, λ o comprimento de onda da radiação incidente, d a distância entre planos e θ o ângulo de incidência em relação ao plano considerado.

A montmorilonita com Na^+ e La^{3+} também foram caracterizadas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) com sistema de dispersão de energia (EDS), utilizando o equipamento da marca Thermo Scientific, modelo JSM-6510 marca JEOL com EDS modelo 6742A e voltagem de 15kV.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os difratogramas da Figura 1 evidenciam a incorporação dos cátions de La^{3+} no espaço interlamelar com o deslocamento do pico principal para 2θ menores e consequentemente o aumento da distância interplanar (d_{001}), devido ao aumento do raio do cátion de compensação da estrutura. Esse comportamento entre a montmorilonita com Na^{+} e La^{3+} foi semelhante à obtida por Kovács et al. (2017) utilizando essa mesma argila com Ca^{2+} e La^{3+}.

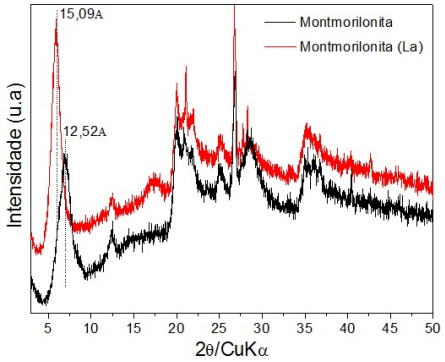
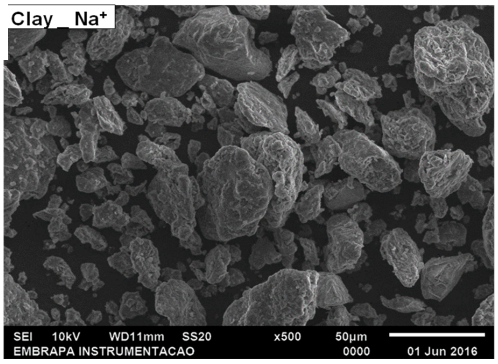
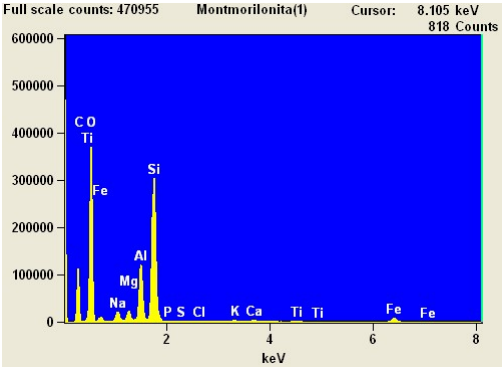


Figura 2. Difratogramas de Raios- X da montmorilonita (Na^{+}) e após a troca catiônica com La^{3+}.

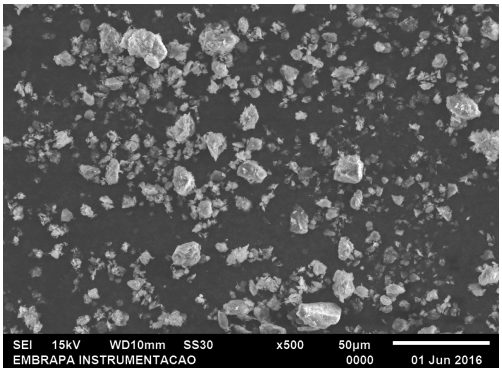
A montmorilonita (Na^{+}) e a obtida após a realização da troca iônica com a solução de cloreto de lantânio também foram caracterizadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) com sistema de dispersão de energia (EDS), para a análise química semi-quantitativa. Observa-se nas micrografias (Figura 2a e Figura 2b) uma menor aglomeração das partículas a montmorilonita La^{3+} em relação à morfologia da montmorilonita sódica.

a)





b)



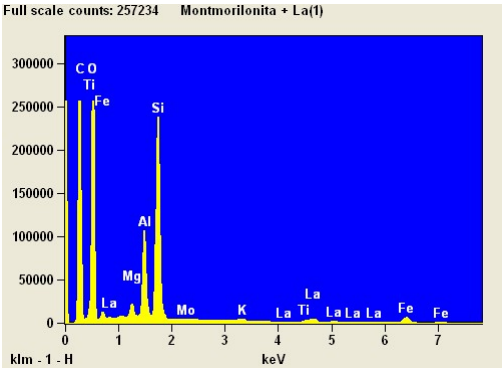


Figura 2. Micrografias eletrônicas de varredura e análise química (MEV-EDS) das argilas com: a) Na^{+} e b)La^{3+}.

A análise química semi-quantitativa de EDS confirmou o observado por difratometria de raios-X. Nota-se nos gráficos da Figura 2b que a argila após a etapa de troca iônica não apresenta o pico referente aos cátions Na^{+} e Ca^{2+} existentes na argila sódica (Figura 2a), além disso, houve a identificação de cátions La^{3+} na estrutura.

4. CONCLUSÃO

Pelos resultados das técnicas de difratometria de raios-X, MEV- EDS foi possível comprovar a troca dos cátions Na^+ na estrutura da argila montmorilonita pela assinatura química desejada no traçador desenvolvido. Após o processo de caracterização, o traçador será submetido a testes de mobilidade vertical, (utilizando colunas de solo) e, horizontal, utilizando parcelas de erosão, representando as escalas de laboratório e intermediária (sob chuva simulada), e na escala de campo, a partir de uma parcela de 100 m².

AGRADECIMENTOS

Agradecemos aos a CAPES pela bolsa de doutorado concedida, ao Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio (LNNA/Embrapa Instrumentação/São Carlos-SP) pela parceria no desenvolvimento do traçador, pela infraestrutura e apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

BEN SLIMANE, A. et al. Fingerprinting sediment sources in the outlet reservoir of a hilly cultivated catchment in Tunisia, J. Soils Sediments, 13, p. 801–815, 2013

LIU, S. et al. Magnetic properties of East China Sea shelf sediments off the Yangtze Estuary: Influence of provenance and particle size. Geomorphology, v. 119, n. 3-4, p. 212–220, 2010.

CARVALHO, N.O. Hidrossedimentologia Prática. Rio de Janeiro: Interciência. p. 599, 2008.

COLLINS, A. L.; WALLING, D. E. Documenting catchment suspended sediment sources: problems, approaches and prospects. Progress in Physical Geography 28, 2, p. 159–196, 2004.

MINELLA, J. P. G. Identificação de fontes de produção de sedimentos em uma pequena bacia rural. 2003. 80 f. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2003.

PIMENTEL, D. Soil Erosion: A Food and Environmental Threat. Environment, Development and Sustainability, v. 8, n. 1, p. 119–137, 2006.

WALL, G. J., WILDING, L.P. Mineralogy and related parameters of fluvial suspended sediments in northwestern Ohio. J. Environ. Qual., 5, p.168-173, 1976.

WALLING, D.E. Linking the field to the river: sediment delivery from agricultural land. In:Soil Erosion on Agricultural Land. Ed.: BOARDMAN, J.; FOSTER, I.D.L.; DEARING, J.A. Wiley, Chichester. pp. 129-152, 1990.

WALLING, D. E. Beryllium-7: The Cinderella of fallout radionuclide sediment tracers? Hydrological Processes, v. 27, n. 6, p. 830–844, 2013.

YANG, D. et al. Global potential soil erosion with reference to land use and climate changes. Hydrological Processes, v. 17, n. 14, p. 2913–2928, 2003.

ZHANG, X. C., et al. Potential use of rare earth oxides as tracers for soil erosion and aggregation studies. Soil Sci Soc Am J 65:1508–1515, 2001.

KOVÁCS, E. M. et al. Preparation and structure's analyses of lanthanide (Ln) –exchanged bentonitesColloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects, 522, p. 287–294, 2017.

KALOIDAS, V. et al. Scale-up studies for the preparation of pillared layered clays at 1 kg per batch level. Microporous Materials, v. 5, p. 97-106, 1995.

CAPÍTULO 8

Cenários e avaliação dos riscos ambientais e sociais dos nanocompostos

AVALIAÇÃO DE RISCO AMBIENTAL ESTIMADO PELA EXPOSIÇÃO AO ÓXIDO DE GRAFENO

Vera L. Castro[1], Zaira Clemente[1,2], Claudio Jonsson[1], Mariana Silva[1], José Henrique Vallim[1], Aline Maria Zigiotto de Medeiros[2,3], Diego Stéfani T. Martinez[2,3]

[1] Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna – SP
[2] Laboratório Nacional de Nanotecnologia, CNPEM, Campinas – SP
[3] Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), USP, Piracicaba - SP
vera-lucia.castro@embrapa.br

Classificação: Cenários e avaliação dos riscos ambientais e sociais dos nanocompostos.

Resumo
O objetivo deste trabalho foi determinar valores de concentração sem efeito previsível (PNEC) para óxido de grafeno (GO), considerando a presença ou ausência de ácido húmico no meio aquático. Para isso, foram realizados testes toxicológicos e determinados os valores de concentração de efeito não observado (CENO) para 9 organismos. A PNEC de GO no compartimento aquático, abaixo da qual os efeitos adversos provavelmente não ocorrerão durante a exposição a longo ou curto prazo, foi estimada em 20 μg/L (na ausência de ácido húmico) e 5 μg/L (na presença de ácido húmico). Estes dados contribuem para avaliação de risco da nanotecnologia.
Palavras-chave: PNEC; Nanotoxicologia; Carbono; Nanomaterial; Ecotoxicologia.

EVALUATION OF ESTIMATED ENVIRONMENTAL RISK DUE TO GRAPHENE OXIDE EXPOSURE

Abstract
The objective of this work was to estimate the predicted no effect concentration (PNEC) for graphene oxide (GO), considering the presence or absence of humic acid in the aquatic environment. Therefore, toxicological tests were performed and the values of no observed effect concentration (NOEC) for 9 organisms were determined. PNEC of GO in the aquatic compartment, below which adverse effects are unlikely to occur during long- or short-term exposure, was estimated at 20 μg /L (in the absence of humic acid) and 5 μg/L (in the presence of acid humic). These data contribute to the risk assessment of nanotechnology.
Keywords: PNEC; Nanotoxicology; Carbon; Nanomaterial; Ecotoxicology.

1 INTRODUÇÃO

O óxido de grafeno (GO) é um material de carbono de camada única com alto teor de oxigênio, preparado pela oxidação e esfoliação do grafeno (ENOKI et al., 2013). Este nanomaterial (NM) possui diversas aplicações em biomedicina, engenharia de tecidos, biossensores e imagens. No entanto, é necessária a avaliação de risco para seu uso sustentável já que seu destino e seus efeitos para o meio ambiente ainda são pouco compreendidos (MATTSSON; SIMKÓ, 2017).

Embora GO tenha uma tendência a agregar em suspensões aquosas e, em conseqüência, estar menos disponível para interagir com organismos; pode causar toxicidade (CLEMENTE et al., 2017). A presença de matéria orgânica melhora significativamente a estabilidade de GO em água, principalmente devido à repulsão estérica e é possível uma maior absorção pelos organismos (CHOWDHURY et al., 2013). Assim, estudos adicionais sobre GO e suas interações com substâncias húmicas reduzirão a incerteza nas avaliações de risco ambiental do NM (SELCK et al., 2016).

Na avaliação de risco ambiental, o risco pode ser quantificado comparando a concentração ambiental prevista (PEC) com a concentração prevista sem efeito (PNEC). Ainda não há estimativas do PEC ou PNEC para GO. Assim, este estudo teve como objetivo determinar a PNEC do GO, através da avaliação de toxicidade em diversos organismos aquáticos, na presença ou não de ácido húmico.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Para realizar este estudo, foram utilizados óxido de grafeno de camada única (GO, lote MKBV1192V, código 763713) e ácido húmico (HA, sal sódico, lote STBCS468V, código H16752), ambos da Sigma Aldrich. As suspensões estoque de GO e HA foram preparadas em água ultrapura a uma concentração de 1 mg/L. As suspensões GO e HA estoque foram sonicadas e armazenadas no escuro até serem usadas nos testes, quando foram novamente sonicadas antes de preparar as respectivas diluições.

Os efeitos do GO foram determinados através de ensaios de toxicidade aguda com: *Raphidocelis subcapitata*, *Lemna menor*, *Lactuca sativa*, *Daphnia magna*, *Artemia salina*, *Chironomus sancticaroli*, *Hydra attenuata*, *Caenorhabditis elegans* e *Panagrolaimus* sp. Todos os ensaios de ecotoxicidade foram realizados a 0, 0,1, 1, 10 e 100 mg/L de GO, com e sem 20 mg.L de HA. A fim de permitir a comparação da toxicidade para os diferentes organismos testados calculou-se o CENO para cada um dos organismos de acordo com os parâmetros testados usando o módulo ANOVA ou o teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Bonferroni. O CENO também foi estimado com base na relação CE50/10 (OECD 1995; JONSSON et al. 2015) ou usando o cálculo da concentração que afeta a redução em apenas 10% do parâmetro avaliado (CE10) (OCDE, 2002; JONSSON et al., 2015).

A concentração ambiental hipotética em que apenas 5% das espécies de um meio aquático seria afetado (HC5) foi determinada por meio da distribuição log-logística dos valores de CENO (OCDE, 1995; JONSSON et al., 2015), por regressão simples (StatPoint Technologies, 2014). Os dados (CENO = 10 mg/L) da exposição de embriões *Danio rerio*, (CLEMENTE et al., 2017), foram adicionados à distribuição log-logística. Neste caso, uma CE50>100 mg/L foi atribuída, uma vez que não foi observada mortalidade nesta concentração. Assume-se que os organismos não sofreriam danos quando os contaminantes estiverem presentes nos ambientes aquáticos em concentrações de 10% da LC50 (TOUART, 1995). O HC5 foi calculado com um nível de confiança de 50% (HC5-50) que corresponde à estimativa "mais provável" ou "mediana" do percentil 5 (TRAAS & VAN LEEUWEN, 2007, ALDENBERG & SLOB, 1993).

Foi então calculada a Concentração sem efeito previsível – PNEC, aplicando-se a avaliação do fator de risco (valor = 5) ao HC5-50. Este valor fatorial foi adotado como o valor mais seguro na escala de 1 a 5 (TRAAS e VAN LEEUWEN, 2007) e calculado usando o módulo de regressão simples do programa Statgraphics Centurion XVII 1.17.04 (StatPoint Technologies, 2014).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A variabilidade na susceptibilidade dos organismos-teste para GO e GO e HA foi alta. Para o C. elegans foi observada diferença significativa entre a EC50 na ausência ou presença de HA após 96h de exposição ao GO quanto aos parâmetros de fertilidade (90,24 e 46,41 mg L^{-1}) e reprodução (73.43 e 11.14 mg L^{-1}) respectivamente. Também para a *R. subcapitata* foi observada diferença significativa entre a taxa de crescimento quando exposta ao GO na ausência de HA (66,60 mg L^{-1}) e na presença de HA (242,78 mg L^{-1}). Os valores de HC5-50 calculados foram respectivamente 0,023 e 0,10 mg L^{-1} para GO com e sem HA. A PNEC de GO no compartimento aquático foi estimada em 20 μg L^{-1} na ausência de HA. Na presença de HA, em uma concentração de ácido húmico ambientalmente relevante (FRIMMEL, 2004), esse parâmetro foi estimado em 5 μg L^{-1}.

Os dados atuais estão próximos dos valores de PNEC para nanotubos de carbono (CNT) e fullerenos (55,6 e 3,84 μg/L, respectivamente), conforme estimado por Coll et al. (2016) para água doce. De acordo com estimativas derivadas de modelos matemáticos, as concentrações ambientalmente relevantes de NM devem estar nas faixas de partes por bilhão (ppb) e partes por trilhão (ppt) em águas superficiais, mas não existem dados atualmente disponíveis para GO (HU et al., 2017, DUAN et al., 2017). Alguns estudos estimaram nas águas superficiais concentrações de até 0,56 e 0,33 ng/L para CNT e C60, respectivamente (SUN et al., 2014). Na ausência de valores de PEC para GO, calculamos o quociente de risco (RQ = PEC/PNEC) usando o valor PEC estimado para CNT por Gottschalk et al. (2009) - 32,6 ng/L - assumindo uma exposição semelhante entre os dois materiais e considerando o pior cenário possível.

Assim, valores de RQ de 0,001 e 0,006 foram obtidos para GO na ausência e presença de ácido húmico, respectivamente. Um RQ <1 indica que não é de se esperar nenhum risco para o compartimento. Portanto, embora na presença de HA exista uma redução de 4 x na PNEC de GO, os valores de RQ indicam não ser esperado nenhum risco para os ecossistemas aquáticos em ambos os casos.

4 CONCLUSÃO

A abordagem apresentada neste trabalho é útil na previsão de uma concentração de GO ecologicamente segura, uma vez que os dados sugerem que a exposição a GO pode causar algum dano aos organismos após sua liberação para o meio ambiente.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi apoiado pelos processos FAPESP 2014/12891-0 e 2014/01995-9. Os autores agradecem ainda ao CNPEM, CAPES, INCT-Inomat, Cigenanotox, Rede AgroNano e SisNANO.

REFERÊNCIASALDENBERG, T.; SLOB, W. Confidence limits for hazardous concentrations based on logistically distributed NOEC toxicity data. Ecotoxicol. Environ. Saf., 25, 48-63, 1993.

CHOWDHURY, I. et al. Colloidal properties and stability of graphene oxide nanomaterials in the aquatic environment. Environ. Sci. Technol., 47(12), 6288-6296, 2013.

CLEMENTE Z. et al. Nanotoxicity of graphene oxide: Assessing the influence of oxidation debris in the presence of humic acid. Clemente, Environmental Pollution. 225: 118-128, 2017.

COLL, C. et al. Probabilistic environmental risk assessment of five nanomaterials (nano-TiO2, nano-Ag, nano-ZnO, CNT, and fullerenes). Nanotoxicology, 10(4), 436–444, 2016.

DUAN, L. et al. Removal of graphene oxide nanomaterials from aqueous media via coagulation: Effects of water chemistry and natural organic matter. Chemosphere, 168, 1051-1057, 2017.

ENOKI, T. et al., M.A.ll in the graphene family - a recommended nomenclature for two-dimensional carbon materials. Carbon, 65, 1-6, 2013.

FRIMMEL, F.H., Aquatic humic substances. v.1, cap 10. En: Steinbüchel A. Biopolymers, Willey-VCH, 2004. Avalilable in: http://www.wiley-vch.de/books/biopoly/pdf/v01_kap10.pdf. Accessed in 2/9/2014

GOTTSCHALK, F., et al. Modeled environmental concentrations of engineered nanomaterials (TiO2, ZnO, Ag, CNT, fullerenes) for different regions. Environ Sci Technol., 43, 9216–9222, 2009.

HU, X.; WEI, Z.; MU, L. Graphene oxide nanosheets at trace concentrations elicit neurotoxicity in the offspring of zebrafish. Carbon, 117, 182-191, 2017.

JONSSON, C. M. et al. Prediction of a low-risk concentration of diflubenzuron to aquatic organisms and evaluation of clay and gravel in reducing the toxicity. Pan-American Journal of Aquatic Sciences, 10, 259-272, 2015.

MATTSSON M.-O.; SIMKÓ M. The changing face of nanomaterials: Risk assessment challenges along the value chain, Regul. Toxicol. Pharmacol., 84, 105-115, 2017.

OECD. Guidance document for aquatic effects assessment (Paris, France), 1995.

OECD. Guidelines for the Testing of Chemicals. Proposal for updating guideline 201. Freshwater alga and cyanobacteria, growth inhibition test (Paris, France), 2002.

SELCK, H. et al. Nanomaterials in the Aquatic Environment: a European Union-United States perspective on status of ecotoxicity testing, research priorities and challenges ahead. Environ. Toxicol. Chem., 35, 1055-1067, 2016.

SUN, T.Y. et al. Comprehensive modeling of environmental emissions of engineered nanomaterials. Environ. Pollut., 185, 69–76, 2014.

TOUART LW. The federal insecticide, fungicide, and rodenticide act. In: Rand GM (Ed), Fundamentals of aquatic toxicology, 3rd ed., Boca Raton, FL: CRC Press, p. 657-668, 1995.

TRAAS, T.P.; VAN LEEUWEN, C.J. Ecotoxicological Effects. In: Van Leeuwen, C.J.; Velmeire, T.G, eds. Risk Assessment of Chemicals: An Introduction. 2nd Edition, Springer, Dordrecht, p. 281-356, 2007.

VAN DAM, R.A. et al. Toxicity of DTPA to Daphnia carnitata as modified by oxygen stress and food limitation. Ecotoxicol. Environ. Saf. 31, 117-126, 1995.

CITOTOXICIDADE CAUSADA POR NANOMATERIAIS: AVALIAÇÃO DO MICRONÚCLEO

Anny Manrich[1*], Silviane Zanni Hubinger[1], Elaine Cristina Paris[1]

[1] Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro 1452, 13560-970, São Carlos, SP
**anny.manrich@gmail.com*

Classificação: Cenários e avaliação dos riscos ambientais e sociais dos nanocompostos

Resumo
Nanomateriais vem sendo utilizados cada vez mais em diversas áreas, como energia, materiais, alimentos e medicina e despertado enorme interesse devido a enorme avanços que têm proporcionado. Por motivos ainda não muito ainda conhecidos, os nanomateriais interagem de forma única e diferenciada com o meio ambiente e com células vegetais e animais podem causar danos toxicológicos, levando a alterações cromossômicas e ao câncer. O teste do micronúcleo é bastante utilizado para avaliar o potencial carcinogênico de materiais e foi aplicado em células de *Allium cepa* (cebola) para investigar se os nanomateriais de uso comercial, nanopartícula e nanobastão de prata e sílica nanoparticulada possuem efeito citotóxico. Várias alterações cromossômicas foram observadas depois da interação destes materiais com as células, em especial no caso da sílica nanométrica.
Palavras-chave: Nanomateriais, Citotoxicidade, Micronúcleo, *Allium cepa*.

TOXICITY CAUSED BY NANOMATERIALS: THE MICRONUCLEI ASSAY

Abstract
Nanomaterials have been increasingly used in various areas such as energy, materials, food and medicine and aroused interest due to the tremendous advances they have provided. For reasons not yet well known, Nanomaterials interact in a unique and differentiated way with the environment and with plant and animal cells and can cause toxicological damage, leading to chromosomal changes and cancer. The micronucleus test is widely used to evaluate the carcinogenic potential of materials and was used to *Allium cepa* (onion) cells to investigate whether nanomaterials of commercial use, silver nanoparticles and nanorods and nanoparticulated silica have a cytotoxic effect. Several chromosomal changes were observed after the interaction of these materials with the cells, especially in the case of the nanosilica.
Keywords: .Nanomaterials, Cytotoxicity, Micronucleus, Allium cepa.

Publicações relacionadas:

1 INTRODUÇÃO

Muitos avanços vem sendo conquistados no campo da nanotecnologia com a aplicação de Nanomateriais em diversas áreas, como de energia, medicina e segurança alimentar (RAJESHWARI, et al., 2016). Sabe-se que os materiais de dimensão nanométrica interagem com o meio ambiente de uma forma única, ainda não muito bem compreendida pelos cientistas (AUPLAT e SLIMANE, 2015). Além disso, eles demonstram ser especialmente tóxicos, comparados a materiais de dimensões micrométricas de mesma composição (KUMARI, et al., 2009). Com isso, a investigação acerca da toxicidade dos nanomateriais torna-se fundamental, já que agentes físicos e químicos podem causar graves alterações ao material genético de células eucarióticas, levando ao câncer e ao envelhecimento precoce. O estudo de danificação do DNA em seu nível cromossômico é a etapa essencial da investigação sobre a toxicidade genética, já que a mutação cromossômica é um evento importante na carcinogênese. O ensaio do micronúcleo tem sido o teste de preferência para essa análise porque possibilita a avaliação confiável tanto da perda e da ruptura cromossômica (FENECH, 2008; FISKESJÖ, 1985; KIRSCH-VOLDERS et al., 2011).O micronúcleo (MN) é um núcleo adicional e separado do núcleo principal de uma célula, formado por cromossomos ou fragmento destes que não

são incluídos no núcleo principal durante a mitose, que surge decorrente de alterações estruturais cromossômicas (CARRARD, et al., 2007).Trazido à área da nanotecnologia, já foi utilizado para investigar a toxicidade de muitos materiais com nanotubos de carbono (GHOSH, et al., 2015), nanopartículas de ouro (RAJESHWARI, et al., 2016) e prata (CVJETKO, et al., 2017; KUMARI, et al., 2009). Neste trabalho, nanomateriais comerciais foram investigados quanto a sua toxicidade, utilizando-se o teste de micronúcleos em células de *Allium cepa* (cebola) e comparados a um padrão de efeito tóxico e carcinogênico, a Trifluralina, um herbicida comumente utilizado em culturas de grãos. Anormalidades cromossômicas como o embolhamento nuclear, a perturbação durante a anáfase e surgimento de micronúcleos foram observadas após 24 h de exposição das raízes de cebola a 75 ppm de nanopartículas de SiO_2, e nanopartículas e nanobastões de Ag, indicando que tais materiais possuem efeito carcinogênico, podendo levar a danos no DNA.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1. MATERIAL

As nanopartículas estudadas foram adquiridas junto ao Projeto NANoREG (DenHaag, Holanda): nanopartículas e nanotubos de prata, nanopartículas de sílica. Reagentes utilizados foram: etanol 95%, ácido acético glacial e reagente de Schiff (Hexis Científica, Jundiaí, SP); carmim acético (Dinâmica, Diadema, SP), Trifluralina (Nortox, Rondonópolis, MT). As sementes de cebola (*Allium cepa*) da variedade foram adquiridas em mercado local.

2.2. MÉTODOS

2.2.1. Suspensão das Nanopartículas

Os nanomateriais foram suspensos em água deionizada em concentração de 75 ppm e dispersos com uso de ponteira de ultrassom de ½ polegada (Branson modelo 101-147-037), a 30% de amplitude por 3 minutos em banho de gelo.

2.2.2. Aplicação do teste de micronúcleos

O ensaio de toxicidade seguiu como descrito por Kumari et al., 2009, com adaptações. Resumidamente, as sementes de cebola foram dispostas em placas de petri sobre papel de filtro e regadas com 4 mL de água diariamente até que as raízes atingissem entre 1 e 2 cm de comprimento. As raízes foram permaneceram em contato com suspensões de nanopartículas, ou em solução padrão positivo (trifluralina) ou negativo (água) por 24 h ao abrigo de luz. Decorrido esse tempo,as raíses foram submetidas à hidrólise ácidae foram coradas com reagente de Schiff ao abrigo da luz por 2 h.Em seguida, as extremidades das raízes foram cortadas e prensadas entre lâminas de vidro com corante carmim acético para que fossem submetidas à análise em microscópioóptico com aumento de 1000 vezes.

2.2.3. Análise em Microscópio

As lâminas contendo as células de cebola foram analisadas em microscópio ótico Bel modelo Solaris T acoplado com câmera USB Eurekam 5.0. Buscou-se verificar a existência de células em diferentes fases de divisão celular e a formação de alterações cromossômicas graves e micronúcleos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A maior parte das células encontravam-se em intérfase e sem alteração para ambos os nanomateriais avaliados (SiO_2 e Ag). Adicionalmente, foram observadas células em todas as fases de divisão celular, que são: prófase, metáfase, anáfase e telófase, o que demonstra que as as mesmas encontravam-se de fato em fase de divisão e multiplicação celular, onde necessariamente ocorrem as alterações dos cromossomos e o surgimento de micronúcleos (FENECH, 2008). Foi contabilizado o número de micronúcleos a cada 1000 células observadas, até um total de células contabilizadas entre 7.000 e 10.000. Na Figura 1 encontram-se exemplos de anormalidades cromossômicas observadas em células após 24 h de contato com os materiais, como embolhamento nuclear,perturbação em anáfase, quebra cromossômica e micronúcleos; e micronúcleo com fenda. O surgimento de tais anomalias não

são ainda conhecidas, porém são frequentemente utilizadas como indicativos de danos ao DNA derivados de alterações após exposição à radiação, diferentes estágios de necrose, morte celular, genotoxicidade e outros (TORRES-BULGARÍN et al., 2014). Na Tabela 1 são apresentados os números de células observadas nas diferentes fases de divisão celular e o número de micronúcleos por 1.000 células. Observa-se que a exposição das células à água destilada (padrão negativo do teste) não causou o aparecimento de micronúcleos.

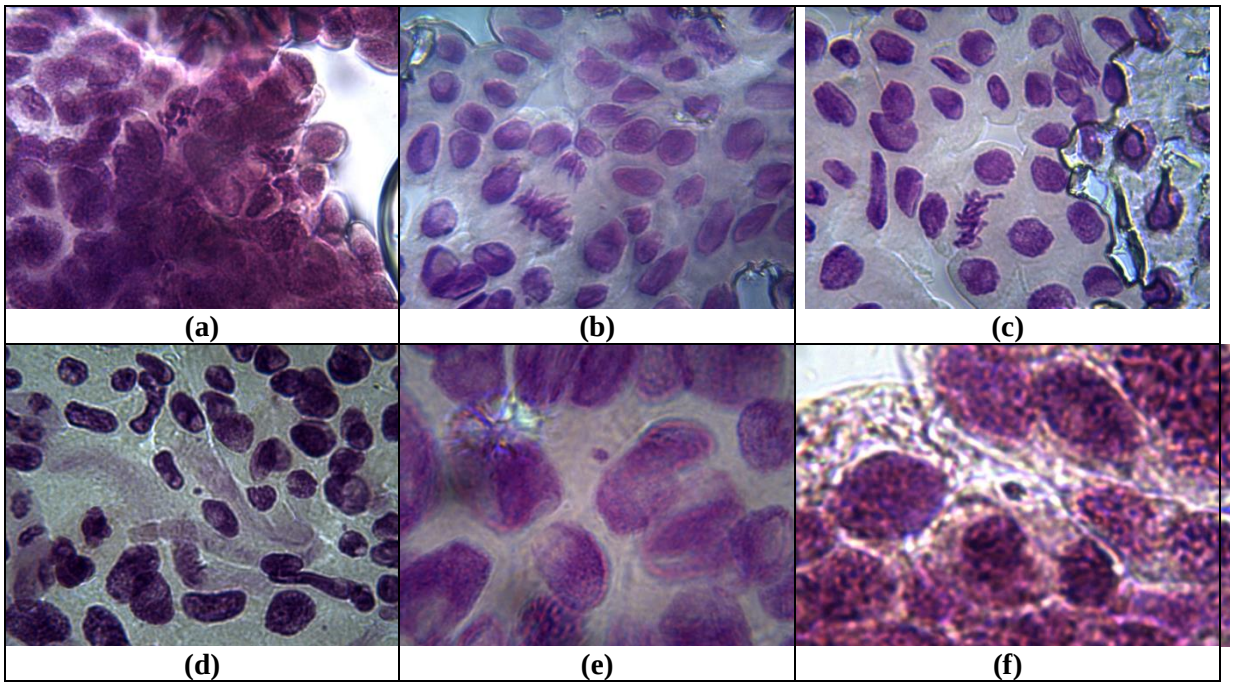


Figura 1.Exemplos de anormalidades nucleares e cromossômicas. (a) embolhamento nuclear (b)perturbação em anáfase (c) quebra cromossômica (d) e (e) micronúcleos (f) micronúcleo com fenda

O aparecimento de micronúcleos entre as células de Nanomateriais estudados é um indicativo de que tais materiais provocaram alterações cromossômicas e podem levar ao aparecimento de câncer (CARRARD et al., 2007). Os materiais que mostraram maior potencial carcinogênico em ordem crescente foram nanosílica, nanopartículas de Ag, nanobastões de Ag e Trifluralina.A água destilada não provocou o surgimento de micronúcleo. Foram encontrados 8,74 micronúcleos a cada 1.000 células observadas, no caso da sílica nanoparticulada, o que evidencia que o material é grande poder carcinogênico.

Tabela 1.: Número de células observadas nos diferentes estágios de divisão celular e número de micronúcleos observados (a cada 1.000 células).

Material	Fase de divisão celular				Micronúcleo
	Prófase	Metáfase	Anáfase	Telófase	
Trifluralina	3,43	0,93	0,53	0,93	1,46
Nanobastões Ag	4,15	1,18	2,36	0,19	1,88
Nanopartículas Ag	3,67	0,13	0,26	0	2,75
Nanosílica	5,00	2,53	1,88	0,55	8,74
Água	3,22	1,84	0 92	1,38	0

Os motivos que levam um determinado Nanomaterial ser tóxico podem não ser explicados considerando-se unicamente sua composição e tamanho. Outros fatores importantes influenciam como as suas propriedades físico-químcas, formato, e química de superfície, ou seja, carga, potencial zeta e rugosidade (SHARIFI et al., 2016). Qual desses fatores é determinante para que a silica nanoparticulada apresente efeito especialmente citotóxico é ainda desconhecido e não foi aqui

investigado. Entretanto, pretende-se realizar estudos mais aprofundados com este e os demais Nanomateriais para que isso seja mais bem esclarecido.

4 CONCLUSÃO

Todos nanomateriais investigados demonstraram potencial de alteração cromossômica, gerando um maior número de micronúcleos no estudo de células de *Allium cepa* por 1.000 células do que a Trifluralina, herbicida reconhecidamente cancerígeno. Em especial a sílica nanoparticulada provocou o aparecimento de 8,74 micronúcleos por 1.000 células analisadas, contra 1,46 no caso da Trifluralina. Pretende-se investigar outras propriedades desses Nanomaterial para que seu efeito cancerígeno seja mais bem esclarecido.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao suporte dado pelo CNPq (402287/2013-4) SISNANO/MCTI, FINEP e à Rede AgroNano.NanoReg - CNPq process n. 405030/2015-0.

REFERÊNCIAS

AUPLAT, C. e SLIMANE, S .B. Regulation and innovation dynamics for nanoresponsible development: The case of the French code de l'environnement L 523-1 to L 523-5. JournalofPhysics: Conference Series**,** n. 617, 2015.

