



Rede

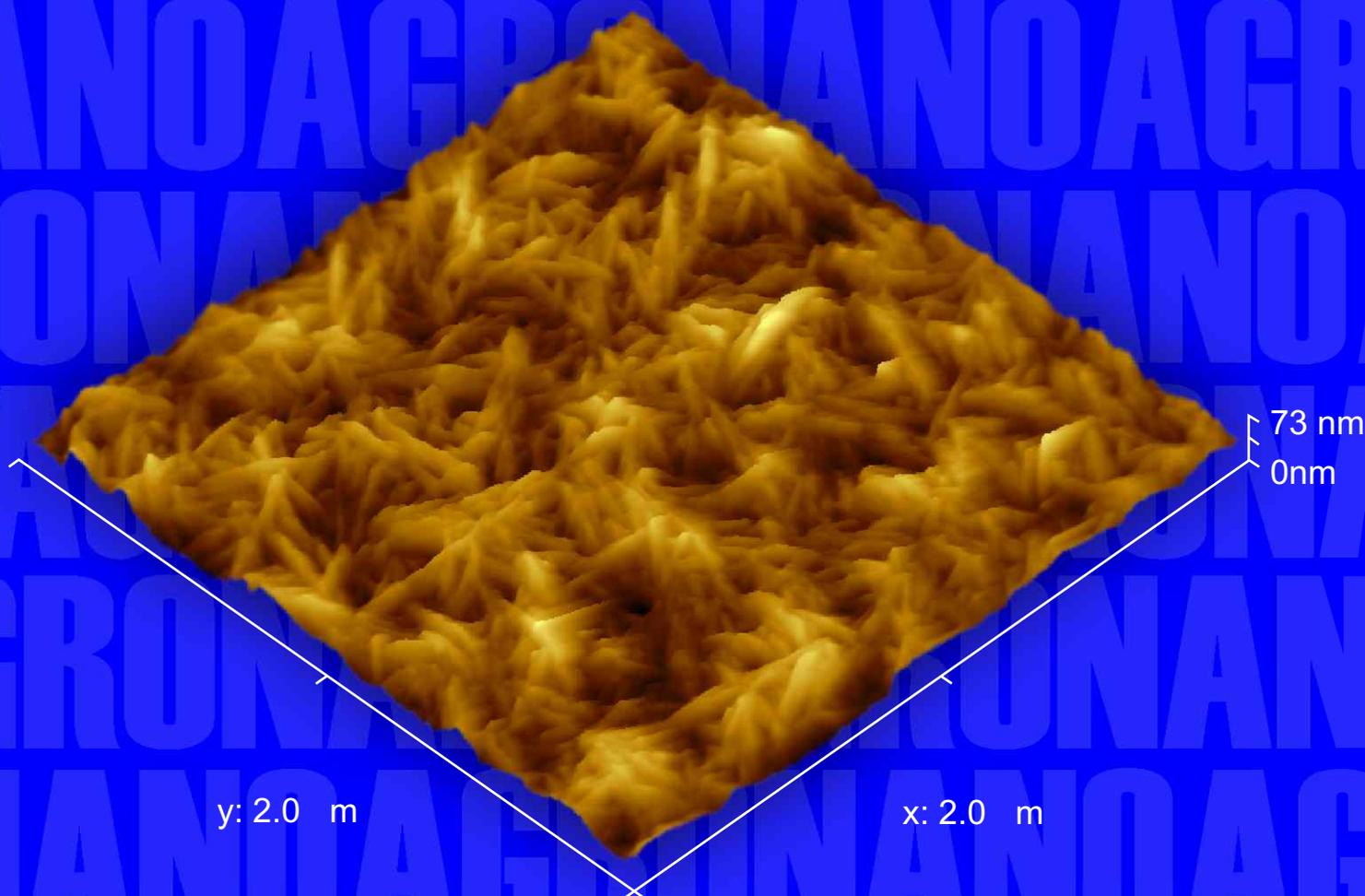
agro

Nano

# Rede de Nanotecnologia

## Aplicada ao Agronegócio

Anais do V Workshop 2009



**Editores**

**Odílio Benedito Garrido de Assis**

**Wilson Tadeu Lopes da Silva**

**Luiz Henrique Capparelli Mattoso**

**Embrapa**

*Instrumentação Agropecuária*



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

**Rede de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio  
Anais do V Workshop 2009**

Odílio Benedito Garrido de Assis  
Wilson Tadeu Lopes da Silva  
Luiz Henrique Capparelli Mattoso  
Editores

Embrapa Instrumentação Agropecuária  
São Carlos, SP  
2009

**Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:**

**Embrapa Instrumentação Agropecuária**

Rua XV de Novembro, 1452  
Caixa Postal 741  
CEP 13560-970 - São Carlos-SP  
Fone: (16) 2107 2800  
Fax: (16) 2107 2902  
<http://www.cnpdia.embrapa.br>  
E-mail: [sac@cnpdia.embrapa.br](mailto:sac@cnpdia.embrapa.br)

**Comitê de Publicações da Unidade**

Presidente: Dr. Luiz Henrique Capparelli Mattoso  
Membros: Dra. Débora Marcondes Bastos Pereira Milori,  
Dr. João de Mendonça Naime,  
Dr. Washington Luiz de Barros Melo  
Valéria de Fátima Cardoso  
Membro Suplente: Dr. Paulo Sérgio de Paula Herrmann Junior

Supervisor editorial: Dr. Victor Bertucci Neto  
Normalização bibliográfica: Valéria de Fátima Cardoso  
Capa: Manoela Campos e Valentim Monzane  
Imagem da Capa: Imagem de AFM de nanofibra de celulose - Rubens Bernardes Filho  
Editoração eletrônica: Manoela Campos e Valentim Monzane

**1ª edição**

1ª impressão (2009): tiragem 200

**Todos os direitos reservados.**

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

**CIP-Brasil. Catalogação-na-publicação.  
Embrapa Instrumentação Agropecuária**

---

Anais do V Workshop da rede de nanotecnologia aplicada ao  
agronegócio 2009 - São Carlos: Embrapa Instrumentação  
Agropecuária, 2009.

Irregular  
ISSN: 2175-8395

1. Nanotecnologia - Evento. I. Assis, Odílio Benedito Garrido de.  
II. Silva, Wilson Tadeu Lopes da. III. Mattoso, Luiz Henrique  
Capparelli. IV. Embrapa Instrumentação Agropecuária

# Editores

## **Odílio Benedito Garrido de Assis**

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

## **Wilson Tadeu Lopes da Silva**

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

## **Luiz Henrique Capparelli Mattoso**

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



***“Não despreze as pequenas coisas, um dia você pode perceber que elas eram as mais importantes...”***

*A rede AGRONANO agradece a todos os seus membros e em particular os que participaram do Workshop com apresentação de trabalhos. Agradecemos igualmente à Chefia Geral e Chefia Adjunta de Administração da Embrapa Instrumentação Agropecuária, ao gestor do Macroprograma 1, Dr. Jefferson Luis da Silva Costa e a equipe responsável pela confecção e elaboração deste volume, em especial: Valentim Monzane, Suzane Ellen Bertoni, Valéria de Fátima Cardoso, Manoela Campos e André Longhini.*



# Apresentação

Assim como nas demais áreas da ciência e do conhecimento, a nanotecnologia tem mostrado ser de extrema importância para a agricultura, pecuária e para o agronegócio de um modo geral. A nanotecnologia é atualmente um negócio mundial que movimentou mais de 100 bilhões de dólares e que atrai cada dia mais investimentos, devido ao seu enorme potencial de aplicação nos mais variados setores industriais. Segundo inventário recente apresentado pelo *Project on Emerging Nanotechnologies* ([www.nanotechproject.us](http://www.nanotechproject.us)) em 2008, 803 produtos com base em nanotecnologia já haviam registro ou eram comercializados, sendo destes, em torno de 80 relacionados à agricultura e a alimentos.

Não há dúvidas que no Brasil, o agronegócio é o segmento que maior espaço tem para competitividade, graças às suas características e oportunidades de questões vinculadas aos nossos recursos naturais, clima e agricultura tropical. Em especial a qualidade e certificação de produtos agrícolas, a biotecnologia, a agroenergia, o monitoramento ambiental, os novos usos de produtos agropecuários, a agricultura de precisão e a rastreabilidade, a indústria de insumos (fertilizantes, pesticidas), as inovações em medicamentos para uso veterinário e na conservação de alimentos e diversos outros setores vinculados à agroindústria serão inevitavelmente beneficiados pelos avanços da nanotecnologia.

A Rede de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio (AGRONANO), organizada e financiada pela Embrapa, se insere neste contexto e tem demonstrado, ao longo de sua curta existência, que com a união de competências e uma atuação multidisciplinar pode dar contribuições inestimáveis na área e proporcionar novas possibilidades para o desenvolvimento social e econômico, seja a curto ou a longo prazo.

Este 5º Workshop da Rede de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio, realizado na Embrapa Instrumentação Agropecuária, em São Carlos (SP), dá continuidade às atividades previstas em seu cronograma, e tem por objetivo agregar seus membros através da apresentação e discussão dos trabalhos técnicos financiados por esta rede.

A divulgação e disseminação dos resultados de pesquisa e das metodologias desenvolvidas são fundamentais para a manutenção e fortalecimento das cooperações, assim como se faz necessário o repasse de informações para a sociedade, seja para sua apropriação ou para a identificação de novas demandas.

Assim, desejamos a todos uma proveitosa jornada de trabalhos.





# SUMÁRIO

## CAPÍTULO 1

### MATERIAIS NANOESTRUTURADOS PARA O DESENVOLVIMENTO DE SENSORES E BIOSENSORES PARA O AGRONEGÓCIO

Organizador: João de Mendonça Naime

AValiação das potencialidades analíticas de eletrodo compósito GPU e eletrodo compósito CNTs/PU na determinação de genisteína .....	19
Aline Carlos de Oliveira, Carlos Manoel Pedro Vaz, Jonatas Gomes da Silva, Clarissa Silva Pires de Castro, Lúcia Helena Mascaro	
DESENVOLVIMENTO DE UM IMUNOSSENSOR PARA DETECÇÃO DE ANAPLASMOSE BOVINA .....	22
Andre Santiago Afonso, Ronaldo Censi Faria, Luiz Henrique Capparelli Mattoso	
APLICAÇÃO DA LÍNGUA ELETRÔNICA NA IDENTIFICAÇÃO DE GRÃOS DE SOJA .....	24
Camila Gregorut, Josemeyre Bonifácio da Silva, Nadja Karolina Leonel Wiziack, Leonardo Giordano Paterno, Mercedes Concórdia Carrão-Panizzi, Fernando Josepetti Fonseca	
EMPREGO DE UM SISTEMA DE LÍNGUA ELETRÔNICA E LÓGICA FUZZY NA ANÁLISE DE AMOSTRAS DE ÁGUA .....	26
Guilherme S. Braga, Leonardo G. Paterno e Fernando J. Fonseca	
FILMES AUTOMONTADOS DE PHMB/PEDOT:PSS PARA SENSORES ELETROQUÍMICOS DE PALADAR .....	29
Gustavo Figueira de Paula, Germano Inácio Netto, Luiz Henrique Capparelli Mattoso	
CARACTERIZAÇÃO DE UM ELETRODO DE PASTA DE CARBONO MODIFICADO COM PANI E POEA PARA DETERMINAÇÃO VOLTAMÉTRICA DE TOXINAS VEGETAIS .....	32
João Paulo Saraiva Morais, Wilson Tadeu Lopes da Silva, Fernanda Ramos de Andrade, Aline Carlos de Oliveira, Juliano Elvis de Oliveira, Viviane Grassi, Carlos Manoel Pedro Vaz, Luiz Henrique C. Mattoso	
PERFIL VOLTAMÉTRICO DE ELETRODOS DE PASTA DE CARBONO MODIFICADOS COM FILMES FINOS DE POLÍMEROS CONDUTORES .....	35
João Paulo Saraiva Morais, Wilson Tadeu Lopes da Silva, Fernanda Ramos de Andrade, Aline Carlos de Oliveira, Juliano Elvis de Oliveira, Viviane Grassi, Carlos Manoel Pedro Vaz, Luiz Henrique C. Mattoso	
DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS VOLTAMÉTRICOS PARA A DETERMINAÇÃO DE RUTINA E GENISTEÍNA EM GRÃOS E FOLHAS DE SOJA .....	37
Jonatas G. da Silva, Mariana R. L. e Silva, Aline C. de Oliveira, Maria Carolina B. Moraes, Luzia Helena C. Lima, Jurandir R. de Souza <sup>2</sup> , Lúcia Helena Mascaro, Carlos M. P. Vaz, Clarissa S. P. de Castro	
ANÁLISE SENSORIAL DESCRITIVA E POR SENSORES GUSTATIVOS ELETRÔNICOS (OU LÍNGUA ELETRÔNICA) EM CULTIVARES DE SOJA .....	40
Josemeyre Bonifácio da Silva, Mercedes Concórdia Carrão Panizzi, Fernando Josepetti Fonseca, Sandra Helena Prudêncio	
BIOSENSORES ENZIMÁTICOS BASEADOS EM NANOCOMPÓSITOS POLIMÉRICOS .....	44
Juliano Elvis de Oliveira, Valtencir Zucolotto, Luiz Henrique Capparelli Mattoso	

DETERMINAÇÃO DA MÍNIMA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA (MIC) DE DERIVADOS HIDROSSOLÚVEIS DE QUITOSANA CONTRA <i>E. COLI</i> .....	47
Leandro Prezotto da Silva, Mirna Helena Regali Seleglim, Douglas de Britto, Odílio B.G. Assis	
AVALIAÇÃO DA ADERÊNCIA BACTERIANA SOBRE FILMES ENZIMÁTICOS PROTÉLÍTICOS PARA APLICAÇÕES EM BIOCENSORES .....	50
Luis C. Moraes, Tatiane Duarte Mattos, Odílio B.G. Assis, Rubens Bernardes Filho	
NANOFIBRAS DE BLENDA DE POLI (ALCOOL VINÍLICO) E XILOGLUCANA OBTIDAS POR ELETROFIAÇÃO .....	53
Marta Érica Saidel, Juliano Elvis de Oliveira, Roselayne Ferro Furtado, Rosa Amália Fireman Dutra, Ana Cristina de Oliveira Monteiro Moreira, Luiz Henrique Capparelli Mattoso	
SENSOR DESENVOLVIDO COM TRILHA INTERDIGITADA DE GRAFITE, APLICADO AO MOLHAMENTO FOLIAR .....	56
Pedro César Zavitoski, Paulo S. de P. Herrmann, Alexandra Manzoli, Clarice Steffens, Rafaella Takehara Pascoalini, André Torre Neto	
ESTUDO DAS PROPRIEDADES MORFOLÓGICAS DOS FILMES FINOS DE POLIANILINA SOBRE POLI-TERAFTALATO DE ETILENO, UTILIZANDO MICROSCOPIA DE FORÇA ATÔMICA (AFM), APLICADOS EM SENSORES ÓPTICOS DE PH .....	59
Rafaella Takehara Paschoalin, Clarice Steffens, Alexandra Manzoli, Paulo Sérgio de Paula Herrmann	
DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO DE ANÁLISE ELETROQUÍMICA PARA DETECÇÃO DE RICINA .....	61
Roselayne Ferro Furtado, Vitor Paulo Andrade da Silva, João Bosco de Carvalho, Maria Izabel Florindo Guedes, Carlucio Roberto Alves, Luiz Henrique Capparelli Mattoso, Juliano Elvis de Oliveira, Ana Cristina de Oliveira Monteiro Moreira, Rosa Fireman Dutra	
SENSORES À BASE DE POLÍMERO CONDUTOR PARA DETECÇÃO DE CIANOBACTÉRIAS ...	64
Victor Bertucci Neto, Néelson Consolin Filho, Luiz Henrique Capparelli Mattoso, Armando Henriques Vieira, Rodrigo Fernando Pepino, Edinaldo José Ferreira, Helena Henriques Vieira	
DESENVOLVIMENTO DE SENSORES POLIMÉRICOS PARA MONITORAMENTO DA QUALIDADE DE ÁGUAS EMPREGANDO SISTEMA DE ANÁLISE EM FLUXO .....	67
Viviane Grassi, Marcos Y. Kamogawa, Luiz. H.C. Mattoso	

## **CAPÍTULO 2**

### **MEMBRANAS DE SEPARAÇÃO, FILMES E EMBALAGENS COM NANOESTRUTURA CONTROLADA PARA APLICAÇÕES NA AGROINDÚSTRIA**

Organizador: Odílio Benedito Garrido de Assis

CARACTERIZAÇÃO DE REVESTIMENTOS PARA UTILIZAÇÃO EM FRUTOS MINIMAMENTE PROCESSADOS DE CAQUI 'MIKADO' ( <i>DIOSPYROS KAKI</i> ) .....	73
Augusto César Vieira Neves Junior, Antonio Gomes Soares, Daniela de Grandi Castro Freitas, Murillo Freire Junior, Suely Pereira Freitas, Regina Celi Cavestré Coneglian	
ANÁLISE DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA EM EPICARPO DE MANGA TOMMY ATKINS REVESTIDA COM EMULSÃO DE CERA DE CARNAÚBA E ANTIMICROBIANOS .....	76
Daniel Cordeiro da Costa, Josiele Brilhante Silva, Maria do Socorro Rocha Bastos, Celli Rodrigues Muniz, Roselayne Furtado	

PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DE N,N,N-TRIMETILQUITOSANA RELEVANTES AO REVESTIMENTO DE FRUTAS MINIMAMENTE PROCESSADAS .....	79
Douglas de Britto, Odílio B. G. Assis	
AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE DERIVADOS HIDROSSOLÚVEIS DE QUITOSANA .....	82
Fabiana Eiko Shibahara Asano, Douglas de Britto, Odílio Benedito Garrido Assis	
ESTUDO DA PERMEAÇÃO DE VAPOR DE ÁGUA, CO <sub>2</sub> E O <sub>2</sub> EM BIOPOLÍMEROS À BASE DE QUITOSANA, CARBOXIMETIL CELULOSE E ALGINATO .....	85
Fabio Rosa Barreira, Lourdes Maria Corrêa Cabral, Murillo Freire Junior, Cláudio Habert, Suely Pereira Freitas	
CARACTERIZAÇÃO POR <sup>1</sup> H RMN DA OXIDAÇÃO DE NOZES MACADÂMIA REVESTIDAS COM COBERTURA PROTEICA HIDROFÓBICA .....	89
Marina Colzato, Juliana A. Scramin, Lucimara A. Forato, Luis A. Colnago, Odílio B.G. Assis	
USO DE ANÁLISE DE IMAGENS NO ACOMPANHAMENTO DO CARÁTER FUNGISTÁTICO DE REVESTIMENTOS DE QUITOSANA EM MAÇÃS FATIADAS .....	92
Odílio B.G. Assis, Douglas de Britto	
AVALIAÇÃO PRELIMINAR, POR ZONA DE INIBIÇÃO, DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE QUITOSANAS HIDROSSOLÚVEIS .....	95
Rejane C. Goy, Sinara T.B. Moraes, Douglas de Britto, Odílio B.G. Assis	
AVALIAÇÃO PRELIMINAR DA INTERAÇÃO BACTERIA/FILMES DERIVADOS DE QUITOSANA POR MICROSCOPIA DE FORÇA ATÔMICA .....	98
Rejane Celi Goy, Carlos Eduardo de Moraes Vieira, Rubens Bernardes Filho, Odílio B.G. Assis	
PROCESSAMENTO DE FILMES A BASE DE GOMA DO CAJUEIRO PARA REVESTIMENTOS DE GOIABAS CORTADAS .....	101
Rizzo, J.S., Britto, D., Assis, O.B.G., Forato, L.A.	
NANOFILMES DE ZEÍNAS COM PRÓPOLIS ANALISADOS POR MICROSCOPIA DE FORÇA ATÔMICA .....	104
Tassiane Regina Alves Corrêa, Juliana Aparecida Scramin, Odílio Benedito Garrido de Assis, Lucimara Aparecida Forato, Rubens Bernardes Filho	
ANÁLISE DE PERAS REVESTIDAS COM FILMES A BASE DE ZEÍNAS POR RMN DE <sup>13</sup> C EM ALTA RESOLUÇÃO .....	107
Vieira, C.E.M., Scramin, J.A., Assis, O.B.G., Bernardes Filho, R., Imasato, H., Forato, L.A.	

### **CAPÍTULO 3**

#### **NOVOS USOS DE PRODUTOS AGROPECUÁRIOS UTILIZANDO A NANOTECNOLOGIA**

Organizador: José Manoel Marconcini

BIODEGRADAÇÃO DE FILMES DE PCL EM SOLO E SOLO COM CHORUME .....	113
Adriana de Campos, Sandra Mara Martins-Franchetti	
DETERMINAÇÃO CONDUTIVIMÉTRICA DE NUTRIENTE LIBERADO A PARTIR DE HIDROGÉIS .....	116
Adriel Bortolin, Fauze Ahmad Aouada, Luiz Henrique Capparelli Mattoso	

NANOFIBRAS DE OBTIDAS DIRETAMENTE DA FIBRA DE CURAUÁ VIA HIDRÓLISE ÁCIDA .....	119
Ana Carolina Corrêa, Eliangela de Moraes Teixeira, Luiz Antonio Pessan, Luiz Henrique Capparelli Mattoso	
SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES FINOS NANOESTRUTURADOS DE TiO <sub>2</sub> :Ag E APLICAÇÃO NA FOTODEGRADAÇÃO DE CORANTES .....	123
Andréa Renata Malagutti, Henrique A. J. Loures Mourão, José Roberto Garbin, Caue Ribeiro	
NANOFIBRAS CELULÓSICAS COLORIDAS .....	127
Eliangela de Moraes Teixeira, Kelcilene Bruna Ricardo Teodoro, Thalita Jéssika Bondancia, Ana Carolina Corrêa, Luiz Henrique Capparelli Mattoso	
ESTUDO DA MORFOLOGIA E INTERAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA COM O POLÍMERO POLIVINIL ÁLCOOL (PVA) .....	130
Elias Antonio Berni Neto, Valtencir Zucolotto, Caue Ribeiro	
ESTABILIDADE DAS SUSPENSÕES DE NANOPARTICULAS DE QUITOSANA COM A INCORPORAÇÃO DE FERTILIZANTES TIPO NPK .....	133
Elisângela Corradini, Márcia Regina de Moura, Luiz H. C. Mattoso	
TESTE DA TOXICIDADE AGUDA ORAL DE UM NOVO HIDROGEL PARA LIBERAÇÃO CONTROLADA DE INSUMOS AGROPECUÁRIOS .....	136
Eraldo José Madureira Tavares, Washington Luiz Assunção Pereira, Fauze Ahmad Aouada, Flávio de Vasconcelos, Márcia Regina de Moura, Rafael Moysés Alves, Luiz Henrique Capparelli Mattoso, Marcos Enê Chaves Oliveira	
RAÇÃO PARA CAMARÃO OBTIDA POR EXTRUSÃO EM PRESENÇA DE LINHAÇA .....	139
Fabiana Lindenber Santos, Cristina Tristão Andrade, Kátia Gomes de Lima Araújo	
SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE ZEÓLITA TIPO ZSM-5, UTILIZANDO REATOR HIDROTHERMAL E REAGENTES DE BAIXO CUSTO .....	142
Fábio Plotegher, Caue Ribeiro.	
APLICAÇÃO DE HIDROGÉIS EM SISTEMAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE PESTICIDA .....	145
Fauze Ahmad Aouada, Zhongli Pan, Bor-Sen Chiou, William J. Orts, Luiz Henrique Capparelli Mattoso	
EMPREGO DE ISOTERMAS DE LANGMUIR E FREUNDLICH NO PROCESSO DE ADSORÇÃO DE PARAQUAT POR HIDROGÉIS DE POLIACRILAMIDA E METILCELULOSE .....	148
Fauze Ahmad Aouada, Zhongli Pan, Bor-Sen Chiou, William J. Orts, Luiz Henrique Capparelli Mattoso	
DESLIGNIFICAÇÃO DA MEDÚLA DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR E OBTENÇÃO DE NANOFIBRAS DE CELULOSE .....	151
Francieli B. de Oliveira, Thalita J. Bondancia, Eliangela de M. Teixeira, Francys K.V. Moreira, Luiz H. C. Mattoso	
FILMES BIODEGRADÁVEIS DE AMIDO DE MANDIOCA, EXTRATO DE SOJA E ARGILA .....	154
Geisa Oliveira Rocha, Carla Silva Teba, Carlos Wanderlei Piler Carvalho, José Luis Ramírez Ascheri, Diego Palmiro Ramirez Ascheri, Cristina Tristão de Andrade	
SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE ZNO VIA MÉTODO SOLVOTERMAL E SUA APLICAÇÃO COMO CATALISADOR NA FORMAÇÃO DE BIODIESEL .....	157
Giovanni P. Mambrini, Gabriela S. do Nascimento, Caue Ribeiro, Luiz A. Colnago	

CARACTERIZAÇÃO MECÂNICA DE PALHAS DE MILHO .....	160
Gustavo Miranda Guimarães, Édson Noriyuki Ito, Maria Cristina Dias Paes, Flávia França Teixeira, José Manoel Marconcini	
MAXIMIZAÇÃO DO DESEMPENHO DE FILMES NANOCOMPÓSITOS DE QUITOSANA E NANOCELULOSE .....	162
Henriette M. C. de Azeredo, Luiz H. C. Mattoso, Gino Ceotto Filho, Maximiliano L. Munford, Tara H. McHugh	
FILMES NANOCOMPÓSITOS DE PURÊ DE MANGA REFORÇADOS COM NANOFIBRAS DE CELULOSE .....	165
Henriette M. C. de Azeredo, Luiz H.C. Mattoso, Delilah Wood, Tara H. McHugh	
SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOCOMPÓSITOS MAGNÉTICOS E SUA APLICAÇÃO NA FOTODEGRADAÇÃO DE RODAMINA B. ....	168
Henrique A. J. L. Mourão, Caue Ribeiro	
ANÁLISE DA DISTRIBUIÇÃO DE TAMANHO DE PARTÍCULAS DE TITÂNIO METÁLICO NANOMÉTRICO .....	171
João Paulo Saraiva Morais, Adriana Coatrini Thomazi, Giovanni Pimenta Mambrini, Tânia Regina Giraldi, Cauê Ribeiro	
DETERMINAÇÃO LIGNOCELULÓSICA DA TORTA DE DENDÊ .....	173
João Paulo Saraiva Morais, Adriana de Campos, Silviane Zanni Hubinger, José Manoel Marconcini, Eraldo José Madureira Tavares	
EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FIBRA DE BOCAIUVA ( <i>ACROCOMIA ACULEATA</i> ) PROVENIENTE DO PANTANAL .....	175
José Alexandre Simão, Elisangela Corradini, Luiz Henrique Capparelli Mattoso, Fábio Galvani, Marçal Henrique Amici Jorge, Márcia Toffani Simão Soares, José Manoel Marconcini	
EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FIBRAS DE TABOÁ ( <i>TYPHA DOMINGENSIS</i> ) PROVENIENTES DO PANTANAL .....	177
José Alexandre Simão, Elisangela Corradini, Luiz Henrique Capparelli Mattoso, Fábio Galvani, Marçal Henrique Amici Jorge, Márcia Toffani Simão Soares, José Manoel Marconcini	
PROPRIEDADES MECÂNICAS DE COMPÓSITOS BIODEGRADÁVEIS DE FARINHA DE MANDIOCA E PROTEÍNA DE SOJA POR EXTRUSÃO TERMOPLÁSTICA .....	179
Juan Antonio Ruano Ortiz, Geisa Oliveira Rocha, Carla Silva Teba, Carlos Wanderlei Piler Carvalho, José Luis Ramírez Ascheri, Diego Palmiro Ramirez Ascheri	
EXTRUSABILIDADE DE FARINHA DE MANDIOCA E PROTEÍNA DE SOJA NA ELABORAÇÃO DE COMPÓSITOS BIODEGRADÁVEIS .....	182
Juan Antonio Ruano Ortiz, José Luis Ramírez Ascheri, Carlos Wanderlei Piler Carvalho, Diego Palmiro Ramirez Ascheri	
CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA, TERMOGRAVIMÉTRICA E MORFOLÓGICA DE FIBRAS DE AÇAÍ ( <i>EUTERPE PRECATORIA</i> ) .....	186
Juliane Cristina Borba, Elisangela Corradini, Francys Kley Vieira Moreira, Mariana Coutinho Magnani Carneiro, Luiz Henrique Capparelli Mattoso, José Dalton Cruz Pessoa, José Manoel Marconcini	
PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOCOMPÓSITO DE QUITOSANA COM ARGILA ORGANOFÍLICA COM APLICAÇÕES AMBIENTAIS .....	188
Júlio Ximenes, Rafael Salomão, Mariselma Ferreira	

NANOFIBRAS DE SISAL OBTIDAS SOB CONDIÇÕES ÁCIDAS .....	191
Kelcilene Bruna Ricardo Teodoro, Thalita Jéssika Bondancia, Eliangela de Moraes Teixeira, Franciéli Borges de Oliveira, Luiz Henrique Capparelli Mattoso	
EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA FIBRA DE CAMALOTE ( <i>Eichhornia crassipes</i> (Mart)) PROVENIENTE DO PANTANAL .....	194
Kleber Augusto da Silva, Elisangela Corradini, Luiz Henrique Capparelli Mattoso, Fábio Galvani, Marçal Henrique Amici Jorge, Márcia Toffani Simão Soares, José Manoel Marconcini	
EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FIBRAS DE TUCUM ( <i>BACTRIS GLAUCESCENS</i> DRUDE) PROVENIENTES DO PANTANAL .....	196
Kleber Augusto da Silva, Elisangela Corradini, Luiz Henrique Capparelli Mattoso, Fábio Galvani, Marçal Henrique Amici Jorge, Márcia Toffani Simão Soares, José Manoel Marconcini	
EFEITO DE GLÚTEN MICRONIZADO E GLICEROL NAS PROPRIEDADES MECÂNICAS E DE BARREIRA A ÁGUA EM FILMES FINOS DE AMIDO DE MANDIOCA .....	198
Leonardo Marinho Fernandes, Geisa Oliveira Rocha, Carla Silva Teba, Carlos Wanderlei Piler Carvalho, José Luis Ramírez Ascheri, Diego Palmiro Ramirez Ascheri	
FILMES FINOS COMESTÍVEIS DE AMIDO DE MANDIOCA COM ADIÇÃO DE VITAMINA C e -caroteno .....	201
Luiz Gustavo Viana de Souza, Carlos Wanderlei Piler Carvalho, José Luis Ramírez Ascheri, Ronoel Godoy, Lourdes Maria Correa Cabral	
DESENVOLVIMENTO DE NANOPARTÍCULAS A BASE DE SÍLICA PARA LIBERAÇÃO CONTROLADA DE SEMIQUÍMICOS .....	204
Magali Aparecida Rodrigues, Luciano Paulino da Silva, Andréia Aparecida de Souza, Raul Alberto Laumann, Miguel Borges, Maria Carolina Blassioli-Moraes	
ANÁLISE GENOTÓXICA DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS DE QUITOSANA/ÁCIDO POLIMETACRÍLICO COM DIFERENTES TAMANHOS .....	207
Márcia R. de Moura, Renata de Lima, Leandro Feitosa, Fauze A. Aouada, Leonardo F. Fraceto, Luiz H. C. Mattoso	
AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES MORFOLÓGICAS E DE BARREIRA EM FILMES COMESTÍVEIS SINTETIZADOS A PARTIR DE HIDROXIPROPIL METILCELULOSE E NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA .....	210
Márcia Regina de Moura, Roberto J. Avena-Bustillos, Tara H. McHugh, John M. Krochta, Luiz Henrique Capparelli Mattoso	
NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA APLICADAS EM FILMES COMESTÍVEIS DE HPMC PARA MELHORIA NAS PROPRIEDADES .....	213
Márcia Regina de Moura, Roberto J. Avena-Bustillos, Tara H. McHugh, John M. Krochta, Luiz Henrique Capparelli Mattoso	
CARACTERIZAÇÃO TÉRMICA DE NANOCOMPÓSITOS DE BORRACHA NATURAL E NANOFIBRAS DE CELULOSE .....	216
Maria Alice Martins, Eliangela de Moraes Teixeira, Paulo de Souza Gonçalves, Luiz Henrique Capparelli Mattoso, Mariselma Ferreira	
NANOCELULOSE DE FIBRAS DE COCO IMATURO PARA APLICAÇÃO EM NANOCOCOMPÓSITOS .....	219
Morsyleide F. Rosa, Eliton S. Medeiros, Syed H. Imam, Diego M. Nascimento, Amanda K. Monteiro, José A. Malmonge, Luiz Henrique C. Mattoso	

NANOCOMPÓSITOS DE BORRACHA NATURAL REFORÇADOS COM <i>NANOWHISKERS</i> DE FIBRA DE COCO IMATURO .....	222
Morsyleide F. Rosa, Eliton S. Medeiros, Syed H. Imam, José A. Malmonge, Luiz Henrique C. Mattoso	
COMPÓSITOS BIODEGRADÁVEIS REFORÇADOS COM FIBRAS DE COCO IMATURO .....	225
Morsyleide F. Rosa, Eliton S. Medeiros, Syed H. Imam, Luiz Henrique C. Mattoso	
FOTO/Biodegradação de filmes de PCL para potencial utilização em NANOCOMPÓSITOS .....	228
Rejane Cristina Trombini Pereira, José Augusto Marcondes Agnelli, Luiz Henrique Capparelli Mattoso, Sandra Mara Martins Franchetti	
DESENVOLVIMENTO DE NANOCOMPÓSITOS DE POLIETILENO E POLIPROPILENO COM QUITOSANA .....	230
Renata Cristina Gandolfi, Júlio Ximenes, Sérgio Campana Filho, Luiz Henrique C. Mattoso, Mariselma Ferreira	
ENSAIOS UTILIZADOS PARA AVALIAÇÃO DE CITO E GENOTOXICIDADE DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS .....	233
Renata de Lima, Leonardo Fernandes Fraceto	
NANOFIBRAS DE PVA/TiO <sub>2</sub> PREPARADAS VIA ELETROFIAÇÃO .....	237
Rodrigo G. F. Costa, Caue Ribeiro, Luiz H. C. Mattoso	
PREPARAÇÃO DE NANOFIBRAS DE PVA-AG COM ATIVIDADE ANTIBACTERIANA VIA ELETROFIAÇÃO .....	240
Rodrigo G. F. Costa, Caue Ribeiro, Luiz H. C. Mattoso	
VARIAÇÃO DO TEOR DE COBRE DA BORRACHA NATURAL CRUA DOS NOVOS CLONES DA SÉRIE IAC 300 .....	243
Rogério Manoel Biagi Moreno, Gilberto de Souza Batista, Cristina Maria Cirino Picchi, Paulo de Souza Gonçalves, Luiz Henrique Capparelli Mattoso	
EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOFIBRAS DE CELULOSE A PARTIR DE PALHAS DE MILHO .....	245
Ronaldo Franco de Oliveira Cardoso, Eliangela Morais Teixeira, Maria Cristina Dias Paes, Flávia França Teixeira, Luiz Henrique Capparelli Mattoso, José Manoel Marconcini	
NANOPARTÍCULAS DE FERRITAS UTILIZADAS COMO CATALISADORES HETEROGÊNEOS PELO PROCESSO FENTON .....	247
Tania R. Giraldi, Cezar C. Arruda, Elson Longo, Caue Ribeiro	
NANOCRISTAIS DE TiO <sub>2</sub> : ASPECTOS MORFOLÓGICOS E FOTOCATÁLISE .....	250
Vagner Romito de Mendonça, Caue Ribeiro	
NANOSSILICA A PARTIR DE CASCA DE ARROZ: EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO .....	252
Vitor Brait Carmona, Ricardo Martins de Oliveira, Wilson Tadeu L. Silva, José Manoel Marconcini	



## **CAPÍTULO 1**

# **MATERIAIS NANOESTRUTURADOS PARA O DESENVOLVIMENTO DE SENSORES E BIOSENSORES PARA O AGRONEGÓCIO**

Organizador: João de Mendonça Naime





## AVALIAÇÃO DAS POTENCIALIDADES ANALÍTICAS DE ELETRODO COMPÓSITO GPU E ELETRODO COMPÓSITO CNTs/PU NA DETERMINAÇÃO DE GENISTEÍNA

Aline Carlos de Oliveira (PQ)<sup>1\*</sup>, Carlos Manoel Pedro Vaz(PQ)<sup>1</sup>, Jonatas Gomes da Silva (PG)<sup>2</sup>, Clarissa Silva Pires de Castro (PQ)<sup>3</sup>, Lúcia Helena Mascaro (PQ)<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos – SP – Brasil \*alineplis@yahoo.com.br

<sup>2</sup>Instituto de Química, Universidade de Brasília, Brasília – DF – Brasil

<sup>3</sup>Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília – DF – Brasil <sup>4</sup> Departamento de Química - UFSCar, São Carlos - SP – Brasil

**Projeto Componente:** PC2

**Plano de Ação:** 01.05.1.01.02.02

### Resumo

A avaliação das potencialidades analíticas de eletrodos à base poliuretana (PU) para a determinação de genisteína foi realizada por DPV e utilizando os eletrodos compósitos GPU e CNTs/PU. Curvas analíticas foram obtidas para genisteína com região linear entre  $9,92 \times 10^{-7}$  a  $7,52 \times 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup> para o eletrodo GPU e entre  $4,98 \times 10^{-7}$  a  $9,26 \times 10^{-6}$  para o eletrodo compósito CNTs/PU, com limite de detecção de  $2,70 \times 10^{-7}$  e  $2,00 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup>, respectivamente. Esta pequena diminuição no limite de detecção ao utilizar o eletrodo compósito CNTs/PU foi atribuída à maior condução eletrônica dos CNTs.

**Palavras-chave:** genisteína, eletrodo compósito GPU e eletrodo compósito CNTs/PU.

### Introdução

Desde a sua apresentação em 2002, o eletrodo compósito Grafite/Poliuretana (GPU) (MENDES et al., 2002) vêm despertando grande interesse devido as suas propriedades e potenciais aplicações. O emprego de outras formas de carbono no preparo de eletrodos compósitos também vem atraindo a atenção de inúmeros grupos de pesquisas. Dentre estas formas, pode-se destacar os nanotubos de carbono (CNTs) (IJIMA et al., 1991), devido as suas propriedades químicas, eletrônicas e mecânicas. Entre as diversas aplicações dos eletrodos compósitos à base de PU encontram-se muitas na área de eletroanalítica, sendo de interesse investigar o uso desses eletrodos em determinações de compostos orgânicos. Entre esses compostos encontra-se a genisteína que é um flavonóide amplamente encontrado em frutas e vegetais como a soja. Esse flavonóide, juntamente com inúmeros

metabólicos secundários, é responsável pelas funções defensivas contra microorganismos e pestes.

Neste contexto, este trabalho teve como objetivo avaliar as características deste tipo de eletrodos compósitos na determinação de genisteína, para isto foram preparados eletrodos compósitos GPU e eletrodos compósitos CNTs/PU e utilizou-se a técnica de voltametria de pulso diferencial.

### Materiais e métodos

O eletrodo compósito GPU foi preparado pela mistura de grafite (Aldrich) e resina poliuretana, na proporção de 60% (m/m) de grafite (MENDES et al., 2002). A confecção dos eletrodos foi feita por moldagem do compósito na forma de tarugos com diâmetro de 3 mm, dos quais foram cortadas pastilhas com 1 cm de comprimento. As pastilhas foram conectadas ao fio de cobre através de resina do

tipo epóxi de prata e, este conjunto, foi selado em seringas de insulina usando resina, a qual é um isolante elétrico.

O eletrodo compósito CNTs/PU foi preparado da mesma maneira, mas utilizou-se a proporção de 50% (m/m) de CNTs. Esta proporção foi selecionada devido às dificuldades de homogeneização do material.

Voltamogramas de pulso diferencial para solução de genisteína  $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  em tampão BR pH 2,0 foram obtidos em diferentes velocidades de varredura e amplitudes de pulso, para a avaliação das melhores condições experimentais usando o eletrodo compósito GPU 60% (m/m) e o eletrodo compósito CNTs/PU 50% (m/m).

Curvas analíticas foram obtidas para genisteína no intervalo de concentração entre  $9,92 \times 10^{-7}$  a  $7,52 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  para o eletrodo compósito GPU e entre  $4,98 \times 10^{-7}$  a  $9,26 \times 10^{-6}$  para o eletrodo compósito CNTs/PU, sob as melhores condições de velocidade de varredura e amplitude de pulso.

## Resultados e discussão

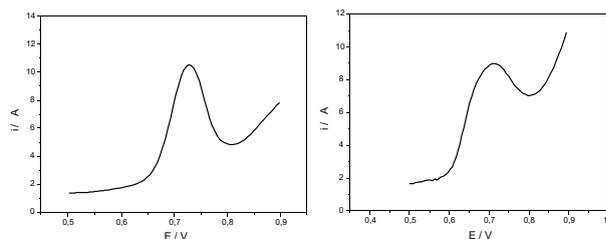
### Eletrodo Compósito GPU

O desempenho do eletrodo compósito GPU 60% (m/m) na determinação de genisteína foi avaliado por voltametria de pulso diferencial. Assim, inicialmente, foi realizado um estudo para verificar o efeito da amplitude de pulso sobre a resposta do eletrodo GPU. A amplitude de pulso foi variada entre 10 e 100 mV. Foi utilizada uma solução genisteína  $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  em tampão BR pH 2,0. Também se desenvolveu um estudo variando a velocidade de varredura entre 10 e 100  $\text{mV s}^{-1}$  a fim de avaliar o efeito deste parâmetro sobre a resposta do eletrodo GPU. Os parâmetros otimizados são apresentados na Tabela 1. Na Figura 1a é apresentado o voltamograma de pulso diferencial para a genisteína obtido com o eletrodo compósito GPU nas melhores condições

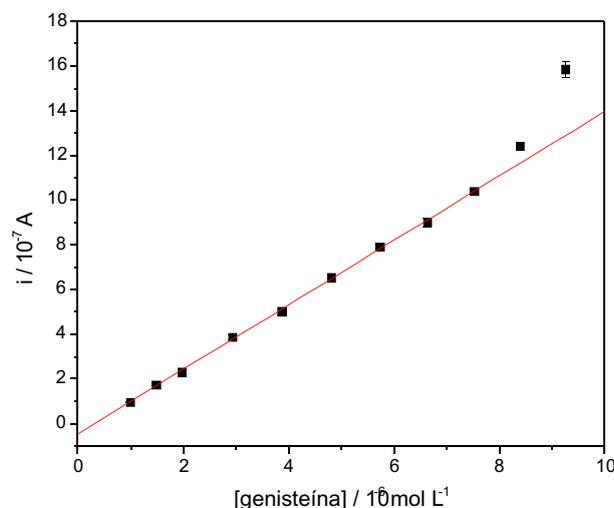
**Tabela 1.** Parâmetros otimizados

Parâmetro	Intervalo	Escolhido
Amp. de pulso/mV	10-100	10
Vel. de Varredura/ $\text{mV s}^{-1}$	10-100	100

Após a otimização dos parâmetros experimentais, uma curva analítica foi obtida para genisteína utilizando o eletrodo GPU. A Figura 2 mostra a curva resultante, cuja equação obtida foi  $I_{pa} (10^{-7} \text{ A}) = -0,456 (10^{-7} \text{ mol L}^{-1}) + 1,44 [\text{genisteína}] (10^{-6} \text{ mol L}^{-1})$ , com  $r = 0,9997$  ( $n=9$ ) no intervalo de concentração de  $9,92 \times 10^{-7}$  a  $7,52 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ , com limite de detecção de  $2,70 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ .



**Fig. 1.** Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com o eletrodo GPU a  $10 \text{ mV s}^{-1}$  e amplitude de pulso de 100 mV (a) e eletrodo compósito CNTs/PU  $25 \text{ mV s}^{-1}$  e amplitude de pulso de 100 mV (b) utilizando solução de genisteína  $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  em tampão BR pH 2,0.



**Fig. 2.** Curva analítica de genisteína obtida para o eletrodo GPU 60% (m/m) em tampão BR pH 2,0,  $v=10 \text{ mV s}^{-1}$  e amplitude de pulso de 100 mV.

### Eletrodo Compósito CNTs/PU

Primeiramente foi investigado o efeito da amplitude de pulso sobre a resposta do eletrodo compósito CNTs/PU 50% (m/m), que foi avaliada entre 10 e 100 mV, utilizando voltametria de pulso diferencial em solução de genisteína  $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  em tampão BR pH 2,0. Em seguida foi avaliado o efeito da velocidade de varredura para solução de genisteína nas mesmas condições. A avaliação da velocidade de varredura foi efetuada entre 10 e 100  $\text{mV s}^{-1}$ . Os parâmetros otimizados são apresentados na Tabela 2. O voltamograma de pulso diferencial obtido para a genisteína nas condições otimizadas é apresentado na Figura 1b.

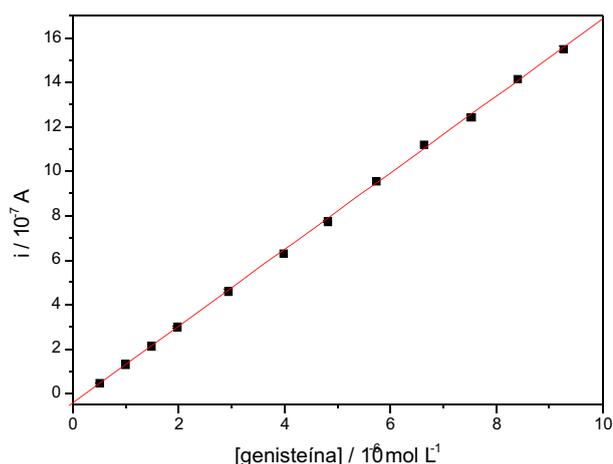
**Tabela 2.** Parâmetros otimizados

Parâmetro	Intervalo	Escolhido
Amp. de pulso/mV	10-100	10
Vel. de Varredura/ $\text{mV s}^{-1}$	10-100	25

Pode-se observar na Figura 1 que o processo de oxidação da genisteína ocorre em torno de 730 mV

tanto para o eletrodo GPU como para o eletrodo composto CNTs/PU. Pode-se observar ainda, que as correntes de pico apresentaram valores próximos. Era esperado que ao utilizar o eletrodo composto CNTs/PU a corrente de pico para o processo de oxidação da genisteína fosse maior. No entanto, este fato não ocorreu devido, provavelmente, à menor quantidade de CNTs empregado no preparo do eletrodo composto. Contudo, estas observações só ocorrem em altas concentrações de genisteína. Para concentrações da ordem de  $10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup>, as correntes de pico encontradas para a genisteína utilizando o eletrodo composto CNTs/PU foram maiores que as encontradas com o eletrodo GPU e isto indica uma maior atividade superficial do eletrodo composto CNTs/PU.

Após otimizar as condições experimentais para o eletrodo composto CNTs/PU 50% (m/m) foi obtida uma curva analítica para o sistema. A Figura 3 mostra a curva resultante, cuja equação obtida foi  $I_{pa}$  ( $10^{-7}$ A) = -0,412 ( $10^{-7}$ A mol L<sup>-1</sup>) + 1,73 [genisteína] ( $10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup>), com  $r = 0,9998$  ( $n = 11$ ) no intervalo de concentração de  $4,98 \times 10^{-7}$  a  $9,26 \times 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup>, com limite de detecção de  $2,00 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup>.



**Fig. 3.** Curva analítica de genisteína obtida para o eletrodo composto CNTs/PU 50% (m/m) em tampão BR pH 2,0,  $v = 25$  mV s<sup>-1</sup> e amplitude de pulso de 100 mV.

Foram comparadas figuras de mérito como região linear e limite de detecção para o sistema utilizando eletrodo composto GPU e eletrodo composto CNTs/PU. A Tabela 3 resume os resultados obtidos.

Nota-se que ao utilizar o eletrodo composto CNTs/PU 50% (m/m) ocorre uma diminuição no limite de detecção o que foi atribuída à maior condução eletrônica dos CNTs. Esta diminuição no limite de detecção não foi tão acentuada devido provavelmente, à menor composição da fase condutora no eletrodo composto, visto que dificuldades de homogeneização foram observadas para composições maiores que 50% (m/m) de CNTs. Contudo, é possível observar um aumento na

sensibilidade ao utilizar o eletrodo composto CNTs/PU.

**Tabela 3.** Figuras de mérito referentes à determinação de genisteína usando eletrodo GPU 60% (m/m) e eletrodo composto CNTs/PU 50% (m/m)

Método	Região linear/mol L <sup>-1</sup>	N	R	LD/mol L <sup>-1</sup>
GPU	$9,92 \times 10^{-7} - 7,52 \times 10^{-6}$	9	0,9997	$2,70 \times 10^{-7}$
CNTs/PU	$4,98 \times 10^{-7} - 9,26 \times 10^{-6}$	11	0,9998	$2,00 \times 10^{-7}$

Nota-se que ao utilizar o eletrodo composto CNTs/PU 50% (m/m) ocorre uma diminuição no limite de detecção o que foi atribuída à maior condução eletrônica dos CNTs. Esta diminuição no limite de detecção não foi tão acentuada devido provavelmente, à menor composição da fase condutora no eletrodo composto, visto que dificuldades de homogeneização foram observadas para composições maiores que 50% (m/m) de CNTs. Contudo, é possível observar um aumento na sensibilidade ao utilizar o eletrodo composto CNTs/PU.

## Conclusões

Os resultados obtidos neste trabalho permitem concluir que eletrodos à base de poliuretana apresentam potencialidades analíticas na determinação de genisteína. Pode-se observar que o eletrodo composto CNTs/PU tem maior sensibilidade para a determinação do flavonóide genisteína.

## Agradecimentos

CNPQ, FINEP, EMBRAPA.

## Referências

- IJIMA, S. *Nature*, London, v. 354, p. 56-58, 1991.  
 MENDES, R. K.; CLARO-NETO, S.; CAVALHEIRO, E. T. G. *Talanta*, London, v. 57, p. 909-913, 2002.



---

## DESENVOLVIMENTO DE UM IMUNOSSENSOR PARA DETECÇÃO DE ANAPLASMOSE BOVINA

---

Andre Santiago Afonso<sup>1,2</sup>, Ronaldo Censi Faria<sup>1</sup>, Luiz Henrique Capparelli Mattoso<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Depto. de Química - UFSCar, 13560-905, São Carlos/SP

<sup>2</sup>Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação Agropecuária, 13560-970, São Carlos/SP \*mattoso@cnpdia.embrapa.br

**Projeto Componente:** PC2

**Plano de Ação:** 01.05.1.02.03

---

### Resumo

A proposta deste projeto é o desenvolvimento de um imunossensor para detecção de *Anaplasma marginale* causadora da anaplasmoze bovina, uma doença endêmica que acarreta considerável prejuízo na cadeia produtiva bovina. Um dispositivo sensor será desenvolvido utilizando como material bioativo uma das seis proteínas principais de superfície da *A. marginale*, a MPS5. A imobilização da MPS5 sobre o eletrodo será realizada covalentemente utilizando monocamadas automontadas de tióis. Como sistema de transdução avaliar-se-á a utilização da técnica de microbalança de cristal de quartzo (QCM). Para caracterização dos filmes e do processo de imobilização da biomolécula serão utilizadas as técnicas de espectroscopia de reflectância especular na região do infravermelho. A validação do imunossensor será realizada comparando os resultados obtidos do sistema sensor desenvolvido com resultados obtidos por ensaio imunoabsorvente ligado a uma enzima (ELISA) realizados com amostras de animais sadios e infectados.

**Palavras-chave:** Anaplasmoze, imunossensor, QCM.

---

---

### Introdução

---

A anaplasmoze bovina é uma enfermidade causada pela riquetsia intra-eritrocítica *Anaplasma marginale*, um dos agentes etiológicos da tristeza parasitária bovina (TPB), juntamente com dois hemoprotozoários, *Babesia bovis* e *Babesia bigemina* (DUMLER et al., 2001).

Com o advento da tecnologia do DNA recombinante, as pesquisas voltadas para os testes sorológicos foram focadas nas proteínas de membrana, devido à possibilidade de sua produção em culturas bacterianas. Seis proteínas principais de superfície (Major Surface Proteins-MSPs: MSP1a, MSP1b, MSP2, MSP3, MSP4 e MSP5) foram inicialmente identificadas em *A. marginale* derivado de eritrócitos bovinos e de tecidos de carrapatos. Essas proteínas, expostas na superfície da riquetsia,

são facilmente acessíveis ao sistema imunológico do hospedeiro, e desempenham importantes funções para a sobrevivência do parasita. A proteína MSP5 possui maior potencial para ser utilizada como antígeno em diagnóstico sorológico, devido às suas características de conservação entre diferentes espécies e isolados de *Anaplasma* sp. Devido à facilidade de manuseio e segurança, dentre os testes sorológicos, o Enzyme Linked Sorbent Assay (ELISA), é o mais utilizado para o diagnóstico de infecções por *A. marginale*. Esta técnica consiste na reação antígeno-anticorpo, em que o antígeno é imobilizado por adsorção física sobre a superfície de microplacas de poliestireno, e através de uma reação enzimática na presença do analito de interesse, há uma mudança de coloração do sistema, o qual é monitorado com um espectrofotômetro.

Apesar dos imunoenaios apresentarem grande sensibilidade e seletividade para o

diagnóstico da anaplasmoze bovina e para a pesquisa epidemiológica essas técnicas demandam tempo, pessoal qualificado e custo elevado, o que dificulta o monitoramento e controle da doença. Tais problemas podem ser contornados com o desenvolvimento de sistemas baseados nas reações biológicas denominados biossensores.

---

## Materiais e métodos

---

Em uma primeira etapa avaliar-se-á a deposição de tiol em monocamada sobre diferentes eletrodos.

Os filmes automontados derivados de alcanotióis serão depositados por imersão do substrato em solução alcoólica de mercaptoundecanoico e decanotiól na proporção de 1:3 em diferentes concentrações por 3 horas e depois lavados e secos ao ar de acordo com Briand et al. (2006).

A modificação da superfície será avaliada por voltametria cíclica (CV) avaliando os perfis dos voltamogramas antes e após a modificação das superfícies com os filmes, em solução de eletrólito suporte. A principal caracterização será realizada por espectroscopia de reflectância especular na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). O antígeno, proteína MSP5 (major surface protein), será fornecido pela Embrapa Gado de Corte, para imobilização sobre as diferentes matrizes. Os eletrodos modificados com derivados de alcanotióis serão imersos em solução contendo 20 mmol.L<sup>-1</sup> de N-hidroxissuccinimida (NHS) e 10 mmol.L<sup>-1</sup> de hidrocloreto de 1-etil-(3-dimetilaminopropil)-carbodiimida (EDC) variando o tempo de incubação. Em seguida serão lavados e secos. A modificação dos filmes com esses reagentes serão avaliados por FTIR por reflectância. O próximo passo será a imobilização da proteína MSP5, imergindo os eletrodos modificados em solução do antígeno e tampão fosfato pH 7,0 por diferentes intervalos de tempo e concentração, lavados com tampão e secos. Após essa etapa, a modificação também será avaliada por FTIR por reflectância e QCM.

Os sítios ainda disponíveis serão bloqueados por imersão do biossensor em solução contendo albumina soro bovino 1% (m/v) em tampão fosfato pH 7,4 por duas horas.

O sensor será avaliado antes e após a exposição à amostra de soro contendo o anticorpo anti-MSP5 de animais infectados e em soros de animais sadios em diferentes intervalos de tempo de incubação sendo em seguida lavado com solução tampão. Como técnicas de transdução será micro balança de crista de quartzo.

As medidas nanogravimétricas serão realizadas em uma QCM Stanford modelo Q200. O eletrodo de trabalho será um disco de cristal de quartzo corte-AT com frequência fundamental de 5 MHz com eletrodos de ouro de área igual a 0,25 cm<sup>2</sup>

em ambos os lados do cristal. A resposta do sistema sensor será avaliada por meio da variação de frequência em função do tempo antes e após a adição da amostra. Avaliar-se-á a resposta do sistema após a lavagem do sistema com solução tampão com o objetivo de avaliar a regeneração do eletrodo.

Os resultados obtidos com o immunosensor serão avaliados com relação o grau de concordância utilizando o método de ELISA como método de referência, uma vez que é a técnica utilizada para o diagnóstico de anaplasmoze. Os testes serão realizados como controle para animais sadios e infectados tanto para o imunossensor quanto para o método ELISA. O estado de infectividade dos animais será confirmado por PCR para o gene msp5.

---

## Resultados esperados

---

Para a confirmação da modificação da superfície dos eletrodos com os alcanotióis serão analisadas as respostas eletroquímicas características da superfície dos eletrodos de ouro modificados ou não por voltametria cíclica monitorando as mudanças nos valores de corrente dos voltamogramas antes e após a modificação com o a monocamada.

Os resultados obtidos por FTIR serão analisados pela mudança nas bandas características dos grupos funcionais a monocamada antes e após a modificação com reagentes NHS e EDC, e o antígeno. A variação de massa das superfícies com os substratos com os agentes modificantes serão avaliado com QCM diminuindo a frequência de oscilação do cristal de quartzo.

Para a reação entre o antígeno e anticorpo, os quais serão monitorados por QCM será avaliado o diminuição da frequência de oscilação do cristal de quartzo na presença do analito de interesse.

---

## Agradecimentos

---

CNPq, FIPAI, EMBRAPA, FINEP/MCT.

---

## Referências

---

- DUMLER, J. S.; BARBET, A. F.; BEKKER, C. P. J.; DASCH, G. A.; PALMER, G. H.; RAY, S. C.; RIKIHISA, Y.; RURANGIRWA, F. R. **International journal of Systematic and Evolutionary microbiology**, Reading, v. 51, p. 2145, 2001.
- BRIAND, E.; SALMAIN, M.; HERRY, J-M.; PERROT, H.; COMPERE, C.; PRADIER, C-M. **Biosensors and Bioelectronics**, Essex, v. 22, p. 440, 2006.