CARRARD, V. C.; COSTA, C. H.; FERREIRA, L. A.; LAUXEN, I. S.; RADOS, P. V. Teste dos Micronúcleos – Um Biomarcador de Dano Genotóxico em Células Descamadas da Mucosa Bucal. R. Fac. Odontol. Porto Alegre, Porto Alegre, v. 48, n. 1/3, p. 77-81,2007.

CVJETKO, P.; MILOŠIĆ, A.; DOMIJAN, A. M.; VRČEKC, I. V.; TOLIĆ, S.; ŠTEFANIĆ,P. P.; LETOFSKY-PAPSTE, I.; TKALEC, M.; BALEN, B. Toxicity of silver íons and differently coated silver nanoparticles in *Allium cepa* roots. Ecotoxicology and Environmental Safety, vol. 137 pp. 18–28, 2017.

FENECH, Micheal. The micronucleus assay determination of chromossomal level DNA damage. In: Methods in Molecular Biology, vol. 410: Environmental Genomics, ed. C. Cristofre Martin. Humana Press, Totowa, NJ. 2008.

FENECH, M. In vitro genotoxicity testing using the micronucleus assay in cell lines, human lymphocytes and 3D human skin models. Mutagenesis, vol. 26 no. 1 pp. 177–184, 2011.

FISKESJO, G. The Allium test as a standard in environmental monitoring,Hereditas, vol. 102, pp.99-112, 1985.

GHOSHA, M., BHADRA, S., ADEGOKE, A. BANDYOPADHYAY, M.; MUKHERJEE, A. MWCNT uptake in Allium cepa root cells induces cytotoxic andgenotoxic responses and results in DNA hyper-methylation.Mutation Research, vol. 774, pp. 49–58, 2015.

SHARIFI, S., BEHZADI, S., LAURENT, S., FORREST, M. L., STROEVE, P., MAHMODI, M. Toxicity of nanomaterials. Chemical Society Reviews, vol., 41, no. 6, pp. 2323-2343. 2012.

TORRES-BUGARÍN, O., ZAVALA-CERNA, M. G., NAVA, A., FLORES-GARCÍA, A., & RAMOS-IBARRA, M. L. Potential uses, limitations, and basic procedures of micronuclei and nuclear abnormalities in buccal cells. Disease markers, vol. 2014, pp.1-13, 2014.

VOLDERS, M. K.; DECORDIER, I.; ELHAJOUJI, A.; PLAS, G.; AARDEMA, M. J. Genotoxicity of silver nanoparticles in Allium cepaMamtaKumari, A. Mukherjee, N. Chandrasekaran. Science ofthe Total Environment, vol. 407, pp. 5243–5246, 2009.

AVALIAÇÃO DA NANOTOXICIDADE DE NANOESTRUTURAS DE ÓXIDO DE ZINCO VISANDO APLICAÇÃO EM FERTILIZANTES

Flávia Fontes Pereira[1,2]; Elaine Cristina Paris[1]; Marcos David Ferreira[1,2]; Daniel Souza Corrêa[1,2];

[1]LNNA, Embrapa Instrumentação, São Carlos, São Paulo, Brasil.
[2] Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), São Carlos, SP, Brasil.
e-mail: flabio08@gmail.com

Classificação: Cenário e avaliação dos riscos ambientais e sociais dos nanocompostos.

Resumo
O estudo tem por objetivo sintetizar e caracterizar óxido de zinco nanoestruturado visando aplicação como nanofertilizante e avaliar a nanotoxicidade ambiental utilizando como organismo-teste a microalga *Pseudokirchneriella subcapitata*. As nanopartículas de ZnO foram sintetizadas pelo método de Coprecipitação seguida de Hidrotermalização pelos períodos de 30 minutos e 2 horas a 150 °C. Após caracterização estrutural e morfológica das nanopartículas de ZnO, bioensaios de nanotoxicidade foram realizados com duração de 96 horas. Os resultados mostraram que o crescimento algáceo foi inibido de forma bastante acentuada para todos os diferentes nanofertilizantes de ZnO quando comparados com as respectivas amostras controles. Mesmo com as possíveis variações nas concentrações, na morfologia e no tamanho das partículas foi evidente a pronunciada toxicidade para as microalgas.
Palavras-chave: Nanoestruturas; Fertilizante; Óxido de zinco; Nanotoxicidade; Microalgas.

EVALUATION OF THE NANOTOXICITY OF ZINC OXID NANOESTRUTURES WITH APPLICATION FOR FERTILIZER

Abstract
The study aims to synthesize and characterize zinc oxide nanostructures aiming at application as nanofertilizers and to evaluate its environmental nanotoxicity using as test organism the microalgae *Pseudokirchneriella subcapitata*. ZnO nanoparticles were synthesized by co-precipitation method and hidrothermalization followed by 30 minutes and 2 hours at 150°C. After structural and morphological characterization of the ZnO nanoparticles, bioassays of nanotoxicity were carried during of 96 hours. The results showed that the algal growth was strongly inhibited for all the different ZnO concentrations when compared with the respective control samples. Even with the possible variations in concentrations, morphology and particle size, pronounced toxicity to microalgae was evident.
Keywords: Nanostructures; Fertilizer; Zinc oxid; Nanotoxicity; Microalgae.

1 INTRODUÇÃO

Com o crescimento da pesquisa e atividades industriais relacionadas aos nanomateriais surgiu a preocupação sobre a possibilidade da entrada destes materiais 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; KIRBY; MCLAUGHLIN, 2013). Estrutura, composição, concentrações, solubilidade e maior área superficial influenciam na toxicidade de nanopartículas (GUZMÁN; TAYLOR; BANFIELD, 2006).

As nanopartículas de óxido de zinco (ZnO) 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 consequentemente os custos de proteção ambiental (TARAFDAR; SHARMA; RALIYA, 2013).

A toxicidade nos recursos hídricos é consideravelmente mais vulnerável à contaminação por nanomateriais, apresentando grande potencial tóxico, especialmente para as microalgas (Gong et al. (2011). Aruoja (2011) 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 o ZnO nanoestruturado 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 MATERIAL E MÉTODOS

As nanopartículas de ZnO foram obtidas empregando-se o método de Coprecipitação por via úmida. Desta maneira, foram preparadas suspensões para três sínteses de ZnO puro, nas quais foram solubilizados 5,47g de nitrato de zinco ($Zn(NO_3)_2$) e 4g de hidróxido de sódio (NaOH), em água Milli-Q. A solução de NaOH foi misturada à solução de ($Zn(NO_3)_2$) até formar um precipitado branco, a temperatura ambiente e agitação constante, mantendo o pH final na faixa entre 12 a 14. O precipitado de uma das sínteses foi acondicionado em placa de Petri e seco em estufa a vácuo (marca Nova Ética) a 60 °C. Já os produtos das outras duas sínteses de ZnO via método coprecipitação foram tratados pelo método hidrotermal, nos períodos de 30 minutos e 2 horas, objetivando definir a cristalinidade e a morfologia para os diferentes nanofertilizantes.

Para os dois tratamentos hidrotérmicos das nanopartículas de ZnO puro, os precipitados brancos obtidos foram transferidos para o copo de Teflon de 100mL e levado ao reator hidrotermal e mantidos a uma temperatura de 150 °C por 30 minutos e 2 horas, respectivamente. As amostras foram acondicionadas em placas de Petri para secagem em estufa a uma temperatura de 60 °C. A caracterização estrutural e morfológica do ZnO foi realizada 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° (2θ) e velocidade de 1°/min, e através da microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (MEV-FEG) em um microscópio JEOL, modelo JSM-6701F, respectivamente.

Bioensaios de nanotoxicidade com a microalga *P. subcapitata* foram realizados para amostras de ZnO Coprecipitada e ZnO Hidrotermais 30 minutos e 2 horas no período de 96 horas. As concentrações iniciais de nanofertilizantes utilizadas para os bioensaios foram 10 mg L^{-1}, 25 mg L^{-1}, 50 mg L^{-1}, 100 mg L^{-1} e 200 mg L^{-1}. A norma utilizada foi a preconizada pela OECD, 2011.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 apresenta os difratogramas das nanopartículas de ZnO Coprecipitado, ZnO Hidrotermal 30 minutos e ZnO Hidrotermal 2 horas, respectivamente. Pode-se observar nos difratogramas de raios X das amostras sintetizadas que houve a formação de ZnO monofásico com estrutura hexagonal de acordo com a ficha cristalográfica JCPDS *(Joint Committee on Powder Diffraction Standards)* n°36-1451. Os picos cristalográficos obtidos estão relacionados à célula unitária hexagonal do tipo wurtzita, com grupo espacial *P63mc* (186).

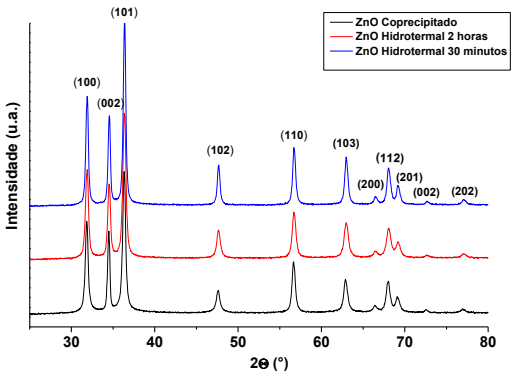


Figura 1. Difratogramas de raios X das amostras de ZnO Coprecipitada e Hidrotermais nos períodos de 30 minutos e 2 horas, respectivamente.

Todos os picos de difração estão bem definidos, indicando a formação da fase cristalina. Esse resultado indica que o ZnO pode ser obtido facilmente em curto tempo pelo método hidrotermal. As estruturas cristalográficas para o ZnO obtidas nos trabalhos de Libanori (2011) e Quirino et al. (2014) foram bastante similares às encontradas neste estudo. Da mesma forma, a análise deste estudo corroborou com os picos cristalográficos encontrados nas amostras do trabalho de Feltrin (2010).

As Figuras 2 (A,B), 3 (A,B) e 4 (A,B) apresentam as morfologias obtidas para as diferentes sínteses de ZnO.

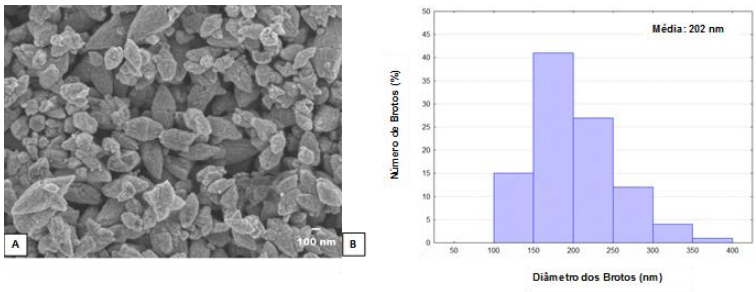


Figura 2 (A, B) - Imagem de microscopia eletrônica da amostra de ZnO Coprecipitado e o histograma de distribuição do diâmetro médio dos brotos, respectivamente.

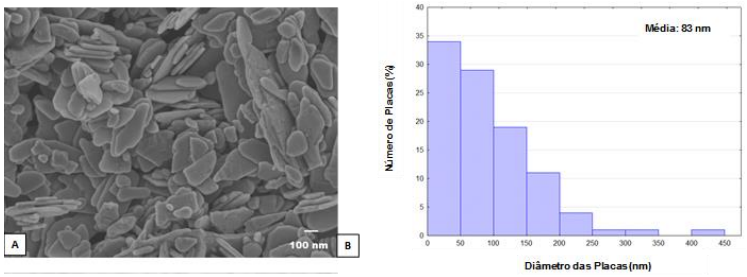


Figura 3 (A, B) - Imagem de microscopia eletrônica da amostra de ZnO Hidrotermal por 30 minutos e o histograma de distribuição do diâmetro médio das placas, respectivamente.

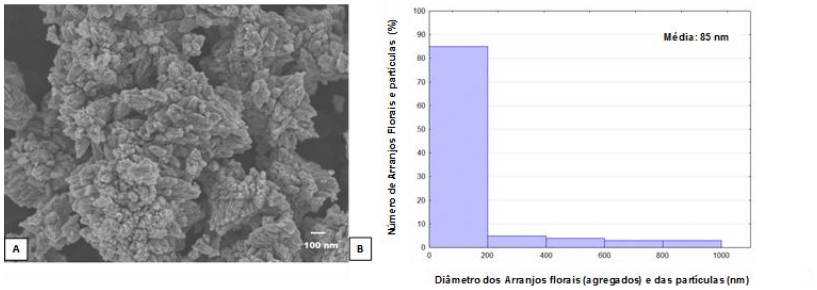


Figura 4 (A, B) - Imagem de microscopia eletrônica da amostra de ZnO Hidrotermal por 2 horas e o histograma de distribuição do diâmetro médio dos arranjos florais (agregados de partículas) e das partículas, respectivamente.

De um modo geral, as micrografias acima evidenciaram formação de aglomerados/agregados de brotos (Figura 2A), placas (Figura 3A) e arranjos florais (Figura 4A). Para a morfologia de brotos foi possível notar várias nanopartículas aderidas entre si, assim como na morfologia de arranjos florais, os quais são formados por agregados de facetas florais. A morfologia em arranjos florais indica um estágio intermediário entre a formação de brotos coprecipitados e nanoplacas hidrotermais (MOTOC et al., 2015). As variações de tamanho e morfologia observadas são oriundas do fato das sínteses serem realizadas em meio básico, no qual os processos de solubilização/recristalização ocorreram em tempos diferentes ao longo do processo hidrotérmico (LIBANORI, 2011).

Os bioensaios revelaram elevada toxicidade de todas os nanofertilizantes sintetizados para a microalga *P. subcapitata*, não sendo possível calcular os valores de 96h-IC50 e avaliar o comportamento da velocidade do crescimento algáceo devido à dificuldade em realizar os ajustes por regressão linear. Estudos com nanopartículas de óxido de cobre (CuO), óxido de zinco (ZnO), óxido de titânio (TiO_2) e óxido de silica (SiO_2) têm comprovado o quanto são tóxicas para as células de *P. subcapitata*, assim como para as demais espécies de microalgas (CLÉMENT; HUREL; MARMIER, 2013; MACHADO; SOARES, 2014).

4 CONCLUSÃO

De modo geral, pode-se concluir que as nanopartículas de ZnO Coprecipitada e Hidrotermalizadas nos períodos de 30 minutos e 2 horas, na faixa de concentrações utilizadas, apresentaram elevada toxicidade para as microalgas da espécie *P. subcapitata*. A variação no tamanho e na morfologia, assim como a aglomeração/agregação entre as nanopartículas foram fatores determinantes para a inibição do crescimento algáceo de forma bastante acentuada. Contudo, novos estudos serão realizados com nanopartículas de ZnO obtidas por rotas químicas distintas e tratamentos hidrotermais variados.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPESP pela bolsa de doutorado concedida (Processo Nº 2013/17528-8), e ao CNPq, CAPES, MCTI-SisNano, à Embrapa Instrumentação e à Rede AgroNano.

REFERÊNCIAS

ARUOJA, V. **Algae Pseudokirchneriella subcapitata in environmental hazard evaluation of chemicals and synthetic nanoparticles**. 2011. Estonian University of Life Sciences, 2011. Disponível em: <http://dspace.emu.ee/bitstream/handle/10492/154/Thesis_Villemi PhD2011.pdf;sequence=1>. Acesso em: 15 mar. 2017.

BATLEY, G. 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, 19 mar. 2013. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22759090>. Acesso em: 15 mar. 2017.

CLÉMENT, L.; HUREL, C.; MARMIER, N. Toxicity of TiO2 nanoparticles to cladocerans, algae, rotifers and plants - Effects of size and crystalline structure. **Chemosphere**, v. 90, n. 3, 2013.

FELTRIN, C. W. **Síntese e propriedades do ZnO: correlação entre propriedades estruturais e atividade fotocatalítica**. 2010. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2010. Disponível em: <http://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/27179>. Acesso em: 15 jun. 2017.

GONG, N.; SHAO, K.; FENG, W.; LIN, Z.; LIANG, C.; SUN, Y. Biotoxicity of nickel oxide nanoparticles and bio-remediation by microalgae Chlorella vulgaris. **Chemosphere**, v. 83, n. 4, p. 510–516, 2011.

GUZMÁN, K. A. D.; TAYLOR, M. R.; BANFIELD, J. F. Environmental risks of nanotechnology: National nanotechnology initiative funding, 2000-2004. **Environmental Science and Technology**, v. 40, n. 5, p. 1401–1407, 2006.

LIBANORI, G. S. do N. Avaliação da atividade catalítica de óxidos cerâmicos na conversão de óleos vegetais. 4 fev. 2011. Disponível em: <https://repositorio.ufscar.br/handle/ufscar/6482?show=full>. Acesso em: 16 jun. 2017.

MACHADO, M. D.; SOARES, E. V. Modification of cell volume and proliferative capacity of [i]Pseudokirchneriella subcapitata[/i] cells exposed to metal stress. **Aquatic Toxicology**, v. 147, p. 1–6, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24342441>.

MOTOC, A. M.; TUDOR, I. A.; PETRICEANU, M.; BADILITA, V.; PALOMO DEL BARRIO, E.; JANA, P.; FIERRO, V.; CELZARD, A.; PITICESCU, R. R. In-situ synthesis and attachment of colloidal ZnO nanoparticles inside porous carbon structures. **Materials Chemistry and Physics**, v. 161, p. 219–227, jul. 2015. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0254058415300997>. Acesso em: 16 jun. 2017.

OECD. **OECD Guidelines for the testing of Chemicals. Freshwater Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition TestOrganisation for Economic Cooperation and Development**, 2011.

QUIRINO, M. R.; DE OLIVEIRA, M. J. C.; KEYSON, D.; GAMA, L. Obtenção do óxido de zinco através do método hidrotérmico assistido por micro-ondas. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 9, n. 2, p. 106–111, 2014. Disponível em: <http://www2.ufcg.edu.br/revista-remap/index.php/REMAP/article/viewFile/427/315>. Acesso em: 16 jun. 2017.

TARAFDAR, J. C.; SHARMA, S.; RALIYA, R. Nanotechnology: Interdisciplinary science of applications. **African Journal of Biotechnology**, v. 12, n. 3, p. 219–226, 2013. Disponível em: <http://search.proquest.com/docview/1662010598/abstract/9362176246B473DPQ/42%5Cnhttp://media.proquest.com/media/pq/classic/doc/3620154511/fmt/pi/rep/NONE?hl=nanotechnologies%252Cnanotechnology%252Cnanotechnologies%252Cnanotechnology%252Cbiology%252Cbiology>.

EFEITOS DE NANOTUBOS DE CARBONO NA GERMINAÇÃO DE *LACTUCA SATIVA*

Paula Ariane de Andrade[1], Michele Valquíria dos Reis[2], Renato Paiva[2], José Manoel Marconcini[3], Juliano Elvis Oliveira[1*]

[1]Departamento de Engenharia, Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG
[2]Departamento de Biologia, Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG
[3]Embrapa Instrumentação, São Carlos-SP
**juliano.oliveira@deg.ufla.br*

Classificação: Cenários e avaliação dos riscos ambientais e sociais dos nanocompostos.

Resumo
A evolução da nanociência e sua vasta aplicação na sociedade humana requer um avanço nas análises das interações dos nanodispositivos e das nanoestruturas com sistemas biológicos. Objetivando avaliar os efeitos ecotoxicológicos dos nanotubos de carbono na germinação e crescimento inicial da espécie vegetal *Lactuca sativa L.* (alface), foram realizados testes de germinação onde as sementes foram expostas a seis diferentes concentrações de nanotubos. Foram medidos o percentual de germinação, o comprimento da raiz primaria e do hipocótilo das plântulas. A caracterização dos nanotubos de carbono por microscopia eletrônica de transmissão indicou um diâmetro de aproximadamente 14,16nm e por espectroscopia Raman uma razão de intensidades de banda (I_D/I_G) de 1,583. As soluções de nanotubos de carbono utilizadas não afetaram a porcentagem de germinação dos tratamentos. Foi observada uma relação benéfica sobre o crescimento inicial da espécie vegetal em certa faixa de concentração (2-8 µg/mL), sendo o tratamento de concentração 6 µg/mL o de influência mais significativa para o comprimento do hipocótilo. Entretanto não é possível afirmar se estes resultados foram devidos a nanopartículas ou a outro componente, como íons metálicos presentes na solução utilizada e que podem influenciar os efeitos ecotoxicológicos neste sistema biológico.
Palavras-chave: nanotubos de carbono, nanotoxicologia, *lactuca sativa*

ANALYSIS OF THE TOXICOLOGICAL EFFECTS OF CARBON NANOTUBES ON LETTUCE GERMINATION

Abstract
The nanoscience evolution and its wide application in human society requires an advance in the analysis of the interactions of nanodevices and nanostructures with biological systems. Aiming to evaluate the ecotoxicological effects of carbon nanotubes on the germination and initial growth of the plant species *Lactuca sativa L.* (lettuce), germination tests were carried out where the seeds were exposed to six different concentrations of nanotubes. The percentage of germination, the length of the primary root and the hypocotyl of the seedlings were measured. The carbon nanotubes characterization by transmission electron microscopy indicated a diameter of approximately 14.16nm and by Raman spectroscopy a ratio of band intensities (I_D/I_G) of 1.583. The carbon nanotubes solutions used did not affect the percentage of germination of the treatments, but a beneficial relation was observed on the initial growth of the vegetal species in a certain range of concentration (2-8 µg / mL), where the treatment of 6 µg/mL concentration was the most significant influence on hypocotyl length. However, it is not possible to say if these results were due to nanoparticles or to another component, such as metal ions that can influence the ecotoxicological effects in this biological system.
Keywords: carbon nanotubes, nanotoxicology, lactuca sativa

1 INTRODUÇÃO

Um dos nanomateriais de maior interesse tecnológico são os nanotubos de carbono. Formados por estruturas tubulares, possuem grande potencial de inovação para os setores de materiais, eletrônica e biotecnologias. A utilização dos nanotubos pode ser observada em supercapacitores, células a

combustível, células fotovoltaicas, materiais compósitos poliméricos, sistemas de controle de fármacos entre várias outras aplicações (FRANCHI et al., 2012)

A ciência que estuda e procura combater os efeitos nocivos ou adversos causados pelos nanomateriais é denominada nanotoxicologia. Seu objetivo é garantir o desenvolvimento seguro e sustentável da nanotecnologia. Há uma grande necessidade de esforços dedicados a essa área, pois, uma vez que se trata de sistemas em escala nanométrica, as interações desses materiais são muito amplas e suas análises devem levar em consideração vários fatores físicos, morfológicos e químicos. A literatura ainda encontra-se contraditória em alguns aspectos relacionados à nanotoxicologia (SILVA et al., 2014).

A importância dos estudos da toxicidade dos nanotubos de carbono (NTC's) ocorre pelo seu atual emprego e sua grande expectativa de utilização em aplicações tecnológicas em diversas áreas. O contato humano com os nanomateriais, os quais estão presentes em produtos desde cosméticos a equipamentos industriais, é um fato inevitável e seus efeitos adversos à saúde humana e ambiental são motivos de grande preocupação (CERAVOLO, 2015)

De acordo com Oliveira et al. (2014) a germinação de sementes é um processo que compreende vários eventos metabólicos do desenvolvimento inicial da planta, culminando no surgimento da raiz primária dos envoltórios da semente**.** A exposição de plantas à concentrações de alíquotas de NTCs podem alterar seu crescimento e desenvolvimento. Nesse contexto, este trabalho teve como objetivo analisar as alterações dos aspectos morfológicos, por conseguinte os efeitos das interações dos NTCs, na fase inicial do desenvolvimento da alface.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Para analisar os efeitos toxicológicos de Nanotubos de Carbono na germinação da alface foram feitos ensaios de germinação utilizando-se soluções em 6 diferentes concentrações de NTCPM - 0, 2, 4, 6, 8 e 10 µg/mL (respectivamente T0, T1, T2, T3, T4 e T5). Para a realização do experimento foram empregadas sementes de *Lactuca Sattiva L.*, de mesmo lote da marca Isla (linha PAK), e nanotubos de carbono (Sigma Aldrich ®).

2.1 Preparo das soluções

A solução estoque de NTC foi preparada usando 0,1 g NTCPM funcionalizados com ácido carboxílico (Sigma Aldrich ®) e 0,9 g de P478 – Tween 80 (Sigma Aldrich ®) que foram colocados em béquer e água destilada até completar 300 mL para compor a solução estoque contendo 0,05% de NTC. A solução foi levada ao sonicador (Brenson – Digital Sonifier ®, modelos 250 & 450) com amplitude 30% por 15 minutos.

2.2 Caracterização por Espectroscopia Raman

Os dados foram obtidos utilizando espectrofotômetro Raman por transformada de Fourier (RIS 100/S, Bruker, Inc., Karlsruhe, Alemanha), excitado por laser Nd:YAG a 1064 nm e resolução espectral de 4 cm-1.

2.3 Caracterização por Microscopia Eletrônica de transmissão

As dispersões em meio aquoso dos nanotubos foram analisadas em microscópio eletrônico de transmissão TECNAI™G2 F20 no modo STEM, em campo claro (*Bright Field*) e campo escuro (*Dark Field*). As amostras foram preparadas a partir da suspensão dos NTC em hexano e depois foram sofinicadas em ultrasonificador Brenson 450 durante 5 minutos. As suspensões foram depositadas na superfície de uma grade de cobre com filme de Formvar de 400 mesh (Ted Pella) e armazenadas em um dessecador por 24 horas, no mínimo, antes das análises de MET.

2.4 Ensaios de germinação

Foram selecionadas aproximadamente 900 sementes da espécie de alface utilizada, as quais foram desinfetadas (trinta segundos em álcool 70% e dois minutos em hipoclorito 2,5%) e distribuídas em Placas de Petri sobre papeis filtro (2 em cada placa) embebidos com a solução. A determinação do volume de solução a ser utilizado para cada papel filtro foi baseada na literatura (RAS).

Água destilada foi usada como controle e cada tratamento foi realizado em cinco repetições. Em cada uma das placas de petri foram dispostas 30 sementes, posicionadas em 5 fileiras de 6 sementes, com espaçamento uniforme e suficiente para minimizar a competição por espaço entre as sementes. As placas foram lacradas e armazenadas em um local com luz artificial na temperatura ambiente de 25ºC.

O número de sementes germinadas foi contabilizado diariamente, no mesmo horário, durante 14 dias. De acordo com a necessidade as placas foram molhadas, utilizando suas respectivas soluções para cada tratamento, com aproximadamente 0,5ml para que se mantivessem úmidas. Ao final desse período de germinação, as sementes foram analisadas com o equipamento GroundEye, do Laboratório Central de Sementes da Universidade Federal de Lavras.

Após seis meses a solução estoque de NTC foi novamente sonicada para a dispersão dos nanotubos aglomerados e os testes de germinação foram novamente reproduzidos.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados na caracterização por espectroscopia Raman da amostra indicaram uma a relação entre as intensidades das bandas D e G (I_D/I_G) do espectro de 1,58. Esse valor é sinal de um elevado grau de desordem presente na estrutura dos nanotubos de carbono de paredes múltiplas.

Na caracterização por microscopia eletrônica de transmissão da amostra foi possível a visualização da estrutura dos nanotubos. Com essa técnica foi possível observar um aspecto quebradiço e contorcido das nanoestruturas (Figura 1), o qual pode ser resultado do método de sonicação, utilizado no preparo das amostras. Através da microscopia foi também possível a determinação do diâmetro médio aproximado de 14,16nm dos NTCPM's.

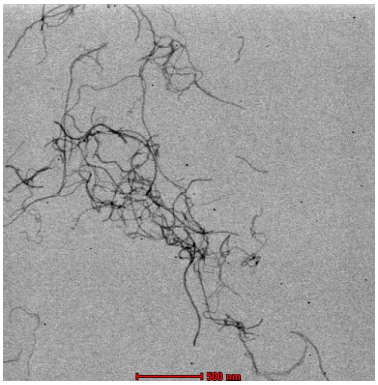


Figura 1. Microscopia MET da amostra de NTCPM em *Bright Field* na escala 500nm

Após o período de exposição das sementes às soluções de diferentes concentrações de NTC, foram coletadas as médias para cada tratamento de porcentagem de sementes de alface germinadas, comprimento da raiz primária e comprimento do hipocótilo. A tabela 1 apresenta os resultados obtidos com seus respectivos erros padrões.

Tabela 1. Médias obtidas para as variáveis porcentagem de sementes germinadas, comprimento da raiz primaria e comprimento do hipocótilo.

Tratamento	Porcentagem média de germinação 1 (%)	Porcentagem média de germinação 2 (%)	Comprimento médio da raiz primária (cm)	Comprimento médio do hipocótilo (cm)
T0	84,5 (± 3,2)	91,2 (± 2,9)	2,7 (± 0,4)	1,4 (± 0,1)
T1	93,3 (± 2,8)	89,6 (± 1,6)	3,8 (± 0,4)	1,6 (± 0,1)
T2	84,7 (± 4,7)	90,4 (± 4,1)	2,9 (± 0,2)	1,6 (± 0,1)
T3	93,1 (± 2,1)	87,2 (± 2,9)	5,3 (± 0,4)	1,5 (± 0,1)
T4	93,3 (± 2,8)	86,4 (± 4,1)	4,0 (± 0,3)	1,5 (± 0,1)
T5	85,3 (± 2,9)	82,4 (± 2,7)	3,7 (± 0,3)	1,3 (± 0,1)

A variável porcentagem de sementes germinadas foi analisada com a ferramenta de análise de variância (ANOVA). Foi aplicado o teste estatístico de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade para ambas as reproduções. Os coeficientes de variação para o primeiro e o segundo conjuntos de dados do experimento foram, respectivamente, 8% e 8,12%.

Com os dados obtidos aplicou-se o teste estatístico Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. Os coeficientes de variação obtidos para comprimento médio da raiz primária e do hipocótilo foram, respectivamente, 48,09% e 37,31%.

A partir das análises estatísticas e gráficas para os comprimentos da raiz primária e hipocótilo pode-se constatar que a concentração do tratamento T3 (6 µg/mL) foi a que influenciou mais positivamente para o crescimento de ambas as estruturas. Com os resultados do comprimento do hipocótilo também é possível supor uma faixa ideal de concentração (2-8 µg/mL) para a aplicação de nanotubos de carbono no processo de germinação das sementes da espécie vegetal em questão. Acima dessa faixa, as nanoestruturas deixam de ser benéficas para tal variável.

Ao se tratar da porcentagem de sementes germinadas para a primeira reprodução do experimento, pode-se afirmar que não foi obtida nenhuma resposta apreciável em função de escala e variações não significativas. Já na segunda, todos os tratamentos se mantiveram equivalentes. A baixa no número de sementes vivas na segunda bateria de dados pode ter ocorrido por fatores decorrentes do meio de cultivo e também pelo estado das soluções utilizadas. Mesmo com os devidos cuidados tomados, as desinfetações aplicadas não foram totalmente eficazes para prevenir a ação de fungos sobre a espécie vegetal. Com relação as soluções utilizadas, o tempo entre a primeira e a segunda reprodução dos experimentos pode ter afetado a qualidade da solução estoque de NTC. Na caracterização inicial da amostra de nanotubos foi possível identificar um grande grau de desordem. Com o passar do tempo é possível que defeitos, como impurezas e grãos de fronteira, tenham se incorporado às nanoestruturas, aumentando assim esse grau de desordem do sistema. Além disso, o método de sonicação utilizado com a intenção de desaglomeração dos nanotubos aumenta o aspecto quebradiço, contribuindo para a elevação de defeitos. Para constatações conclusivas dessa hipótese seria necessária uma segunda caracterização através da técnica de espectroscopia Raman.

Como a amostra de nanotubos utilizada apresentou características de grande desordem nos espectros Raman iniciais, não é possível afirmar se as respostas dos testes de germinação foram devidas aos nanotubos em si ou se foram consequência de alguma impureza metálica.

4 CONCLUSÃO

Com base nos resultados apresentados por meio dos experimentos realizados com a Alface Regina de Verão (Lactuca sativa), foi possível observar uma relação benéfica da solução de nanotubos de carbono utilizada sobre o crescimento inicial da espécie vegetal em certa faixa de concentração (2-8 µg/mL). As alíquotas aplicadas funcionaram como uma forma de adubo para o crescimento das plântulas com a metodologia utilizada, sendo o tratamento de concentração 6 µg/mL o de influência mais significativa para o comprimento do hipocótilo, não afetando porém a porcentagem de germinação dos tratamentos.

Entretanto, através da caracterização da amostra de NTC um elevado número de defeitos nas nanoestruturas foi constatado.

AGRADECIMENTOS

Ao Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas pela disponibilização dos materiais e espaço necessários para a realização deste trabalho.

REFERÊNCIAS

FRANCHI, L. P. et al. Citotoxicidade e genotoxicidade de nanotubos de carbono. Quim. Nova, São Paulo, v. 35, n. 3, p. 571–580, 2012.

SILVA, L. H. da. et al. Revisão bibliográfica sobre relações entre nanomateriais, toxicidade e avaliação de riscos: a emergência da nanotoxicologia. Disciplinarum Scientia, v. 15, n. 1, p. 19–30, 2014.

CERAVOLO, M. de L. A. Nanotecnologia : riscos ocupacionais e amparo legal. Laborativa, v. 4, n. 2, p. 53–63, 2015.

OLIVEIRA, A. K. M. et al. Germinação de sementes de pau-de-espeto (Casearia gossypiosperma) em diferentes temperaturas. Floresta, v. 45, n. 1, p. 97–106, 2014.

AVALIAÇÃO DO CICLO DE VIDA DA PRODUÇÃO DE CELULOSE BACTERIANA

Ana Lídia de Almeida Castro, Matheus de Oliveira Barros, Maria Cléa Brito de Figueirêdo

Embrapa Agroindústria Tropical – anacastro244@hotmail.com

Classificação: Cenários e avaliação dos riscos ambientais e sociais dos nanocompostos.