---

## APLICAÇÃO DA LÍNGUA ELETRÔNICA NA IDENTIFICAÇÃO DE GRÃOS DE SOJA

---

Camila Gregorut<sup>1\*</sup>, Josemeyre Bonifácio da Silva<sup>2</sup>, Nadja Karolina Leonel Wiziack<sup>1</sup>, Leonardo Giordano Paterno<sup>1</sup>, Mercedes Concórdia Carrão-Panizzi<sup>2</sup>, Fernando Josepetti Fonseca<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Depto. de Engenharia de Sistemas Eletrônicos - EPUSP, 05508-970, São Paulo/SP.

\*Cagregorut@usp.br, fernando.fonseca@poli.usp.br

<sup>2</sup>Embrapa Soja - Caixa Postal 231, 86001-970, Londrina/PR

**Projeto Componente:** PC 2

**Plano de Ação:** 03

---

### Resumo

A soja é um produto de grande importância na economia mundial, sendo valorizado devido seu alto teor de proteínas. Neste trabalho foi utilizada uma língua eletrônica (LE) composta por polímeros condutores, para identificar e discriminar cinco diferentes cultivares de soja com características geneticamente distintas. A combinação das medidas elétricas e do tratamento de dados (PCA e PLS) permitiu à LE discriminar os cinco diferentes tipos de grãos de soja, concordando com uma análise sensorial prévia feita por painelistas humanos.

**Palavras-chave:** Língua eletrônica, grãos de soja, polímeros condutores.

---

### Introdução

---

A soja é um grão bastante versátil, capaz de originar diversos produtos e subprodutos. A possibilidade de produzir diferentes tipos de grãos de soja é interessante para a indústria alimentícia, pois disponibiliza grãos com sabores e teores de proteínas distintos<sup>1</sup>. A avaliação do sabor dos grãos de soja normalmente é feita por humanos (análise sensorial) e sua composição química é obtida através de técnicas analíticas, como cromatografia e espectrometria de massa. Apesar da grande eficiência, tais métodos necessitam de operadores treinados e requerem um longo período de tempo. Alternativamente, a avaliação dos sabores pode ser realizada por arranjos de sensores químicos, conhecidos como nariz eletrônico e língua eletrônica (LE). Estes sistemas apresentam como vantagens principais a capacidade de avaliar rapidamente os sabores característicos dos alimentos. Além disso são de baixo custo e fáceis de serem operados até mesmo por pessoas não treinadas. A LE tem sido amplamente utilizada, por exemplo, na análise de bebidas incluindo cafés, chás e águas minerais<sup>2</sup>.

Em trabalho anterior foi observado a correlação direta existente entre a resposta de uma LE e a análise sensorial para diferentes formulações de adoçantes<sup>3</sup>. No presente trabalho foi avaliada a habilidade de uma LE composta por polímeros condutores em distinguir cinco cultivares de soja com características geneticamente distintas. Os cultivares de soja analisados foram desenvolvidos para serem consumidos em bebidas a base de soja. A produção de tais cultivares visou alcançar dois objetivos: 1) produzir grãos para melhorar seus atributos de sabor (cultivares 2, 3 e 4) e 2) produzir grãos com maior teor de proteínas (cultivares 1 e 5).

### Materiais e métodos

---

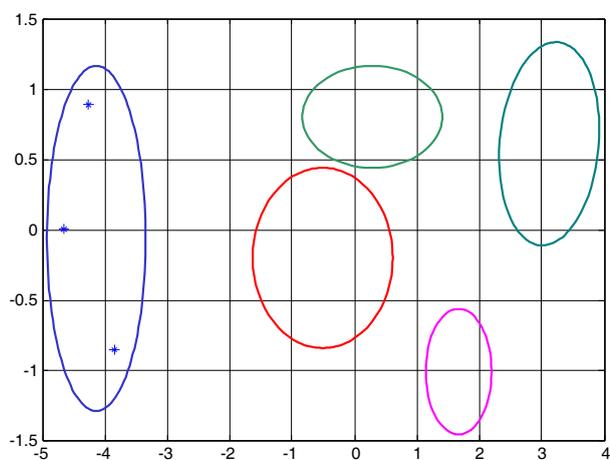
As amostras de grãos de soja provenientes de cinco cultivares diferentes foram preparadas em extratos após o cozimento dos grãos em autoclave e posterior trituração destes em um almofariz. Os extratos foram então diluídos com água destilada na proporção de 1:10 v/v, e analisados com a LE.

Para cada cultivar foram preparadas pelo menos cinco amostras e avaliadas de forma aleatória. A LE utilizada foi composta por um arranjo de oito sensores químicos individuais, feitos de filmes de polímeros condutores depositados sobre microeletrodos interdigitados de ouro. Os filmes foram preparados pela técnica de automontagem empregando-se um sistema automatizado<sup>4</sup> e utilizando materiais disponíveis comercialmente, como polianilina e derivados, politiofeno, polipirrol, ftalocianina de níquel III, poliestireno, hidrócloro de polialilamina e lignina sulfonada<sup>3</sup>. A variedade dos polímeros e dos outros materiais empregados é responsável por assegurar sensibilidade por diferentes classes de analitos.

A capacitância elétrica de cada sensor imerso nas diferentes amostras de extratos de soja foi registrada com um LCR Meter HP, modelo 4263A. Os resultados obtidos foram tratados pela análise das componentes principais (PCA) e pela regressão por mínimos quadrados parciais (PLS).

## Resultados e discussão

A resposta elétrica de cada sensor resulta da interação entre o filme polimérico e os compostos presentes na amostra. A intensidade de tais interações depende das estruturas do polímero e do analito, bem como da frequência do potencial elétrico aplicado. A 1 kHz, a resposta elétrica do sensor é proveniente apenas das mudanças na condutância do polímero<sup>5</sup>. A análise sensorial feita por humanos foi capaz de distinguir as cinco amostras de grãos de soja de acordo com seus atributos de sabores. A avaliação humana também detectou diferenças significativas entre os cultivares 2 e 3. De forma similar, a LE foi capaz de distinguir as amostras de grãos de soja, como pode ser visto no gráfico de PCA apresentado na Figura 1.



**Fig. 1.** Gráfico de PCA dos cinco cultivares de soja estudados obtidos com a LE a 1 kHz.

A partir do gráfico de PCA, observa-se que mais de 90% da variação dos dados é proveniente das componentes principais 1 e 2. Quatro grupos de cultivares de soja podem ser identificados pela PC1 (cultivares 1, 3, 4 e 5), e, os cultivares 2 e 3 podem ser diferenciados na direção da PC2. As amostras do cultivar 1, que apresentam o maior teor de proteínas, estão localizadas em uma região mais isolada do gráfico. Também foi possível agrupar amostras de um mesmo cultivar analisado em dias diferentes. Estes dados indicam que as respostas dos sensores foram sistematicamente reproduzidas em dias diferentes de experimentos. Este desempenho assegura que a análise é confiável e que a LE pode ser utilizada várias vezes com desempenho constante.

## Conclusões

As características de sabor de cinco diferentes tipos de cultivares de soja foram avaliadas por um painel sensorial humano. Com desempenho similar, uma língua eletrônica composta por sensores de polímeros condutores foi capaz de detectar diferenças nas amostras de grãos de soja e, conseqüentemente, distingui-las em cinco grupos distintos. A resposta da LE foi reprodutível em dias diferentes de experimentos, permitindo seu uso por várias vezes com desempenho constante. Embora parciais, estes resultados são promissores e indicam uma possível aplicação para a LE composta por polímeros condutores.

## Agradecimentos

CNPq, CAPES, FAPESP e Rede AgroNano.

## Referências

- SILVA, J. B.; PRUDÊNCIO, S. H.; FELBERG, I.; DELIZA, R.; CARRÃO-PANIZZI, M. C. Aceitabilidade de bebidas preparadas a partir de diferentes extratos hidrossolúveis de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 12, p. 1779-1784, 2007.
- RIUL JR., A.; SOTO, A. M. G.; MELLO, S. V.; BONE, S.; TAYLOR, D. M.; MATTOSO, L. H. C. An electronic tongue using polypyrrole and polyaniline. **Synthetic Metals**, Lausanne, v. 132, n. 2, p. 109-116, 2003.
- DYMINSKI, D. S.; PATERNO, L. G.; TAKEDA, H. H.; BOLINI, H. M. A.; MATTOSO, L. H. C.; CÂNDIDO, L. M. B. Correlation Between Human Panel and Electronic Tongue Responses on the Analysis of Commercial Sweeteners. **Sensor Letters**, [S. l.], v. 4, n. 4, p. 403-408, 2006.
- BRAGA, G. S.; PATERNO, L. G.; LIMA, J. P. H.; FONSECA, F. J.; ANDRADE, A. M. de. Influence of the deposition parameters on the morphology and electrical conductivity of PANI/PSS self-assembled films. **Materials Science and Engineering C, Lausanne**, v. 28, n. 4, p. 555-562, 2008.
- TAYLOR, D. M.; MACDONALD, A. G. AC admittance of the metal/insulator/electrolyte interface. **Journal of Physics D: Applied Physics**, London, v. 20, n. 10, p. 1277-1283, 1987.



---

## EMPREGO DE UM SISTEMA DE LÍNGUA ELETRÔNICA E LÓGICA FUZZY NA ANÁLISE DE AMOSTRAS DE ÁGUA

---

**Guilherme S. Braga, Leonardo G. Paterno e Fernando J. Fonseca**

Escola Politécnica da Universidade de São Paulo (EPUSP)  
Av. Prof. Luciano Gualberto, travessa 3, 158, São Paulo, SP, Brasil  
E-mail autor: gbraga@lme.usp.br  
E-mail institucional: fernando.fonseca@poli.usp.br

**Projeto Componente: PC2**

**Plano de Ação: Pa03**

---

### Resumo

Um sistema de língua eletrônica (LE) e duas ferramentas de análise, análise da componente principal (PCA) e lógica Fuzzy foram usados para discriminar/classificar diferentes amostras de água (água de torneira, destilada e três marcas de água mineral). O programa Fuzzy exibiu uma taxa de acerto maior do que a PCA, classificando corretamente 4 em 5 tipos de água. A única exceção foi uma amostra de água mineral que às vezes era classificada erroneamente como água de torneira. Já no PCA, as amostras de água foram agrupadas em 3 grupos. Embora as amostras nos segundo e terceiro grupos estejam sobrepostas, a proximidade dos pontos em um mesmo grupo em testes repetida indica que a resposta do sistema de LE é reproduzível. O uso potencial de lógica Fuzzy como ferramenta de processamento de dados em conjunto com um sistema de língua eletrônica é discutido.

**Palavras-chave:** sistema de língua eletrônica, filmes nanoestruturados, sensores químicos, água mineral, lógica Fuzzy.

---

### Introdução

---

Sistemas multisensores também conhecidos com língua eletrônica (LE) (1, 2, 3) foram estudados intensamente ao longo dos anos, especialmente na análise de produtos alimentícios (4). Como uma alternativa a técnicas mais estabelecidas como cromatografia CG/EM, a LE prove um método mais rápido e barato para acessar características de gosto das amostras de alimento.

O sistema de língua eletrônica usada neste trabalho é um arranjo de sensores químicos não seletivos cuja capacitância elétrica pode variar conforme a composição química do meio em que são imersos (5). Os sensores químicos são feitos de filmes nanoestruturados de polímeros condutores depositados sobre microeletrodos interdigitados de ouro (IME) (5,6). As propriedades elétricas e óticas

dos polímeros condutores são muito sensíveis a pequenas mudanças no ambiente ao seu redor, como pH, força iônica e outras (7). Com o auxílio de ferramenta de reconhecimento de padrões, como a análise da componente principal (PCA), estas mudanças podem ser precisamente medidas e usadas para identificar e quantificar a presença de diferentes substâncias químicas (6). Lógica Fuzzy (8) é outra ferramenta de reconhecimento que pode ser usada com sistemas de LE. É considerada um tipo de inteligência artificial (termo aplicado a tecnologias que imitam conhecimento similar aos humanos) (9) conhecida por sua capacidade em converter entradas numéricas em variáveis linguísticas. Contudo, poucos trabalhos considerando o uso de sistemas de LE e lógica Fuzzy são encontrados na literatura (4, 10-12).

Neste trabalho, PCA e lógica Fuzzy são usados em conjunto com um sistema de língua eletrônica para analisar amostras de água de diferentes fontes (torneira, destilada e três marcas de água mineral). A performance e acuidade dessas ferramentas de reconhecimento de padrão são avaliadas.

## Materiais e métodos

A LE é formada por um arranjo de 8 sensores não específicos. Os sensores são formados por microeletrodos interdigitados de ouro (do inglês, IME, 50 pares de dígitos com largura de 10  $\mu$ m) produzidos por fotolitografia convencional recobertos por filmes poliméricos nanoestruturados depositados via técnica de camada-por-camada, (do inglês, LbL) (13). Detalhes sobre a preparação dos filmes podem ser encontrados em outro trabalho (6). Cada sensor possui uma combinação diferente de polímero condutor (polianilina e seus derivados, polipirrol, poli(3,4-etilenodioxitiofeno)) e polieletrólitos comuns (poliestireno sulfonato, lignina sulfonatada) e ftalocianina de níquel (II).

A resposta elétrica (capacitância) de cada sensor em diferentes amostras de água foi medida em 1kHz, usando um analisador de impedâncias (Solartron SI 1260). O sistema estava conectado a um computador através de uma interface GPIB e as medições e aquisições de dados foram feitas usando uma plataforma criada no programa LabView.

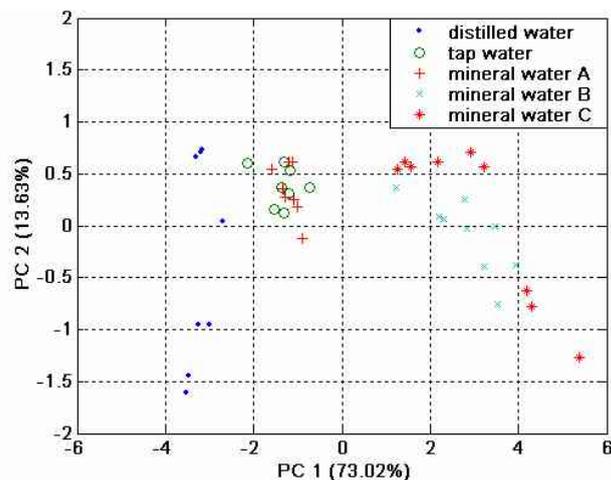
As medições foram feitas após a estabilização do sinal, geralmente 1 minuto após a imersão dos sensores na amostra de água. Entre cada medição, os sensores eram imersos em água ultrapura com agitação por 5 minutos para limpeza. Água de torneira, destilada e três marcas de água mineral foram analisadas em uma seqüência aleatória. Todas as medições foram feitas à 25°C. Um total de 12 amostras para cada tipo de água foi avaliado.

Estes dados foram analisados usando duas ferramentas de reconhecimento: PCA e lógica Fuzzy. Gráficos de PCA foram feitos usando um algoritmo já existente no programa MatLab (versão 6.1). para criar o programa Fuzzy, os dados coletados foram divididos em dois grupos: (1) o grupo de desenvolvimento, com as 3 primeiras medições e (2) o grupo de teste, com as outras 9 medições. O programa Fuzzy foi desenvolvido o programa MatLab (versão 6.1), no método Sugeno. Ele tem 8 entradas (a LE tem 8 sensores) e 5 saídas (água destilada, de torneira e 3 águas minerais). Os domínios de entrada (valores mínimo e máximo) foram definidos e baseados na capacitância elétrica de cada sensor (grupo desenvolvimento). Após a criação do programa, a acuidade foi testada usando os dados do grupo de teste.

## Resultados e discussão

O gráfico PCA foi obtido com o tratamento estatístico dos dados coletados com um arranjo de 8

sensores cobertos com diferentes filmes poliméricos. O resultado é apresentado na Figura 1, que mostra a resposta para diferentes amostras de água. Mais de 86% da variância total estão nas duas primeiras componentes principais (PC1 e PC2), o que significa que as amostras de água podem ser diferenciadas conforme sua posição em cada grupo. Contudo a discriminação das amostras de água pode ser feita exclusivamente com a análise do eixo horizontal. Além disso, as amostras são agrupadas em três grupos. Um com a água destilada, outro com as amostras de água de torneira e uma das águas minerais e um terceiro com as outras duas águas minerais. A análise PCA não permite a LE distinguir entre as amostras de água de torneira e uma marca de água mineral (A). O mesmo pode ser observado no terceiro grupo, em que as duas marcas de água mineral são classificadas como similares. Adicionalmente, a proximidade dos pontos em um mesmo grupo em testes repetida indica que a resposta do sistema de LE é reprodutível.



**Fig. 1.** Gráfico PCA obtido com uma LE operada em 1kHz para amostras de água de torneira, destilada e mineral.

De outra maneira, a análise por lógica Fuzzy resultou em uma melhor discriminação das amostras de água. Na Tabela 1 estão apresentadas as taxas de acerto para cada amostra de água obtida com a lógica Fuzzy. Considerando que 5 tipos de amostras de água foram analisadas e que a maior taxa de acerto possível é 100% , cada amostra de água contribui com 20%.

Observando os dados, nota-se que a LE consegue classificar corretamente 4 amostras de água de 5, o que é uma performance melhor do que a obtida com o PCA. Usando os dados do grupo de teste, a taxa de acerto do programa foi de 93,37%. Entretanto, amostras da água mineral A foram classificadas erroneamente como água de torneira, devido às respostas elétricas similares.

**Tabela 1.** Análise por lógica Fuzzy de amostras de água de torneira, destilada e de 3 marcas de água mineral. Grupo de desenvolvimento, medidas foram usadas para criar o programa e grupo de teste, medidas foram usadas para testar a acuidade do programa.

Grupo de desenvolvimento					
Resultados Amostras de água	DI	Torneira	Água mineral A	Água mineral B	Água mineral C
DI	<b>20%</b>	0	0	0	0
Torneira	0	<b>20%</b>	0	0	0
Água mineral A	0	6.13%	<b>13.87%</b>	0	0
Água mineral B	0	0	0	<b>20%</b>	0
Água mineral C	0	0	0	0	<b>20%</b>
<i>Taxa de acerto</i>					<i>93,87%</i>

Grupo de teste					
Resultados Amostras de água	DI	Torneira	Água mineral A	Água mineral B	Água mineral C
DI	<b>20%</b>	0	0	0	0
Torneira	0	<b>16,67%</b>	3,33%	0	0
Água mineral A	0	3,33%	<b>16,67%</b>	0	0
Água mineral B	0	0	0	<b>20%</b>	0
Água mineral C	0	0	0	0	<b>20%</b>
<i>Taxa de acerto</i>					<i>93,37%</i>

Observando os dados, nota-se que a LE consegue classificar corretamente 4 amostras de água de 5, o que é uma performance melhor do que a obtida com o PCA. Usando os dados do grupo de teste, a taxa de acerto do programa foi de 93,37%. Entretanto, amostras da água mineral A foram classificadas erroneamente como água de torneira, devido às respostas elétricas similares.

### Conclusões

Neste trabalho avaliamos o uso de PCA e da lógica Fuzzy como ferramentas de reconhecimento em conjunto com um sistema de língua eletrônica na análise de amostras de água.

Usando a PCA, o sistema de LE apresentou uma resposta reprodutível, mas não conseguiu discriminar amostras de água de torneira de uma das águas minerais. Ao contrário, com a lógica Fuzzy a LE apresentou uma performance melhor. O programa Fuzzy desenvolvido apresentou uma taxa de acerto maior (93,37%) e pode classificar corretamente 4 em 5 amostras de água. Entretanto, algumas amostras de água de torneira e uma das águas minerais (marca A) foram classificadas erroneamente.

Concluindo, quando os dados foram analisados com o programa usando lógica Fuzzy, o sistema de LE pode diferenciar melhor as amostras de água do que usando PCA.

### Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer a FAPESP, ao CNPq, a FIPAI e à EMBRAPA pelo apoio financeiro.

### Referências

- TOKO, K. et al. *TECH. DIGEST 9TH SENSOR SYMP.* [S. l.: s. n.], 1990. p. 193-196.
- WINQUIST, F.; WIDE, P.; LUNDSTROM, I. *Anal. Chem. Acta*, [S. l.], v. 357, n. 1-2, p. 21-31, 1997.
- DINATALE, C. et al. *Sens. Actuators*, Lausanne, v. 34, p. 539-542, 1996.
- ILIEV, B. et al. *Fuzzy Sets and Systems*, [S. l.], v. 157, p. 1155-1168, 2006.
- RIUL JR., A. et al. *Langmuir*, Washington, v. 18, p. 239-245, 2002.
- WIZIACK, N. K. L. et al. *Sensors and Actuators B*, Lausanne, v. 122, n. 2, p. 484-492, 2007.
- MEDEIROS, E. S.; PATERNO, L. G.; MATTOSO, L. H. C. In: GRIMES, C. A.; DICKEY, E. C.; PISHKO, M. V. (Ed.). *Encyclopedia of Sensors*. Pennsylvania: American Scientific Publishers, 2005. v. 10. p. 1-36.
- ZADEH, L. A. *Information and Control*, New York, v. 8, p. 338-353, 1965.
- YEN, J.; LANGARI, R.; ZADEH, L. A. *Industrial Applications of Fuzzy logic and Intelligent Systems*. New York: IEE Press, 1995.
- KIM, J. D. et al. *Talanta*, London, v. 70, n. 3, p. 546-555, 2006.
- MARTINEZ-MANEZ, R. et al. *Sensors and actuators B*, Lausanne, v. 104, n. 2, p. 302-307, 2005.
- RONG, L.; PING, W.; WENLEI, H. *Sensors and actuators B*, Lausanne, v. 66, n. 1-3, p. 246-250, 2000.
- LVOV, Y. M.; DECHER, G. *Crystallography Reports*, Woodbury, v. 39, n. 4, p. 628-647, 1994.



---

## FILMES AUTOMONTADOS DE PHMB/PEDOT:PSS PARA SENSORES ELETROQUÍMICOS DE PALADAR

---

Gustavo Figueira de Paula<sup>1,3</sup>, Germano Inácio Netto<sup>2,3</sup>, Luiz Henrique Capparelli Mattoso<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Engenharia de Materiais - UFSCar, 13560-905, São Carlos/SP

<sup>2</sup>Departamento de Química - UFSCar, 13560-905, São Carlos/SP

<sup>3</sup>Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação Agropecuária, 13560-970, São Carlos/SP

\*mattoso@cnpdia.embrapa.br

**Projeto Componente:** PC2

**Plano de Ação:** 01.05.01.001.02.03

---

### Resumo

Filmes automontados de Poli(hexametileno biguanida), alternados com Poli(3,4-etilenodioxitiofeno) complexado com Poli(estirenosulfonato), PEDOT:PSS, aplicados em sensores impedimétricos mostraram-se promissores na avaliação da qualidade de café. Investigou-se neste trabalho o efeito de parâmetros físico-químicos das soluções precursoras na taxa de deposição do PEDOT e na resistência química dos filmes ao processo de regeneração do sensor. Demonstra-se que estes filmes são bastante estáveis quimicamente e apresentam potencial para aplicação comercial em Língua Eletrônica.

**Palavras-chave:** automontagem, impedância, café, PHMB, PEDOT.

---

### Introdução

Sensores de paladar baseados em polímeros condutores têm sido avaliados nos últimos anos em grande diversidade de aplicações, e demonstrado resultados promissores (CIOSEK e WRÓBLEWSKI, 2007). O Grupo de Sensores da EMBRAPA Instrumentação Agropecuária vêm desenvolvendo há vários anos estudos nesta linha, culminando com o desenvolvimento de um produto denominado “Língua Eletrônica” para o mercado de café, transferido à iniciativa privada.

Dentre os diversos materiais avaliados por este grupo, destacou-se para análise de café a combinação de Poli(hexametileno biguanida), PHMB, alternado com Poli(3,4-etilenodioxitiofeno) complexado com Poli(estirenosulfonato), PEDOT:PSS (PAULA, 2005). Esta combinação não somente apresenta boa capacidade discriminatória para cafés, mas também alta resistência ao processo de regeneração dos sensores, mesmo após centenas de medidas.

Apesar deste resultado promissor, nenhuma investigação sistemática do processo de fabricação destes filmes foi realizada, o que motivou o trabalho descrito a seguir.

### Materiais e métodos

Solução de PHMB foram preparadas a partir da diluição do produto comercial Vantocil® IB (Arch Chemicals), que é uma solução a 20% em peso deste polímero. Variou-se nestas soluções: pH pela adição de HCl ou KOH, força iônica pela adição de KCl e concentração de PHMB, variando um parâmetro por vez, para estudar a influência de cada variável na taxa de deposição do PEDOT:PSS; também variou-se o tempo de imersão do substrato nas soluções e a temperatura das soluções durante a fabricação do filme. As soluções de PEDOT:PSS não foram alteradas, sendo sempre preparadas a partir da diluição 1:10 em volume com água ultrapura do produto comercial adquirido da Sigma-Aldrich do Brasil; a concentração inicial de PEDOT nesta

solução é de 0,5% em peso. A Tabela 1 condensa as condições avaliadas.

Lâminas de vidro ótico BK-7 (Opto Eletrônica S/A) foram imersas alternadamente na solução de PHMB, depois lavadas em água ultrapura por 20 segundos sob agitação, seguido de imersão na solução de PEDOT:PSS, depois novamente lavagem em água ultrapura; somente as camadas ímpares foram submetidas à secagem em ar quente estático entre 40 e 60 °C. Os filmes secos tiveram a absorvância na faixa do UV-Visível-NIR (320 a 1100 nm) determinada em um espectrofotômetro Hitachi 1601 UVPC.

Para determinar o comprimento de onda adequado ao monitoramento do crescimento do PEDOT, estudou-se a ocorrência de algum ponto isobéstico na faixa do infravermelho próximo e visível, bem como se determinou o coeficiente de extinção molar para calcular a massa adsorvida em cada filme.

## Resultados e discussão

PEDOT não apresenta um ponto isobéstico claramente definido, exceto para faixas de pH acima de 10. Abaixo disto, existe a tendência de apresentação de um isobéstico entre 740 e 840 nm, porém pequenas oscilações nas condições experimentais deslocam este ponto para mais ou para menos. É sabido que poliofenos possuem três cromóforos em sua estrutura quando dopados: meros neutros, pólarons e bipólarons (ZYKWINSKA et al., 2004); em condições intermediárias de dopagem, todos os cromóforos coexistem, causando assim o aparente deslocamento do isobéstico; na verdade, não ocorre um isobéstico comum aos três cromóforos.

A alternativa para determinação das taxas de deposição de PEDOT foi a escolha de um ponto onde houvesse pouca variação da absorvância com pH; na Figura 1 observa-se que em 1100 nm ocorre quase uma concordância das curvas como num isobéstico genuíno; deste modo, este ponto foi escolhido por apresentar mínima variação da absorvância em função do pH. PHMB não apresenta nenhuma absorção na faixa do infravermelho próximo ou visível.

O coeficiente de extinção molar foi determinado em 1100 nm como sendo  $1,43 \pm 0,33 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ . Com este valor determinou-se, a partir da absorvância de cada camada ímpar de cada filme fabricado, a massa deposição e a respectiva taxa de deposição de PEDOT em função da variável em questão.

A taxa de deposição de PEDOT sobre PHMB variou de 1,8 a 10,4  $\text{mg} \cdot \text{m}^{-2}$  por camada, com valores típicos entre 4,0 e 5,0  $\text{mg} \cdot \text{m}^{-2}$  por camada. A Tabela 1 apresenta as faixas de valores utilizados no estudo de cada variável. Ao menos 15 bicamadas foram fabricadas para a determinação das taxas de deposição.

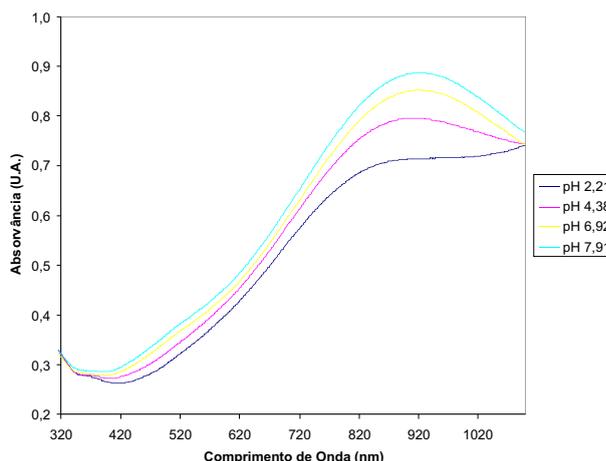


Fig. 1. Espectro de UV-Vis-NIR de PEDOT:PSS em diferentes valores de pH.

Tabela 1. Variáveis estudadas e condições utilizadas; valor em negrito indica condição padrão.

Variável	Faixa estudada
Força Iônica	0,01; 0,02; 0,05; <b>0,1</b> ; 0,2; 0,5 e 1,0 M de KCl
pH	4,4; 5,3; 5,9; <b>6,5</b> ; 6,7; 7,1 e 8,5
Concentração de PHMB	$1 \cdot 10^{-4}$ ; $5 \cdot 10^{-4}$ ; $1 \cdot 10^{-3}$ ; $5 \cdot 10^{-3}$ ; <b><math>1 \cdot 10^{-2}</math></b> ; $5 \cdot 10^{-2}$ ; $1 \cdot 10^{-1}$ M.
Tempo de Deposição	1, 3, <b>5</b> , 10, 15 e 30 minutos
Temperatura	5, 11, 21, 30 e 40 °C

O aumento da força iônica tem pouco efeito sobre a taxa de deposição do PEDOT, variando de 4,5 5,1  $\text{mg} \cdot \text{m}^{-2}$  por camada na faixa de 0,01 a 0,2 M de KCl; porém para valores superiores a taxa de crescimento aumenta drasticamente, atingindo 10,4  $\text{mg} \cdot \text{m}^{-2}$  por camada para 1,0 M de KCl, a máxima taxa de crescimento obtida dentre todos os experimentos. Este aumento drástico ocorre pela blindagem das cargas positivas das moléculas de polímero já adsorvidas no substrato, frente às moléculas ainda não adsorvidas; estas sofrem uma menor repulsão eletrostática e podem se aproximar mais facilmente do substrato; eventualmente, colidem e aderem às cadeias já depositadas. A maior distensão das cadeias em solução causada pelo mesmo efeito de blindagem induzido pelo sal também facilita este processo, pelo aumento do volume hidrodinâmico destas.

No experimento seguinte ajustou-se o pH das soluções para a faixa de 2 a 12; após alguns dias para atingir o equilíbrio, a faixa reduziu-se espontaneamente, tendendo para a neutralidade. PHMB possui duas constantes de equilíbrio de protonação, uma para a forma monoprotonada e outra para a forma diprotonada. É uma base forte, com  $pK_{a1} = 11$ ;  $pK_{a2} = 3$  (EAST et al., 1997). A forma monoprotonada é termodinamicamente mais estável devido à extensa deslocalização eletrônica que ocorre entre as ligações C-N (BHARATAM et al, 2005). Com isso, o equilíbrio químico tende-se a

deslocar-se sempre no sentido de manter o pH em torno de 7 aproximadamente o ponto de máxima protonação do PHMB.

O pH da solução tem, como a concentração de KCl, pouco efeito na taxa de deposição do PEDOT, exceto para o pH 8,5 onde a taxa atinge 5,5 mg.m<sup>-2</sup> por camada. Possivelmente, a menor solubilidade da polibiguanida parcialmente desprotonada (a forma básica é insolúvel em água) induza a maior taxa de deposição em pH's mais altos.

O efeito da concentração é pouco pronunciado na faixa de 0,1 a 0,001 M de PHMB, com taxas de 4,3 a 4,8 mg.m<sup>-2</sup> por camada; abaixo disto, a taxa cai rapidamente, aproximadamente à metade em 1.10<sup>-4</sup> M de PHMB. O porquê da queda brusca precisa ser melhor investigado, mas acredita-se que esteja ligado à interação entre as macromoléculas em solução; a relação entre o volume hidrodinâmico e a concentração pode ser tal que para valores abaixo de 1 mM a interação entre as cadeias seja muito pequena, fazendo com que a "captura" de cadeias em solução pelas cadeias previamente depositadas seja pequena. É possível que a dependência da taxa de deposição com a concentração seja alterada pela força iônica da solução, o que merece ser melhor investigado. A condição padrão adotada nos experimentos foi de 0,01 M de PHMB.

O efeito do tempo de deposição na taxa de crescimento apresenta o comportamento típico para soluções de força iônica média (KURTH et al., 2002), onde uma taxa de deposição elevada ocorre em tempos curtos (neste caso em 3 minutos), seguido por desorção parcial em tempos maiores. Atribui-se este comportamento ao comportamento polidisperso destes materiais: cadeias mais curtas são adsorvidas mais rapidamente, juntamente com algumas poucas cadeias longas; um melhor empacotamento ocorre, resultando em maior massa depositada. Com o tempo, cadeias maiores que levam mais tempo para se aproximar e interagir começam a se adsorver, e competem com as cadeias menores; muitas destas acabam sendo desorvidas e removidas da vizinhança por repulsão. Cadeias maiores empacotam-se sobre o substrato com menor eficiência, causando uma deposição mássica menos efetiva, porém com interações fortes pelos múltiplos pontos de ancoragem, o que resulta ao final em um filme mais estável.

O efeito da temperatura é o de aumentar a massa de material depositado com leve tendência exponencial, conforme a temperatura aumenta, dobrando a taxa de deposição quando indo de 10 para 30 °C (de 2,1 para 4,2 mg.m<sup>-2</sup> por camada). Este resultado é muito relevante, pois demonstra que a temperatura deve ser cuidadosamente estabilizada para que um processo reprodutível de fabricação possa ser estabelecido.

---

## Conclusões

---

Filmes de PHMB.HCl alternado com PEDOT:PSS puderam ser fabricados em ampla faixa

de condições, apresentando faixa de estabilidade quanto à taxa de deposição em função das variáveis estudadas. Taxas de crescimento típicas de 4,0 a 5,0 mg.m<sup>-2</sup> por camada foram obtidas para o PEDOT. Os filmes cresceram linearmente para todas as condições avaliadas, exceto para concentrações de KCl acima de 0,1 M. A temperatura é fator crítico para o controle do crescimento, pois variação de ±2 °C em torno de ambiente pode significar alteração de ±7% na taxa de deposição do PEDOT.

---

## Agradecimentos

---

Ao CNPq, FINEP/MCT e EMBRAPA pelo apoio financeiro, e à Arch Chemicals do Brasil pela doação das amostras de PHMB.

---

## Referências

---

- BHARATAM, P. V.; PATEL, D. S.; IQBAL, P. **Journal of Medicinal Chemistry**, Washington, v. 48, n. 24, p. 7615-7622, 2005.
- CIOSEK, P.; WRÓBLEWSKI, W. **The Analyst**, [S. l.], v. 132, p. 963-978, 2007.
- EAST, G. C.; MCINTYRE, J. E.; SHAO, J. **Polymer**, [S. l.], v. 38, n. 15, p. 3973-3984, 1997.
- KURTH, D. G.; VOLKMER, D.; KLITZING, R. V. Multilayers on Solid Planar Substrates: From Structure to Function. In: DECHER, G.; SCHLENOFF, J. B. **Multilayer Thin Films**. Weinheim: Wiley-VCH, 2002. p. 393-426.
- PAULA, G. F. 99 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.
- ZYKWINSKA, A.; DOMAGALA, W.; PILAWA, B.; LAPKOWSKI, M. **Electrochimica Acta**, New York, v. 50, n. 7-8, p. 1625-1633, 2004.



---

## CARACTERIZAÇÃO DE UM ELETRODO DE PASTA DE CARBONO MODIFICADO COM PANI E POEA PARA DETERMINAÇÃO VOLTAMÉTRICA DE TOXINAS VEGETAIS

---

João Paulo Saraiva Morais<sup>1\*</sup>, Wilson Tadeu Lopes da Silva<sup>2</sup>, Fernanda Ramos de Andrade<sup>2</sup>, Aline Carlos de Oliveira<sup>2</sup>, Juliano Elvis de Oliveira<sup>2</sup>, Viviane Grassi<sup>2</sup>, Carlos Manoel Pedro Vaz<sup>2</sup>, Luiz Henrique C. Mattoso<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Algodão, 58428-095, Campina Grande/PB;

<sup>2</sup>Embrapa Instrumentação Agropecuária, Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, 13560-970, São Carlos/SP \*saraiva@cnpa.embrapa.br

**Projeto Componente:** PC2

**Plano de Ação:** 01.05.1.01.02.02

---

### Resumo

Com o objetivo de verificar aumentos na corrente captada por eletrodos de pasta de carbono, eletrodos dessa natureza foram revestidos com filmes finos de PANI e POEA. Foi realizada voltametria cíclica do eletrodo padrão (pasta de carbono sem filme) e dos eletrodos revestidos com os polímeros condutores. Verificou-se que os polímeros aumentaram o pico da corrente induzida pela voltagem, servindo de base para futuros experimentos que demandem maior sensibilidade dos eletrodos

**Palavras-chave:** Automontagem, voltametria cíclica, polímeros condutores, eletrodos quimicamente modificado.

---

### Introdução

---

O termo eletrodo quimicamente modificado (EQM) foi introduzido no jargão eletroquímico por Moses et al. (1975) para designar eletrodos com espécies quimicamente ativas, deliberadamente imobilizadas em suas superfícies, com o objetivo de pré-estabelecer e controlar a natureza físico-química da interface eletrodo/solução. A modificação deliberada da superfície do eletrodo, como forma de impor e controlar sua reatividade e/ou seletividade, possibilita o desenvolvimento de eletrodos para vários propósitos e aplicações. Duas das principais vantagens de eletrodos a base de pasta de carbono são sua simplicidade de montagem e estabilidade, quando, por exemplo, comparados a biossensores (SIMÕES et al., 2004). Uma das técnicas bastante atrativa para a preparação de eletrodos modificados é o recobrimento da superfície do eletrodo com filmes poliméricos, que devem ser condutores ou

permeáveis ao eletrólito de suporte e à espécie de interesse. A modificação de eletrodos com membranas poliméricas permite a imobilização de muitas monocamadas (1 a 20.000) da espécie ativa na superfície a ser modificada, o que resulta na ampliação da resposta eletroquímica. A cobertura polimérica pode ser obtida a partir de soluções de polímeros pré-formados, ou através de polimerização *in situ* a partir de unidades monoméricas (SOUZA, 1997). A polianilina (PANI) e seus derivados, como a polietoxianilina (POEA), quando dopados, resultam em polímeros intrinsecamente condutores. Devido à facilidade de síntese e suas excelentes propriedades elétricas, os polímeros condutores têm sido amplamente utilizados na fabricação de sensores (GUISEPPIELIE, 1998). Estes polímeros, na presença de determinadas substâncias químicas, sofrem diversas alterações físicas e estruturais, em função de variações no estado de oxidação, que acabam tendo poli-o-etoxianilina (POEA) no aumento da

sensibilidade de eletrodos de pasta de carbono para uma possível aplicação na determinação como efeito primário uma mudança na mobilidade dos portadores de carga (diminuindo ou aumentando a resistência elétrica), provocando uma diferença de potencial analiticamente mensurável. Conseqüentemente, a utilização de polímeros orgânicos condutores como materiais ativos e transdutores em sistemas químicos e biológicos têm levado a um aumento de sensibilidade e seletividade dos sensores fabricados. Devido a estas características, estes materiais vêm sendo utilizados na preparação de eletrodos modificados, por diversas técnicas, como eletropolimerização, Langmuir-Blodgett, automontagem, cast, dip coating, e para a modificação de eletrodos de pasta de carbono. Com o objetivo de avaliar o efeito da adição dos polímeros polianilina (PANI) e de toxinas vegetais, estudos de voltametrias cíclicas de eletrodos de pasta de carbono com e sem revestimento de polímeros foram realizados.

## Materiais e métodos

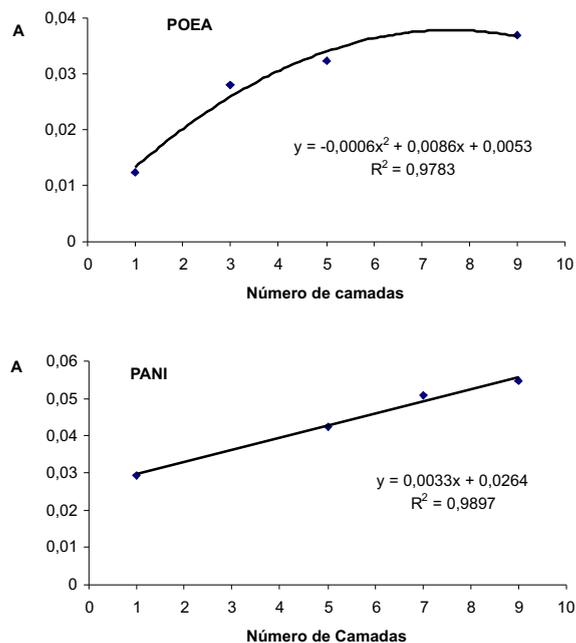
Filmes finos de polímeros condutores foram depositados em placas de vidro óptico (1 x 3 cm). A fabricação de filmes ultrafinos foi realizada pela técnica de automontagem, sendo o monitoramento da deposição dos filmes finos em função da quantidade de material depositado em cada camada, realizado por espectroscopia UV-Vis. Eletrodos de pasta de carbono foram preparados pela mistura de grafite em pó e óleo mineral na proporção de 1:3 (m/m) e, soluções de polímeros condutores na concentração de  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  de POEA (pH 2,8) e  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  de PANI (pH 3,7) foram empregadas para realização do revestimento. Este foi realizado fazendo-se a imersão dos eletrodos nas soluções poliméricas por 5 minutos, seguidos de enxágue em soluções de água ultra-pura com pHs ajustados com ácido clorídrico  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$  para os mesmos pHs das soluções dos polímeros, e postos para secar por alguns minutos. O procedimento foi repetido para o crescimento de cinco camadas.

A seguir, foram realizadas voltametrias cíclicas, em aparelho potenciostato/galvanostato da Princeton Applied Research (PAR), modelo 283, com variação de potencial de 0 V a +1 V e depois retorno a 0 V e velocidade de varredura de  $20 \text{ mV s}^{-1}$  em solução de ácido sulfúrico  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  com ferrocianeto de potássio  $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ . O eletrodo referência empregado foi calomelano e o contraeletrodo, um fio em espiral de platina. As análises foram realizadas em triplicata, calculando-se as alturas dos picos em microampere. Os resultados foram analisados por análise de variância e teste de Tukey a 5% de significância.

## Resultados e discussão

Foram avaliados os crescimentos de filmes

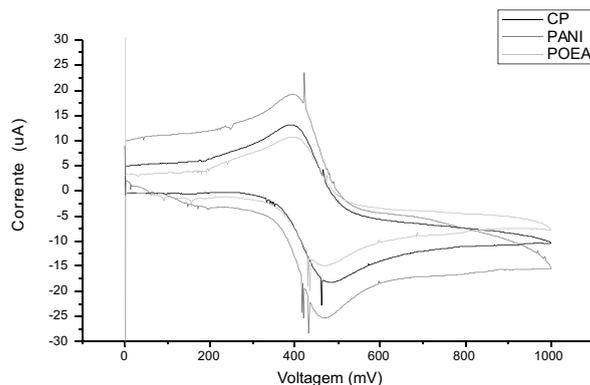
dos polímeros em cada camada monitorando-se o aumento de absorvância a 320 nm (Fig. 1).



**Fig. 1.** Curva de crescimento da absorvância a 320 nm dos polímeros condutores PANi e POEA em função do número de camadas depositadas sobre placas de vidro óptico.

Verificou-se que o crescimento do filme de POEA apresentou comportamento polinomial de segunda ordem, indicando um depósito desigual do polímero conforme o aumento do número de camadas, ao passo que os sinais referentes ao depósito de PANI demonstram um comportamento linear, indicando uma formação de camadas com depósito de material similar em cada camada.

A Figura 2 ilustra os perfis voltamétricos dos eletrodos de pasta de carbono com e sem modificação.



**Fig. 2.** Perfil voltamétrico dos eletrodos com e sem modificação.

Pode-se observar que os eletrodos revestidos com PANi apresentaram uma corrente resultante com

maior intensidade do que o eletrodo padrão e o revestido com POEA. Pela Tabela 1, verifica-se que a adição dos polímeros condutores levou a um deslocamento de +6 mV do potencial do pico anódico do eletrodo.

**Tabela 1.** Corrente e potencial de picos anódicos de eletrodos de pasta de carbono com e sem revestimento de filmes finos de polímeros condutores.

Eletrodo	Corrente de pico anódica ( A )	Potencial de pico anódico (mV)
Pasta de carbono	464	16,72
Pasta de carbono + POEA	470	19,48
Pasta de carbono + PANI	470	19,18

O aumento do pico da corrente anódica do eletrodo revestido com POEA, em relação ao eletrodo constituído simplesmente de pasta de carbono é devido à menor inclinação da linha de base do voltamograma.

Apesar de não haver diferença estatística a 5% de significância ( $p=0,3759$ ) entre os eletrodos, pode-se observar que houve um incremento de sinal de 16,51% no eletrodo revestido com POEA e 12,61% naquele revestido com PANI. Provavelmente essa diferença não foi notada pelo baixo número de repetições utilizadas. No trabalho de Consolin Filho et al. (2006), o revestimento de eletrodos de pasta de carbono ocasionou um aumento na sensibilidade para detecção de imazaquin, reduzindo o limite de detecção.

---

## Conclusões

---

Apesar dos resultados serem preliminares, pode-se verificar que o revestimento de eletrodos de pasta de carbono com polímeros condutores é vantajoso para aumentar a altura da corrente de pico, possibilitando a construção de eletrodos mais adequados na detecção de espécies químicas e determinação voltamétrica de toxinas vegetais.

---

## Agradecimentos

---

Agradecimentos à EMBRAPA, FINEP/MCT, FAPESP e CNPq por concessão de bolsas.

---

## Referências

---

MOSES, P. R.; WIER, P.; MURRAY, R. W. Chemically modified tin oxide electrode. **Analytical Chemistry**, [S. l.], v. 47, p. 1882, 1975.  
SOUZA, M. F. B. Eletrodos quimicamente modificados aplicados à eletroanálise: uma breve abordagem. **Química Nova**, São Paulo, v. 20, n. 2, p. 191, 1997.

GUISEPPI-ELIE, A.; WALLACE, G. G.; MATSUE, T. Chemical and biological sensors based on electrically conducting polymers. In: SKOYHEIM, T. A. et. al. **Handbook of conducting polymers**. 2<sup>nd</sup> ed. Nova iorque: Marcel Dekker, 1998. cap. 34. p. 963.

CONSOLIN FILHO, N.; VENÂNCIO, E. C.; MEDEIROS, E. S.; TANIMOTO, S. T.; MACHADO, S. A. S.; MATTOSO, L. H. C. Voltammetric determination of Imazaquin using polyaniline modified carbon paste electrode (CPE). **Sensor Letters**, [S. l.], v. 4, n. 1, p. 1, 2006.

SIMÕES, F. R.; MATTOSO, L. H. C.; VAZ, C. M. P. Modified carbon paste-polyaniline electrodes for the electrochemical determination of the herbicied 2,4-D. **Sensor Letters**, [S. l.], v. 2, n. 3, p. 221, 2004.



---

## PERFIL VOLTAMÉTRICO DE ELETRODOS DE PASTA DE CARBONO MODIFICADOS COM FILMES FINOS DE POLÍMEROS CONDUTORES

---

João Paulo Saraiva Morais<sup>1</sup>, Wilson Tadeu Lopes da Silva<sup>2</sup>, Fernanda Ramos de Andrade<sup>2</sup>, Aline Carlos de Oliveira<sup>2</sup>, Juliano Elvis de Oliveira<sup>2</sup>, Viviane Grassi<sup>2</sup>, Carlos Manoel Pedro Vaz<sup>2</sup>, Luiz Henrique C. Mattoso<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Algodão

<sup>2</sup>Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação Agropecuária, \*saraiva@cnpa.embrapa.br

**Projeto Componente:** PC2

**Plano de Ação:** 01.05.1.01.02.02

---

### Resumo

Com o objetivo de verificar aumentos na corrente captada por eletrodos de pasta de carbono, eletrodos dessa natureza foram revestidos com filmes finos de polianilina (PANI) e poli(orto-etoxianilina) (POEA). Foi realizada voltametria cíclica do eletrodo padrão (pasta de carbono sem filme) e dos eletrodos revestidos com os polímeros condutores. Verificou-se que os polímeros aumentaram o pico da corrente induzida pela voltagem, servindo de base para futuros experimentos que demandem maior sensibilidade dos eletrodos.

**Palavras-chave:** polianilina, sensores, pasta de carbono, automontagem, voltametria cíclica.

---

### Introdução

A imobilização de mediadores de elétrons sobre superfícies para produzir eletrodos quimicamente modificados para uso em eletroanálise vem sendo amplamente investigada durante as últimas duas décadas, sendo empregados diferentes materiais (PEREIRA; KUBOTA, 2004). Polímeros condutores têm sido usados em muitas aplicações diferentes, como mostradores eletrocromáticos, revestimentos antiestáticos e, recentemente, em sensores, pelo método relativamente simples de síntese e suas propriedades elétricas (CONSOLIN et al., 2006). Duas das principais vantagens de eletrodos a base de pasta de carbono são sua simplicidade de montagem e estabilidade, quando comparados a biossensores, por exemplo (SIMÕES et al., 2004). Com o objetivo de avaliar o efeito dos polímeros polianilina (PANI) e poli-o-etoxianilina (POEA) sobre o aumento da sensibilidade de eletrodos de pasta de carbono,

foram realizadas voltametrias cíclicas de eletrodos de pasta de carbono com e sem revestimento de polímeros condutores.

### Materiais e métodos

Antes do preparo dos eletrodos, foi realizado um teste de crescimento de filmes dos polímeros condutores, em placas de vidro óptico, acompanhadas pelo crescimento da absorvância em espectrofotômetro. Foram preparados eletrodos de pasta de carbono de grafite em pó e óleo mineral na proporção de 1:3 (m/m). Foram utilizados como polímeros condutores soluções  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  de POEA em pH 2,8 e PANI em pH 3,7. O revestimento foi realizado com a imersão dos eletrodos nas soluções por 5 minutos, a seguir enxaguados em soluções de água deionizada com pHs ajustados com ácido clorídrico 1M para os mesmos pHs das soluções dos polímeros, e postos para secar por

alguns minutos. O procedimento foi repetido para o crescimento de cinco camadas. A seguir, foram realizadas voltametrias cíclicas, em aparelho potenciostato/galvanostato da Princeton Applied Research (PAR), de 0V a +1V e depois retornando para 0V, na velocidade de 20 mV s<sup>-1</sup>, em solução de ferrocianeto de potássio 5,0 mmol L<sup>-1</sup> em ácido sulfúrico 0,5 mol L<sup>-1</sup>, tendo como eletrodo referência calomelano e contraeletrodo um fio em espiral de platina. As análises foram realizadas em triplicata, calculada a altura dos picos em microampere e realizados os testes de análise de variância e teste de Tukey, a 5% de significância.

## Resultados e discussão

Os resultados obtidos estão mostrados na Tabela 1.

**Tabela 1.** Corrente e potencial de picos anódicos de eletrodos de pasta de carbono com e sem revestimento de filmes finos de polímeros condutores.

Eletrodo	Corrente de pico anódica ( A)	Corrente de pico anódica (mV)
Pasta de carbono	16,72	464
Pasta de carbono + POEA	19,48	470
Pasta de carbono + PANI	19,18	470

Apesar de não haver diferença estatística a 5% de significância ( $p=0,3759$ ), pode-se observar que houve um incremento de sinal de 16,51% no eletrodo revestido com POEA e 12,61% naquele revestido com PANI. Provavelmente essa diferença não foi notada pelo baixo número de repetições utilizadas. No trabalho de Consolin Filho e colaboradores, o revestimento de eletrodos de pasta de carbono aumentou a sensibilidade para detecção de imazaquin, reduzindo o limite de detecção. Para o eletrodo de pasta de carbono, o potencial de pico anódico.

## Conclusões

Apesar dos resultados serem preliminares, pode-se verificar que o revestimento de eletrodos de pasta de carbono com polímeros condutores é vantajoso para aumentar a altura da corrente de pico, possibilitando a construção de eletrodos mais adequados na detecção de espécies químicas.

## Agradecimentos

Agradecimentos à FINEP/MCT, EMBRAPA, FAPESP e CNPq pelo apoio financeiro.

## Referências

- CONSOLIN FILHO, N.C.; VENÂNCIO, E. C.; MEDEIROS, E. S.; TANIMOTO, S. T.; MACHADO, S. A. S.; MATTOSO, L. H. C. Voltammetric determination of Imazaquin using polyaniline modified carbon paste electrode (CPE). *Sensor Letters*, [S.l.], v. 4, n. 1, p. 1-6, 2006.
- PEREIRA, A. C.; KUBOTA, L. T. Otimização da preparação de eletrodo de pasta de carbono contendo riboflavina imobilizada em suporte inorgânico. *Química Nova*, São Paulo, v. 27, n. 5, p. 725-729, 2004.
- SIMÕES, F. R.; MATTOSO, L. H. C.; VAZ, C. M. P. Modified carbon paste-polyaniline electrodes for the electrochemical determination of the herbicid 2,4-D. *Sensor Letters*, [S.l.], v. 2, n. 3, p. 1-5, 2004.



---

## DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS VOLTAMÉTRICOS PARA DETERMINAÇÃO DE RUTINA E GENISTEÍNA EM GRÃOS E FOLHAS DE SOJA

---

Jonatas G. da Silva<sup>1,2</sup>, Mariana R. L. e Silva<sup>1,2</sup>, Aline C. de Oliveira<sup>3,4</sup>, Maria Carolina B. Moraes<sup>1</sup>, Luzia Helena C. Lima<sup>1</sup>, Jurandir R. de Souza<sup>2</sup>, Lúcia Helena Mascaro<sup>4</sup>, Carlos M. P. Vaz<sup>3</sup> e Clarissa S. P. de Castro<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, CP 2372, CEP 70.770-917, Brasília DF

<sup>2</sup>Instituto de Química, Universidade de Brasília, CP 4394, CEP 70.919-970, Brasília DF

<sup>3</sup>Embrapa Instrumentação Agropecuária, CP 741, CEP 13.560-970, São Carlos SP

<sup>4</sup>Departamento de Química UFSCar, CP 676, CEP 13.565-905, São Carlos - SP

\*clarissa@cenargen.embrapa.br

**Projeto Componente:** PC2

**Plano de Ação:** 01.05.1.001.02.02

---

### Resumo

A rutina e a genisteína são metabólitos secundários que atuam no sistema de defesa da soja contra insetos-praga. Neste trabalho, dois métodos voltamétricos, empregando os eletrodos de mercúrio (HMDE) e de carbono vítreo e as técnicas voltamétricas de pulso diferencial e de redissolução catódica, foram desenvolvidos para a determinação de rutina e genisteína. Os métodos desenvolvidos apresentaram baixos limites de detecção e quantificação, boa repetibilidade e sensibilidade, tornando-se excelentes alternativas para a determinação de rutina e genisteína em grãos e folhas de soja.

**Palavras-chave:** rutina, genisteína, soja, eletrodo de mercúrio, eletrodo de carbono vítreo, voltametria.

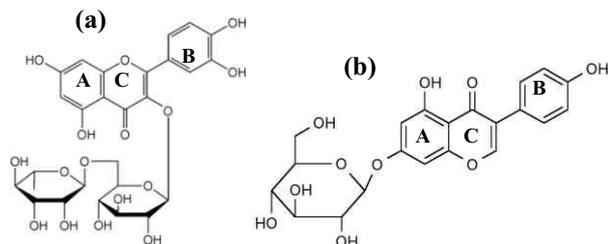
---

### Introdução

A soja é a oleaginosa mais produzida e consumida no mundo. Uma das conseqüências das grandes áreas cultivadas com soja está relacionada ao aumento de pragas. Nos últimos anos, o desenvolvimento de cultivares de soja resistentes tem sido uma ferramenta alternativa para controle de pragas em substituição aos inseticidas químicos. Um dos principais responsáveis pela resistência da soja a insetos-praga são os metabólitos secundários, principalmente os flavonóides (PIUBELI et al., 2005; ZHU e PARK, 2005). O desenvolvimento de métodos para a determinação destes metabólitos, em diferentes tecidos das plantas de soja, poderá fornecer dados relevantes sobre como esses compostos são usados no meio ambiente pelas

plantas na defesa contra insetos-praga. Atualmente os métodos de cromatografia líquida e de espectrometria de massas têm sido utilizados na determinação de flavonóides; porém, esses métodos são de alto custo, exigem processos laboriosos de preparação de amostra e muitas vezes não preservam a forma química de como esses compostos são encontrados na planta. Os métodos eletroquímicos superam essas desvantagens, pois são métodos não destrutivos, de baixo custo, de alta sensibilidade; podendo ser levados para o campo e por essa razão têm sido aplicados na determinação de flavonóides em suco, chá, medicamentos e fluidos biológicos utilizando eletrodos de mercúrio e carbono (TEMERK et al., 2006; ENSAFI e HAJJAN, 2006). O presente trabalho tem como objetivo desenvolver métodos para a determinação dos flavonóides rutina

e genisteína (Fig. 1) em grãos e folhas de soja, empregando os eletrodos de mercúrio (HMDE) e de carbono vítreo (GC) e as técnicas voltamétricas de pulso diferencial (DPV) e de redissolução catódica (CSV).



**Fig.1.** Estruturas Químicas dos flavonóides Rutina (a) e Genisteína (b).

## Materiais e métodos

Todas as medidas voltamétricas foram realizadas em triplicata, utilizando-se o analisador voltamétrico Metrohm 797 e uma célula eletroquímica composta pelos eletrodos GC ou HMDE (trabalho), Ag/AgCl (KCl 3 mol L<sup>-1</sup>) (referência) e platina (auxiliar). As soluções padrão de rutina e genisteína foram preparadas em uma mistura etanol-água 1:1 (v/v). Inicialmente foram otimizados os parâmetros voltamétricos e as condições experimentais dos métodos: eletrólito suporte, potencial de deposição, amplitude de pulso, velocidade de varredura, tempo de deposição e concentração de Cu(II). Em seguida foram obtidas as curvas analíticas pelo método de adição de padrão para cada um dos métodos.

## Resultados e discussão

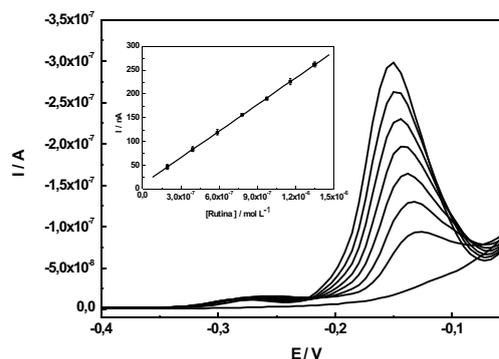
Foram desenvolvidos dois métodos voltamétricos para a determinação de rutina e genisteína em grãos e folhas de soja.

O primeiro método, onde se utilizou a CSV e o HMDE para a determinação de rutina, baseia-se no aparecimento de um sinal ( $E = -0,150$  V) nos voltamogramas (Fig. 2) que corresponde ao processo de redução do complexo formado entre os íons Cu(II) e a rutina.

Os parâmetros voltamétricos e as condições experimentais otimizadas para a determinação de rutina utilizando-se a CSV e o HMDE são mostrados na Tabela 1.

A curva analítica (Fig. 2, inserção), para a rutina, apresentou a equação  $I_{pc}$  (nA) = 10,07 + 1,86x10<sup>8</sup>[Rutina] ( $r = 0,9999$ ) e linearidade entre 1,96x10<sup>-7</sup> a 1,35x10<sup>-6</sup> mol L<sup>-1</sup>, com limite de detecção 7,00x10<sup>-9</sup> mol L<sup>-1</sup> e limite de quantificação

2,20x10<sup>-8</sup> mol L<sup>-1</sup>, calculados a partir de: LD = 3Sb/b; LQ = 10Sb/b, onde Sb é o desvio padrão das medidas do branco e b é a inclinação da curva analítica.



**Fig. 2.** Voltamogramas de redissolução catódica de pulso diferencial para 160 L de Cu(II) 1 x 10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup> em 10 mL de tampão fosfato pH = 6,00 com adições sucessivas de 20 L de Rutina 1 x 10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup>.  $E_d = -1,0$  V,  $t_d = 180$  s,  $E_i = 0,1$  V;  $E_r = -0,4$  V,  $v = 0,050$  V s<sup>-1</sup>, Eletrodo de trabalho: HMDE, Eletrodo de referência: Ag/AgCl (KCl 3 mol L<sup>-1</sup>).

**Tabela 1.** Parâmetros voltamétricos e condições experimentais otimizadas para a determinação de rutina utilizando-se a CSV e o HMDE.

Parâmetros	Rutina
Eletrólito suporte Tampão	Fosfato pH 6,00
Potencial de deposição	- 1,0 V
Amplitude do pulso	70 mV
Velocidade de varredura	50 mV s <sup>-1</sup>
Tempo de deposição	180 s
Concentração de Cu(II)	1,57x10 <sup>-6</sup> mol L <sup>-1</sup>

O segundo método, onde se utilizou a DPV e o GC para a determinação de rutina e genisteína, baseia-se no aparecimento de um sinal ( $E = 0,250$  V- Fig 3;  $E = 0,580$  V- Fig.4) nos voltamogramas (Figs. 3 e 4) que corresponde ao processo de oxidação dos grupos hidroxilas dos anéis B de ambos os flavonóides.

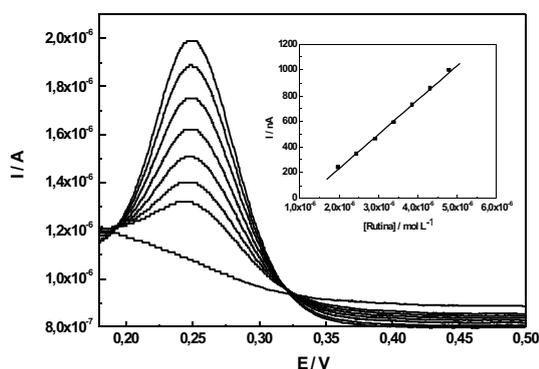
Os parâmetros voltamétricos e as condições experimentais otimizadas para a determinação de rutina e genisteína utilizando-se a DPV e o GC são mostrados na Tabela 2.

O estudo para repetibilidade de resposta do eletrodo de GC para a determinação de rutina e genisteína apresentou RSD menor que 2% (n=10). A Figura 3 apresenta os voltamogramas de pulso diferencial obtidos para rutina no intervalo de concentração de 1,96x10<sup>-6</sup> a 4,78x10<sup>-6</sup> mol L<sup>-1</sup> e equação  $I_{pa}$ (nA) = -297,79 + 2,66x10<sup>8</sup>[Rutina] ( $r = 0,9991$ ) (Fig. 3, inserção), com LD 2,06x10<sup>-7</sup> mol L<sup>-1</sup> e LQ 6,85x10<sup>-7</sup> mol L<sup>-1</sup>.

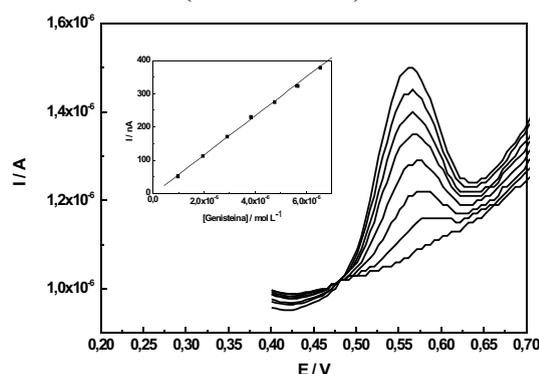
O método desenvolvido para a determinação de rutina, empregando o HMDE e a CSV, apresentou limite de detecção mais baixo que o método utilizando o eletrodo de GC e a DPV.

A Figura 4 apresenta os voltamogramas de pulso diferencial obtidos para genisteína no intervalo de concentração de  $9,90 \times 10^{-7}$  a  $6,57 \times 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup> e equação  $I_{pa}(\text{nA}) = -2,55 + 5,89 \times 10^7 [\text{Genisteína}]$ , com coeficiente de correlação de 0,9989 (Fig. 4, inserção) e LD  $5,89 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup> e LQ  $1,95 \times 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup>.

Observou-se que os potenciais de oxidação da rutina (0,25V) e da genisteína (0,58V) são diferentes, possibilitando uma possível determinação dos dois flavonóides em uma única varredura utilizando o segundo método.



**Fig. 3.** Voltamogramas de pulso diferencial em 10 mL de tampão fosfato pH = 7,00 com adições sucessivas de 20 L de rutina  $1 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>.  $E_i = 0,15\text{V}$ ;  $E_f = 0,6\text{V}$ ,  $v = 0,005\text{V s}^{-1}$ , Eletrodo de trabalho: GC, Eletrodo de referência: Ag/AgCl (KCl 3 mol L<sup>-1</sup>).



**Fig. 4.** Voltamogramas de pulso diferencial em 10 mL de tampão fosfato pH = 7,00 com adições sucessivas de 100 L de genisteína  $1 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>.  $E_i = 0,4\text{V}$ ;  $E_f = 0,7\text{V}$ ,  $v = 0,005\text{V s}^{-1}$ , Eletrodo de trabalho: GC, Eletrodo de referência: Ag/AgCl (KCl 3 mol L<sup>-1</sup>).

Os métodos desenvolvidos estão sendo aplicados na determinação de rutina e genisteína em grãos e folhas de diferentes cultivares de soja (IAC 100, Sylvania, BRQ-903065 e Dowling).

**Tabela 2.** Parâmetros voltamétricos e condições experimentais otimizadas para a determinação de rutina e genisteína utilizando-se a DPV e o GC.

Parâmetros	Rutina	Genisteína
Eletrolito suporte	Tampao Fosfato pH 7,00	Tampao Fosfato pH 6,00
Amplitude do pulso	50 mV	50 mV
Velocidade de varredura	5 mV s <sup>-1</sup>	50 mV s <sup>-1</sup>

## Conclusões

Os métodos voltamétricos desenvolvidos para a determinação de rutina e genisteína, utilizando os eletrodos HMDE e GC e as técnicas CSV e DPV, apresentaram boa sensibilidade e baixos limites de detecção e quantificação, tornando-se excelentes alternativas para a determinação desses flavonóides em uma única varredura em grãos e folhas de soja. Os primeiros resultados da aplicação dos métodos desenvolvidos na análise de quatro cultivares de soja já estão sendo obtidos e informações relevantes sobre como esses flavonóides são usados no meio ambiente pelas plantas na defesa contra insetos-praga poderão num futuro próximo serem obtidas.

## Agradecimentos

CENARGEN, UnB, CNPDIA, UFSCar, CNPq e CAPES.

## Referências

- PIUBELI, G.C.; HOFFMANN-CAMPO, C.B.; MOSCARDI, F.; MIYAKUBO, S.H.; OLIVEIRA, M.C.N.; **Journal of Chemical Ecology**, v. 31, n. 7, p.1509-1525, 2005.
- ZHU, J.W.; PARK, K.C.; **Journal of Chemical Ecology**, v. 31, n. 7, p. 1733-1746, 2005.
- TEMERK, Y.M.; IBRAHIM, H.S.M.; SCHUHMANN, W.; **Microchimica Acta**, v. 153, p. 7-13, 2006.
- ENSAFI, A.A.; HAJJAN, R.; **Electroanalysis**, v. 18, n. 6, p. 579-585, 2006.



---

## ANÁLISE SENSORIAL DESCRITIVA E POR SENSORES GUSTATIVOS ELETRÔNICOS (OU LÍNGUA ELETRÔNICA) EM CULTIVARES DE SOJA

---

Josemeyre Bonifácio da Silva<sup>1</sup>, Mercedes Concórdia Carrão Panizzi<sup>2</sup>, Fernando Josepetti Fonseca<sup>3</sup>, Sandra Helena Prudêncio<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual de Londrina, Departamento de Ciência de Alimentos, Campus Universitário, Caixa Postal 6001, CEP 86051-990 Londrina, PR, Brasil. E-mail: josi@cnpso.embrapa.br, sandrah@uel.br

<sup>2</sup>Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Centro Nacional de Pesquisa da Soja, Rodovia Carlos João Strass - Distrito de Warta, Caixa Postal 231. CEP 86001-970 Londrina, PR, Brasil. E-mail: mercedes@cnpso.embrapa.br

<sup>3</sup>Escola Politécnica da Universidade de São Paulo. Avenida Prof. Luciano Gualberto, travessa 3, n° 158, Butantã CEP 05508-900 São Paulo, SP Brasil. E-mail: fernando.fonseca@poli.usp.br

**Projeto Componente:** PC 2

**Plano de ação:** 01.05.1.02.03

---

### Resumo

O trabalho teve como objetivo estudar as características sensoriais de diferentes cultivares de soja utilizando a Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) e a língua eletrônica. Por meio da análise sensorial, as cultivares de soja estudadas foram classificadas em cinco grupos distintos: o grupo da cultivar BRS 213 (desprovida de lipoxigenases), o da BRS 216 (tamanho de grão pequeno), o da BRS 267 (tipo hortaliça), o da BRS 133 (convencional) e o da cultivar BRS 258 (convencional). Os sensores eletrônicos também foram eficazes em distinguir e separar as cultivares de soja em cinco grupos diferentes apresentando respostas semelhantes às dos provadores treinados.

**Palavras-chave:** língua eletrônica, análise sensorial, soja.

---

### Introdução

De acordo com os diferentes usos, as cultivares de soja são classificadas em: tipo grão e tipo alimento (LIU, 1999). As tipo grão são as cultivares convencionais direcionadas para o processamento de óleo e alimentação animal e apresentam o sabor característico da soja descrito de maneira geral como “beany” flavor. As tipo alimento são as cultivares para consumo humano que devem apresentar características químicas, físicas e sensoriais especiais como maior teor de proteínas, ausência das enzimas lipoxigenases e menor teor de hexanal (compostos associados ao desenvolvimento do “beany” flavor), maior teor de açúcares e dos

aminoácidos ácido glutâmico e alanina relacionados ao sabor suave de cultivares de soja tipo hortaliça (KITAMURA, 1993; MASUDA, 1991). A análise sensorial é uma disciplina científica usada para medir, analisar e interpretar reações produzidas pelas características dos alimentos quando são percebidas pelos órgãos dos sentidos (visão, odor, gosto, tato e audição). Pela Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) pode-se qualificar e quantificar os atributos sensoriais dos alimentos relacionados à aparência, aroma, sabor e textura (STONE e SIDEL, 2004). A utilização da língua eletrônica na avaliação de alimentos pode fornecer uma resposta rápida, precisa e qualitativa e ainda, pode funcionar como instrumento de auxílio ao trabalho dos provadores. O

funcionamento do sensor gustativo eletrônico utiliza o conceito da língua humana, conhecido como seletividade global, ou seja, o sistema biológico não identifica uma substância específica, mas agrupa toda a informação em padrões que o cérebro decodifica (RIUL JR et al., 2003). O trabalho teve como objetivo estudar as possibilidades do uso da língua eletrônica para avaliação do sabor de linhagens em programas de melhoramento para obtenção de cultivares de soja com sabor superior. Para essa definição foram estudadas as características sensoriais de diferentes cultivares de soja por meio da Análise Descritiva Quantitativa e da língua eletrônica.

---

### **Materiais e métodos**

---

Os grãos de soja foram fornecidos pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Centro Nacional de Pesquisa da Soja (Embrapa Soja). Foram utilizados grãos provenientes das cultivares convencionais BRS 133 e BRS 258 e das cultivares indicadas para consumo humano BRS 213 (desprovida das lipoxigenases), BRS 216 (tamanho de grão pequeno) e BRS 267 (tipo hortaliça). Para avaliação, os grãos de soja foram macerados durante 16 horas a temperatura ambiente (25 °C) e, cozidos em autoclave por 5 minutos a temperatura de 121 °C. A Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) dos grãos de soja cozidos foi conduzida segundo metodologia descrita por Stone e Sidel (2004) e realizada no laboratório de análise sensorial da Embrapa Soja. Foram selecionados 10 provadores de acordo com seus desempenhos nos testes de reconhecimento de gostos básicos e odores e testes de intensidade de dureza e cor. O desenvolvimento da terminologia descritiva dos grãos de soja cozidos foi conduzido utilizando-se o Método Rede (MOSKOWITZ, 1983). Os atributos sensoriais levantados pela equipe treinada foram: aparência (tamanho do grão, cor creme do grão, formato do grão, cor do hilo), aroma (de ranço, de feijão cozido e adocicado), sabor (de ranço, de feijão cozido, doce, amargo, adstringente, umami) e textura (dureza). Os provadores avaliaram as amostras em cabines individuais, sob luz branca fluorescente e à temperatura ambiente (25 °C). As amostras foram apresentadas, aleatoriamente e sequencialmente, aos provadores que avaliaram os atributos utilizando a ficha de avaliação desenvolvida durante as sessões de treinamento para registrarem suas notas. A escala utilizada foi a não estruturada de 9 cm ancorada nos extremos com as palavras que indicavam o aumento da intensidade de cada atributo da esquerda para a

direita. Foram realizadas três sessões individuais para avaliação dos grãos de soja cozidos. Para análise dos grãos de soja utilizando a língua eletrônica, as amostras cozidas foram trituradas no próprio meio de cozimento e filtradas em tecido de algodão com auxílio de aplicação de força mecânica. Logo após, diluídas em água destilada na proporção de 1:10 (v/v), homogeneizadas e filtradas com papel filtro (14 µm). Os sensores gustativos eletrônicos foram fabricados pela técnica de automontagem empregando-se um sistema automático de deposição de filmes desenvolvido pelo grupo de eletrônica molecular da Escola Politécnica da USP. Para os filmes foram empregados os polímeros condutores como polianilina, poli(o-etoxianilina), poli(3,4-etileno dioxitiofeno) e polipirrol, em combinações com outros polímeros como poliestireno sulfonado, lignina sulfonada e hidrocloreto de polialilamina. Os filmes foram depositados sobre substratos de placas de vidro ótico (BK7 30 x 10 x 1 mm) contendo o eletrodo interdigitado de ouro. A deposição dos filmes sobre os substratos foi realizada através da adsorção espontânea dos polímeros em solução a um substrato sólido de vidro contendo o eletrodo interdigitado de ouro, a partir de interações eletrostáticas. As medidas de impedância elétrica foram obtidas mergulhando-se os sensores eletrônicos dentro do béquer contendo a amostra (temperatura de 25 °C) a partir de um medidor de impedância do tipo LCR (HP LCR Meter modelo 4263A) interfaciado com um computador através da placa GPIB. As medidas foram realizadas na frequência fixa em 1 kHz e tensão alternada de 50 mV. A Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) foi conduzida de acordo com o delineamento experimental de blocos completos casualizados. O delineamento da língua eletrônica foi o inteiramente casualizado com 3 repetições e 5 medidas para cada repetição. Os resultados foram submetidos à Análise de Componente Principais (ACP) utilizando o programa STATISTICA, versão 6.0 (2001).

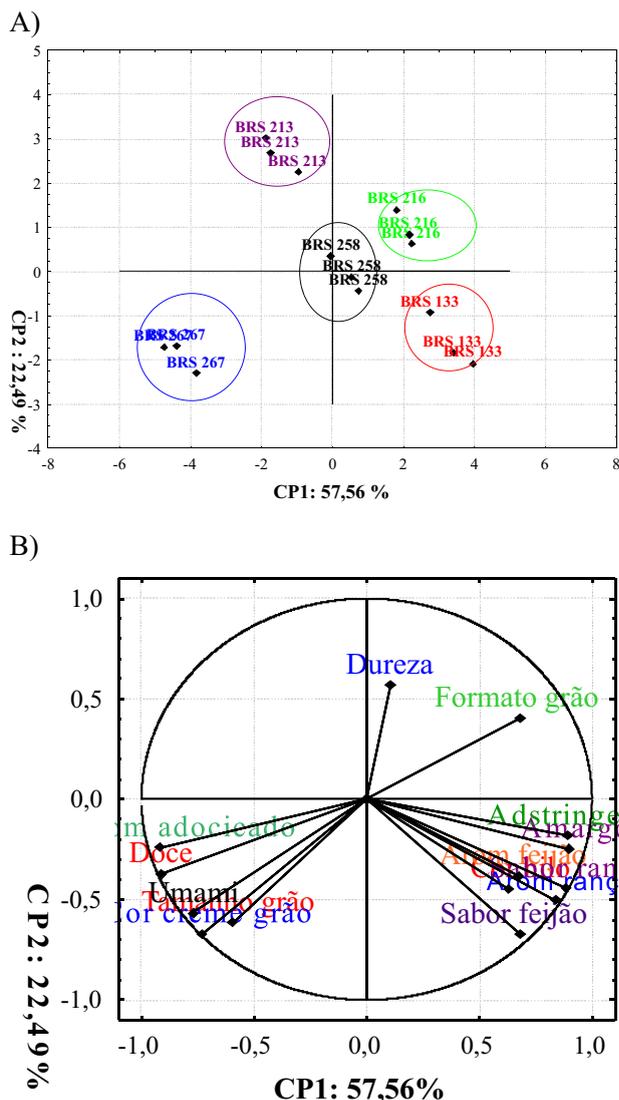
---

### **Resultados e discussão**

---

Os resultados da análise sensorial descritiva estão na Figura 1. A projeção, em cores diferentes, das cultivares BRS 213, BRS 216, BRS 267, BRS 258 e BRS 133 sobre o plano fatorial (CP1 x CP2) obtido da Análise de Componentes Principais (ACP) estão na Figura 1A. Na Figura 1B está a projeção dos atributos sensoriais. A ACP permite obter uma visão global dos resultados, mostrando as relações existentes entre as cultivares e os atributos sensoriais que melhor as caracterizaram (DAMASIO e DA SILVA, 1994; FERREIRA, 2008). O primeiro

componente principal (Cp1) explicou 57,6 % da variação total existente entre os dados, e o segundo componente principal (CP2) explicou 22,5 %, totalizando 80,1 % de explicação. Na Figura 1A, cada repetição da análise sensorial está representada por losangos, como os losangos de cada cultivar estão próximos entre si significa que houve boa repetibilidade da avaliação. Quando as amostras estão próximas entre si significa que são semelhantes em relação aos atributos julgados e amostras distantes uma das outras mostram diferenças entre si. No presente estudo, as cultivares de soja foram separadas em cinco grupos distintos. Cada grupo foi formado pelas 3 repetições de cada cultivar e demonstrado por um círculo colorido, a saber: cultivar convencional BRS 133 (cor vermelha), cultivar BRS 216 (cor verde, cultivar BRS 258 (cor preta), cultivar desprovida de lipoxigenases BRS 213 (cor roxa) e cultivar tipo hortaliça BRS 267 (cor azul). Na Figura 1B os atributos sensoriais estão representados como vetores. Quando os vetores são decompostos em um eixo ou CP e apresentam-se como vetores longos significa que possuem alta correlação (> 0,7 em módulo) com o eixo e contribuem para explicação da variabilidade dos dados mostrada naquele CP (DAMASIO e DA SILVA, 1994; FERREIRA, 2008). A variabilidade explicada no CP1 (57,6 %) foi devido, principalmente, aos atributos cor creme do grão (correlação negativa), aroma de ranço, aroma adocicado (correlação negativa), sabor de ranço, gosto doce (correlação negativa), amargo, adstringente e umami (correlação negativa). Dessa forma na Figura 1A, a cultivar BRS 267, localizada mais à esquerda, provavelmente apresenta maior intensidade do aroma adocicado, gosto doce e umami e menor intensidade dos atributos aroma de ranço e de feijão cozido, sabor de ranço e de feijão cozido, gosto amargo e adstringente. Já as cultivares localizadas mais à direita (cultivares BRS 133 e BRS 216) possuem, possivelmente, maior intensidade dos atributos aroma de ranço e de feijão cozido; sabor de ranço e de feijão cozido; gosto amargo e adstringente e menor intensidade dos atributos aroma adocicado, gosto doce e umami. O principal atributo que contribuiu para explicação (22,5%) fornecida pelo CP2 e com correlação positiva foi a dureza, indicando que as cultivares BRS 216 e 133 localizadas mais acima na Figura 1A possuem, provavelmente, maior intensidade deste atributo. De modo geral, a CP1 separou as cultivares BRS 213 e BRS 267 (mais a esquerda) das cultivares BRS 216 e BRS 133 (mais a direita). A CP2 separou as cultivares BRS 213 e BRS 216 (acima) das cultivares BRS 267 e BRS 133 (abaixo). A cultivar BRS 258 ficou mais ao centro do plano fatorial podendo ser considerada uma cultivar com características sensoriais de intensidades intermediárias.

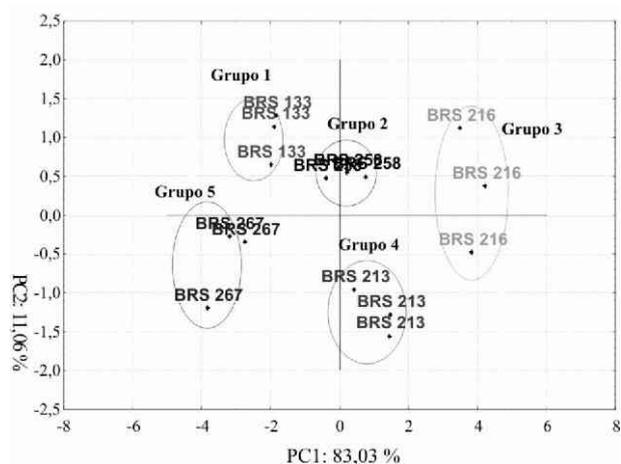


**Fig. 1.** Projeções das cultivares de soja (A) e dos atributos sensoriais (B) sobre o plano fatorial (CP1 e Cp2)

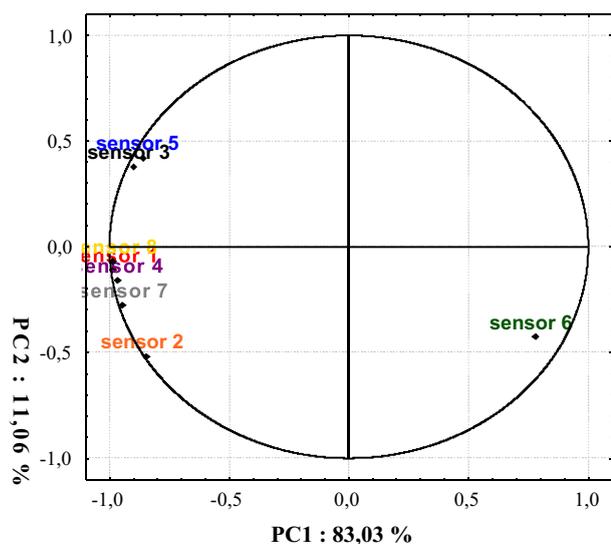
Na Figura 2 estão os gráficos da ACP dos resultados dos sensores gustativos eletrônicos, sendo a parte A a projeção das cultivares de soja sobre o plano fatorial (CP1 e CP2) e a parte B a projeção dos oito sensores eletrônicos. O primeiro componente principal (CP1) explicou 83,0 % da variação total existente entre os dados, e o segundo componente principal (CP2) explicou 11,1 %, totalizando 94,1 % de explicação. Na Figura 2A, cada cultivar foi representada por cores diferentes e cada repetição de cada cultivar foi demonstrada por losangos. A proximidade dos losangos de cada cultivar mostra boa repetibilidade das avaliações. Pode-se verificar, pela ACP, que a língua eletrônica composta pelos oito sensores foi eficiente para distinguir e classificar as cultivares em cinco grupos diferentes: Grupo 1 (cultivar BRS 133, cor vermelha), Grupo 2 (cultivar BRS 258, cor preta), Grupo 3 (cultivar BRS 216, cor verde), Grupo 4 (cultivar BRS 213, cor roxa) e

Grupo 5 (cultivar BRS 267, cor azul). A variabilidade existente entre os dados (83%) explicada no primeiro CP (Figura 2B) foi devido provavelmente aos sensores 1, 4, 7 e 8. No segundo CP, os 11,06 % da variabilidade existente entre os dados foram devido aos sensores 2, 3, 5 e 6.

A)



B)



**Fig. 2.** Projeção das cultivares de soja sobre o plano fatorial CP1 e CP2 da Análise de Componentes Principais (ACP) utilizando os oito sensores eletrônicos na frequência de 1 kHz

Comparando-se os gráficos da Análise de Componentes Principais (ACP) dos dados obtidos por meio da Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) (Fig. 1) com os da língua eletrônica (Fig. 2), pode-se observar que o sensor gustativo eletrônico resultou em respostas semelhantes às dos provadores treinados, isto é as cultivares de soja foram também separadas e classificadas em cinco grupos diferentes. Comparando-se os gráficos da Análise de

Componentes Principais (ACP) dos dados obtidos por meio da Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) (Fig. 1) com os da língua eletrônica (Fig. 2), pode-se observar que o sensor gustativo eletrônico resultou em respostas semelhantes às dos provadores treinados, isto é as cultivares de soja foram também separadas e classificadas em cinco grupos diferentes.

## Conclusões

A língua eletrônica apresenta resposta semelhante às dos provadores treinados e pode ser utilizada para classificar diferentes cultivares de soja e para seleção de linhagens com sabor superior.

## Agradecimentos

EMBRAPA SOJA, EMBRAPA CNPDIA, ESCOLA POLITÉCNICA DA USP.

## Referências

- DAMÁSIO, M. H.; DA SILVA, M. A. **Curso de Análise Sensorial de Alimentos**. Campinas, SP: Fundação Tropical de Pesquisa de Alimentos “André Tosello”, 1994.
- FERREIRA, F. D. **Estatística Multivariada**. Lavras: UFLA, 2008. 662 p.
- KITAMURA, K. Breeding trials for improving the food-processing quality of soybeans. **Trends in Food Science and Technology**, Cambridge, v. 43, p. 64–67, 1993.
- LIU, K. **Soybeans chemistry technology and utilization**. [S. l.]: Chapman and Hall, 1999. 532 p.
- MASUDA, R. Quality Requirement and Improvement of Vegetable Soybean. **Vegetable Soybean Research Needs for Production and Quality Improvement**, p. 92 - 102, 1991.
- MOSKOWITZ, H. R. **Product, Testing and Sensory Evaluation of Foods**. Marketing and R & D. Approaches, Westport: Food and Nutrition Press, 1983. 605 p.
- RIUL JR., A.; MALMEGRIM, R. R.; FONSECA, F. J.; MATTOSO, L. H. C. An artificial taste sensor based on conducting polymers. **Biosensors and Bioelectronics**, Essex, v. 18, p. 1365–1369, 2003.
- STONE, H.; SIDEL, J. L. **Sensory Evaluation Practices**. 3rd ed. Food Science and Technology, International Series Elsevier Loondon: Academic Press, 2004. 377 p.



## BIOSSENSORES ENZIMÁTICOS BASEADOS EM NANOCOMPÓSITOS POLIMÉRICOS

Juliano Elvis de Oliveira<sup>1,3</sup>, Valtencir Zucolotto<sup>2</sup>, Luiz Henrique Capparelli Mattoso<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>PPGCEM, Depto. de Materiais - UFSCar, 13560-905, São Carlos/SP

<sup>2</sup>Grupo de Biofísica- IFSC, USP, 13560-970, São Carlos/SP

<sup>3</sup>Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação Agropecuária, 13560-970, São Carlos/SP \*mattoso@cnpdia.embrapa.br

Projeto Componente: PC2

Plano de Ação: 01.05.1.01.02.02

### Resumo

Com o crescimento da produção agropecuária duas importantes vertentes que vêm se destacando são o monitoramento de glicose e a detecção de pesticidas organofosforados a partir de biossensores. Neste projeto, visamos o estudo de novos biossensores contendo enzimas oxireductases (acetilcolinesterase e glicose oxidase) imobilizadas sobre diferentes nanocompósitos poliméricos (poli(o-metoxianilina) e quitosana) contendo nanotubos de carbono pela técnica de automontagem. No caso da quitosana também será investigado a forma de nanofibras eletrofiadas.

**Palavras-chave:** nanocompósitos, biossensores, poma, quitosana, glicose, pesticidas.

### Introdução

A nanotecnologia envolve o estudo, manipulação, desenvolvimento e utilização de materiais, dispositivos e sistemas com pelo menos uma dimensão de até 100 nm (KUCHIBHATLA, 2007). A literatura (KUCHIBHATLA, 2007; JIARONG, 2004) já reporta novas propriedades obtidas por materiais nanoestruturados, que leva a uma revolução tanto científica quanto tecnológica. Porém muito ainda precisa ser compreendido sobre o comportamento de materiais na escala nanométrica. Assim, muitos materiais, fenômenos e aplicações vem atualmente sendo estudados com o objetivo de se compreender os fundamentos e leis na escala nanométrica (KUCHIBHATLA, 2007; JIARONG, 2004). Por exemplo, o primeiro nanocompósito baseado na incorporação de nanotubos de carbono em uma matriz polimérica foi reportado por Ajayan e colaboradores em 1994 (SCHAEFER, 2007). Desde então a literatura reportou uma melhoria nas propriedades mecânicas, térmicas e elétricas dos

nanocompósitos em relação ao polímero empregado como matriz (SCHAEFER, 2007; MONIRUZZAMAN, 2006). Estas propriedades únicas dos nanotubos de carbono combinadas a propriedades apresentadas pelos materiais poliméricos tornam estes nanocompósitos excelentes candidatos em biossensores (ZAO, 2002).

Biossensores são dispositivos que se utilizam de entidades biológicas para a detecção de espécies químicas ou biológicas. O principal benefício dos biossensores é o de apresentar alta sensibilidade e seletividade, fácil manuseio e resposta imediata para análises em campo envolvendo em baixas concentrações. O emprego de materiais nanoestruturados em biossensores permite o desenvolvimento de dispositivos mais sensíveis e seletivos, revolucionando o campo da análise química e biológica em tempo real (ZAO, 2002; GARCIA, 2003). Neste trabalho será dada ênfase ao estudo da influência do tipo e arquitetura do nanocompósito presente no eletrodo modificado na resposta eletroanalítica dos biossensores.

## Materiais e métodos

As soluções poliméricas de POMA, PSS, CH e nanotubos de carbono de parede simples funcionalizados com COOH serão preparadas em solução aquosa pH=4,0 na concentração de 0,5 mg/mL de acordo com metodologias prévias apresentadas pela literatura (PATERNO, 2001; SIQUEIRA, 2008; CASELI, 2006). O crescimento dos filmes será acompanhado por espectroscopia UV-VIS. As interações entre os polieletrólitos e o nanotubos de carbono serão investigadas pelas técnicas de FTIR e RAMAN. A morfologia dos filmes será observada por microscopia de força atômica. Finalmente as propriedades eletroquímicas dos filmes nanoestruturados serão avaliadas por voltametria cíclica.

Também serão preparadas nanofibras das blendas de PVA/CH 60/40 v/v utilizando-se as diferentes soluções de PVA (14%,16% e 18% m/v). Os parâmetros de eletrofição serão 10 cm de distância agulha-coletor, vazão de 0,5 mL/h, rotação do coletor de 300 RPM e potencial de 35 KV. A viscosidade das soluções será investigada por reometria de placas paralelas. A tensão superficial e a condutividade das soluções serão monitoradas com o auxílio de um tensiômetro e de um condutímetro, respectivamente. As nanofibras serão caracterizadas por MEV, DRX, DSC e FTIR. AS enzimas serão imobilizadas por casting e automontagem nos eletrodos de ITO modificados com estes nanocompósitos.

## Resultados e discussão

A eletroatividade dos materiais poliméricos se relaciona com a capacidade destes de sofrerem processos de oxidação quando submetidos a um determinado potencial elétrico. As técnicas eletroanalíticas permitem se relacionar estes processos de oxidação com outras características do material como presença de grupamentos eletro reativos, condutividade elétrica, cristalinidade, porosidade e espessura do filme e desta forma obter informações quantitativas a respeito da concentração de espécies químicas ou biológicas em solução. A fim de estudar o efeito da adição de nanotubos de carbono na eletroatividade da matriz polimérica foram realizados experimentos de voltametria cíclica para diferentes números de bicamadas dos filmes de (POMA/PSS ou SWCNT) e (CH/PSS ou SWCNT). Os voltamogramas podem ser observados na Figura 1.

Pelos resultados obtidos pode-se notar que a adição de nanotubos de carbono de parede simples funcionalizados com COOH leva a uma aumento nos picos de oxidação e redução da POMA. Já no caso da quitosana, os filmes automontados alternados com PSS não apresentam eletroatividade. a adição de nanotubos leva, neste caso leva ao aparecimento de um processo de oxidação do nanocompósito. Os valores das correntes e potenciais de pico obtidos neste estudo se encontram na Tabela 1.

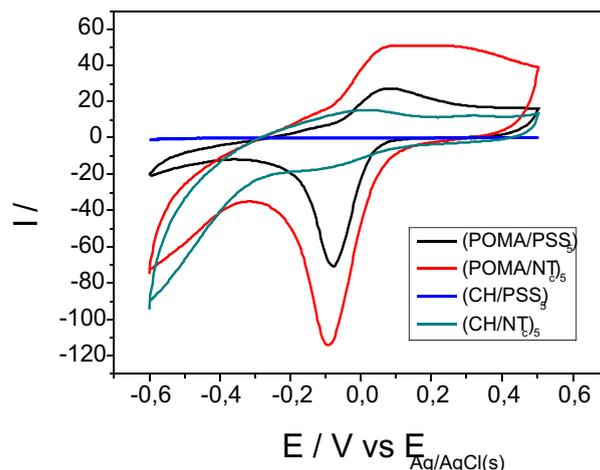


Fig. 1. Voltamogramas obtidos para os sistemas contendo filmes automontados em estudo

Tabela 1. Valores de correntes e potenciais de pico

Sistema	Sistema Corrente de pico catódica (µA)	Potencial de pico catódico (mV)
(POMA/PSS) <sub>5</sub>	27,3	81,5
(POMA/SWCNT) <sub>5</sub>	50,9	99,1
(CH/PSS) <sub>5</sub>	---	---
(CH/SWCNT) <sub>5</sub>	15,51	19

A eletrofição depende de uma série de fatores como características geométricas, propriedades reológicas e da carga elétrica as quais a solução polimérica apresenta. As cargas elétricas são transportadas na solução através dos íons e dependem diretamente de parâmetros geométricos do jato. Ao se aplicar um potencial suficientemente alto as forças elétricas vencem o efeito da tensão superficial e ocorre a formação de um jato (THOMPSON, 2007; THERON, 2004). A morfologia final das fibras depende também do comportamento viscoelástico da solução. Os resultados obtidos mostram que um aumento na concentração de PVA em solução leva a um aumento na viscosidade acarretando no desaparecimento dos beads. As micrografias ilustrando o efeito da viscosidade das soluções na morfologia final das fibras se encontram na Figura 2. Outro ponto interessante a ser ressaltado é que ao se aumentar a concentração total de polímero em solução temos um aumento no diâmetro médio das fibras, além do efeito da redução do número de beads.

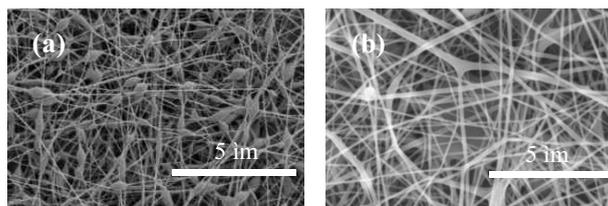
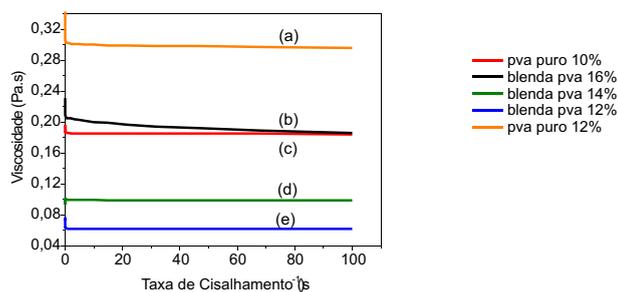


Fig. 2. Micrografias de nanofibras de blendas 60/40 v/v pva/quitosana: (a) 10% de pva e (b) 18% de pva em solução

Na Figura 3 são apresentadas as viscosidades obtidas em função da taxa de cisalhamento para diversas composições de blendas.



**Fig. 3.** Viscosidade em função da taxa de cisalhamento para as blendas 60/40 v/v pva/quitosana: (a) PVA 12% , (b) blenda PVA 16%, (c) PVA 10%, (d) blenda PVA 14%, (e) blenda PVA 16%.

Nota-se que a adição da solução de 2mg/mL de quitosana à solução de PVA leva a uma redução significativa em sua viscosidade. Essa redução dificulta a formação das fibras durante a eletrofiação e permite o aparecimento dos beads.

## Conclusões

Foi possível obter, eletrodos modificados com as nanoestruturas poliméricas propostas no trabalho. No caso dos filmes automontados, os experimentos realizados indicam que os eletrodos modificados apresentam eletroatividade e podem ser empregados como mediadores redox em biossensores baseados em enzimas oxiredutases. A adição de nanotubos de carbono trouxe uma melhora na corrente de pico catódica para os filmes de POMA e CH.

Em relação as nanofibras de quitosana obtidas por eletrofiação até o presente momento foi possível eletrofiar-se diretamente em eletrodos de ITO. Como próximos passos pretende-se imobilizar enzimas sobre estes eletrodos modificados com nanofibras ou filmes nanoestruturados e desta forma realizar os estudos de caracterização e otimização destes biossensores.

## Agradecimentos

CNPq, FINEP, FIPAI, EMBRAPA, Grupo de Polímeros Bernard Gross, Prof. Dr. Éliton Souto Medeiros.

## Referências

- KUCHIBHATLA, S. V. N. T. et al. **Progress in Materials Science**, [S. l.], v. 52, p. 699-913, 2007.
- JARONG, C. et al. **Biotechnology Advances**, New York, v. 22, p. 505-518, 2004.
- SCHAEFER, D. W.; JUSTICE, R. S. **Macromolecules**, Easton, v. 40, p. 8501-8517, 2007.
- MONIRUZZAMAN, M.; WINEY, K. I. **Macromolecules**, Easton, v. 39, p. 5194-5205, 2006.
- ZAO, I. Q. et al. **Electroanalysis**, New York, v. 14, p. 1609-1613, 2002.
- GARCIA, M. N. V.; MOTTRAM, T. **Biosystems Engineering**, London, v. 84, n. 1, p. 1-12, 2003.
- PATERNI, L. G.; MATTOSO, L. H. C. **J. Applied Polymer Science**, New York, v. 83, p. 1309-1316, 2001.
- SIQUEIRA, Jr, J. R. et al. **J. Phys. Chem. C**, Washington, v. 112, p. 9050-9055, 2008.
- CASELI, L. et al. **J. of Colloid and Interface Sci.**, New York, v. 303, p. 326-331, 2006.
- THOMPSON, C. J. et al. **Polymer**, [S. l.], v. 48, p. 6913-6922, 2007.
- THERON, S. A.; ZUSSMAN, E.; YARIN, A. L. **Polymer**, [S. l.], v. 45, p. 2017-2030, 2004.



## DETERMINAÇÃO DA MINIMA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA (MIC) DE DERIVADOS HIDROSSOLÚVEIS DE QUITOSANA CONTRA *E. COLI*

Leandro Prezotto da Silva<sup>1,2</sup>, Mirna Helena Regali Seleglim<sup>2</sup>, Douglas de Britto<sup>1</sup>, Odilio B.G. Assis<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos, SP. Odilio@cnpdia.embrapa.br

<sup>2</sup>Universidade Federal de São Carlos – UFSCar

Projeto Componente: PC2

Plano de Ação: 01.05.1.01.02.02

### Resumo

O efeito antibacteriano do derivado trimetilado de quitosana (TMQ) foi avaliado contra a bactéria *Escherichia coli*. O derivado foi preparado via reação com dimetilsulfato a partir de quitosana de origem comercial. A mínima concentração inibitória (MIC) foi medida em meio agar através de medidas de mudança na turbidez e por contagem em placas (Colony Forming Units - CFU). Os resultados indicam boa atividade antimicrobiana com MIC nos intervalos de 0,0075 gL<sup>-1</sup> a 0,0035 gL<sup>-1</sup>. O objetivo é o emprego desses compostos como revestimentos comestíveis ou na produção de embalagens ativas.

**Palavras-chave:** derivados de quitosana, atividade antimicrobiana, MIC.

### Introdução

Quitosana é um polissacarídeo catiônico que ocorre naturalmente ou pode ser obtido por reação alcalina da quitina, um abundante subproduto da indústria pesqueira. Por suas características atóxicas e de fácil formação de filmes, a quitosana tem sido estudada em potenciais aplicações em alimentos, agricultura e medicina (KUMAR, 2000).

Quando submetido a processo de metilação, a quitosana é transformada em um derivado trimetilado (TMQ) caracterizado por ter cargas positivas permanentemente em consequência da quaternização dos grupos aminos na posição C2 da estrutura polimérica (CURTI e CAMPANA-FILHO, 2003). A TMQ pode ser sintetizada tanto pela adição covalente de um substituinte contendo um grupo amônio quaternário via quaternização dos grupos aminos ou como demonstrado recentemente pelo uso de dimetilsulfato como agente metilante (BRITTO e ASSIS, 2007). A TMQ é solúvel em uma ampla faixa de pHs e sua atividade antimicrobiana tem sido registrada como superior à quitosana

precursora (JIA et al., 2001), na qual o comprimento da cadeia n-alkil revelou-se ser um importante aspecto dessa atividade (QIN et al., 2004). A TMQ, assim como a quitosana tem a habilidade de formar filmes finos e é um potencial material para uso em alimentos, em particular para emprego em revestimentos protetores pós-colheita e filmes para embalagens. O objetivo do presente estudo é determinar o MIC para a TMQ contra *E. coli* sintetizada via reação com dimetilsulfato.

### Materiais e métodos

Quitosana da Sigma Aldrich (média massa molar) foi empregada como material inicial para a obtenção da TMQ. A reação de metilação foi conduzida a 70°C com dimetilsulfato da Vetec. A reação básica e proporção de reagentes estão descritas em Britto e Assis (2007). A atividade antimicrobiana do derivado metilado foi examinada contar a bactéria modelo Gram-negativa *Escherichia coli* (ATCC 8739). Para tal, inicialmente uma mistura de 7,5 ml de cultura de

bactéria foi transferida para erlenmeiers (500 mL) contendo 142,5 ml de meio sintético (E agar). A pré-cultura de *E. coli* foi incubada a 37°C sob anaerobiose e agitação moderada. O efeito inibitório foi determinado pela alteração de turbidez e por contagem de colônia (CFU). Medidas de absorbância foram realizadas a cada 30 min em comprimento de onda de 600 nm (Novaspec II). Para a contagem de colônia em meio sólido foi empregada o Drop Count Method.

## Resultados e discussão

A Figura 1 apresenta o perfil de absorbância para o meio de cultura com e sem TMQ. É possível observar indiretamente o correspondente número de células crescidas ao longo do tempo indicando um comportamento exponencial durante as primeiras 5 hrs uma taxa constante entre 6 e 7 hs (para o meio sem derivado).

Nos meios com adição TMQ os comportamentos são similares embora com a redução da fase Log e um declínio nos valores de absorbância com o tempo (fase de mortalidade celular). A adição de TMQ na concentração de 0,0035 gL<sup>-1</sup>, apresenta pouco efeito inibitório, com comportamento próximo ao controle. Pelos ensaios de turbidez a melhor inibição a crescimento da *E. coli* se dá em adições de TMQ entre 0,02 e 0,0075 gL<sup>-1</sup>, sendo essas c concentrações próximas à registradas para oligossacarídeos de quitosana contra *E. coli* nos experimentos realizados por Jeon et al. (2001).

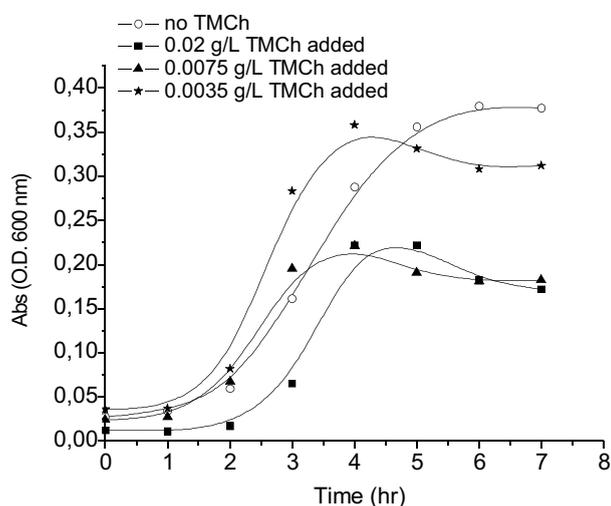


Fig. 1. Perfil de crescimento da *E. coli* (medida de turbidez em 600 nm/ 37° C)

Considerando que cada colônia crescida em meio nutriente sólido resulta em uma única bactéria, a medida paralela do crescimento por mL pode ser diretamente relacionada com a absorbância. Para os materiais avaliados, (Fig. 2), a concentração de TMQ no intervalo de 0,02 a 0,0035 gL<sup>-1</sup> resulta em um

relativo aumento da atividade antimicrobiana com proporcional redução não apenas do número total de colônias macroscopicamente visíveis como também da fase estacionária.

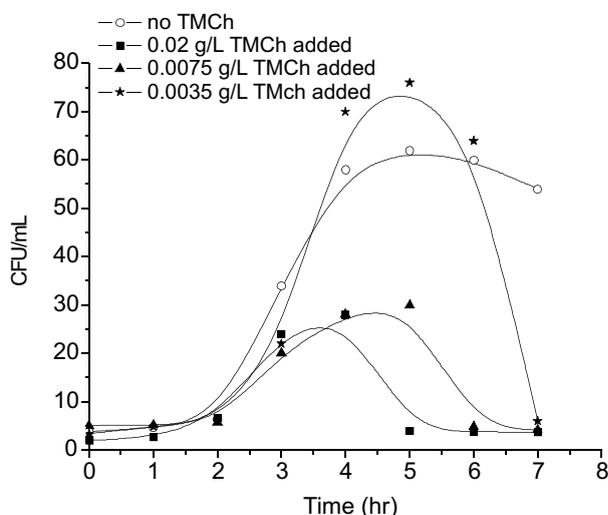


Fig. 2. Perfil em função do tempo de incubação da análise da população de *E.coli* em meio de cultura na presença de TMQ.

Com o objetivo de quantificar essa redução estabelecendo um fator numérico as curves de absorbância foram derivadas em função do tempo para a identificação de seus crescimentos máximos para cada concentração de TMQ, ou seja:

$$\frac{dY}{dt}_{control} / \frac{dY}{dt}_{culture}$$

O emprego desta relação indica que uma redução em aproximadamente 50% sobre o crescimento para concentrações de TMQ de 0,02 g/L e um pequeno efeito inibitório, de apenas 2%, para a concentração de 0,0075 g/L. Na cultura com 0,0035 g/L de TMQ um aumento no crescimento bacteriano ao redor de 57% com relação ao meio controle é observado, o que pode ser explicado como essa adição sendo convertida em nutriente, favorecendo assim o crescimento da *E. coli*. De uma forma geral, altas concentrações de quitosana não apresentam atividade antimicrobiana, por razões diversas conforme revisadas por Goy et al. (2009).

## Conclusões

Derivados trimetilados de quitosana TMQ apresentaram ter importante ação inibitória contra bactéria Gram-negativa conforme testes conduzidos na bactéria *E. coli*. Os resultados indicam que a aparente mínima concentração inibitória está próxima a 0,002 gL<sup>-1</sup>. de materiais ativos para uso em embalagens ou revestimentos protetores pós-colheita.

---

**Agradecimentos**

---

CNPq, FINEP/MCT, EMBRAPA.

---

**Referências**

---

- BRITTO, D.; ASSIS, O. B. G. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 69, p. 305-310, 2007.
- CURTI, E.; BRITTO, D.; CAMPANA-FILHO, S.P. **Macromolecular Bioscience**, Weinheim, v. 3, n. 10, p. 571-576, 2003.
- GOY, R. C.; BRITTO, D.; ASSIS, O. B. G. **Polímeros**, 2009. aceito.
- JIA, Z.; SHEN, D.; XU, W. **Carbohydrate Research**, Amsterdam, v. 33, p. 1-6, 2001.
- QIN, C.; XIAO, Q.; FANG, H. M.; LIU, Y.; CHEN, X.; LI, Q. **Intern. J. of Biological Macromolecules**, Guildford, v. 34, n. 2, p. 121-126, 2004.
- KUMAR, M. N. V. R. **Reactive and Functional Polymers**, [S. l.], v. 46, p. 1-27, 2000.
- JEON Y-J.; PARK P-J.; KIM S-K. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 44, p. 71-76, 2001.



## AVALIAÇÃO DA ADERÊNCIA BACTERIANA SOBRE FILMES ENZIMÁTICOS PROTÉLÍTICOS PARA APLICAÇÕES EM BIOSSENSORES

Luis C. Morais<sup>1</sup>, Tatiane Duarte Mattos<sup>2</sup>, Odilio B.G. Assis<sup>2</sup>, Rubens Bernardes Filho<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Acre – UFAC, Rio Branco, AC.

<sup>2</sup>Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos, SP. odilio@cnpdia.embrapa.br

Projeto Componente: PC2

Plano de Ação: 01.05.1.01.02.02

### Resumo

Filmes enzimáticos multicamadas foram preparados pela técnica de auto-montagem. Soluções de pepsina, lisozima e tripsina na concentração de  $10^{-5}$  M (em pH 6.4, pH 6.4 e pH 7.6 respectivamente) foram usados como precursores para a formação dos filmes. Os padrões de superfície foram examinados por microscopia de força atômica (AFM) sendo as características anteriores e posteriores a interação com a bactéria (*E. coli*) avaliada. Os resultados indicam que o grau hidrofobicidade tem papel fundamental na adesão da bactéria e que a rugosidade pode ser considerada um fator secundário. A avaliação objetiva usos na confecção de biossensores para alimentos.

**Palavras-chave:** filmes enzimáticos, proteases, auto-montagem, interação bacteriana.

### Introdução

Biossensores podem ser definidos como dispositivos que utilizam um bioreceptor seletivo com afinidade com uma amostra ou analito de interesse. Os bioreceptores (geralmente uma espécie bioquímica tal como anticorpo, oligonucleotídeo ou enzima) são conectados a um transdutor que faz uso do sinal típico do reconhecimento bioquímico e converte o resultado da interação em um sinal mensurável. O uso de enzimas em associação com um eletrodo é um dos mais simples e eficiente tipo de biossensor. Essa configuração faz uso da especificidade de uma reação enzimática com a detecção de um sinal eletroquímico.

Proteases ou enzimas proteolíticas são indicadas para a interação com bactérias considerando que estas têm uma função catalítica que hidrolisa as ligações peptídicas destruindo as estruturas extracelulares das bactérias (BARRET et al., 2003), atividade essa que pode ser interpretada em termos do mecanismo de Phillips (PHILLIPS, 1996), envolvendo uma transferência iônica cujo

Padrão pode ser amplificado e reconhecido. Segundo a literatura a intensidade deste sinal está relacionada com o número de camadas (KOBAYASHI e ANZAI, 2001). A formação de filmes multicamadas sobre um substrato sólido pode ser conseguida pela técnica de auto-montagem (LVOV et al., 1995). Por sua vez, as interações entre filme e bactéria podem ser entendidas, em uma primeira análise, como um fenômeno superficial envolvendo a molhabilidade e adsorção, que são passíveis de avaliação por microscopia e demais técnicas. No presente estudo, três tipos de filmes formados por proteases globulares (lisozima, tripsina e pepsina) em formação multicamadas são caracterizados e suas interações com soluções contendo *E. coli*, são avaliadas usando AFM.

### Materiais e métodos

Tripsina (EC 3.4.21.4), pepsina (EC 3.4.23.1) e lisozima (EC 3.2.1.47) foram adquiridas da Sigma–Aldrich Chemical Co. Laminas de vidro (5mm x 10mm x 2mm optical glass plates) foram

quimicamente funcionalizadas pelo método 'piranha' (KERN, 1993). Os filmes foram formados pela imersão direta dos slides tratados nas soluções enzimáticas ( $10^{-5}$  M) por 10 min. Os substratos foram então removidos e brevemente lavados em água destilada para a remoção de frações não-aderidas. Após secagem as laminas foram novamente imersas nas soluções, cujos procedimentos foram repetidos até a formação de 10 camadas de cada material (cada imersão é assumida como formadora de uma camada). As soluções foram obtidas pela dissolução das proteínas em tampão fosfato e pHs ajustados a 7,6 para tripsina e 6,4 para lisozima e pepsina.

Imagens topográficas foram avaliadas por AFM no modo contato (TopoMetrix 2010 Discover System). A avaliação da rugosidade se deu em 5 e 10 camadas em áreas de  $3 \times 3 \mu\text{m}$ . A espessura foi estimada como a diferença entre regiões do substrato com e sem depósito.

Cultura de bactérias *E.coli* (microorganismo teste) foi crescida a  $37^\circ\text{C}$  em meio LB e suspensão preparada com a média de  $\sim 10^8$  células/mL, segundo determinação ótica (KOCH, 1994). A suspensão foi centrifugada e os microorganismos dispersos na solução tampão seguido de desagregação em sistema vortex. Depósitos com 10 camadas foram separadamente imersos na suspensão com bactérias por 30min. Após breve lavagem e secagem as laminas foram analisadas por AFM.

## Resultados e discussão

A adsorção de proteínas sobre superfície sólida é frequentemente modelada como uma formação bi-dimensional ordenada com arranjos paralelos à superfície. O principal mecanismo que rege a formação de filme é assumida como a interação eletrostática entre as moléculas das enzimas e a superfície (PASCHÉ et al., 2005). As propriedades finais de um filme de proteína dependem do volume de moléculas adjacentes à superfície (FIGUEIREDO et al., 2005) e da uniformidade com que essas moléculas ocupam os sítios na superfície. A Tabela 1 apresenta os dados obtidos por AFM. De um modo geral todas as superfícies aparentam estar completamente revestidas, cujos detalhes topográficos podem ser encontrados em MORAIS et al., 2009.

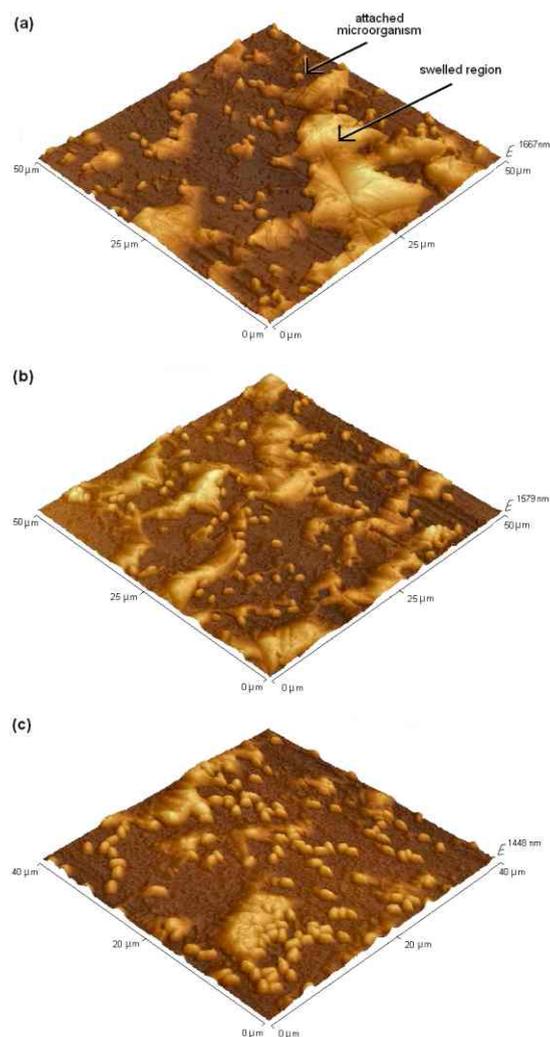
Proteínas globulares tendem a mudar a conformação quando adsorvidas na superfície, normalmente formando filmes de alta densidade (SETHURAMAN et al. 2004). O cálculo da rugosidade realizado sobre os filmes indica que a lisozima forma filmes menos rugoso que as demais. O caráter hidrofílico ou hidrofóbico da superfície é também fundamental na interação com microorganismos. Como registrado, a adesão bacteriana com uma superfície parece ser superior com o aumento do caráter hidrofóbico da superfície (GALLARDO-MORENO et al., 2002; SHENG et al., 2007). Em nossos filmes a superfície de tripsina mostrou ser a mais hidrofóbica (MORAIS et al.,

2009) e os resultados da interação com bactérias confirmam os dados da literatura.