Resumo

A celulose bacteriana (CB) é um polímero nanoestruturado com alta pureza e biodegradabilidade, tendo diferentes aplicações nas áreas alimentícia e biomédica. Com o desenvolvimento de nanoprodutos, torna-se necessária a análise ambiental desses novos materiais. Logo, este trabalho avalia os impactos ambientais da produção de 1 g de CB utilizando a Avaliação do Ciclo de Vida. As películas de CB foram obtidas por meio do cultivo estático em laboratório da cepa *Gluconacetobacter hansenii* ATCC 53582. Os processos unitários avaliados foram: pré-ativação e ativação da bactéria, cultivo estático, purificação com NaOH 2% (m/v), neutralização e esterilização. O método ReCiPe foi usado na avaliação das categorias: mudança climática (MC), acidificação do solo (AS), depleção hídrica (DH), eutrofização marinha (EM) e de água doce (EAD). Já ecotoxicidade (ET), toxicidade humana cancerígena (THC) e não cancerígena (THNC) foram analisadas pelo USEtox. A purificação obteve maior impacto nas categorias MC (65%), AS (63%), ET (67%), THC (61%) e THNC (67%), principalmente devido ao consumo de energia e à produção de NaOH. O cultivo estático mostrou mais danos em EM (55%) e EAD (67%) e a neutralização teve pior desempenho na DH (41%). Três cenários foram analisados, obtendo-se redução no número de lavagens da purificação e na água usada na neutralização.

Palavras-chave: Impactos ambientais; Celulose bacteriana; Nanotecnologia.

LIFE CYCLE ASSESSMENT OF THE PRODUCTION OF BACTERIAL CELLULOSE

Abstract

Bacterial cellulose (CB) is a nanostructured polymer with high purity and biodegradability, having different applications in the food and biomedical areas. With the development of nanoproducts, the environmental analysis of these new materials becomes necessary. Therefore, this work evaluates the environmental impacts of the production of 1 g of CB using the Life Cycle Assessment. CB films were obtained by means of static laboratory culture of the strain *Gluconacetobacter hansenii* ATCC 53582. The evaluated unit processes were: preactivation and activation of the bacterium, static culture, purification with NaOH 2% (w/v), neutralization and sterilization. The ReCiPe method was used to evaluate the categories: climate change (MC), soil acidification (AS), water depletion (DH), marine (EM) and freshwater (EAD) eutrophication. Ecotoxicity (ET), human cancer (THC) and non-cancer (THNC) toxicity were analyzed by the USEtox. Purification had a greater impact in the MC (65%), AS (63%), ET (67%), THC (61%) and THNC (67%) categories, mainly due to energy consumption and NaOH production. Static culture showed more damage in EM (55%) and EAD (67%) and neutralization had a worse performance in DH (41%). Three scenarios were analyzed, obtaining a reduction in the number of washes of the purification and in the water used in the neutralization.

Keywords: Environmental impacts; Bacterial cellulose; Nanotechnology.

1 INTRODUÇÃO

A celulose, sintetizada tanto por plantas quanto por microrganismos, é um polímero orgânico com grande relevância econômica e um recurso natural quase inesgotável na Terra, tendo uma produção mundial estimada de 100 trilhões de toneladas por ano (DONINI et al., 2010).

A celulose bacteriana (CB), tem ganhado cada vez mais interesse devido às suas propriedades distintas que conferem a ela as mais diversas aplicações. A CB é produzida durante os processos metabólicos de bactérias, sendo um homopolissicarídeo quimicamente semelhante à celulose vegetal, mas com características singulares devido à sua estrutura tridimensional em escala nanométrica e à sua

alta pureza (TABUCHI, 2007). Além disso, a CB é biocompatível, não alergênica, não tóxica, tendo alta pureza, alta capacidade de absorção e retenção de água, e alta porosidade (CZAJA et al., 2007).

A avaliação do ciclo de vida (ACV) é uma ferramenta que visa a quantificar os aspectos e os impactos ambientais ao longo do ciclo de vida de um produto, desde a extração da matéria prima até a sua disposição final (do berço ao túmulo) (ISO, 2006a). Com a crescente preocupação ambiental, a ACV torna-se um mecanismo de identificação de melhorias ambientais nos processos analisados, além de ser importante na tomada de decisão entre opções distintas de desenho de processo, desenvolvimento de produto e obtenção de matérias-primas (BAUMANN e TILLMAN, 2004).

Nesse sentido, apesar da crescente pesquisa e desenvolvimento de materiais contendo CB, o desempenho ambiental desse biopolímero ainda é pouco conhecido. Alguns trabalhos já foram publicados com relação a estudos de ACV de novos polímeros naturais, como o polihidroxibutirato (PHB) (KENDALL, 2012) ou a nanocelulose microfibrilada (NFC) (LI et al., 2013).

Com relação à avaliação ambiental da CB em si, apenas Hervy et al. (2015) inclui essa análise, de forma estimada e simplificada. Esse estudo utilizou a ACV para comparar dois compósitos de polímeros reforçados com nanocelulose, CB e NFC. Porém, na etapa de produção da CB, apenas o substrato e a energia utilizados na sua purificação são estimados, não havendo medições de dados primários em todas as etapas do processo de produção (HERVY et al., 2015).

Com o desenvolvimento de nanoprodutos em áreas distintas, torna-se importante a análise dos possíveis danos ambientais que esses novos materiais podem trazer. Nesse sentido, este trabalho avalia os impactos ambientais da produção de CB em escala laboratorial, considerando desde a pré-ativação da bactéria até a esterilização das películas de CB. Além disso, uma análise de cenários foi realizada como forma de melhorar o desempenho ambiental do sistema de produção de CB.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo baseia-se no estudo de ACV descrito nas normas NBR ISO 14040 (ISO, 2006a) e 14044 (ISO, 2006b). O método ReCiPe *midpoint*, versão hierárquica (GOEDKOOP et al., 2009), foi utilizado na avaliação das seguintes categorias de impacto: mudança climática (MC), acidificação do solo (AS), depleção hídrica (DH), eutrofização marinha (EM) e de água doce (EAD). Já as categorias de toxicidade humana cancerígena (THC) e não-cancerígena (THNC), e ecotoxicidade em água doce (ET), são avaliadas pelo método USEtox (ROSENBAUM et al., 2008).

Os processos unitários considerados para a produção de CB em condições estáticas, apresentados na ordem sequencial do procedimento, são: (i) pré-ativação da bactéria em meio HS (HESTRIN; SCHRAMM, 1954) a 30ºC por 3 dias, em incubadora B.O.D; (ii) ativação da bactéria em meio HS a 30ºC por 4 dias em B.O.D; (iii) cultivo estático, em frascos Schott (250 mL) por 10 dias, a 30°C em B.O.D, com 70 mL de meio HS e inóculo de 3% (v/v); (iv) purificação das películas com tratamento térmico alcalino, utilizando água a 100ºC nas duas primeiras lavagens e NaOH 2% (m/v) a 80ºC nas lavagens subsequentes, até a remoção completa de meio HS das películas de CB; (vi) neutralização utilizando múltiplas lavagens com água corrente, e (vii) esterilização das películas para conservação e posterior aplicação em outros processos laboratoriais.

A função avaliada neste estudo é de produção e a unidade funcional utilizada é de um grama de CB, sendo um estudo do berço ao portão por considerar apenas a produção da CB. Os dados primários referentes às quantidades de insumos utilizados na produção da CB foram obtidos no Laboratório de Tecnologia da Biomassa e de Microbiologia de Alimentos da Embrapa Agroindústria Tropical, no período entre agosto de 2015 e março de 2016. Já os dados referentes à produção dos insumos químicos e eletricidade são provenientes da base de dados Ecoinvent v.3 (FRISCHKNECHT et al., 2007), por meio da utilização do software SimaPro versão 8.0.13.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Avaliação de Impactos

Analisando os impactos ambientais decorrentes da produção de CB em escala laboratorial, observa-se que a purificação e o cultivo estático são os processos unitários mais impactantes, nas categorias analisadas, no macroprocesso de produção de CB (Figura 1).

Nas categorias de mudança climática, acidificação do solo, ecotoxicidade de águas doces, toxicidade humana câncer e não câncer, o processo de purificação tem maior potencial de impacto (com porcentagens de 64,7% em MC, 63,4% em AS, 66,7% ET, 61,5% em THC, 67,5% em THNC). Esse alto impacto se deve principalmente ao consumo de eletricidade e de hidróxido de sódio (NaOH) para a extração do meio HS que fica agregado às películas de CB (Figura 1). Já nas categorias de eutrofização marinha e de águas doces, o cultivo estático tem maiores impactos (com porcentagens de 55,2% em EM e 67% em EAD), principalmente devido às emissões de compostos contendo fósforo e nitrogênio, presentes no meio HS, que é descartado para o meio ambiente logo após o cultivo.

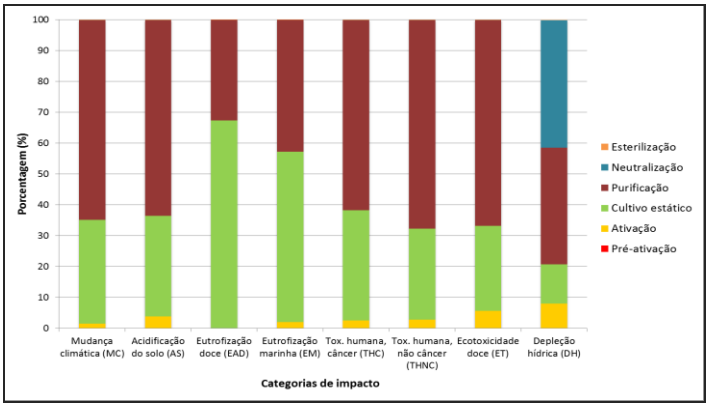


Figura 1. Avaliação de impacto ambiental da produção de CB.

Na categoria de DH, as etapas de neutralização e purificação causam impactos com porcentagens muito próximas, 41,3% e 37,8%, respectivamente (Figura 1). Isso porque os dois processos utilizam um alto volume de água, tanto para purificar as películas com solução de NaOH 2% (m/v) quanto para neutraliza-las.

Já o segundo processo unitário mais impactante é o cultivo estático, que, além de levar à eutrofização, contribui com porcentagens por volta de 30% em todas as outras categorias, com exceção da DH (Figura 1). Nesse cultivo, os frascos inoculados permanecem na incubadora B.O.D por 10 dias, tendo um alto consumo de energia. Logo, a eletricidade também é o fator mais impactante nas categorias de MC, AS, THC, THNC e ET. Porém, na categoria de DH, a produção do meio de cultivo HS tem um maior impacto, principalmente devido à água destilada utilizada na sua formulação. Por fim, nas categorias de EM e EAD, percebe-se um alto impacto devido ao descarte do meio HS fermentado, contendo fósforo e compostos nitrogenados, no meio ambiente.

3.2 Análise de Cenários

Nos cenários 1 e 2, foi testada a inclusão de peróxido de hidrogênio na primeira lavagem com NaOH da purificação, com as consequentes lavagens sendo feitas da forma convencional, apenas com o hidróxido de sódio. O H_2O_2 foi utilizado com o intuito de acelerar o processo de purificação, auxiliando o NaOH a remover o meio de cultura HS remanescente nas películas.

No cenário 1, utilizou-se o NaOH 2% + H_2O_2 1%, percebendo um aumento na quantidade de lavagens necessárias no processo de purificação. Supõe-se que isso ocorre devido à aderência maior do meio HS com as películas quando não há as primeiras lavagens com água corrente. Já no cenário 2, com NaOH 4% + H_2O_2 1%, o número de lavagens permaneceu similar ao convencional, mostrando que a concentração maior de hidróxido de sódio impede essa aderência do meio HS, devido ao tratamento alcalino mais intenso.

Dessa forma, o cenário 1 obteve impactos muito maiores, não sendo uma opção ambientalmente viável (Figura 2). Já o cenário 2 obteve diferenças significantes (intervalo de confiança de 95%) com relação à purificação convencional nas seguintes categorias: (i) MC, THC e ET, onde o cenário 2 é melhor que o processo convencional, e (ii) EM e AS, onde o convencional se torna melhor. Nas demais categorias, os dois processos são estatisticamente semelhantes.

No cenário 3, o número médio de lavagens com água corrente para neutralizar 15 películas de CB diminuiu de dez para nove quando se aumenta o tempo de permanência do material em água. Isso corresponde a uma redução de aproximadamente 8% no volume de água (apenas 240mL de água/g de CB). Logo, esse cenário não seria vantajoso, pois o volume de água utilizado continuaria muito

parecido e a produtividade (produção por tempo) do processo iria diminuir devido ao maior tempo de permanência necessário para neutralizar a mesma massa de CB.

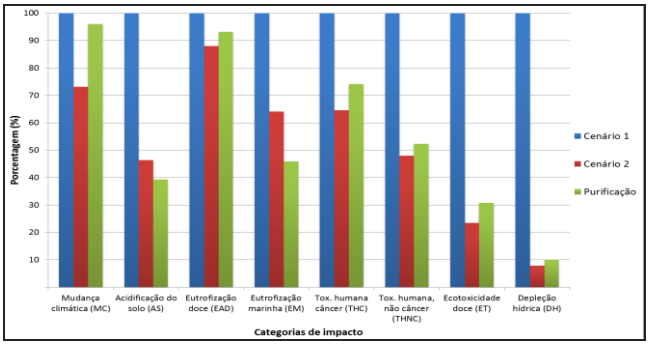


Figura 2. Comparação dos impactos da purificação nos diferentes cenários.

4 CONCLUSÃO

A avaliação do ciclo de vida da produção de CB em escala laboratorial mostrou que o cultivo estático é o mais impactante nas categorias de EM e EAD, a purificação causa mais danos nas categorias de MC, AS, ET, THC e THNC, e a neutralização traz mais impactos na DH. Nesse sentido, as principais fontes de impactos foram: o descarte do meio HS fermentado, a produção do NaOH e o alto consumo de eletricidade. Na análise de cenários, somente o cenário 2 obteve resultados satisfatórios na melhoria do desempenho ambiental do processo.

AGRADECIMENTOS

Embrapa Agroindústria Tropical, CNPq.

REFERÊNCIAS

BAUMANN, H.; TILLMAN, A-M. Development of the LCA concept. The Hitch Hiker's Guide to LCA: An orientation in life cycle assessment methodology and application. Studentlitteratur, 2004.
CZAJA, W. K. et al. The future prospects of microbial cellulose in biomedical applications. Biomacromolecules, v. 8, n. 1, pp. 1-12, 2007.
DONINI, I.A.N. et al. Biossíntese e recentes avanços na produção de celulose bacteriana. Eclética Química. pp. 165-178, 2010.
FRISCHKNECHT, R. et al. Ecoinvent: Overview and methodology. Ecoinvent report, v. 1, 2007.
GOEDKOOP, M. et al. ReCiPe 2008. Holanda: PRé Consultants, University of Leiden, Radboud University (CML) e National Institute for Public Health and the Environment (RIVM), 2009.
HESTRIN, S.; SCHRAMM, M. Synthesis of cellulose by acetobacter-xylinum.2. Preparation of freeze-dried cells capable of polymerizing glucose to cellulose. Biochemical Journal, v. 58, n. 2, pp. 345–352, 1954.
INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO 14040- Environmental management, Life cycle assessment, Principles and framework. Geneva, 2006a.
_____. ISO 14044- Environmental management - Life cycle assessment - requirements and guidelines. Geneva, 2006b.
KENDALL, A. A life cycle assessment of biopolymer production from material recovery facility residuals. Resources, Conservation and Recycling, v. 61, pp. 69-74, 2012.
LI, Q. et al. Nanocellulose life cycle assessment. ACS Sustainable Chemistry & Engineering, v. 1, n. 8, pp. 919-928, 2013.
ROSENBAUM, R.K. et al. USEtox - The UNEP-SETAC toxicity model: recommended characterisation factors for human toxicity and freshwater ecotoxicity in Life Cycle Impact Assessment. International Journal of Life Cycle Assessment, v. 13, n. 7, pp. 532-546, 2008.
TABUCHI, M. Nanobiotech versus synthetic nanotech? Nature Biotechnology, v. 25, n. 4, pp. 389-390, 2007.

DESENVOLVIMENTO DE ONTOLOGIAS E LINGUAGEM DE DOMÍNIO ESPECÍFICO PARA ANÁLISES DE COMPLEXIDADE SEMÂNTICA EM NANOTECNOLOGIA AGRÍCOLA

Katia Regina Evaristo de Jesus[1], João Pedro Santos de Moura[2], Wander Almeida Limeira[2], Sérgio Alves Torquato[3], Karen Cristina Massini[1], John Garavito[2], Leandro Valadão[2], Dilvan de Abreu Moreira[2]

[1]Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP, katia.jesus@embrapa.br
[2]Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação – ICMC - Universidade de São Paulo – USP
[3]APTA/Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (Pólo Centro Sul – Tietê – São Paulo)

Classificação: Cenários e avaliação dos riscos ambientais e sociais dos nanocompostos.

Resumo
A Nanotecnologia consiste no conjunto de técnicas utilizadas para visualização, caracterização, produção e manipulação da matéria na escala de átomos e moléculas (escala nano). As vantagens e aplicações são inúmeras, por isso estratégias de mineração e análises textuais são relevantes para a elaboração de estruturas de genealogia acadêmica para elaboração de grafos que permitam identificar os limites da fronteira do conhecimento e estabelecer métricas para definição de estratégias e políticas de incentivo à pesquisa. Nesse contexto foram empregadas ferramentas de busca acadêmica orientadas a ampliar e analisar um número maior de artigos científicos para permitir a seleção e sistematização das informações técnicas mais relevantes para a Nanotecnologia na Agricultura, para as bases de ontologias agrícolas. Na área de Nanotecnologia foram realizadas buscas em bases científicas internacionais, além de relatório institucionais. Para o desenvolvimento das ontologias foi utilizada a ferramenta Protege utilizando o plugin de OWL e algumas ontologias foram representadas utilizando (CMap). A ontologia final dos descritores da Nanotecnologia para agricultura gerou um mapa conceitual com um framework de organização para os dados de riscos mais relevantes para a liberação e uso da tecnologia.
Palavras-chave: Ontologias; Nanotecnologia agrícola; Websemântica; Mapa conceitual; Gerenciamento do conhecimento.

ONTOLOGY DEVELOPMENT AND SPECIFIC DOMAIN LANGUAGE FOR SEMANTIC COMPLEXITY ANALYSIS IN AGRICULTURAL NANOTECHNOLOGY

Abstract
Nanotechnology consists of the set of techniques used for visualization, characterization, production and manipulation of matter at the scale of atoms and molecules (nano scale). The advantages and applications are numerous, so data mining strategies and textual analysis are relevant for the proposition of academic genealogy structures and for the formulation of graphs that allow to identify the limits of the knowledge frontier and to establish metrics for the definition of strategies and policies to encourage search. In this context, academic search tools were used to expand and analyze a larger number of scientific articles to allow the selection and systematization of the most relevant technical information for Nanotechnology in Agriculture, in agricultural ontologies issue. In the area of nanotechnologies it was carried out searches on international scientific bases, as well as institutional reports. For the development of the ontology the Protege tool was used using the OWL plugin and some indicators were showed using the CMap toll. The final ontology of the descriptors of nanotechnology for agriculture generated a conceptual map with an organization framework for the most relevant risk data for the release and use of technology.
Keywords: Ontologies; Agricultural nanotechnology; Web semantics; Conceptual map; Knowledge management.

1 INTRODUÇÃO

A nanotecnologia oferece a perspectiva de grandes avanços que permitirão melhorar a qualidade de vida e preservar o meio ambiente. Um produto quando diminuído a uma escala de nanômetros passa a ter características diversificadas, como modificação na sua solubilidade, condutividade elétrica, elasticidade, força de reatividade, bioviabilidade, entre outros. Propriedades que muitas vezes não possuem quando em escala micro ou macro. Esta tecnologia tem como objetivo criar novos materiais e desenvolver novos produtos e processos baseados na crescente capacidade da tecnologia moderna de manipular átomos e moléculas.

Estas tecnologias inovadoras trazem novas oportunidades econômicas, muitos especialistas da indústria, governo e academia antecipam que as inovações nanotecnológicas poderiam igualar ou superar os impactos econômicos e sociais da revolução digital. A nanotecnologia trás diversos benefícios sociais, ambientais e para saúde humana e animal.

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) cerca de 637 produtos registrados fazem referência ao uso de nanotecnologia para seu desenvolvimento, sendo a área de cosméticos a que possui o maior número de registros, cerca de 599 produtos (ANVISA, 2014).

Diversos fatores e que são de extrema importância devem ser considerados quando se desenvolve um nanoproduto, tais como, a estática/reatividade e dinâmica que está diretamente relacionada ao seu uso e aplicação. Estes podem ser determinados através de suas propriedades físico-químicas, pelos seus efeitos e interações com uma célula, tecido, órgão e com a estrutura de um organismo como um todo.

Tendo em vista, desenvolver os grafos textuais para embasar o desenvolvimento da genealogia acadêmica a partir das ontologias foram formulados de mapas conceituais com classificação dos domínicos por critérios de risco e hierarquia dos descritores. Essas informações e sistematizações dos dados devem embasar o desenvolvimento de métricas que permitam avaliar o risco do uso e da liberação das nanotecnologias agrícolas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Formulação da Base de dados dos domínios dos riscos em Nanotecnologia

Os descritores e informações de domínio dos riscos da Nanotecnologia foram prospectados a partir de uma minuciosa análise da literatura científica sobre o tema. Foram organizados e sistematizados diversos artigos por ordem de indexação nos temas de interface e relevância para a busca de informações de risco e dados técnicos em Nanotecnologia: Meio Ambiente e Ecotoxicologia. Foram identificados inúmeros descritores com elevada recorrência nas publicações analisadas essas foram utilizadas para retratar os descritores com os aspectos mais relevantes sobre o desenvolvimento de uma nanopartícula e que indicasse o potencial de risco.

2.2 Validação dos domínios de Riscos com a Técnica Delphi de consulta aos especialistas

Os descritores e informações de domínio dos riscos da Nanotecnologia 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.

2.3 Desenvolvimento do mapa do conhecimento com ontologias das Nanotecnologias agrícolas

Essa base de informação foi empregada para formular as ontologias que foram retratadas nos mapas conceituais empregando a ferramenta CmapTools. CmapTools é uma aplicação fruto de pesquisa conduzida na Florida Institute for Human & Machine Cognition (IHMC) que permite a

construção, navegação, compartilhamento e avalização de modelos de conhecimento representados como mapas conceituais (Cañas et al., 2004). Sua primeira versão foi lançada em 2004 e atualmente se encontra na versão 6.02, a qual foi utilizada neste trabalho.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os riscos envolvidos em todos os momentos de exposição às nanopartículas, desde a produção, até a limpeza, o estoque e o transporte, devem ser estudados e enumerados. Devido ao fato das nanopartículas serem frequentemente formuladas para apresentar propriedades muito específicas, é possível que esta nova estrutura possa apresentar efeitos ecototoxicológicos incomuns quando acumulados ou disperso no meio ambiente (Figura 1, Tabela 1).

De modo geral, a formulação e representação das ontologias dos riscos relacionados à Nanotecnologia Agrícola permite orientar o especialista quanto aos riscos inerentes da nanotecnologia aplicado a agricultura buscando um desenvolvimento de forma sustentável e segura para o meio ambiente. As ontologias propostas permitem ao pesquisador atentar para os aspectos de segurança com os quais deve ter uma maior atenção.

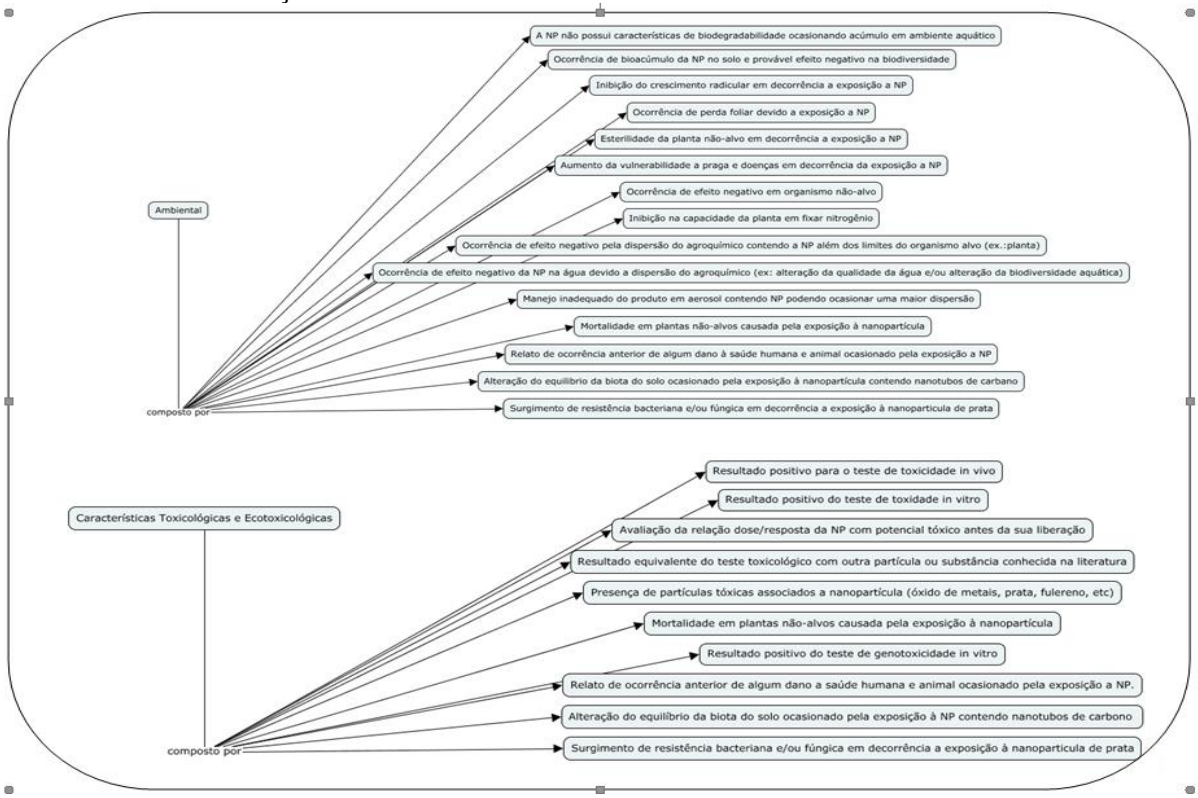


Figura 1. Mapa conceitual da área ambiental e ecotoxicologia – representação das ontologias de representação dos riscos das Nanotecnologias Agrícolas

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 nanoecotoxicológicos enfrenta diversos questionamentos. Através do mapa conceitual proposto para as ontologias de risco das nanopartículas, 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.

Desse modo, conciliar estratégias de mineração e análises textuais com metodologias para desenvolvimento de mapas conceituais são relevantes para a elaboração de estruturas de genealogia acadêmica para elaboração de grafos. De posso dessas informações e representações os pesquisadores e gestores públicos tem maior facilidade para identificar os limites da fronteira do conhecimento e estabelecer métricas para definição de estratégias e políticas de incentivo à pesquisa.

Tabela 1. Lista de ontologias de riscos para Nanotecnologias agrícola – Mapa conceitual Ambiental e Ecotoxicologia

Ontologias – Riscos da Nanotecnologia agrícola - Mapa conceitual Ambiental e Ecotoxicologia
Área Ambiental
1- A NP não possui características de biodegradabilidade ocasionando acúmulo em ambiente aquático
2- Ocorrência de bioacúmulo da NP no solo e provável efeito negativo na biodiversidade
3- Inibição do crescimento radicular em decorrência a exposição a NP
4- Ocorrência de perda foliar devido a exposição a NP
5- Esterilidade da planta não-alvo em decorrência a exposição a NP
6- Aumento da vulnerabilidade a praga e doenças em decorrência da exposição a NP
7- Ocorrência de efeito negativo em organismo não-alvo
8- Inibição na capacidade da planta em fixar nitrogênio
9- Ocorrência de efeito negativo pela dispersão do agroquímico contendo a NP além dos limites do organismo alvo (ex.:planta)
10- Ocorrência de efeito negativo da NP na água devido a dispersão do agroquímico (ex: alteração da qualidade da água e/ou alteração da biodiversidade aquática)
11- Manejo inadequado do produto em aerosol contendo NP podendo ocasionar uma maior dispersão
12- Mortalidade em plantas não-alvos causada pela exposição à nanopartícula
13- Relato de ocorrência anterior de algum dano à saúde humana e animal ocasionado pela exposição a NP
14- Alteração do equilíbrio da biota do solo ocasionado pela exposição à nanopartícula contendo nanotubos de carbono
15- Surgimento de resistência bacteriana e/ou fúngica em decorrência a exposição à nanopartícula de prata
Área Ecotoxicologia
16- Resultado positivo para o Teste de toxicidade in vivo
17- Resultado positivo do Teste de toxicidade in vitro
18- Avaliação da relação dose/resposta da Np com potencial tóxico antes da sua liberação
19- Resultado equivalente do teste toxicológico com outra partícula ou substância conhecida na literatura
20- Presença de partícula tóxicas associados a nanopartícula (óxidos de metais, prata, fulereno, etcs)
21- Mortalidade em plantas não-alvos causada pela exposição à nanopartícula
22- Resultado positivo do teste de genotoxicidade in vitro
23- Relato de ocorrência anterior de algum dano à saúde humana e animal ocasionado pela exposição a NP.
24- Alteração do Equilíbrio da biota do solo ocasionado pela exposição à Np contendo nanotubos de carbono
25- Surgimento de resistência bacteriana e/ou fúngica em decorrência a exposição à nanopartícula de prata

AGRADECIMENTOS

Fapesp, CNPq, Rede AgroNano – EMBRAPA, ICMC-USP - .

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Diagnóstico institucional de nanotecnologia**, ANVISA,** Brasília, 2014.

CAÑAS, A. J. et al. CmapTools: A Knowledge Modeling and Sharing Environment. In: First International Conference on Concept Mapping, p. 125-133, 2004.

DIETZ, T. Methods for analyzing data from delphi Panels: some evidence from a forecating study. Technological Forecasting & Social Change, v. 31, p. 79-85, 1987.

WRIGHT, J. T. C; GIOVINAZZO, R. A. D. Uma ferramenta de apoio ao planejamento prospectivo. Caderno de Pesquisas em Administração, v.1 (12), 2000.

NANOECOTOXIDADE DO ÓXIDO DE GRAFENO: INFLUÊNCIA DO CÓRION DOS EMBRIÕES DE ZEBRAFISH (*DANIO RERIO*) E CO-EXPOSIÇÃO COM ÁCIDO HÚMICO

Aline M. Z. de Medeiros[1, 2, 3], Gabriela H. da Silva[1, 2, 3], Vera L. Castro[1], Regina T. R. Monteiro[2], Diego S. T. Martinez [3]

[1] Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA). CEP 13820-000, Jaguariúna, SP; [2]Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA) / Universidade de São Paulo (USP). CEP 13416-000, Piracicaba, SP; [3] Laboratório Nacional de Nanotecnologia (LNNano) / Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM). CEP 13083-970, Campinas, SP.
E-mail de contato: aline.zigiotto@usp.br

Classificação: Cenários e avaliação dos riscos ambientais e sociais dos nanocompostos.

Resumo
O óxido de grafeno (OG) é um nanomaterial baseado em carbono com propriedades físicas e químicas únicas. Com o aumento da produção deste novo material é necessário a realização de estudos para avalição do risco à saúde humana e ambiental. Alguns estudos indicam que a presença de ácido húmico pode afetar a estabilidade coloidal do grafeno e, consequentemente, modificam seus efeitos tóxicos. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos tóxicos da co-exposição de óxido de grafeno (OG) e ácido húmico (AH) em embriões de zebrafish (Danio rerio), com e sem córion. Embriões com 24 horas pós fertilização foram expostos durante 96 horas a 100 mg.L^{-1}, na presença e ausência de ácido húmico (AH, 20 mg.L^{-1}). Uma parcela dos embriões foi exposta na mesma condição, porém tiveram o córion removido mecanicamente. Um controle negativo também foi realizado. Não foi observado má formações morfológicas evidentes ou mortalidade nos peixes com córion expostos ao grafeno ou na co-exposição com ácido húmico. Porém, embriões sem córion exibiram taxas maiores de deformação e mortalidade em comparação com o grupo controle. Além disso, a presença de AH aumentou os efeitos tóxicos do OG. Provavelmente, este fato ocorreu devido ao aumento da estabilidade do OG na presença de AH. Estes resultados demonstram os efeitos adversos do nanomaterial OG sobre embriões de zebrafish, na presença de AH e, principalmente, a importância da barreira proporcionada pelo córion aos embriões de peixe.
Palavras-chave: Peixes; Nanomateriais; Carbono; FET

NANOECOTOXITY OF GRAPHENE OXIDE: INFLUENCE OF CORIUM BARRIER ON ZEBRAFISH EMBRYOS (DANIO RERIO) AND HUMIC ACID CO-EXPOSURE

Abstract
Graphene oxide (GO) is carbon-based nanomaterial with unique physical and chemical properties. As the production of these new materials increases, the potential risks to human and environmental health should to be evaluated. Some studies indicate that humic acid can modify graphene stability and, consequently, change its ecotoxicological effects. The aim of this study was investigate the toxic effects of co-exposure of graphene oxide (GO) and humic acid (HA) in zebrafish embryos, with and without corium barrier. The 24 hours post-fertilization (hpf) embryos was exposure during 96 hours to 100 mg.L-1 GO, in presence or absence of humic acid (HA, 20 mg.L-1). A group of fishes had corium removed mechanically and exposure at same conditions. The negative control group exposure was also performed. No obvious morphological malformation or mortality was observed on embryos with corium exposed with graphene and co-exposed with humic acid. However, embryos without corium exhibited high rates of mortality and deformation in comparison with the control group. Besides, the presence of HA enhanced the toxic effects of GO, and high mortality and deformation rates were observed in this group. These findings emphasize the adverse effects of GO on zebrafish embryos in the presence of HA, specially, critical influence of of corium barrier on zebrafish embryos protection.
Keywords: Fishes; Nanomaterials; Carbon; FET

1 INTRODUÇÃO

O Oxido de Grafeno (OG) é nanomaterial de carbono cujos átomos de carbono estão organizados em hexágonos, formando uma única folha plana, com apenas um átomo de espessura com aproximadamente 1 nm (SHARON e SHARON, 2010; CHANG et al., 2016). Embora possua grande potencial de inovação em diversos setores, seu uso deve ser feito de modo responsável para que os potenciais riscos à saúde humana ou ao meio ambiente sejam minimizados (HANDY, 2012).