**Tabela 1.** Dados obtidos para 5 e 10 deposições.

Enzima	5 depósitos		10 depósitos	
	Rugosidade RMS (nm)	Espessura (nm)	Rugosidade RMS (nm)	Espessura (nm)
Lisozima	1,21	17,0	1,06	40,0
Tripsina	1,32	28,0	2,10	40,0
Pepsina	4,25	28,0	5,26	40,0

A Figura 1 apresenta a aparência das superfícies após a interação com a *E.coli* nas quais duas características principais são notadas: regiões de intumescimento e bactérias aderidas à superfície (identificadas na superfície da lisozima, Fig. 1a). Uma contagem direta no número de bactérias aderidas por unidade de área indica para a pepsina  $0,034 \pm 0,002$  organismos por  $\mu\text{m}^2$ ;  $0,038 \pm 0,005$  para lisozima e  $0,097 \pm 0,011$  para a tripsina.



**Fig. 1.** Exemplos das superfícies enzimáticas após interação com solução contaminada com *E. coli*: (a) pepsina, (b) lisozima e (c) tripsina.

A tripsina é a enzima mais hidrofóbica na qual a densidade de bactérias aderidas é aproximadamente 3 vezes superior as contadas nas superfícies de lisozima e de pepsina, o que confirma a afinidade de superfícies hidrofóbicas com a *E.coli*.

É importante observar que análises similares realizadas por Silva Jr e Teschke (2005), baseadas em imagens por AFM de *E.coli* imobilizadas sobre mica (suporte altamente hidrofílico) após interação com peptídeo antimicrobiano, observou-se que o rompimento da membrana exterior do microorganismo provoca uma redução da estabilidade de aderência à superfície o que pode interferir em uma contagem precisa sobre os filmes enzimáticos.

---

### Conclusões

---

Filmes de enzimas proteolíticas como a lisozima, a tripsina e a pepsina podem ser facilmente formados por técnica de auto-montagem. A tripsina é a molécula mais hidrofóbica em comparação com as demais e apresenta comportamento distinto. Observações microscópicas revelam que a lisozima forma filmes menos rugosos enquanto a tripsina atinge uma melhor aderência bacteriana. Os resultados indicam boa relação entre propriedades físico-químicas e interação com *E.coli*, dados que podem ser úteis na seleção de materiais para a confecção de biossensores para a detecção de bactérias em meio aquosos. O próximo estágio deste trabalho é avaliar esses filmes como geradores de sinais quando depositados sobre superfície condutora.

---

### Agradecimentos

---

CNPq, FINEP/MCT, EMBRAPA.

---

### Referências

---

BARRETT, A. J.; RAWLINGS, N. D. WOESSNER, J. F. **The Handbook of Proteolytic Enzymes**. 2<sup>nd</sup> ed. London: Academic Press, 2003.

FIGUEIREDO, K. C. S.; SALIM, V. M. M.; ALVES, T. L. M.; PINTO, J. C. **Adsorption**, [S. l.], v. 11, p. 131-138, 2005.

GALLARDO-MORENO, A. M.; GONZALEZ-MARTÍN, M. L.; PÉREZ-GIRALDO, C.; BRUQUE, J. M.; GÓMEZ-GARCÍA, A. C. **Appl Environ Microbiol.**, [S. L.], v. 68, p. 5784-5787, 2002.

KERN, W. Overview and evolution of semiconductor wafer contamination and cleaning technology. In: KERN, W. (Ed.). **Handbook of Semiconductor Wafer Cleaning Technology**. New Jersey: [S. l.], 1993. p. 3-67

KOBAYASHI, Y.; ANZAI, J. **J. Electroanal. Chem.** Amsterdam, v. 507, p. 250-255, 2001.

KOCH, A. L. Growth Measurement. In: GERHARDT, P. et al. (Ed.). **Methods for General and Molecular Bacteriology**. Washington: American Society for Microbiology, 1994. p. 248-277.

LVOV, Y.; ARIGA, K.; ICHINOSE, I.; KUNITAKE, T. **J. Am. Chem. Soc.**, Easton, v. 117, p. 6117-6123, 1995.

MORAIS, L. C.; BERNARDES-FILHO, R.; ASSIS, O. B. G. **World J. Microbiol., Biotechnol.**, Oxford, v. 25, p. 123-129, 2009.

PASCHE, S.; VÖRÖS, J.; GRIESSER, H. J.; SPENCER, N. D.; TEXTOR, M. **J. Phys. Chem. B.**, Washington, v. 109, p. 17545-17552, 2005.

PHILLIPS, D. C. **Sci. Am.**, New York, v. 215, p. 78-90, 1996.

SETHURAMAN, A.; HAN, M.; KANE, R. S.; BELFORT, G. **Langmuir**, Washington, v. 20, p. 7779-7788, 2004.

SHENG, X.; TING, Y. P.; PEHKONEN, S. O. **J Colloid Interface Sci.**, New York, v. 310, p. 661-669, 2007.

SILVA, JR., A.; TESCHKE, O. **World J. Microbiol., Biotechnol.**, Oxford, v. 21, p. 1103-1110, 2005.



## NANOFIBRAS DE BLENDA DE POLI (ALCOOL VINILICO) E XILOGLUCANA OBTIDAS POR ELETROFIAÇÃO

Marta Érica Saidel<sup>1,6</sup>, Juliano Elvis de Oliveira<sup>2,6</sup>, Rolselayne Ferro Furtado<sup>3</sup>, Rosa Amália Fireman Dutra<sup>4</sup>, Ana Cristina de Oliveira Monteiro Moreira<sup>5</sup>, Luiz Henrique Capparelli Mattoso<sup>6\*</sup>

<sup>1</sup>UNICEP, São Carlos/SP

<sup>2</sup>PPGCEM, Depto. de Materiais - UFSCar, 13560-905, São Carlos/SP

<sup>3</sup>Embrapa Agroindustrial Tropical, Fortaleza/CE

<sup>4</sup>Universidade Estadual de Pernambuco (UPE)

<sup>5</sup>Universidade de Fortaleza (UNIFOR)

<sup>6</sup>Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação Agropecuária, 13560-970, São Carlos/SP \*mattoso@cnpdia.embrapa.br

**Projeto Componente:** PC2

**Plano de Ação:** 01.05.1.01.02.04

### Resumo

Xiloglucanas são polissacarídeos de reserva encontrados em abundância nas sementes de *Hymenaea courbaril*, popularmente conhecida como jatobá. Atualmente os autores vêm investigando essas propriedades relacionadas à investigação de formas farmacêuticas de liberação sustentada. A xiloglucana é pode ser usada na indústria têxtil e alimentícia, ainda como adesivo e agente emulsificante. O seguinte trabalho aplicou-se o uso de nanofibras de polissacarídeo para a formação de filmes para o revestimento de frutas.

**Palavras-chave:** nanofibras, polissacarídeo e indústria alimentícia.

### Introdução

Polímeros naturais são materiais que apresentam elevada hidrofílicidade e que apresentam a capacidade de formar géis quando em solução aquosa. Devido a ampla diversidade nas estruturas da cadeia polimérica e em suas propriedades físicas, os biopolímeros possuem muitas aplicações na indústria de alimentos, farmacêutica, cosmética, têxtil, de tintas, produtos agrícolas entre outras. Em algumas dessas aplicações, dependendo de sua estrutura química, incluem seu uso como emulsificantes, estabilizantes, ligantes, coagulantes, lubrificantes, formadores de filme, propriedades floculantes, adesivas e redutoras de fricção.

Popularmente conhecida como jatobá, a espécie *Hymenaea courbaril* (*Leguminosae*), ocorre abundante em todo o Nordeste brasileiro a partir de

florestas ao sul, e as sementes contêm 40 a 45% de xiloglucana (XIL), um polímero natural (LIMA et al., 1993, 1995). Em geral, as xiloglucanas possuem uma cadeia principal, semelhante a da celulose, constituída por unidades de D-glicose unidas por ligações ( $\beta$ 1-4), substituídas em O-6 por unidades de xilose, e unidades de  $\beta$ -D-galactose terminais, substituídas na posição 2 das unidades de xilose (SOUZA LIMA, 1997).

Segundo Buckeridge et al. (2005), a molécula de D - galactose encontrada nos bagaços pode ser proveniente dos polímeros ramnogalacturonana I e da xiloglucana. Os galactanos são formados por resíduos de D - galactose ligados em b(1-4) ou b(1-3) com ramificações b(1-6). Sua importância no que concerne às fibras alimentares está no fato de que são fontes abundantes de D - galactose e podem ser importantes na dieta de pacientes que possuem deficiência de galactose-1-fosfato-uridil transferase.

Assim, o conteúdo relativamente elevado e constante de xilose e glicose sugerem que o polímero xiloglucana pode ser um dos componentes estruturais responsáveis pela manutenção da integridade celular do fruto durante o armazenamento (MENEZES E CHITARRA, 1997).

O processo de eletrofiação é um fenômeno eletrohidrodinâmico capaz de produzir fibras de diâmetros da ordem de micrometros até nanômetros. As nanofibras poliméricas obtidas apresentam uma alta área superficial, assim como grande flexibilidade e controle de sua morfologia, o que torna estes materiais excelentes opções em diversas aplicações. Dentre os demais métodos de obtenção de nanofibras poliméricas a eletrofiação se destaca pela possibilidade de produção em massa e da ampla variedade de materiais que podem ser empregados na obtenção das nanofibras (RENEKER, 2008; FENG, 2003; RAMAKRISHNA, 2005).

Muitos parâmetros podem influenciar a obtenção das nanofibras a partir de soluções poliméricas. Estes parâmetros podem ser divididos em duas classes: propriedades da solução (viscosidade, elasticidade, condutividade e tensão superficial), condições ambientes (umidade, temperatura e velocidade do ar no caso de fluxo controlado) e variáveis de processo (potencial aplicado, distância da agulha ao coletor, taxa de alimentação da solução, etc).

Além disso, alguns parâmetros devem ser levados em conta no controle de qualidade das fibras. O diâmetro destas deve ser uniforme ao longo de todo comprimento, a superfície das nanofibras deve ser livre de defeitos ou com seus defeitos controlados e estas devem ser contínuas (50-51).

Desta forma o presente projeto está baseado na eletrofiação de blendas de polímeros naturais (XIL) com PVA. Ênfase será dada no processo de eletrofiação, assim como nas propriedades das soluções e nanofibras constituídas da blenda de PVA/XIL.

## Materiais e métodos

O método de extração de xiloglucana do jatobá foi a partir de suas sementes e se deu por meio de extração alcoólica.

Após a obtenção da xiloglucana fez-se a solubilização em ácido acético. Após 24 horas de agitação, centrifugou-se e reservou. Para a produção de poli (álcool vinílico) (PVA), preparou-se concentrações de 16 e 18% .Em seguida deve-se adicionar a solução de xiloglucana, tendo como concentração final 60/40 v/v (PVA/XIL). As nanofibras serão obtidas pela técnica de eletrofiação. O aparelho utilizado é composto de uma fonte de alta

tensão, uma bomba de ejeção tendo consigo uma agulha de plástico de 10 mL acoplada a mesma, um coletor constituído por um cilindro rotativo recoberto com papel alumínio e sua extremidade há uma agulha (0,70x25 22G1 - BD.). As amostras serão eletrofiadas nas tensões de 25 e 35 kV, com tempo de processamento de 20 min. A rotação do coletor foi mantida constante em 300 rpm e a distância entre a ponta da agulha e o coletor foi de 10 cm.

As amostras de mantas serão examinadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) com o objetivo de se avaliar sua morfologia. Uma caracterização das blendas será realizada por análise dinâmico-mecânica (DMTA), calorimetria exploratória diferencial (DSC), difração de raios-X (DRX) e espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).

Para se avaliar as soluções serão realizados estudos sobre a condutividade, tensão superficial e viscosidade. Além disso, pretende-se avaliar a hidrofobicidade das nanofibras através de medidas de ângulo de contato. A Figura 1 ilustra a metodologia que será empregada neste trabalho.

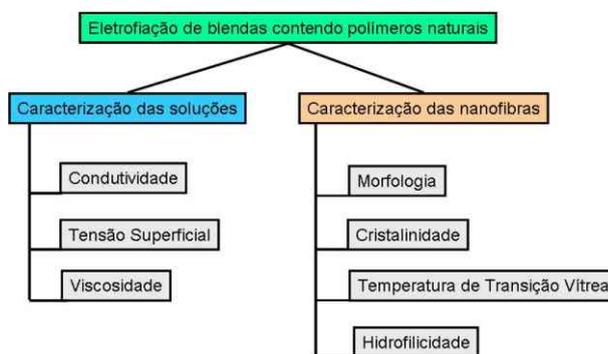


Fig. 1. Fluxograma geral da metodologia proposta

## Resultados e discussão

Foram preparadas nanofibras das blendas de PVA/XIL 60/40 v/v utilizando-se as diferentes soluções de PVA (14%,16% e 18% m/v) e uma solução de xiloglucana 2mg/mL em tampão acetato pH=4,0 nas condições propostas. As imagens obtidas por MEV se encontram na Figura 2. As imagens mostram a relação da porcentagem de PVA com a morfologia final das nanofibras eletrofiadas a 35 kV. A medida que aumenta-se o teor de PVA ocorre uma redução no número de beads presentes, porém nota-se um pequeno aumento no diâmetro médio das fibras.

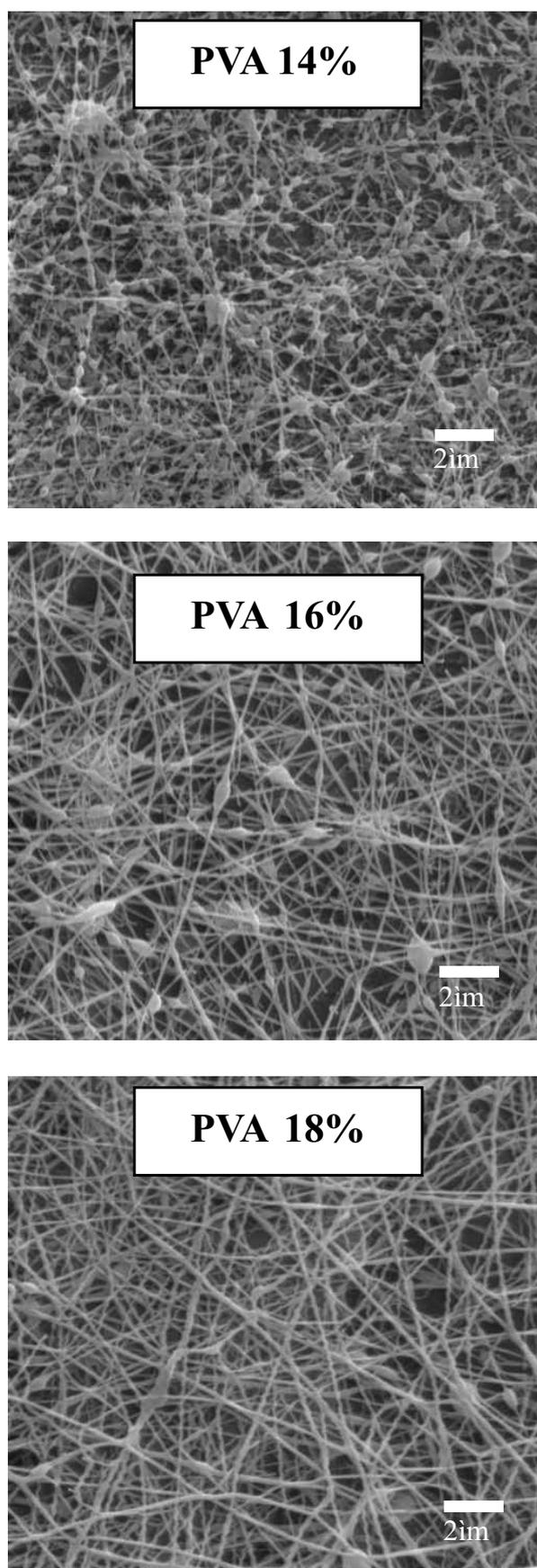


Fig. 2. Micrografias de nanofibras de blendas 60/40 v/v PVA/XIL

---

### Conclusões

---

Foi possível uma eficiente obtenção de nanofibras de poli (álcool vinílico) e xiloglucana. Porém ainda há presença de beads nas blendas de poli (álcool vinílico) e xiloglucana.

---

### Agradecimentos

---

CNPq, FINEP/MCT, FIPAI, EMBRAPA.

---

### Referências

---

- GOMES, M.; FERREIRA, N. P.; GOUVEA, M. R.; MARTIN, S. **Desenvolvimento e avaliação físico-química de emulsões cosméticas utilizando polissacarídeo como espessante**. Curitiba: [s. n.], 2006.
- LIMA, N. N.; REICHER, F.; CORREA, J. B.; GANTER, J. L. M. S.; SIERAKOWSKI, M. R. **Partial structure of a xyloglucan from the seeds of *Hymenaea courbaril***. [S. l.:s. n.], 1993.
- LIMA, N. N.; RECHIA, C. G. V.; GANTER, J. L. M. S.; REICHER, F.; SIERAKOWSKI, M. R. **Oligosaccharides derived from the xyloglucan isolated from the seeds of *Hymenaea courbaril***. [S. l.:s. n.], 1995.
- SOUZA LIMA, M. M. **Polissacarídeos nativos e modificados das sementes de *Hymenaea courbaril***. 1997. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) - Departamento de Bioquímica, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- BUCKERIDGE, M. S.; TINÉ, M. A. S. Polissacarídeos da parede da célula vegetal e sua importância como fibras alimentares. In: LAJOLO, F. M.; MENEZES, E. W. **Fibra Alimentar em Iberoamérica** [S. l.:s. n.], 2000.
- MENEZES, J. B.; CHITARRA, A. B.; CHITARRA, M. A.; ISABEL, F.; BICALHO, U. O. **Modificações dos componentes de parede celular do melão tipo galia durante o armazenamento sob refrigeração**. [S. l.:s. n.], 1997.
- RENEKER, D. H.; YARIN, A. **Polymer**, [S. l.], v. 49, p. 2387-2425, 2008.
- FENG, J. J. **Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics**, Amsterdam, v. 116, p. 55-70, 2003.
- RAMAKRISHNA, S. et al. **An introduction to electrospinning and nanofibers**. [S. l.]: World Scientific, 2005. p. 382.
- FRIDRIKH, S. V. et al. **Physical Review Letters**, New York, v. 90, p. 144502-144505, 2003.
- ZHANG, C. et al. **European Polymer Journal**, New York, v. 41, p. 423-432, 2005.



## SENSOR DESENVOLVIDO COM TRILHA INTERDIGITADA DE GRAFITE, APLICADO AO MOLHAMENTO FOLIAR

Pedro César Zavitoski<sup>1,2</sup>, Paulo S. de P. Herrmann<sup>2\*</sup>, Alexandra Manzoli<sup>2</sup>, Clarice Steffens<sup>2</sup>, Rafaella Takehara Pascoalini<sup>2</sup>, André Torre Neto<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Depto. de Física - UFSCar, 13560-905, São Carlos/SP

<sup>2</sup>Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação Agropecuária, 13560-970, São Carlos/SP \* herrmann@cnpdia.embrapa.br

**Projeto Componente:** PC2

**Plano de Ação:** 01.05.1.01.02.03

### Resumo

Foi desenvolvido um sensor de molhamento foliar por meio da técnica de “line-patterning” à base de grafite, utilizando substrato de Polietileno Tereftalato (PET) e recobrimento com tinta látex. A caracterização do sensor foi feita por meio de medida de resistência elétrica em contato com diferentes quantidades de água. Os resultados mostraram que a potencialidade para o uso na medida de molhamento foliar em sistemas eletrônicos.

**Palavras-chave:** Sensor baixo custo, molhamento foliar, “line patterning”, grafite.

### Introdução

A medição do período de molhamento foliar (MF) é necessária para o trabalho em agronomia de precisão, na prevenção da ação de patógenos fúngicos ou bacterianos (SENTELHAS et al., 2004). Uma aplicação direcionada de agentes defensivos resulta em menores custos e poluição ambiental.

O polietileno tereftalato (PET) é um polímero largamente utilizado em diversas atividades, e por ser plástico, com a possibilidade de emular uma folha, e barato foi escolhido para ser a base de um sensor descartável e de baixo custo.

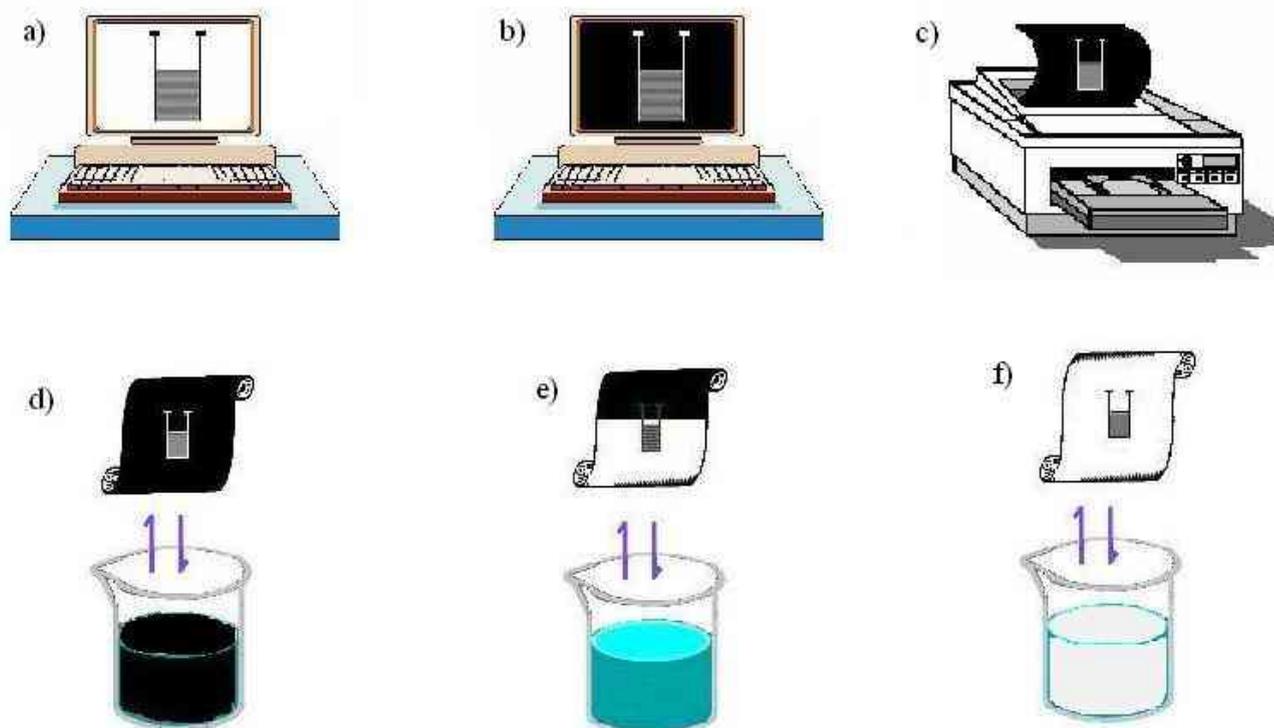
As trilhas de grafite foram utilizadas tanto pelo baixo custo e facilidade de deposição quanto pela boa interação que demonstraram com o recobrimento de tinta látex que foi utilizado para simular a superfície natural de uma folha.

A deposição de filmes finos de grafite foi realizada por intermédio da técnica “line patterning”, que possui as características de ser simples e barata, podendo ser utilizada com equipamento comum de escritório (HOHNHOLZ e MACDIARMID, 2001).

### Materiais e métodos

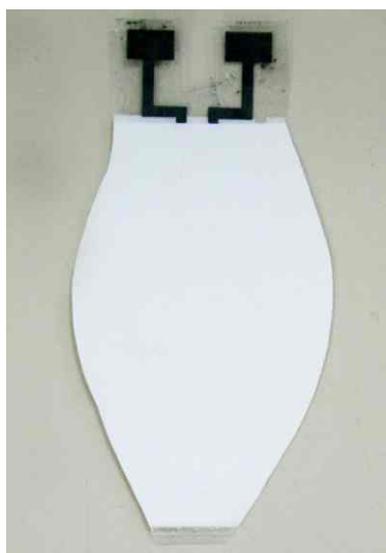
Os eletrodos foram preparados de acordo com a metodologia de preparação, utilizando a técnica de “line patterning” de grafite (VENÂNCIO et al., 2008). A máscara utilizada foi desenhada utilizando softwares gráficos convencionais e impressa sobre o substrato de PET utilizando uma impressora ‘laser jet’ convencional (HP LaserJet 1022). Foram depositadas 4 camadas finas de solução aquosa de grafite, preparada utilizando uma pasta de grafite comercial (Aquadag-E da Acheson. Inc) na razão de 1:3 grafite:água (peso/peso). Depois de seco, o PET foi mergulhado em tolueno e metil etil cetona (MEK), utilizando banho ultrassônico, para retirar o toner e manter apenas a grafite no substrato. Os eletrodos foram então mergulhados em tinta látex, diluída em água na proporção de 3:1 (v/v).

Dessa forma, as dimensões físicas do sensor (2,5cm por 4,5cm) foram projetadas para simular a superfície de uma folha de laranjeira (Fig. 2). Foram realizados testes para caracterizar a sensibilidade do sensor à água livre em sua superfície.



**Fig. 1.** Seqüência para confecção do sensor utilizando a técnica de “line patterning” em grafite (LPTG). A) Desenho da máscara b) Negativo do da máscara c) Impressão da máscara em PET d) Recobrimento do PET com grafite e)Retirada do toner com tolueno f)Recobrimento de tinta látex

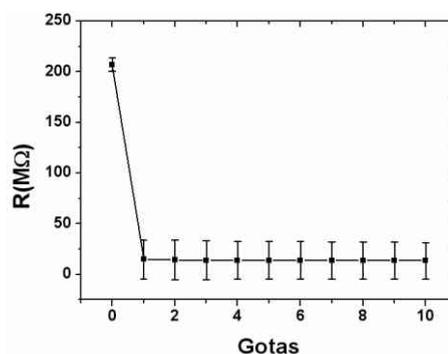
A resistência elétrica entre os terminais do eletrodo foi medida, inicialmente seco e, então a cada acréscimo de água. Para isso utilizou-se um multímetro de alta precisão (PM 2525 Philips), e uma micropipeta de laboratório para adicionar água à superfície do sensor, com volume controlado, em gotas de 15  $\mu$ L.



**Fig. 2.** Sensor de plástico para molhamento foliar desenvolvido com LPTG.

## Resultados e discussão

Sendo este um sensor com comportamento resistivo, o resultado ideal seria uma resistência infinita quando seco, e 0 na presença de gotículas de água sobre sua superfície. Os sensores desenvolvidos apresentaram uma alta resistência inicial, acima de 210 M $\Omega$ , o qual é considerado como o circuito aberto, e, uma queda de resistência mínima na faixa de 35M $\Omega$  na presença de água. Na Fig. 3 podemos observar o comportamento da resistência em função do número de gotas de 15  $\mu$ L de água. É importante notar a queda inicial de resistência, que determina a existência ou não de água sobre a superfície do sensor.



**Fig. 3.** Média de resultados de um sensor de molhamento.

---

## **Conclusões**

---

O sensor de molhamento foliar pode ser desenvolvido de maneira simples e barata, com resultados que possibilita a sua utilização na instrumentação aplicada a avaliação do MF. As medidas de resistência mostraram um comportamento constante para a detecção de água, o que torna o sensor confiável o suficiente para medições de presença de água na folha. Serão realizados testes para verificar a sensibilidade a diferentes dimensões de gotas.

---

## **Agradecimentos**

---

Ao CNPQ (485921/2006-5) pelos recursos financeiros, a Bolsa PIBIC do CNPq – Brasil, e a EMBRAPA Instrumentação Agropecuária.

---

## **Referências**

---

SENTELHAS, P. C.; GILLESPIE, T. J.; GLEASON, M. L.; MONTEIRO, J. E. B. A.; HELLAND, S. T. **Agricultural and Forest Meteorology**, Amsterdam, v. 126, n. 1-2, p. 59-72, 2004.  
HOHNHOLZ, D.; MACDIARMID, A. G. **Synth. Met.**, Lausanne, v. 121, n. 1-3, p. 1327-1328, 2001.  
VENANCIO, E. C.; MATTOSO, L. H. C.; HERRMANN, P. S. P.; MACDIARMID A. G. **Sensors and Actuators B**, Lausanne, v. 130, p. 723-729, 2008.



---

## ESTUDO DAS PROPRIEDADES MORFOLÓGICAS DOS FILMES FINOS DE POLIANILINA SOBRE POLI-TERAFTALATO DE ETILENO, UTILIZANDO MICROSCOPIA DE FORÇA ATÔMICA (AFM), APLICADOS EM SENSORES ÓPTICOS DE PH

---

Rafaella Takehara. Paschoalin<sup>1,2</sup>, Clarice Steffens<sup>1</sup>, Alexandra Manzoli<sup>1</sup>, Paulo Sérgio de Paula Herrmann<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação Agropecuária, 13560-970, São Carlos/SP \*herrmann@cnpdia.embrapa.br.

<sup>2</sup>Universidade Central Paulista, UNICEP, P. O. Box 511, 13563-470, São Carlos, SP, Brazil.

**Projeto Componente:** PC2

**Plano de Ação:** 01.05.1.01.02.03

---

### Resumo

Foi investigado com a técnica de microscopia de força atômica (AFM) o efeito do pH sobre as propriedades morfológicas dos sensores ópticos de baixo custo que utilizam filme fino de polianilina (PANI) como camada ativa. Os sensores foram obtidos por meio da técnica de “line-patterning” sobre substrato de PET (poli-tereftalato de etileno) e, com uma camada de PANI-HCl no estado de oxidação esmeraldina depositada por polimerização “in-situ”. Os resultados mostraram que o pH tem grande influência na morfologia da camada polimérica destes sensores.

**Palavras-chave:** sensores ópticos de pH, polianilina, line-patterning.

---

### Introdução

A polianilina (PANI) é um dos polímeros condutores que tem despertado maior interesse nos últimos anos (JIN et al., 2000). Por apresentar vantagens como baixo custo, facilidade de síntese e de dopagem em meio aquoso, estabilidade ambiental, propriedades eletrônicas e ópticas, efeito eletrocromático e condutividade moderadamente alta em comparação aos demais polímeros condutores, é adequada para o desenvolvimento de dispositivos eletrônicos inovadores. Esse polímero vem sendo utilizado para a construção de sensores de pH, uma vez que a sua banda de absorção eletrônica sensível a mudanças no pH é muito larga (BLOOR e MONKMAN, 1994) e os sensores ópticos que utilizam a PANI como camada ativa são adequados para medidas de pH na faixa de 2 a 12 (GRUMMT et al., 1997). Dessa forma, devido a vantagens em termo de tamanho, custo e tempo de resposta, os

sensores ópticos de pH com filme fino de PANI como camada sensível apresentam uma alternativa interessante em relação aos demais sensores de pH.

O objetivo deste trabalho foi caracterizar por meio da técnica de microscopia de força atômica (AFM) as propriedades morfológicas da polianilina em diferentes pHs.

### Materiais e métodos

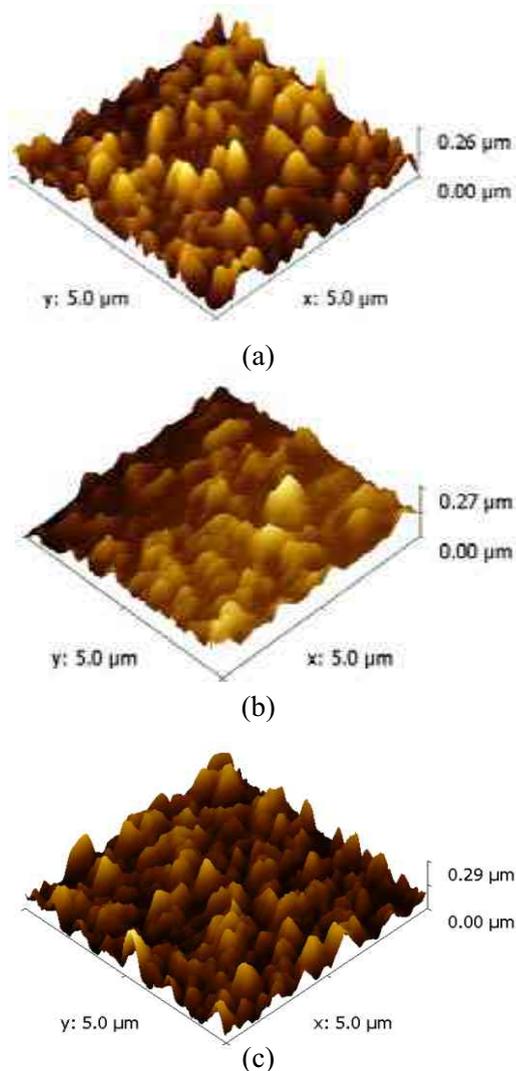
Os sensores ópticos de pH foram preparados por meio da técnica de “line-patterning” (HOHNHOLZ e MACDIARMID, 2001) sobre substrato de PET com um filme fino de PANI dopado com ácido clorídrico (HCl), depositado por polimerização “in-situ”. O efeito do pH sobre as propriedades morfológicas destes sensores foi analisado com o microscópio de força atômica Dimension V (Veeco).

Os sensores de pH foram imersos por cinco

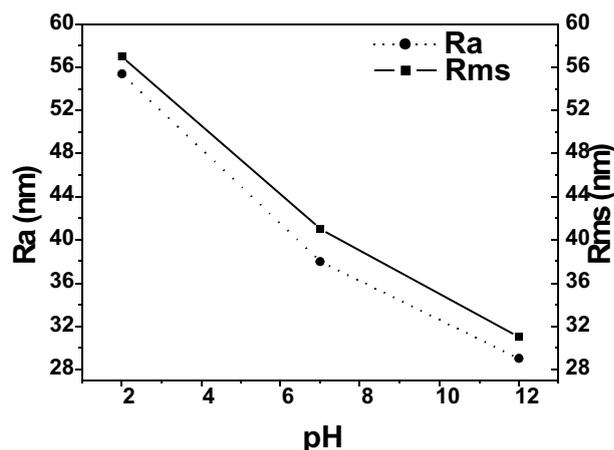
minutos em três soluções com diferentes pHs (2, 7 e 12). Todas as imagens foram obtidas em modo Tapping™ com frequência de varredura de 1 Hz. Foram utilizadas pontas de silício, cantilever com constante de Spring de 42 N m<sup>-1</sup> e frequência de ressonância de 285 KHz. A rugosidade média quadrada (Rms), rugosidade média (Ra) e as imagens em 3D foram obtidas com o software Gwyddion (Gwyddion.net).

## Resultados e discussão

As imagens em 3D mostram para os três diferentes pHs a formação de filmes com morfologia globular. A rugosidade diminuiu com o aumento do pH (Fig. 2) mostrando, dessa forma, a influência do pH sobre a morfologia das camadas poliméricas destes sensores. Verificou-se também que os valores de Ra e Rms foram muito próximos.



**Fig. 1.** Imagens em 3D de filmes finos de polianilina utilizada como camada ativa em sensores ópticos de pH a) pH 2, b) pH 7 e c) pH 12.



**Fig. 2.** Rugosidade média (Ra) e Rugosidade média quadrada (RMS) em diferentes pHs.

## Conclusões

Foi possível, com a utilização da técnica de microscopia de força atômica, avaliar o efeito do pH sobre as propriedades morfológicas dos sensores ópticos de baixo custo que utilizam filme fino de polianilina (PANI/HCl) como camada ativa.

## Agradecimentos

Ao CNPQ (485921/2006-5) pelos recursos financeiros, bolsa PIBIC do CNPq (109506/2008-1) e a EMBRAPA Instrumentação Agropecuária pelo suporte e utilização dos laboratórios.

## Referências

- BLOOR, D.; MONKMAN, A. *Synth. Met.*, Lausanne, v. 21, n. 2, p. 175-179, 1987). GRUMMT, U.W.; PRON, A.; ZAGORSKA, M.; LEFRANT, S. *Anal. Chim. Acta*, [S. l.], v. 357, n. 3, p. 253-259, 1997. HOHNHOLZ, D.; MACDIARMID, A. G. *Synth. Met.*, Lausanne, v. 121, n. 1-3, p. 1327-1328, 2001. JIN, Z.; SU, Y.; DUAN, Y. *Sensors and Actuators B*, Lausanne, v. 71, n. 1-2, p. 118-122, 2000.



---

## DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO DE ANÁLISE ELETROQUÍMICA PARA DETECÇÃO DE RICINA

---

Roselayne Ferro Furtado (PQ)<sup>1</sup>, Vitor Paulo Andrade da Silva (IC)<sup>2</sup>, João Bosco de Carvalho (IC)<sup>2</sup>, Maria Izabel Florindo Guedes (PQ)<sup>3</sup>, Carlucio Roberto Alves (PQ)<sup>2</sup>, Luiz Henrique Capparelli Mattoso(PQ)<sup>4</sup>, Juliano Elvis de Oliveira (PG)<sup>4</sup>, Ana Cristina de Oliveira Monteiro Moreira (PQ)<sup>5</sup>, Rosa Fireman Dutra (PQ)<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Agroindústria Tropical, CNPAT, Fortaleza – CE, roselayne@cnpat.embrapa.br

<sup>2</sup>Departamento de Química, UECE, Fortaleza - CE

<sup>3</sup>Departamento de Nutrição, UECE, Fortaleza - CE

<sup>4</sup>Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, CNDPIA, São Carlos-SP

<sup>5</sup>Departamento de Farmácia, UNIFOR, Fortaleza-CE

<sup>6</sup>Departamento de Ciências Biológicas, UPE, Recife - PE

**Projeto Componente:** PC 2

**Plano de Ação:** 01.05.1.01.02.02

---

### Resumo

A torta de mamona é um subproduto do biodiesel gerado em grande quantidade, com potencial uso na forma de ração. Um dos principais empecilhos para esta prática de agregação de valor é a presença da ricina, uma proteína letal a animais. Por este motivo torna-se imprescindível a análise da torta de mamona após processo de destoxificação. Para tanto, um biossensor eletroquímico esta sendo desenvolvido para detecção da proteína. Neste trabalho são demonstrados alguns resultados relacionados ao efeito da concentração do mediador na resposta eletroquímica e avaliação da estabilidade do biossensor quanto ao número de ciclos de varredura. Os resultados indicaram que o biossensor tem-se mostrado estável para varreduras entre potenciais de -600 a 600 mV e que a resposta pode variar de acordo com a concentração do mediador.

**Palavras-chave:** biossensor, ricina, detecção.

---

### Introdução

---

A ricina, presente na torta de mamona (OLSNES, 2004), é uma proteína inativadora de ribossomos (RIPs). A torta de mamona, subproduto do biodiesel, tem elevado valor nutritivo com potencial uso na forma de ração (BELTRAO, 2003). Contudo, para ser usada, esta precisa ser submetida a processo de destoxificação a fim de promover a desnaturação da ricina. Os biossensores são dispositivos bio-eletrônicos que podem ser utilizados na detecção de contaminantes químicos e biológicos. Neste contexto, esses representam uma alternativa promissora como método de detecção de

ricina em torta de mamona submetida à destoxificação. A aplicação de biossensores eletroquímicos como método de análise oferece diversas vantagens: o baixo custo, resposta rápida e alta sensibilidade. Neste trabalho são demonstrados alguns resultados relacionados ao efeito da concentração do mediador na resposta eletroquímica e estabilidade do biossensor quanto ao número de ciclos de varredura.

### Materiais e métodos

---

A proteína foi obtida a partir de sementes de mamona da cultivar Nordestina desenvolvida pela Embrapa Algodão. Foram realizadas cromatografias

de afinidade para purificação da lectina segundo metodologia de Appukutan (1977). Os anticorpos anti-ricina foram produzidos em coelhos de acordo com metodologia de Furtado et al. (2008) e posteriormente, purificados e liofilizados para uso no biossensor amperométrico.

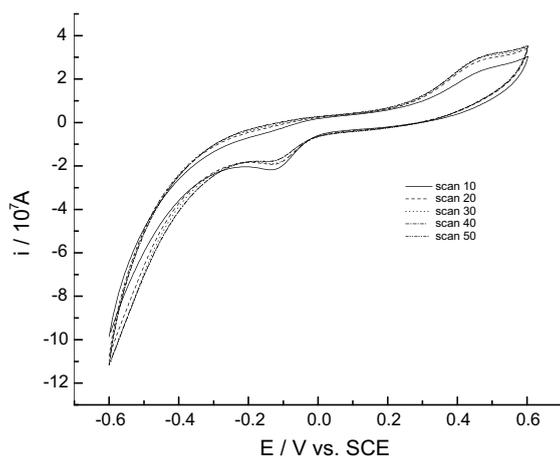
Antes de cada procedimento de formação do filme com moléculas bioativas, o eletrodo de trabalho foi submetido à limpeza superficial química com polimento (alumina 0,03  $\mu\text{m}$ ) e solução piranha ( $\text{H}_2\text{O}_2$  e  $\text{H}_2\text{SO}_4$  - 1:3) com conseqüente banho ultrassônico em água deionizada.

O eletrodo de trabalho, superfície de ouro (área geométrica de 0,05  $\text{cm}^2$ ), foi modificado com filme de molécula bioativa para o reconhecimento de ricina nativa. O eletrodo foi deixado em contato com solução de ricina 0,5  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  por uma hora e posteriormente, em contato com solução de anticorpo anti-ricina conjugado a peroxidase por duas horas. As medidas foram realizadas em célula eletroquímica de 10 mL contendo solução tampão fosfato pH 6,5, 100  $\mu\text{L L}^{-1}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e 60  $\mu\text{L L}^{-1}$  de hidroquinona. Antes de cada medida voltamétrica, as soluções foram desaeradas na presença de  $\text{N}_2$  por 15 minutos

Para a realização das medidas eletroquímicas foram utilizados eletrodos auxiliar de fio de platina (área geométrica de 1,0  $\text{cm}^2$ ) e de referência Ag/AgCl. As medidas foram obtidas em Autolab Potenciostato/Galvanostato PGSTAT 302N.

## Resultados e discussão

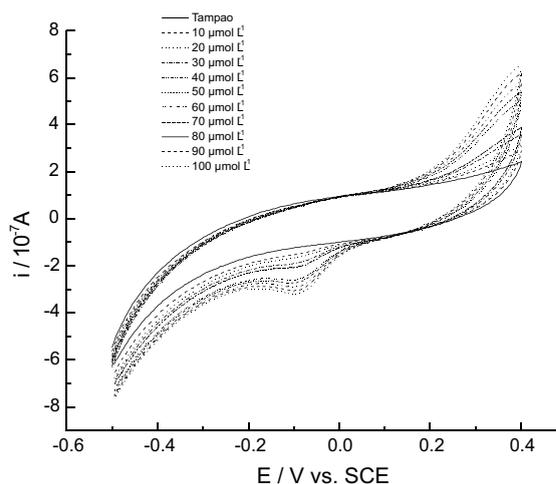
A estabilidade das correntes de pico após 50 ciclos de varredura foi bastante satisfatória, indicando que a imobilização do filme não é lixiviada da superfície do ouro facilmente (Fig. 1).



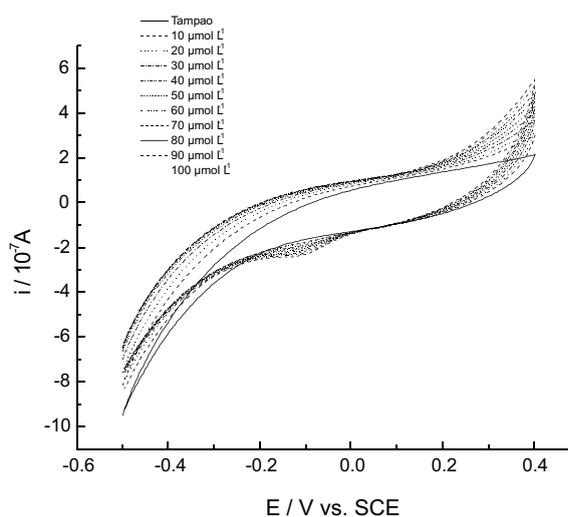
**Fig. 1.** Voltamogramas cíclicos do biossensor após detecção da ricina em eletrodo de ouro modificado; faixa de potencial: -0,6 a 0,6 V; velocidade de varredura: 50  $\text{mV s}^{-1}$ .

A resposta do biossensor frente a diferentes concentrações da hidroquinona foi investigada por

voltametria cíclica. Como pode ser observado na Figura 2, a corrente de pico de redução aumenta significativamente com o incremento da concentração da hidroquinona. O mesmo fato não foi verificado para o biossensor não conjugado a peroxidase (controle) (Fig. 3). Este fato é decorrente da enzima peroxidase catalisar a oxidação da hidroquinona para quinona em presença de peróxido de hidrogênio e, posteriormente, a quinona formada é reduzida eletroquimicamente na superfície do biossensor (OLIVEIRA e VIEIRA, 2006) em potencial de cerca de -100 mV.



**Fig. 2.** Voltamogramas cíclicos do biossensor em eletrodo de ouro modificado em diferentes concentrações de hidroquinona em 100  $\mu\text{mol L}^{-1}$   $\text{H}_2\text{O}_2$ ; faixa de potencial: -0,6 a 0,6 V; velocidade de varredura: 50  $\text{mV s}^{-1}$ .



**Fig. 3.** Voltamogramas cíclicos do biossensor sem anticorpo conjugado com peroxidase em eletrodo de ouro modificado em diferentes concentrações de hidroquinona em 100  $\mu\text{mol L}^{-1}$   $\text{H}_2\text{O}_2$ ; faixa de potencial: -0,6 a 0,6 V; velocidade de varredura: 50  $\text{mV s}^{-1}$ .

---

## Conclusões

---

Os resultados indicaram que a etapa de formação do filme para reconhecimento da ricina e metodologia de produção dos anticorpos anti-ricina conjugados a peroxidase estão sendo bastante satisfatórios. Os ensaios com o biossensor continuarão de modo a determinar sua sensibilidade e outros parâmetros de otimização, assim como sua validação em torta de mamona.

---

## Agradecimentos

---

FINEP/MCT, EMBRAPA, CNPq.

---

## Referências

---

- APPUKUTTAN, P. S.; SUROLLA, A; BACHHAWAT, B. K. Isolation of two galactose-binding proteins from *Ricinus communis* by affinity chromatography. **Indian Journal of Biochemistry and Biophysics**, New Delhi, v. 14, n. 4, p. 382-384, 1977.
- BELTRÃO, N. E. M. **Informações sobre o biodiesel, em especial feito com o óleo de mamona**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2003. 3 p. (Embrapa Algodão. Comunicado Técnico, 177).
- OLSNES, S. The history of ricin, abrin, and related toxins. **Toxicon**, Elmsford, v. 44, p. 361-370, 2004.
- OLIVEIRA, R. W. Z. DE; VIEIRA, I. C. Construção e aplicação de biossensores usando diferentes procedimentos de imobilização da peroxidase de vegetal em matriz de quitosana. **Química nova**, São Paulo, v. 29, n. 5, p. 932-939. 2006.



---

## SENSORES À BASE DE POLÍMERO CONDUTOR PARA DETECÇÃO DE CIANOBACTÉRIAS

---

Victor Bertucci Neto<sup>1\*</sup>, Néelson Consolin Filho<sup>3</sup>, Luiz Henrique Capparelli Mattoso<sup>1</sup>, Armando Henriques Vieira<sup>2</sup>, Rodrigo Fernando Pepino<sup>2</sup>, Edinaldo José Ferreira<sup>1</sup>, Helena Henriques Vieira<sup>2</sup>,

<sup>1</sup>Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação Agropecuária, 13560-970, São Carlos/SP \*victor@cnpdia.embrapa.br;

<sup>2</sup>Depto. de Botânica - UFSCar, 13560-905, São Carlos/SP;

<sup>3</sup>Depto. De Ciências da Natureza – UF do Acre, Rio Branco.

**Projeto Componente:** PC2

**Plano de Ação:** 01.05.1.01.02.03

---

### Resumo

Nos últimos anos, devido principalmente a ações antrópicas, os blooms de cianobactérias tóxicas em lagos, reservatórios e outros corpos d'água são cada vez mais frequentes e maiores, podendo acarretar em danos irreversíveis à saúde humana e animal. Neste trabalho propõe-se um conjunto de sensores revestidos com polímero condutor, cuja medida capacitiva elétrica permite detectar e classificar quatro espécies de cianobactérias tóxicas assim como de suas toxinas em diferentes concentrações.

**Palavras-chave:** polímero, condutor, sensor, capacitância, cianobactéria, toxina.

---

### Introdução

---

Nos últimos anos, devido principalmente a ações antrópicas, os blooms de cianobactérias tóxicas em lagos, reservatórios e outros corpos d'água menores são cada vez mais frequentes e maiores. O aparecimento relativamente rápido de grandes florescimentos de *C. raciborskii* em regiões temperadas levou vários autores a considerarem que a espécie, de origem tropical, está se reproduzindo possivelmente devido ao aquecimento global (BRIAND *et al.*, 2004). Apesar de existirem relatos desde o século XIX de acidentes envolvendo cianobactérias tóxicas (ou cianofíceas, ou algas azuis, como também são conhecidas), o problema do aumento de florescimentos desses organismos foi negligenciado até recentemente. Cianobactérias tóxicas em corpos d'água utilizados como fonte de água potável para populações humanas e para gado são potencial e extremamente perigosas e inúmeros acidentes por todo mundo são relatados na literatura especializada. Um dos primeiros relatos de acidente

com esses organismos talvez seja aquele de Francis (1878), que descreve o envenenamento de pessoas e gado no lago Alexandrina (Austrália). Outros acidentes são descritos relacionando o aumento da incidência de câncer no fígado em populações da China com florescimentos de cianobactérias tóxicas (UENO *et al.*, 1996). Porém, o mais famoso dos acidentes relatados na literatura é o de Caruaru, Pernambuco quando, em 1996, cerca 60 pacientes de hemodiálise faleceram quando água contaminada com microcistinas foi utilizada nas máquinas de diálise (JOCHIMSEN *et al.*, 1998). O tratamento primário para eliminação das cianotoxinas passa pela retirada das células, evitando sempre sua lise já que elas são endocelulares e podem ser liberadas para a água na qual são bastante solúveis. Por isso, a legislação nacional atual coíbe a utilização de algicidas, como o sulfato de cobre, diretamente no corpo d'água. Entretanto, se as cianotoxinas já estiveram dissolvidas, alguns tratamentos como a cloração, ozonização, radiação UV e ultra-filtração são de razoável eficiência. Contudo, tais tratamentos

aplicados de modo contínuo em grandes volumes de água representam elevados custos e uma maneira de diminuí-los é o constante monitoramento das cianotoxinas nas águas. Outro problema que ocorre é devido ao processo relativamente demorado e caro para detectar todos os tipos de cianotoxinas, pois é feito com análises por HPLC ou por imunoenaios tipo ELISA (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*), mais baratos mas menos eficazes. Dessa forma o desenvolvimento de uma metodologia que possa monitorar espécies de cianotóxicas pode impulsionar a solução de questões ambientais, seja na correção de superpopulações, seja na prevenção. Neste trabalho, são apresentados alguns resultados que comprovam a possibilidade de detecção destes organismos, assim como de suas toxinas. O princípio sensor da técnica é baseado em medida de capacitância elétrica em sensores recobertos com filmes de polímeros condutores.

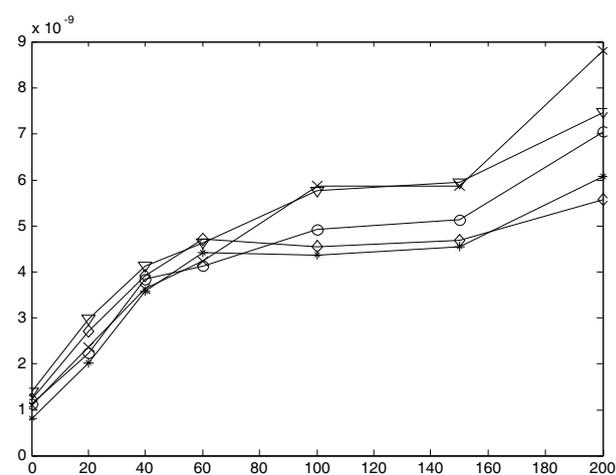
## Materiais e métodos

As cianobactérias, comprovadamente tóxicas, a empregadas neste trabalho são: *Anabaena spiroides* (A), *Cylindrospermopsis raciborski* (C), *Microcystis aeruginosa* (M), e *Planktothrix tropicalis* (P). Os organismos foram isolados do reservatório de Barra Bonita (SP) e estão sendo mantidos, como cepas unialgais em fase de axenização, no acervo da Coleção de Culturas de Microalgas de Água Doce do Departamento de Botânica da UFSCar. (WWCM 835). Os organismos foram cultivados em garrafas pirex com *vent-caps*, de 20 litros de capacidade e com 18 litros de meio de cultura específico. No final da fase exponencial do crescimento de cada cultura, 30 a 50 dias, as células foram separadas dos meios de cultura por filtração tangencial em cartucho de fibra oca com poros de 0,65µm. As células da cada organismo foram suspensas em água deionizada e desintegradas por sonificação. Os extratos de cada espécie foram mantidos resfriados a 4 °C até o momento de serem analisados pelos sensores. A preparação dos sensores é feita através da deposição de uma ou mais camadas poliméricas em substrato de vidro que já contém eletrodos de ouro depositados. Todos os filmes foram fabricados pela técnica de automontagem (*self assembly*) com POEA (poli o-etoxianilina), concentração igual a  $1 \times 10^{-3}$  M em pH=3, variando-se apenas o número de camadas depositadas. A partir de um conjunto de sensores previamente montados foram organizadas as medidas de impedância (parte capacitiva e resistiva) com frequência do sinal igual a 1 KHz, valor no qual ocorreu maior sensibilidade em relação à amostra. Foi usado o equipamento analisador de impedância por ganho e fase, marca Solartron, modelo SI 1260, com um multiplexador para medidas em 10 sensores. As amostras usadas nos experimentos tinham concentração máxima igual a 8 Giga células por litro e também foram

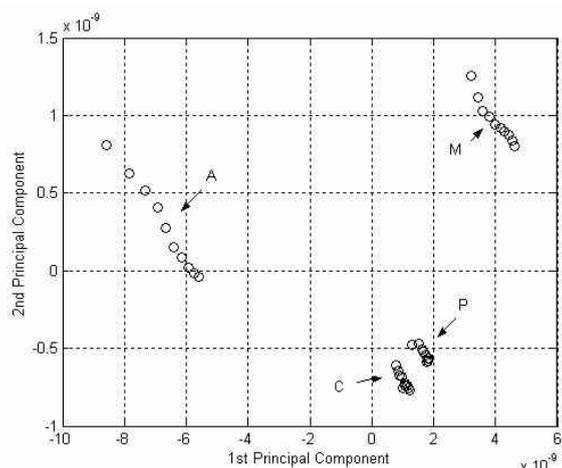
diluídas em concentrações de 80%, 60%, 40%, e 20% do máximo, respectivamente, sendo comparadas com água pura deionizada. Em seguida foram misturadas as amostras em duas a duas, três a três, e assim sucessivamente até serem feitas as medidas com todos os tipos de cianobactérias na mesma amostra. Essas medidas foram reconfirmadas para análise da repetibilidade do sistema. Os dados foram compatibilizados de forma que se verificassem agrupamentos após o processamento através de Análise da Componente Principal (PCA).

## Resultados e discussão

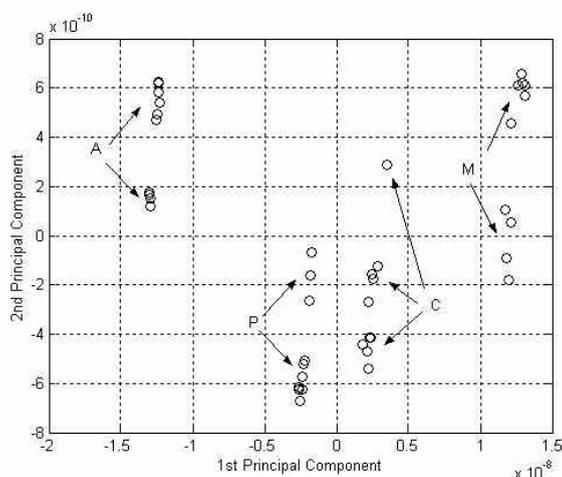
Na Figura 1 é mostrado o resultado do comportamento da medida de capacitância elétrica de cinco sensores com variação da concentração de microcistina entre 0% (água deionizada), 20 µg/litro, 40 µg/litro, 60 µg/litro, 80 µg/litro, 150 µg/litro, e 200µg/litro, quantidades acima do máximo tolerado (8 µg/litro). Observa-se a tendência crescente da capacitância em função da concentração. Na Figura 2 é mostrado o resultado devido ao PCA com as quatro espécies de microrganismos vivos e em concentração máxima, com medidas em dez sensores. Observa-se neste caso o comportamento de agrupamento por espécies no PCA. Na Figura 3 repete-se o procedimento, porém com as células rompidas por meio de aplicação de ultra-som, mostrando novamente a capacidade de agrupamento no PCA. Já na Figura 4 observa-se o resultado do PCA com as quatro espécies vivas em concentrações que vão de 40%, 60%, 80% e 100% da máxima cultivada, igualmente com os dados de dez sensores. Novamente observa-se a capacidade de classificação das espécies em função também da concentração.



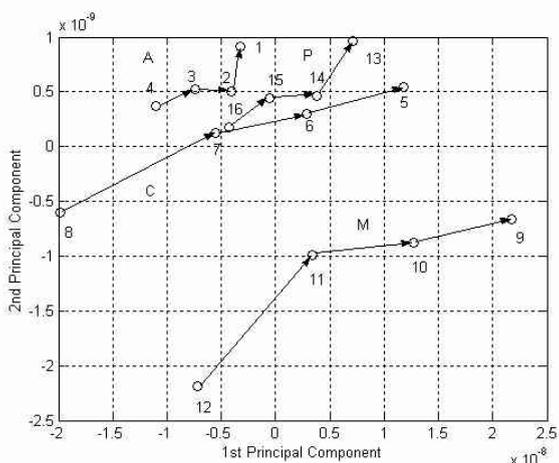
**Fig. 1.** Medida com 5 sensores ( , \*, o, ,x) com concentrações de microcistina entre 0, 20, 40, 60, 100, 150, e 200 µg/litro.



**Fig. 2.** PCA das 4 espécies vivas (A, C, P, e M) com 10 sensores e concentração máxima.



**Fig. 3.** PCA das 4 espécies mortas (A, C, P, e M) com 10 sensores e concentração máxima.



**Fig. 4.** PCA das 4 espécies vivas (A, C, P, e M) com 10 sensores e concentração máxima entre 40%, 60%, 80%, e 100% da máxima.

## Conclusões

Os resultados mostram que o sistema sensor pode discriminar razoavelmente as quatro espécies de cianobactérias analisadas. A primeira componente principal contém mais de 99% de toda a informação em todos os diagramas apresentados, mostrando a viabilidade de detecção de cada espécie amostrada. Nos casos em que ocorreu aproximação entre os agrupamentos de espécies (C e P) devem ser revistos para melhoria de detecção. É interessante frisar que os sensores não foram previamente preparados para detectar qualquer uma das espécies, ou seja, espera-se que através da inclusão de substâncias relacionadas às toxinas possa-se aumentar a sensibilidade e conseqüentemente a capacidade de seleção do sistema.

## Agradecimentos

CNPQ, FINEP/MCT, EMBRAPA, e FAPESP.

## Referências

- BRIAND, J. F.; LEBOULANGER, C.; HUMBERT, J. F. *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria) invasion at mid-latitudes: selection, wide physiological tolerance or global warming? **Journal of phycology**, Lawrence, v. 40, p. 231-238, 2004.
- FRANCIS, G. Poisonous Australian lake. **Nature**, London, v. 18, p. 11-12, 1878.
- JOCHIMSEN, E. M.; CARMICHAEL, W. W.; AN, J. S.; CARDO, D. M.; COOKSON, S. T., HOLMES, C. E. M.; ANTUNES, M. B. C. ; DE MELO FILHO, D. A.; LYRA, T. M. ; BARRETO, V. S. T.; AZEVEDO, S. M. F. O.; JARVIS, W. R. Liver failure and death after exposure to microcystins at a hemodialysis center in Brazil. **New England Journal of Medicine**, Waltham, v. 338, p. 873-888, 1998.
- UENO, Y.; NAGATA, S.; TSUTSUMI, T.; HASEGAWA, A.; WATANABE, M. F.; PARK, H. D.; CHEN, G. C.; CHEN, G. ; YU, S. Z. Detection of microcystins, a blue-green algal hepatotoxin, in drinking water sampled in Haimen and Fusui, endemic areas of primary liver cancer in China, by highly sensitive immunoassay. **Arcinogenesis**, Oxford, v. 17, p. 1317-1321, 1996.



---

## DESENVOLVIMENTO DE SENSORES POLIMÉRICOS PARA MONITORAMENTO DA QUALIDADE DE ÁGUAS EMPREGANDO SISTEMA DE ANÁLISE EM FLUXO

---

Viviane Grassi<sup>\*</sup>, Marcos Y. kamogawa<sup>2</sup>, Luiz. H.C. Mattosso<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação Agropecuária, 13560-970, São Carlos/SP \*viviane.grassi@gmail.com  
Embrapa Instrumentação Agropecuária

<sup>2</sup>Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Departamento de Química, 13418-900, Piracicaba/SP.

**Projeto Componente:** PC2

**Plano de Ação:** 01.05.1.01.02.03

---

### Resumo

Um sistema de análise em fluxo com multicomutação combinado a língua eletrônico para o monitoramento da qualidade de amostras de água foi desenvolvido visando à criação de um banco de dados com informações sobre a qualidade da água. Para tanto, estudos iniciais envolvendo a preparação, caracterização e o desenvolvimento de módulos sensoriais, empregando filmes de polímeros condutores, para monitoramento de ambientes aquáticos foram realizados. Estes estudos forneceram indicativos da possibilidade de discriminação de diferentes tipos de amostras de água, pelo conjunto de sensores avaliados.

**Palavras-chave:** sistemas de análises em fluxo, polímeros condutores, língua eletrônica.

---

### Introdução

---

As línguas eletrônicas podem ser definidas como instrumentos analíticos para amostras líquidas que são constituídas, geralmente, por um conjunto de sensores que utilizam polímeros orgânicos conjugados como transdutores, cuja condutividade elétrica e permissividade relativa variam quando expostos as substâncias químicas de interesse. Fundamentalmente, as análises em instrumentos como as línguas eletrônicas são compostas de duas partes claramente definidas. A primeira parte consiste na parte sensorial que gera sinais com respostas seletivamente cruzadas, as quais estão relacionadas à composição da amostra. A outra parte consiste em utilizar ferramentas quimiométricas para processar os dados previamente gerados.

O monitoramento das águas por sensores é uma alternativa interessante quando incorporado ao

sistema de tratamento de águas (KRANTZ-RÜLCKER, 2001), em que eventuais deteriorações da qualidade da água na fonte de abastecimento, podem ser prontamente detectadas possibilitando correções no procedimento de tratamento evitando que uma água de má qualidade seja produzida. Para isso a automatização desse monitoramento é desejável, pois facilita a aquisição dos dados e permitem detectar, de forma rápida, qual o parâmetro fora de conformidade. Neste enfoque podemos destacar o emprego de sistemas de análise em fluxo, que permitem a fácil automatização e incorporação desses sensores ao sistema de tratamento de água (ROCHA et al., 2000; MARTINS e COSTA, 1998). O desenvolvimento de um sistema de análise em fluxo com multicomutação combinados a detectores eletroquímicos de última geração (língua eletrônica) para o monitoramento da qualidade de amostras de água é o enfoque principal deste trabalho.

## Materiais e métodos

O polímero poli(o-etoxianilina) utilizado foi obtido através de síntese química empregando procedimento proposto por Mattoso (1996). O polímero obtido por esse procedimento apresenta um alto peso molecular com massa molar próxima a  $41000 \text{ g mol}^{-1}$ , formando um polímero intrinsecamente condutor sendo que, uma solução  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  deste polímero foi preparada sendo o pH ajustado para 3,0 com HCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ .

O polímero poli(estireno sulfonato de sódio) (PSS) utilizado, encontrava-se na forma de sais pronto para a utilização. Uma solução de PSS  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  foi preparada sendo o pH ajustado para 3,0 com HCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ .

Ainda, uma solução de 50% de PEDOT foi também utilizada para a deposição dos filmes, essa solução foi diluída com água ultrapura e etilenoglicol preparado na proporção de 5:1.

Filmes finos de polímeros condutores foram depositados em eletrodos interdigitados de grafite confeccionados em filmes de PET (politereftalato de etileno) de transparências para impressora a laser, conforme descrito por MacDiarmid (2002). A fabricação de filmes ultrafinos foi realizada pela técnica de automontagem sendo o monitoramento da deposição dos filmes finos em função da quantidade de material depositado em cada camada e do efeito de dopagem, realizado por espectroscopia UV-Vis.

O módulo sensorial de análise em fluxo para amostras líquidas empregado na língua eletrônica consistia de duas placas de acrílico que formavam um sanduíche com uma placa de borracha e com os eletrodos. Um sulco presente na borracha permitia que a solução/amostra entrasse no suporte passando sob os eletrodos e os respectivos filmes poliméricos. Diferentes unidades sensoriais (micro-eletrodos interdigitados) nos quais foram depositados filmes finos de polímeros condutores e suas misturas com materiais sensíveis (POEA, POEA/PSS, POEA/PEDOT, PEDOT e PEDOT/PSS) foram empregadas. Este conjunto de unidades sensoriais foi exposto aos diferentes composições de amostra e o desempenho dos sensores foi avaliado em função das características eletroquímicas.

A Figura 1 representa o diagrama esquemático do sistema de análise em fluxo empregado.

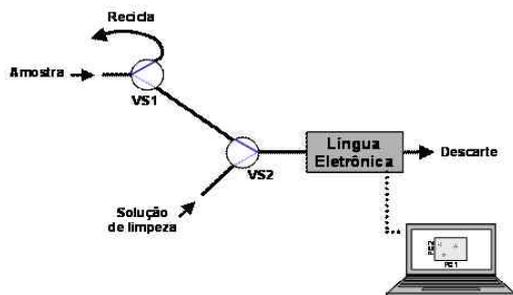


Fig. 1. Diagrama de fluxos esquemático do sistema de análise automático para águas

## Resultados e discussão

Os estudos de crescimento de filmes pela técnica de automontagem foram realizadas em placas de transparência (PET) ( $1 \times 3 \text{ cm}$ ) visando uma posterior aplicação desses filmes nos eletrodos de grafite fabricados pela técnica de “*line patterning*”, que utilizam os mesmos substratos plásticos.

Foram avaliados os crescimentos de filmes dos polímeros sozinhos e de camadas intercaladas, monitorando a região do espectro visível de 320 a 900 nm (Fig. 2).

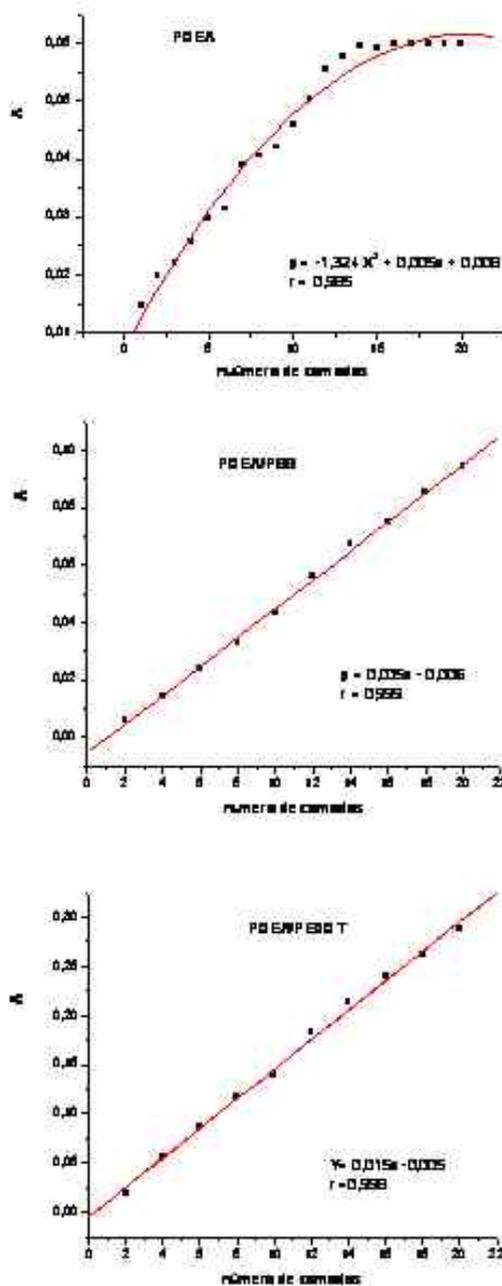
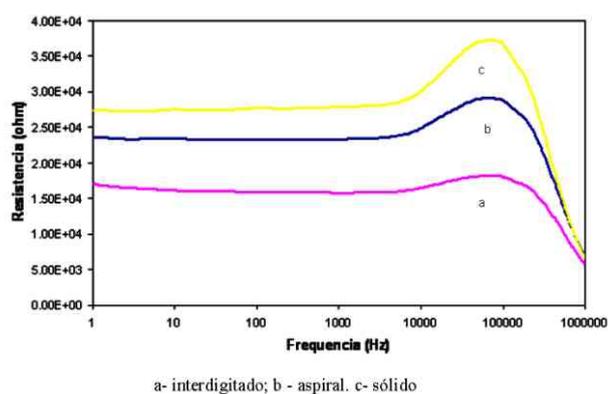


Fig. 2. Curva de crescimento do polímeros condutores.

O crescimento do filme de POEA apresentou comportamento polinomial indicando um depósito desigual do polímero conforme aumentando da formação de camadas. Considerando os sinais referentes ao depósito de POEA/PSS e POEA/PEDOT, verificamos um comportamento linear indicando uma formação de camadas com depósitos de material similares.

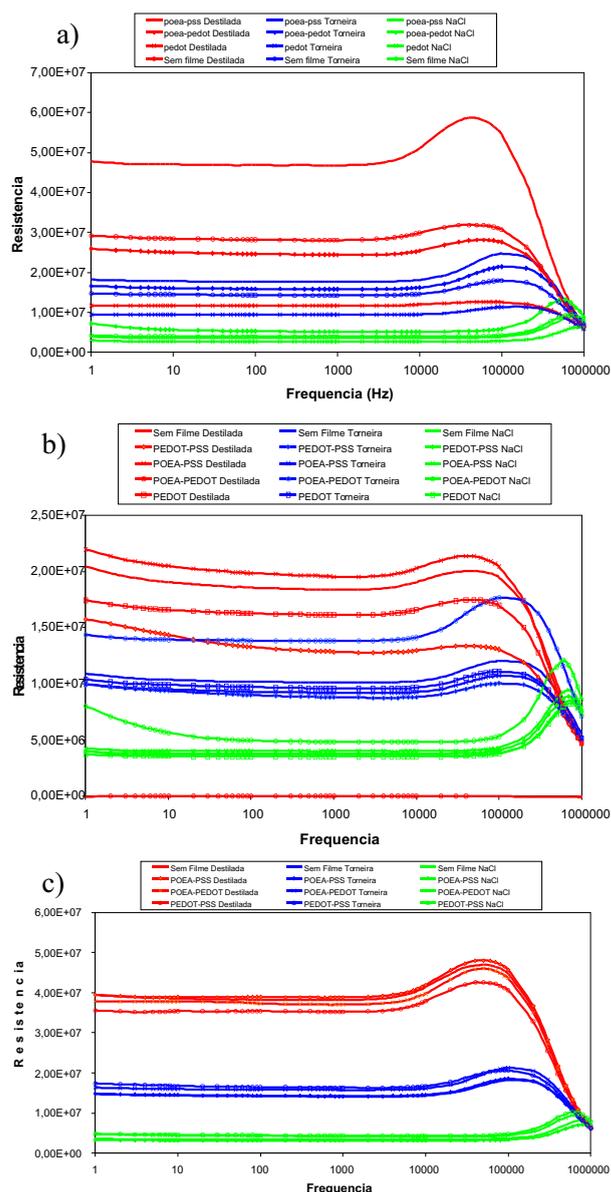
A diferença de resistência elétrica dos eletrodos, devido à configuração foi avaliada empregando o analisador de impedância Solartron SI 1265. A Fig. 3, apresenta os sinais de resistência pela variação da frequência em que podemos verificar uma alteração na resposta elétrica devido a configuração dos eletrodos de grafite.



**Fig. 3.** Resistência dos eletrodos de grafite em água destilada.

Estes eletrodos foram avaliados em medidas de capacitância e resistência em 6 tipos de soluções, água ultrapura, água destilada, água de torneira e água com NaCl  $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  sendo que alguns dados encontram-se ilustrados na Fig. 4.

Nos sensores de grafite com a configuração denominada sólida, pequena diferença de resistência elétrica foi percebida com a utilização de diferentes filmes de polímeros condutor sendo muito similar ao eletrodo desprovido de filme, o que leva a conclusão que a resposta elétrica obtida é dependente apenas da configuração do sensor e as variações das resistências em diferentes meios, são devidas unicamente pela condutividade da solução. Quanto as configurações espiral e interdigitado, percebe-se nitidamente uma diferença de resistividade quando filmes diferentes são usados, principalmente na configuração denominada espiral. Empregando um sistema do tipo língua eletrônica em que sensores com diferentes filmes são utilizados, estas diferenças eletroquímicas caracterizarão as amostras, podendo utilizar as medidas como um “fingerprint” ou uma impressão digital.



**Fig. 4.** Medidas de resistência elétrica dos sensores com configuração aspiral (a), interdigitado (b) e sólido (c).

## Conclusões

O desenvolvimento de sensores de grafite em suporte plástico apresenta-se promissor devido seu baixo custo e facilidade de fabricação. Seu emprego em sistemas de análise em fluxo permitirá a construção de módulos de análise baratos e com características descartáveis de qualidade adequada a sistemas de monitoramento contínuo. Os estudos parciais da interação dos filmes poliméricos com os constituintes da água fornecem indicativos da possibilidade de discriminação de diferentes tipos de amostras de água, mostrando-se adequada ao objetivo proposto.

---

## Agradecimentos

---

FAPESP, EMBRAPA, FINEP/MCT, CNPq.

---

## Referências

---

KRANTZ-RÜLCKER, C.; STENBERG, M.; WINQUIST, F.; LUNDSTRÖM, I. The oxidation of ascorbic acid by hexacyanoferrate(III) ion in acidic aqueous media: Application of the Marcus cross relation. **Analítica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 426, p. 217, 2001.

ROCHA, F. R. P.; MARTELLI, P. B.; REIS, B. F. Experimentos Didáticos Utilizando Sistema de Análises por Injeção em Fluxo, **Química Nova**, São Paulo, v. 23, n. 1, p. 119, 2000.

MARTINS, L. J. A.; COSTA, J. B. The oxidation of ascorbic acid by hexacyanoferrate(III) ion in acidic aqueous media: Application of the Marcus cross relation. **Journal of Chemical. Education**, Easton, v. 65, p. 176, 1988.

MATTOSO, L. H. C. Polianilinas: Síntese, Estrutura e Propriedades, **Química Nova**, São Paulo, v. 19, n. 4, p. 388, 1996.

MACDIARMID, A. G. Synthetic metals: a novel role for organic polymers, **Synthetic Metals**, Larsanne, v. 125, n. 11, 2002.

## **CAPÍTULO 2**

# **MEMBRANAS DE SEPARAÇÃO, FILMES E EMBALAGENS COM NANOESTRUTURA CONTROLADA PARA APLICAÇÃO NA AGROINDÚSTRIA**

Organizador: Odílio Benedito Garrido de assis





---

## CARACTERIZAÇÃO DE REVESTIMENTOS PARA UTILIZAÇÃO EM FRUTOS MINIMAMENTE PROCESSADOS DE CAQUI ‘MIKADO’ (DIOSPYROS KAKI)

---

Augusto César Vieira Neves Junior<sup>1</sup>, Antonio Gomes Soares<sup>2\*</sup>, Daniela de Grandi Castro Freitas<sup>2</sup>, Murillo Freire Junior<sup>2</sup>, Suely Pereira Freitas<sup>3</sup>, Regina Celi Cavestré Coneglian<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Mestre em Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRuralRJ, Rodovia BR 465, Km 47, CEP: 23.890-000, Seropédica, RJ

<sup>2</sup>Laboratório de Fisiologia Pós-colheita de frutas e hortaliças, Embrapa Agroindústria de Alimentos, Avenida das Américas, 29501, CEP 23020-470, Rio de Janeiro – RJ. \*Agomes@ctaa.embrapa.br

<sup>3</sup>Professora Adjunto II - Laboratório de Processamento de Matérias Primas – Universidade Federal do Rio de Janeiro

<sup>4</sup>Professora Associada do Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

**Projeto Componente:** PC3

**Plano de Ação:** 01.05.1.01.03.04

---

### Resumo

O uso de revestimentos comestíveis associado ao armazenamento refrigerado pode vir a prolongar a vida útil dos produtos minimamente processados. Foram analisados quatro tipos diferentes de revestimentos, sendo: amido de mandioca (AM), alginato de sódio, carboximetil celulose (CMC) e gelatina bovina. Avaliou-se a espessura, a permeabilidade ao vapor de água, o módulo de elasticidade e a prévia sensorial para seleção dos revestimentos. A análise sensorial indicou que os revestimentos mais adequados para utilização em caqui minimamente processado foram de AM e CMC.

**Palavras-chave:** amido de mandioca, alginato de sódio, carboximetilcelulose, gelatina bovina.

---

### Introdução

---

Os produtos minimamente processados possuem o metabolismo mais ativo que os *in natura*. Apresentam metabolismo de tecidos submetidos a estresse com vida útil menor. Isto ocorre principalmente em função das etapas do corte e descascamento (KLUGE et al., 2006).

Uma das propostas para a utilização de filmes é o aumento da vida útil de frutos e hortaliças *in natura* ou minimamente processadas. O controle das transformações durante o amadurecimento pode ocorrer através da modulação seletiva da transferência de massa, incluindo trocas gasosas e limitação da desidratação através de permeabilidade ao vapor de água (YAMASHITA et al., 2006).

O uso do amido de mandioca (AM) pode contribuir em interessante alternativa para filmes e revestimentos comestíveis de baixo custo, abundância, biodegradabilidade, comestibilidade e fácil manipulação (BOTREL et al., 2007).

Revestimentos de alginato de sódio (AS) reduzem o crescimento microbiano em vários alimentos. Esta ação ainda não está bem explicada, podendo ser em parte devido à presença do cloreto de cálcio (MENEGHEL et al., 2008).

A aplicação de filmes de celulose como a carboximetilcelulose (CMC) tem sido freqüente em muitos alimentos. Este filme apresenta resistência moderada, é resistente a óleos e gorduras, é flexível, transparente, sem odor, solúvel em água e barreira moderada à umidade (CARVALHO FILHO, 2000).

As gelatinas são polímeros biodegradáveis. Consistem em proteínas do tipo animal, com grande aplicação industrial, farmacêutica e biomédica. A gelatina forma filmes claros, flexíveis e resistentes. Esses filmes possuem também grande permeabilidade ao vapor de água por possuir caráter hidrofílico (SOARES e FONSECA, 2008).

O objetivo deste trabalho foi de identificar um, revestimento comestível que apresentasse características satisfatórias para o uso em frutos de caqui 'Mikado' minimamente processados (MP).

## Materiais e métodos

As soluções filmogênicas foram preparadas seguindo as seguintes formulações:

Amido de Mandioca (AM): 3,5% de amido de mandioca; 0,0135% de permanganato de potássio; 0,0135% de lactato de cálcio; 1% de glicerol; 5% de polietileno glicol 400 (PEG 400) em relação ao polímero principal.

Alginato de Sódio (AS): 1% de alginato de sódio; 1500mg.g<sup>-1</sup> de sorbato de potássio; 30mL.L<sup>-1</sup> de solução de cloreto de cálcio a 0,4%; 0,5% de glicerol; 5% de PEG 400 em relação ao polímero principal.

Carboximetilcelulose (CMC): 1% de carboximetilcelulose; 0,25% de ácido cítrico; 5% de PEG 400 em relação ao polímero principal.

Gelatina Bovina (GB): 5% de gelatina bovina; 1500mg.g<sup>-1</sup> de sorbato de potássio; 15% de glicerol em relação ao polímero principal; 5% de PEG 400 em relação ao polímero principal.

Após a elaboração das soluções filmogênicas, essas foram vertidas em placas de petri de 14,2cm de diâmetro, em alíquotas de 25mL para os revestimentos de AM, 50mL para os de AS e CMC e 20mL para os de GB. As placas com os revestimentos foram então colocadas em bancadas totalmente niveladas com temperatura de aproximadamente 20°C e circulação de ar forçado, por 24 horas.

Os revestimentos tiveram suas espessuras medidas, em 5 pontos diferentes nos filmes, por micrometro digital Fowler IP 54. Para a análise de permeabilidade ao vapor de água os revestimentos foram colocados em recipientes de vidros próprios contendo em seu interior sílica previamente seca. Todo o vapor de água absorvido pela sílica entrava no recipiente através do revestimento. A permeabilidade ao vapor de água foi estudada utilizando duas diferentes atividades de água (Aw): 0,999 (água destilada) e 0,695 (solução saturada de iodeto de potássio - KI), à temperatura de 22°C. O ganho de peso foi medido ao longo de três dias, uma vez por dia. Cada revestimento foi testado em triplicata. No teste de tração os filmes foram armazenados em câmaras herméticas, com umidade relativa do ar de 52% obtida com o uso de uma solução saturada de nitrato de magnésio [Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>].

Os filmes foram armazenados por 6 dias de forma a alcançar o equilíbrio de umidade. Os filmes foram então cortados em corpos de prova com 15mm de largura e 35mm de comprimento e fixados em um analisador de textura Texture Analyser TA HDi (Stable Microsystems). O equipamento gerou um gráfico da tensão em função da deformação do revestimento. O módulo da elasticidade (Módulo de Young) foi calculado como sendo inclinação da região linear da curva. Foram realizadas nove replicatas.

A prévia sensorial para seleção dos revestimentos foi realizada com frutos de caqui 'Mikado' MP. Os tratamentos foram os quatro revestimentos, além do controle (água destilada). Os frutos MP foram imersos nos tratamentos durante 1 minuto e armazenados durante dois dias antes de serem apresentados aos provadores. Foi utilizado o teste de ordenação de preferência (MODESTA, 1994). Os provadores ordenaram as amostras da mais preferida para a menos preferida em relação à aparência e o sabor. A ordenação foi realizada atribuindo-se notas para as amostras. A mais preferida recebeu nota 5 e a menos preferida recebeu nota 1. Somando-se as notas de cada revestimento chegou-se aos valores "totais de ordenação".

Os resultados foram interpretados por análise de variância (ANOVA) considerando-se os parâmetros de cada análise e a interação entre estes. Foi aplicado o teste de Fisher (LSD) para verificar as diferenças entre as médias ao nível de 1% e 5% de probabilidade, utilizando-se o software STATISTICA versão 5.1 da StatSoft.

## Resultados e discussão

As espessuras médias dos revestimentos foram bem próximas, sendo que o filme de GB foi o que apresentou maior espessura, seguido pelo de AM, CMC e AS, sendo estas: 0,052mm; 0,049mm; 0,042; 0,041.

O filme AM foi o que permitiu a maior permeabilidade ao vapor de água, sendo que o CMC se mostrou menos permeável. A permeabilidade foi maior também quando os filmes foram avaliados na atividade de água mais alta (Tabela 1).

**Tabela 1.** Permeabilidade ao vapor de água dos diferentes revestimentos, em diferentes atividades de água.

Filme	H <sub>2</sub> O A <sub>v</sub> 0,999 (Kg/m.s.Pa)	KI A <sub>v</sub> 0,699 (Kg/m.s.Pa)	Média
AM	13,15 x 10 <sup>-7</sup>	10,65 x 10 <sup>-7</sup>	11,90 x 10 <sup>-7</sup> a
AS	10,12 x 10 <sup>-7</sup>	9,63 x 10 <sup>-7</sup>	9,87 x 10 <sup>-7</sup> b
CMC	6,67 x 10 <sup>-7</sup>	3,17 x 10 <sup>-7</sup>	4,92 x 10 <sup>-7</sup> c
GB	8,63 x 10 <sup>-7</sup>	9,77 x 10 <sup>-7</sup>	9,20 x 10 <sup>-7</sup> b
Média	9,64 x 10 <sup>-7</sup> A	8,30 x 10 <sup>-7</sup> B	

Médias seguidas de mesma letra, minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, não diferem entre si pelo teste de Fisher (LSD) a 5%.

O módulo de elasticidade é um indicador de rigidez do filme, sendo que, quanto maior o módulo, mais rígido é o material (RIGO, 2006). O filme que apresentou a maior rigidez foi o de AM, e a menor, o de AS (Tabela 2).

**Tabela 2.** Módulo de Young dos revestimentos.

Filme	Módulo de Young
AM	$29,59 \times 10^{-5}$
AS	$1,15 \times 10^{-5}$
CMC	$118,0 \times 10^{-5}$
GB	$117,0 \times 10^{-5}$

O filme de CMC aplicado no caqui MP foi o que recebeu a maior pontuação em relação à aparência, seguido pelo de AM. Para o sabor, o melhor tratamento foi o de GB, seguido pelo AM (Tabela 3).

Apesar do revestimento de gelatina ter sido escolhido como o melhor tratamento para o sabor, este ficou não foi bem em aparência. Como a aparência é primordial em produtos MP, sendo a primeira avaliação que um consumidor faz, recomenda-se a não utilização do filme de GB em caqui 'Mikado' MP.

**Tabela 3.** Totais de ordenação atribuídos pelos provadores para amostras armazenadas durante 2 dias sob refrigeração.

Análise	Tratamento				
	Controle	AM	AS	CMC	GB
Aparência	21	21	11	30	7
Sabor	15	20	11	11	18

## Conclusões

Verificou-se que os dois melhores revestimentos para serem utilizados em caqui 'Mikado' MP foram o de AM e de CMC.

## Agradecimentos

APERJ, UFRuralRJ, EMBRAPA.

## Referências

BOTREL, D. A.; SOARES, N. F.; GERALDINE, R. M.; PEREORA, R. M.; FONTES, E. A. Qualidade de alho (*Allium sativum*) minimamente processado envolvido com revestimento comestível antimicrobiano. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 1, p. 32-38, jan.-mar, 2007.  
 CARVALHO FILHO, C. D. **Conservação de cerejas (*Prunus avium* L.), cv. 'Ambrunés', utilizando coberturas comestíveis.** 2000. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

KLUGE, R. A.; COSTA, C. A.; VITTI, M. C. D.; ONGARELLI, M. G.; JACOMINO, A. P.; MORETTI, C. L. Armazenamento refrigerado de beterraba minimamente processada em diferentes tipos de corte. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 1, p. 263-270, jan.-fev., 2006.

MENEGHEL, R. F. A.; BENASSI, M. T.; YAMASHITA, F. Revestimento comestível de alginato de sódio para frutos de amora-preta (*Rubus ulmifolius*). **Semina: Ciência Agrária**, Londrina, v. 29, n. 3, p. 609-818, jul.-set., 2008.

MODESTA, R. C. D. **Manual de análise sensorial de alimentos e bebidas:** prática. Rio de Janeiro: Embrapa – CTAA, 1994. t.3.

RIGO, L. N. Desenvolvimento e caracterização de filmes comestíveis. 2006. Dissertação (Mestrado) – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, RS.

SOARES, A. G.; FONSECA, M. J. O. Alimentos minimamente processados e filmes comestíveis. In: ROSENTHAL, A. **Tecnologia de alimentos e inovação:** tendências e perspectivas. Brasília, DF, Embrapa Informação Tecnológica, 2008. cap. 9.

YAMASHITA, F.; NAKAGAWA, A.; VEÍGA, G. F.; MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E. Embalagem ativa para frutos de acerola. **Brazilian Journal of food technology**, Campinas, v. 9, n. 2, p. 95-100, abr.-jun., 2006.



---

## ANÁLISE DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA EM EPICARPO DE MANGA TOMMY ATKINS REVESTIDA COM EMULSÃO DE CERA DE CARNAÚBA E ANTIMICROBIANOS

---

Daniel Cordeiro da Costa<sup>1</sup>, Josiele Brilhante Silva<sup>1</sup>, Maria do Socorro Rocha Bastos<sup>1\*</sup>, Celli Rodrigues Muniz<sup>1</sup>, Roselayne Furtado<sup>1</sup>

Embrapa Agroindústria Tropical<sup>1</sup>  
\*sbastos@cnpat.embrapa.br

Projeto componente: PC 3

Plano de Ação: 01.05.1.01.03

---

### Resumo

Os revestimentos com antimicrobianos permitem aumentar a vida útil pós-colheita das frutas com a garantia de qualidade e segurança. Revestimentos a base de emulsão de cera de carnaúba adicionada dos antimicrobianos triclosan e ácido sórbico foram aplicados sobre mangas mantidas nas temperaturas de 10°C e 25°C durante trinta dias. Amostras dos epicarpes foram estudados através da microscopia eletrônica de varredura comparando a superfície dos frutos. A interação entre o epicarpo das mangas e o revestimento de emulsão de cera de carnaúba acrescido de triclosan se mostrou mais satisfatória nas duas temperaturas quando comparado ao revestimento com o ácido sórbico.

**Palavras-chave:** manga, revestimento comestível, microscopia eletrônica de varredura.

---

### Introdução

---

O uso de filmes e coberturas em produtos alimentícios tem sido bastante explorado. No entanto, a aplicação de ceras em frutas vem sendo utilizada desde os séculos XII e XIII na China, para retardar a desidratação e melhorar a aparência das mesmas (DEBEAUFORT, et al., 1998; FAKHOURI, et al., 2005).

Existe um grande interesse no desenvolvimento de biofilmes comestíveis ou degradáveis biologicamente, principalmente, devido à preocupações ambientais sobre o descarte de materiais não-renováveis e oportunidades para novos mercados de matérias-primas formadoras de filme, como hidrocolóides e lipídios (PALMU, 2003)

Os filmes e coberturas conferem as frutas aparência brilhante e atraente dentre outras vantagens como redução na perda de umidade e

diminuição das taxas de respiração. Além disso, os revestimentos podem transportar importantes aditivos como: antioxidantes, antimicrobianos e flavorizantes, e/ou melhorar a integridade mecânica ou as características de manuseio do alimento (KROCHTA, et al., 1997).

Os biopolímeros mais utilizados na elaboração de filmes e coberturas para frutas são as proteínas (gelatina, caseína, ovoalbumina, glúten de trigo, zeína e proteínas miofibrilares), os polissacarídeos (amido e seus derivados, pectina, celulose e seus derivados, alginato e carragena), os lipídios (monoglicerídeos acetilados, ácido esteárico, ceras e ésteres de ácido graxo) ou a combinação dos mesmos (CUQ et al., 1995).

O ácido sórbico (e seus sais) empregado em diferentes filmes antimicrobianos (SILVEIRA, 2005; CAGRI et al., 2001; HAN e FLOROS, 1998), é considerado pelo FDA como GRAS (Generally Recognized as Safe), sendo o único ácido orgânico

insaturado permitido como conservador de alimentos. Por não modificar o sabor original, constituir um importante conservador em sucos de frutas, essências, refrigerantes, queijos, carnes etc., possuindo amplo espectro de ação sobre fungos filamentosos e leveduras, quando aplicados eficientemente em concentrações de 0,05 a 0,3% (DAVIDSON, 2000; DZIEZAK, 1986).

O triclosan é um antimicrobiano que age rompendo a função metabólica de microrganismos como bactérias, leveduras e fungos filamentosos. Este composto é empregado contra um grande espectro de bactérias gram-positivas (tais como *Staphylococcus aureus*) e gram-negativas, tais como *Escherichia-coli*. Derivado do fenol, o triclosan tem mecanismo de ação sobre os grupos sulfidrilas dos aminoácidos de enzimas da via glicolítica, sendo usado em procedimentos de higienização da indústria de alimentos (ANDRADE, 2008).

Neste contexto, o trabalho teve o objetivo de caracterizar por microscopia eletrônica de varredura mangas Tommy Atkins revestidas com emulsão de cera de carnaúba acrescidas de triclosan ou ácido sórbico e submetidas a temperaturas de 10° e 25° C por 30 dias.

## Materiais e métodos

Mangas (*Mangifera indica* L.) da cultivar Tommy Atkins, oriundas de plantio comercial em Ipanguaçu-RN foram utilizadas para o experimento. As frutas foram selecionadas no estágio de maturação entre (2), e (3) segundo a Escala de coloração da casca e da polpa (GTZ, 1992).

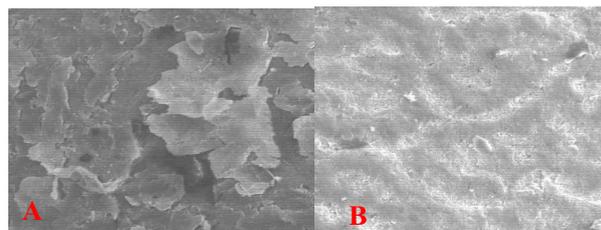
Os frutos foram revestidos com emulsão de cera de carnaúba comercial, marca Pontes Starlight EF-15, diluídas a 9% acrescidas por um dos antimicrobianos: ácido sórbico ( $C_6H_8O_2$ ) a 0,1% ou triclosan (2,2,4'-triclóro-2'-hidroxidifenil-éter) a 1%.

Primeiramente, as frutas foram lavadas em água corrente e sanitizadas em solução clorada (100 ppm) por 10 minutos. Em seguida, procedeu-se a imersão das mangas na solução de revestimento e exposição em fluxo de ar com o uso de ventiladores doméstico para secagem. O armazenamento foi conduzido em câmara fria sob as temperaturas de 10°C 2 e de 25°C 2.

Para a visualização das amostras em MEV, as mesmas foram seccionadas em pedaços de 0,5 cm<sup>2</sup> e pré-fixadas em solução de glutaraldeído e paraformaldeído. As imagens foram obtidas em microscópio eletrônico de varredura Zeiss DSM940A, com uma voltagem de aceleração de 15 KV.

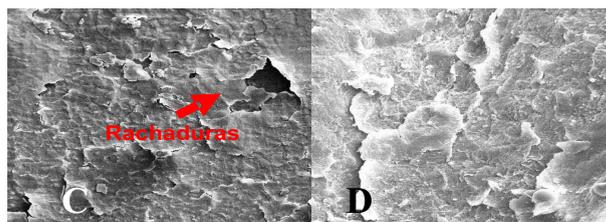
## Resultados e discussão

As amostras que receberam o revestimento de cera de carnaúba acrescidas de ácido sórbico, logo após a secagem do revestimento, apresentaram sobreposição das camadas de cera mostrando uma estrutura superficial heterogênea. As amostras tratadas com cera de carnaúba e triclosan apresentaram um filme mais homogêneo evidenciando maior organização tecidual e coesão com o epicarpo das mangas (Fig. 1).



**Fig. 1.** Eletromicrografias das amostras de manga no tempo zero. A - Cera de carnaúba com ácido sórbico, x 500, 10 m. B - Cera de carnaúba com triclosan, x5 00, 10 m.

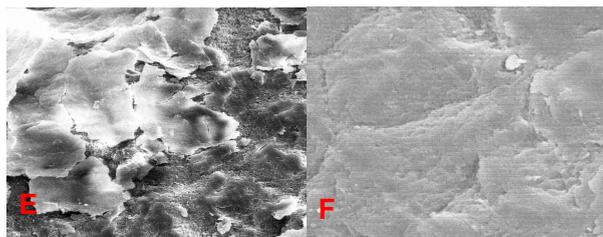
Considerando o tempo de armazenamento de 15 dias, as amostras tratadas com ácido sórbico armazenados sob temperaturas de 25°C e 10°C, apresentaram superfícies mais desorganizadas em relação ao tempo zero, verificando-se inclusive rachaduras na camada epicuticular das mangas revestidas e mantidas na temperatura de 25°C. Nesse caso, a temperatura parece ser o fator determinante para a preservação tecidual (Fig. 2).



**Fig. 2.** Eletromicrografias obtidas de amostras de manga aos 15 dias de armazenamento. C - Cera de carnaúba com ácido sórbico a 25°C, x 500, 100 m. D - Cera de carnaúba com ácido sórbico a 10°C, x 500, 20 m.

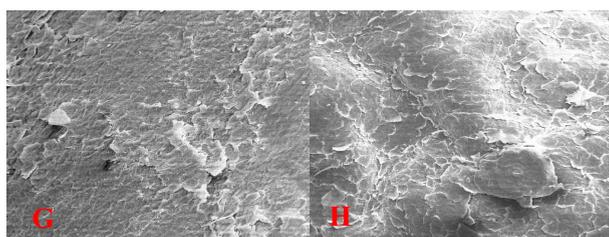
As amostras de manga tratadas com cera de carnaúba e o antimicrobiano triclosan mantidas nas temperaturas de 25°C e 10°C, também confirmaram o efeito da temperatura sobre o revestimento. Quando comparamos as amostras do tempo zero mantidas a 25°C após 15 dias constatamos que com o

decorrer do tempo há maior desorganização tecidual, sendo possível o início do processo de decaimento do revestimento, provavelmente, decorrente do efeito negativo da interação do revestimento com a temperatura ambiente e o amadurecimento do fruto (Fig. 3). No entanto, o mesmo tratamento com as frutas armazenadas a 10°C evidenciou uma interação positiva, pois o tecido apresenta organização mais compacta e coesa com a camada epicuticular natural sem apresentar significativas alterações com o tempo zero.



**Fig. 3.** Eletromicrografias obtidas de amostras de manga aos 15 dias de armazenamento. E - Cera de carnaúba com triclosan a 25°C, x500, 20 m F - Cera de carnaúba com triclosan a 10°C, x 500, 10 m.

Aos 30 dias de armazenamento, em virtude do estágio de amadurecimento das frutas mantidas na temperatura de 25°C, somente imagens das amostras na temperatura de 10°C foi possível. As amostras mantidas nessa última temperatura apresentaram-se com relativa organização tecidual (Fig. 4). A temperatura parece ter contribuído de forma positiva para a preservação do revestimento de carnaúba com ambos os tipos de antimicrobianos.



**Fig. 4** Eletromicrografias obtidas de amostras de manga aos 30 dias de armazenamento a 10°C. G - Cera de carnaúba com triclosan, x 100, 100 m. H - Cera de carnaúba com ácido sórbico, x 100, 100 m.

---

## Conclusões

---

O revestimento de cera de carnaúba acrescidos dos antimicrobianos apresentou melhor

interação com o epicarpo das mangas quando mantidas a temperatura de 10°C.

A interação entre o epicarpo das mangas e o revestimento de emulsão de cera de carnaúba acrescido de triclosan se mostrou mais satisfatória nas duas temperaturas quando comparado ao revestimento com o ácido sórbico.

---

## Agradecimentos

---

CNPQ, FIPAI, FINOBRASA, FINEP/MCT; EMBRAPA MP3 n° 0306090180002.

---

## Referências

---

- ANDRADE, N. J. **Higiene na indústria de alimentos: avaliação e controle da adesão e formação de biofilmes bacterianos.** São Paulo: Varela, 2008. 400 p.
- CAGRI, A.; USTUNOL, Z.; RYSER, E. T. Antimicrobial, mechanical, and moisture barrier properties of low pH whey protein-based edible films containing p-Amminobenzoic or sorbic acid. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 66, n. 6, p. 865870, 2001.
- CUQ, B.; GONTARD, N.; GUILBERT, S. Edible film and coating as active layers. In: ROONEY, M. L. (Ed.). **Active food packaging.** London: Blackie Academic & Professional, 1995. p. 111-142.
- DAVIDSON, P. M. Antimicrobial compounds. In: FRANCIS, F. J. **Encyclopedia of Food Science and Technology.** 2<sup>nd</sup> ed. New York: John Wiley & Sons, v. 1, p. 63-75.
- DEBEAUFORT, F.; QUEZADA-GALLO, J. A.; VOILLEY, A. Edible films and coatings: tomorrow's packagings: a review. **Crit. Rev. Food Sci.** v. 38, n. 4, p. 299-313, 1998.
- KROCHTA, J. M.; MULDER-JOHNSTON, C. Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. **Food Technology**, Chicago, v. 51, n. 2, p. 61-74, 1997.



---

## PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DE N,N,N-TRIMETILQUITOSANA RELEVANTES AO REVESTIMENTO DE FRUTAS MINIMAMENTE PROCESSADAS

---

**Douglas de Britto, Odilio B. G. Assis**

Embrapa Instrumentação Agropecuária  
Rua XV de Novembro, 1452, C.P. 741, 13560-970, São Carlos, SP  
Tel: (16) 2107-2800, Fax (16) 2107-2902. E-mail: odilio@cnpdia.embrapa.br

**Projeto Componente:** PC3

**Plano de Ação:** 01.05.1.01.03.03

---

### Resumo

O planejamento fatorial aplicado a síntese da TMQ mostrou que a temperatura foi a variável mais importante, causando as maiores variações nas respostas, como  $X(T) = -54,52; -9.5$  e  $-7.25$  respectivamente para rendimento, solubilidade e grau de substituição. Análises como viscosidade e GPC indicaram a ocorrência de degradação polimérica.

**Palavras-chave:** trimetilquitosana, biocompatibilidade, viscosidade, massa molar.

---

### Introdução

---

O derivado N,N,N-trimetilquitosana (TMQ) é um polieletrólito hidrossolúvel que possui cargas positivas permanentes ao longo das cadeias devido à quaternização dos grupos amino, sendo, portanto, solúvel em uma ampla faixa pH. Alguns trabalhos têm comprovado a eficiência da TMQ como auxiliar na absorção de drogas no intestino (KOTZÉ et al., 1998). O derivado TMQ possui atividade antibacteriana, a qual é devida à interação das cargas positivas da TMQ com grupos negativamente carregados da membrana bacteriana (JIA et al., 2001). Esta propriedade a torna muito interessante para aplicações na área alimentícia, especialmente como filmes protetores para estender o tempo de prateleira e melhorar a qualidade de frutas e hortaliças (BRITTO e ASSIS, 2007).

O processo de obtenção da TMQ a partir da quitosana é realizado geralmente em meio heterogêneo o que confere certo grau de heterogeneidade ao derivado. Vários parâmetros são importantes para caracterizar um derivado polimérico entre os quais a massa molar, o rendimento, a solubilidade, a viscosidade e o grau

médio de substituição (DS). No entanto, o controle adequado das condições reacionais permite a obtenção de derivados com distribuição mais homogênea destes parâmetros.

Em se falando de filmes para revestimento de frutas, as características citadas afetam as propriedades mecânicas dos filmes bem como sua atividade antimicrobiana. Desta forma, este trabalho discute os principais resultados obtidos pela análise fatorial da reação de quaternização da quitosana, no sentido de otimizar esta reação. Algumas amostras representativas foram escolhidas para ensaios complementares como viscosidade, ângulo de contato e GPC.

### Materiais e métodos

---

A quitosana (MMW) foi adquirida da Aldrich e submetida à quaternização, empregando DMS como agente metilante (BRITTO e ASSIS, 2007). O planejamento fatorial foi realizado a partir de três fatores: temperatura, tempo e presença de NaCl, e dois níveis, resultando, portanto, em 8 experimentos. As respostas estudadas foram: rendimento, solubilidade e DS determinado por  $^{13}\text{C}$ -RMN

(BRITTO et al., 2008). Algumas amostras representativas foram escolhidas para ensaios complementares como viscosidade, ângulo de contato e GPC.

Na determinação da **viscosidade intrínseca**, [ ], foi preparada uma solução a 1 mg/mL em solução tampão ácido acético e acetato de sódio. O equipamento empregado foi o sistema AVS-350 acoplado à bureta automática AVS-20 para diluição seriada, ambos da Schott-Geräte.

O **caráter hidrofílico ou molhabilidade** foi determinado através de medidas de ângulo de contato. Imagens da gota de água (cerca de 2 µL) sobre o filme polimérico em lâmina de vidro e o cálculo do ângulo de contato foram realizados com o equipamento CAN101 da KSV Instruments. Foram realizadas em média 6 medidas.

A determinação da **massa molar** foi realizada por Cromatografia em Permeação em Gel (GPC-Anvaçado) no Laboratório de Engenharia Bioquímica (FEQ – UNICAMP) empregando procedimento padrão. O sistema GPC Avançado consiste de uma bomba da Waters modelo 515, um degaseificador Viscotek modelo VE7510, um injetor Rheodyne modelo 7715i e detectores Viscotek modelo TDA302, que contém: refractômetro (RI) viscosímetro, light scattering 90° e light scattering 7° e o software Viscotek OmniSEC v. 4.1.0.224. A separação dos componentes das amostras foi realizada utilizando-se duas colunas Ultrahydrogel Linear (7,8 x 300 mm) da Waters.

## Resultados e discussão

Utilizado o programa computacional FATORIAL® (BARROS NETO et al., 2007) para realizar os cálculos necessários à análise do planejamento fatorial, foram encontrados os valores de interação descritos na Tabela 1. O valor da média global para a resposta rendimento mostra que, considerando todos os efeitos, quando se passa do nível mais baixo (T=25oC; t=3 horas; S=ausência de NaCl) para o nível mais alto (T=50oC; t=6 horas; S=0,44g de NaCl), é muito desfavorável ao ganho de massa. Já as respostas solubilidade e DS foram favorecidas quando se passou do nível mais baixo para o nível mais alto. Quanto aos efeitos principais, a temperatura, X(T) foi a variável mais desfavorável para todas as respostas, sendo o rendimento a resposta mais afetada. De fato, o meio ácido resultante da reação de quaternização, provoca uma despolimerização das cadeias de quitosana, processo este que se torna muito acentuado a temperaturas mais elevadas. Posteriormente as quais são eliminadas pelo processo de diálise afetando, assim, o rendimento da reação.

**Tabela 1.** Efeitos calculados para o planejamento fatorial de acordo com as respostas rendimento da reação, solubilidade e DS, em que X(T), X(t) e X(S) representam respectivamente as variáveis temperatura, tempo e presença de sal.

Respostas	Rendimento	Solubilidade	DS
<b>Média Global</b>	<b>-21,05</b>	<b>71</b>	<b>29,38</b>
<b>Efeitos principais:</b>			
X(T)	-54,52	-9,5	-7,25
X(t)	-9,84	2,0	4,75
X(S)	4,07	1,0	-1,75
<b>Efeitos secundários:</b>			
X(Tt)	-13,46	-12,5	1,75
X(tS)	11,72	-4,0	-0,75
X(TS)	-6,23	-20,5	1,25
<b>Efeito terciário:</b>			
X(TtS)	7,79	11,5	9,25

As variáveis tempo, X(t) e presença de sal X(S) tiveram valores menores, no entanto, a existência de efeitos de interação significativos principalmente quanto as variáveis X(Tt) e X(TS), indica que os efeitos principais devem ser interpretados conjuntamente. A partir destes resultados pode-se concluir que a melhor condição para se obter a TMQ com bom rendimento e com maior DS deve ser a temperatura mais baixas e tempo de reação mais estendidos. Por outro lado, a presença do sal NaCl praticamente não influenciou nas respostas, indicando a possibilidade de ser suprimido da reação.

A determinação da viscosidade teve como objetivo comparar a despolimerização da quitosana após a reação de quaternização. Uma vez que a viscosidade intrínseca [ ] está relacionada diretamente com a massa molar média da amostra é possível avaliar, qualitativamente, a degradação que ocorre durante uma determinada reação, comparando a viscosidade intrínseca do produto e do derivado obtido.

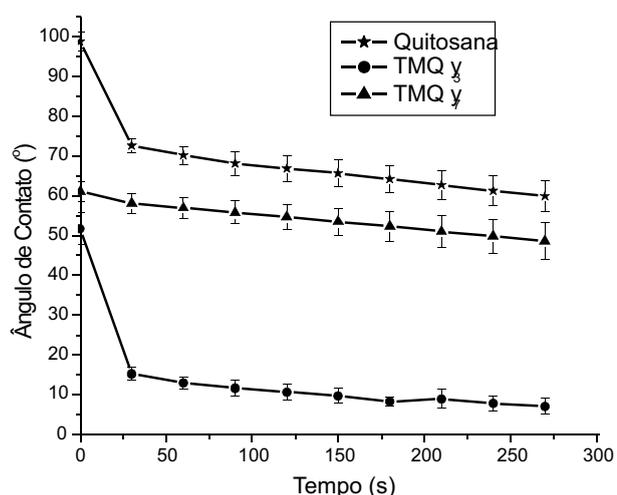
Os dados de viscosidade intrínseca, [ ], (Tabela 2) mostram claramente a degradação polimérica sofrida após a reação. Nota-se também o efeito negativo da temperatura (TMQ y<sub>7</sub>) a qual apresentou o menor valor de [ ].

**Tabela 2.** Valores de viscosidade intrínseca para amostra de quitosana e TMQ.

Amostra	Huggins	R	[ Kraemer	R
Quitosana	637	0,998	646	-0,98
TMQ y <sub>3</sub>	160	0,977	162	-
TMQ y <sub>7</sub>	50	0,998	50	0,996

Quanto ao ângulo de contato, observa-se um decréscimo acentuado deste para a TMQ em comparação com a quitosana (Fig. 1). De fato a

introdução de grupos quaternários permanentes torna o derivado mais hidrofílico, pois há a formação de um sal. Por outro lado, os grupos metilas contribuem para aumento do caráter hidrofóbico devido à sua natureza apolar. Assim, a propriedade final do derivado dependerá de um balanço destes fatores. No caso da amostra TMQ  $y_7$ , a metilação excessiva não é interessante visto que a natureza apolar dos grupos metila sobrepujou o caráter hidrofílico tornando o derivado mais hidrofóbico.



**Fig. 1.** Gráfico da variação do ângulo de contato versus tempo de gota de água sobre filmes de quitosana e TMQ em lâmina de vidro.

A análise por GPC também deixa evidente a profunda modificação sofrida pela quitosana durante o processo de quaternização (Tabela 3). A massa molecular ponderal média ( $M_w$ ) e a massa molecular numérica média ( $M_n$ ) diminuem para os derivados, evidenciando, assim, a ocorrência de despolimerização. A baixa polidispersividade ( $M_w/M_n$ ) das TMQs é devido a eliminação das frações de moléculas degradadas durante as diálise.

**Tabela 3.** Parâmetros físico-químicos da quitosana e TMQ de acordo com as análises por GPC.

Amostra	$M_n$	$M_w$	$M_w / M_n$
Quitosana	60.146	128.718	3,636
TMQ $y_3$	56.779	116.813	2,059
TMQ $y_7$	12.593	19.364	1,538

## Conclusões

O planejamento fatorial mostrou que a variável temperatura é muito prejudicial ao rendimento, à solubilidade e ao DS, principalmente quando combinada com a presença de sal NaCl. Visando sua potencial aplicação no ramo agroalimentício, medidas de viscosidade, molhabilidade e GPC indicam que derivados muito degradados não são indicados para esta finalidade.

## Agradecimentos

FAPESP, CNPQ, FINEP/MCT EMBRAPA, Prof. Dra. Telma Teixeira Franco (FEQ-UNICAMP).

## Referências

- BARROS NETO, B.; SCARMÍNIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Planejamento Experimental e Otimização**. Disponível em: <<http://www.chemkeys.com>>. Acesso em: 02 jul. 2007.
- BRITTO, D.; ASSIS, O. B. G. Synthesis and mechanical properties of quaternary salts of chitosan-based films for food application. **Int. J. Biol. Macromol.**, Guildford, v. 41, n. 2, p. 198-203, 2007.
- BRITTO, D.; FORATO, L. A.; ASSIS, O. B. G. Determination of the average degree of quaternization of N,N,N-trimethylchitosan by solid state  $^{13}C$  NMR. **Carbohydr. Polym.**, Barking, v. 74, p. 86-91, 2008.
- JIA, Z.; SHEN, D.; XU, W. [Quitosana]. **Carbohydr. Res.**, Amsterdam, v. 333, p. 1-6, 2001.
- KOTZÉ, A. F.; LUE EN, H. L.; LEEUW, B. J.; BOER, B. G.; VERHOEF, J. C.; JUNGINGER, H.E. Comparison of the effect of different chitosan salts and N-trimethyl chitosan chloride on the permeability of intestinal epithelial cells (Caco-2). **J. Control. Release**, Amsterdam, v. 51, p. 35-46, 1998.



---

## AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE DERIVADOS HIDROSSOLÚVEIS DE QUITOSANA

---

**Fabiana Eiko Shibahara Asano, Douglas de Britto, Odilio Benedito Garrido Assis\***

Embrapa Instrumentação Agropecuária  
Rua XV de Novembro, 1452, C.P. 741, 13560-970, São Carlos, SP  
Tel: (16) 2107-2800, Fax (16) 2107-2902; e-mail: \*odilio@cnpdia.embrapa.br

**Projeto Componente:** PC3

**Plano de Ação:** 01.05.1.01.03.03

---

### Resumo

Quitosana comercial e sais alquilados quaternários de quitosana foram sintetizados e suas ações antifúngicas como coberturas sobre superfície de maçãs fatiadas avaliadas. Soluções de esporos do fungo *Penicillium expansum* foram empregadas como contaminantes. Após 3 dias de estocagem as maçãs revestidas com quitosana apresentaram média de desenvolvimento de fungos de cerca de 19% enquanto as maçãs controles apresentaram médias de 41%. Para as coberturas com sais alquilados quaternários de quitosana os valores medidos foram inferiores a 9%. Para o derivado N,N,N-trimetilquitosana o meio ácido foi muito favorável ao desenvolvimento do fungo.

**Palavras-chave:** N,N,N-trimetilquitosana, cobertura antifúngica, filmes comestíveis, maçãs minimamente processadas.

---

### Introdução

---

Frutos e hortaliças minimamente processados apresentaram um crescimento significativo nos últimos anos, tornando-se um segmento de potencial exploração comercial (ASSIS e PESSOA, 2004). Vários países têm apresentado demandas expressivas por este mercado como a China, Índia e América Latina. Nos EUA esse mercado é bem estabelecido e sua taxa cresce cerca de 15% ao ano, e em escala mundial este mercado apresenta potenciais gerais de crescimento da ordem de 30% ao ano (GORNY, 2005).

No entanto, produtos minimamente processados apresentam uma série de problemas. Durante descascamento, cortes ou mesmo transportes, injúrias são introduzidas nos tecidos e estes passam a se degradar mais rapidamente que os tecidos intactos. As perdas se dão principalmente por

ataques de microrganismos como os fungos, que representa a principal causa de perdas pós-colheita.

A quitosana e seus derivados têm sido amplamente estudados e propostos como material de grande potencial para aplicações como revestimentos protetores em alimentos. Como alternativas para superar o fato da limitada solubilidade da quitosana, a qual é solúvel somente em soluções diluídas de ácidos, e também como um meio de tornar sua atividade antimicrobiana mais efetiva, o emprego de derivados hidrossolúveis têm sido propostos, como, por exemplo, os sais quaternários (LEE et al., 2002; BRITTO e ASSIS, 2007).

Assim, este trabalho objetivou avaliar a capacidade antifúngica de derivados quaternários de quitosana contra o fungo *Penicillium expansum*, que é um dos principais microorganismos infectantes de maçãs.