Devido ampla distribuição no ambiente, o ácido húmico (AH) é um fator importante para estudos ecotoxicológicos pois retrata um cenário mais próximo da realidade. A sua presença aumenta a estabilidade coloidal do OG, tornando-o mais biodisponível e altera sua toxicidade (CLEMENTE et al., 2017).

O teste de toxicidade em embriões de Zebrafish (*Danio rerio*) é um ensaio amplamente utilizado devido a transparência dos embriões que permite observar os efeitos adversos de xenobióticos, tais como, má formação e edemas.

Um dos desafios neste tipo de pesquisa, é a presença do córion. Esta membrana acelular envolve o embrião até o momento de sua eclosão, que ocorre entre 48 – 72 horas pós-fertilização (hps). Esta estrutura possui poros entre 0.5 e 0.7 mm de diâmetro e, desta forma, isola parcialmente o embrião do ambiente. A permeabilidade do OG está diretamente relacionada ao seu tamanho e, na maioria dos casos, o córion impede sua entrada e forma uma película de nanomaterial sob o ovo (CHEN et al., 2016). Desta forma, novos protocolos estão sendo desenvolvidos visando a remoção desta barreira. A retirada do córion permite a exposição em etapa anterior, quando inicia-se a formação de órgãos (24 hpf).

O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da co-exposicao de OG e AH em zebrafish além de analisar as diferenças entre os grupos de embriões expostos com e sem córion.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio de toxicidade em embriões de peixes teve duração de 96 horas. A concentração de Oxido de Grafeno (Sigma-Aldrich) avaliada foi de 100 $mg.L^{-1}$. Para simular a matéria orgânica natural escolheu-se o ácido húmico comercial na concentração de 20 mg/L, de acordo com a normativa USEPA OPPTS 850.1085 (1996). Em todos os ensaios, avaliou-se paralelamente um grupo controle isento do material-teste e outro grupo contendo apenas substância húmica

A exposição dos embriões iniciou-se 24 horas pós-fertilização. Os embriões foram divididos em dois grupos: com e sem córion. A remoção desta membrana dos embriões foi realizada mecanicamente com auxílio de pinças. Ambos os grupos foram expostos aos mesmos tratamentos: controle, AH (20 $mg.L^{-1}$), OG (100 $mg.L^{-1}$) e OG (100 $mg.L^{-1}$) + AH (20 $mg.L^{-1}$). Foram utilizados 24 embriões para cada tratamento. Ao final do período de exposição foram avaliadas taxas de má formações (deformação e edema), comprimento total da larva e mortalidade.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foram observadas alterações entre os tratamentos dos embriões expostos com córion. Os embriões expostos sem córion foram mais suscetíveis a exposição de OG, apresentando maior mortalidade (26,6%) e deformações (6,6%) que o grupo controle. Além disso, a presença de AH potencializou os efeitos deletérios, aumentando as taxas para 30% mortalidade e 20% de má formação conforme observados nas figuras 1 e 2. Não houve diferenças entre os tratamentos com relação ao parâmetro comprimento final dos peixes.

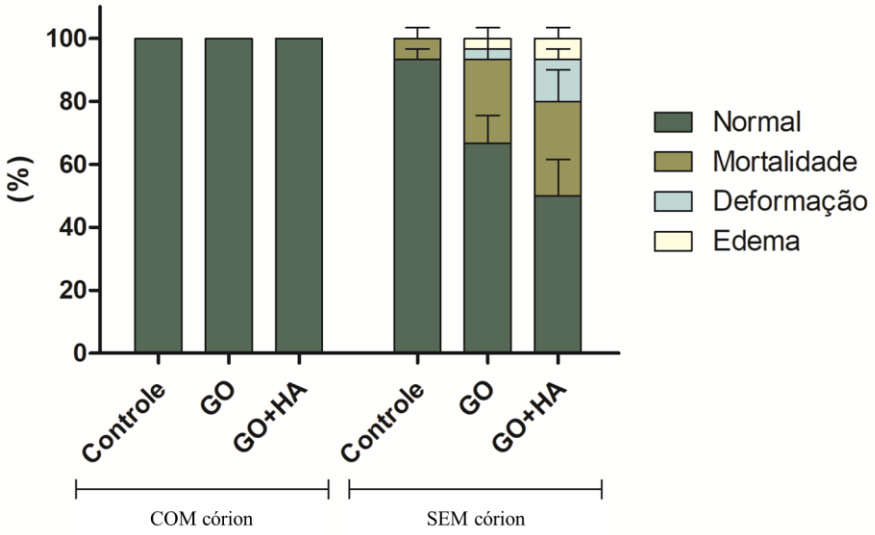


Figura 1: Taxas de mortalidade e má formação dos peixes com e sem córion expostos ao OG e OG+AH após 96 horas de exposição.

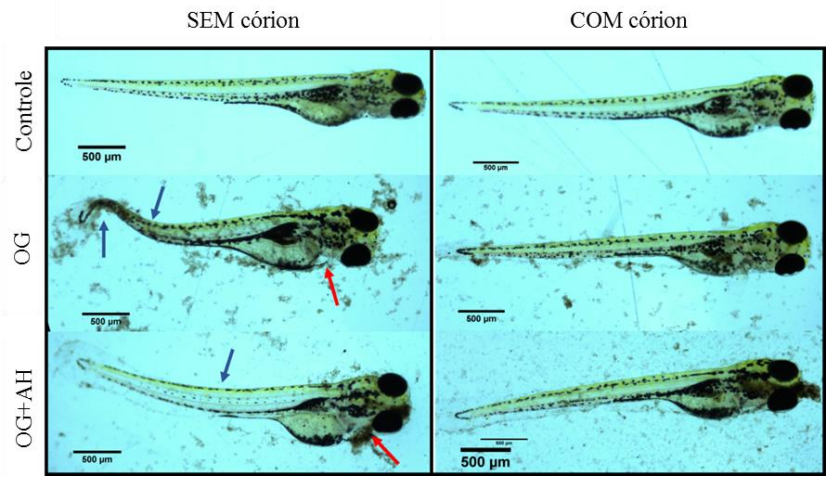


Figura 2: Embriões de Zebrafish expostos durante 96 horas a 100 mg.L-1 de OG e 100 mg.L-1 de OG com 20 mg.L-1 de AH. As setas azuis indicam deformação e as vermelhas indicam edema.

4 CONCLUSÃO

Os resultados deste trabalho indicam a importância da barreira física proporcionada pelo córion aos embriões de peixe. A sua retirada após 24 horas da fertilização antecipou a exposição ao OG em uma etapa mais sensível (início da organogênese). Consequentemente, foi observado aumento das taxas de má formação e mortalidade que os embriões expostos com córion.

Além disso, também foi observado o aumento dos efeitos deletérios na co-exposição com ácido húmico que pode estar correlacionado ao aumento da estabilidade coloidal tornando o nanomaterial mais biodisponível.

AGRADECIMENTOS

CAPES, FAPESP, CNPq, Rede Cigenanotox, Rede AgroNano, CBC-Nano, SisNANO

REFERÊNCIAS

CHANG, Z. et al. Two-dimensional shape memory graphene oxide. Nature Communications, 7, 2016.

CHEN, Y. et al. Specific nanotoxicity of graphene oxide during zebrafish embryogenesis. Nanotoxicology, v.10, n. 1, p. 42-52, 2016.

CLEMENTE Z. et al. Nanotoxicity of graphene oxide: Assessing the influence of oxidation debris in the presence of humic acid. Environmental Pollution, v. 225, p. 118-128, 2017.

HANDY, R. D. FSBI briefing paper: nanotechnology in fisheries and aquaculture. Fisheries Society of the British Isles, p. 1-29, 2012.

SHARON, M., SHARON, M. Introduction to the Nanoworld of Carbon. In: Carbon Nano Forms and Applications. McGraw-Hill Professional, AccessEngineering, 2010.

CAPÍTULO 9

Avaliação de Segurança de Nanoprodutos

ANÁLISE DA CITOTOXICIDADE *IN VITRO* DAS NANOFIBRAS DE CELULOSE DE ALGODÃO

Rafaella Zanette[1], Leonara B.F. Almeida[1], Camila G. Almeida[2], Cauê R. Oliveira[3], Humberto M. Brandão[2], Michele Munk[1]

[1] Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 36036-900, Brasil
[2] EMBRAPA Gado de Leite, Juiz de Fora, 36038-330, Brasil
[3] EMBRAPA Instrumentação, São Carlos, 13560-970, Brasil
E-mail de contato: rafaellazanette@gmail.com

Classificação: Avaliação de Segurança de Nanoprodutos.

Resumo
As nanofibras de celulose (NFCs) são importantes nanomaterias (NMs) que possuem diversas aplicações na agroindústria. Porém, o desenvolvimento desta área está relacionado à padronização de sistemas para avaliar o potencial impacto dos NMs na saúde humana e ambiental. O objetivo desse trabalho foi avaliar a toxicidade das NFCs de algodão em células-tronco da polpa dentária humana. Análises de Raman e o Potencial Zeta das NFC de algodão foram feitos para caracterizar esse NM. Para avaliar a biocompatibilidade, as células foram expostas às várias concentrações de NFC de algodão (0,1; 1; 10; 50; 100 μg mL^{-1}) por 24 e 48 h e, então, submetidas aos ensaios de redução do corante metil tiazol tetrazólio (MTT) e de avaliação da atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) extracelular. As NFCs apresentaram carga negativa em sua superfície (-10 mV). Nas condições testadas, não houve diferença ($p<0,05$) nas taxas de proliferação e viabilidade celular. Os níveis de SOD extracelular não foram alterados após exposição às NFCs de algodão, indicando a biocompatibilidade desse NM.
Palavras-chave: Nanofibras de celulose; Células-tronco; Biocompatibilidade.

ANALYSIS OF CYTOTOXICITY IN VITRO OF COTTON CELLULOSE NANOFIBERS

Abstract
Cellulose nanofibres (NFCs) are important nanomaterials (NMs) that have several applications in agroindustry. However, the development of this area is related to standardization of systems to assess the potential impact of NMs on human health and environmental. The objective of this study was to evaluate the toxicity of cotton NFCs in human dental pulp stem cells. Raman and Zeta Potential analyzes of cotton NFC were made to characterize this NM. To evaluate the biocompatibility, the cells were exposed to the various concentrations of cotton NFC (0.1, 1, 10, 50, 100 μg mL-1) for 24 and 48 h and then submitted to dye reduction methyl thiazole tetrazolium (MTT) and activity of the enzyme superoxide dismutase (SOD) extracellular SOD assays. NFCs showed negative charge on their surface (-10 mV). Under the conditions tested, there was no difference ($p <0.05$) in proliferation rates and cell viability. Extracellular SOD levels were not altered after exposure to cotton NFCs indicating the biocompatibility of this NM.
Keywords: Cellulose nanofiber; Stem-cells; Biocompatibility.

1 INTRODUÇÃO

As nanofibras de celulose (NFCs) são materiais de fibrilas de celulose e podem ser extraídas de fontes renováveis, tais como o algodão (MUNK et al., 2015). Além de serem biodegradáveis, possuem rigidez e resistência mecânica (POOYAN et al., 2013) podendo ser usadas como revestimentos ou filmes na indústria alimentícia (AZEREDO; ROSA; MATTOSO, 2017). No cenário agrícola, a NFC tem sido usada em revestimentos protetores para sementes, plantas e produtos alimentares frescos ou processados (IAVICOLI et al., 2017). Estudos preliminares estão sendo feitos para desenvolver e validar revestimentos hidrofóbicos à base de NFC (Innofresh ™) para reduzir a queima pelas chuvas em cerejas (JUNG et al., 2016).

Apesar do crescente interesse no desenvolvimento de produtos utilizando NFC, existem poucos estudos que abordem seu potencial citotóxico. Alguns estudos *in vitro* demonstraram que a exposição à celulose nanocristalina e microfibrilada não causaram a morte celular nem citotoxicidade em células de mamíferos (DONG et al., 2012; NI et al., 2012; YANG et al., 2013). Enquanto outros relataram uma redução significativa na viabilidade celular em células de mamíferos (CLIFT et al., 2011; PEREIRA et al., 2013). Porém, não há nenhum estudo sobre o potencial de toxicidade das NFCs de algodão em células-tronco humanas. Nesse contexto, o objetivo desse trabalho foi avaliar a biocompatibilidade *in vitro* das NFCs de algodão em células-tronco da polpa dentária humana.

2 MATERIAL E MÉTODOS

As NFCs de algodão foram preparadas por hidrólise ácida de fibras de algodão comerciais de acordo com trabalhos anteriores (MUNK et al., 2015). As análises de Raman foram realizadas com um espectrômetro Bruker RFS 100 excitado com um laser Nd + 3 / YAG a 1064 nm, equipado com um detector InGaAs arrefecido com nitrogênio líquido. Os espectros foram adquiridos a uma resolução de 4 cm^{-1}. Uma média de 1024 varreduras foram coletadas com uma potência de laser de 80 mW.

Para determinar o potencial Zeta (PZ) por dispersão de luz dinâmica (DLS) utilizando o Zetasizer Nano ZS (Malvern), as NFCs de algodão foram diluídas (100 μg mL^{-1}) em meio DMEM suplementado com 10% (v/v) de soro fetal bovino (SFB) e 1% (v/v) de antibióticos (100 U mL^{-1} de penicilina e 100 mg mL^{-1} de estreptomicina), e sonicadas duas vezes por 1 minuto.

Uma solução estoque de NFC de algodão (1000 μg mL^{-1}) foi preparada por suspensão do nanomaterial em meio DMEM suplementado com 10% de SFB e 1% de antibióticos e sonicada duas vezes por 1 minuto para dispersar os aglomerados. As células-tronco da polpa dentária humana foram expostas às NFCs de algodão em diferentes concentrações: 0 (veículo controle), 0,1, 1, 10, 50, 100 μg mL^{-1} por 24 e 48 h e incubadas em atmosfera umidificada contendo 5% CO_2 à 37º C.

A avaliação da proliferação e viabilidade celular foi realizada pelo ensaio de MTT em placas de 96 poços e a absorbância foi determinada em espectrofotômetro empregando o comprimento de onda de 570 nm. A proliferação das células é mostrada graficamente como média da absorbância e a viabilidade celular é mostrada como porcentagem em relação ao veículo controle (0 μg mL^{-1}).

A atividade SOD extracelular foi medida utilizando o kit SOD de acordo com as instruções do fabricante e a absorbância foi medida a 450 nm utilizando o espectrofotômetro. A atividade da enzima SOD (% taxa de inibição) foi calculada utilizando a equação fornecida pelo próprio kit descontando os valores dos brancos.

Os experimentos foram realizados em triplicatas com nove repetições. Os resultados foram avaliados por ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Tukey. Valores de *p* menores que 0,05 foram considerados significativos.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As bandas de dispersão Raman características da celulose podem ser observadas na Figura 1. As bandas da faixa de 1292-2897 cm^{-1} podem ser atribuídas a: estiramento (CH_2) a 2897cm^{-1}, na vibração no plano de flexão (CH) mais a vibração fora do plano (CH_2) a 1481 cm^{-1}, na vibração no plano de flexão (HO⋯H) a 1292 cm^{-1}. A banda de 1097 cm^{-1} na molécula de celulose é atribuída à estiramentos das ligações C-O e C-C, enquanto a de 380 cm^{-1} à vibração do anel piranóico fora do plano (ZAJAC et al., 2015). De acordo com Fischer et al. (2005), a intensidade das bandas 381 cm^{-1} e 1481 cm^{-1} representa a ordem de cristalinidade da celulose. O alargamento dessas bandas pode ser associado à maior quantidade de estrutura de desordem. Como esperado, a banda a 1462 cm^{-1}, atribuída à celulose amorfa, não foi observada.

O potencial Zeta foi usado para determinar a carga superficial das NFCs de algodão em DMEM. A NFC demonstrou exibir cargas de superfície negativas por DLS (-10 mV). A carga superficial dos nanomateriais é um parâmetro importante que indica a estabilidade da suspensão. O valor de -10 mV indica instabilidade da solução devido à baixa repulsão eletrostática (ADABI et al., 2016).

O ensaio de MTT foi utilizado para analisar a proliferação e viabilidade das células-tronco da polpa dentária humana (Figura 2). As células conseguiram se proliferar em todas as concentrações

testadas, pois a absorbância aumentou de 24 h para 48 h (Figura 2A) e viabilidade celular não foi alterada ($p > 0,05$) dentro dos tempos testados (Figura 2B).

A enzima SOD é uma das mais importantes enzimas antioxidantes, pois catalisa a dismutação do superóxido (O_2^-) em oxigênio e peróxido de hidrogênio. Essa ação é crucial para a proteção das células contra a ação nociva de espécies reativas de oxigênio. Não foi encontrada diferença significativa ($p > 0,05$) nos níveis da SOD extracelular (Figura 3), indicando a biocompatibilidade das NFCs de algodão.

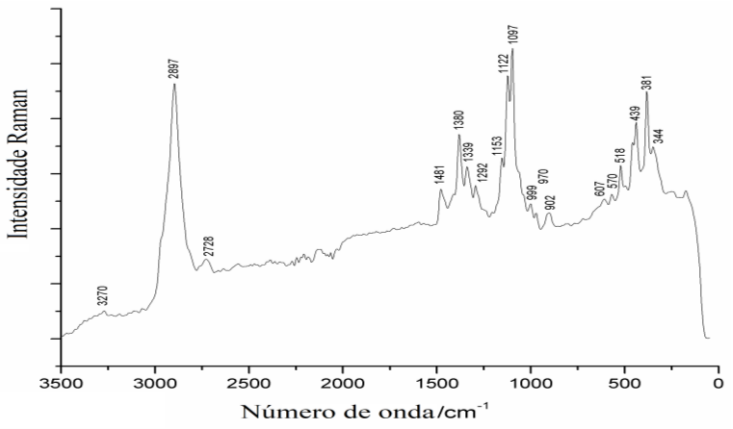


Figura 1. Espectros Raman de nanofibra de celulose.

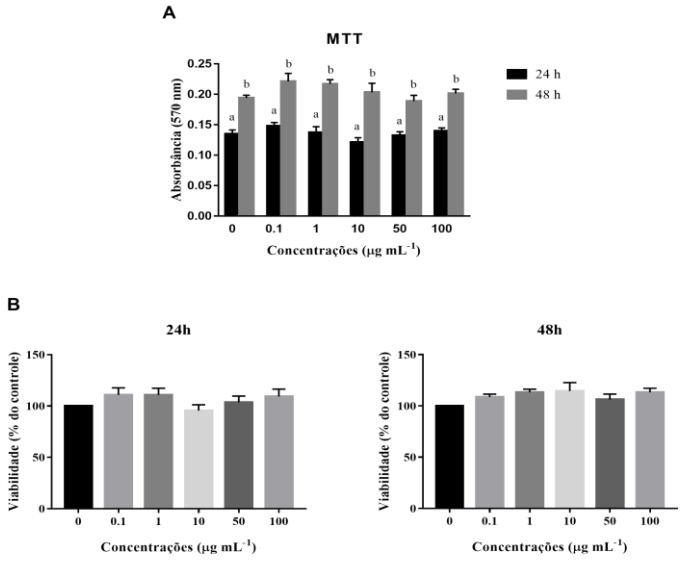


Figura 2. Proliferação (A) e viabilidade (B) das células-tronco de polpa dental humana expostas às NFCs de algodão com diferentes concentrações de exposição determinadas pelo ensaio MTT.

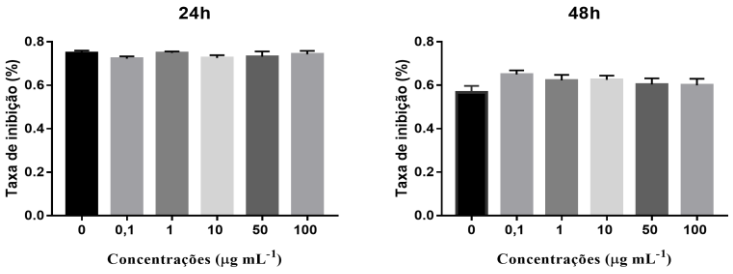


Figura 3. A atividade de SOD extracelular das células-tronco da polpa dentária humanas expostas às diferentes concentrações de NFCs de algodão.

4 CONCLUSÃO

Nas condições testadas, a exposição *in vitro* às NFCs não alteraram a viabilidade, a proliferação e atividade de SOD extracelular das células-tronco da polpa dentária humana.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPEMIG, CNPq, CAPES, Rede Agronano, Rede NANOBIOMG e EMBRAPA Gado de Leite.

REFERÊNCIAS

ADABI, M. et al. Biocompatibility and nanostructured materials: applications in nanomedicine. Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology, v. 45, n. 4, p. 833-842, 2016.

AZEREDO, H. M. C.; ROSA, M. F.; MATTOSO, L. H. C. Nanocellulose in bio-based food packaging applications. Industrial Crops and Products, v. 97, p. 664-671, 2017.

CLIFT, M.J.D. et al. Investigation of the interaction of cellulose nanofibers derived from cotton with a sophisticated human lung cell coculture. Biomacromolecules, v. 12, p. 3666-3673, 2011.

DONG, P. et al. Cytotoxicity and Cellular uptake of Cellulose Nanocrystalls. Nano LIFE, v. 02, n. 03, p. 1241006, 2012.

FISCHER, S. et. al. Applications of FT Raman spectroscopy and micro spectroscopy characterizing cellulose and cellulosic biomaterials. Macromolecular Symposia, v. 1, p. 41-56, 2005.

IAVICOLI, I. et. al. Nanotechnology in agriculture: Opportunities, toxicological implications, and occupational risks. Toxicology and Applied Pharmacology, v. 329, p. 96-111, 2017.

JUNG, J. et al. Development and preliminary field validation of water-resistant cellulose nanofiber based coatings with high surface adhesion and elasticity for reducing cherry rain-cracking. Scientia Horticulturae, v. 200, p. 161-169, 2016.

MUNK, M. et. al. Direct and indirect toxic effects of cotton-derived cellulose nanofibras on filamentous green algae. Ecotoxicology and Environmental Safety, v. 122, p. 399-405, 2015.

NI, H. et al. Cellulose nanowhiskers: preparation, characterization and cytotoxicity evaluation. Bio-Medical Materials and Engineering, v. 22, p. 121-127, 2012.

PEREIRA, M.M., et. al. Cytotoxicity and expression of genes involved in the cellular stress response and apoptosis in mammalian fibroblast exposed to cotton cellulose nanofibers. Nanotechnology, v. 24, p. 075103, 2013.

POOYAN, P. et al. Design of a cellulose-based nanocomposite as a potential polymeric scaffold in tissue engineering. Polymer, v. 54, p. 2105-2114, 2013.

YANG, X. et al. Injectable polysaccharide hydrogels reinforced with cellulose nanocrystals: morphology, rheology, degradation, and cytotoxicity. Biomacromolecules, v. 14, p. 4447-4455, 2013.

ZAJĄC, A. et al. Determination of N-acetylation degree in chitosan using Raman spectroscopy. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, v. 134, p. 114-120, 2015.

ESTUDO *IN VITRO* DA BIOCOMPATIBILIDADE DE NANOPARTÍCULAS DE TITANATO DE BÁRIO

Danielle L. A. S. do Amaral[1], Rafaella S. S. Zanette[1], Leonara B. Fayer[1], Humberto M. Brandão[2], Michele Munk[1]

[1] Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 36036-900, Brasil
[2] EMBRAPA Gado de Leite, Juiz de Fora, 36038-330, Brasil
E-mail de contato: dlasamaral_dani@hotmail.com

Classificação: Avaliação de Segurança de Nanoprodutos.

Resumo

Doenças transmitidas por alimentos são um problema de saúde pública e causam grande prejuízo ao agronegócio. Nanosensores podem ser integrados a embalagens e combinados com sinais para rastreamento, proporcionando informação sobre produtos alimentícios. Para esse fim, materiais com propriedades piezoelétricas como TB são utilizadas na fabricação sensores. Porém, antes da aplicação é importante avaliar a toxicidade dos nanomateriais. O objetivo desse trabalho foi avaliar a toxicidade das NP TBs em células-tronco da polpa dentária humana. O Potencial Zeta e a medida do tamanho das NPs foram avaliados por DLS. Para avaliar a biocompatibilidade, as células foram expostas a diferentes concentrações de NP TBs (0,1; 1; 10; 50; 100; 1000 μg mL^{-1}) por 1 e 7 dias. Foram feitos os ensaios de MTT e SOD (superóxido dismutase**)**, além a avaliação da morfologia celular. As NP TBs apresentaram carga negativa em sua superfície (-13 mV) e tamanho médio de 148 nm. Não houve diferença na proliferação celular após 1 dia e somente na concentração de 1000 μg mL^{-1} houve diminuição da proliferação após 7 das de exposição. A atividade da enzima SOD e a morfologia celular não foram alteradas após exposição às NPTBs.

Palavras-chave: Biocompatibilidade, Células-tronco, Cerâmica piezoelétrica

IN VITRO CHARACTERIZATION AND EVALUATION OF THE BIO-NITOPATHIC NANOPARTICLES BIOCOMPATIBILITY.

Abstract

Foodborne diseases are a public health problem and cause great harm to agribusiness. Nanosensors can be integrated into packaging and combined with signals for tracking, providing information on food products. Materials with piezoelectric properties such as TB are used in the manufacture of these sensors. Before application it is important to assess the toxicity of nanomaterials. The aim of this study was to evaluate the toxicity of NPTBs in human dental pulp stem cells. Zeta potential and size measurement of NPs were evaluated by DLS analysis. To evaluate the biocompatibility, the cells were exposed to different concentrations of NPTBs (0.1, 1, 10, 50, 100, 1000 μg mL-1) for 1 and 7 days. The MTT and SOD tests were performed, besides the evaluation of the cell morphology. The NPTBs presented negative charge on their surface (-13 mV) and average size of 148 nm. There was no difference in cell proliferation after 1 day and only at the concentration of 1000 μg mL-1 there was decrease after 7 days of exposure. SOD activity and cell morphology were not altered after exposure to NPTBs.

Keywords:, Biocompatibility, Stem Cells, Piezoelectric Ceramics.

1 INTRODUÇÃO

Doenças transmitidas por alimentos são um problema de saúde pública (DTA). De 2007 a 2017 aproximadamente 100 mil pessoas foram acometidas por DTAs (PORTAL DA SAÚDE, 2017). Por isso, a vigilância das doenças transmitidas por alimentos é um componente fundamental dos sistemas de segurança alimentar. Por isso há necessidade de sistemas rápidos e precisos para detectar deterioração de alimentos perecíveis. A alta relação superfície-área nos nanomateriais facilita o reconhecimento de densidades de elementos permitindo a eficiência isolamento e pré-concentração do material avaliado (WANG et al., 2017).

Materiais com propriedades piezoelétricas, como as nanopartículas de titanato de bário (NP TBs), são utilizados em transdutores ultra-sônicos por sua capacidade em converter energia elétrica em onda mecânica, que se propaga e é detectada por um receptor (ARVANITOYANNIS et al., 2015; ABOONAJMI E FARIDI, 2016). NP TB são utilizadas também para detecção de gases que indicam que alimentos estão impróprios para consumo (HUANG et al., 2016).

Entretanto, antes da aplicação é importante avaliar a toxicidade dos nanomateriais (ADABI et al., 2016). Dentre os principais mecanismos de nanotoxicidade destacam-se a alteração da proliferação celular e a indução de estresse oxidativo (MOUTHUY et al., 2016). Ensaios de toxicidade *in vitro*, são mais rápidos e baratos quando comparados aos ensaios *in vivo*. Devido a essas vantagens, ensaios *in vitro*, são a primeira escolha para avaliar a toxicidade de nanomateriais. Adicionalmente, a caracterização das NPs é essencial antes de avaliar a toxicidade, pois suas propriedades variam de acordo com tamanho, forma e carga superficial (MANKE et al., 2013). Portanto, o objetivo deste trabalho foi caracterizar as NPs TB utilizando dispersão de luz dinâmica (DLS) e avaliar a biocompatibilidade *in vitro* utilizando células tronco mesenquimais humanas como modelo biológico.

2 MATERIAL E MÉTODOS

As NP TBs (lot MKBF7837V, <100 nm) e materiais usados na cultura de células foram adquiridas da Sigma (St. Louis, MO, USA). As amostras de NP TBs (1000 μg mL^{-1}) foram preparadas em meio DMEM-F12 suplementado com soro fetal bovino (10%), penicilina (100IU/ml) e estreptomicina (100 μg/ml). Em seguida, as amostras foram sonicadas (UP200S, Hielscher, Teltow, Germany) duas vezes por 1 minuto (ciclo 0.5, amplitude 70). Então, as soluções usadas nos testes de toxicidade foram preparadas nas concentrações de 0,1, 10, 50, 100 e 1000 μg mL^{-1}. O Potencial Zeta (PZ) e a distribuição de tamanho das NPs (100 μg/ml) foram analisados por DLS utilizando o Zetasizer Nano ZS (Malvern). Para ambas as análises cada medida foi feita três vezes em amostras dispersadas em DMEM-F12.

Para os ensaios de toxicidade, as células-tronco da polpa dentária humana foram expostas às diferentes concentrações de NP TBs citadas acima e ao meio sem NPs (controle) por 1 e 7 dias e incubadas em atmosfera umidificada contendo 5% CO_2 à 37º C.

A avaliação da proliferação celular foi realizada pelo ensaio de MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide) de acordo com as instruções do fabricante. A fim de avaliar se as NP TB induzem estresse oxidativo nas células-tronco, a atividade da SOD foi avaliada utilizando o kit SOD (Sigma). O ensaio foi feito de acordo com as instruções do fabricante. A atividade da enzima SOD (% taxa de inibição) foi calculada utilizando a equação fornecida pelo próprio kit descontando os valores dos brancos.

A morfologia das células-tronco também foi avaliada após 24h de exposição a NP TBs nas concentrações já citadas, utilizando microscopia de luz.

Os ensaios de MTT foram realizados em oitoplicatas com três repetições e os ensaios da SOD em triplicata com duas repetições. Os resultados foram analisados por ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Tukey. Valores de *p* menores que 0,05 foram considerados significativos.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tamanho médio das NP TBs foi de 148,7nm ± 0,4 nm e o valor do PZ foi -13 mV, demonstrando uma superfície negativamente carregada e levemente instável, visto que o PZ entre -30 e +30 mV pode levar a maior agregação das nanopartículas (ADABI et al, 2016). Quando os valores de PZ estão próximos de 0, a força de atração pode superar a de repulsão, levando a agregação e precipitação.

As NP TBs não diminuíram a proliferação celular em nenhuma concentração após 24 horas de exposição (Figura 1a). Possivelmente isso ocorreu devido ao PZ negativos das NP TB. NPs com carga negativa tendem a ser menos tóxicas que aquelas catiônicas, já que as catiônicas tendem a provocar ruptura da membrana celular, que é negativa (ADABI et al, 2016). Já após 7 dias de exposição, a proliferação das células foi alterada na maior concentração de NP TBs, 1000 μg mL^{-1}, ($p<0,05$) (Figura 1b).

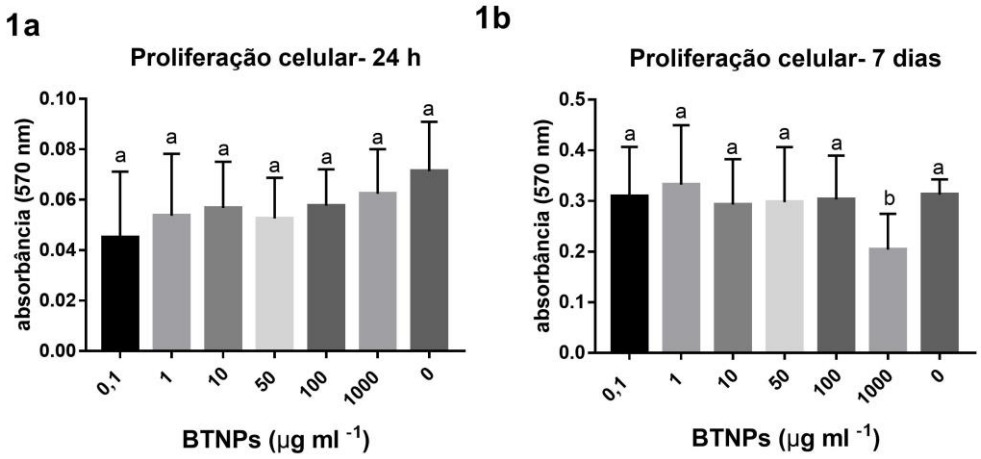


Figura 4: Avaliação da proliferação celular por MTT após 1 (a) e 7 dias (b) de exposição a NP TBs.

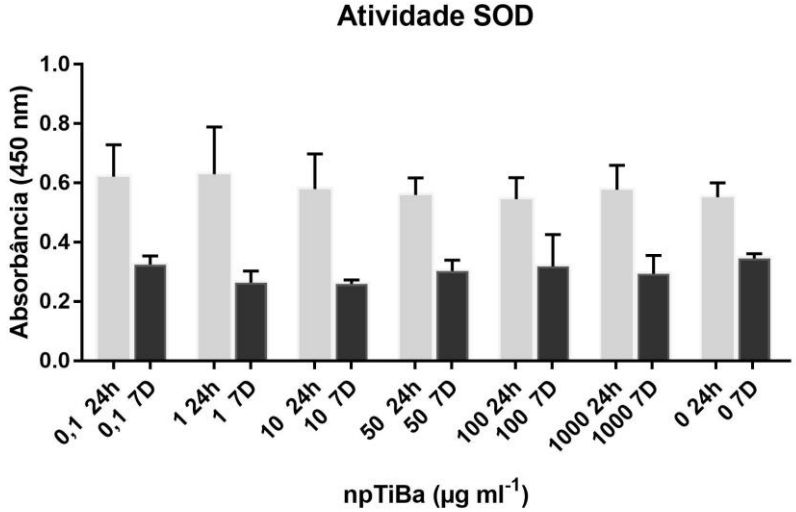


Figura 5: Avaliação da atividade da SOD após 1 e 7 dias de exposição a NP TBs

Após exposição às NP TBs não houve diferença significativa na atividade da SOD em relação ao controle, tanto após 1 como 7 dias de cultivo, mostrando que as NPs não causam estresse oxidativo nas células-tronco cultivadas *in vitro* (Figura 2). Um dos mecanismos mais comuns para a toxicidade de NPs é a produção de espécies reativas de oxigênio, que causam danos ao DNA, proteínas e tecidos (MOUTHUY et al., 2016). Isso ocorre pelo fato da grande área superficial das NPs reagir com as estruturas celulares. O ensaio da SOD mede a atividade da SOD, uma enzima antioxidante que mantém a homeostase celular. Portanto, as NPs TB não alteraram um importante marcador de nanotoxicidade demonstrando a biocompatibilidade desta NP.

Após a exposição às NP TBs não houve mudança na morfologia das células em nenhuma das concentrações (Figura 3). Na maior concentração foi possível observar a deposição das nanopartículas sobre as células, mas a morfologia não foi alterada. A mudança na morfologia celular é um parâmetro importante, visto que um dos mecanismos de indução de toxicidade é ruptura da actina, desestruturando o citoesqueleto (citação). Células-tronco tem morfologia fusiforme, semelhante a fibroblastos. Essa morfologia típiuca não foi influenciada pelas NP TB

4 CONCLUSÃO

Avaliando em conjunto os dados de proliferação celular, estresse oxidativo e morfologia celular, pode-se concluir que nas condições descritas neste trabalho, as NPTBs apresentam excelente biocompatibilidade *in vitro* com células-tronco da polpa dentária humana.

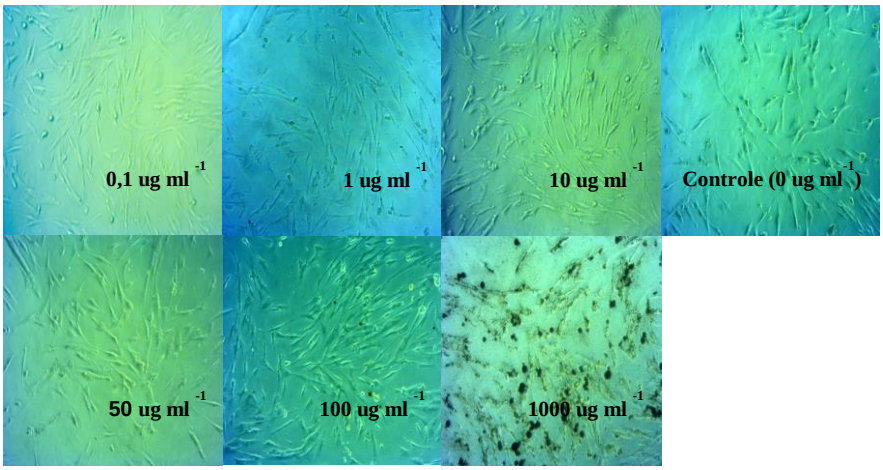


Figura 6: Morfologia das células-tronco da polpa dentária humana após 24 horas de exposição à NP TBs (aumento 100x).

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPEMIG, CNPq, CAPES, Rede Agronano, Rede NANOBIOMG e EMBRAPA Gado de Leite.

REFERÊNCIAS

ABOONAJMI, M.; FARIDI, H. Nondestructive quality assessment of Agro-food products. IN IRANIAN INTERNATIONAL NDT CONFERENCE, p. 1-9, 2016.

ADABI, M. et al. Biocompatibility and nanostructured materials: applications in nanomedicine. Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology, v. 45, n. 4, p. 833-842, 2016.

ARVANITOYANNIS, I. S.; KOTSANOPOULOS, K. V.; SAVVA, A. G. Use of ultrasounds in the food industry–Methods and effects on quality, safety, and organoleptic characteristics of foods: A review. Critical reviews in food science and nutrition, v.57. n. 1, p. 109-128. 2016.

HAVRDOVA et al. Toxicity of carbon dots–Effect of surface functionalization on the cell viability, reactive oxygen species generation and cell cycle. Carbon, v. 99, p. 238-248, 2016.

HUANG, H. M.; LI, H. Y.; WANG, X. X.; GUO, X. Detecting low concentration of H 2 S gas by BaTiO 3 nanoparticle-based sensors. Sensors and Actuators B: Chemical, v. 238, p. 16-23, 2017.
WANG, Y.; DUNCAN, T. V. Nanoscale sensors for assuring the safety of food products. Current opinion in biotechnology, v. 44, p. 74-86, 2017.

MANKE, A.; WANG, L.; ROJANASAKUL, Y. Mechanisms of nanoparticle-induced oxidative stress and toxicity. BioMed research international, 2013.

MOUTHUY, P. A.; SNELLING, S. J.; DAKIN, S. G.; MILKOVIĆ, L.; GAŠPAROVIĆ, A. Č.; CARR, A. J.; ŽARKOVIĆ, N. Biocompatibility of implantable materials: an oxidative stress viewpoint. Biomaterials, v. 109, p. 55-68, 2016.

Portal da Saúde. Ministério da Saúde. Disponível em: <http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/maio/29/Apresentacao-Surtos-DTA-2017.pdf>. Acesso em: 06 set. 2017.

ESTUDO DA BIOCOMPATIBILIDADE DAS NANOPARTÍCULAS DE DIÓXIDO DE TITÂNIO EM FIBROBLASTOS BOVINOS

Leonara Beatriz Fayer de Almeida[1]; Rafaella de Souza Salomão Zanette[1]; Geovana Onorato[1]; Jocarla Fregulia Santos[1]; Humberto de Mello Brandão[2]; Michele Munk[1*].

1 Universidade Federal de Juiz de Fora, MG, Brasil
2 Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, Brasil
** michele.munk@ufjf.edu.br*

Classificação: Avaliação de Segurança de Nanoprodutos

Resumo
As nanopartículas de dióxido de titânio (TiO_2NP) apresentam propriedades antibacteriana e fotocatalíticas, é uma alternativa para a liberação de substâncias, aditivos alimentares e tem afinidade com o grupo fosfato conseguindo enriquecer os fosfopeptídeos, e assim aumentar a síntese proteica. Porém, estudos avaliando a exposição de células de mamíferos as TiO_2NP são escassos. Assim, o objetivo desse estudo é avaliar a biocompatibilidade da TiO_2NP em fibroblasto bovino cultivadas *in vitro*. O ensaio de MTT foi realizado de modo a avaliar a viabilidade celular dessas células expostas por 24 h as concentrações de 0,1; 1; 5 e 10 ug/mL de TiO_2NP. Os dados foram avaliados por ANOVA. Os resultados demostraram que essas concentrações não afetaram a viabilidade celular de fibroblastos bovinos (P>0,05). Logo, de acordo com as condições testadas, as TiO_2NP não são citotóxicas para as células de fibroblasto bovino.
Palavras-chave: *In vitro*, Nanotecnologia; MTT; Viabilidade celular.

BIOCOMPATIBILITY OF TITANIUM DIOXIDE NANOPARTICLES IN BOVINE FIBROBLASTS

Abstract
The nanoparticles of titanium dioxide (TiO_2NP) have antibacterial and photocatalytic properties, besides is an alternative for the drug delivery, food additives and have high affinity for phosphate groups to achieve phosphopeptide enrichment, so can increase the protein synthesis. Thus, the aim of this study is to evaluate the biocompatibility of TiO_2NP in bovine fibroblast cultured in vitro. The MTT assay was performed in order to evaluate the cell viability of these cells exposed for 24 h at concentrations of 0,1; 1; 5 and 10 ug/ml of TiO_2NP. The data were evaluated by ANOVA. The results demonstrated that these concentrations did not affect the cell viability of bovine fibroblasts (P> 0,05). Therefore, according to the conditions tested, 0,1; 1; 5 and 10 ug/ml of TiO_2NP are not cytotoxic to bovine fibroblast cells.
Keywords: *In vitro,* Nanotechnology; MTT; Cell viability.

1 INTRODUÇÃO

A nanotecnologia vem contribuindo para vários ramos da agricultura de modo a melhorar o rendimento agrícola (DUHAN et. al., 2017), e uma promessa para esse campo são as nanopartículas de dióxido de titânio (TiO_2NP) que apresentam propriedades antibacteriana (CHENG et. al., 2009) e fotocatalíticas (DALRYMPLE et. al., 2010). Além disso, as TiO2NP podem ser utilizadas como delivery de substâncias (SONG et. al. 2006), aditivos alimentares para melhorar o crescimento de gado (CHAUDHRY, Q. & CASTLE, L., 2011) e tem afinidade com o grupo fosfato conseguindo enriquecer os fosfopeptídeos, e assim aumentar a síntese proteica. (LIANG et. al., 2006).

Em razão ao desenvolvimento da nanotecnologia e a ampla aplicação da TiO_2NP, bem como sua a exposição crescente, surge a necessidade de se aprofundar o conhecimento sobre as TiO_2NP e seus riscos. Desse modo, o objetivo desse trabalho é avaliar a biocompatibilidade das TiO_2NP em células de fibroblastos bovinos cultivadas *in vitro*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

As TiO_2NP (European Commission, Ares(2015)2883578) foram dispersas em meio de cultura DMEM-F12 utilizando um sonicador (Branson Sonifier S-450) por 16 min a 400 Watt, resultando em uma solução estoque na concentração de 1000ug/mL.

O ensaio de redução do corante metil tiazol tetrazólio (MTT) foi realizado utilizando células de fibroblastos bovinos plaqueadas em placas de 96 poço (6 x 10^3 células por poço). Logo após 24 h, as células foram expostas à 0,1; 1; 5 e 10 ug/mL de TiO_2NP e ao grupo controle (apenas meio de cultura) onde permaneceram por mais 24 h em estufa com atmosfera umidificada com 5% de CO_2 a 37^{o}C. Após o tratamento, o meio foi retirado e as células foram incubadas com meio de cultivo contendo MTT (Thiazolyl Blue Tetrazolium Blue, Sigma) a 10% em condições de cultura normais durante 4 h. A seguir, o meio foi retirado para adição de álcool ácido afim de diluir o formazam formado com intuito de se realizar a leitura no espectofotômetro a 570 nm. Os valores de absorvência também foram corrigidos por poço contendo apenas as nanopartículas.

Os dados foram submetidos a análise estatística por ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Tukey, valores de $P<0,05$ foram considerados significativos.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A exposição asTiO_2NPs por 24 h não afetou a viabilidade celular ($P>0,05$) nas concentrações de 0,1; 1; 5 e 10 ug/mL para as células de fibroblasto bovino (figura 1).

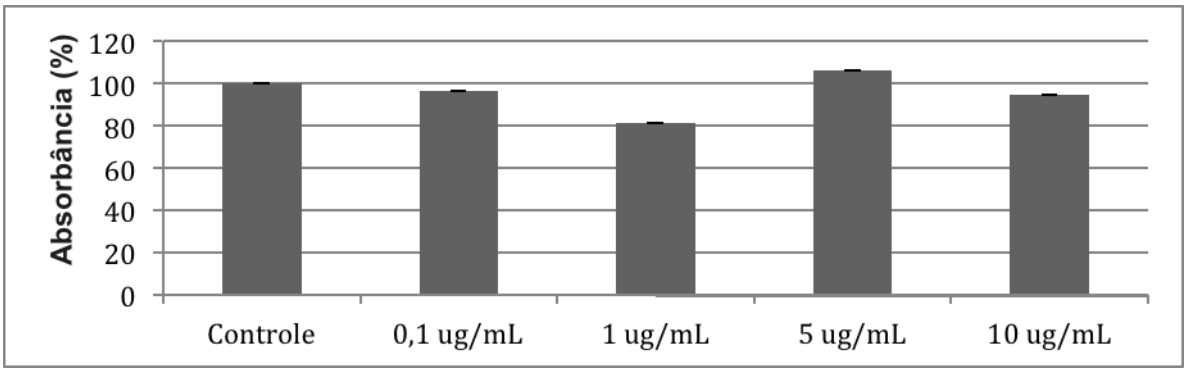


Figura 1 – Ensaio de MTT. A partir do ensaio de MTT, a viabilidade celular de fibroblastos bovinos expostas a nanopartículas de dióxido de titânio por 24 h não foi alterada. As médias foram comparadas por ANOVA post-hoc de Tukey ($P<0,05$).

Na literatura encontramos alguns relatos sobre a toxicidade das TiO_2NP, no qual incluí estresse oxidativo, resposta inflamatória, apoptose, genotoxicidade e comprometimento direto dos componentes celulares (SONG et al, 2016; FARD et al., 2015). Além de limitarem a função mitocondrial pela formação de espécies reativas a oxigênio (ROS) em células como células epiteliais de brônquios humanos (PARK et. al., 2008) e linfócitos periféricos humanos (GHOSH et. al.,2013)

Contudo, em alguns casos as TiO_2NP mostram-se não serem nocivas, como é o caso de um estudos utilizando células de fígado de rato como modelo experimental afim de avaliar os efeitos das TiO_2NP (10 e 50 ug/mL), relataram não comprometeram a viabilidade celular (HUSSAIN et. al., 2005). De modo semelhante, 10 ug/cm^2 de TiO_2NP não foram citotóxicas para células epiteliais brônquicas humanas (BHATTACHARYA et. al., 2009).

Segundo Virgilio et. al. (2010), o efeito citotóxico da TiO_2NP mostrou ser dependente da concentração e da composição, e diferir entre as linhagens celulares. Logo, mais estudos são necessários para conhecermos quais tipos celulares são sensíveis a exposição às TiO_2NP , bem como os mecanismos de interação das nanopartículas com as células.

4 CONCLUSÃO

De acordo com as condições experimentais avaliadas, as TiO_2NP nas concentrações de 0,1; 1; 5 e 10 ug/mL não foram citotóxicas para as células de fibroblastos bovinos.

AGRADECIMENTOS

CNPq, CAPES, Fapemig e Rede de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio (AGRONANO).

REFERÊNCIAS

CHAUDHRY, Qasim; CASTLE, Laurence. Food applications of nanotechnologies: an overview of opportunities and challenges for developing countries. **Trends in Food Science & Technology**, v. 22, n. 11, p. 595-603, 2011.

CHENG, C.L. et al. The effects of the bacterial interaction with visible-light responsive titanium photocatalyst on the bactericidal performance. **Journal of biomedical science**, v. 16 (1) p. 7, 2009.

DALRYMPLE, O.K. et al. A review of the mechanisms and modeling of photocatalytic disinfection. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 98, n. 1, p. 27 - 38, 2010.

DUHAN, J. S. et al. Nanotechnology: The new perspective in precision agriculture. **Biotechnology Reports**, v.15, p. 11 - 23, 2017.

FARD, J.K.; JAFARI, S.; EGHBAL, M.A. A Review of Molecular Mechanisms Involved in Toxicity of Nanoparticles. **Adv Pharm Bull**, v. 5(4), p. 447-454, 2015.

GHOSH, M.; CHAKRABORTY, A.; MUKHERJEE, A. Cytotoxic, genotoxic and the hemolytic effect of titanium dioxide (TiO2) nanoparticles on human erythrocyte and lymphocyte cells in vitro. **Journal of Applied Toxicology**, v. 33, n. 10, p. 1097-1110, 2013.

LIANG, S., MAKAMBA, H., HUANG S., CHEN, S. Nanotitanium dioxide composites for the enrichment of phosphopeptides. **J. Chromathgr A.**, v. 1116, p. 38 - 45, 2006.

SONG, Min et al. The in vitro inhibition of multidrug resistance by combined nanoparticulate titanium dioxide and UV irradiation. **Biomaterials**, v. 27, n. 23, p. 4230 - 4238, 2006.

SONG, B.; ZHANG, Y.; LIU, J.; FENG, X.; ZHOU, T.; SHAO, L. Unraveling the neurotoxicity of titanium dioxide nanoparticles: focusing on molecular mechanisms. **Beilstein J. Nanotechnol**, v. 7, p. 645–654, 2016.

S.M. Hussain, K.L. Hess, J.M. Gearhart, K.T. Geiss, J.J. Schlager, In vitro toxicity of nanoparticles in BRL 3A rat liver cells, Toxicol. In Vitro 19 (2005) 975– 983.

PARK, E.J. et al. Oxidative stress and apoptosis induced by titanium dioxide nanoparticles in cultured BEAS-2B cells. **Toxicology letters**, v. 180, n. 3, p. 222-229, 2008.

BHATTACHARYA, K. et al. Titanium dioxide nanoparticles induce oxidative stress and DNA-adduct formation but not DNA-breakage in human lung cells. **Particle and Fibre Toxicology**, v. 6, n. 1, p. 17, 2009.

VIRGILIO, A.L.; REIGOSA, M.; ARNAL, P.M.; MELE, M.F.L. Comparative study of the cytotoxic and genotoxic effects of titanium oxide and aluminium oxide nanoparticles in Chinese hamster ovary (CHO-K1) cells. **Journal of Hazardous Materials**, v. 177, p. 711-718, 2010.

DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE PRATA EM LEITE RESULTANTE DA MIGRAÇÃO DE EMBALAGENS CONTENDO NANOPARTICULAS DO METAL.

***Renison T. Vargas[1,2]; Mônica M. O. P. Cerqueira[2]; Alessandro S. Guimarães[3]; Marília M. Melo[2]; Camila G. Almeida[4]; Juliana R. Guimarães[1], Cristiane V. G. Ladeira[5]; Ricardo Campos[3]; Antônio M. T. Fonseca[6]; Humberto M. Brandão[3]**

*[1]Instituto Federal Minas Gerais – Campus Bambuí – Bambuí - MG; [2]Escola de Veterinária da UFMG – Belo Horizonte - MG; [3]Embrapa CNPGL – Juiz de Fora – MG; [4]Universidade Federal de Juiz de Fora – Juiz de Fora – MG; [5]Epamig – Belo Horizonte - MG; [6]Universidade Federal de Ouro Preto – Ouro Preto – MG *renison.vargas@ifmg.edu.br*

Classificação: Avaliação de segurança de nanoprodutos

Resumo
A demanda por embalagens incorporadas com nanomateriais, principalmente nanoparticulas de prata está crescendo. Porém, ainda existem muitas dúvidas em relação a segurança destes compostos para armazenamento de alimentos e as pesquisas são contraditórias. O objetivo deste trabalho foi avaliar se há migração de nanopartículas das embalagens de polímeros com nanoparticulas de prata para o leite e se a digestão ácida e a leitura em equipamento de ICP OES é um método eficiente para detecção. Os resultados comprovam que houve uma baixa concentração de nanopartículas de prata no leite em relação ao encontrado nas embalagens e o método utilizado foi bastante sensível e eficiente. Conclui-se que, aparentemente, não houve migração das embalagens para o leite e a metodologia é viável na rotina dos laboratórios de análises.
Palavras-chave: Nanoparticulas; Prata; ICP OES; Embalagens; Leite.

DETERMINATION OF SILVER WASTE IN MILK RESULTING FROM MIGRATION OF PACKAGING CONTAINING METAL NANOPARTICLES

Abstract
The demand for nanoparticles incorporated with nanomaterials, mainly silver nanoparticles is growing. However, there are still many doubts regarding the safety of these compounds for food storage and the research is contradictory. The objective of this work was to evaluate if there is migration of nanoparticles from polymer packages with silver nanoparticles to the milk and if the acid digestion and the reading in ICP OES equipment is an efficient method for detection. The results show that there was a low concentration of silver nanoparticles in milk in relation to that found in the packages and the method used was very sensitive and efficient. It is concluded that, apparently, there was no migration of the packages to the milk and the methodology is feasible in the routine of the analysis laboratories.
Keywords: Nanoparticles; Silver; ICP OES; Packaging; Milk.

Publicações relacionadas: Segue nas Referências bibliográficas artigos com temas relacionados, porém não existe na literatura trabalhos com o mesmo propósito.

1 INTRODUÇÃO

A grande demanda por produtos alimentícios industrializados vem fazendo com que as empresas se modernizem e tragam várias inovações para acompanhar o crescimento da demanda. Entre as necessidades da cadeia produtora de alimentos se destacam as embalagens que consigam manter integras as características dos produtos, aumentando o "shelf life", as características físico-químicas e sensoriais.

Uma alternativa promissora para melhorar as embalagens dos alimentos se refere ao uso de nanopartículas que revestem a matriz de polímeros, ou que foram incorporadas a essa matriz.

Nos últimos cinco anos, houve aumento do uso da nanotecnologia no setor agroalimentar e a tendência é de um maior crescimento no futuro (MATTAROZZI et al., 2016).

Entre as opções utilizadas pela indústria a de maior destaque é a prata nanoparticulada. Existem trabalhos demonstrando o uso da prata como bactericida há mais de 120 anos nos EUA (NOWACK; KRUG; HEIGHT, 2011).

Órgãos responsáveis pela liberação de novos produtos nos EUA aprovaram o uso de nanopartículas de prata acrescentados em polietileno para uso em embalagens de alimentos. O EPA (Environmental Protection Agency) e o FDA (Food and Drug Administration) regulamentam vários produtos que podem conter nanomateriais, incluindo aqueles que entram em contato com os alimentos. Na Europa o European Food Safety Authority (EFSA) concluiu que eles são seguros para o consumidor se a migração de íons de prata não exceder a dose limite de 0,05 mg Ag/Kg de alimento (EFSA, 2011).

No Brasil a legislação para embalagens estipulada pela Resolução RDC nº 17, de 17 de março de 2008 estabelece também um limite de 0,05 mg/kg (ANVISA, 2008), acompanhando a legislação Europeia.

Portanto, o maior problema do uso destas embalagens contendo nanopartículas de prata se refere a possibilidade de migração dos nanopartículas para o alimento.

Alguns estudos já foram realizados em diversos países e os dados são contraditórios. VON GOETZ et al. (2013), CUSHEN et al. (2014) e NTIM et al. (2015) relatam a presença de migração de nanopartículas de prata das embalagens para os alimentos. Outros autores (BOTT et al., 2014; JOKAR; ABDUL RAHMAN, 2014; ARTIGA et al., 2015), no entanto, não detectaram vestígios de migração das nanopartículas de prata em seus estudos.

Portanto, os resultados de vários estudos com nanopartículas de prata não são conclusivos. Quase todos os estudos congruentes descrevem que a migração é mais alta em um meio ácido, mas os achados são bastante contraditórios (STORMER, et al., 2017).

No Brasil já existem empresas utilizando o polietileno misturado com nanopartículas de prata para embalagem de leite, e não existe na literatura uma metodologia validada para digestão destes polímeros com nanopartículas de prata e de métodos para avaliação da presença da prata no material digerido.

O objetivo do trabalho foi desenvolver uma técnica para digestão ácida de embalagens de polietileno misturada com nanopartículas de prata para posterior leitura em equipamento de Espectrometria de emissão óptica com fonte de plasma indutivamente acoplado (ICP – OES) e verificar se as nanopartículas de prata das embalagens estão migrando para o leite.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Para verificar se havia prata nanoparticulada nas amostras de leite, 03 (três) garrafas de leite desnatado com embalagens de polietileno misturada a prata nanoparticulada foram adquiridas no mercado da cidade de São Paulo, sendo que cada garrafa foi fracionada em 04 (quatro) alíquotas, totalizando 12 amostras.

Para a digestão das amostras, 10 mL de cada uma das 12 amostras foram colocadas em tubos de digestores de 75 mL e colocadas para secar em estufa por 48 h. Em seguida foram adicionados em cada amostra, 05 (cinco) mL de ácido nítrico para uma pré-digestão de 24 h. Após a pré-digestão, as amostras foram digeridas em blocos digestores a 150° C por 3:30 h. Após, foram acrescidos mais 02 (dois) mL de ácido clorídrico e mais 30 min de aquecimento. Em seguida, as amostras foram resfriadas e ressuspendidas com água ultra pura por osmose reversa, filtradas e armazenadas.

Para analises das embalagens de polietileno misturado a nanopartículas de prata foram utilizadas embalagens de leite integral e desnatado. As mesmas foram picotadas em pequenos pedaços e pesou-se 1 g de cada amostra de embalagens, sendo 3 (três) de leite desnatado e 3 (três) de leite integral (totalizando 6 (seis) amostras) e acondicionadas em tubos digestores de 75mL. Em seguida foram adicionados 20 mL de ácido sulfúrico para uma pré-digestão de 12 h. Após as 12 h de pré-digestão os tubos foram encaminhados para o bloco digestor e aquecidos a uma temperatura de 300 ° C por 45 minutos. Após o resfriamento, houve novo aquecimento por 5 (cinco) minutos e o acréscimo de 5 (cinco) mL de peróxido de hidrogênio a 30%. Após mais 5 (cinco) minutos, mais 5 (cinco) mL de

peróxido de hidrogênio a 30% foram adicionados de acordo com metodologia adaptada de Ernst; Popp; Van Eldik (2000).

A leitura das amostras foi feita em equipamento de ICP OES na configuração de 1.400 W de potência, vazão do gás auxiliar de 0,2 l/min e nebulização do plasma de 0,8 l/min, modo Axial e comprimento de onda de 328,068 nm.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após as análises das amostras de leite coletadas em supermercados do Estado de São Paulo verificou-se presença de nanopartículas de prata no leite e nas embalagens, conforme Tabelas 1 e 2.

Tabela 1. Resultados da concentração de prata encontrada em análise por ICP OES em leite desnatado embalado em garrafas de polietileno com nanopartículas de prata comercializadas em São Paulo

Amostra	Resultado (ppb)
1 A	0,566
1 B	1, 096
1 C	3,780
1 D	1,597
2 A	1,449
2 B	0,566
2 C	1,780
2 D	0,916
3 A	2,555
3 B	1,267
3 C	0,702
3 D	0,688

Todas as amostras: Lote: 201615 / Validade: 30/09/16.

Tabela 2. Resultados da concentração de prata encontrada em análise por ICP OES em garrafas de polietileno com nanoparticulas de prata comercializadas em São Paulo

Amostra	Resultado (ppb)
Desnatado1	277,5
Desnatado 2	275,1
Desnatado 3	366,2
Integral 1	354,6
Integral 2	124,0
Integral 3	328,1

Após a leitura das amostras no ICP OES verificou-se que a maior concentração em leite foi de 3,78 ppb no leite desnatado. Porém, os valores encontrados estão dentro dos parâmetros legais estipulados pela Resolução RDC nº 17, de 17 de março de 2008 que é 0,05 mg/kg (ANVISA, 2008). Transformando de ppb para mg/Kg o maior resultado foi de 0.00378 mg/Kg, ou seja 10 vezes menor que a exigência legal.

Em relação às embalagens, uma amostra do leite desnatado apresentou concentração acima de 360 ppb, resultado 100 vezes maior que o encontrado no leite. Contudo, altas concentrações de prata na mistura de polímeros com as nanopartículas de prata são esperadas. Os resultados sugerem que não houve migração significativa das embalagens para o leite, confirmando os achados de Bott et al. (2014); Jokar; Abdul Rahman (2014); Artiga et al. (2015) que não detectaram vestígios de migração das nanopartículas de prata para alimentos.

4 CONCLUSÃO

Provavelmente, a prata detectada no leite não é especificamente resultado da migração de prata das garrafas de polietileno para o leite e sim devido a passagem do leite pelas nanopartículas e o contato com a superfície.

Conclui-se também que a metodologia de digestão do leite e das embalagens de polietileno é eficiente e possível de ser realizada em laboratórios para análise de alimentos, bem como o uso do ICP OES para detecção da prata nas duas matrizes.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Fapemig e ao IFMG – Campus Bambuí pelo apoio financeiro e ao CNPGL da Embrapa em Juiz de Fora – MG pela disponibilidade dos laboratórios e equipamentos.

REFERÊNCIAS

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária Resolução RDC nº 17, de 17 de março de 2008. Dispõe sobre Regulamento Técnico sobre Lista Positiva de Aditivos para Materiais Plásticos destinados à Elaboração de Embalagens e Equipamentos em Contato com Alimentos.

ARTIAGA, G.et al. Migration and characterization of nanosilver from food containers by AF4-ICP-MS. *Food Chemistry*, v.166, p.76-85, 2015.

BOTT, J., STORMER, A., FRANZ, R. Migration of nanoparticles from plastic packaging materials containing carbon black into foodstuffs. *Food Additives and Contaminants*: Part A, v.31, p.1769-1782, 2014.

CUSHEN, M. et al. Evaluation and simulation of silver and copper nanoparticle migration from polyethylene nanocomposites to food and an associated exposure assessment. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.62, p.1403-1411, 2014.

EFSA Scientific Committee. Scientific opinion on guidance on the risk assessment of the application of nanoscience and nanotechnologies in the food and feed chain. *EFSA Journal*, v.9, n.5, 2011.

ERNST, T. R.; POPP, R.; VAN ELDIK, R. Talanta, v.53, n.2, p.347-357, 2000.

JOKAR, M.; ABDUL RAHMAN, R. Study of silver ion migration from meltblended and layered-deposited silver polyethylene nanocomposite into food simulants and apple juice. *Food Additives & Contaminants*: Part A, v.31, p.734-742, 2014.

MATTAROZZI, M.et al. Analytical approaches for the characterization and quantification of nanoparticles in food and beverages. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2016.

NOWACK, B., KRUG, H. F., HEIGHT, M. 120 Years of Nanosilver History: Implications for Policy Makers. *Environmental Science* and *Technology*, v.45, p.1177–1183, 2011.

NTIM, A.S.et al. Characterization and potential migration of silver nanoparticles from commercially available polymeric food contact materials. *Food Additives & Contaminants*: A, v.32, n.6, p.1003-1011, 2015.

STORMER, A. et al. Critical review of the migration potential of nanoparticles in food contact plastics. *Trends in Food Science & Technology*, v.63, p.39-50, 2017.

VON GOETZ, N.et al. Migration of silver from commercial plastic food containers and implications for consumer exposure assessment. *Food Additives and Contaminants*: Part A, v.30, p.612-620, 2013.

SUBSÍDIOS TÉCNICOS PARA FORMULAÇÃO DO PROCESSO REGULATÓRIO DAS NANOTECNOLOGIAS NO BRASIL: CONSULTA A ESPECIALISTAS COMO UMA ABORDAGEM PRELIMINAR

Katia Regina Evaristo Jesus[1] e Karen Cristina Massini[2]

[1]Pesquisadora, Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP, katia.jesus@embrapa.br
[2]PhD, Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP, kamassini@hotmail.com

Classificação: Avaliação de Segurança de Nanoprodutos.

Resumo
O presente trabalho visa auxiliar os legisladores quanto ao processo regulatório das nanotecnologias inseridas no mercado. Com a finalidade de identificar o melhor modo de conduzir a discussão que contribua com a regulamentação do tema no Brasil foi organizado um workshop com a presença de especialistas da comunidade científica e legisladores. Como resultado foram elaboradas questões que abordavam o processo regulatório da nanotecnologia com a finalidade de analisar o conhecimento e o posicionamento dos especialistas que estão diretamente ligados ao desenvolvimento das nanotecnologias. Essas foram disponibilizadas para 214 especialistas atuantes nas áreas correlatas da Nanotecnologia no formato de um questionário-web aplicando a Técnica Delphi, através da plataforma do *Limesurvey*. A análise dos resultados obtidos e consolidação das respostas foi feita com a equipe do projeto e convidados em um *painel de especialistas* para discutir os resultados da consulta e definir os direcionamentos. De modo geral, a integração dos dados obtidos permitiu inferir que a definição de protocolos gerais e alguns protocolos específicos com descrição dos ensaios mais relevantes para avaliação da segurança, com foco em testes toxicológicos e ecotoxicológicos, poderiam apoiar tanto o meio científico quanto os agentes reguladores para versarem sobre as preocupações mais relevantes nesta área.
Palavras-chave: Nanopartículas; Avaliação da Segurança; Regulação das Nanotecnologias.

TECHNICAL SUBSIDIES FOR THE FORMULATION OF THE REGULATORY PROCESS OF NANOTECHNOLOGIES IN BRAZIL: CONSULTATION OF SPECIALISTS AS A PRELIMINARY APPROACH

Abstract
This paper aims to assist legislators in the regulatory process of nanotechnologies available in the market. In order to identify the best way to lead the discussion that contributes to the subject of regulation in Brazil it has been organized a workshop with the presence of experts from the scientific community and policy makers. As a result, questions were developed that addressed the regulatory process of nanotechnology in order to analyze the knowledge and the placement of specialists who are directly linked to the development of nanotechnologies. These were made available for 214 active specialists in related areas of Nanotechnology in a questionnaire formatted for website applying the Delphi technique in Limesurvey platform. The analysis of the results and consolidation of the responses was made by the project team and invited a panel of experts to discuss the query results and set the directions. In general, the integration of data obtained in the remote and face-to-face consultation allows to infer that the definition of general protocols and some specific protocols with a description of the most important tests to evaluate the safety, focusing on toxicological and ecotoxicological tests, could support both the scientific community as the regulators agents to base the discussion of the most relevant concerns in this area.
Keywords: Nanoparticle; Safety assessment; Nanotecnology regulation

1 INTRODUÇÃO

Os investimentos em nanotecnologia no Brasil são aparentemente majoritariamente públicos, com pouca informação sobre investimento privado. Há um cenário motivador para o investimento, evidenciado pela produção científica na área.