## Materiais e métodos

A quitosana inicialmente empregada foi de origem comercial, marca Aldrich, de média massa molar. Os derivados estudados foram obtidos a partir de duas reações básicas: a primeira de alquilação com aldeídos e a segunda de quaternização com dimetilsulfato (DMS), através da qual se obtém o sal solúvel em água, segundo procedimentos adotados pelo grupo (BRITTO & ASSIS, 2007).

Esporos do fungo *P. expansum* foram isolados de frutas contaminadas e replicados em placa de Petri com o meio de cultura BDA (Batata-Dextrose-Ágar). A partir destes fungos colonizados sobre as placas prepararam-se as soluções de esporos. A concentração dos esporos foi determinada utilizando-se a câmara de Neubauer.

Soluções de quitosana e de seus sais quaternários foram preparadas na concentração de 2g/L, dissolvendo-os em 50mL de solução de ácido acético 1% ou água (sais solúveis) sob agitação mecânica durante uma noite. A estas soluções foram adicionados 500L da solução de esporos de *P. expansum*, fazendo com que todas tivessem a mesma concentração final de  $1 \times 10^6$  esporos/mL. Soluções de controle também foram preparadas, adicionando-se os esporos ao solvente puro (sem a presença da quitosana ou sais derivados).

Maçãs (cv. Gala, *Malus domestica*) adquiridas em supermercados locais foram fatiadas ao meio e imersas nas soluções filmogênicas por cerca de 30s e escoadas por alguns segundos. Após o escoamento as maçãs foram colocadas numa bandeja e deixadas ao ar livre ou em estufa a 25°C e 90% de umidade relativa. Lotes de 20 amostras em cada condição foram avaliados. Acompanhou-se a proliferação dos fungos por meio do registro fotográfico diário das superfícies ao longo de 7 dias. Essas imagens foram na seqüência analisadas com auxílio do programa ImageJ, onde pôde-se calcular a área superficial relativa da maçã colonizada pelos fungos (ASSIS et al., 2007).

## Resultados e discussão

No primeiro experimento as maçãs foram revestidas com quitosana não modificada e comparadas com seu controle. A percentagem da área superficial da face cortada colonizada pelos fungos após três dias é mostrada na Figura 1. Nota-se claramente que a quitosana, como descritos na literatura (ASSIS e PESSOA, 2004), mostrou uma atividade fungicida satisfatória contra o *P. expansum*, inibindo seu crescimento, ou seja, com uma ação bacteriostática.

Na Figura 2 temos os mesmos ensaios realizados com os sais de quitosana alquilada, que apresentaram resultados superiores, estabelecendo frente ao controle pode-se perceber ação inibitória bastante satisfatória, o que indica que o tamanho da cadeia alquila é um fator importante na ação fungistática.

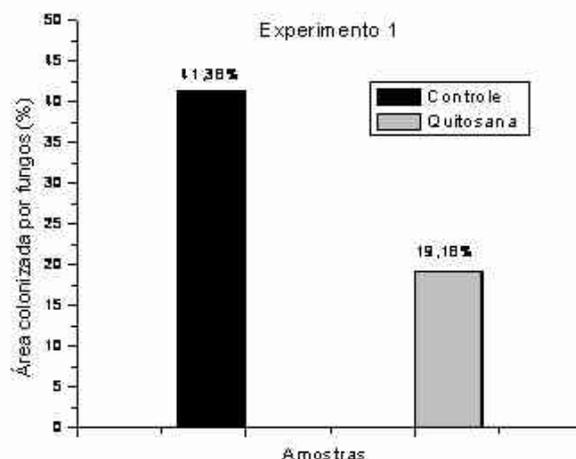


Fig. 1. Comparação da área superficial das maçãs revestida com solução de quitosana e não revestida (controle) após três dias.

Os sais alquilados contendo cadeias com 8 carbonos (Oct) e 12 carbonos (Dodec) apresentaram resultados superiores ao o sal alquilado com 4 carbonos (But). Comparando estes resultados com os dados da Figura 3 vê-se que todos os sais apresentam melhores resultados que a quitosana de partida, ou seja, para o fungo gênero *P. expansum*, os sais quaternários alquilados apresentaram ação inibitória superior ao medido para a quitosana.

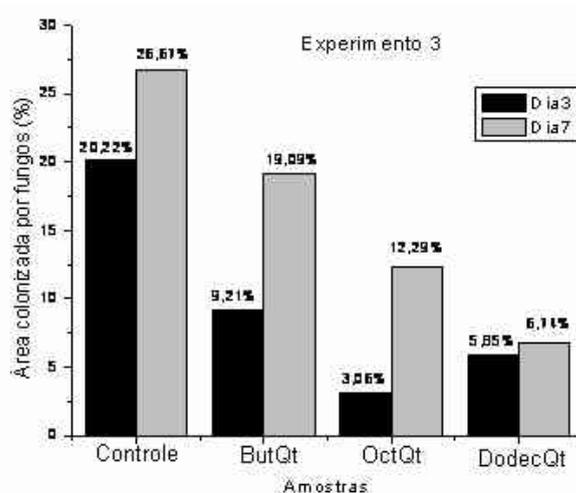
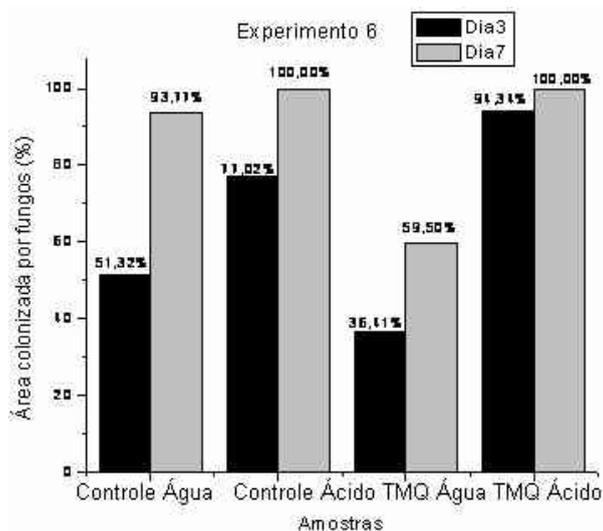


Fig. 2. Comparação da área superficial das maçãs revestida com soluções de sais quaternários de quitosana e não revestida (controle) após 3 e 7 dias em estufa a 25°C.

Outro derivado da quitosana estudado foi a N,N,N-trimetilquitosana ou TMQ. Este derivado não sofreu o processo de alquilação, sendo a quitosana submetida diretamente à segunda reação. Na Figura 3 vemos o comportamento do fungo frente a TMQ solubilizada em água e em ácido acético. Percebe-se que tanto o controle em água quanto a solução de TMQ em água apresentam uma menor proliferação do fungo, enquanto a solução ácida apresenta inibição reduzida. Comparada a Figura 1, em que temos os dados da quitosana, vemos que a TMQ apresenta resultados comparáveis aos da quitosana, com valores muito próximos de atividade fungistática. No entanto, este derivado tem a vantagem de ser solúvel em água, apresentando assim uma maior compatibilidade biológica. Neste caso, a alteração do sabor do fruto minimamente processado revestido com sal solúvel em água é altamente minimizada.



**Fig. 3.** Comparação da área superficial das maçãs revestida com solução de TMQ e não revestida (controle) após 3 e 7 dias em estufa a 25°C, em meios ácido e neutro.

## Conclusões

A ação antifúngica dos derivados de quitosana mostrou resultados positivos, nos quais os sais apresentaram ação inibitória superior ou semelhante a quitosana de partida. Os derivados solúveis em água possuem ainda a vantagem de serem solúveis em pH neutro, implicando em uma superior biocompatibilidade. Ensaio biológicos preliminares para a determinação da mínima concentração inibitória estão em andamento e os resultados preliminares apresentados neste evento.

## Agradecimentos

FAPESP, CNPQ, FINEP/MCT, FIPAI, EMBRAPA, REDE AGRONANO

## Referências

- ASSIS, O. B. G.; PESSOA, J. D. C. Nota Científica: Preparação de Filmes Finos de Quitosana para uso como Revestimento Comestível e Inibidor de Crescimento de Fungos sobre Frutas Fatiadas. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 7, n. 1, p. 17-22, 2004.
- ASSIS, O. B. G.; GOUVEA, S. P.; BRITTO, D. **Uso de metodologia simples por análise de imagens para acompanhamento da proliferação de fungos em frutos fatiados**. São Carlos, SP: Embrapa Instrumentação Agropecuária, 2006. 25 p. (Embrapa Instrumentação Agropecuária. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 17).
- BRITTO, D.; ASSIS, O. B. G. Synthesis and mechanical properties of quaternary salts of chitosan-based films for food application. **International Journal of Biological Macromolecules**, Guildford, v. 41, n. 2, p. 198-203, 2007.
- GORNY, J. R. Leveraging innovative fresh-cut technologies for competitive advantage. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 687, p. 141-148, 2005.
- LEE, J. K.; LIM, H. S.; KIM, J. K. Cytotoxic activity of aminoderivatized cationic chitosan derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chem. Letters**, New York, v. 12, n. 20, p. 2949-2951, 2002.



---

## ESTUDO DA PERMEAÇÃO DE VAPOR DE ÁGUA, CO<sub>2</sub> E O<sub>2</sub> EM BIOPOLÍMEROS À BASE DE QUITOSANA, CARBOXIMETIL CELULOSE E ALGINATO

---

Fabio Rosa Barreira<sup>1</sup>, Lourdes Maria Corrêa Cabral<sup>2</sup>, Murillo Freire Junior<sup>2</sup>, Cláudio Habert<sup>3</sup>, Suely Pereira Freitas<sup>4\*</sup>

<sup>1</sup>Graduando em Eng Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro

<sup>2</sup>Laboratório de Fisiologia Pós-colheita de frutas e hortaliças, Embrapa Agroindústria de Alimentos, Avenida das Américas, 29501, CEP 23020-470, Rio de Janeiro RJ; mfreire@ctaa.embrapa.br

<sup>3</sup>Professor COPPE-UFRJ - Laboratório de Membranas Universidade Federal do Rio de Janeiro

<sup>4</sup>Professora Adjunto III - Laboratório de Processamento de Matérias Primas Vegetais Universidade Federal do Rio de Janeiro; freitasp@eq.ufrj.br

**Projeto Componente:** PC3

**Plano de Ação:** 01.05.1.01.03.02

---

### Resumo

O uso de revestimentos em vegetais tem sido apontado como uma técnica do baixo custo, viável à agroindústria familiar. Pesquisas têm sido desenvolvidas visando à síntese de novos materiais para embalagens degradáveis capazes de manter a qualidade de produto. Estes filmes, quando utilizados no envolvimento de um produto alimentício, funcionam como uma barreira para controlar a migração de água, oxigênio e dióxido de carbono contribuindo para retardar a taxa de deterioração e possibilitando condições mais seguras para o transporte e armazenamento dos mesmos. O potencial das coberturas em reduzir a perda de umidade, aroma, solutos e a taxa de respiração dos vegetais pode ser aumentado com a adição de antioxidantes, antimicrobianos, corantes, flavorizantes, produtos nutricionais e especiarias na sua formulação. O Brasil tem uma grande diversidade de plantas com moléculas bioativas que podem ser extraídas e aplicadas nos revestimentos, aumentando a vida útil de produtos frescos e processados. Dentre as macromoléculas utilizadas, quitosana, carboximetilcelulose e alginato tem sido recomendadas por se tratar de matérias primas abundantes e/ou de baixo custo. Neste trabalho, foram analisados três revestimentos, quitosana, carboximetilcelulose (CMC) e alginato. Avaliou-se a densidade, espessura e a permeabilidade dos filmes ao vapor de água e aos gases CO<sub>2</sub> e O<sub>2</sub>. Pode-se concluir que os filmes de quitosana são menos permeáveis ao vapor de água que os de CMC, apesar destes serem menos solúveis. Isto pode ter ocorrido devido à formação de uma camada limite externa que aumenta a barreira ao transporte de vapor nos filmes de quitosana. Em se tratando da permeação de gases, o filme à base de quitosana foi considerado o mais apropriado para revestimento de frutos pré-cortados, se comparado com os de CMC e alginato, por ter apresentado coeficiente de permeabilidade ao CO<sub>2</sub> cerca de 8 vezes maior que o observado para O<sub>2</sub>.

**Palavras-chave:** quitosana, carboximetilcelulose, permeabilidade.

---

## Introdução

A tecnologia de processamento mínimo vem se aperfeiçoando para atender a demanda por alimentos sem adição de conservantes e com características de sabor, cor e textura mais próximas do natural, oferecendo uma grande variedade de novos produtos para este mercado. A umidade em alimentos é um parâmetro crítico para manter o frescor, controlar o crescimento de microrganismos e promover a qualidade sensorial (BRECHT, 1995).

A aplicação de biofilmes para revestimento de alimentos minimamente processados é uma alternativa para melhorar a qualidade e estabilidade destes produtos e, como consequência, aumentar sua vida de prateleira. Os biofilmes podem ser utilizados para controlar a migração de água, a permeabilidade ao oxigênio e ao dióxido de carbono contribuindo para retardar a taxa de deterioração quando utilizados no envolvimento de um produto alimentício, especialmente nos alimentos minimamente processados, possibilitando condições mais seguras para o transporte e armazenamento dos mesmos (CHUMA, 1984; NICOLLI, 1984; KROCHTA e MULDER-JOHNSTON, 1997; SHEWFELT, 1987; MORETTI, 1999).

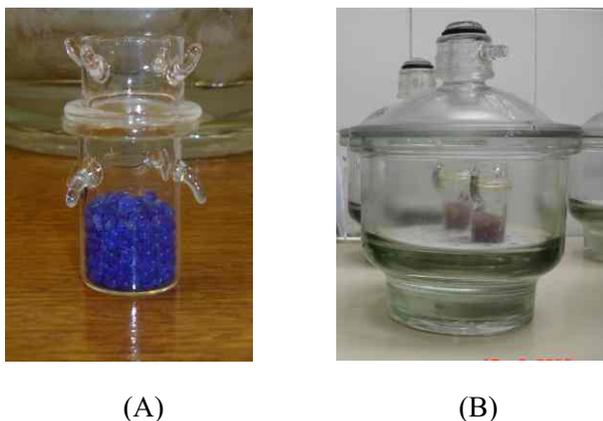
Dentre os materiais biológicos utilizados, quitosana, alginato e CMC são recomendados devido ao fato de constituírem matérias-primas abundantes e/ou de baixo custo. A quitosana é uma fibra formada por um aminopolissacarídeo derivado da quitina, um polímero de ocorrência natural, obtido a partir de exoesqueletos de crustáceos, o alginato é um polissacarídeo extraído de paredes celulares de algas marrons. O CMC é um polímero aniônico derivado da celulose, muito solúvel em água e indicado para aplicações em farmacologia e como aditivo alimentar por ser fisiologicamente inerte (DALLAN, 2005; KESTER, 1986).

## Materiais e métodos

Para preparo dos filmes, os polímeros (quitosana CMC de média viscosidade e alginato) e aditivos específicos (ácido cítrico, ácido esteárico e ácido ascorbico) foram dissolvidos em água destilada na concentração de 1 a 1,5% (p/p) sob agitação contínua para obtenção das soluções elaboradas. Após a solubilização completa, a solução foi levada para um dessecador e submetida à pressão negativa (vácuo) visando à eliminação de gases dissolvidos. A solução foi vertida em placas de Petri sem tampa, aos quais foram acondicionadas a 20°C por 48 horas, para secagem. As espessuras dos filmes

foram determinadas utilizando-se um micrômetro digital (resolução 0,001 mm) e as densidades foram estimadas colocando-se amostras de filmes, com dimensões conhecidas, em um dessecador contendo sílica, até peso constante.

Para determinação da taxa de permeabilidade ao vapor de água nos filmes estudados utilizou-se um recipiente cilíndrico de vidro com abertura de 2,7 cm de diâmetro e 4,0 cm de altura contendo no seu interior um material higroscópico, no caso sílica completamente seca (Fig. 1A). O recipiente foi totalmente selado com a membrana e acondicionado a 21°C em dessecadores contendo diferentes soluções salinas supersaturadas ( $0,69 < a_w < 0,87$ ) (Fig. 1B). Desta forma, foi possível medir o ganho de massa do sistema, que consiste na massa de vapor d'água permeada através do filme e absorvida pela sílica. Os conjuntos foram pesados em intervalos de 24 horas durante 60 dias, até o ponto de saturação da sílica.



**Fig. 1.** (A) conjunto copo/membrana/sílica para medidas de permeação ao vapor de água; (B) dessecadores com atividade de água controlada.

Os experimentos de permeação ao  $\text{CO}_2$  e  $\text{O}_2$  foram conduzidos no laboratório de membranas da COPPE (PAM). As membranas foram acondicionadas em uma célula de aço inox com 6,12  $\text{cm}^2$  de área de permeação, específica para este tipo de análise. Para evitar contaminação no interior do sistema de permeação, os experimentos foram conduzidos com auxílio de uma bomba de vácuo. Após vácuo completo, a corrente de gás de análise ( $\text{O}_2$  ou  $\text{CO}_2$ ) foi bombeada através da membrana a uma pressão entre 2 e 4 bar (Fig. 2). O experimento foi realizado por um período de 3 a 24 horas. O gradiente de pressão foi medido por um sensor, que fornecia os dados em unidades de mA. O sinal era convertido em pressão com o auxílio do *software* "log chart".



Fig. 2. Módulo de permeação a gás.

A permeabilidade da membrana, foi calculada pela lei de Fick modificada (Equação 1) (BIRD; STEWART e LIGHTFOOT, 2002).

$$p \frac{dP}{dt} * \frac{V_s}{A * \Delta P} \frac{T_{CNTP}}{T_{Amb} * P_{CNTP}} \dots\dots\dots [Eq.1]$$

onde:

- p - é a permeabilidade da membrana;
- dP/dt - é a variação da pressão com o tempo, obtida na curva de calibração;
- p - é a diferença de pressão através da membrana (224,98 cm Hg);
- A - é a área de permeação da membrana (6,12 cm<sup>2</sup>);
- Vs - é o volume do sistema (35,21 cm<sup>3</sup>);
- T<sub>Amb</sub> - é a temperatura nas condições de operação (298,15 K);
- T<sub>CNTP</sub> temperatura, nas condições normais de temperatura e pressão (273,15 K) e
- P<sub>CNTP</sub> Pressão, nas condições normais de temperatura e pressão (76 cmHg).

---

## Resultados e discussão

---

### Permeação ao vapor

Os filmes estudados apresentaram densidade de 0,1090,003 g/cm<sup>3</sup>. Os filmes de quitosana, CMC e alginato apresentaram espessura de 0,114 0,01 mm; 0,140 0,002 mm e 0,074 0,002 mm. As curvas cinéticas de transporte de massa apresentaram comportamento linear indicando que a taxa de permeação não variou durante o intervalo de tempo das medidas. Devido a natureza hidrofílica dos filmes, o coeficiente de permeabilidade variou com a atividade de água (Tabela 1). Os filmes de quitosana apresentaram maior resistência ao transporte de vapor de água que os filmes de CMC e alginato em todas as condições analisadas. Os

valores reportados por IRISSIN-MANGATA *et al.*, (2001) para o coeficiente de permeabilidade de filmes de glúten ( UR=100%) contendo diferentes proporções de glicerol foram de mesma ordem de grandeza (6,78E-14<K<8,55E-14 kgm<sup>-1</sup>s<sup>-1</sup>Pa<sup>-1</sup>) daqueles obtidos neste trabalho para os filmes de quitosana ( UR= 84,7%; 13,55E-14<K< 4,45E-14 kgm<sup>-1</sup>s<sup>-1</sup>Pa<sup>-1</sup>). Como esperado, todos os filmes biodegradáveis apresentaram uma menor barreira ao vapor de água que os filmes sintéticos (K= 5,49E-16 kg m<sup>-1</sup>s<sup>-1</sup>Pa<sup>-1</sup>, para filmes de polietileno).

Tabela 1. Permeabilidade ao vapor de água.

A <sub>w</sub> (21	K (Kg/m <sup>2</sup> .s.Pa)		
	C) Alginato	CMC	Quitosana
0,694	6,60E-14	7,23E-13	1,36E-13
0,748	1,29E-13	2,31E-13	5,04E-14
0,847	1,02E-13	4,72E-13	8,42E-14

### Permeação aos gases

O filme de quitosana 1,5% apresentou coeficiente de permeabilidade ao CO<sub>2</sub> (p=5,3343 BARRER) cerca de 8 vezes maior que o observado para O<sub>2</sub> (p=0,6683 BARRER). No caso do alginato e CMC, observou-se um resultado não favorável pois, estes filmes são mais permeáveis ao O<sub>2</sub> (Tabela 2). Uma atmosfera com maior percentagem de dióxido de carbono que oxigênio é desejada uma vez que o CO<sub>2</sub> retarda a respiração dos vegetais diminuindo sua taxa de oxidação. Os resultados obtidos são coerentes com os dados de permeação ao vapor.

Tabela 2. Permeabilidade a CO<sub>2</sub> e O<sub>2</sub>

FILME	Quitosana 1.5%	CMC Media	Alginato 1%
CO <sub>2</sub>	5,3343	118,8426	0,0831
O <sub>2</sub>	0,6683	225,7529	0,7650
Razao CO <sub>2</sub> /O <sub>2</sub>	7,9816	0,5264	0,1086

---

## Conclusões

---

Os filmes de quitosana 1,5% são menos permeáveis ao vapor de água que os de CMC de média viscosidade e os de alginato e mais permeável ao CO<sub>2</sub> que ao O<sub>2</sub> sendo, por esta razão, mais apropriado para revestimento de vegetais minimamente processados.

---

## Agradecimentos

---

CNPq (bolsa PIBIC concedida ao aluno Fábio Rosa

---

## **Referências**

---

- BRECHT, J. K. Physiology of lightly processed fruits and vegetables. **Hortscience**, Alexandria, v. 30, n. 1, p. 18-22, 1995.
- CHUMA, Y.; MURATA, S.; IWAMOTO, M.; NISHIHARA, A.; HORI, Y. Donner strawberry transportation in refrigerated truck for 700 kilometers. **Annals of Agricultural Engineering Society**, [S. l.], v. 45, p. 292-297, 1984.
- DALLAN, P. R. M. **Síntese e caracterização de membranas de quitosana para aplicação na regeneração de pele**. 2005. Tese (Doutorado) - Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP.
- IRISSIN-MANGATA, J. New plasticizers for wheat gluten films. **European Polymer Journal**, New York, v. 37, p. 1533-1541, 2001.
- KESTER, J. J.; FENNEMA, O. R. Edible films and coatings: a review. **Food Technology**, Chicago, v. 42, p. 47-59, 1986.
- KROCHTA, J. M.; MULDER-JOHNSTON, C. de. Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. **Food Technology**, Chicago, v. 51, n. 2, p. 61-74, 1997.
- MORETTI, C.L. Processamento mínimo de hortaliças: alternativa viável para redução de perdas pós-colheita e agregação de valor ao agronegócio brasileiro. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 17, n. 2, p. 1-2, 1999.
- NICOLI, M. C.; ANESE, M.; SEVERINI, C. Combined effects in preventing enzymatic browning reactions in minimally processed fruit. **Journal of Food Quality**, [Wastport], v. 17, p. 221-229, 1994.



---

## CARACTERIZAÇÃO POR $^1\text{H}$ RMN DA OXIDAÇÃO DE NOZES MACADÂMIA REVESTIDAS COM COBERTURA PROTEICA HIDROFÓBICA

---

Marina Colzato, Juliana A. Scramin, Lucimara A. Forato, Luis A. Colnago, Odilio B.G. Assis\*

Embrapa Instrumentação Agropecuária, 13560-970, São Carlos/SP - \*odilio@cnpdia.embrapa.br

Projeto Componente: PC3

Plano de Ação: 01.05.1.01.03.03

---

### Resumo

A eficiência de coberturas hidrofóbicas a base de zeínas como barreira à oxidação de nozes macadâmia foi estudado por  $^1\text{H}$  RMN de alta resolução. Formulações de zeínas na concentração de 4,0% em peso e ácido oléico (AO) como plastificante nas proporções de 0,25; 0,50 e 1,00% foram avaliadas. A oxidação das amostras foi acelerada fazendo uso de um reator a 60°C. Óleos extraídos anterior ao revestimento e após 10 e 30 dias de ensaios foram varridos por RMN. Os resultados indicam que adições de plastificantes acima de 0,50% não são eficientes, podendo alterar o caráter hidrofóbico original da cobertura protéica.

**Palavras-chave:** filmes comestíveis, zeínas, coberturas hidrofóbicas, oxidação de óleos.

---

### Introdução

---

A macadâmia (*Macadamia integrifolia*) é uma árvore originária da Austrália que produz nozes de grande valor comercial. Essas nozes são reconhecidas como ricas fontes de cálcio, potássio e fibras (MOODLEY et al., 2007) e contém ao redor de 75% de óleos em peso. Após sua decorticação as nozes tornam-se susceptíveis à rancidez como resultado da oxidação natural de seus óleos, levando a uma crescente perda de sabor. A temperatura e, principalmente a umidade, também são fatores determinantes da perda de qualidade durante o armazenamento desses produtos.

A taxa de oxidação e o ganho de umidade podem ser ambos reduzidos pelo uso de uma cobertura que limite a permeação de oxigênio e de vapor de água. Para esse propósito revestimentos hidrofóbicos baseados em zeínas parecem indicados para esse fim. As zeínas, quando adicionadas a plastificantes, apresentam razoável habilidade em

formar filmes, gerando uma membrana semipermeável reduzindo o transporte de umidade, oxigênio,  $\text{CO}_2$  e demais componentes voláteis. As zeínas já têm sido empregadas como coberturas protetoras em frutos (BAI et al., 2003) e foi sugerida (ANDRES, 1984) como possível material para a redução da oxidação em nozes.

O objetivo da presente pesquisa é o de avaliar o caráter protetor de revestimentos finos a base de zeínas na evolução da oxidação de macadâmias fazendo uso de Ressonância Magnética Nuclear ( $^1\text{H}$  NMR) de alta resolução.

### Materiais e métodos

---

As zeínas empregadas neste trabalho foram extraídas do glúten de milho (CGM), gentilmente fornecidas pela Corn Products. O procedimento de extração foi o desenvolvido pela Embrapa Instrumentação Agropecuária (FORATO et al., 2003).

Para a preparação das formulações de coberturas, as proteínas foram solubilizadas em solução aquosa de etanol a 70%. As soluções foram homogeneizadas e ácido oléico (AO) separadamente adicionado nas proporções de 0,25; 0,50 e 1,00 % em peso.

As coberturas foram obtidas por imersão das nozes diretamente nas soluções por um período aproximado de 5 seg. Uma amostragem de 20 exemplares em cada condição foi avaliada. Amostras revestidas e não-revestidas foram submetidas à oxidação acelerada em um reator a fluxo constante de O<sub>2</sub> em 3 atm e em banho-maria de 60 °C.

Ressonância de <sup>1</sup>H RMN de amostras de óleos foram realizadas em espectrômetro Varian INOVA 400MHz usando CDC13 como solvente. Tetrametilsilano (TMS) foi empregado como padrão interno.

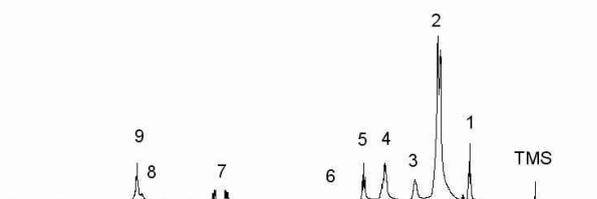
## Resultados e discussão

Com a evaporação do etanol os filmes são formadas quase imediatamente e resultam em coberturas imperceptíveis a olho nu. Na Tabela 1 temos a identificação dos principais sinais encontrados no espectro de <sup>1</sup>H RMN de óleos comestíveis, de acordo com Guillén e Ruiz, (2001) e apresentados no espectro da Figura 1. Os sinais obtidos por NMR correspondem principalmente a grupos de ácido oléico (AO) que para macadâmia corresponde a quase 70% de todos os ácidos graxos (PRESTES et al., 2007).

**Tabela 1.** Sinais identificados nas varreduras de <sup>1</sup>H RMN de óleos de macadâmia.

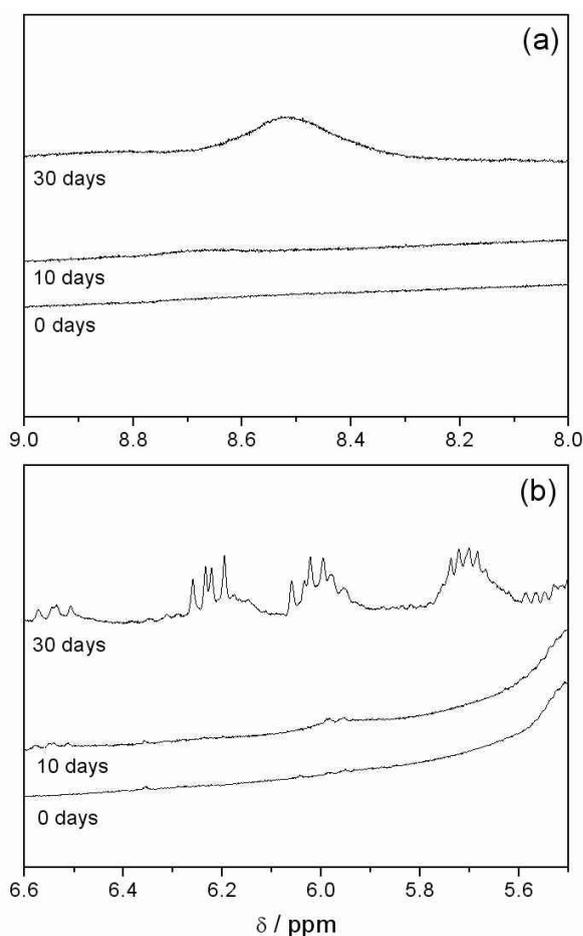
Identificacao	Sinal (ppm)	Grupo Funcional
1	0,90-0,80	-CH <sub>3</sub>
2	1,40-1,15	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> -
3	1,70-1,50	-OCO-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -
4	2,10-1,90	-CH <sub>2</sub> -CH=CH-
5	2,35-2,20	-OCO-CH <sub>2</sub> -
6	2,80-2,70	=HC-CH <sub>2</sub> -CH=
7	4,32-4,10	-CH <sub>2</sub> OCOR-
8	5,26-5,20	-CHOCOR-
9	5,40-5,26	-CH=CH-

A literatura indica que monohidroperóxidos e dienos conjugados são os principais compostos resultantes da reação de oxidação de gorduras insaturadas (GRAY, 1987) e tem ressonâncias nas regiões de 8,5 e 6,0 ppm respectivamente (GUILLÉN e RUIZ, 2001), sendo assim esta região foi explorada para identificação da formação de produtos de oxidação.



**Fig. 1.** Espectro de <sup>1</sup>H RMN de óleo de macadâmia. Picos identificados na Tabela 1.

Para as amostras padrões de óleos sinais ao redor de 6.0 ppm tornam-se evidentes após 10 dias de oxidação, correspondentes à dienos conjugados e após 30 dias uma clara banda de monohidroperóxido é formada (Fig. 2).



**Fig. 2.** Bandas de oxidação forçada em óleo referência: (a) monohidroperóxido e (b) dienos conjugados, obtidos por RMN.

Para macadâmias não revestidas fica claro a ocorrência da formação de dienos, mas não são constatados produtos de monodroperóxidos. Com respeito aos ensaios realizados nas nozes revestidas, foram observados comportamentos distintos: na formulação zeínas com 0.25% de AO temos uma boa resposta sem a ocorrência de nenhum produto para

medidas em 15 dias. Após 30 dias bandas de dienos são identificadas. Este período é reduzido com o aumento da concentração de plastificante na formulação. Não apenas o período, mas a intensidade dos picos torna-se mais intensa com a elevação do teor de plastificante.

Este resultado, de certa forma inesperado, pode ser entendido em termos da interação entre plastificante e moléculas de proteínas, segundo argumentos apresentados por WANG e PADUA, (2006). Em adição, em estudo por <sup>13</sup>C NMR realizado por FORATO et al., 2004, foi proposto que uma interação eletrostática ocorre preferencialmente entre o grupo carboxyl das moléculas de AO e os resíduos de aminoácido argininas na estrutura das zeínas, o que leva a alteração na distribuição dos radicais hidrofílicos no filme. Em outras palavras, a presença de AO em certa proporção gerará características hidrofílicas ao filme, elevando a absorção de água e reduzindo sua barreira à vapores.

---

### Conclusões

---

O uso de zeínas associados a ácido oléico como plastificante para as formulações de coberturas comestíveis sobre noz macadâmias pode gerar barreiras eficientes contra a rancidez oxidativa durante o armazenamento. Filmes com concentrações de 4% (wt) de zeínas e baixas adições de AO atuam satisfatoriamente na inibição da geração de produtos de oxidação, principalmente dienos e monohidroperóxidos. Altas concentrações de plastificantes contudo, levam o filme a ter um caráter hidrofílico, reduzindo ou até mesmo deteriorando as características protetoras. Efeito este que pode ser entendido considerando as interações entre as moléculas de zeínas de AO.

---

### Agradecimentos

---

CNPq, FINEP/MCT, EMBRAPA.

---

### Referências

---

- ANDRES, C. **Food Process**, [S. l.], v. 45, p. 48-49, 1984.
- BAI, J.; ALLEYNE, V.; HAGENMAIER, R. D.; MATTHEIS, J. P.; BALDWIN, E. A. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 28, p. 259-268, 2003.
- FORATO, L. A.; BICUDO, T. C.; COLNAGO, L. A. **Biopolymers (Biospectroscopy)**, New York, v. 72, p. 421-426, 2003.

FORATO, L. A.; YUSHMANOV, V. E.; COLNAGO, L. A. **Biochemistry**, [S. l.], v. 43, p. 7121-7126, 2004.

GRAY, J. I. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, [S. l.], v. 55, p. 539-546, 1978.

GUILLEN, M. D. ; RUIZ, A. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 12, p. 328338, 2001.

MOODLEY, R. ; KINDNESS, A. ; JONNALAGADDA, S. B. **Journal of Environmental Science and Health, Part A**, New York, v. 42, p. 20972104, 2007.

PRESTES, R. A.; COLNAGO, L. A.; FORATO, L. A.; VIZZOTTO, L.; NOVOTNY, E. H.; CARRILHO, E. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 596, p. 325329, 2007.

WANG, Y.; PADUA, G. W. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v. 83, p. 331-334, 2006.



---

## USO DE ANÁLISE DE IMAGENS NO ACOMPANHAMENTO DO CARÁTER FUNGISTÁTICO DE REVESTIMENTOS DE QUITOSANA EM MAÇÃS FATIADAS

---

**Odilio B.G. Assis, Douglas de Britto**

Embrapa Instrumentação Agropecuária, 13560-970, São Carlos/SP odilio@cnpdia.embrapa.br

**Projeto Componente:** PC3

**Plano de Ação:** 01.05.1.01.03.03

---

### Resumo

Neste trabalho fazemos uso de uma metodologia simples, tendo por base um sistema comercial de captura de imagens, composto de um scanner de mesa que combinado a um programa livre (freeware) de análise de imagens, permite estabelecer qualitativa e quantitativamente a evolução da infestação por fungos sobre frutos fatiados, sendo aqui avaliadas maçãs como exemplo. *Penicillium sp* e *Alternaria sp.* foram usados como contaminantes. A quitosana, um polissacarídeo com ação fungicida, foi empregado na forma de uma película invisível permitindo assim análises comparativas. O método, embora consideravelmente simples, mostrou-se útil sendo indicado para avaliação e prevenção de contaminações de microorganismos em frutos minimamente processados.

**Palavras-chave:** contaminação fúngica, filmes comestíveis, qualidade de minimamente processados.

---

---

### Introdução

---

O segmento de frutos frescos minimamente processados e prontos para o consumo é o que mais cresce em escala mundial. No Brasil, embora ainda incipiente o mercado de minimamente processados dá claros sinais de avanço e tem se consolidado paulatinamente. Frutos processados apresentam uma série de problemas que o levam a degradar mais rapidamente que os produtos intactos. Para estes, o uso de agentes antimicrobianos que não alterem a aparência ou sabor é desejável. Materiais diversos têm sido propostos para uso como revestimentos comestíveis protetores. A quitosana, por exemplo, um polímero linear derivado da quitina, tem sido indicada como um material para este fim. A quitosana é atóxica e forma filme transparente, que além de ação antimicrobiana apresenta atividade clarificadora e reduz a permeação de gases. tendo sido já aplicada com sucesso em vários produtos *in natura*.

Para a validação destes revestimentos, os produtos têm que serem monitorados durante o armazenamento e comercialização e o uso de métodos sensoriais como a inspeção e controle visual têm a vantagem de serem não-invasivos, embora métodos precisos de quantificação por imagens ainda sejam complexos e passíveis de erros de interpretação. Neste trabalho, apresentamos uma metodologia simples para a análise do crescimento de colônias de fungos, sobre superfícies cortadas revestidas, fazendo uso de um scanner comercial convencional e de um programa livre de análise de imagens. Essa metodologia de baixa precisão é, contudo, prática e pode ser facilmente empregada para um monitoramento rápido e qualitativo de produtos com pericarpos claros como por exemplo: pêras, pêssegos, melão, manga, goiabas, etc.

---

### Materiais e métodos

---

Maçãs da cultivar Gala (*Malus domestica*) foram fatiadas ao meio e separadas em 2 lotes com 20

amostras cada. Os lotes foram acondicionados em câmara climatizada (25 ± 0.5°C) contendo culturas de fungos não classificados, (espécies do gênero *Penicillium sp.* e *Alternaria sp.*) sendo a inoculados por esporulação espontânea. Os fungos foram originalmente isolados de maçãs contaminadas e as culturas preparadas segundo procedimentos descritos por ZHANG & HAN, 2003.

A proteção se deu por imersão total dos frutos em solução de quitosana segundo procedimento corrente do grupo. Imagens das faces cortadas foram obtidas por varredura fazendo uso de scanner comercial (HP ScanJet 4C). Cada amostra foi varrida duas vezes ao dia ao longo de 10 dias. Na captura das imagens, o tamanho original foi ampliado em 250%, para uma resolução de 512 por 512 pixels, em tons de cinza de 0 a 255. As imagens foram armazenadas possibilitando o acompanhamento da evolução do escurecimento nas superfícies assumidas como proporcional ao crescimento das colônias de fungos.

No programa de análise, as imagens foram transformadas em arquivos binários (*thresholded*) para a remoção de artefatos e demais tonalidades que não são consideradas nas medidas. O crescimento foi considerado como bi-dimensional. O programa empregado foi o software livre Image Tool v.3 desenvolvido pela Universidade do Texas Health Science Center, UTHSCSA e disponível para download em <http://ddsdx.uthscsa.edu/dig/itdesc.html>.

O escurecimento natural que ocorre nas superfícies de maçãs fatiadas, claramente assume padrões e tons distintos, sendo facilmente identificáveis e não considerados pelo menos nos primeiros 5-6 dias de observação. Para interpretações mais confiáveis o *thresholding* foi calibrado manualmente, sendo adotado neste trabalho o nível de cinza em 130 para todas as imagens capturadas. A área infectada é então isolada e automaticamente estimada pela contagem de pixels e numericamente comparada com os valores precedentes. Ao longo do tempo de guarda e análise, o escurecimento natural (enzimático e oxidativo) torna-se mais intenso dificultando, a cada dia, uma perfeita distinção entre este escurecimento e a área infectada por fungos.

## Resultados e discussão

A Figura 1 exemplifica o tratamento binário (*threshold*) realizado que possibilita a seleção de intervalos de tons, separando assim os objetos sobre consideração do fundo geral da imagem, o que permite o isolamento e a proporcional avaliação da área infectada. Os resultados numéricos indicam, como esperado, que as faces não protegidas apresentam proliferação consideravelmente maior com o tempo que as amostras similares revestidas, conforme pode ser constatado pela Figura 2.

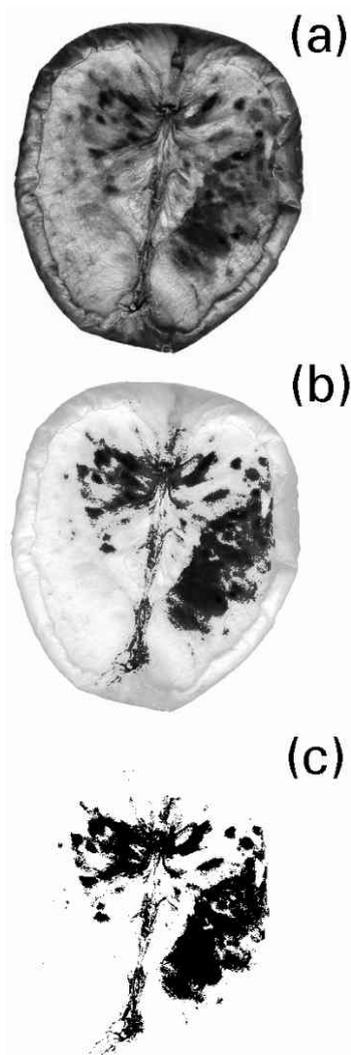


Fig. 1. Exemplo ilustrativo do tratamento de imagem da superfície contaminada de uma maçã fatiada.

Para esta análise, foram consideradas contaminadas as superfícies que apresentavam uma área igual ou superior a 10% da total, com os padrões de fungos. Após 10 dias de registro de imagens é possível afirmar que 90% das amostras não revestidas estavam contaminadas comparadas a 40% das cobertas com filme de quitosana. O programa de análise processa automaticamente a contagem dos pixels correspondente à área selecionada. Por comparação simples é possível estabelecer a tendência de proliferação que diretamente corresponde à cinética de crescimento dos fungos no meio inoculado, neste caso, no pericarpo das maçãs (Fig. 3).

O perfil da curva resultante define claramente o padrão cinético de crescimentos encontrados para microorganismos, ou seja, constituintes de uma região lag, um região de crescimento exponencial e uma fase estacionária, em plena concordância com os dados apresentados na literatura (VINIEGRA-GONZALEZ, et al., 1993; OLSSON, 2002).

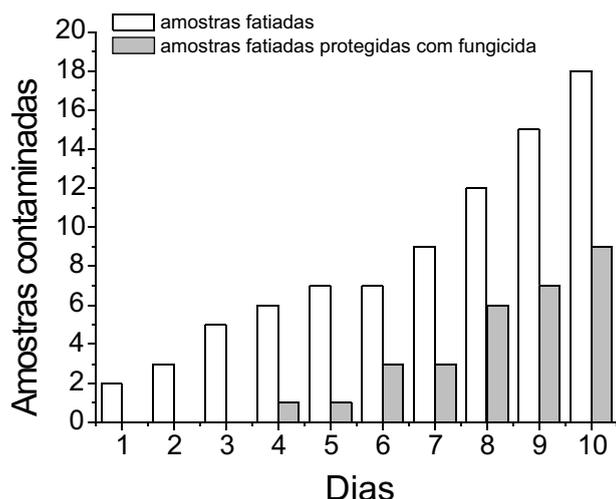


Fig. 2. Evolução do número de amostras infectadas ao longo de 10 dias de armazenamento.

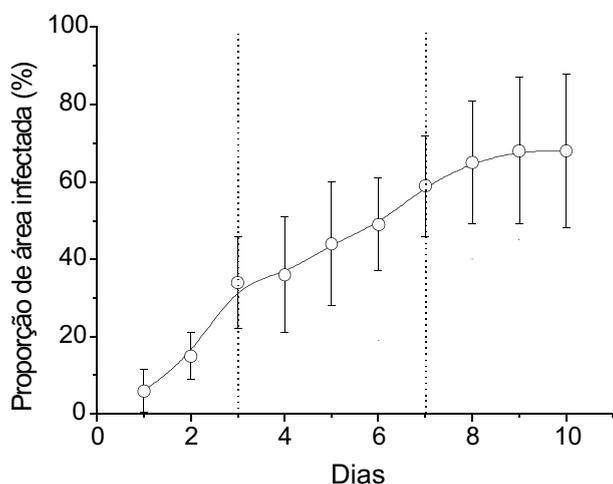


Fig. 3. Proporção de área infectada nas superfícies em função do tempo de exposição, segundo dados obtidos por análise de imagens.

Usualmente, as metodologias para a determinação de intensidade de contaminação fúngica em produtos pós-colheita são conduzidas por determinações quantitativas das micotoxinas, em particular da patulina. A patulina é uma toxina determinada de maneira essencialmente invasiva: a patulina é extraída através da ação de agentes polares como acetona ou etil acetatos e então acidificada. As toxinas são recuperadas com clorofórmio e as intensidades detectadas por técnica de cromatografia líquida (HPLC) (IHA e SABINO, 2006). Tal procedimento, embora mais preciso impossibilita seguir o crescimento microbiano em uma única amostra.

Deve ser observado que o cálculo de área por contagem de pixels não é um procedimento livre de erros. Considerando a transformação binária da imagem, informações são perdidas neste processo e a presença de bordas e classificação errônea de

padrões de pixel podem ocorrer. A contagem de pixel é uma classificação automática e a área resultante é baseada em um número finito de pixels e deve, indubitavelmente, estar sub ou sobre-estimada considerando que pontos diversos escapam do cálculo (VLIET et al., 2004). Com respeito ao escurecimento natural, seja por oxidação ou por ação enzimática, nos primeiros 5-6 dias esta coloração são claramente distinguíveis. Após este período, o escurecimento intensifica-se tornando difícil uma separação visual confiável. De qualquer forma, erros podem ser minimizados na maioria dos casos seja pelo aumento na sensibilidade do sistema e pela adoção de dispositivos e procedimentos idênticos em todas as seqüências de medidas.

## Conclusões

A análise de imagens é uma ferramenta poderosa na avaliação da qualidade em alimentos. Por meio de uma montagem simples, uma avaliação qualitativa e em tempo real do crescimento microbiano pode ser satisfatoriamente conduzida. A metodologia é pode ser aperfeiçoada pelo uso de novos equipamentos ou por programas mais complexos.

## Agradecimentos

CNPq, FINEP/MCT, EMBRAPA.

## Referências

- IHA, M.H.; SABINO, M. Determination of patulin in applejuice by liquid chromatography. **Journal of AOAC International**, Arlington, v. 89, n. 1, p. 139-143, 2006.
- OLSSON, S. Colonial Growth of Fungi. In: HOWARD, R. J.; GOW, N. A. R. (Ed.). **The Mycota: A Comprehensive Treatise on Fungi as Experimental Systems for Basic and Applied Research**. New York: Springer, 2002. v. 3. cap. 6. p. 125-144.
- VLIET, L. J. van; VERBEEK, P. W.; YOUNG, I. T. **Quantitative imaging: how to measure size features in digitized images**. In: IEEE international. Symposium on Biomedical imaging: from nano to macro. Piscataway: IEEE press, 2004. p. 1227-1230. Proceedings of The ISBI'04, IEEE Press, 2004.
- VINIEGRA-GONZALEZ, G.; SAUCEDO-CASTAÑEDA, G.; LÓPEZ-ISUNZA, F.; FAVELATORRES, E. Symmetric branching model for the kinetics of mycelial growth. **Biotechnology and Bioengineering**, New York, v. 42, n. 1, p. 1-10, 1993.
- ZHANG, M.; HAN, T. Insecticidal and fungicidal activities of chitosan and Oligo-chitosan. **Journal of Bioactive and Compatible Polymers**, [Virginia], v. 18, n. 5, p. 391-401, 2003.



---

## AVALIAÇÃO PRELIMINAR, POR ZONA DE INIBIÇÃO, DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE QUITOSANAS HIDROSSOLÚVEIS

---

Rejane C. Goy<sup>1</sup>, Sinara T.B. Morais<sup>1,2</sup>; Douglas de Britto<sup>1</sup>, Odilio B.G. Assis<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Instrumentação Agropecuária

<sup>2</sup>Bolsista CNPq - Brasil \*odilio@cnpdia.embrapa.br

Projeto Componente: PC3

Plano de Ação: 01.05.1.01.03.03

---

### Resumo

Estão sendo avaliados experimentalmente os possíveis modelos de interação quitosana- bactérias por técnicas microbiológicas. Os ensaios estão sendo conduzidos *in vitro* através do crescimento de bactérias bacilares gram-negativa (*E.coli*) e gram-positiva (*S. aureus*) e suas interações com derivados trimetilados de quitosana na forma de gel e de filmes avaliados. O objetivo é o de comparar as atividades antibacterianas dos diversos compostos nas bactérias modelos, definindo condições de processamento e grau de trimetilação para o processamento de filmes ativos para emprego em embalagens e coberturas de alimentos. No momento encontra-se em avaliação as melhores condições para o emprego dessa metodologia.

**Palavras-chave:** Quitosana, derivados hidrossolúveis, atividade antimicrobiana, embalagens.

---

### Introdução

Os derivados hidrossolúveis de quitosana podem ser obtidos pela introdução de cargas positivas permanentes na cadeia polimérica, fazendo com que a solubilidade desses materiais fique independente do pH do solvente. Este aspecto os diferencia da quitosana precursora, que é solúvel somente em pH ácido, abaixo de seu pKa. A presença de cargas permanentes na estrutura polimérica pode ser conseguida através da quaternização dos átomos de hidrogênio nos grupos amino. Para esse objetivo, uma extensiva metilação da quitosana é requerida e pela metodologia desenvolvida pela Embrapa (BRITTO e ASSIS, 2007a; BRITTO e ASSIS, 2007b), esta pode ser conduzida por reação simples em suspensão com dimetilsulfato (DMS), NaOH e NaCl, resultando em N,N,N-trimetilquitosana.

Estudos com sais quaternários têm revelado que a atividade antimicrobiana desses derivados é

sem dúvida superior a atribuída à quitosana não modificada (SADEGHI et al., 2008) inclusive análises preliminares por nós realizadas têm confirmado esta propriedade (CARVALHO, et al., 2007).

#### *Modelos de Interação Bacteriana*

Três modelos de interação têm sido propostos na literatura, sendo o mais aceitável a interação que ocorre entre as cargas protonadas da quitosana (positivas) com os sítios negativos das paredes celulares das bactérias. Este modelo é mediado por forças eletrostáticas entre os grupos NH<sup>+</sup> e resíduos negativos, provavelmente competindo com os íons Ca<sup>2+</sup> na membrana microbiana (YOUNG, 1983). Essa interação eletrostática resultou em uma dupla interferência: i) promove alterações na permeabilidade da membrana resultando em desequilíbrios osmóticos que inibem o crescimento

bacteriano (SHAHIDI et al., 1999) e ii) promove a hidrólise dos compostos peptidoglicanos levando ao vazamento de eletrólitos intracelulares (DEVLIEGHIERE, et al., 2004).

Neste mecanismo fica evidenciado que quanto maior o número de aminas cationizadas maior será a atividade antimicrobiana. O segundo mecanismo proposto é a interação da quitosana com o DNA microbiano, que leva a inibição da síntese do mRNA. Esse mecanismo se dá pela penetração da quitosana no interior do microorganismo (SEBTI et al., 2005). Raafat et al. (2008) apontam que embora este seja um mecanismo possível, sua probabilidade de ocorrência é pequena.

O terceiro mecanismo é baseado na capacidade de quelação de metais pela quitosana. As moléculas do polímero se entrelaçariam no entorno das bactérias, gerando uma barreira física para a penetração de nutrientes essenciais para o crescimento microbiano. Evidentemente, embora possível este não é um mecanismo determinante da quitosana em sua atividade antimicrobiana. Esses serão os possíveis modelos passíveis de detecção neste trabalho.

## Materiais e métodos

### Quaternização da Quitosana e Preparação dos Filmes

Quitosana comercial (Aldrich) foi submetida à reação de quaternização com dimetilsulfato (VETEC). Partindo de 5g de quitosana purificada, foram adicionados 100mL de dimetilsulfato e 12g de NaOH (0,015 mol) em 250mL de água deionizada e NaCl (0,015 mol) sob agitação branda a 70°C por seis horas. O material a seguir foi dialisado em membranas de celofane, neutralizado e o produto final foi obtido por liofilização, segundo procedimento previamente adotado (BRITTO e ASSIS, 2007a).

### Ensaios Microbiológicos

As atividades antimicrobianas dos derivados quaternizados deverão ser inicialmente avaliadas na forma de gel. Sequencialmente as análises foram realizadas diretamente sobre os filmes. A cultura usada para o crescimento bacteriano foi a LB (Lúria Bertani) em composições padrões. As medidas de atividade antimicrobiana tiveram por base duas metodologias adotadas: i) as diferenças na medida proporcional de bactérias diretamente inoculadas sobre placas, ou sobre os filmes, pelo padrão PFU (plaque-forming unit), com contagem direta do número de colônias crescidas e i) a avaliação pelo método de difusão em agar, que se baseia na

determinação dos halos de inibição do crescimento (PELCZAR et al., 1980). Neste método um disco de filme a ser analisado é colocado na superfície de meio de cultura contido numa placa de Petri e previamente inoculado com o microrganismo. Durante a incubação gerando o crescimento do microrganismo teste, a ação antimicrobiana do filme atua sobre o meio de cultura. Um halo (zona transparente) de inibição é formado há volta do disco, onde não crescem colônias do microrganismo. A medida desse halo de inibição é proporcional a ação antimicrobiana. Estão em avaliação material na forma de gel (concentrações variadas) e em filmes. Resultados realizados com *E.coli* evidenciam a eficiência do método.

## Resultados e discussão

Através de medidas de UV-Vis foi monitorado o crescimento das bactérias *E. coli* em função do tempo em meio líquido LB, gerando uma cinética de crescimento conforme a Figura 1 (com alíquotas retiradas de hora em hora e a absorbância medida num comprimento de onda de 640nm), acusando um crescimento do tipo exponencial.

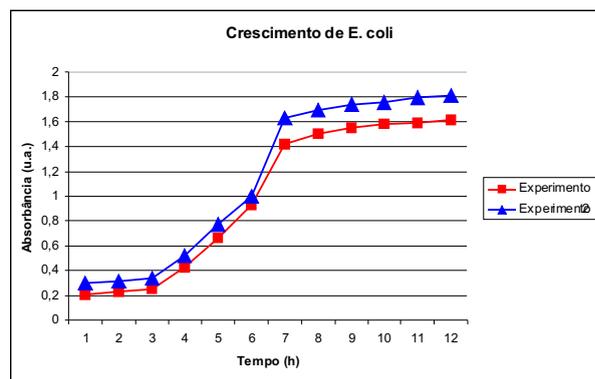


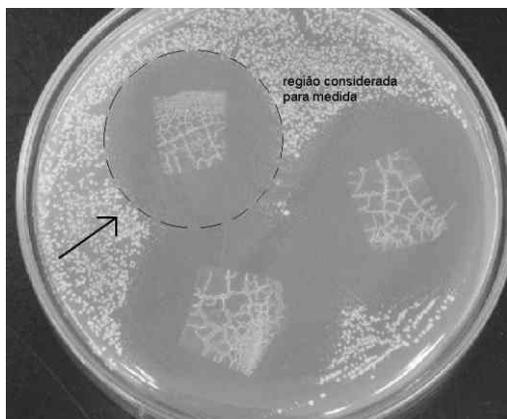
Fig. 1. Curvas de crescimento de *E. coli* em função do tempo.

Para o cálculo do número de bactérias por mL foi utilizada uma expressão que considera o fator de diluição o número de placas e o volume pipetado para espalhamento na placa:

$$CFU = \{(n^{\circ} \text{ colônias} \times \text{fator de diluição}) / n^{\circ} \text{ placas}\} \times \{1/\text{volume}\}$$

Na Figura 2 pode ser observado um exemplo de uma região de intensidade diferenciada em uma placa de cultura na presença de gel de quitosana comercial (2g/L) em meio de cultura de *E.coli*. Pode ser observada uma região de menor intensidade ao redor do gel depositado, porém ainda não passível de medidas comparativas. Contudo nos ensaios

realizados até o momento fica evidenciado o efeito inibidor da quitosana o que esperamos seja mais intenso com o uso da TMQ. Testes com bactéria gram-positiva, como a gram-positiva (*S. aureus*) também encontram-se em andamento.



**Fig. 2.** Meio de cultura inoculado com *S. aureus* e indicio de efeito inibidor de quitosana a 2 g/L.

---

### Agradecimentos

---

O presente trabalho foi realizado com apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, da FAPESP e da EMBRAPA, FINEP/MCT.

---

### Referências

---

- DEVLEIGH, F.; VERMEULEN, A.; DEBEVERE, J. **Food Microbiol.**, London, v. 21, p. 703-714, 2004.
- SEBTI, I.; MARTIAL-GROS, A.; CARNET-PANTIEZ, A.; GRELLIER, S.; COMA, V. **J. Food Sci.**, Chicago, v. 70, p. M100-M104, 2005.
- SHAHIDI, F.; ARACHCHI, J.; JEON, Y-J. **Trends Food Sci. Technol.**, Cambridge, v. 10, p. 37-51 1999.
- RAAFAT, D.; VON BARGEN, K.; HAAS, A. SAHL, H-G. **Appl. Environ. Microbiol.**, [S. l.], v. 74, p. 3764-3773, 2008.



---

## AVALIAÇÃO PRELIMINAR DA INTERAÇÃO BACTÉRIA/FILMES DERIVADOS DE QUITOSANA POR MICROSCOPIA DE FORÇA ATÔMICA

---

Rejane Celi Goy, Carlos Eduardo de Moraes Vieira, Rubens Bernardes Filho, Odilio B.G. Assis

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

Projeto Componente: PC3

Plano de Ação: 01.05.1.01.03.03

---

### Resumo

Filmes de quitosana e N,N,N-trimetilquitosana foram produzidos por “casting” sobre lâmina de vidro na concentração de 2g/L e as superfícies analisadas por microscopia de força atômica. Sobre os filmes foram depositadas bactérias gram-negativa (*E. coli*) na concentração aproximada de  $2 \times 10^8$  organismos/mL e imagens da interação bactéria/superfícies foram obtidas para observar o comportamento resultante.