Entretanto, devido a sua multidisciplinariedade a nanotecnologia está inserida em vários seguimentos do mercado e, como toda tecnologia há uma preocupação com os aspectos toxicológicos, da ação das nanopariículas no meio ambiente, na saúde humana e animal. Alguns trabalhos evidenciam que alguns tipos de nanopartículas podem ser prejudicial ao meio ambiente e saúde humana. Diversos fatores e que são de extrema importância devem ser considerados quando se desenvolve um nano-objeto, tais como, a estática/reatividade e dinâmica que está diretamente relacionada ao seu uso e aplicação. Estes podem ser determinados através de suas propriedades físico-químicas, pelos seus efeitos e interacções com uma célula, tecido, órgão e com a estrutura de um organismo como um todo. A nanotoxicidade de uma única nanospécie ou nanopartícula envolve não só a interação da referida espécie, mas também a interação dos seus componentes do nanomaterial com os sistemas biológicos. Após analisadas as características físico-químicas da nano-objeto, o primeiro elemento relevante a ditar o destino celular é o tamanho e a segunda é a carga de superfície.

O tamanho, a estrutura de nanopartículas (NPs) e as suas características de superfície são importantes para verificar as interações entre proteínas e outras moléculas. Outros aspectos que também são importantes e que devem ser estudados são: área superficial (de forma e química), estrutura cristalina, dimensionalidade, aglomeração, concentração e dose recomendada. Entretanto, há necessidade de um melhor entendimento sobre os mecanismos de toxicicidade (Karlsson et al., 2009; ABDI, 2013).

Na atualidade várias organizações internacionais estão avaliando informações e publicando documentos e guias em relação à segurança de nanomateriais com vistas a implementação de marcos regulatórios. Os países que estão à frente na regulamentação de nanotecnologias (Austrália, Reino Unido, Canadá, União Europeia e Estados Unidos) utilizam a mineração de dados para avaliar os riscos potenciais associados às NPs e estão constantemente revendo suas legislações para determinar a necessidade de modificações.

Neste sentido, o presente trabalho compreende um conjunto de ações interligadas cujo principal objetivo é a definição de estratégias que permitam embasar as regulamentações do tema no país. Desta forma, buscamos estabelecer uma metodologia para avaliar as informações técnicas, através da consulta aos especialistas, sobre os aspectos que possam causar algum risco ou impacto na agricultura através da confrontação da legislação atual e sua eficácia no atendimento aos requisitos para avaliar a segurança dos produtos nanotecnológicos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1.Formulação do questionário *on-line* para consulta aos especialistas em nanotecnologia

O questionário formulado representando os indicadores de riscos das nanotecnologias agrícolas, de acordo com a técnica Delphi e, as questões dissertativas sobre regulamentação foram estruturadas de acordo com o software LimeSurvey. Este software é uma ferramenta gratuita e de fácil acesso não havendo necessidade do respondente realizar download em seu computador e que permite realizar consultas utilizando a metodologia preconizada pelo Delphi. LimeSurvey é um software de código livre desenvolvido em PHP e utilizando banco de dados em MySQL (DIETZ, 1987).

As informações técnicas sobre o material preparado para a realização deste questionário foram baseados nos problemas encontrados pelos pesquisadores conforme descrito na literatura científica.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A formulação do questionário seguiu o rigor científico com base na literatura e foi avaliado remotamente pelos especialistas da área e a seguir apresentamos alguns direcionametos,assim como, algumas preocupações com relação ao processo regulatório da nantoecnolgia (Figura 1).

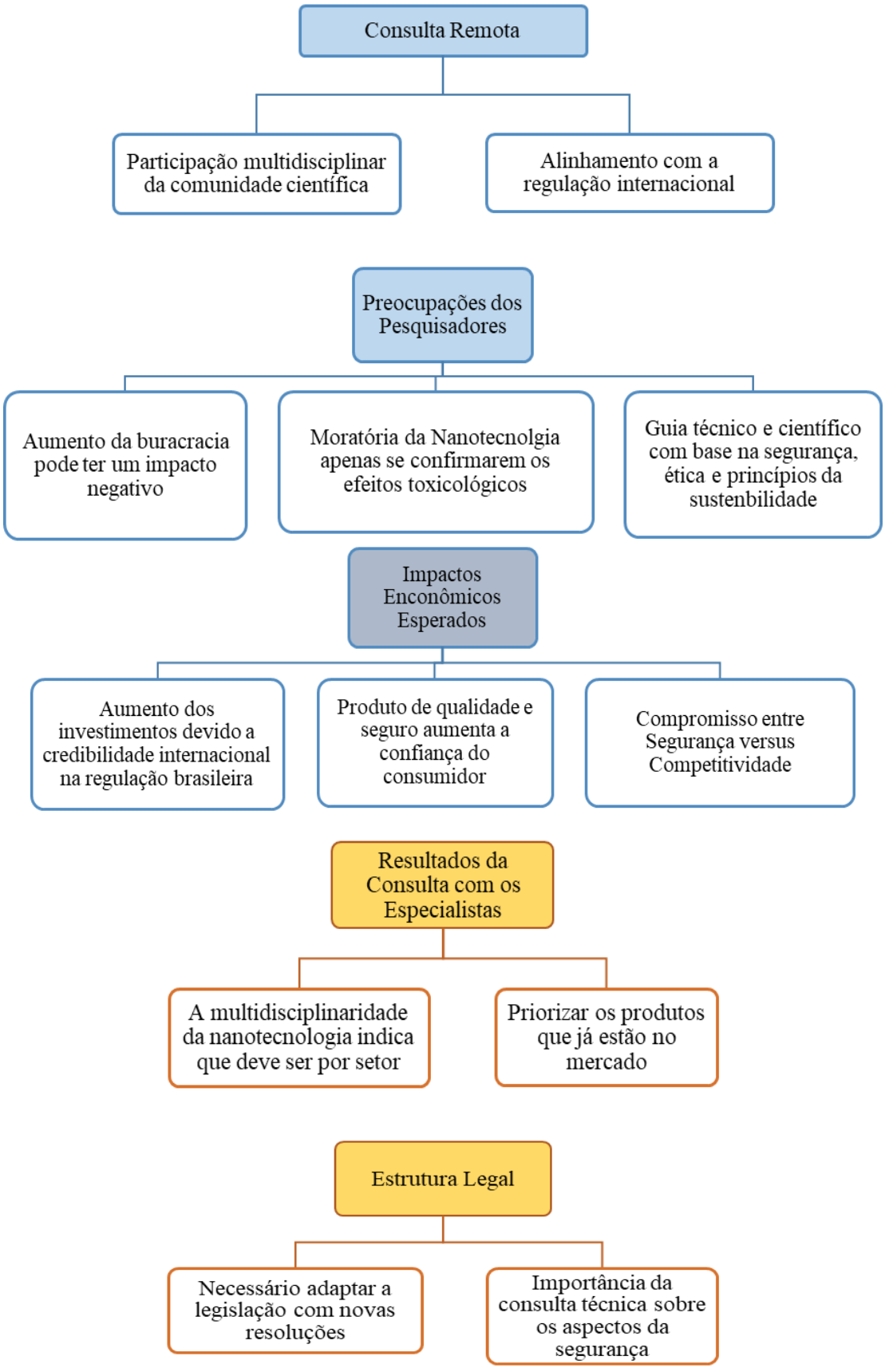


Figura 1. Resultados da avaliação dos especialistas sobre o tema regulamentação.

A tabela a seguir exemplifica questões importantes sobre a elaboração de determinados protocolos que auxiliará os legisladores e pesquisadores quanto aos aspectos da segurança (Tabela 1).

Tabela 1. Principais questões para o desenvolvimento de uma padronização para um processo de regulamentação

Protocolos gerais - que permitem o desenvolvimento de um novo processo de regulamentação da nanotecnologia
1. Monitoramento de resíduos de laboratórios ou indústrias de nanocompósitos;
2. Monitoramento contínuo de nanoprodutos;
3. Monitoramento de efluentes ou resíduos contendo nanopartículas de prata visando a preservação de características hidrobiológicas (organismos presentes na água, como algas, protozoários, bactérias, vermes, larvas de insetos).
4. Avaliação do ciclo de vida (LCA) de produtos não relacionados, nanopartículas ou nanocomposites;
5. Avaliação de segurança antes da liberação para o campo ou comercialização;
6. Avaliação toxicológica da saúde humana;
7. Segurança e saúde do trabalhador;
8. Avaliação ecotoxicológica: descarga de efluentes, emissão de ar, resíduos e material renovável, uso / manejo da água, efeitos em organismos não visados;
9. Adopção do princípio da precaução para os nanoprodutos sem avaliação de segurança comprovada;
10. Realização de testes pré-mercado (avaliação de segurança antes da liberação para venda);
11. Monitoramento de áreas de risco (laboratórios de desenvolvimento ou manipulação de partículas nanotecnológicas e áreas circundantes de liberação);
Protocolos específicos - que permitem o embasamento de um novo processo de regulamentação da nanotecnologia
12. Avaliação de segurança e impactos *ex ante* de pesticidas nanoescala.
13. Teste de equivalência substancial para nanofilmes comestíveis.
14. Testes de segurança para nanocosmética de aplicação, nanofármacos e uso de nanotecnologia para liberação controlada de drogas

4. CONCLUSÃO

A análise dos resultados e a consolidação das respostas foi feita pela equipe do projeto e convidou um painel de especialistas para definir algumas instruções a cerca dos protocolos de segurança das nanotecnologias (Tabela 1). Em geral, a integração de dados obtidos na consulta remota e presencial permite inferir que a definição de protocolos gerais e alguns protocolos específicos com uma descrição dos testes mais importantes para avaliar a segurança, com foco em testes toxicológicos e ecotoxicológicos, poderiam apoiar a comunidade científica como agentes reguladores para fundamentar a discussão das preocupações mais relevantes nesta área.

AGRADECIMENTOS

Fapesp, CNPq e Rede AgroNano – EMBRAPA.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA BRASILEIRA DO DESENVOLVIMENTO INDUSTRIAL. Relatório de a acompanhamento Setorial Nanotecnologia na área da saúde: mercado, segurança e regulação, Série Cadernos da Indústria ABDI. Brasília, 2013.

KARLSSON HL, CRONHOLM P, GUSTAFSSON J, MOLLER L. Copper oxide nanoparticles are highly toxic: A comparison between metal oxide nanoparticles and carbon nanotubes. Chem. Res. Toxicol, v.21, p.1726–1732, 2008.

DIETZ, T. Methods for analyzing data from delphi Panels: some evidence from a forecating study. Technological Forecasting & Social Change, v. 31, p. 79-85, 1987.

NANOPARTÍCULAS DE TITANATO DE BÁRIO: CARACTERIZAÇÃO E CITOCOMPATIBILIDADE EM FIBROBLASTOS BOVINOS

ONORATO,G.C.[1]; ZANETTE, R.S.S.[2]; FAYER, L.B.A.[2]; MUNK, M.[2]; CARVALHO, W. A.[1]; GERN, J.C.[1]; BRANDÃO, H.M.[1]

[1]Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, Brasil; [2]Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG, Brasil
Email: geovana.onorato@gmail.com

Classificação: Avaliação de Segurança de Nanoprodutos

Resumo
Atualmente, a nanotecnologia é utilizada em diversas áreas para o melhoramento da resistência ou eficiência de produtos. As nanopartículas de Titanato de Bário (NP BaTiO3) tem o potencial uso na área de saúde e produção animal, porém, poucos estudos caracterizam essas nanopartículas em diferentes meios e avaliam a citocompatibilidade dessas partículas em fibroblastos bovinos. Portanto, o objetivo deste estudo foi caracterizar NPs BaTiO3 e avaliar sua citocompatibilidade *in vitro* em fibroblastos bovinos. O tamanho e potencial Zeta das NPs foram avaliados utilizando a técnica de DLS. A microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi utilizada para avaliar a morfologia e tamanho das NPs. Posteriormente, as células foram cultivadas *in vitro* e expostas por 24 horas à diferentes concentrações de NPs (0,1ug/mL, 1ug/mL, 10ug/mL, 50ug/mL e 100ug/mL) para avaliação da citotoxicidade utilizando o ensaio de MTT. O tamanho médio das NPs foi 149,267nm e o Potencial Zeta foi -13mV. Os resultados demonstraram que nenhuma concentração de NPs diminui a proliferação celular (P>0,05). Observou-se que a concentração de 10ug/mL NPsBaTiO3 estimulou a proliferação celular quando comparado ao grupo controle (P<0.05). Nas condições experimentais deste estudo, as NPs de TiBaO3 demonstraram instabilidade em meio de cultura, contudo não causaram efeitos tóxicos nos fibroblastos bovinos.
Palavras-chave: Citotoxicidade; fibroblastos; nanopartículas.

BARIUM TITANATE NANOPARTICLES: CHARACTERIZATION AND CITOCOMPATIBILITY IN BOVINE FIBROBLASTS

Abstract
Currently, nanotechnology is used in several areas to improve the strength or efficiency of products. The nanoparticles of Barium Titanate (NP BaTiO3) have potential use in the area of animal health and production, however, few studies characterize these nanoparticles in different media and evaluate the cytocompatibility of these particles in bovine fibroblasts. Therefore, the objective of this study was to characterize BaTiO3 NPs and to evaluate their in vitro cytocompatibility in bovine fibroblasts. The size and Zeta potential of the NPs were evaluated using the DLS technique. Scanning electron microscopy (SEM) was used to evaluate the morphology and size of NPs. Subsequently, the cells were cultured in vitro and exposed for 24 hours at different concentrations of NPs (0.1ug / ml, 1ug / ml, 10ug / ml, 50ug / ml and 100ug / ml) for cytotoxicity evaluation using the MTT assay . The mean NP size was 149.267nm and the Zeta potential was -13mV. The results showed that no concentration of NPs decreased cell proliferation (P> 0.05). It was observed that the concentration of 10ug / mL NPsBaTiO3 stimulated cell proliferation when compared to the control group (P <0.05). In the experimental conditions of this study, TiBaO3 NPs demonstrated instability in culture medium, however did not cause toxic effects in bovine fibroblasts.
Keywords: Cytotoxicity; Fibroblasts; Nanoparticles.

1 INTRODUÇÃO

Atualmente, a nanotecnologia tem sido amplamente utilizada em diversas áreas para o melhoramento da resistência ou eficiência de produtos. A grande expansão deste mercado nos últimos

anos é evidenciada pela identificação de 1.814 produtos contendo NPs, produzidos por 622 empresas em 32 países no ano de 2013 (VANCE et al., 2015). As nanopartículas de Titanato de Bário (NP BaTiO3) são um óxido do tipo perovskita e possuí propriedades piezoelétricas/dielétricas peculiares (CIOFANI et al., 2013).

As NP BaTiO3 são utilizadas na biomedicina na composição de redes wireless de estimulo neural (MARINO et al., 2015), na medicina regenerativa (BALL et al., 2014), Porém, poucos são os estudos que avaliam a biocompatibilidade e toxicidade dessas partículas em células de mamíferos. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar a citotoxicidade de NP BaTiO3 em células de fibroblasto bovinos cultivadas *in vitro*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Caracterização das nanopartículas

As NPs BaTiO3 foram obtidas da Sigma-Aldrich (Saint Louis, USA). O tamanho médio e o potencial Zeta foram determinados com auxílio do Zetasizer Nano ZN (Malverns Instruments, UK). Para a análise, a suspensão de NPs (100ug/mL) foi dispersa em DMEM, e a determinação realizada em temperatura ambiente em seis replicatas. A imagem em microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi produzida em Field Emission Scannin Electron Microscope JSM-6701F JEOL, com a amostra depositada sobre suporte de silício. A voltagem utilizada foi de 6.0kV.

2.2 Avaliação da citocompatibilidade

As células foram cultivadas *in vitro* em meio de cultura celular *Dulbecco's Modified Eagle's Medium* (DMEM) suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB) e 1% de antibiótico (penicilina/streptomicina). Amostras de NPs BaTiO3 (5 mg mL-1) foram dispersas em meio de cultura celular DMEM, suplementado com 10% de SFB com auxílio de ultrassom com ciclos de 0,5 e amplitude de 70, sonicando por 20 segundos, quatro vezes, para a completa dispersão das NPs. As culturas foram expostas por 24 horas a cinco concentrações das NPs (0,1ug/mL, 1ug/mL, 10ug/mL, 50ug/mL e 100ug/mL). Após, avaliou-se a citocompatibilidade utilizando o ensaio de MTT, em que as células, após a exposição, foram colocadas em meio com a solução de MTT e ficaram incubadas por 4 horas envoltas em papel alumínio, ressuspendendo depois com solubilizador Isopropanol-ácido e incubado por 1 hora, sendo avaliado por espectrofotometria em 570 nm.

Os resultados da viabilidade celular foram avaliados por análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de *Tukey*. Os valores de P menores que 0,05 foram considerados significativos. Os resultados foram apresentados como médias ± erro padrão (EP) da média.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização das nanopartículas

Dependendo do meio em que se encontram, as NPs podem apresentar propriedades físicas distintas, que podem alterar os efeitos delas sobre as células. Em meio DMEM, o tamanho médio encontrado foi de 149,267 nm e o índice de polidispersão foi 0,37, que caracteriza uma amostra polidispersa moderada. O potencial Zeta é utilizado como indicador de estabilidade de uma dispersão e é um dos fatores responsáveis pela interação da NP com compostos celulares. Quanto mais carregada, mais estável é a suspensão de NPs. O potencial Zeta da suspensão de NPs de TiBaO3 em meio DMEM teve uma média de -13mV, demonstrando uma possível instabilidade da suspensão. Valores maiores que 30 mV (em módulo) do material particulado, geralmente são considerados estáveis por repulsão eletrostática (JIANG, 2009). Essa instabilidade produz a formação de agregados de NPs, o que pode influenciar a interação das NPs com as células. As imagens obtidas por MEV evidenciaram a presença de agregados de NPs de BaTiO3 (Figura 1), que pode ser devido ao baixo valor modular do potencial Zeta. Por meio da Figura 1, é possível observar que as NPs têm tamanho próximo de 100nm.

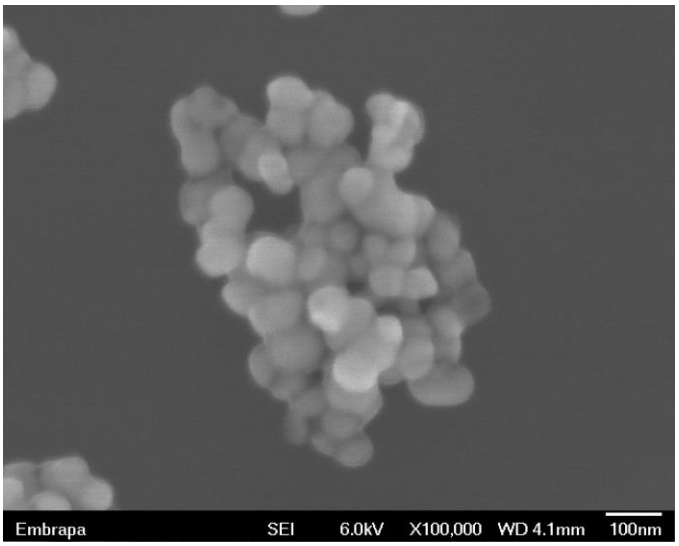


Figura 1. Agregado de NPs de BaTiO3 observados através de microscopia eletrônica de varredura.

3.2 Avaliação da citocompatibilidade

A viabilidade celular foi avaliada utilizando-se o teste de MTT. Os resultados demonstraram que as NPs não diminuíram a proliferação celular quando comparado ao grupo controle (P<0,05). Porém, a concentração de 10ug/mL estimulou a proliferação celular (P>0,05) quando comparado ao grupo controle. Esse resultado corrobora com trabalhos anteriores que demostraram que em altas concentrações de NPs, a proliferação celular aumenta (POPOV et al., 2016; SUN et al., 2016). Por outro lado, observou-se que a proliferação não foi alterada nas concentrações de 50 e 100ug/mL. Isso provavelmente ocorreu, pois nas concentrações de 50 e 100ug/mL pode ter ocorrido um aumento na formação de agregados de NPs, diminuindo a disponibilidade de partículas livres para interação com as células. No entanto, outros estudos são necessários para avaliar os mecanismos pelos quais as NP de TiBaO3, em determinadas concentrações, estimulam a proliferação de fibroblastos bovinos.

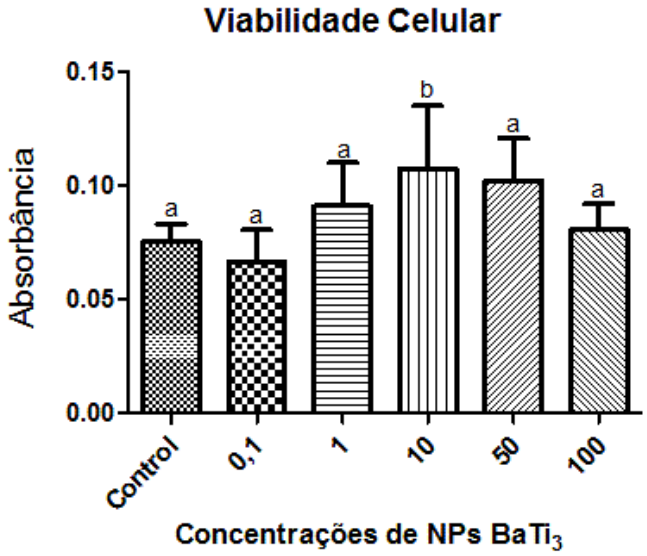


Figura 2. Análise da viabilidade celular de fibroblastos bovinos expostos à NPs de BaTiO3 por MTT. Médias de células viáveis após exposição às concentrações de 0 (controle); 0,1-100 μg ml^{-1} de NPs de BaTiO3 por 24 horas.

4 CONCLUSÃO

Nas condições experimentais deste estudo, as NPs de TiBaO3 apresentaram insstabilidade em suspensão, com a presença de agregados. Porém, não causaram efeitos tóxicos nas células de fibroblastos bovinos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço às empresas de fomento à pesquisa: FAPEMIG, CAPES, CNPq, REDE AGRONANO e EMBRAPA.

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, v. 102, n. 7, p. 2089-2095, 2014.

CIOFANI, G. et al. Effects of barium titanate nanoparticles on proliferation and differentiation of rat mesenchymal stem cells. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, v. 102, p. 312-320, 2013.

FARROKHTAKIN, E. et al. Barium titanate core-gold shell nanoparticles for hyperthermia treatments. International Journal of Nanomedicine, v. 8, p. 2319-2331, 2013.

JIANG, J.; OBERDÖRSTER; G.; BISWAS, P. Characterization of size, surface charge, and agglomeration state of nanoparticle dispersions for toxicological studies. Journal of Nanoparticle Research, v. 11, n. 1, p. 77-89, 2009.

MARINO A. et al. Piezoelectric nanoparticle-assisted wireless neuronal stimulation. ACS Nano, v. 9, n. 7, p. 7678-7689, 2015.

POPOV, A. L. et al. Cerium oxide nanoparticles stimulate proliferation of primary mouse embryonic fibroblasts in vitro. Materials Science and Engineering C, v. 68, p. 406-413, 2016.

SUN, QINGQING; KANEHIRA, KOKI; TANIGUCHI, AKIYOSHI. Low doses of TiO2-polyethylene glycol nanoparticles stimulate proliferation of hepatocyte cells. Science and Technology of advanced MaTerialS, v. 17, n. 1, p. 669-676, 2016.

VANCE, M.E. et al. Nanotechnology in the real world: Redeveloping the nanomaterial consumer products inventory. *Beilstein Journal of Nanotechnology*, v. 6, p. 1769-1780, 2015.

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO NANOMATERIAL HIBRIDO TIO_2@MWCNT EM EMBRI

Gabriela H. Silva[a,b,c*], Zaira Clemente[b,c], Francine Coa[a,c], Lais L. R. Neto[c], Hudson W. P. Carvalho[a], Latif U. Khan[c], Vera L. Castro[b], Diego S. T. Martinez[a,c], Regina T. R. Monteiro[a]

a. Centro de Energia Nuclear na Agricultura, USP, Piracicaba, SP, Brazil
b. Laboratorio de Ecotoxicologia e Segurança, Embrapa Meio Ambiente, Jaguariuna, SP, Brazil
c. Laboratório Nacional de Nanotecnologia, CNPEM, Campinas, SP, Brazil
**ghsilva@cena.sp.br*

Classificação: classifique em relação ao tema de maior aderência.

Resumo
A aplicação do nanomaterial hibrido de TiO_2 e CNT vem crescendo consideravelmente, isso principalmente devido a sua alta eficiência fotocatalítica, no entanto, ainda não existem estudos que abordem a toxicidade deste material. Portanto, esse estudo tem o objetivo de comparar e avaliar a toxicidade no nano-hibrido TiO_2@MWCNT e das nanopartículas de TiO_2 em diferentes condições de exposição (com e sem luz UV). A síntese do nanomaterial hibrido foi feita através da moagem de TiO_2 e MWCNT comercial. A caracterização foi feita através de TEM, MEV e DLS. Para a avaliação toxicológica foram utilizados ensaios de toxicidade com embrião de *Danio rerio*, os parâmetros analisados foram, mortalidade, taxa de eclosão, tamanho da larva, tamanho do saco vitelínico e tamanho do sarcômero. Adicionalmente, foi avaliado a internalização do nanomaterial nas larvas através da espectroscopia de micro fluorescência de raios-x. Não foi observado toxicidade aguda e efeitos subletais para a exposição de 100 mg L^{-1} de TiO_2@MWCNT. No entanto, para as nanopartículas de TiO_2 foram observados efeitos subletais significativos para a taxa de eclosão, tamanho das larvas e tamanho do saco vitelínico. Também foi observada a ingestão das partículas de TiO_2 e TiO_2@MWCNT pelas larvas.
Palavras-chave: TiO_2, nanotubos de carbono, nanomaterial hibrido, toxicidade, zebrafish.

TOXICITY EVALUATION OF TIO_2@MWCNT HYBRID NANOMATERIAL IN ZEBRAFISH EMBRYOS

Abstract
The applications of TiO_2 and carbon nanotubes (CNT) hybrids have been grown considerably, due to their enhanced photocatalytic efficiency, however, to our knowledge, there are no reports available in literature to the scientific community about their toxicity. Therefore, this study aims to compare the toxicity of TiO_2 nanoparticles and TiO_2-MWCNT composites under different exposure conditions (with and without UV light exposure). The hybrid nanomaterial was synthesized by milling commercial TiO_2 and MWCNT. The Characterization were performed by TEM, MEV, TGA and DLS. The toxicity assay was performed with *Danio rerio* embryos, the parameters assessed were acute toxicity, hatching rate, growth, yolk sac size, and sarcomere length. In addition, μ-probe X-ray fluorescence spectroscopy was employed to observe if nanoparticles are being uptaken by zebrafish larvae. Neither TiO_2 nanoparticles nor TiO_2-MWCNT composites present acute toxicity to the embryos and larvae of zebrafish until 100 mg L^{-1}. Moreover, only TiO_2 nanoparticles present sublethal effects (with and without UV light exposure) on *D. rerio* embryos. Nevertheless, μ-XRF showed that the larvae were ingesting the TiO_2 nanoparticles and the composites.
Keywords: TiO_2, carbon nanotubes, hybrid nanomaterials, toxicity, zebrafish.

1 INTRODUÇÃO

Hoje, uma das áreas da ciência que mais vem se desenvolvendo é a nanotecnologia. Esta tecnologia está trazendo benefícios para vários setores, como alimentos, eletrônicos, farmacêuticos, biotecnológicos, cosméticos, agrícolas, etc. (LIN; WANG; YU, 2017). Dentro da nanotecnologia os

estudos e a síntese de nanomateriais híbridos vem crescendo. Isso pois a junção de dois nanomateriais pode aumentar a funcionalidade e inclusive gerar multifuncionalidades. Estudos nesta área indicam que a combinação de TiO_2 com nanotubos de carbono (CNT) permite uma maior foto-sensibilidade e melhora a eficiência fotocatalítica, podendo inclusive estender a absorção para faixa de luz visível, aumentando significativamente a eficiência fotocatalítica do material. Além disso, espera-se que, com o aumento da área de superfície, haja um aumento na quantidade de poluentes adsorvidos e, portanto, na atividade fotocatalític a(LING et al., 2016).

De fato, a associação entre MWCNT e TiO_2 tem se mostrado promissor na degradação de vários poluentes, como corante de corante de laranja (DA DALT; ALVES; BERGMANN, 2013), anilina (SILVA; FARIA, 2010), azul de metileno (CHEN; ZHANG; OH, 2008), rodamina B (KRISSANASAERANEE et al., 2010). Esses estudos indicam a importância do desenvolvimento dessa tecnologia na descontaminação ambiental.

Devido à importância destas novas tecnologias, a produção deste nanohíbrido tem sido cada vez mais encorajada, mas preocupações quanto a sua toxicidade e segurança quando liberas no meio ambiente vem crescendo. Embora existam vários estudos que destacam os benefícios do uso de TiO_2@MWCNT, ainda não há publicações que abordem sua toxicidade. Uma vez que a toxicidade pode aumentar em proporção direta com o aumento da fotoreatividade (LI et al., 2014), é importante estudar a toxicidade e os efeitos das partículas reativas e foto-reativas para controle e proteção da saúde humana e do meio ambiente. Portanto, este estudo tem como objetivo investigar a fotoreatividade e toxicidade das nanopartículas TiO_2@MWNTC em embriões de zebrafish.

2 MATERIAL E MÉTODOS

As nanopartículas de TiO_2 (Aeroxide - P25) foram adquiridas da Degussa Evonik e são constituídas de 20% de rutilo e 80% de anatase. Os nanotubos de carbono de parede múltipla (MWCNT) foram adquiridos da CNT Co. Ltd.

Inicialmente foi feita a oxidação do MWCNT de acordo com CÔA et al (2017). O MWCNT foi revestido com TiO_2 através de moagem manual por 15 min, duas amostras de TiO_2@MWCNT com diferentes proporções foram obtidas (10:3, 10:1). A caracterização foi feita através de microscopia eletrônica de varredura (SEM-FEG FEI Inspect F50) e transmissão (JEOL JEM 2100F TEM-FEG). O tamanho hidrodinâmico, a carga superficial (potencial zeta, ZP) e o índice de polidispersividade (PdI) das partículas nas suspensões foram avaliados através de espalhamento dinâmico de luz (DLS) usando um instrumento Zetasizer Nano ZS90 (Malvern Instruments, Reino Unido).

A eficiência fotocatalítica foi estudada através da degradação do corante índigo blue em duas condições de iluminação, luz normal e luz ultravioleta (UV). A luz normal foi fornecida a partir de lâmpadas fluorescentes padrão (Phillips, 40 W) e a irradiação UV foi fornecida usando lâmpadas QW-Panel® de 40W UVA340, ambos posicionados a 80 cm acima da superfície da exposição à água. A dose de exposição UV no ensaio foi de 1,45 J/cm^2/h (97% de UVA e 0,06% de UVB), o mesmo usado por (CLEMENTE et al., 2014).

Para os ensaios de toxicidade embriões *D. rerio* foram obtidos no laboratório nacional de Biociências (LNBio). Embriões com 1 hora pós-fertilização (24 organismos por grupo) foram expostos por 96 h a 100, 130 e 110 mgL^{-1} de TiO_2, TiO_2@MWCNT 10:3 e 10:1, respectivamente. Os embriões foram mantidos individualmente em volumes de 2 mL da suspensão por 96 h, em ciclo leve de 16/8 h (luz / escuro), 28 ± 1 °C. Foram utilizadas duas condições de iluminação (Luz normal e UV). Os parâmetros analisados foram mortalidade, taxa de eclosão, tamanho da larva e tamanho do saco vitelínico. Adicionalmente, foi avaliado a internalização do nanomaterial nas larvas. Neste sentido a distribuição espacial 2D do Ti foi investigada por microscopia de fluorescência de raios X empregando um equipamento de bancada Orbis PC, EDAX.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As imagens MEV e TEM mostram morfologias similares entre as duas amostras de TiO_2@MWCNT (10:1 e 10:3) e é possível observar a interação do TiO_2 com o MWCNT. A distribuição homogênea de TiO_2 no MWCNT tem um papel importante na atividade fotocatalítica, embora a distribuição de TiO_2 não seja homogênea, foi possível observar que o TiO_2 foi carregado na superfície do MWCNT (Figura 1).

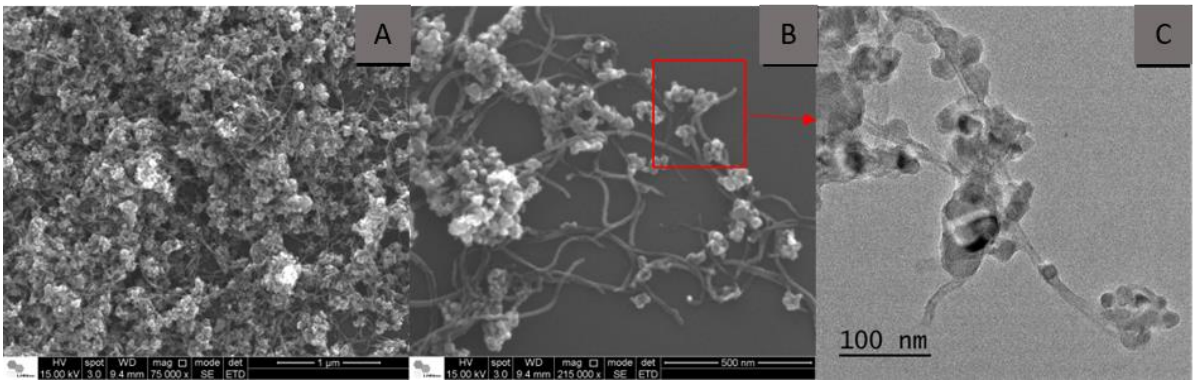


Figura 1. Imagens de MEV: (A) TiO_2@MWCNT (10:1), (B) TiO_2@MWCNT (10:3). Imagens de TEM: (C) TiO2:MWCNT (10:1).