**Palavras-chave:** quitosana, trimetilquitosana, *E.coli*, microscopia de força atômica.

---

---

### Introdução

---

Quitosana e seus derivados são materiais conhecidos por sua capacidade de inibição de um grande número de espécies de bactérias e fungos com comprovada eficiência, mesmo em baixas concentrações (SHARIDI et al., 1999; SIMPSON et al., 1997). Quitosanas comerciais, não modificadas, têm sido amplamente empregadas em produtos agrícolas como revestimento protetor com o objetivo de impedir a expansão de fungos, principalmente àqueles que se desenvolvem na condição pós-colheita (ASSIS, 2008). Sua maior aplicação se dá na forma de filmes ou coberturas, que além de sua ação antimicrobiana atua no controle das mudanças fisiológicas e morfológicas reduzindo o tempo de maturação e elevando a vida de prateleira (SHARIDI et al., 1999; ASSIS e PESSOA, 2004; ASSIS et al., 2008). Essas propriedades funcionais da quitosana podem ser melhoradas quando combinados com demais materiais ou agentes ativos (DUTTA et al., 2009). Filmes de quitosana são normalmente obtidos por “casting” a partir de diferentes soluções ácidas e

diversas caracterizações têm sido conduzidas, principalmente quanto às suas propriedades mecânicas e reológicas (BÉGIN e CALSTEREN, 1999; BRITTO et al., 2005). Com respeito a atividade antimicrobiana, o material na forma de filme, em função da distribuição espacial das cadeias, provavelmente possui impedimento espacial que dificulta uma efetiva interação entre os sítios ativos da quitosana e as membranas celulares dos microorganismos, o que, em princípio, diminuiria a eficiência antimicrobiana. Essa deficiência pode ser superada por um aumento na concentração de cargas na cadeia polimérica, elevando assim o número de sítios aptos para a interação. Esse efeito pode ser conseguido com a modificação da quitosana, por reações de quaternização, que incorporam cargas positivas permanentes junto aos grupos aminos, como os compostos de N,N,N-trimetilquitosana (TMQ).

Estudos recentes com sais quaternários de quitosana têm confirmado a superior atividade desses derivados com relação à quitosana de partida (SADEGHI et al., 2008). Em avaliação preliminar também realizada pela Embrapa a superioridade da atividade antimicrobiana da TMQ foi confirmada e

em estudos com *E. coli* em meio aquoso (CARVALHO et al., 2007). Neste trabalho avaliamos por microscopia de força atômica (AFM) as alterações e características superficiais de filmes de quitosana e de seus sais quaternizados após interação com culturas de bactérias *E.coli*.

### Materiais e métodos

Os filmes e o derivado quaternizado foram processados a partir de quitosana comercial da Aldrich, de médio peso molecular. A quaternização foi conseguida por reação com dimetilsulfato, segundo seqüência apresentada anteriormente (BRITTO e ASSIS, 2007). Os filmes avaliados foram preparados por “casting” sob superfície de vidro a partir de géis precursores na concentração de 2,0g/L. Para formulação com quitosana comercial o solvente foi ácido acético a 1% e para o derivado quaternário foi empregada água deionizada em pH 7. Os filmes ficaram acondicionados em dessecador até a total evaporação do solvente.

A interação com meio de *E.coli* se deu pela imersão dos filmes em solução com culturas, na concentração de  $2 \times 10^8$  microorganismos/mL. Após secagem as superfícies foram varridas em sistema AFM (Veeco Dimension V). O objetivo é investigatório procurando comparar ou identificar alterações nas topografias resultantes da interação das bactérias com a quitosana comercial e com o composto quaternizado.

### Resultados e discussão

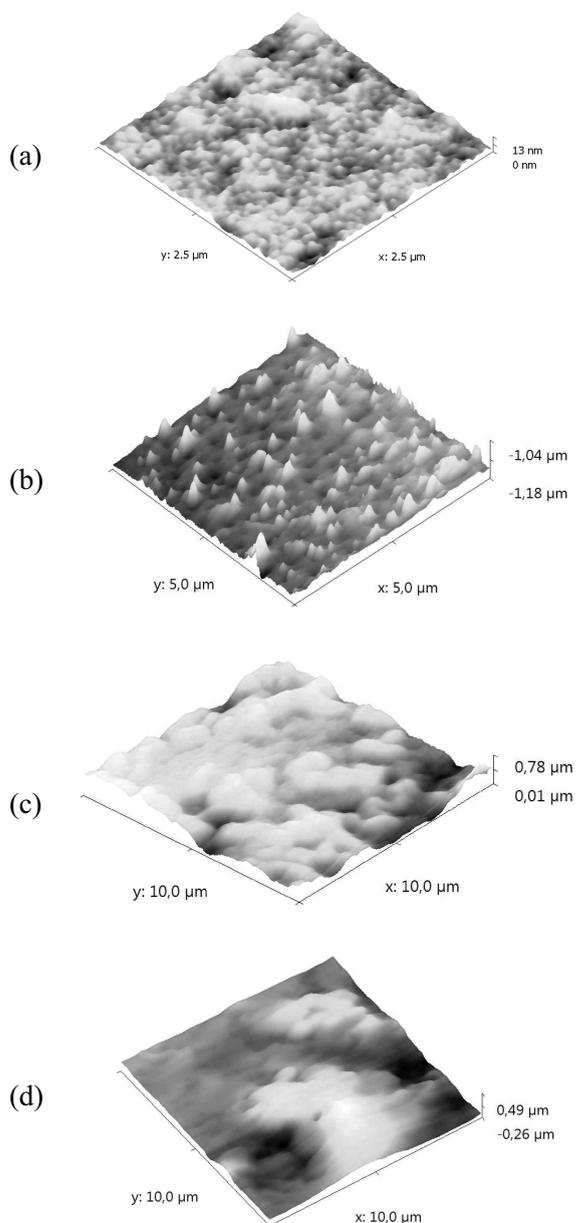
Pelas imagens e pela análise dos dados gerados na Tabela 1, pode-se observar primeiramente, a diferença entre os filmes de quitosana e de TMQ pelas variações na altura média (Z) e na rugosidade. Quitosana, de um modo geral, forma filmes muito finos e uniformes, já a TMQ apresenta uma topografia mais irregular com maior rugosidade. Uma possível causa para este aspecto é a alta concentração de água no polímero, o que gera uma taxa de cura do filme mais lenta e desproporcional entre as diferentes espessuras, formando topografia irregular na condição seca. Associado a esta característica salienta a presença de uma maior densidade de cargas superficiais (grupos  $\text{NH}_2$  protonados), que faz com que ocorra uma “repulsão” entre as cadeias que podem levar a formação de filmes menos densos e de espessuras irregulares, este aspecto é depreendido pelas medidas de rugosidade.

Quando temos a presença de bactérias na superfície observamos para ambos os materiais um comportamento semelhante em relação à altura

média e rugosidade (Tabela 1) mostrando que nesses casos a medida topográfica fica sendo governada pelas bactérias adsorvidas.

**Tabela 1.** Valores de altura média (Z) e rugosidade para os filmes de quitosana e TMQ com e sem bactérias adsorvidas.

Filmes	Z (nm)	Rugosidade (nm)
Quitosana	13	1,92
TMQ	140	15,0
Quitosana + <i>E. coli</i>	780	103,0
TMQ + <i>E. coli</i>	750	119,4



**Fig. 1.** Imagens de AFM (a) quitosana; (b) quitosana + *E.coli*; (c) TMQ; (d) TMQ + *E.coli*.

Embora não seja passível de contagem, aparentemente há uma maior concentração de bactérias aderidas ao filme de quitosana do que as encontradas na superfície de TMQ. Duas observações cabem a este comportamento: i) segundo dados da literatura (MORAIS et al., 2009), a aderência de bactérias gram-negativas é maior em superfícies mais hidrofóbicas e neste caso a TMQ é consideravelmente mais hidrofílica que a quitosana e ii) segundo análises realizadas por Silva Jr e Teschke (2005), baseadas em imagens por AFM de *E.coli* imobilizadas sobre mica (um suporte altamente hidrofílico), observou-se que após a interação e ruptura da membrana bacteriana, a capacidade de aderência desses microorganismos são consideravelmente reduzidas, o que interfere em uma amostragem visual. As análises realizadas até o momento parecem confirmar esses resultados indicando, em princípio, uma maior atividade da TMQ.

---

### Conclusões

---

Embora ainda não conclusivas, as imagens geradas por AFM da interação filmes/bactérias indicam uma maior aderência de microorganismos sobre o filme de quitosana do que a observada para o filme de TMQ. Diversos efeitos podem levar a esse comportamento, sendo a hidrofilicidade e a densidade de carga e, conseqüentemente a capacidade de hidrólise, parâmetros que devem ser considerados.

---

### Agradecimentos

---

Fapesp, EMBRAPA, CNPq, FINEP/MCT.

---

### Referências

---

ASSIS, O. B. G. **Rev. Iber. Tecnología Postcosecha**, [S. l.], v. 9, n. 2, p. 148-152, 2008.  
ASSIS, O. B. G.; FORATO, L. A.; BRITTO, D. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 22, p. 99-106, 2008.  
ASSIS, O. B. G.; PESSOA, J. D. C. **Brazilian J. Food Techn.**, [S. l.], v. 7, n. 1, p. 17-22, 2004.  
BÉGIN, A.; CALSTEREN, M.-R. V. **Int. J. Biological Macromolecules**, Guildford, v. 26, p. 63-67, 1999.  
BRITTO, D.; ASSIS, O. B. G. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 69, p. 305-310, 2007.

CARVALHO, C. R.; BRITTO, D.; ASSIS, O. B. G. Estudo da Ação Inibidora do Derivado N,N,N-Trimetilquitosana na Cinética de Crescimento da *E. Coli*. In: SIMPÓSIO EM MICROBIOLOGIA APLICADA, 3., 2007, Rio Claro, SP. **Livro de Resumos...** Rio Claro: UNESP, 2007. v. único. p. 18.  
DUTTA, P. K.; TRIPATHI, S.; MEHROTRA, G. K., DUTTA, J. **Food Chemistry**, London, v. 114, p. 11731182, 2009.  
MORAIS, L. C.; BERNARDES-FILHO, R.; ASSIS, O. B. G. **World J. Microbiol. Biotechnol.**, Oxford, v. 25, p. 123-129, 2009.  
SADEGHI, A. M. M.; AMINI, M.; AVADI, M. R., SIEDI, F.; RAFIEE-TEHRANI, M.; JUNGINGER, H. E. **J. of Bioactive and Compatible Polymers**, [S. l.], v. 23, p. 262-275, 2008.  
SHARIDI, F.; ARACHCHI, J. K. V; JEON, Y.-J. **Trends in Food Sci. & Technol.**, [S. l.], v. 10, p. 37-51, 1999.  
SILVA JR, A.; TESCHKE, O. **World J. Microbiol. Biotechnol.**, Oxford, v. 21, p. 11031110, 2005.  
SIMPSON, B. K.; GAGNE, N.; ASHIE, I. N. A. NOROOZI, E. **Food Biotechnol.**, New York, v. 11, p. 25-44, 1997.



---

## PROCESSAMENTO DE FILMES A BASE DE GOMA DO CAJUEIRO PARA REVESTIMENTOS DE GOIABAS CORTADAS

---

Rizzo, J.S.<sup>1,2</sup>, Britto, D.<sup>1</sup>, Assis, O.B.G.<sup>1</sup>, Forato, L.A.<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Instrumentação Agropecuária, 13560-970, São Carlos/SP. \*Lucimara@cnpdia.embrapa.br

<sup>2</sup>Centro Universitário Paulista – UNICEP (Bolsista CNPq – Brasil)

Projeto Componente: PC3

Plano de Ação: 01.05.1.01.03.03

---

### Resumo

Filmes compostos a base de goma exsudada do cajueiro estão sendo caracterizados e avaliadas como aplicações protetoras pós-colheitas em frutos e hortaliças. Aqui apresentamos a avaliação com respeito à molhabilidade e às propriedades mecânicas de formulações de goma com adições de carboximetilcelulose (CMC) e glicerol como plastificante. Os testes de conservação foram conduzidos por revestimento de goiabas (*Psidium Guaiava* L.) para diversas concentrações Goma/CMC/Glicerol. A cobertura com melhor desempenho com respeito a perda de massa e propriedades mecânicas foi o constituído de goma, CMC e 2% de glicerol, denominada D. Já pela análise do ângulo de Hue (colorimetria) a formulação contendo 1% de glicerol foi a que melhor preservou a coloração inicial.

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

---

### Introdução

---

No Brasil, a cultura do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.), planta frutífera nativa, ocupa uma área de 551.842 ha, onde os estados do Ceará, Piauí e Rio Grande do Norte respondem por 99% da produção nacional, sendo que a castanha é o produto mais valorizado dentro do agronegócio do caju, enquanto que a goma exsudada é pouco caracterizada ou explorada comercialmente. Esta goma consiste em uma secreção natural e de coloração amarelada, encontrada preferencialmente no tronco ou nos ramos da árvore. Essa espécie de resina, inodora, representa um polímero não-convencional, altamente hidrofílico, com características semelhantes à goma arábica e é liberada pelo caule da planta, caso ela sofra alguma agressão do meio externo (TOWLE e WHISTLER, 1973).

Neste trabalho foram preparadas soluções filmogênicas a base de goma do cajueiro com adições de carboximetilcelulose (CMC) e glicerol como plastificante. Tais soluções foram utilizadas

como revestimentos protetores sobre goiabas cortadas. Estas foram analisadas com respeito a perda de massa, colorimetria e através de registro fotográfico diário. A hidrofobicidade das coberturas foi analisada por medida de ângulo de contato (AC). O objetivo é avaliar esses materiais como formulações para revestimentos comestíveis pós-colheita e em frutos minimamente processados.

### Materiais e métodos

---

O exsudado bruto (fornecido pela Embrapa Amazônia Oriental) foi moído e peneirado com subsequente adição de água destilada. A solução foi filtrada a vácuo, descartando-se os resíduos sólidos e usando o sobrenadante para a preparação de soluções com adição de glicerol e CMC. Adicionou-se glicerol e CMC em concentrações que variaram de 1% a 2% em massa, conforme a Tabela 1. Após homogeneização, as soluções foram depositadas em placas acrílicas e secas em temperatura ambiente. Os filmes formados foram destacados manualmente e avaliadas suas propriedades mecânicas por Análise

Mecânica Dinâmica (DMA) e caráter hidrofílico por medida de Ângulo de Contato.

As análises por DMA foram conduzidas em equipamento da TA Instrument no modo tensão. Para as medidas amostra foram cortados em um molde com as seguintes dimensões: 17,28x6,55x0,05 mm. Foi aplicada uma rampa de força a 0,5N s<sup>-1</sup> até 15N ou até o filme se romper. Os dados foram expressos em uma curva tipo tensão versus deformação.

As análises de Ângulo de Contato foram realizadas depositando-se uma gota de água (aprox. 5 L) sobre o os filmes. Os registros das imagens da gota foram feito por uma câmara adaptada ao equipamento com os intervalos de tempo entre 0, 30, 60, 120 e 240 segundos. Os valores de ângulo foram calculados através do software FTA32. Para o revestimento foram utilizadas goiabas (*Psidium Guaiava* L.) da família Myrtacea, de pericarpo vermelho, adquiridas no mercado local e todas em um mesmo estágio de maturação e fatiadas ao meio. As goiabas foram previamente pesadas, imersas nas soluções filmogênicas (Tabela 1) e então secas em condições ambiente de umidade e temperatura. Imersões somente em água destilada (solvente) também foi conduzidas a título de comparação.

**Tabela 1.** Composição das soluções filmogênicas usadas para preparar os filmes e revestir as frutas, dados em % de massa/volume da solução (solvente H<sub>2</sub>O).

Solução	Goma do Cajueiro	Glicerol	CMC
A	1	-	-
B	1	1	-
C	1	1	1
D	1	2	1

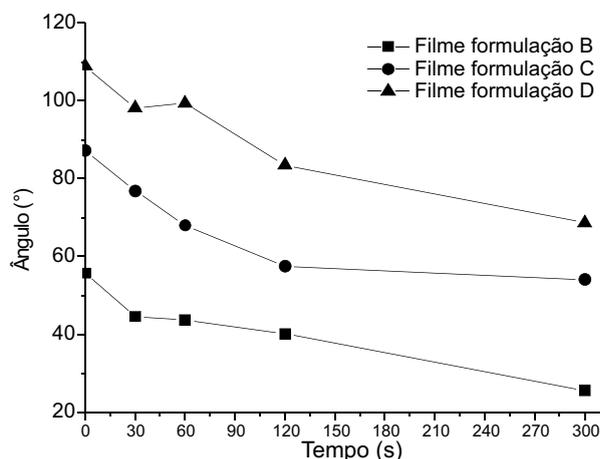
Após o revestimento realizou-se o acompanhamento da perda de massa e da variação da cor das goiabas ao longo de 12 dias. O colorímetro Chroma Meter CR- 400/410 da Konica Minolta foi empregado. Os valores foram expressos em ângulo de Hue.

## Resultados e discussão

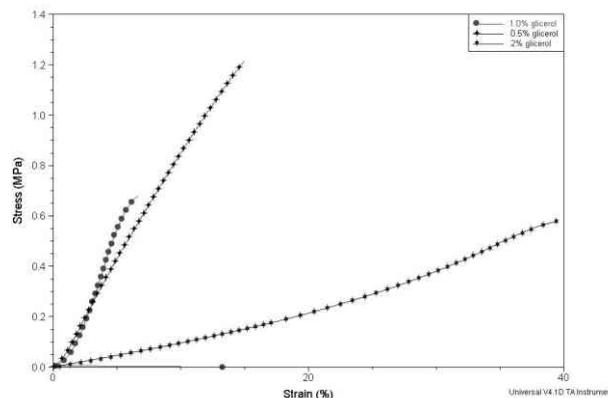
Na Figura 1 temos o gráfico da variação do ângulo de contato com o tempo. Nota-se que partir de 120 segundos ocorre um maior espalhamento da gota sobre o filme obtido a partir da solução B (redução do ângulo), sem adição de CMC, do que naqueles contendo CMC (filmes C e D). Com isso pode-se dizer que a presença de CMC reduz a hidrofilicidade dos filmes conjugados, considerando que as características de molhabilidade dos filmes oriundos das soluções C e D, o ângulo de contato apresenta maiores valores com o tempo do que os filmes

formados a partir da solução B que não contém CMC (MOITA NETO, 1986).

Pela Figura 2 é possível observar o efeito do plastificante nas propriedades mecânicas. Os dados indicam que os filmes compostos pelas soluções D (com maior concentração de plastificante) apresentam as melhores propriedades mecânicas com valores de deformação em rupturas superiores a 10% para adições de 1% de glicerol e até 40% para 2%, embora para tensões reduzidas (Fig. 2).

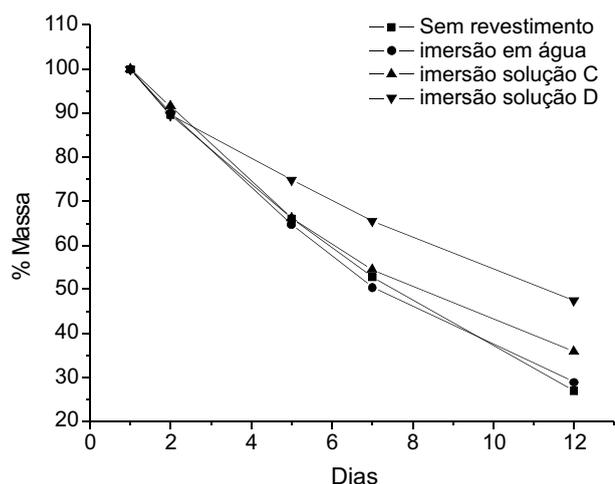


**Fig. 1.** Gráfico dos valores de ângulo de contato para as soluções B, C e D, conforme concentrações disposta na Tabela 1.



**Fig. 2.** Gráfico de DMA demonstrando a tensão versus deformação para filmes B e C.

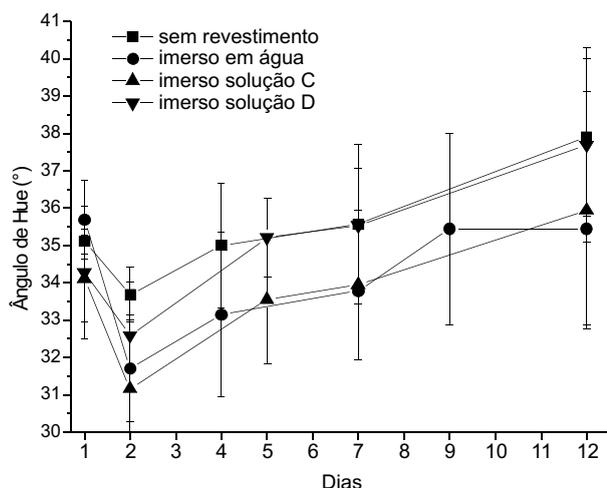
Na Figura 3 é apresentada a perda de massa versus tempo para as goiabas revestidas e não revestidas. A principal causa de perdas se dá por transpiração entre o fruto e o seu entorno. Observa-se que as amostras que tiveram menor percentual de perda de massa foram as revestidas a partir das soluções C e D as quais estão associadas com CMC e glicerol. Ou seja, estas foram as que melhor mantiveram as condições iniciais. Este resultado está em concordância com as análises de ângulo de contato, onde essas formulações apresentaram menor hidrofilicidade, o que favorece uma melhor permeação de vapor de água.



**Fig. 3.** Gráfico representando a perda de massa de goiabas revestidas com diversas soluções.

Na Figura 4 é mostrado o gráfico com os valores de ângulo de Hue, obtidos pela análise de colorimetria. Observa-se que todas as amostras partem de um valor de ângulo de Hue próximos a 30o e aumentam para cerca de 40o. Como que ângulo de Hue = 0o significa tons predominantemente avermelhado e ângulo de Hue = 90o significa tom com predomínio de amarelo (MASKA, 2001). Pode-se entender que com o tempo as goiabas vão perdendo sua coloração original alterando tons amarelados, o que caracteriza o processo de maturação e degeneração.

Esta mudança foi predominante para as amostras sem revestimento e para aquelas revestidas com solução 2% de glicerol (solução D). Enquanto que goiabas revestidas com a solução filmogênica de 1% de glicerol (solução C) apresentaram menor variação na tonalidade, preservando sua aparência interna original por maior período de tempo.



**Fig. 4.** Gráfico da variação do ângulo de Hue versus tempo para superfícies cortadas de goiabas revestidas e não revestidas.

## Conclusões

Pelas análises preliminares de perda de massa e ângulo de contato e propriedades mecânicas realizadas com filmes de goma exsudada de cajueiro, associada à carboximetilcelulose e a glicerol como plastificante, concluiu-se que a cobertura com melhor desempenho com respeito a perda de massa e propriedades mecânicas foi o constituído de goma, CMC e 2% de glicerol (D). Já pela análise do ângulo de Hue a formação contendo 1% de glicerol foi a que melhor preservou a coloração inicial.

## Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico e da EMBRAPA.

## Referências

- TOWLE, G. A.; WHISTLER, R. L. Hemicelluloses and gums. In: MILLER, L. P. **Phytochemistry: the process and products of photosynthesis**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1973. v. 1, p. 198-248.
- MASKAN, M. Kinetics of colour change of kiwifruits during hot air and microwave drying. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 48, n. 2, p. 169-175, 2001.
- MOITA NETO, J. M. **Molhamento e ângulo de contato**. disponível em: <<http://www.fapepi.pi.gov.br/novafapepi/ciencia/documentos/Molhamento>>. Acesso em: jul. 2009.



---

## NANOFILMES DE ZEÍNAS COM PRÓPOLIS ANALISADOS POR MICROSCOPIA DE FORÇA ATÔMICA

---

**Tassiane Regina Alves Corrêa<sup>1,2\*</sup>, Juliana Aparecida Scramin<sup>1,2</sup>, Odílio Benedito Garrido de Assis<sup>2</sup>,  
Lucimara Aparecida Forato<sup>2</sup>, Rubens Bernardes Filho<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Departamento de Biotecnologia- UFSCar, 13565-905 – São Carlos, SP.

<sup>2</sup>Laboratório de Preparação de Amostras Biológicas, Embrapa Instrumentação Agropecuária, 13560-970 – São Carlos, SP. \*Tassiane@cnpdia.embrapa.br

**Projeto Componente:** PC 3

**Plano de Ação:** 01.05.1.01.03.03

---

### Resumo

O emprego de filmes ou coberturas comestíveis aplicados em frutas e alimentos funciona como um controle na respiração ou troca gasosa, preservando a qualidade do alimento e na diminuição de perdas. A própolis uma substância coletada pelas abelhas, apresenta um grande potencial bactericida e fungicida. Os filmes de zeína com própolis foram analisados por microscopia de força atômica para investigar a interação dos filmes com o cantiléver. Resultados mostraram que quanto maior a porcentagem de plastificante, maior a força de adesão entre o cantiléver e a amostra.

**Palavras-chave:** Própolis, Zeína, Alimentos.

---

### Introdução

---

A nanotecnologia tem sido muito utilizada e estudada na indústria de embalagens, como veículo no desenvolvimento de novas embalagens para proteção de alimentos e frutas (ANDRADE, 1997; OTOMANI e SÍRIO, 1994). O emprego de filmes ou coberturas comestíveis aplicados diretamente sobre frutas e alimentos tem aumentado nos últimos anos e tem sido alvo de pesquisas, pois seu uso ajuda na preservação da qualidade do alimento e na diminuição de perdas. Na agricultura está sendo bem explorada devido ser um material biodegradável e atóxico Segundo Moller et al. (2004), alguns desafios que enfrentam a indústria de alimentos na produção de embalagens e que devem ser melhorados são: barreira de água (controle da perda de vapor de água) impedindo a deterioração; propriedades mecânicas das películas; e em relação ao aspecto ambiental, a utilização de materiais

biodegradáveis, diminuindo o impacto ambiental causado pela lenta decomposição das embalagens convencionais (ASSIS et al., 2007).

Filmes de zeína,, que são proteínas de reserva do milho, agem como barreira a água, oxigênio e lipídios. Isso ocorre devido controle da respiração ou troca gasosa, como elemento antibacteriano e antifúngico, desta forma preservando a qualidade do produto e estendendo a sua vida útil, também chamado de “tempo de prateleira”. A própolis uma substância que apresenta um grande potencial farmacológico, embora conhecida há milhares de anos pelo homem, somente agora suas propriedades biológicas começam a ser compreendidas. O objetivo deste trabalho foi analisar filmes de zeínas em escala nanométrica com adição de própolis pela técnica de microscopia de força atômica (MFA), e comparar os resultados com outros já obtidos sem a própolis, além de obter imagens dos filmes.

## Materiais e métodos

Na primeira etapa, os filmes foram solubilizados em 4,2% de zeína em solução de etanol 70% sob agitação magnética, até a total diluição da zeína. Após foram adicionados diferentes concentrações de plastificante (Ácido Oléico) em 0,25, 0,5 e 1%. Na segunda etapa foi adicionado à solução sob agitação magnética 1 mg/mL de própolis, e em seguida as soluções foram depositadas em placas de acrílico e secas em dessecadores em temperatura ambiente por aproximadamente três dias.

Após a solução estar totalmente seca e ter formado um filme, foi destacado da placa de acrílico e submetido à análise de microscopia de força atômica em modo contato.

## Resultados e discussão

Utilizando o AFM (Atomic Force Microscopy) foi possível verificar que a adição de própolis em concentração de 1 mg/mL que apresenta efeito bacteriostático não acarretou aumento da hidrofobicidade dos filmes de zeínas. Como pode ser notado pelas medidas de adesão apresentada nas tabelas abaixo:

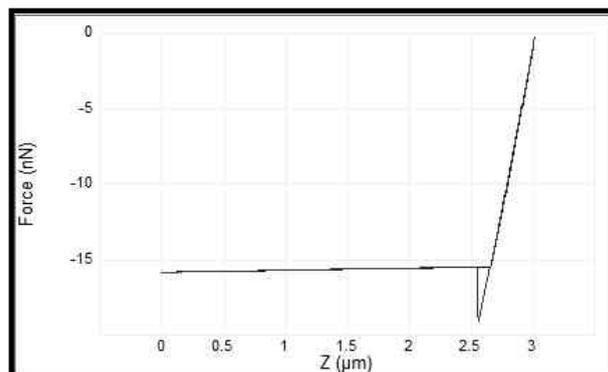
**Tabela 1.** Dados das curvas de força de zeína com plastificante.

Tabela Zeína + Plastificante	
Ácido Oléico (Ao)	Valores Curva de Força
1%	1.25 nN
0.5%	1.18 nN
0.25%	1.05 nN
Sem Plastificante	0.02 nN

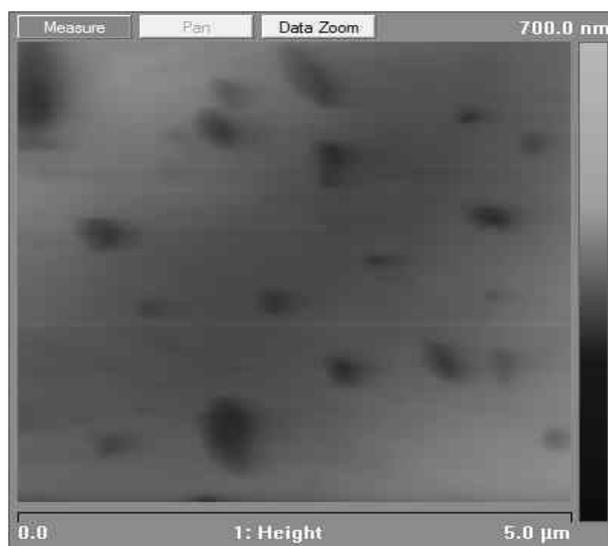
**Tabela 2.** Dados das curvas de força de zeína com plastificante com própolis.

Tabela Zeína + Plastificante + Própolis	
Ácido Oléico (Ao)	Valores Curva de Força
1%	1.27 nN
0.5%	1.55 nN
0.25%	0.58 nN
Sem Plastificante	0.16 nN

Na Figura 1, é apresentada uma curva de força típica de filmes de zeína com própolis, ela nos mostra adesão que a amostra tem com o cantiléver. Já na Figura 2 é uma imagem do filme de zeína com própolis, observamos que o filme apresenta poros, deixando-os quebradiços.



**Fig. 1.** Curva de força típica de filmes de zeína com própolis.



**Fig. 2.** Microscopia de força atômica de filme de 0,25% Ao.

## Conclusões

Filmes de zeínas somente são obtidos com adição de plastificantes, entretanto, o ácido oléico, normalmente utilizado para este filme diminui a hidrofobicidade deste, pois possui duas extremidades, uma apolar e outra polar. A parte apolar deve se ligar com as cadeias hidrofílicas dos resíduos de aminoácidos, deixando livre a extremidade polar que é hidrofóbica. Desta forma, buscamos concentrações de ácido oléico que produza filmes com menos hidrofobicidade possível. Porém observou-se que quanto maior a porcentagem de plastificante, maior a força de adesão entre o cantiléver e a amostra, entretanto a adição da própolis não acarretou alteração na hidrofobicidade dos filmes obtidos, pois quando comparados com os filmes somente de zeínas com plastificante, as características físicas e estruturais foram às mesmas, não ocorrendo nenhuma alteração nos filmes de zeínas com própolis.

---

**Agradecimentos**

---

EMBRAPA, FINEP/MCT, CNPQ.

---

**Referências**

---

ANDRADE, J. G. **Recomendações básicas para produção de um café de qualidade**. Guaxupé: [s. n.], 1997.

MÖLLER, H.; GRELIER, S.; PARDON, P.; COMA, V. Antimicrobial and physicochemical properties of chitosan-HPMC-based films. **Journal Agriculture Food Chemistry**, Amsterdam, v. 52, n. 1, p. 6585-6591, 2004.

OTOMANI, A. R.; SÍRIO, A. Germination. In: BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2<sup>nd</sup> ed. New York: Plenum Press, 1994. p. 199-267.



## ANÁLISE DE PERAS REVESTIDAS COM FILMES A BASE DE ZEÍNAS POR RMN DE $^{13}\text{C}$ EM ALTA RESOLUÇÃO

Vieira, C.E.M.<sup>1,2</sup>, Scramin, J.A.<sup>1,3</sup>, Assis, O.B.G.<sup>2</sup>, Bernardes Filho, R.<sup>1</sup>, Imasato, H.<sup>2</sup>, Forato, L.A.<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Instrumentação Agropecuária, 13560-970, São Carlos/SP. \*lucimara@cnpdia.embrapa.br

<sup>2</sup>Instituto de Química de São Carlos - USP

<sup>3</sup>Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia-UFSCar

**Projeto Componente:** PC3

**Plano de Ação:** 01.05.1.01.03.03

### Resumo

Neste trabalho foram utilizadas zeínas, que são proteínas hidrofóbicas e formam uma barreira contra a umidade e o oxigênio, para revestimento de peras. Estas foram revestidas com soluções filmogênicas a base de zeínas e o ácido oléico (AO) foi usado como plastificante em diferentes concentrações. Os frutos foram avaliados pela sua perda de massa e pela espectroscopia de RMN de  $^{13}\text{C}$  em alta resolução. As análises de RMN permitiram avaliar que o maior consumo de glicose ocorreu com as frutas que apresentaram maior perda de massa, indicando que tais frutas apresentaram maiores trocas gasosas com o ambiente e, portanto redução em seu tempo de prateleira.

**Palavras-chave:** zeínas, filmes comestíveis, pêra, RMN de  $^{13}\text{C}$ .

### Introdução

Os filmes comestíveis são películas de variadas espessuras constituídas por diferentes substâncias naturais e/ou sintéticas que se polimerizam e isolam o alimento de seu entorno. Estes filmes visam minimizar a perda de umidade e reduzir as taxas de respiração, evitar a proliferação microbiana além de conferir aparência brilhante e atraente (MAIA et al., 2000; ASSIS et al., 2008).

Os filmes comestíveis a base de zeínas, proteínas de reserva do milho que são constituídas principalmente por resíduos de aminoácidos apolares, são insolúveis em água, formando uma barreira à umidade. No entanto os filmes preparados somente a base dessas proteínas são frágeis, quebradiços, havendo a necessidade da adição de um composto plastificante para aumento de sua flexibilidade. Portanto neste trabalho foram preparadas soluções filmogênicas a base de zeínas, utilizando-se ácido oléico (AO) como plastificante em diversas concentrações.

Os frutos (peras) revestidos ou não foram analisados por medidas de perda de massa e pela espectroscopia de RMN  $^{13}\text{C}$  para se monitorar o metabolismo dos açúcares com o tempo.

### Materiais e métodos

As peras foram adquiridas no comércio local, em um mesmo estágio de maturação e revestidas com soluções filmogênicas a base de zeínas na concentração de 4 % em massa e solubilizadas em etanol 70%. O agente plastificante usado foi o ácido oléico separadamente adicionado nas proporções de 0,25% e 1,0% em massa.

As peras foram mergulhadas na solução por aproximadamente 2 a 3 s e secaram até a evaporação do solvente. As frutas foram diariamente pesadas para acompanhamento da perda de massa.

Para as análises de RMN de  $^{13}\text{C}$ , o espectrômetro utilizado foi um Varian®, modelo Inova com campo magnético de 9,4T que opera na frequência de 400 MHz para núcleos de hidrogênio.

Amostras da polpa da pera, sem casca foram colocadas em tubos de 5 mm com a adição de 50  $\mu$ L de D<sub>2</sub>O (água deuterada). Os espectros foram obtidos de 2000 transientes com pulso de 90° com duração de 11,5  $\mu$ s, tempo de espera de 10 s, tempo de aquisição de 1,2 s e janela espectral de 25 KHz. O desacoplamento foi usado somente durante a aquisição. Os espectros foram filtrados com função de decaimento exponencial (lb=5). O DSS (2,2-dimetil-2-silapentano-5-sulfonato) foi usado como padrão de deslocamento químico.

## Resultados e discussão

A perda de massa pela transpiração ocorre principalmente pela transferência da água existente na casca e no interior do fruto. Quando revestido, o filme pode bloquear os estômatos e cutícula, influenciando nas trocas gasosas. Menores taxas de transpiração preservam a temperatura superficial, e atua na redução da taxa de respiração e consequentemente da senescência (NETO et. al 1999).

As pêras revestidas com filme de 4% zeínas com adições de 0,25% AO apresentaram menor perda de massa, sendo os melhores resultados de revestimento conseguido. Frutas não revestidas e revestidas com 1,0% AO, por sua vez, comportaram distintamente apresentando maiores valores para perda de massa (Fig. 1).

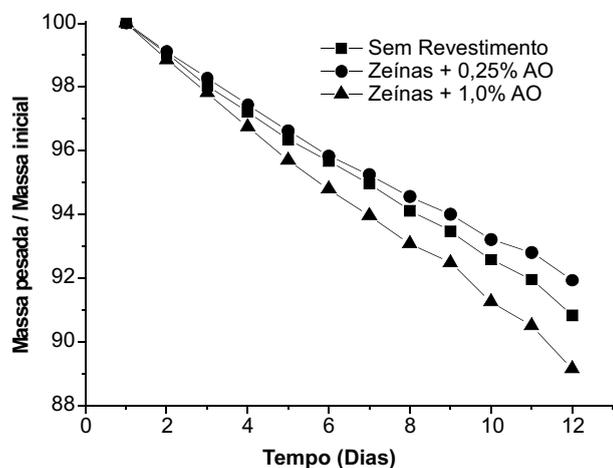


Fig. 1. Gráfico da perda de massa em peras em função da massa perdida e do tempo.

De acordo com a literatura tal comportamento pode ser devido à presença das moléculas de plastificante nas cadeias poliméricas que provocam a reorientação dos grupos polares na direção da interface e também uma redução do número de resíduos de aminoácidos exposto ao solvente, deixando assim os filmes com caráter hidrofílico (MUTHUSELVI e DHATHATHREYAN, 2006).

A espectroscopia por RMN de <sup>13</sup>C é uma ferramenta muito útil para a elucidação dos componentes dos sacarídeos e da conformação dos carboidratos. A Figura 2 mostra o espectro por RMN de <sup>13</sup>C das peras analisadas.

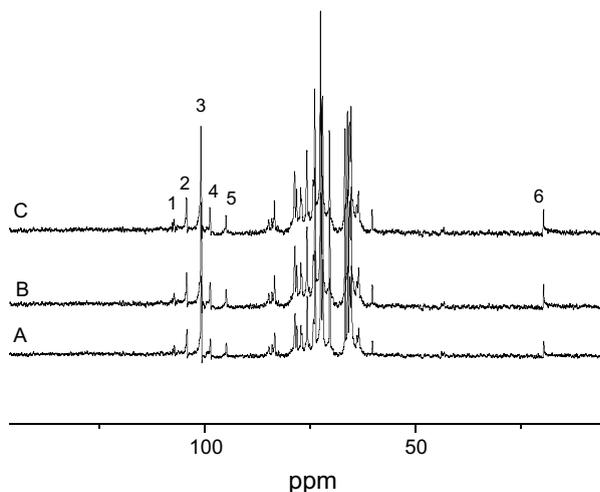


Fig. 2. Espectro por RMN de <sup>13</sup>C de: A pera com revestimento a base de zeínas e 1% de ácido oléico; B pera sem revestimento e C pera com revestimento a base de zeínas e com 0,25% de ácido oléico. Os espectros de foram obtidos no dia 35 após revestimento.

Na Tabela 1 são mostrados os principais deslocamentos químicos ( $\delta$ ) e as atribuições do espectro por RMN de <sup>13</sup>C das peras analisadas mostradas na Figura 2. As nomenclaturas das atribuições são:  $\beta$ -Fru-C<sub>2</sub>\* corresponde ao carbono 2 da frutose presente na molécula de sacarose, -Fru-C<sub>2</sub> e  $\beta$ -Fru-C<sub>2</sub> correspondem ao carbono 2 da molécula de frutose na conformação  $\alpha$  e  $\beta$  respectivamente, -Gli-C<sub>1</sub> e  $\beta$ -Gli-C<sub>1</sub> correspondem ao carbono 2 da molécula de glicose na conformação  $\alpha$  e  $\beta$  respectivamente e Rha-C<sub>6</sub> pode ser atribuído ao carbono 6 da molécula de ramnose (BUDD, 2003; RONDEAU-MOURO et. al., 2002).

Tabela 1. Principais deslocamentos químicos ( $\delta$ ) e atribuições do espectro por RMN de <sup>13</sup>C das peras analisadas.

Número do pico	(ppm)	Atribuição
1	107,1	-Fru-C <sub>2</sub> *
2	104,3	-Fru-C <sub>2</sub>
3	100,8	-Fru-C <sub>2</sub>
4	98,6	-Gli-C <sub>1</sub>
5	94,8	-Gli-C <sub>1</sub>
6	19,5	Rha-C <sub>6</sub>

Durante a respiração do fruto, amido é hidrolisado e convertido a glicose que, em sua maior parte, é utilizada no processo respiratório. Na Tabela

2, são apresentadas as intensidades dos sinais de glicose para as amostras analisadas. Pode-se notar claramente que a amostra que mais consumiu glicose foi a pêra revestida com zeínas e AO 1%, indicando maior taxa de respiração. Este resultado também concorda com a maior perda de massa para tal amostra (Fig. 1).

A frutose também é utilizada na respiração, no entanto, parte dela é acumulada no vacúolo, região onde não ocorre processo de respiração. Apenas frutose contida no citoplasma participa do processo de respiração. Isto sempre se reflete em picos de frutose mais intensos (picos 1, 2 e 3) nos espectros de  $^{13}\text{C}$  se comparados aos picos menos intensos da glicose (picos 4 e 5) que é consumida durante todo o processo respiratório e não se acumula nos vacúolos. A sacarose fica a maior parte do tempo acumulada nos vacúolos, desse modo sua concentração permanece praticamente a mesma até que a acidez decaia a um nível crítico mudando a permeabilidade da membrana, neste momento a sacarose e a frutose acumuladas entram no citoplasma e começam a participar do processo de respiração (BIALE, 1950). Isto é condizente com o aumento da relação sacarose/frutose com o tempo, mostrando uma redução de sacarose no processo de amadurecimento.

**Tabela 2.** Intensidade dos sinais de RMN de  $^{13}\text{C}$  da glicose e razão sacarose/frutose para as amostras indicadas.

Amostra	Intensidade sinais de glicose	Razão sacarose / frutose
Pêra sem revestimento	1	
Pêra Zeína + 0,25% AO	1,8	
Pêra Zeína + 1,0% AO	0,57	

Os valores mais baixos da relação sacarose/frutose juntamente com os valores mais baixos das intensidades de todos os sinais de  $^{13}\text{C}$  nas peras revestidas a base de zeínas e com 1,0% de ácido oléico indicam que o processo de respiração foi maior, uma vez que a quantidade de carboidratos consumida foi maior. Isto se deve ao fato da maior permeabilidade gasosa do filme. Nas frutas sem revestimento e com revestimento a base de zeínas com 0,25% de ácido oléico a relação sacarose/frutose são praticamente iguais, isto pode ser explicado devido à parte da frutose não ser utilizada na respiração e, portanto se acumula, refletindo em razões sacarose/frutose parecidas para essas duas amostra. Isto, pois estas últimas têm diferenças menos pronunciadas de consumo de glicose e perda de massa se comparadas com a amostra revestida com zeínas e 1% de AO (Tabela 2 e Fig. 1).

## Conclusões

Os revestimentos comestíveis à base de zeínas com menor porcentagem de plastificante, 0,25%AO, reduziram as perdas de massa das frutas quando comparados a frutas sem revestimento e frutas revestidas com formulações contendo plastificantes acima deste teor. Com as análises RMN foi possível se avaliar o alto consumo de glicose com o tempo, bem como o acúmulo de frutose. O alto consumo de glicose, assim como a perda de massa, indicou o pior desempenho para o filme contendo 1% de AO e o melhor com 0,25% do mesmo.

## Agradecimentos

EMBRAPA.

## Referências

- ASSIS, O. B. G.; FORATO, L. A.; BRITTO, D. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 22, p. 99-106, 2008.
- BIALE, J. B. Postharvest physiology and biochemistry of fruits. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 1, p. 183-206, 1950.
- BUBB, W. A. NMR spectroscopy in the study of carbohydrates: Characterizing the structural complexity. **Concepts in Magnetic Resonance**, Hoboken, v. 19A, n. 1, p. 1-19, 2003.
- MAIA, L. H.; PORTE, A.; SOUZA, V. F. Filmes comestíveis: aspectos gerais, propriedades de barreira a umidade e o oxigênio. **Boletim do CEPPA**, Curitiba, v. 18, n. 1, 2000.
- MUTHUSELVI, L.; DHATHATHREYAN, A. Contact angle hysteresis of liquid drops as means to measure adhesive energy of zein on solid substrates. **Pramana J. of Physics**, Bangalore, v. 66, n.3, p. 563-574, 2006.
- NETO, L. G.; CRISTO, A. S.; CHOUDHURY, M. M. Conservação pós-colheita de frutos de goiabeira, variedade paluma. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 34, n. 1, 1999.
- RONDEAU-MOURO, C.; CREPEAU, M-J.; LAHAYE, M. Application of CP-MAS and liquid-like solid-state NMR experiments for ... **International Journal of Biological Macromolecules**, Guildford, v. 31, p. 235-244, 2002.



## **CAPÍTULO 3**

# **NOVOS USOS DE PRODUTOS AGROPECUÁRIOS UTILIZANDO A NANOTECNOLOGIA**

Organizador: José Manoel Marconcini





---

## BIODEGRADAÇÃO DE FILMES DE PCL EM SOLO E SOLO COM CHORUME

---

Adriana de Campos<sup>1,2</sup>, Sandra Mara Martins-Franchetti<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Bioquímica e Microbiologia, Instituto de Ciências Biológicas, UNESP  
Av. 24-A, nº 1515, Bela Vista, CP 199, 13506-900 Rio Claro, SP, Brasil

<sup>2</sup>Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação Agropecuária,  
13560-970, São Carlos/SP

**Projeto Componente:** PC4

**Plano de Ação:** 01.05.1.01.04

---

### Resumo

A biodegradação de filmes de poli(-caprolactona) (PCL) em solo e solo com chorume foi avaliada pela evolução de CO<sub>2</sub>, medidas de perda de massa, MEV e DSC. As análises de evolução de CO<sub>2</sub> mostraram que a biodegradação do filme de PCL em solo foi maior que em solo com chorume, verificando-se que a biodegradação do PCL é inibida pelos microrganismos do chorume adicionados ao solo, porém os microrganismos do chorume propiciam maiores mudanças morfológicas nos filmes. Este estudo abre uma perspectiva para a investigação da ação microbiana sobre nanocompósitos de PCL.

**Palavras-chave:** policaprolactona, solo, chorume.

---

### Introdução

---

A grande quantidade de resíduos produzidos pela sociedade é um crescente problema ambiental que deverá ser solucionado de forma a alcançar uma sociedade mais sustentável (JANSSON et al., 2003). Os resíduos plásticos são derivados principalmente de materiais de embalagem, tais como sacos de lixo, filmes agrícolas, embalagens e recipientes alimentares. No entanto, os processos de degradação destes resíduos provenientes de polímeros sintéticos são extremamente lentos (TJONG et al., 2006). Durante os últimos anos, polímeros biodegradáveis com propriedades físicas e mecânicas adequadas têm recebido atenção especial para substituir polímeros à base de petróleo.

Poli(caprolactona) é um exemplo de polímero biodegradável, um poliéster alifático sintético com propriedades semelhantes a polímeros derivados de petróleo. PCL é um polímero semicristalino com um ponto de fusão (T<sub>m</sub>) entre 59 e 64°C, dependendo do conteúdo cristalino, e uma transição vítrea (T<sub>g</sub>) em torno de -60°C. Devido à sua biocompatibilidade,

capacidade de formar blendas e copolímeros compatíveis com uma vasta gama de outros polímeros, tem sido utilizado para melhorar as propriedades mecânicas, processabilidade e permeabilidade de materiais, expandindo as suas aplicações (PEÑA et al., 2006).

Estudos de biodegradação são importantes para minimizar os efeitos dos resíduos plásticos descartados no meio ambiente, como para melhorar a aplicação dos polímeros biodegradáveis na área de embalagens agrícolas.

A biodegradação é o resultado do crescimento microbiano na superfície (erosão superficial) e/ou com quebras de cadeias, ou seja, os microrganismos aderem à superfície polimérica, desenvolvendo filamentos, penetrando no material, provocando rachaduras e, portanto, diminuindo a resistência e durabilidade do material. A quebra de cadeias pode ser provocada pela presença de enzimas específicas (LUCAS et al., 2008), tais como as lipases e esterases, capazes de quebrar as ligações carboxílicas e de ésteres, respectivamente (LUCAS et al., 2008).

O objetivo do trabalho foi investigar o comportamento do polímero biodegradável PCL quando em contato com os microrganismos do solo e do chorume, através de Medidas de Evolução de CO<sub>2</sub>, Perda de Massa, Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Técnicas de análise de biodegradação poderão ser aplicadas em estudos de nanocompósitos e nanopartículas, a fim de avaliar o comportamento destes materiais perante à ação microbiana.

## Materiais e métodos

O solo utilizado, rico em serrapilherira, foi obtido no Campus da UNESP de Rio Claro, SP e peneirado em uma peneira de 2 mesh. A umidade do solo foi de 60% (CETESB, 1999). Também se utilizou solo enriquecido com chorume (pH 7,0) coletado no aterro sanitário de Piracicaba- SP. O solo e o solo com chorume não foram esterilizados, com a finalidade de manter a ação microbiana durante o tratamento (CAMPOS et al., 2007).

Os filmes de PCL foram preparados por fusão, com pressão hidráulica de 1 ton, a 170°C, por 5 minutos e resfriados lentamente em ambiente climatizado com temperaturas de 25-26°C.

Filmes de PCL de aproximadamente 100 µm de espessura e 0.2 g em massa, foram enterrados em 50 g de solo de jardim e em solo com chorume, em um respirômetro de Bartha (em triplicata) à 28°C durante 120 dias, seguindo a norma técnica da CETESB L.6.350 (1990). Uma descrição detalhada dos testes de biodegradação utilizando o respirômetro de Bartha é dada por Campos et al. (CAMPOS et al., 2007).

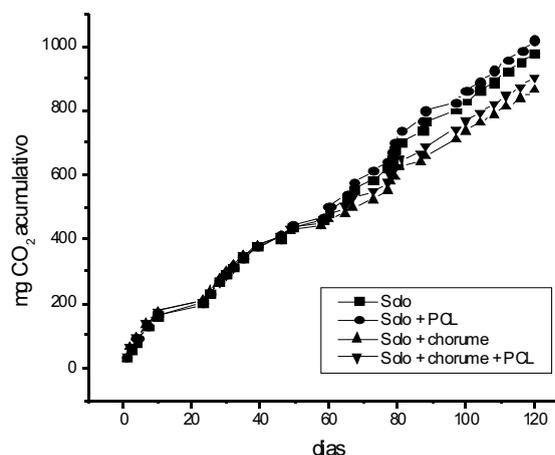
Medidas de perda de massa dos filmes foram obtidas em escala analítica após os biotratamentos, expressas em porcentagem de perda de massa.

A microscopia dos filmes foi medida em um microscópio eletrônico de varredura (MEV) Carl Zeiss DSM 940-A, à 5KV e 200 X de aumento (ESALQ-USP-Piracicaba). Os filmes originais e após o tratamento microbiano foram recortados e acoplados nos "stubs" com fita dupla face de carbono e recobertos com ouro, em câmara de vácuo, utilizando o metalizador Bal-Tec SC SCD050, com "sputtering".

Análises de Calorimetria Diferencial de Varredura(DSC) foram obtidas por um DSC2910 (TA Instruments), usando um porta amostra padrão de alumínio selado. As análises foram feitas em atmosfera de Nitrogênio, a um fluxo de 50 mL/min, na faixa de temperatura de 25°C a 250°C, com taxa de aquecimento de 10°C/min.

## Resultados e discussão

A evolução de CO<sub>2</sub> permite estimar o tempo de estabilização de um resíduo orgânico quando disposto no solo. A fim de estudar o comportamento do filme de PCL em solo e solo com chorume, foram realizadas análises de evolução de CO<sub>2</sub>, que estão apresentadas na Figura 1.



**Fig. 1.** Produção acumulada de CO<sub>2</sub> durante 120 dias de incubação

Verificou-se a tendência da evolução de CO<sub>2</sub> acumulativa durante 120 dias, observando que o filme de PCL em solo apresentou maior evolução de CO<sub>2</sub> que o filme de PCL em solo com chorume, mostrando que a presença de microrganismos do chorume no solo inibe de certa forma a atividade microbiana do solo (Fig. 1). Os filmes apresentaram perda de massa durante o tratamento microbiano, que são apresentadas na Tabela 1.

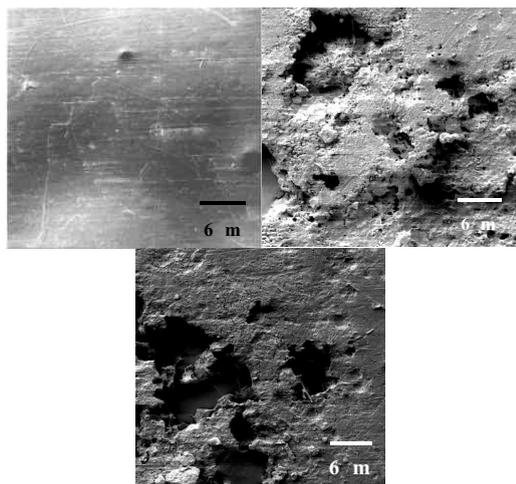
**Tabela 1.** Porcentagem (%) de perda de massa dos filmes de PCL após o tratamento microbiano.

Filmes	Solo	Solo com chorume	Desvio Padrao
PCL 30 dias	24.9	15.4	0.6
PCL 45 dias	53.6	70.7	0.8
PCL 60 dias	66.8	88.6	0.5

Os filmes de PCL sofreram grande diminuição de massa em 30 e 60 dias de tratamento, chegando a 67% quando tratados em solo e 89% quando tratados em solo com chorume (Tabela 1). O filme de PCL com 90 dias de tratamento apresentou-se muito degradado, fragmentado no solo, o que impossibilitou a pesagem e análise do mesmo.

As análises de microscopia, importantes na avaliação morfológica, são apresentadas na Figura 2.

O filme de PCL original apresentou uma superfície lisa, com alguns domínios. (Fig. 2A)

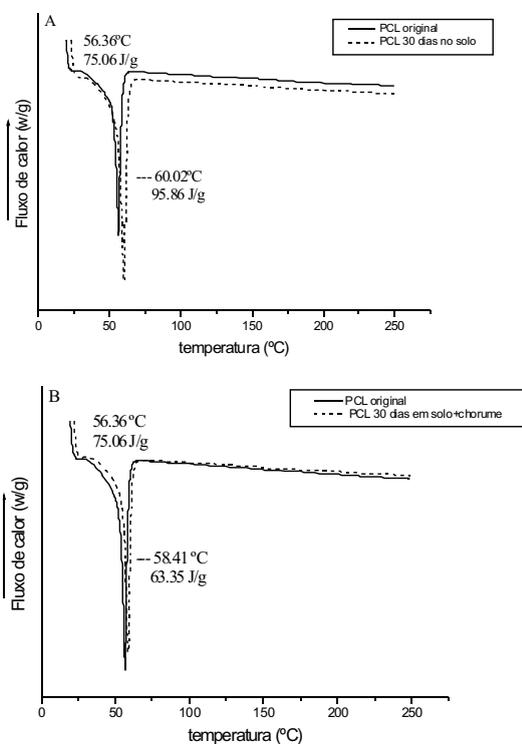


**Fig. 2.** MEV de filmes de PCL: A- original e B- PCL em solo 60 dias, C- PCL em solo + chorume 60 dias.

O filme de PCL original apresentou uma superfície lisa, com alguns domínios. (Fig. 2A)

Os filmes de PCL tratados durante 60 dias (Fig. 2B), tornou-se mais deteriorado, com a presença de orifícios e estruturas diferenciadas (Fig. 2C). A presença de chorume no solo favoreceu alterações morfológicas, observadas por MEV.

As curvas de DSC são apresentadas nas Figuras 3.



**Fig. 3.** Curvas de DSC de filmes de PCL original e após 30 dias de tratamento microbiano: A- solo e B- solo + chorume.

O filme de PCL após 30 dias de tratamento microbiano em solo apresentou aumento da temperatura de fusão (Fig. 3A) e aumento da cristalinidade, correspondendo a 55% para o PCL original e 70,5% para o PCL em solo. O aumento do grau de cristalinidade e da temperatura de fusão indica diminuição da fase amorfa, reorganização das lamelas e aumento de espessura das lamelas, respectivamente. Quando tratado em solo com chorume (Fig. 3B), a cristalinidade diminuiu (47%). Esse resultado indica que a adição do chorume no solo, favoreceu a biodegradação do PCL, por erosão do filme, mostrando que os microrganismos presentes possibilitaram quebra de cadeias também da fase cristalina, diminuindo a fração de cristalinidade do polímero.

## Conclusões

A biodegradação em solo e solo com chorume modificou as propriedades do PCL. O aumento da cristalinidade durante a biodegradação em solo é atribuído à quebra de cadeias na fase amorfa do PCL e rearranjo de cadeias. A adição do chorume no solo, favoreceu a erosão do filme de PCL e diminuição de cristalinidade.

## Agradecimentos

Os autores agradecem à FAPESP pela bolsa de doutorado (Process no. 04/14381-7).

## Referências

- JANSSON, A.; MÖLLER, K.; GEVERT, T. **Polym. Degrad. Stabil.**, [S. l.], v. 82, p. 37-46, 2003.
- TJONG, S. C.; XU, Y.; MENG, Y. Z. **Polymer**, [S. l.], v. 40, p. 3703-3710, 1999.
- PEÑA, J.; CORRALES, T.; IZQUIERDO-BARBA, I.; DOADRIO, A. L.; VALLET-REGI, M. **Polym. Degrad. Stabil.**, [S. l.], v. 91, n. 7, p. 1424-1432, 2006.
- CAMPOS, A.; MARTINS-FRANCHETTI, S. M.; MARCONATO, J. C.; AGNELLI, J. A. M.; MONTEIRO, M. R. **Res.J.Biotech.**, [S. l.], v. 2, n. 4, 2007.
- CETESB Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental. **Solos: Determinação biodegradação de resíduos: Método respirométrico de Bartha.** São Paulo, 1190. L6.350, abril 1990.
- LUCAS, N.; BIENAIME, C.; BELLOY, C.; QUENEUEDEC, M.; SILVESTRE, F.; NAVA-SAUCEDO, J. E. A review. **Chemosphere**, Oxford, v. 73, p. 429-442, 2008.