Os resultados de estabilidade coloidal mostram que as amostras tendem a agregar e precipitar ao longo do tempo, este comportamento foi demonstrado pelas medidas DLS. A diluição das partículas na água reconstituída aumentou substancialmente o diâmetro hidrodinâmico de todas as partículas para um intervalo de 2-3 μm.

A toxicidade dos materiais fotorreativos foi claramente demonstrada em vários estudos. MA et al. (2012) estudou a toxicidade de nanopartículas de TiO_2 após a fotoativação e observou um aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e conseqüentemente um aumento na toxicidade, o mesmo foi encontrado por (LI et al., 2014). Portanto, a atividade fotocatalítica dos nanomateriais é um parâmetro importante para a toxicidade dos nanomateriais fotoativos. Em nosso estudo o composto TiO_2@MWCNT foi mais eficiente para a degradação do corante que o TiO_2, para ambas condições de luz ($p < 0,001$). Além disso, a exposição UV foi mais eficiente na degradação do corante para todas as partículas estudadas ($p < 0,001$).

Através dos resultados de toxicidade foi observado que não houve mortalidade em nenhum grupo e no final das 96 horas, todos os embriões eclodiram. No entanto, a taxa de eclosão das larvas variou entre os grupos ($p = 0,0134$) no segundo dia de exposição. Adicionalmente, o comprimento total das larvas foi significantemente menor para a exposição a TiO_2 em comparação ao grupo controle ($p < 0,001$), com redução de 7,8% em seu comprimento. Após 5 dias de exposição, também observamos diferença significativa no tamanho do saco vitelino para TiO_2 quando comparado com o controle ($p = 0,0002$ para exposição à luz UV e $p = 0,0001$ para exposição normal à luz).

Para observar se as nanopartículas estavam sendo ingeridas/absorvidas pelas larvas foi utilizado a espectroscopia de fluorescência de raios X. A absorção de Ti foi encontrada em todos os três tratamentos (TiO_2, 10:1 e 10:3). É importante ressaltar que o Ti foi observado na região do trato digestivo das larvas assim parece que nenhuma quantidade apreciável de Ti foi absorvida pelo intestino e transportada para outros tecidos (Figura 2).

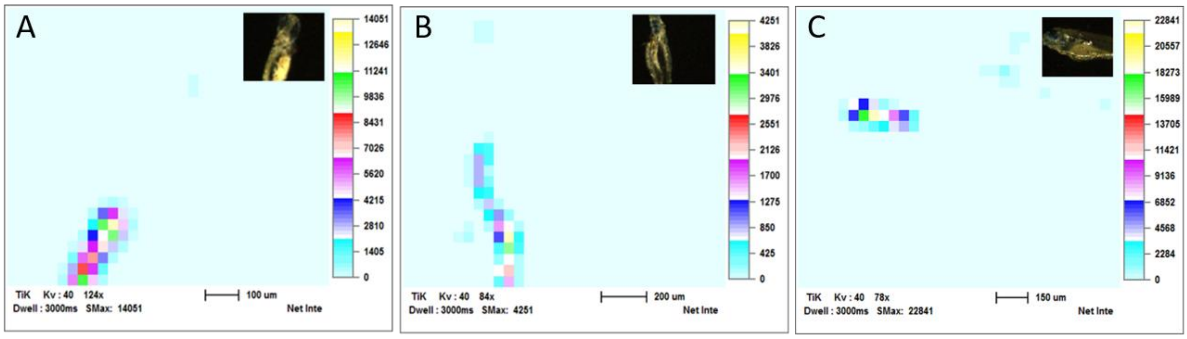


Figura 2. Distribuição de Ti nas larvas de zebrafish expostas por 96 horas a 100, 130 e 110 mg L^{-1} de TiO_2, TiO_2@MWCNT (10:3), TiO_2@MWCNT (10:1), respectivamente. (A) TiO_2; (B) TiO_2@MWCNT (10: 3); (D) TiO_2@MWCNT (10:1).

4 CONCLUSÃO

Tanto as nanoparticulas de TiO_2 quanto o hibrido TiO_2@MWNTC apresentam toxicidade aguda para os embriões e as larvas de zebrafish. Apenas o TiO_2 apresentou efeitos subletais (com e sem exposição à luz UV). Portanto, assumir que a alta fotoatividade das partículas pode causar um maior efeito de toxicidade pode levar a falsas predições sobre a toxicidade. No entanto, foi possível observar através de μXRF, que as larvas estavam ingerindo o TiO_2 e TiO_2@MWCNT, portanto, é possível que mesmo o hibrido apresentando baixa toxicidade possa bioacumular, resultando em impactos negativos a longo prazo no ecossistema e, eventualmente, a saúde humana.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq pelo apoio financeiro, a FAPESP 2015 / 19121-8, ao Instituto Nacional de Fotônica Aplicada à Biologia Celular (INFABIC), a Rede Brasileira de Nanotoxicologia (Cigenanotox) e INCT-Inomat. Os autores também agradecem as instalações abertas do CNPEM (LME, LMG, LAM e LMN) pelo o apoio à pesquisa.

REFERÊNCIAS

CHEN, M. L.; ZHANG, F. J.; OH, W. C. Photocatalytic degradation of methylene blue by CNT/TiO2 composites prepared from MWCNT and titanium n-butoxide with benzene. **Journal of the Korean Ceramic Society**, v. 45, n. 11, p. 651–657, 30 nov. 2008. Disponível em: <http://koreascience.or.kr/journal/view.jsp?kj=SRMHB8&py=2008&vnc=v45n11&sp=651>. Acesso em: 23 nov. 2016.

CLEMENTE, Z.; CASTRO, V. L.; JONSSON, C. M.; FRACETO, L. F. Minimal levels of ultraviolet light enhance the toxicity of TiO2 nanoparticles to two representative organisms of aquatic systems. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 16, n. 8, p. 2559, 25 ago. 2014. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s11051-014-2559-z>.

CÔA, F.; STRAUSS, M.; CLEMENTE, Z.; RODRIGUES NETO, L. L.; LOPES, J. R.; ALENCAR, R. S.; SOUZA FILHO, A. G.; ALVES, O. L.; CASTRO, V. L. S. S.; BARBIERI, E.; MARTINEZ, D. S. T. Coating carbon nanotubes with humic acid using an eco-friendly mechanochemical method: Application for Cu(II) ions removal from water and aquatic ecotoxicity. **Science of The Total Environment**, v. 607–608, p. 1479–1486, dez. 2017. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969717317485>.

DA DALT, S.; ALVES, A. K.; BERGMANN, C. P. Photocatalytic degradation of methyl orange dye in water solutions in the presence of MWCNT/TiO2 composites. **Materials Research Bulletin**, v. 48, n. 5, p. 1845–1850, maio 2013. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002554081300041X>.

KRISSANASAERANEE, M.; WONGKASEMJIT, S.; CHEETHAM, A. K.; EDER, D. Complex carbon nanotube-inorganic hybrid materials as next-generation photocatalysts. **Chemical Physics Letters**, v. 496, n. 1, p. 133–138, 2010.

LI, S.; WALLIS, L. K.; MA, H.; DIAMOND, S. a. Phototoxicity of TiO2 nanoparticles to a freshwater benthic amphipod: Are benthic systems at risk? **Science of the Total Environment**, v. 466–467, p. 800–808, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.07.059>.

LIN, S.; WANG, H.; YU, T. A promising trend for nano-EHS research — Integrating fate and transport analysis with safety assessment using model organisms. **NanoImpact**, v. 7, p. 1–6, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.impact.2016.09.007>.

LING, L.; WANG, C.; NI, M.; SHANG, C. Enhanced photocatalytic activity of TiO2/single-walled carbon nanotube (SWCNT) composites under UV-A irradiation. **Separation and Purification Technology**, v. 169, p. 273–278, 2016.

MA, H.; BRENNAN, A.; DIAMOND, S. A. Phototoxicity of TiO2 nanoparticles under solar radiation to two aquatic species: Daphnia magna and Japanese medaka. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 31, n. 7, p. 1621–1629, jul. 2012. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1002/etc.1858>. Acesso em: 20 out. 2016.

SILVA, C. G.; FARIA, J. L. Photocatalytic oxidation of phenolic compounds by using a carbon nanotube-titanium dioxide composite catalyst. **ChemSusChem**, v. 3, n. 5, p. 609–618, 2010.

COMPARAÇÃO DE MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE CLOXACILINA BENZATINA NANOESTRUTURADA.

***FONSECA, A.M.T.[1]; LOURES, M.D.A[2]; MOSQUEIRA, V.C.F. [1]; ARAUJO, W. C.[2]; GERN, J.C.[2]; PINTO, D.S.C.[2];ANDRADE, P.D.[2]; REIGOSA, I.F.[1]; GUIMARÃES, A.S. [2]; VARAGO, F. C.[3]; BRANDÃO, H.M.[1,2]**

[1]Universidade Federal de Ouro Preto; [2]Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG; fosenure@hotmail.com

Classificação: Avaliação de Segurança de Nanoprodutos

Resumo

A ceratoconjuntivite bovina infecciosa (CIB), que possui a *Moraxella bovis* como principal agente etiológico, é uma doença altamente contagiosa, responsável por causar grandes prejuízos econômicos, causando ulcerações que podem evoluir para cegueira. Existem diversas formas de tratamento para a CIB, porém a antibioticoterapia é eletiva em função da simplicidade e eficácia. Atualmente estão disponíveis formulações farmacêuticas de uso tópico e parenteral, cada qual com sua vantagem. No que tange a via tópica, apesar de gerar menor resíduo de fármaco no leite ou na carne, apresenta como limitação a necessidade de múltiplas aplicações. Para contornar esta limitação foi desenvolvida uma formulação farmacêutica contendo cloxacilina em nanopartículas mucoadesivas de uso tópico, a qual até o momento não apresentou desenvolvimento de métodos analíticos para estudos de segurança. Neste contexto, serão apresentados os resultados parciais do desenvolvimento de um método analítico quantitativo em plasma bovino, pela técnica de UPLC-MS/MS. Para isso foi realizada a caracterização do material particulado, a identificação da cloxacilina e a realização do teste de supressão iônica.

Palavras-chave: Ceratoconjuntivite infecciosa, cloxacilina, nanopartícula mucoadesiva, UPLC-MS/MS, plasma

COMPARISON OF NANOESTRUTURED CLOXACILLIN BENZATINE EXTRACTION METHODS

Abstract

Infectious bovine keratoconjunctivitis (IBK), which has *Moraxella bovis* as the main etiological agent, is a highly contagious disease, responsible for causing great economic losses, causing ulcerations that can progress to blindness. There are several forms of treatment for IBK, but antibiotic therapy is elective due to its simplicity and effectiveness. Pharmaceutical formulations for topical and parenteral use are currently available, each to their advantage. Regarding the topical route, in spite of generating less drug residue in milk or meat, it presents as a limitation the need for multiple applications. To solve this limitation, a pharmaceutical formulation containing cloxacillin in mucoadhesive nanoparticles of topical administration was developed, which until now has not presented development of analytical methods for safety studies. In this context, the partial results of the development of a quantitative analytical method in bovine plasma will be presented by the UPLC-MS/MS technique. For this purpose, the characterization of the particulate material, the identification of cloxacillin and the performance of the ion suppression test were performed.

Keywords: Infectious bovine keratoconjunctivitis, cloxacillin, mucoadhesive nanoparticles, UPLC-MS/MS, plasma.

1 INTRODUÇÃO

A ceratoconjuntivite infeciosa bovina (CIB), cuja o agente etiológico é a *Moraxella bovis*, é uma patologia ocular altamente contagiosa que afeta a bovicultura mundialmente (O'CONNOR et al., 2007). Clinicamente se manifesta por úlcerações oculares e perdas econômicas significativas devido ao período de carência do antibiótico usado durante o tratamento, perda de peso do animal e queda da produção (FUNK et al., 2009).

Atualmente estão disponíveis no mercado formulações farmacêuticas de diversas vias de administração, cada qual com sua particularidade (ALEXANDER, 2010), porém a via tópica destaca-se por apresentar um período de carência pequeno e uma melhora clínica rápida de casos agudos (DAIGNEAULT, GEORGE, e BAGGOT, 1990). Entretanto, a manutenção da concentração terapêutica do fármaco por períodos prolongados é dependente do número de aplicações, demandando, assim, múltiplas aplicações do mesmo.

Para contornar esse problema foi proposto o uso de uma formulação nanoparticulada muco-adesiva de cloxacilina, visando minimizar o número de aplicações e consequentemente melhorar a fármacoterapia. Neste contexto, serão apresentados os resultados parciais do desenvolvimento de um método analítico quantitativo em plasma bovino, pela técnica de UPLC-MS/MS.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O plasma bovino foi coletado de animais previamente acompanhados para assegurar ausência de antibiótico. A formulação contendo nanocáspulas mucoadesivas de Cloxacilina, foi preparada pela técnica de precipitação interfacial produzidas com os polímeros em PCL e quitosana, seguindo metodologia previamente descrita por Mosqueira e colaboradores (2011).

Após preparo da formulação, realizou-se sua caracterização por espalhamento de luz, avaliando-se distribuição de tamanho das nanopartículas em um Zetasier® e por microscopia de força atômica NanoSurf®. A análises espectrométricas foram realizadas em um UPLC-MS/MS TQSmicro (Waters), com coluna rpBEH-C18. Para desenvolver o método analítico variaram-se os parâmetros espectrométricos e cromatográficos, visando obter os íons precursores e filhos de cloxacilina e da amoxicilina (padrão interno). Parâmetros do espectrômetro em modo negativo; t° de dessolvatação 450°C; voltagem de capilar e cone respectivamente em 3Kv e 20V; e fluxo de gás de 810 L/min. As condições cromatográficas determinadas para identificar a Cloxacilina foram: fluxo da fase móvel 0,3 mL/min; t° da coluna 40 ^{o}C; fases móveis A: H_2O a 0,1 % de ác. fórmico e B: Metanol; corrida em modo gradiente sendo do tempo de 0 a 3min 50% de A e 50% de B enquanto que de 3,01 min a 4min 1% de A e 99% de B; 4.01 min a 5,00 min 50% de A 50% de B. Comparou-se a extração do fármaco na matriz plasma, utilizando dois solventes distintos sendo eles, metanol e acetonitrila, pela a técnica de Extração-líquido-líquido em conjunto com uma etapa de precipitação de proteínas (clean-up). Por fim, avaliou-se o efeito matriz do plasma bovino, através do teste de Supressão iônica.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após o preparo da formulação, determinou-se o tamanho médio das partículas e potencial Zeta, apresentando distribuição de tamanho que variaram entre 342 nm a 450 nm, e potencial Zeta de 21,53 mV em pH 5,8. Os resultados de tamanho foram confirmados por AFM, no qual as nanocápsulas apresentaram formato esférico e tamanho variando entre 280 e 600 nm, corroborando com os resultados de tamanho encontrados no DLS.

A cloxacilina foi monitorada por MRM o íon precursor encontrado em 434,8 m/z, com fragmentos de 390,1 m/z quando se utilizou uma energia de colisão de 8,0 V e 293,1 m/z quando se utilizou uma energia de colisão de 12,0 V (figura 1). Já para a amoxicilina, o íon precursor encontrado foi de 364,1 m/z e seus fragmentos foram de massa 223,0 m/z quando se utilizou uma energia de colisão de 9,0 V e de 206,0 m/z quando se utilizou uma energia de colisão de 16,0 V.

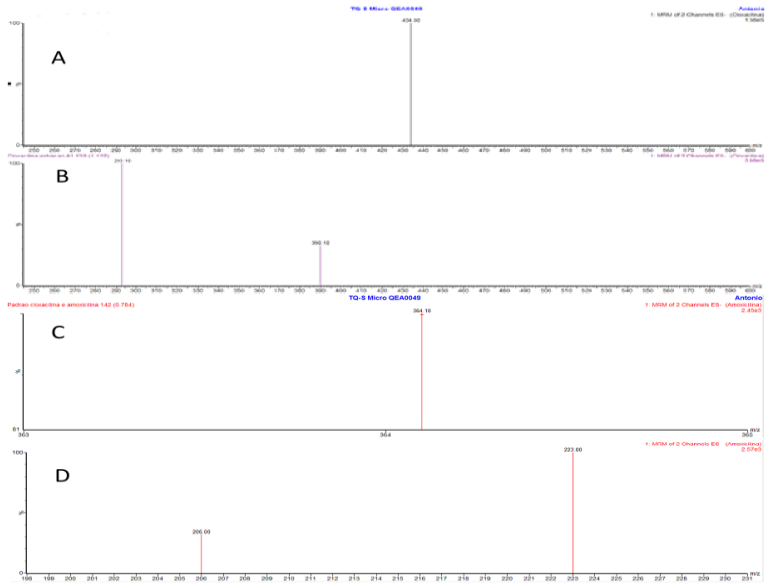


FIGURA 1: Íon precursor e fragmentos de cloxacilina (A e B) e amoxacilina (C e D).

Identificou-se para a cloxacilina tempo de retenção de 2,01 minuto (Figura 2) e para a amoxicilina 0,76 min (figura 3).

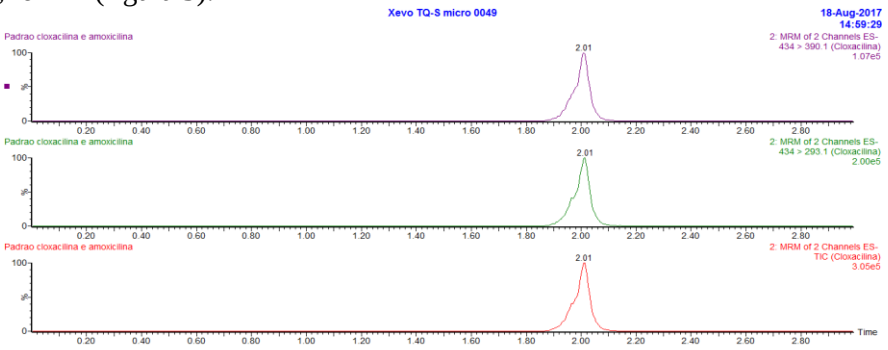


FIGURA 2: Perfil cromatográfico da Cloxacilina em cada um dos fragmentos monitorados

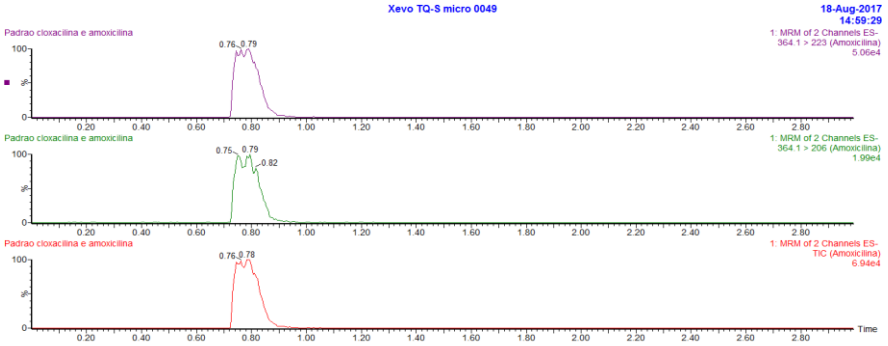


FIGURA 3: Perfil cromatográfico da Amoxicilina em cada um dos fragmentos monitorados

Considerando a relação sinal/ruído, o processo de extração em acetronitrila (49670) apresentou-se mostrou-se potencialmente mais sensível are a extração em metanol (5599). Contudo, mostrou-se menos constante (SD=62652) que a extração em metanol (SD=199,4).

Para avaliar se o plasma exerce algum efeito matriz sobre o analito ou sebre o padrão interno foi realizado o teste de supressão iônica conforme figura 4. Neste, pode-se observar que no método cromatográfico desenvolvido, componentes do plasma não interferiram na detecção da cloxacilina. Por sua vez, a amoxicilina caiu dentro de uma região de supressão de interferentes plasmáticos.

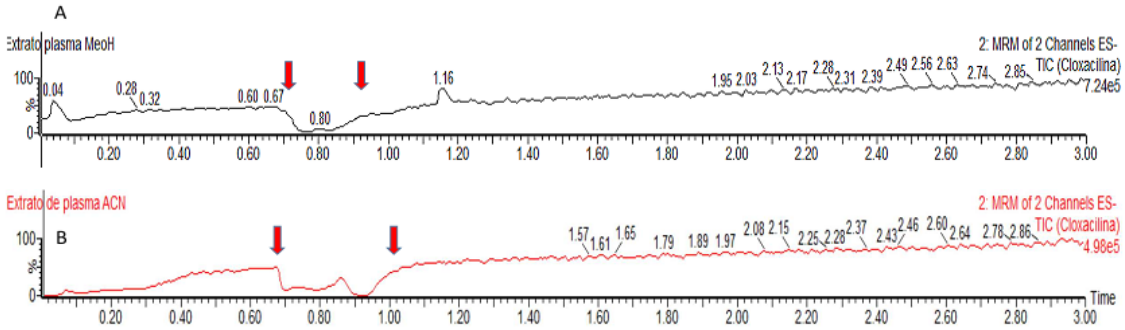


FIGURA 4: Teste de supressão iônica de extrato de plasma bovino realizado com metanol (A) e acetonitrila (B) com e cloxacilina e amoxacilina. Espaço entre setas vermelhas representam a áreas de supressão.

4 CONCLUSÃO

Pelo método proposto conseguiu-se identificar a clocaxilina, apresentando ion precursor de 434 m/z e fragmentos de 390 e 293 m/z. Por sua vez, o processo de extração da cloxacilina do plasma bovino com auxílio de metanol mostrou-se mais eficiente em relação ao efeito matriz e à reprodutibilidade de sinal. Adicionalmente, a amoxicilina não pode ser utilizada como padrão interno neste método analítico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos os colaboradores da empresa Embrapa Gado de Leite e às empresas de fomento: FAPEMIG, CAPES, CNPq, REDE AGRONANO e EMBRAPA

REFERÊNCIAS

ALEXANDER, D. Infectious bovine keratoconjunctivitis: a review of cases in clinical practice. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 26, n.3, p.487-503, 2010.

DAIGNEAULT, J.; *et al*. Ocular and serum disposition kinetics of cloxacillin after topical administration of benzathine cloxacillin and intravenous administration of sodium cloxacillin to calves. **Am J Vet Res.,** v. 51, n. 3, p. 381-5, 1990.

FUNK, L.; *et al* A randomized and blinded field trial to assess the efficacy of an autogenous vaccine to prevent naturally occurring infectious bovine keratoconjunctivis (IBK) in beef calves. **Vaccine,** v. 27, n.34, p. 4585–4590, 2009.

ITO, Y.; *et al* Application of ion-exchange cartridge clean-up in food analysis IV. Confirmatory assay of benzylpenicillin, phenoxymethylpenicillin, oxacillin, cloxacillin, nafcillin and dicloxacillin in bovine tissues by liquid chromatography–electrospray ionization tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 991, p. 217-223, 2001.

MOSQUEIRA, V. *et al*. **Nanoparticulate composition containing antibiotics for intramammary administration in animals.** 2011, Brasil. Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: WO2011150481A1, 2011.

O'CONNOR, A. M.; *et al.* A review of randomized clinical trials reporting antiobiotic treatment of infectious bovine keratoconjunctivitis in cattles. **Animal Health Research Reviews**, v. 7, n. 2, p. 119-127, 2007.

MICROSCOPIA DE DESFOCALIZAÇÃO COMO UMA FERRAMENTA DE ESTUDO DE PROPRIEDADES MORFOLÓGICAS E MECÂNICAS DE ERITRÓCITOS

Paula M. S. Roma[1], Luiza C. Mourão[2], Marcelo P. Bemquerer[3], Erika M. Braga[2], Ubirajara Agero[1]

[1]Departamento de Física, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Minas Gerais, [2]Departamento de Parasitologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, [3]Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia) paulamagda@ufmg.br

Classificação: Avaliação de Segurança de Nanoprodutos

Resumo

A microscopia de desfocalização (MD) é uma ferramenta de microscopia óptica que tem sido empregada com sucesso para a avaliação de parâmetros morfológicos, químicos e mecânicos de objetos transparentes como os eritrócitos. Nesse sentido, já foi demonstrado, por meio dessa técnica, que proteínas de citoesqueleto de eritrócitos como a actina, as espectrinas e a proteína transmembranal banda 3 (um transportador do tipo antiporte de cloreto e bicarbonato) são possíveis alvos de tais anticorpos. Resultados de MD evidenciaram que a adição de IgG anti-banda 3 e também de anticorpos presentes em plasmas de pacientes com malária causada por *Plasmodium vivax* promoveram uma diminuição significativa da amplitude média de flutuações, em nanoescala, em altura (u*rms*) de membranas de eritrócitos. A redução de amplitude foi mais pronunciada em indivíduos anêmicos com malária quando comparados a pacientes não anêmicos. Deste modo, a microscopia de desfocalização é uma ferramenta diagnóstica de alterações morfológicas e mecânicas de eritrócitos, que pode ser empregada em investigação de efeitos de nanoestruturas sobre eritrócitos, podendo contribuir para a avaliação de segurança de nanoprodutos.

Palavras-chave: Microscopia de desfocalização; Flutuações nanométricas de membrana; Eritrócitos; Malária; Nanotoxicidade.

DEFOCUSING MICROSCOPY AS A TOOL TO INVESTIGATE THE MORPHOLOGY AND MEMBRANE FLUCTUATIONS OF RED-BLOOD CELLS

Abstract

Defocusing microscopy (DM) is an optical microscopy tool that furnish morphological and mechanical parameters of transparent objects (pure phase objects) like the red-blood cell. Proteins imbibed in and associated to red-blood cell membrane has been investigating as targets for IgG antibodies present in patients with malaria. Immunoproteomic data revealed that cytoskeletal proteins such as spectrin and actin, and the transmembrane chloride/bicarbonate anion exchanger protein (band 3) are possible targets of those antibodies. DM results showed that both anti-band 3 IgG and an anti-erythrocyte polyclonal antibody and antibodies present in the plasma of patients with malaria, either anemic or non-anemic, led to significant diminution of mean square intensity contrast fluctuation in the membrane. The reduction of membrane fluctuations was more pronounced for anemic patients than for those with malaria but non-anemic. Thus, one can use defocusing microscopy as a diagnostic tool for morphological and mechanical parameters of red-blood cells, including nanotoxicity studies.

Keywords: Defocusing microscopy; Nanoscale membrane fluctuations; Red-blood cells; Malaria; Nanotoxicity

Publicação relacionada: MOURÃO, L.C.; ROMA, P.M.S.; ABOOBACAR, J.S.S; MEDEIROS, C.M.P.; DE ALMEIDA, Z.B.; FONTES, C.J.F.; AGERO, U.; MESQUITA. O.N.; BEMQUERER, M.P.; BRAGA, E.M. Anti‑erythrocyte antibodies may contribute to anaemia in *Plasmodium vivax* malaria by decreasing red blood cell deformability and increasing erythrophagocytosis. Malaria Journal, v. 15, article number 397, agosto 2016.

1 INTRODUÇÃO

A microscopia de desfocalização é uma técnica de obtenção e análise de imagem que pode ser aplicada para objetos transparentes. Eritrócitos são objetos bastante apropriados para a análise por microscopia de desfocalização, fornecendo parâmetros morfológicos como o aspecto tridimensional, volume e área superficial e parâmetros mecânicos como a amplitude média da flutuação de membrana. Eritrócitos humanos submetidos a osmolaridades diferentes tornam-se esféricos em meios hipotônicos, sendo que o grau de esfericidade diminui gradativamente com o aumento da osmolaridade. As flutuações de membrana que existem em uma escala manométrica são reduzidas em qualquer condição de estresse osmótico, seja por aumento ou por diminuição da quantidade de água na célula (ROMA et al., 2016). A associação entre a malária e a anemia é uma área importante de investigação, uma vez que modificações na membrana do eritrócito não infectado podem ocorrer devido à ligação de anticorpos IgG produzidos durante a infecção. Investigações de imunoproteômica podem revelar as proteínas que se ligam a esses anticorpos, após a separação proteica em eletroforese bidimensional e identificação por espectrometria de massa (MOURÃO et al., 2016). Em um estudo realizado com pacientes infectados por *Plasmodium vivax*, a principal espécie causadora de malária no Brasil, verificamos que imunoglobulinas G purificadas de pacientes promoveram uma diminuição na amplitude média de flutuação de membrana de eritrócitos de indivíduo sadio. A diminuição foi mais pronunciada para os plasmas de pacientes anêmicos quando comparados aos pacientes que não desenvolveram essa manifestação clínica (MOURÃO et al., 2016). Eritrócitos são ainda empregados como células modelo para o ensaio de toxicidade de nanoestruturas. Estudos na área de nanotoxicidade mostraram que grafeno e óxido de grafeno promovem hemólise com a liberação de hemoglobina. Ensaios clássicos de viabilidade celular por meio do monitoramento óptico da redução do brometo de metilthiazolildifenil-tetrazólio (MTT) não puderam ser conduzidos devido às propriedades redutoras do grafeno e do óxido de grafeno (LIAO et al., 2016). Deste modo, a microscopia de desfocalização constitui uma ferramenta física promissora para a investigação do efeito de nanoestruturas sobre os eritrócitos, permitindo a avaliação de diversos parâmetros morfológicos e mecânicos em células individuais.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Imunoproteômica

Para a focalização isoelétrica, 100 μg do extrato de proteínas de membrana de hemácias humanas não infectadas do tipo O+ foram dissolvidos em 125 μL de solução de reidratação (ureia a 8 $mol.L^{-1}$, tioureia a 2 $mol.L^{-1}$, detergente CHAPS a 4% em massa, azul de bromofenol a 0,0025 % em massa, ditiotreitol a 65 $mmol.L^{-1}$ e anfólitos Bio-Lyte 3-10 buffer BioRad 1X). As amostras foram incubadas, sob agitação, durante 30 minutos, à temperatura ambiente, e então centrifugadas, a 16.000 *g*, durante 30 minutos, a 22 ºC. A focalização isoelétrica consistiu nas seguintes etapas: 500 V por 30 minutos, 1.000 V por 30 minutos, 4.000 V por uma hora e 4.000 V até 16.000 V/hora. Após a focalização isoelétrica, as proteínas foram submetidas à eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE). A migração das proteínas foi realizada em um sistema do tipo Mini-Protean II (BioRad, Hercules, CA, EUA), a 50 V, por 30 minutos, e a 100 V até o final da corrida. Os géis foram transferidos para uma membrana de PVDF (Immun-Blot TM PVDF Membrane for Protein Blotting, 0,2 μm, BioRad), em tampão Tris a 25 $mmol.L^{-1}$, glicina 0,2 $mol.L^{-1}$, metanol 20% v/v, pH 8,5), por 2 h a 100 V. Os géis foram tratados com anticorpos de pacientes com malária, anêmicos e não anêmicos por 12 h, a 4 ºC, sob agitação. Após o tratamento com um anticorpo secundário conjugado à peroxidase, a revelação das membranas foi feita utilizando-se 2 mL de *Immobilon TM Western Chemiluminescent HRP Substrate* (Millipore-Merck, Bilerica, MA, EUA). Procedida a análise de imagens, a digestão tripsínica das bandas proteicas correspondentes às proteínas reconhecidas pelos soros dos pacientes foi conduzida em uma solução contendo ACN (10% v/v) e NH_4HCO_3 40 $mol.L^{-1}$, pH 8,0, durante 17 h a 37 ºC. Os peptídeos obtidos foram identificados por sequenciamento de aminoácidos por espectrometria de massa (MALDI-ToF MS/MS, Autoflex, Bilerica, MA, EUA).

2.2. Microscopia de desfocalização

Os experimentos de microscopia de desfocalização foram conduzidos em um microscópio invertido modelo Nikon Eclipse TI, contendo um filtro que permitia a passagem de luz com comprimento de onda maior que 610 nm (NA 1.3, Nikon, Tokyo, Japan) e uma câmara ambiental (Chamlide ICCU:109, Live Instrument, Nowangu, Coreia do Sul), mantida a 37 °C. As imagens das hemácias foram capturadas com uma câmera CMOS (CMOS, Silicon Video® 642M, Epix), utilizando-se uma taxa de captura fixada em 300 *frames* por segundo, durante 10 segundos. A distância focal foi controlada pelo equipamento *Nikon Perfect Focus System* (Nikon, Tokyo, Japan). Para o experimento, um volume de 0,5 µL de sangue fresco, retirado de indivíduo não anêmico e que não contraiu malária, foi ressuspendido em 1,0 mL de tampão fosfato a pH 7,4, contendo NaCl a 150 mmol.L^{-1}) e albumina de soro bovino 1,0 mg.mL^{-1}. Esta solução tem um índice de refração de 1,333 ± 0,001 e representa uma solução isotônica. A deposição dos eritrócitos no porta-amostras do microscópio foi conduzida a 37°C por 15 minutos. Então, imagens individuais de eritrócitos (dez células) foram registradas por 10 s. Imunoglobulinas G de plasmas de pacientes com malária, anêmicos e não anêmicos foram enriquecidos por cromatografia de afinidade (HiTrap™ Protein Column, GE Healthcare, Wauwatosa, WI, EUA). Foi ainda utilizado um anticorpo policlonal anti-hemácia [IgG *Anti human red blood cell (RBC) antibody* ABIN238043; antibodies online.com], cujo imunógeno consiste em hemácias humanas lavadas. Um anticorpo obtido contra um peptídeo sintético derivado da proteína transmembranal banda 3 foi obtido comercialmente. Um anticorpo que se liga a um antígeno de bacteriófago foi utilizado como controle negativo. Os anticorpos foram incubados com a suspensão de eritrócitos durante 30 minutos a 37 °C. A mesma célula foi analisada individualmente no microscópio invertido durante 10 s. A análise de dados foi conduzida com o programa computacional ImageJ *Plugins*, que forneceu os valores de flutuação quadrática média, antes e após a adição dos anticorpos. Medidas de flutuação de altura da membrana plasmática foram conduzidas a partir da equação que descreve a flutuação de contraste de intensidade quadrática média (ROMA *et al*., 2016).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de imunoproteômica evidenciaram que os plasmas de pacientes com malária, anêmicos ou não anêmicos, reconheceram um número maior de proteínas na membrana do eritrócito quando comparados aos anticorpos de indivíduos controle, sem malária. Determinadas proteínas foram reconhecidas exclusivamente pelos anticorpos dos indivíduos com malária, tais como anquirina, dematina, proteína banda 7 e proteína 4.2. Verificou-se, ainda, que grande parte das bandas detectadas nos grupos com malária corresponderam às proteínas de citoesqueleto espectrina e actina (principalmente a beta), e à proteína transmemembranal denominada de banda 3. A banda 3 é uma proteína presente na membrana do eritrócito que atua como catalisador de um transporte do tipo antiporte dos íons cloreto e bicarbonato. A banda 3 possui quatorze hélices que atravessam a membrana e regiões de ligação de anticorpos (REITHMEIER et al., 2016). A evidência de que os anticorpos anti-banda 3 estavam aumentados nos plasmas de pacientes anêmicos, aliada ao fato de que essas imunoglobulinas têm sido associadas à remoção de hemácias senescentes em diferentes estudos (LUTZ et al., 2012), levou-nos a utilizar um anticorpo monoclonal comercial anti-banda 3 nos ensaios de microscopia de desfocalização. Utilizamos, ainda, um anticorpo policlonal comercial anti-hemácia e os soros de pacientes anêmicos e não anêmicos. Diferenças significativas foram ainda observadas quando comparamos as amplitudes médias das flutuações nanométricas (u*rms*) das superfícies das hemácias antes e após a adição de anticorpos anti-banda 3 e anti-hemácia (Figura 1). Houve uma redução na u*rms* após a adição do anticorpo IgG anti-banda-3 (u*rms* antes: 21,33 ± 3,75 *versus* u*rms* depois: 18,54 ± 2,27; p = 0,0103), o que também ocorreu em relação à adição do anticorpo IgG anti-hemácia (u*rms* antes: 18,80 ± 2,12 *versus* u*rms* depois: 11,39 ± 4,71; p = 0,0078). A adição de anticorpos purificados do plasma de pacientes não anêmicos e de pacientes anêmicos promoveu uma redução da flutuação de 11% (u*rms* de 25,50 ± 3,35 para 22,66 ± 2,80 nm; p = 0,0331) e de 21% (u*rms* de 24,01 ± 5,16 para 18,95 ± 7,34 nm; p = 0,0007), respectivamente. Em contrapartida, os anticorpos inespecíficos não causaram mudanças significativas nos parâmetros morfológicos e mecânicos dos eritrócitos.

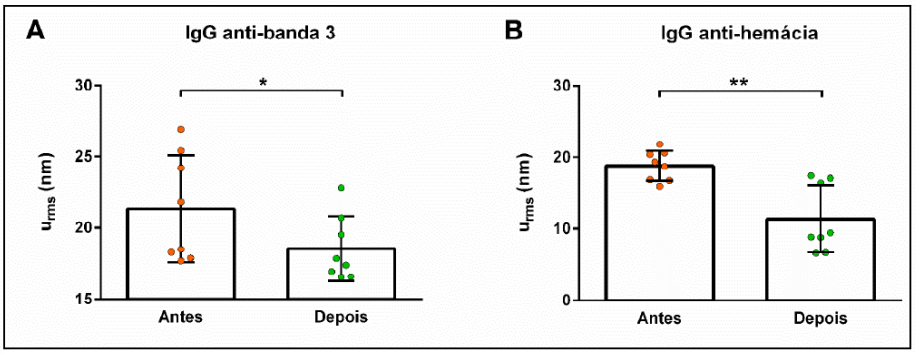


Figura 1. Avaliação dos efeitos dos anticorpos anti-banda 3 e anti-hemácia sobre a amplitude média de flutuações (u*rms*) de membranas de eritrócitos. Os valores representam média e desvio padrão de medidas de oito células. p*= 0,0103, p**= 0,0078

4 CONCLUSÃO

Os resultados de imunoproteômica e de microscopia de desfocalização convergem para sugerir que a proteína banda 3 possa ser um dos alvos de anticorpos nos plasmas de pacientes com malária, sendo que ambas as metodologias sugerem efeitos mais pronunciados em indivíduos anêmicos quando comparados com o grupo de pacientes anêmicos. O efeito dos anticorpos sobre o transporte antiporte de cloreto e bicarbonato no eritrócito está sendo investigado. Os resultados evidenciam que a microscopia de desfocalização é uma ferramenta de diagnóstico de alterações celulares, que pode também ser empregada para a avaliação do efeito de nanoestruturas sobre objetos transparentes como os eritrócitos.

AGRADECIMENTOS

Embrapa, Capes, CNPq, FAPEMIG.

REFERÊNCIAS

LIAO, K.H et al. Cytotoxicity of graphene oxide and graphene in human erythrocytes and skin fibroblasts. ACS Applied Materials and Interfaces, v. 3, n. 7, pp. 2607-2615, 2011.

LUTZ, H.U. Naturally occurring anti-band 3 antibodies in clearance of senescent and oxidatively stressed human red blood cells. Transfusion Medicine and Hemotherapy, v.39, n. 5, p.321-327, 2012.

MOURÃO, L.C. et al. Anti‑erythrocyte antibodies may contribute to anaemia in *Plasmodium vivax* malaria by decreasing red blood cell deformability and increasing erythrophagocytosis. Malaria Journal, v. 15, article number 397, 2016.

REITHMEIER, R.A.F. et al. Band 3, the human red cell chloride/bicarbonate anion exchanger (AE1, SLC4A1), in a structural context. Biochimica et Biophysica Acta, v. 1858, n. 7, pp. 1507-1532, 2016

ROMA, P.M.S. et al. Profiling of individual human red blood cells under osmotic stress using defocusing microscopy. Journal of Biomedical Optics, v. 21, n. 9, article number 090505, 2016.

CAPÍTULO 10

Avaliação da percepção do consumidor em relação à nanotecnologia

PERCEPÇÃO DO CONSUMIDOR EM RELAÇÃO À NANOTECNOLOGIA – RESULTADOS PRELIMINARES

Gonçalves [1], R.A.S.; Lima[1], M. F.; Oliveira[2], D. C. R.; Deliza[3], R.

[1]Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, RJ, rapha.ale@gmail.com; mayaralima1990@yahoo.com.br
[2]Bolsista PDJ/CNPq-Embrapa Agroindústria de Alimentos, RJ, denize.cris@hotmail.com
[3]Embrapa Agroindústria de Alimentos, RJ, rosires.deliza@embrapa.br

Classificação: Avaliação da percepção do consumidor em relação à nanotecnologia.

Resumo
O objetivo deste estudo foi investigar a percepção do consumidor em relação à nanotecnologia utilizando a metodologia de Associação de Palavras. Participaram do estudo 510 indivíduos, os quais anotaram as quatro primeiras palavras/ideias/pensamentos que vêm à mente quando pensam em nanotecnologia, as possíveis aplicações e em quais alimentos seu uso seria interessante. Foi calculada a frequência de menção das frases/palavras e aquelas com significado similar foram agrupadas em categorias. Nanotecnologia foi principalmente associada a pequeno, tecnologia, futuro, ciência, inovação e desconhecimento. As principais aplicações citadas foram medicina, alimento, saúde e informática. Em alimentos, frutas, carnes e legumes foram os mais mencionados. Apesar da elevada expectativa do consumo e da intenção de compra de nanoalimentos, grande parte dos consumidores apresentaram dúvidas sobre o assunto. Tais resultados são úteis na elaboração de estratégias para a popularização da nanotecnologia.
Palavras-chave: Nanotecnologia; Associação de palavras; Alimento.

CONSUMER PERCEPTION OF NANOTECHNOLOGY – PRELIMINARY RESULTS

Abstract
The aim of the study was to investigate consumer perception regarding nanotechnology using the Word Association methodology. 510 individuals participated in the study. They were asked to write down the first four words/thoughts/ideas that come to mind when thinking about nanotechnology, the possible applications, and in which foods the use would be interesting. The frequency of mention of sentences/words was calculated and those with similar meanings were grouped into categories. Nanotechnology was mainly associated with small, technology, future, science, innovation and lack of knowledge. The main applications cited were medicine, food, health and computing. The fruits, meats and vegetables were the most mentioned applications in foods. Despite the high expectation of consumption and the intention to purchase of nanofoods, a large number of consumers expressed doubts about the subject. These results are useful in developing strategies for the popularization of nanotechnology.
Keywords: Nanotechnology; Word Association; Food.

1 INTRODUÇÃO

A nanotecnologia é a manipulação da matéria em escala nanométrica, ou seja, a produção de partículas de pequena escala, da ordem de nanômetros. Um nanômetro (1 nm) é igual a milhares de micros, milionésimos de milímetro, ou bilionésimos de metro (10^{-9} metros) (BOCCUNI et al., 2008). O principal diferencial na escala nanométrica é a potencialização das propriedades físicas e químicas resultante de uma área superficial elevada, maior grau de dispersão e funcionalidade, características relacionadas com o tamanho da estrutura e que possibilitam o uso em concentrações extremamente reduzidas.

A nanociência pode atuar em distintas disciplinas, como: física, química, biologia, materiais, informação, entre outras. Trata-se de uma tecnologia inter e multidisciplinar e, portanto, diversas áreas se beneficiam do seu desenvolvimento, tal como: energia, transportes, medicina, têxtil, comunicações,

alimentos, agricultura (ABDI, 2010; HANDFORD et al., 2014). Segundo Joseph e Morrison (2006), o termo nanoalimentos é usado para se referir ao alimento que é cultivado, produzido, processado ou embalado usando ferramentas de nanotecnologia, ou teve nanomateriais adicionado a ele.

É amplamente aceito que a nanotecnologia irá afetar profundamente a vida das pessoas nos próximos anos. Apesar do enorme potencial econômico, estudos indicam que o conhecimento público da nanotecnologia ainda é baixo (COBB; MACOUBRIE, 2004). Evidências mostram que alguns consumidores tem receio em relação aos novos alimentos e tecnologias (RONTELTAP et al., 2007, BIEBERSTEIN et al., 2012). Para aumentar a aceitação de alimentos obtidos por tecnologias não-convencionais faz-se necessário o investimento em programas de informação e educação dos consumidores, para reduzir os possíveis "medos" e evitar o fracasso da inovação no mercado (CHEN et al., 2011; FREWER et al., 2014)

Segundo Siegrist et al. (2007) é muito provável que a percepção pública da nanotecnologia será crucial para a realização dos avanços tecnológicos, uma vez que existe a preocupação ambiental e com a saúde sobre o impacto e as implicações futuras da nanotecnologia. Nesse sentido, a metodologia *word association* (associação de palavras) é bastante útil para investigar a atitude frente à nanotecnologia, uma vez que este é um dos métodos qualitativos mais utilizados na identificação de conceitos, percepção e/ou atitudes dos consumidores. (HOVARDAS & KORFIATIS, 2006; ROSS, 2003).

O objetivo deste trabalho foi investigar a percepção do consumidor brasileiro em relação à nanotecnologia e aplicações.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Participantes

A pesquisa foi realizada em junho e julho de 2017, na cidade do Rio de Janeiro. Os participantes foram recrutados aleatoriamente em áreas comerciais, campus universitário e comércio local. Participaram do estudo 510 indivíduos (18 - 78 anos, ambos os sexos, 59% mulheres).

2.2 Coleta de dados

Os participantes receberam uma folha de papel com as instruções. A percepção do consumidor em relação à nanotecnologia e aplicações foi explorada usando abordagens qualitativas direta e indireta por meio de três questões e quantitativa, investigando a intenção de compra e de ingestão de produtos obtidos a partir dessa tecnologia. A abordagem indireta compreendeu a metodologia denominada *word association* (Associação de palavras), na qual foi solicitado que os participantes anotassem espontaneamente as quatro primeiras palavras, sensações ou termos que vêm à cabeça quando pensam em nanotecnologia. A abordagem direta compreendeu duas questões com o objetivo de explorar aspectos relacionados ao uso da tecnologia, ou seja, foi solicitado que apontassem quatro possíveis usos dessa tecnologia e em quais alimentos sua aplicação seria interessante. Cada indivíduo respondeu as questões no seu ritmo sob a supervisão de um pesquisador para garantir que todas as perguntas fossem respondidas. A intenção de compra de alimentos fabricados com nanotecnologia e a opinião em relação a ingeri-los foi avaliada utilizando escalas de 9 pontos, onde 1: certamente não compraria/sou totalmente contra e 9: certamente compraria/sou totalmente a favor. Dados sociodemográficos também foram coletados.

2.3 Análise dos dados

Todas as respostas válidas dos participantes foram consideradas na análise de dados. Foram calculadas a frequência de menção das frases/palavras, e aquelas com significado similar foram agrupadas em categorias e dimensões. Neste caso, deve-se considerar que diferentes palavras podem provir de um ou mais participantes (GUERRERO et al., 2010; SCHMITT, 1998). Por esta razão, a frequência relativa de menção de categorias/dimensões pode ser superior a 100%. A classificação foi realizada por triangulação (GUERRERO et al., 2010) através da interpretação e consenso de três pesquisadoras habituadas com esse tipo de análise de dados. As categorias foram combinadas em diferentes dimensões utilizando procedimento similar e aquelas mencionadas por pelo menos 5% dos participantes foram incluídas nas análises subsequentes.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Um total de 1858 termos diferentes foram mencionados quando os consumidores foram solicitados a escrever as quatro primeiras palavras, sensações ou termos que vêm à cabeça quando pensam em nanotecnologia, tendo sido principalmente associados a pequeno (n=113), tecnologia (n=97), futuro (n=83) e ciência (n=54). O termo foi ligado também à inovação e ao desenvolvimento, além de ser identificado como um avanço e desconhecido por parte dos consumidores (Figura 1). As palavras foram agrupadas em 84 categorias e 52 dimensões. No entanto, somente 24 categorias e 14 dimensões foram mencionadas por mais de 5% dos participantes. As principais categorias foram pequeno (n=214), tecnologia (n=172), inovação (n=106), futuro (n= 93) e desconhecimento (n=80). Dentre as dimensões foram P&D&I (Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação, n=418), pequeno (n=348), tecnologia (n= 280) e alimentos (n=94).

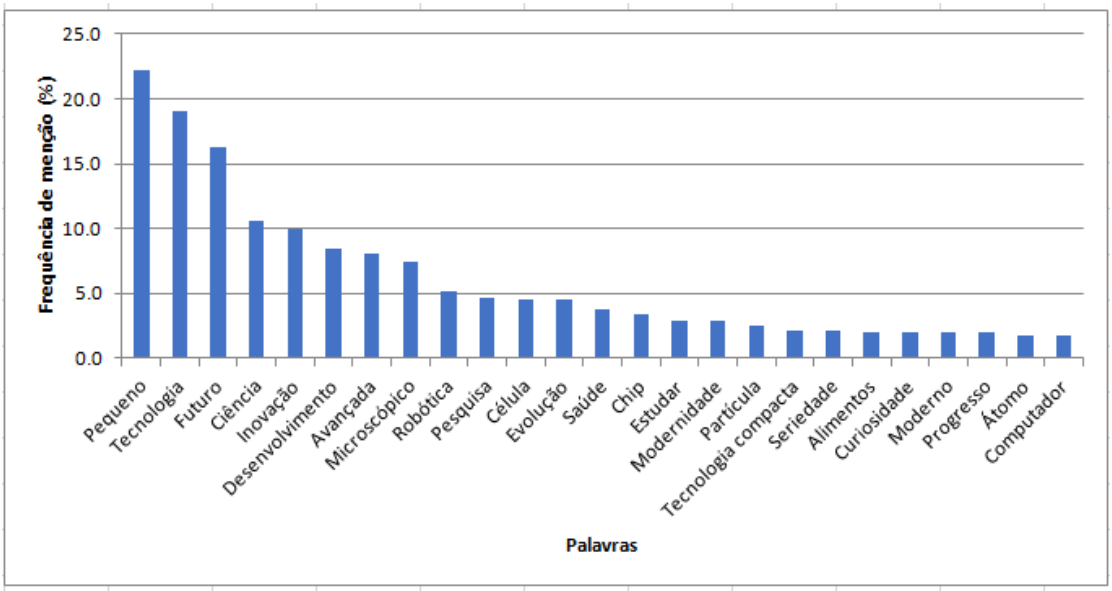


Figura 1. As 25 palavras mais citadas pelos participantes quando perguntados sobre as quatro primeiras palavras, sensações ou termos que vêm à cabeça quando pensam em nanotecnologia.

Em relação às possíveis aplicações da nanotecnologia, foram identificados 1692 termos diferentes e as palavras mais citadas foram medicina (n=100), alimento (n=79), saúde (n=44) e informática (n=32). Já os alimentos mais mencionados para o uso desta tecnologia foram frutas (n=60), carnes (n=49) e legumes (n=36).

Quando questionados sobre a possibilidade de ingerir alimentos elaborados ou que contenham ingredientes obtidos a partir da nanotecnologia, 44% dos consumidores foram a favor (atribuíram nota 6, 7, 8 ou 9 na escala de 9 pontos utilizada); no entanto, 43% responderam “talvez sim, talvez não” (nota 5 da escala). O mesmo ocorreu em relação à intenção de compra de nanoalimentos, onde 44% relataram que comprariam e 43% que “talvez comprasse, talvez não”. Apesar da atitude positiva dos consumidores em relação aos produtos obtidos por meio desta tecnologia, uma parcela significativa demonstrou ter dúvidas, o que sugere que a compreensão da tecnologia não está clara para os consumidores, os quais necessitam de mais informação para a tomada de decisão.

4 CONCLUSÃO

A metodologia *word association* foi útil para investigar a percepção do consumidor em relação à nanotecnologia, a qual revelou que esta tecnologia foi muito associada ao pequeno tamanho, tecnologia e futuro. No entanto, notou-se grande desconhecimento dos participantes sobre ela, que pode impactar de maneira significativa na aquisição de produtos. Nesse sentido, investimento em marketing e desenvolvimento de políticas de apoio à nanotecnologia aumentará a confiança da indústria de alimentos e do consumidor. Os resultados serão úteis para o planejamento de estudo quantitativo subsequente.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à EMBRAPA e ao CNPq pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

ABDI – Agência Brasileira de Desenvolvimento Industrial. Cartilha sobre Nanotecnologia. Brasília: MDCI; Campinas: UNICAMP, 60p., 2010. Disponível em: <http://www.abdi.com.br/Estudo/Cartilha%20nanotecnologia.pdf> Acesso em: 10 jun. 2017.

BIEBERSTEIN, A. et al. Consumer choices for nano-food and nano-packaging in France and Germany. European Review of Agricultural Economics, v. 40, n.1, p. 73–94, 2013.

BOCCUNI, F. et al. Potential occupational exposure to manufactured nanoparticles in Italy. Journal of Cleaner Production, v. 16, p. 949-956, 2008.

CHEN, H.; YADA, R. Nanotechnologies in agriculture: new tools for sustainable development. Trends in Food Science & Technology, v. 22, n. 11, 2011, p. 585 – 594, 2011.

COBB, M.; MACOUBRIE, J., Public attitudes toward nanotechnology: Risks, benefits and trust, Journal of Nanoparticle Research, vol. 6, n. 4, p. 395-405, 2004.

FREWER, L.J. et al. Consumer attitudes towards nanotechnologies applied to food production. Trends in Food Science & Technology, v. 40, p. 211-225, 2014.

GUERRERO, L. et al. Perception of traditional food products in six European regions using free word association. Food Quality and Preference, vol.21, p. 225–233, 2010.

HANDFORD, C. et al. Implications of nanotechnology for the agri-food industry: opportunities, benefits and risks. Trends in Food Science & Technology, v. 40, p. 226-241, 2014.

HOVARDAS, T.; KORFIATIS, K. J. Word associations as a tool for assessing conceptual change in science education. Learning and Instruction, vol.16, p.416–432, 2006.

JOSEPH, T.; MORRISON, M. Nanoforum report: nanotechnology in agriculture and food. Institute of Nanotechnology. 13p. abr, 2006. Disponível em: < ftp://ftp.cordis.europa.eu/pub/nanotechnology/docs/nanotechnology_in_agriculture_and_food.pdf> Acesso em: 15 jun. 2017.

RONTELTAP, A. et al. Consumer acceptance of technology based food innovations: lessons for the future of nutrigenomics. Appetite, v. 49, p. 1–17, 2007.

ROSS, T. P. The reliability of cluster and switch scores for the controlled oral word association test. Archives of Clinical Neuropsychology, vol.18, p.153–164, 2003.

SCHMITT, N. Quantifying word association responses: What is native-like? System, v. 26, p. 389–401, 1998.

SIEGRIST, M. et al. Public acceptance of nanotechnology foods and food packaging: the influence of affect and trust. Appetite, v. 49, p. 459-466, 2007.

DESENVOLVIMENTO DE UM OPACITÔMETRO NACIONAL EM SUBSTITUIÇÃO A PRODUTO IMPORTADO

Hideraldo De Filippo[1], Humberto de Mello Brandão[2], Juliana C. Gerne[2], José Mauro Granjeiro[3], Michele Munk[4], Alexandre Balbinot[1]

1. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica, UFRGS Porto Alegre, RS, Brasil.
2. Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, Brasil.
3. Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia, Duque de Caxias, RJ, Brasil.
4. Instituto de Ciências Biológicas, UFJF, Juiz de Fora, MG, Brasil.
Contato: hideraldodefilippo@gmail.com e alexandre.balbinot@ufrgs.br

Classificação: Avaliação da percepção do consumidor em relação à nanotecnologia. Instrumentação, Toxicologia in vitro.

Resumo
O teste de opacidade e permeabilidade em córnea bovina foi desenvolvido para minimizar o uso de animais de laboratório em testes de irritação ocular para novos dermocosméticos e substâncias químicas. Este teste é realizado em um opacitômetro com córneas bovinas coletadas em abatedouros. Por ser validado e internacionalmente reconhecido, será obrigatório a partir de 2019 para registro de produtos na ANVISA. O limitante deste teste são os elevados custos do opacitômetro importado e o grande número de resultados falsos pós/negativos para compostos de irritabilidade intermediária. Dentro da demanda do NanoReg-Brasil e Rede AgroNano, formou-se uma parceria (PPGEE/UFRGS, EMBRAPA, INMETRO e UFJF), para produzir um opacitômetro, mais barato, e com tecnologia 100% nacional.
Palavras-chave: BCOP; Opacitômetro; *Bovine Corneal Opacity and Permeability;* ensaios *in vitro*; Instrumentação.

DEVELOPMENT AN NATIONAL OPACITOMER FOR SUBSTITUTE IMPORTED PRODUCT

Abstract
The bovine corneal opacity and permeability test was developed to minimize the use of laboratory animals in ocular irritation tests for new cosmetics and chemical substances. This test is performed in an opacitometer with bovine corneas collected in slaughterhouses. For being validated and internationally recognized, it will be mandatory from 2019 to register products at ANVISA. The limitation of this test is the high costs of the imported opacitometer and the large number of false / negative results for intermediate irritability compounds. Within the NanoReg-Brasil and Rede Agronano demands, a partnership was formed (PPGEE / UFRGS, EMBRAPA, INMETRO and UFJF) to produce an opacitometer, cheaper and 100% national technology.
Keywords: BCOP; Opacitmeter; *Bovine Corneal Opacity and Permeability; in vitro* assay; Instrumentation.

1 INTRODUÇÃO

A realização de ensaios toxicológicos previamente ao uso, para novas moléculas e produtos, é essencial para garantir a segurança ocupacional, de consumidores e de animais que venham a fazer uso destas moléculas/produtos (doravante denominado agente), de modo que erros cometidos no passado sejam evitados (WAX, 1995; MACKLIS, 1990; BOTTING, 2002). Com isso, ensaios *in vivo* são mundialmente utilizados para tentar predizer os riscos de possíveis efeitos adversos frentes ao uso destes agentes pelo público-alvo. No entanto, a conscientização de que animais possuem sentimentos, e que os estudos toxicológicos *in vivo* podem provocar dor, ansiedade, medo, angústia e pânicos nos animais, estimulou nas últimas décadas o desenvolvimento de inúmeros métodos alternativos *in vitro* ou com tecidos *ex vivo* para minimizar o uso de animais em experimentos de toxicologia.

Especificamente o teste de opacidade e permeabilidade em córnea bovina, BCOP (do inglês, *Bovine Corneal Opacity and Permeability)* (GAUTHERON *et al*., 1992), foi desenvolvido para reduzir o uso de coelhos vivos utilizados no do teste de irritação ocular de Draize (método *in vivo*) [PRICE e ANDREWS, 1995]. Internacionalmente, este está normatizado pela OECD no documento GT 437, sendo aceito como padrão pelos agentes regulatórios tanto da União Europeia quanto dos Estados Unidos. No Brasil, em setembro de 2014, o CONCEA publicou o reconhecimento do teste de BCOP como método alternativo ao uso de animais em experimentação e, segundo a ANVISA este teste será obrigatório a partir de 2019 nos estudos da toxicidade (ou segurança) para pedidos de registro de medicamentos, cosméticos, produtos para saúde, produtos de limpeza entre outros produtos [BRASIL, 2015], conforme (RDC35/2015).

Quando comparado com estudos *in vivo*, o teste de BCOP é bastante eficiente na detecção que provocam irritação moderada ou severa. Contudo, possui limitações nos quadrantes não irritante ou irritação suave, sendo frequentemente alvos de resultados errôneos (VERSTRAELEN, et al., 2013; VAN GOETHEM et al., 2010**)**. Ou sejas, substâncias que se apresentam como pouco irritativas ou não irritativas nos testes, na realidade são de moderada a elevada irritabilidade. Além da limitação analítica do teste o custo de aquisição do Opacitômetro (EUR $ 13.500,00 mais taxas de importação) é outro fator que limita a adoção deste ensaio em maior escala por instituições de pesquisa e laboratórios comerciais brasileiros. Para o teste de opacidade existe um equipamento padrão no mercado denominado OP-KIT (DURATEC GmbH, Alemanha), baseado em luz branca halógena e um medidor de intensidade luminosa. Nos últimos anos, diversos trabalhos foram apresentados com o intuito de melhorar os resultados deste teste (VAN GOETHEM *et al*., 2010; VERSTRAELEN *et al*., 2013). Em função da necessidade de melhorar a acurácia deste teste e reduzir o preço do opacitômetro no mercado doméstico, de modo a favorecer sua adoção após a entrada em vigor da RDC35/2015. UFRGS, EMBRAPA Gado de Leite, INMETRO e UFJF se consorciaram para desenvolver um protótipo nacional de um opacitômetro e realizar estudos que ampliem o tempo de viabilidade pós coleta das córneas bovinas em abatedouro.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Seguindo a norma OECD 437 selecionou-se córneas bovinas imediatamente após o abate. Estas, foram montadas na câmara suporte e o mesmo preenchido com EMEM (Eagle's Minimum Essential Medium, sem vermelho de fenol), primeiramente na porção anterior da câmara e depois na parte posterior da câmara para que a córnea mantenha curvatura natural. Esta câmara suporte foi incubada em posição horizontal 32 ± 1°C, durante o período de 1 hora. Mediu-se então a Opacidade inicial com o uso do protótipo e em seguida a córnea foi exposta ao etanol nas concentrações (100%; 80%; 60% e EMEM puro) durante 10 minutos para simular substâncias com diferentes capacidades irritativas. Os ensaios foram realizados em triplicata e repetidos em três dias distintos.

Após os 10 minutos o etanol foi removido por enxágue e a câmara preenchida com EMEM e incubada a 32 ± 1°C por 2 horas ± 10 minutos. Por fim fez-se a medida de opacidade da mesma.

Para a medida de permeabilidade foi inserida na câmara suporte 1 mL de solução de Na-fluoresceína em DPBS (4 mg/mL) na parte anterior da câmara e esta foi incubada, na posição vertical com a parte anterior da câmara para cima a 32 ± 1°C, durante 90 ± 5 min.

Após o período de incubação realizou-se leitura do líquido da câmara anterior com o uso de um espectrofotômetro.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O ensaio de opacidade e permeabilidade da córnea bovina, BCOP, é composto por duas etapas. Na primeira, analisa-se a intensidade de opacidade induzida na córnea bovina (obtida em abatedouro) por um analito, para isso, faz-se mensurações da absorção da luz na córnea pré-exposição (translúcida) e pós exposição controlada ao analito. Na segunda etapa do teste é avaliada a permeabilidade da córnea, ou seja, a intensidade de corrosão ocorrida na córnea após a exposição ao analito. Para isso, utiliza-se a quantificação do fluorocroma no líquido da porção aceptora da câmara suporte. Após a medida da opacidade e da permeabilidade, através de uma fórmula aditiva do resultado dos dois testes, é obtido o índice de irritação *in vitro* (IVIS). A partir deste, dependendo do

valor obtido, a substância é classificada em diferentes níveis de irritação (OECD, 2013). A Tabela I apresenta o IVIS e sua classificação (OECD, 2013).

Tabela 1. Índice de irritação *in vitro*

IVIS OP-KIT	Classificação
≤ 3	Não irritante
3,1 – 25	Irritação suave
25,1 – 55	Irritação moderada
> 55	Irritação severa

Fonte: OECD 437 - *Bovine Corneal Opacity and Permeability Teste Method for Identifying*, 2013.

Para evitar desacordo com as normas internacionais, foram realizadas no protótipo em questão as mesmas análises que o equipamento OP-KIT. Contudo, consegue-se ganhos analíticos por melhorias no sistema óptico e pelo emprego concomitante análises eletroquímicas, ambas realizadas no próprio protótipo. Neste caso, a quantificação da permeabilidade da córnea é realizada *in loco*, tornando a medida mais rápida, vez que a mesma é paralelizada junto a medida da opacidade encurtando desta forma significativamente o tempo total de processos do teste, e a necessidade do uso de um segundo equipamento, no caso, espectrofotômetro. É importante salientar que a nova proposta para a medida de permeabilidade não exclui a análise anterior uma vez que a mesma não modifica a amostra utilizada. Em outras palavras, com o novo conceito empregado no protótipo, o usuário tem a opção de realizar a norma analítica de forma fidedigna e ainda ter um terceiro parâmetro analítico para melhorar a sensibilidade e o poder discriminatório do teste de BCOP. De uma forma geral, podemos dizer que em um futuro próximo o uso deste protótipo pode acrescentar maior confiabilidade e segurança ao teste de BCOP e, com isso aumentar a correlação dos resultados obtidos no teste de BCOP como os resultados de estudos in vivo. Adicionalmente, este será potencialmente um equipamento produzido no país, com custo bastante inferior ao equipamento comercial e com disponibilidade de manutenção nacional. Neste contexto, o teste de BCOP poderá ser adotado por um maior número de laboratórios, o que permitirá a validação do protótipo com ensaios interlaboratoriais e a correlação de resultados analíticos interequipamentos nos laboratórios que possuem o equipamento OP-KIT.

4 CONCLUSÃO

O protótipo conseguiu discriminar os quatro tratamentos de forma reprodutível nos ensaios intradia e interdia. Os resultados obtidos até o momento são animadores, entretanto, ainda será realizado um processo de validação seguindo normatização específica e será desafiado com outras substâncias. Além disso, ele será comparado com o equipamento OP-KIT em análises pareadas.

REFERÊNCIAS

Brasil, Resolução -RDC N° 35, de 7 de agosto de 2015 – ANVISA, que dispõe sobre a aceitação dos métodos alternativos de experimentação animal reconhecidos pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – CONCEA.

OECD., OECD Guidelines for Testing of Chemicals; Test Guideline 437; Bovine Corneal Opacity and Permeability Teste Method for Identifying, 2013.

VERSTRAELEN, S. et. al., Improvement of the Bovine Corneal Opacity and Permeability (BCOP) assay. Toxicology in Vitro v. 27. p. 1298-1311, 2013.

COOPER, K.J., et. al. Prediction of ocular irritancy of prototype shampoo formulations by isolated rabbit eye (IRE) test, and bovine corneal opacity and permeability (BCOP) assay. Toxicology in Vitro. Oxford. v. 15. p. 95-103, 2001.

PRICE, J.B.; ANDREWS, I.J. The in vitro assessment of eye irritancy using isolated eyes. Food and chemical toxicology. v. 23. p. 313-315, 1985.

WAX, P.M. Elixirs, diluents, and the passage of the 1938 Federal Food, Drugand Cosmetic Act. Annals of Internal Medicine. v. 122. p. 456-461, 1995.

MACKLIS, R.M. Radithor and the era of mild radium therapy. JAMA. v. 264. p. 2870, 1990.

BOTTING, J. The history of thalidomide. Drug News Perspectives. v. 15. p. 604-611, 2002.

GAUTHERON, P. et. al., Bovine corneal opacity and permeability test: an in vitro assay of ocular irritancy. Fund. Appl. Toxicol. 18 (3), 442–449, 1992.

VAN GOETHEM et. al., Development of a new opacitometer for the bovine corneal opacity and permeability (BCOP) assay. Toxicol. In Vitro 24 (6), 1854–1861, 2010.

Apoio: CNPq Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico; SisNANO; MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA, INOVAÇÕES E COMUNICAÇÕES; Metrohm Brasil; MERCK; pensabio A SERVIÇO DA VIDA; SCQUÍMICA SOLUÇÕES LABORATORIAIS; USIMAX USINAGEM DE GRANDE PORTE; Waters THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

Realização: Embrapa; MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO; BRASIL GOVERNO FEDERAL