## DETERMINAÇÃO CONDUTIVIMÉTRICA DE NUTRIENTE LIBERADO A PARTIR DE HIDROGÉIS

Adriel Bortolin<sup>1,2</sup>, Fauze Ahmad Aouada<sup>1,2</sup>, Luiz Henrique Capparelli Mattoso<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Depto. de Química - UFSCar, 13560-905, São Carlos/SP

<sup>2</sup>Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação Agropecuária, 13560-970, São Carlos/SP. \*mattoso@cnpdia.embrapa.br

Projeto Componente: PC4

Plano de Ação: 01.05.1.01.04.04

### Resumo

Hidrogéis biodegradáveis de poliacrilamida e metilcelulose foram sintetizados por meio de polimerização química do monômero acrilamida, em solução aquosa contendo MC e do agente de reticulação N'-N-metilenobisacrilamida. Estudos de adsorção e liberação controlada do nutriente fosfato de potássio ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) foram realizados por meio de medidas de condutividade, pelas quais foi possível determinar as quantidades de nutrientes adsorvida e liberada pelo hidrogel e observar o efeito das concentrações de AAm e MC nesses dois eventos.

**Palavras-chave:** Hidrogel, biodegradável, acrilamida, metilcelulose, liberação controlada, nutrientes.

### Introdução

Sistemas de liberação controlada/prolongada foram primeiramente estudados e aplicados para avaliar a liberação controlada de fármacos com o objetivo de manter sempre uma dosagem ideal no organismo, diminuindo os custos e reduzindo os efeitos colaterais causados por várias doses (REDDY et al., 1999). Tal conceito, também pode ser aplicado à agricultura como a liberação controlada de nutrientes por meio de veículos biodegradáveis capazes de armazenar grande quantidade de nutriente, liberando-o gradativamente para o solo. Objetiva-se assim manter sua concentração ótima por mais tempo, evitando gastos desnecessários e também graves problemas ambientais causados pelo uso excessivo de fertilizantes nas plantações.

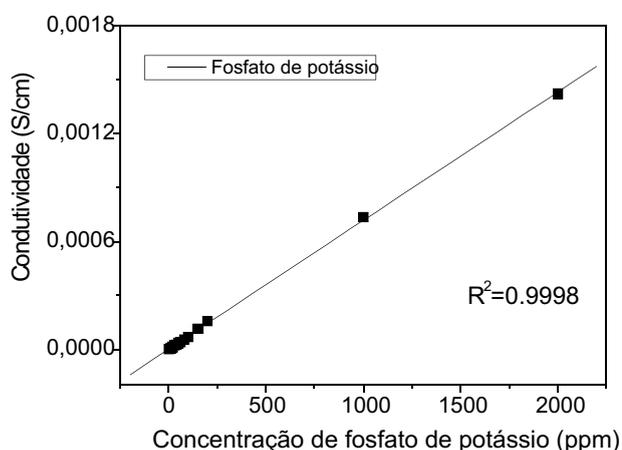
Este trabalho tem como objetivo avaliar a capacidade de adsorção e liberação do nutriente fosfato de potássio ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) em meio aquoso por hidrogéis constituídos por acrilamida (AAm) e o polissacarídeo biodegradável metilcelulose (MC).

### Materiais e métodos

Os hidrogéis constituídos de poliacrilamida (PAAm) e do polissacarídeo biodegradável metilcelulose (MC) foram obtidos por meio de polimerização química do monômero acrilamida, em solução aquosa contendo MC, agente de reticulação N'-N-metilenobisacrilamida e catalisador N,N,N',N'-tetrametilenobisacrilamida. Depois de preparar a mistura, borbulhou-se  $\text{N}_2$  na solução por 20 minutos para eliminação de oxigênio. A reação de polimerização via radical livre foi iniciada pela adição de persulfato de sódio ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ) (BODUGOZ-SENTURK et al., 2009; SINGH e CHAUHAN, 2009).

O estudo de adsorção do fertilizante  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  foi realizado através da inserção de um hidrogel previamente seco em uma dada solução de fertilizante com concentração inicial conhecida ( $C_0$ ). Após um determinado período, a quantidade de fertilizante no hidrogel foi quantificada pela diferença entre a concentração inicial da solução de

$\text{KH}_2\text{PO}_4$  e a concentração na solução após um tempo “t”. As concentrações do fertilizante nas soluções foram determinadas utilizando um condutivímetro, baseando-se em uma curva de calibração, previamente construída e apresentada pela Figura 1. A cinética de adsorção foi monitorada até o estado de equilíbrio, ou seja, a partir desse estado não ocorre mais incorporação do fertilizante pelo gel.



**Fig. 1.** Curva de calibração para o fertilizante  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ .

A quantidade de fertilizante adsorvida foi determinada através da Equação abaixo:

$$q_t = \frac{[(C_0 - C_t)] \times V}{m}$$

onde  $q_t$  é a quantidade de fertilizante adsorvida pelos hidrogéis por grama de hidrogel seco ( $\text{mg g}^{-1}$ ),  $C_0$  e  $C_t$  ( $\text{mg L}^{-1}$ ) são as concentrações de fertilizante na solução inicial e após um determinado tempo “t”, respectivamente,  $V$  é o volume da fase aquosa e  $m$  é a massa de hidrogel seco.

Após o estudo de adsorção, foi realizado o estudo de liberação do nutriente em solução aquosa. Para isso, o hidrogel foi retirado da solução de fertilizante após atingir o equilíbrio e adicionado a um recipiente contendo um volume conhecido de água destilada e deionizada. Em determinados tempos “t” mediu-se a condutividade da solução, que foi convertido em termos de concentração por meio da curva de calibração apresentada anteriormente.

Os resultados de liberação foram quantificados em termos de percentagem de liberação em função do tempo, baseando-se na Equação:

$$\text{Quantidade liberada (\%)} = \left( \frac{M_t}{M} \right) \times 100$$

onde  $M_t$  é a quantidade de nutriente liberada pelo hidrogel no tempo t e  $M$  é a quantidade total de nutriente carregada no hidrogel.

As medidas de adsorção e de liberação foram realizadas em triplicata para reduzir os erros.

## Resultados e discussão

A Tabela 1 mostra os resultados de adsorção após 90 horas que o hidrogel ficou imerso em solução de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  com concentração ( $C_0$ ) aproximada de 1974 ppm. Os resultados mostram que o aumento da concentração de MC no hidrogel, provoca uma maior adsorção de nutriente. Por outro lado, se aumentar a concentração de AAm na solução inicial do hidrogel, implicará em uma menor adsorção. O hidrogel que mais adsorveu o nutriente foi o 6,0% AAm e 1,0% MC (238,5 6,4 ppm) e o que menos adsorveu foi o 12,0% AAm e 1,0% MC (177,0 12,7 ppm).

**Tabela 1.** Valores de adsorção em ppm para cada tipo de hidrogel indicado.

Hidrogel	$q_{eq}$ (ppm)	erro
6,0% AAm e 1,0% MC	238,5	6,4
9,0% AAm e 0% MC	196,5	7,8
9,0% AAm e 0,5% MC	207,5	12,0
9,0% AAm e 1,0% MC	229,0	4,2
12,0% AAm e 1,0% MC	177,0	12,7

Os resultados de liberação foram obtidos por meio de curvas de % de nutriente liberado vs t. A Figura 2 mostra a adsorção de nutriente em função da concentração de MC, mantendo-se a concentração de AAm fixa em 9,0%. A Figura 3 mostra a adsorção de nutriente em relação à concentração de AAm, mantendo-se a concentração de MC fixa em 1,0%. Pode-se observar analisando as figuras que tanto a concentração de AAm e a concentração de MC influenciam no processo de liberação controlada do nutriente. Os hidrogéis que tiveram uma menor adsorção do nutriente apresentaram uma maior taxa de liberação: cerca de 99% ou 194,5 ppm para o hidrogel 9,0% AAm; 87% ou 154,0 ppm para o hidrogel 12,0% AAm e 1,0% MC. Já os hidrogéis que apresentaram maior afinidade com o nutriente não o liberaram completamente, cerca de 44% ou 103,6 ppm para o hidrogel 6,0% AAm e 1,0% MC e 51% ou 116,8ppm para o hidrogel 9,0% AAm e 1,0% MC.

Os testes de liberação do nutriente mostram exatamente comportamento antagônico aos testes de adsorção, ou seja, quanto maior a adsorção do hidrogel, menor é sua liberação. Quando se aumenta a concentração de MC o hidrogel diminui significativamente sua capacidade de liberar o nutriente, e isto pode estar relacionado à presença de grupamentos  $\text{OH}^-$  provenientes da MC, tais grupamentos interagem com os íons positivos  $\text{K}^+$  do nutriente dificultando sua saída do hidrogel para a solução. O hidrogel constituído somente por PAAm apresentou uma maior taxa de liberação devido a

pouca interação entre os grupamentos amida com os cátions do nutriente, isto explica o fato dos hidrogéis que adsorvem mais nutrientes liberam de maneira menos eficaz.

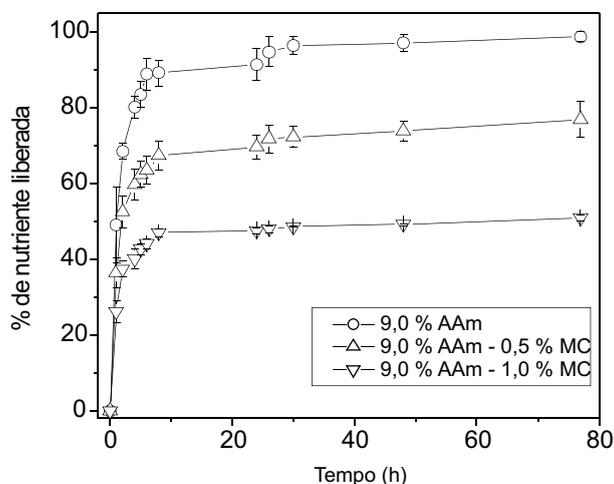


Fig. 2. Cinética de liberação para hidrogéis com diferentes concentrações de MC.

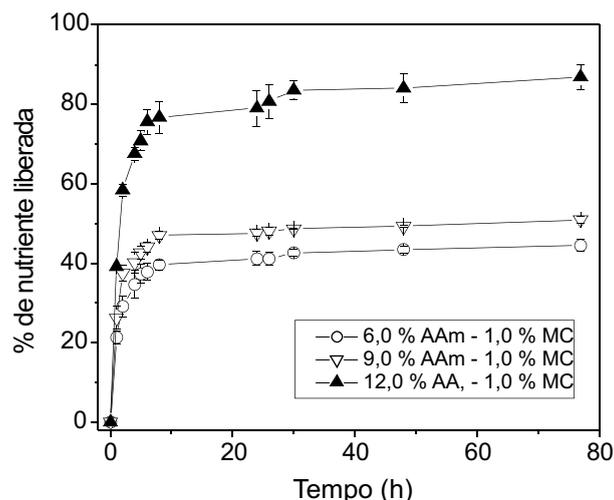


Fig. 3. Cinética de liberação para hidrogéis com diferentes concentrações de AAm.

## Conclusões

Por medidas de condutividade foi possível quantificar a adsorção e liberação do nutriente a partir dos hidrogéis em meio aquoso.

A presença do polissacarídeo biodegradável metilcelulose no hidrogel garantiu uma maior adsorção do fertilizante, devido a forte interação entre as hidroxilas e cátions do nutriente, sendo assim o processo de liberação dificultado. Hidrogéis compostos apenas por poliácridamida, embora tenham apresentado uma menor adsorção, foram os que liberaram maior quantidade de fertilizante,

aproximadamente, que se atribui a fraca interação entre os cátions do nutriente e os grupamentos amida.

Os resultados mostraram-se bastante promissores, pois os hidrogéis podem ser tanto usados como veículos carregadores para liberação controlada de insumos ou como materiais capazes de remover parte de insumos ou pesticidas indesejáveis.

## Agradecimentos

CNPQ, FIPAI, EMBRAPA, FINEP/MCT.

## Referências

- BODUGOZ-SENTURK, H.; MACIAS, C. E.; KUNG, J. H.; MURATOGLU, O. K. **Biomaterials**, Surrey, v. 30, n. 4, p. 589-596, 2009.  
 REDDY, S. M.; SINHA, V. R.; REDDY, D. S. **Drug Today**, [S.l.], v. 35, n. 7, p. 537-580, 1999.  
 SINGH, B.; CHAUHAN, N. **Food Hydrocolloid**, [S.l.], v. 23, n. 3, p. 928-935, 2009.



## NANOFIBRAS DE OBTIDAS DIRETAMENTE DA FIBRA DE CURAUÁ VIA HIDRÓLISE ÁCIDA

Ana Carolina Corrêa<sup>1,2</sup>, Eliangela de Moraes Teixeira<sup>2</sup>, Luiz Antonio Pessan<sup>1</sup>, Luiz Henrique Capparelli Mattoso<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>PPG-CEM – Depto. Eng. de Materiais - UFSCar, 13560-905, São Carlos-SP

<sup>2</sup>Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação Agropecuária, 13560-970 - São Carlos-SP \*mattoso@cnpdia.embrapa.br

Projeto Componente: PC4

Plano de Ação: 01.05.1.01.04.04

### Resumo

O curauá é uma planta da região amazônica cujas fibras vêm sendo utilizadas pela indústria na preparação de compósitos poliméricos, devido às melhorias nas propriedades do polímero. Neste trabalho, a partir de fibras de curauá, sem qualquer tratamento prévio, obtiveram-se nanofibras de celulose em suspensões aquosas, que foram caracterizadas morfológicamente por MET e MFA, e se mostraram com formato acicular. As suspensões foram secas por liofilização e caracterizadas por DRX, apresentando altos índices de cristalinidade, e por TG, onde se observou nanofibras com menor estabilidade térmica que a fibra original para nanofibras extraídas via H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e maior para aquelas extraídas com mistura de ácidos e HCl.

**Palavras-chave:** curauá, nanofibras, celulose.

### Introdução

Curauá (*Ananas erectifolius*) é uma planta da região amazônica. Suas folhas são rígidas, eretas e com faces planas, podendo chegar a 1,5 m de comprimento e 5 cm de largura<sup>[1-3]</sup>. As fibras são extraídas das folhas e são relativamente macias e com elevada resistência mecânica. As fibras de curauá eram utilizadas pelos índios da região amazônica para fazer redes de dormir, cordas e linhas de pesca (SILVA, 2008; FROLLINI, 2000; PÄÄKO, 2007 ; TOMCZAK, 2007). Atualmente vem crescendo o interesse da indústria, em compósitos poliméricos com fibras de curauá, visto que para algumas matrizes, a incorporação dessas fibras melhora as propriedades dos compósitos a níveis de compósitos com fibras de vidro.

Nanofibras de celulose podem ser obtidas por hidrólise ácida, onde as regiões amorfas ao redor e entre as microfibrilas são solubilizadas, mas mantém os cristalitos intactos, resultando numa hidrólise

seletiva, levando à formação de cristais de celulose nanométricos, geralmente em suspensões coloidais (SILVA, 2009).

Neste trabalho, o objetivo foi a obtenção de nanofibras de celulose a partir do Curauá, sem a realização de pré-tratamentos químicos na fibra, e caracterizações morfológicas, térmicas e físicas das nanofibras, seja a partir de suspensões aquosas ou das nanofibras já secas.

### Materiais e métodos

As fibras de curauá fornecidas pela Embrapa Amazônia Ocidental (Belém-PA), foram moídas em um moinho de facas (Solab) até obterem um tamanho médio de 2 mm. As fibras foram secas em estufa de circulação de ar a 100 °C por 24 h e pesadas. A extração das fibras de curauá foi feita por hidrólise ácida, utilizando-se três tipos de ácidos, ácido sulfúrico 60% (v/v), ácido clorídrico 37,5% (v/v) e uma mistura H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>:HCl (1:1 mol). As

extrações foram feitas a 45°C por 75 min sob agitação mecânica vigorosa. As suspensões foram submetidas a centrifugações sucessivas, e levadas à diálise até atingirem a neutralidade. O rendimento foi determinado por diferença de massa após a secagem de uma alíquota de 10 mL da suspensão.

Uma porção da suspensão foi reservada para as caracterizações morfológicas e o restante foi seco por liofilização.

As nanofibras de foram analisadas em um microscópio eletrônico Tecnai™ G2 F20, no modo STEM, em campo claro. As amostras foram preparadas a partir das suspensões diluídas e sonicadas (Branson 450) por 2 min e em seguida depositada sobre um grid (400 mesh), e imerso em uma solução 1,5% de acetato de uranila. A MFA foi realizada no microscópio Dimension V (Veeco). As imagens foram obtidas no modo “tapping” a 1 Hz, (agulhas de Si, raio 15 nm e ângulo de 12°, nominal). Uma alíquota da suspensão, diluída e sonicada por 5 minutos, foi espalhada em um substrato de vidro óptico e seca por 24h.

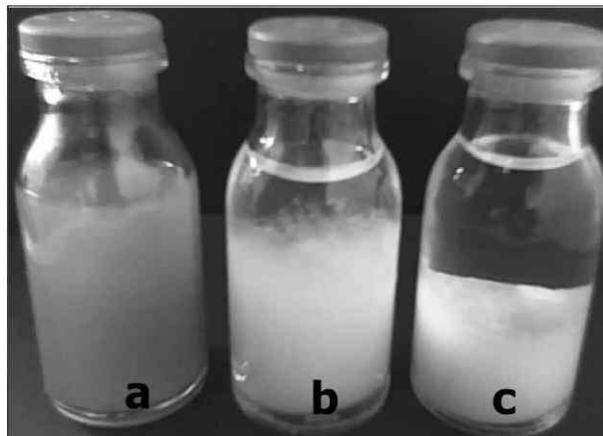
Os difratogramas de raios x das fibras e nanofibras de Curauá, foram obtidos pelo difratômetro Rigaku, operando com 50 kV, 100 mA e radiação de CuK $\alpha$  ( $\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$ ). Os ensaios foram realizados a 25°C e com ângulos  $2\theta$  entre 5 e 40° ( $2^\circ \cdot \text{min}^{-1}$ ). Os índices de cristalinidade das fibras e nanofibras ( $I_c$ ) foram calculados utilizando-se a equação  $I_{cr} = [1 - (I_a/I_c)] \times 100$ , onde  $I_a$  é a altura referente à fase amorfa ( $2\theta \sim 18^\circ$ ) e  $I_c$  corresponde à altura referente à fase cristalina ( $2\theta \sim 22^\circ$ ) em relação à linha base. A estabilidade térmica foi avaliada por um equipamento da TA Instruments (TGA Q500 V6.3 build 189), sob as condições: 10°C.min $^{-1}$ , ar sintético, 60 ml.min $^{-1}$ .

## Resultados e discussão

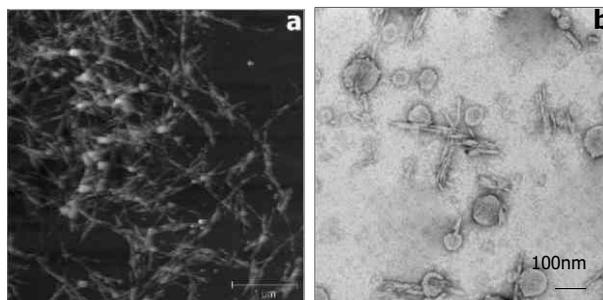
A suspensão de nanofibras obtida a partir de H $_2$ SO $_4$  apresentou-se estável, ou seja, não decantou nem apresentou precipitados, como mostra a Figura 1a e com rendimento de 30%. Já as suspensões de nanofibras obtidas a partir da mistura de ácidos e por HCl apresentaram decantação das nanofibras, maior para as de HCl que para a mistura. A suspensão de nanofibras obtida com mistura de ácidos apresentou um rendimento de 96% (Fig. 1b) e a obtida com HCl 95% (Fig. 1c), rendimentos muito superiores aos encontrados na literatura.

A morfologia das nanofibras de curauá (Fig. 2) pôde ser observada usando MET e MFA, onde nota-se algumas nanofibras individualizadas, revelando o formato agulhado das mesmas. Determinaram-se seus respectivos parâmetros geométricos de comprimento (L) e diâmetro (D) médio através de várias medidas utilizando-se o programa “Image Pro-Plus”. Avaliando-se a imagem de MET os valores médios encontrados para estes parâmetros foram: L = 80  $\pm$  30 nm e D = 6  $\pm$  2 nm,

obtendo-se o valor médio de 13 para a razão de aspecto (L/D). Avaliando-se as imagens de MFA, nota-se um estado de agregação maior o que dificulta a determinação exata das dimensões. Os valores médios obtidos para diâmetro foram 30  $\pm$  9 nm, e para comprimento 216  $\pm$  74 nm, os quais foram bem maiores que os valores obtidos por MET. Dessa forma, pode-se afirmar que a técnica de microscopia por MFA fornece uma boa resolução das imagens, mas há uma sobre estimativa dos valores de diâmetro e comprimento, devido a efeitos de alargamento da agulha sobre a amostra.



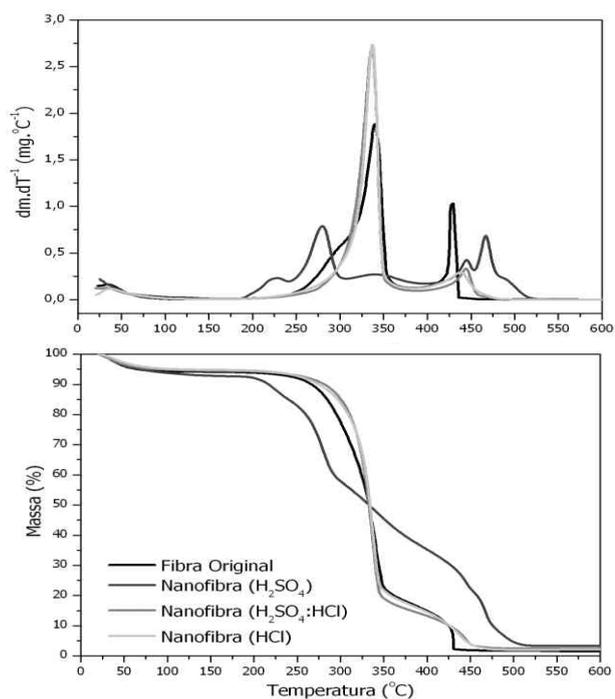
**Fig. 1.** Nanofibras de curauá: suspensões aquosas (a) extração com H $_2$ SO $_4$ , (b) extração com mistura de ácidos e (c) extração com HCl



**Fig. 2.** Imagens obtidas por MFA e MET das nanofibras de curauá extraídas com H $_2$ SO $_4$

Avaliando-se as propriedades das nanofibras secas, pode-se observar na Figura 3 o perfil de decomposição térmica das fibras e nanofibras de curauá pela análise termogravimétrica em atmosfera de ar sintético. Na curva TG para a fibra, podem ser observados três eventos de perda de massa: o primeiro, próximo a 80°C, há uma perda de massa de aproximadamente 5%, relativo à evaporação da água e de componentes de baixo peso molecular das fibras (LEÃO, 2000; TRINDADE, 2005). Entre 80 e 240°C, a fibra se mantém estável e entre 250 e 350°C, ocorre o segundo evento de perda de massa, provavelmente devido à degradação majoritária de celulose. Acima de 350°C, ocorre o terceiro evento de perda de massa, atribuído à degradação da lignina,

oxidação e quebra do resíduo da degradação da celulose em produtos de baixo peso molecular.



**Fig. 3.** Curvas TG da fibra de curauá e das nanofibras obtidas por diferentes hidrólises. 10°C min<sup>-1</sup>, ar sintético 60mL min<sup>-1</sup>.

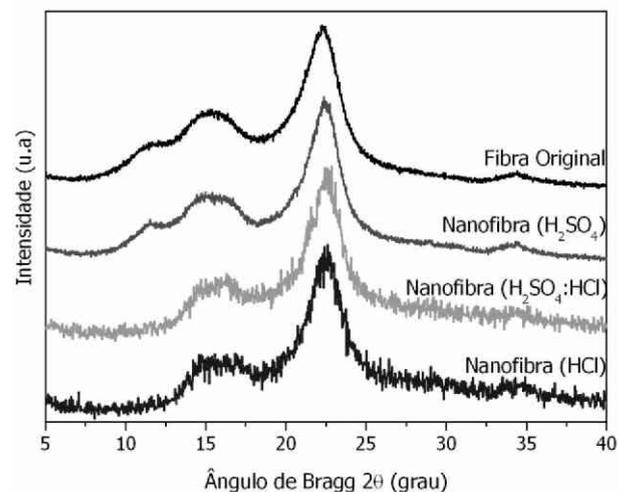
No comportamento de estabilidade térmica das nanofibras, ocorrem praticamente os mesmos decaimentos de massa que para a fibra original, mas a partir de 180°C, há uma queda intensa de massa para a nanofibra extraída com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, e próximo dos 280°C para as demais, mostrando que os grupos sulfatos presentes na superfície das nanofibras extraídas com este ácido catalisa a degradação termo-oxidativa, ou seja, contribui para que esta se inicie antes das nanofibras extraídas com HCl e mistura de ácidos. A Tabela 1 apresenta os dados de temperatura de onset de degradação térmica da fibra original e tratada e das nanofibras de curauá.

**Tabela 1.** Temperatura de “onset” de degradação térmica (T<sub>onset</sub>) por TG em atmosfera de ar sintético e Índice de Cristalinidade (I<sub>c</sub>) por difração de raios x da fibra de curauá original e nanofibras

Amostra	T <sub>onset</sub> (°C)	I <sub>c</sub> (%)
Fibra original	207	73
Nanofibra (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	206	79
Nanofibra (mist. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> :HCl)	307	79
Nanofibra (HCl)	308	77

O índice de cristalinidade das fibras e nanofibras foi avaliado por DRX. Sabe-se que, o processo de obtenção de nanoestruturas de celulose via hidrólise ácida resulta em materiais de alta cristalinidade (DONG et al., 1998). E como pode

ser observado na Tabela 1, houve um aumento no índice de cristalinidade relativo à fibra original, visto que a hidrólise ácida tende a remover a porção amorfa das fibrilas. A Figura 4 mostra o perfil dos difratogramas de DRX das fibras e nanofibras obtidas nas referidas condições.



**Fig. 4.** Difratogramas de Raios-x das fibras e nanofibras de curauá

Pode-se observar o perfil típico de celulose tipo I para a fibra de curauá original e para as nanofibras, se tratando, portanto de nanocristais de celulose de mesma estrutura cristalina que a fibra original. (LI et al., 2009).

## Conclusões

Foi possível a obtenção de nanofibras de celulose a partir de fibras de curauá sem pré-tratamentos antes da extração via hidrólise ácida, obtendo-se nanoestruturas agulhadas, com alto grau de cristalinidade em relação à fibra original de curauá e excelente estabilidade térmica, para nanofibras extraídas com HCl e mistura de ácidos.

## Agradecimentos

CNPq, FINEP/MCT, Embrapa Amazônia Ocidental e CNPDIA.

## Referências

LEÃO, A. L.; CARASCHI, J. C.; TAN, I. H. Curaua fiber: A tropical natural fibers from amazon potencial and applications in composites. In: FROLLINI, E.; LEÃO, A. L.; MATTOSO, L. H.C. **Natural Polymers and Agrofibers Based Composites**. São Carlos: IQSCUSP/UNESP/Embrapa Instrumentação Agropecuária, 2000. p. 257-272.

SILVA, R. V.; AQUINO, E. M. F. Curaua Fiber: A New Alternative to Polymeric Composites. **Journal of Reinforced Plastics and Composites**, Westport, v. 27, n. 1, p. 103-112, 2008.

PÄÄKO, M. et al. [Fibers]. **Biomacromolecules**, Washington, v. 8, p. 1934-1941, 2007.

TOMCZAK, F.; SATYANARAYANA, K. G.; SYDENSTRICKER, T. H. D. Studies on lignocellulosic fibers of Brazil: Part III – Morphology and properties of Brazilian curaua fibers. **Composites – Part A**, Kidlington, v. 38, p. 2227-2236, 2007.

SILVA, R.; HARAGUCHI, S. K.; MUNIZ, E. C. E RUBIRA, A. F. Aplicações de fibras lignocelulósicas na química de... **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 661-671, 2009.

DONG; X. M.; REVOL, J-F.; GRAY, D. G. Effect of microcrystallite preparation conditions on the formation of colloid crystals of cellulose

**Cellulose**, [S. l.], v. 5, n. 1, p. p. 19-32, 1998.

TRINDADE, W. G.; HOAREAU, W.; MEGIATTO, J. D.; RAZERA, I. A. T.; CASTELLAN, A.; FROLLINI, E. Thermoset phenolic matrices reinforced with unmodified and surface grafted furfuryl alcohol sugarcane bagasse and curaua fibers: properties of fibers and composites. **Biomacromolecules**, Washington, v. 6, p. 2485-2496, 2005.

Li, R.; Fei, J.; Cai, Y.; Li, Y.; Feng, J.; Yao, J. [Fibers]. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 76, p. 94-99, 2009.



---

## SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES FINOS NANOESTRUTURADOS DE TiO<sub>2</sub>:Ag E APLICAÇÃO NA FOTODEGRADAÇÃO DE CORANTES

---

**Andréa Renata Malagutti<sup>1</sup>, Henrique A. J. Loures Mourão<sup>1,2</sup>, José Roberto Garbin<sup>3</sup>, Caue Ribeiro<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup>Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação Agropecuária, 13560-970, São Carlos/SP \*caue@cnpdia.embrapa.br

<sup>2</sup>Depto. de Química - UFSCar, 13560-905, São Carlos/SP

<sup>3</sup>Natureza Ativa Indústria e Comércio de Fotoreator Ltda ME, NATV, São Carlos/SP

**Projeto Componente:** PC4

**Plano de Ação:** 01.05.1.01.04.04

---

### Resumo

Neste trabalho foram desenvolvidos filmes finos de TiO<sub>2</sub>:Ag com diferentes camadas. Os filmes foram sintetizados a partir de resinas preparadas pelo método dos precursores poliméricos e depositados sobre substratos de vidro utilizando a técnica de spin coating. Os filmes foram caracterizados por DRX, Raman e por AFM, e em seguida foram utilizados na degradação fotocatalítica do corante Rodamina B. Os resultados mostraram que o método de síntese foi importante para a formação da fase anatase e que a dopagem dos filmes de TiO<sub>2</sub> com Ag aumentou a eficiência fotocatalítica.

**Palavras-chave:** nanoestruturas, filmes finos, fotodegradação, corantes.

---

### Introdução

A oxidação fotocatalítica mediada por semicondutores tem sido aceita como um método promissor de descontaminação ambiental. Dentre os semicondutores utilizados, o TiO<sub>2</sub> na fase anatase é conhecido por ser um bom fotocatalisador devido à sua alta foto-sensibilidade, não-toxicidade, facilidade de obtenção, alto poder oxidante e estabilidade (FOX e DULAY, 1993). Na literatura, vários trabalhos têm surgido sobre o preparo de filmes finos de TiO<sub>2</sub> utilizando diferentes técnicas, e existem grandes variações nas propriedades dos filmes finos de TiO<sub>2</sub> produzidos por cada técnica. A obtenção da fase TiO<sub>2</sub> – anatase em escala nanométrica não é trivial e desta forma, metodologias de síntese capazes de controlar o tamanho de partícula final obtido são necessárias para desenvolvimento da fase (BOUDART e

DJEGA-MARIADASSON, 1981). Um dos métodos de se controlar o tamanho das partículas e também a contaminação superficial do TiO<sub>2</sub> obtidos por métodos de calcinação é o método dos precursores poliméricos (RONCONI et al., 2007). No entanto, um dos principais desafios na otimização de nanoestruturas de TiO<sub>2</sub> é o alto grau de recombinação do par elétron-buraco, que reduz significativamente a eficiência fotocatalítica. Esta diminuição da recombinação e conseqüente aumento da eficiência podem ser alcançados através da incorporação de metais nobres à estrutura do semicondutor SUBRAMANIAN et al., 2001; MALAGUTTI et al., 2009). Assim, este trabalho tem por objetivo a síntese e a caracterização de filmes nanoestruturados de TiO<sub>2</sub> dopados com Ag, com diferentes camadas, a partir de uma resina preparada pelo método dos precursores poliméricos e aplicação destes filmes na fotodegradação do corante rodamina B.

## Materiais e métodos

As resinas poliméricas de  $\text{TiO}_2$  foram obtidas pelo método dos precursores poliméricos. A uma solução de ácido cítrico, foi adicionado isopropóxido de titânio em uma razão molar ácido cítrico: isopropóxido de titânio igual a 3:1. Em seguida, adicionou-se etilenoglicol à solução. Foram obtidas resinas de Ag pelo mesmo método, utilizando procedimento similar a partir de  $\text{AgNO}_3$  como precursor. As resinas de  $\text{TiO}_2$  e de Ag foram então misturadas nas proporções adequadas para obter o filme de  $\text{TiO}_2$  dopado com 1% de Ag. A deposição da resina sobre substratos de vidro previamente limpos, foi realizada utilizando a técnica de *spin coating*. A deposição dos filmes foi realizada em duas etapas, sendo a primeira consistindo de uma velocidade de rotação de 1000 rpm durante 10 s com uma aceleração de  $15 \text{ rpm/s}^2$  e a segunda com uma velocidade de rotação de 5000 rpm durante 40 s e com a mesma aceleração utilizada na primeira etapa. Os filmes finos foram submetidos a um tratamento térmico em forno elétrico convencional a  $300^\circ\text{C}$  por duas horas para promover a pirólise da resina, resultando num filme amorfo, e posteriormente foi cristalizado em um tratamento térmico a  $450^\circ\text{C}$  para formar o filme nanométrico. A caracterização dos filmes foi realizada por Espectroscopia Raman utilizando um equipamento FT Raman (Bruker RFS 100/S) usando a linha em  $1064 \text{ nm}$  de um laser YAG, com uma potencia do laser de  $450 \text{ W}$  e foram feitas 200 scans para cada medida, à temperatura ambiente. Para as medidas de Difração de raios-X (DRX) foi utilizado um aparelho Rigaku (modelo Dmax 2500 PC), com anodo de cobre emitindo radiação com comprimento de onda  $\lambda_{\text{CuK}} = 1,54 \text{ \AA}$ . A morfologia dos filmes foi observada por Microscopia de Força Atômica (AFM) utilizando um equipamento Veeco NanoMan - MFA DIGITAL - Nanoscope IIIA. A atividade fotocatalítica dos filmes foi investigada para a oxidação do corante Rodamina B diluído em água e sob irradiação UV. Os filmes finos de diferentes camadas preparados nos substratos de vidro foram colocados em béqueres contendo  $20,0 \text{ mL}$  de uma solução aquosa de Rodamina B ( $2,5 \text{ mg/L}$ ). Estes béqueres foram então colocados em um foto-reator com temperatura controlada a  $25^\circ\text{C}$  e a irradiação foi realizada com a utilização de 4 lâmpadas UV de  $15 \text{ W}$ . A oxidação fotocatalítica da Rodamina B foi monitorada por medidas de UV-Vis (Espectrofotômetro Shimadzu - UV-1601 PC) para diferentes tempos de exposição à irradiação.

## Resultados e discussão

A Figura 1 apresenta os deslocamentos Raman para o suporte de vidro (a), filme de Ag (b), filme de  $\text{TiO}_2$  puro (c) e  $\text{TiO}_2:1\% \text{ Ag}$  (d), em suporte de vidro. A fase  $\text{TiO}_2$ -anatase pode ser identificada

utilizando Espectroscopia Raman pelas bandas  $144$  (mais forte),  $399$ ,  $515$  e  $639 \text{ cm}^{-1}$ , (ZHANG et al., 2006). De acordo com a Figura 1, foi possível observar somente a banda em  $144 \text{ cm}^{-1}$  devido à fase anatase, pois o espectro Raman para o filme de  $\text{TiO}_2$  puro e o  $\text{TiO}_2 : 1\% \text{ Ag}$  apresentou ampliação considerável nesta região em relação ao suporte de vidro e o filme de Ag puro.

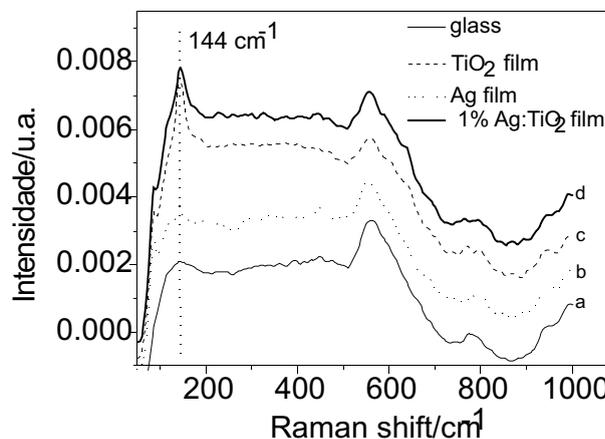


Fig. 1. Espectros Raman para os filmes com 4 camadas de Ag,  $\text{TiO}_2$  e  $\text{TiO}_2: 1\% \text{ Ag}$

Foram feitas também análises de DRX para os pós das resinas utilizadas para preparação dos filmes, calcinando-as nas mesmas condições utilizadas para a preparação dos filmes. Foi possível observar a presença de rutilo nos pós do  $\text{TiO}_2$ , embora em menor quantidade em relação à anatase. A dopagem com Ag favoreceu a estabilização da fase anatase, pois os picos relativos à fase rutilo praticamente desaparecem para as amostras de  $\text{TiO}_2:1\% \text{ Ag}$ , como demonstrado na Figura 2. Para o pó de Ag, foi observada somente a presença de Ag metálico.

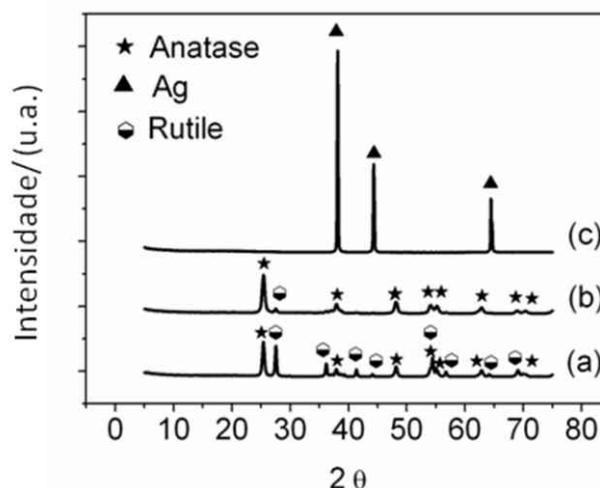
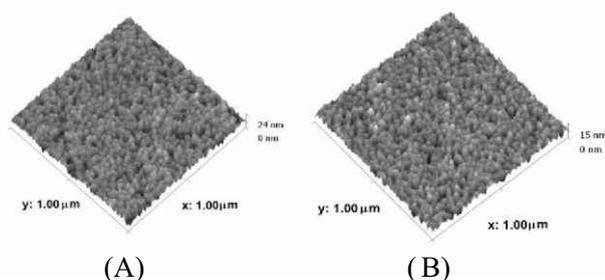


Fig. 2. DRX obtidos para as amostras em pó de (a)  $\text{TiO}_2$  puro; (b)  $\text{TiO}_2:1,0\% \text{ Ag}$  e (c) Ag puro.



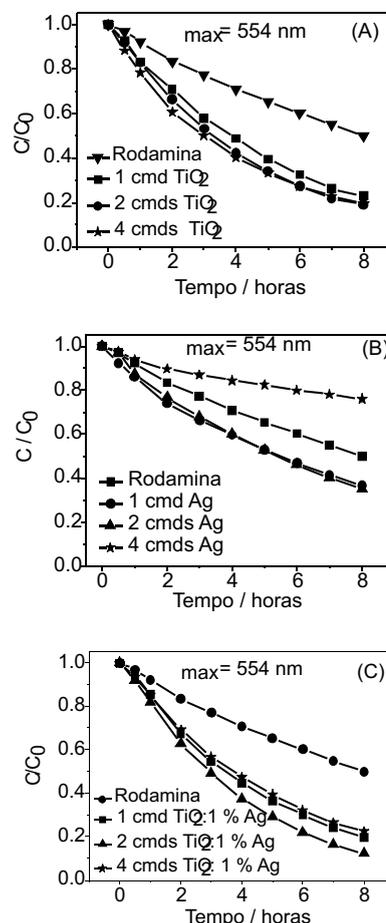
**Fig. 3.** Imagens de AFM mostrando as superfícies dos filmes com 4 camadas de TiO<sub>2</sub>: (A) e de TiO<sub>2</sub>: 1% Ag: (B).

**Tabela 1.** Rugosidades dos filmes de TiO<sub>2</sub>, Ag e TiO<sub>2</sub>:1 % Ag com diferentes camadas.

Filmes	Rugosidade (nm)		
	TiO <sub>2</sub>	Ag	TiO <sub>2</sub> :1% Ag
1 cmd	1,70	0,79	1,88
2 cmds	1,69	0,71	1,73
4 cmds	2,23	1,79	1,63

O efeito da espessura dos filmes e a dopagem do TiO<sub>2</sub> com Ag foram estudados para ver como estes parâmetros afetam a eficiência fotocatalítica dos filmes sintetizados. A Figura 4 mostra os ensaios de fotodegradação para a solução de Rodamina B utilizando os filmes de TiO<sub>2</sub>; de Ag e de TiO<sub>2</sub>:1% Ag, com diferentes números de camada. Como pode ser observado na Figura 4 A para o filme de TiO<sub>2</sub> puro, a eficiência na degradação da Rodamina B aumentou quando se utilizou um filme com um maior do número de camadas, pois quando a espessura do filme é maior, o percurso dos elétrons até voltar à superfície do semiconductor aumenta e então o processo de recombinação torna-se mais lento, ocasionando um aumento da eficiência fotocatalítica. Para camadas muito finas este efeito é bastante rápido devido à pequena distância que o elétron percorre até recombinar com o buraco, resultando em uma menor eficiência. Na Figura 4 B, podemos verificar que ocorreu um aumento na eficiência de fotodegradação para o filme de Ag com 1 e 2 camadas, no entanto, o filme de 4 camadas não foi eficiente para a fotodegradação. Neste caso, os resultados sugerem que o filme é uma mistura de Ag e Ag<sub>2</sub>O, sendo que provavelmente na superfície do filme existe mais óxido, em função do método de calcinação adotado. Quanto mais espesso o filme, maior é a interferência do óxido no processo fotocatalítico, pois a maior parte da radiação incidente será utilizada para reduzir o óxido a metal do que para oxidar a Rodamina B. Os resultados da

Figura 4 C mostram que com a utilização do filme de TiO<sub>2</sub>:1% Ag, ocorreu um aumento da eficiência de fotodegradação em relação à Rodamina sem o uso de catalisador. Como pode ser verificado, o filme de 2 camadas de TiO<sub>2</sub>:1% Ag mostrou uma maior eficiência fotocatalítica quando comparado com os filmes de 1 e 4 camadas.



**Fig. 4.** Perfil de degradação da solução de Rodamina B utilizando filmes de diferentes camadas de: (A) TiO<sub>2</sub>; (B) Ag e (C) TiO<sub>2</sub>:1% Ag depositados sobre vidro.

## Conclusões

Pode-se concluir que a síntese de filmes de TiO<sub>2</sub> nanoestruturados utilizando resinas preparadas pelo método dos precursores poliméricos foi importante para a formação da fase anatase. Além disto, a dopagem dos filmes de TiO<sub>2</sub> com Ag aumentou a eficiência fotocatalítica. O estudo com diferentes camadas de filmes depositados sobre suporte de vidro mostrou que para o TiO<sub>2</sub> puro, o aumento da espessura da camada é o único responsável pela maior atividade fotocatalítica. Para o caso do filme de TiO<sub>2</sub>:1% Ag, a diminuição da

recombinação com conseqüente aumento da eficiência catalítica estão relacionados com a existência de dois efeitos associados que são a transferência de elétrons entre o TiO<sub>2</sub> e Ag e o efeito do aumento na espessura da camada.

CNPq, FAPESP, EMBRAPA, FINEP/MCT.

FOX, M. A.; DULAY, M.T. **Chem. Rev.**, Washington, v. 93, p. 341, 1993.  
BOUDART, M.; DJEGA-MARIADASSON, G. Princeton: Princeton University Press, 1981.  
RONCONI, C. M.; RIBEIRO, C.; BULHÕES, L. O. S.; PEREIRA, E. C. **Journal of Alloys and Compounds**, Lausanne, v. 466, p. 435, 2008.  
SUBRAMANIAN, V.; WOLF, E.; KAMAT, P. V. **J. Phys. Chem. B.**, Washington, v. 105, p. 11439, 2001.  
MALAGUTTI, A. R.; MOURÃO, H. A. J. L.; GARBIN, J. R.; RIBEIRO, C. **Appl. Catal. B: Environ.**, Amsterdam, v. 90, p. 205, 2009.  
ZHANG, J.; LI, M.; FENG, Z.; CHEN, J.; LI, C. **J. Phys. Chem. B.**, Washington, v. 110, p. 927, 2006.



---

## NANOFIBRAS CELULÓSICAS COLORIDAS

---

Eliangela de Moraes Teixeira<sup>1</sup>, Kelcilene Bruna Ricardo Teodoro<sup>1,2</sup>, Thalita Jéssika Bondancia<sup>1,2</sup>, Ana Carolina Corrêa<sup>1,3</sup>, Luiz Henrique Capparelli Mattoso<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação Agropecuária, 13560-970, São Carlos/SP \*mattoso@cnpdia.embrapa.br

<sup>2</sup>Depto. de Química - UFSCar, 13560-905, São Carlos/SP

<sup>3</sup>Depto. de Engenharia de Materiais -UFSCar, 13565-905, São Carlos/SP

**Projeto Componente:** PC4

**Plano de Ação:** 01.05.1.01.04.04

---

### Resumo

Nanofibras de algodão branco e colorido (verde, marrom e rubi) foram obtidas via hidrólise ácida das fibras. Morfologia, cristalinidade e estabilidade térmica destas foram investigadas por microscopia eletrônica de transmissão, difração de raios-X e termogravimetria. As nanofibras apresentaram alta cristalinidade e forma agulhada características dos chamados “whiskers” de celulose. As dimensões variaram de 85-225 nm de comprimento e 6-18 nm de diâmetro. Nanofibras coloridas apresentaram alta cristalinidade relativa à fibra de origem e similar estabilidade térmica entre elas.

**Palavras-chave:** algodão colorido, nanofibras coloridas de celulose.

---

### Introdução

---

Suspensões aquosas de monocristais de celulose podem ser preparadas por hidrólise ácida gerando-se partículas coloidais denominadas de nanofibras de celulose de alta cristalinidade. Estas podem se apresentar com aspecto físico de finas hastes agulhadas de dimensões nanométricas com alta razão comprimento/diâmetro. São empregadas como reforço para matrizes poliméricas e os nanocompósitos resultantes geralmente apresentam propriedades superiores de estabilidade térmica, resistência mecânica e de permeação de líquidos e gases, mesmo presentes em baixa concentração (DUFRESNE, 2006). Entre outros pontos relevantes que estimulam o seu emprego destacam seu caráter biodegradável, baixo custo e o fato de serem obtidos a partir de fontes naturais renováveis altamente abundantes. Fibras de algodão constituem uma opção bastante interessante quanto ao seu uso para obtenção destas nanofibras, visto que, seu teor de celulose é superior em relação às fibras lignocelulósicas, o que evita o processo

intermediário de branqueamento para remoção de outros constituintes não celulósicos. Neste estudo, investigou a possibilidade de obtenção de nanofibras coloridas, oriundas de fibras de algodão naturalmente colorido, desenvolvidas a partir de melhoramento genético realizados por pesquisadores da Embrapa Algodão/PB. Caracterizações morfológicas, estruturais e estabilidade térmica foram avaliadas. Aplicações futuras de tais nano-materiais direcionam-se à obtenção de nanocompósitos empregando-se matrizes poliméricas biodegradáveis.

### Materiais e métodos

---

A extração das nanofibras de foi feita por hidrólise. O ácido empregado foi H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (6,5 M, Synth) a 45°C e 75 minutos, sob vigorosa agitação. A suspensão resultante foi diluída com água gelada e foi submetida à centrifugação e diálise em água para a remoção do excesso de ácido (pH entre 6 e 7). Em seguida a esta foi sonificada por 5 minutos. Parte da

suspensão foi seca em estufa com circulação de ar, a 50°C por cerca de 12 hs.

A morfologia foi investigada por MET, empregando-se um microscópio Tecnai™ G2 F20, por deposição de uma alíquota diluída da suspensão em grade de cobre, e corada com solução de acetato de uranila 1,5%.

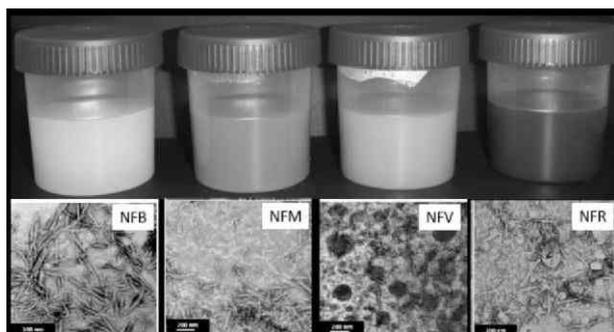
Os difratogramas de R-x foram obtidos para as fibras originais e para as suas respectivas nanofibras. Os ensaios foram realizados a temperatura ambiente e no intervalo de ângulos 2 de 5 a 40°. O aparelho utilizado foi um difratômetro Universal de raios-X, Carl-Zeiss-Jena, modelo URD6 a uma velocidade de 1,2°/min operando a uma potência de 40 KV/20 mA e radiação de CuK ( = 1.5406Å). O índice de cristalinidade das fibras e nanofibras (I<sub>c</sub>) foram calculados utilizando-se a

equação:  $I_c = 1 - \frac{I_1}{I_2} \times 100\%$  onde I<sub>1</sub> corresponde à

altura referente à fase amorfa (2 ~ 18°) e I<sub>2</sub> corresponde à altura referente à fase cristalina (2 ~ 22°) em relação à linha base. A temperatura de decomposição térmica das fibras foi avaliada empregando-se termogravimetria utilizando-se um equipamento da TA Q500 (TA Instruments) nas condições: massa: 11,00 0,50 mg; atmosfera: ar sintético; fluxo 60 mL min<sup>-1</sup>; razão de aquecimento: 10°C min<sup>-1</sup>; intervalo de temperatura: 25°C a 900°C e porta amostra de platina.

## Resultados e discussão

A Figura 1 mostra as suspensões de nanofibras resultantes e as suas respectivas micrografias de MET.



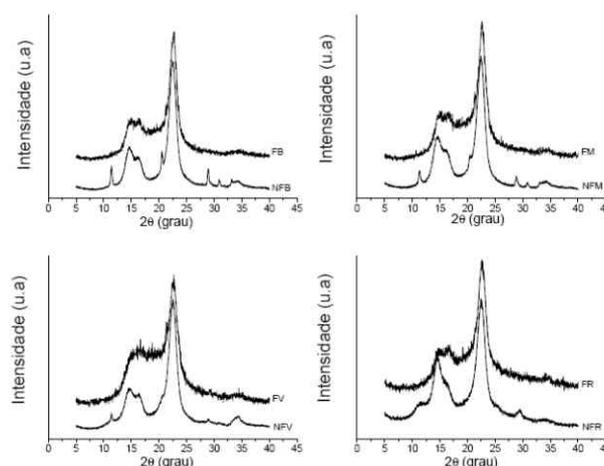
**Fig. 1.** Suspensões de nanofibras de algodão (acima) e suas respectivas micrografias de MET: NFB -nanofibra branca; NFM - nanofibra marrom; NFV -nanofibra verde e NFR - nanofibra rubi.

Através da Figura 1 nota-se a alta estabilidade das suspensões indicando a presença de íons sulfatos na superfície das nanofibras e a eficácia da hidrólise. As nanofibras apresentaram a tendência em manter a coloração original da fibra e morfologia agulhada. As dimensões médias das nanofibras são apresentadas

**Tabela 1.** Valores de comprimento e diâmetro médio das diversas nanofibras obtidos por MET.

Amostra	Comprimento médio (nm)	Diâmetro médio (nm)
NFB	135 ± 40	14 ± 4
NFM	140 ± 45	11 ± 3
NFV	180 ± 45	13 ± 2
NFR	130 ± 25	10 ± 4

Os valores apresentados na Tabela 1 estão próximos aos já reportados na literatura para nanofibras de algodão microcristalino (DONG 1998; DUFRESNE, 2006). As dimensões foram bastante similares entre as nanofibras de diferentes cores. Os difratogramas de R-x das fibras originais e suas respectivas nanofibras são mostrados na Figura 2 e os valores de I<sub>c</sub> são dados na Tabela 2.



**Fig. 2.** Difratogramas de r-x das fibras de algodão (FB - fibra branca; FM - fibra marrom; FV- ibra verde; FR - fibra rubi) e suas respectivas nanofibras (NFB - nanofibra branca; NFM - nanofibra marrom; NFV- nanofibra verde e NFR - nanofibra rubi).

**Tabela 2.** Índice de cristalinidade (I<sub>c</sub>) das fibras e respectivas nanofibras.

Colaboração	Fibra I <sub>c</sub> (%)	Nanofibra I <sub>c</sub> (%)
Branca	77	91
Marrom	75	91
Verde	63	90
Rubi	77	87

Observa-se que o aumento da cristalinidade das nanofibras relativamente às fibras deu-se para todas as elas sendo que este aumento foi maior da FV para NFV cujo perfil do difratograma (Fig. 2) foi o mais modificado com a transição fibra-nanofibra.

Com relação à estabilidade térmica das nanofibras, conforme pode ser constatado através da Tabela 3, as mesmas foram mais susceptíveis a efeitos termo-oxidativos, degradando-se em temperaturas menores em relação às fibras de origem. Os grupos sulfatos introduzidos na superfície das nanofibras após a hidrólise, exercem efeito catalítico nas suas reações de degradação térmica. Desta forma, nanofibras de celulose obtidas via hidrólise com ácido sulfúrico degradam-se em temperaturas menores do que sua fibra de origem (ROMAN, 2004; WANG, 2007).

Independentemente da cor, a estabilidade térmica das nanofibras foi próxima e em torno de 200°C

**Tabela 3.** Temperatura inicial de degradação térmica ( $T_{id}$ ) em atmosfera de ar das fibras e nanofibras secas.

Colaboração	Fibra ( $T_{id}$ ) (°C)	Nanofibra ( $T_{id}$ ) (°C)
Branca	77	91
Marrom	75	91
Verde	63	90
Rubi	77	87

---

### Conclusões

---

Foi possível a obtenção de nanofibras coloridas a partir da hidrólise ácida de fibras de algodão naturalmente coloridas. As mesmas apresentaram dimensões nanométricas com dimensões de 85-225 nm de comprimento e 6-18 nm de diâmetro. As nanofibras apresentaram alta cristalinidade e, independentemente da cor, a estabilidade térmica das nanofibras foi similar e próxima de 200°C

---

### Agradecimentos

---

CNPQ, FINEP/MCT, CNPDIA, EMBRAPA ALGODÃO, FAPESP.

---

### Referências

---

DUFRESNE, A. Comparing the Mechanical Properties of High Performances Polymer Nanocomposites from Biological Sources. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, Stevenson, v. 6, n. 2, p. 322-330, 2006. DONG, X. M.; REVOL, J-F.; GRAY, D. G. Effect of microcrystallite preparation conditions on the formation of colloid crystals of cellulose **Cellulose**, [S. l.], v. 5, n. 1, p. 19-32, 1998.

ROMAN, M.; WINTER, W. T. Effect of Sulfate Groups from Sulfuric Acid Hydrolysis on the Thermal Degradation Behavior of Bacterial Cellulose. **Biomacromolecules**, Washington, v. 5, n. 5, p. 1671, 2004.

WANG, N.; DING, E.; CHENG, R. Thermal degradation behaviors of spherical cellulose nanocrystals with sulfate groups. **Polymer**, [S. l.], v. 48, n. 12, p. 3486-3493, 2007.



## ESTUDO DA MORFOLOGIA E INTERAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA COM O POLÍMERO POLIVINIL ÁLCOOL (PVA)

Elias Antonio Berni Neto<sup>1\*</sup>, Valtencir Zucolotto<sup>1</sup> e Caue Ribeiro<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Física de São Carlos - USP, 13566-590, São Carlos/SP \*eliasberni@gmail.com

<sup>2</sup>Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação Agropecuária, 13560-970, São Carlos/SP

Projeto Componente: PC4

Plano de Ação: 01..05.1.01.04.04

### Resumo

Neste presente trabalho, unimos o conhecimento da prata como agente bactericida com a nanotecnologia para o desenvolvimento futuro de embalagens bactericidas. Os nanocompósitos são constituídos polivinil álcool (PVA) como estabilizante e as nanopartículas de prata, reduzidas pela redução química, usando boro hidreto de sódio ( $\text{NaBH}_4$ ). Foram realizadas análises de UV-vis, FT IR, DLS e Potencial Zeta. Concluímos que por meio de uma rota simples de síntese foi possível a estabilização das nanopartículas de prata, possibilitando assim o seu futuro uso e embalagens.

**Palavras-chave:** Nanotecnologia, prata coloidal e síntese.

### Introdução

Motivada pelas exigências atuais do mercado nacional / internacional a agroindústria brasileira está sempre buscando melhorias na produtividade, qualidade e competitividade de seus produtos. Muitas vezes as mesmas ultrapassam as características do produto em si, englobando o processo de produção, no qual o impacto ambiental ganha cada vez mais importância. Concomitantemente, há grande preocupação quanto ao descarte das inúmeras embalagens existentes, referentes ao seu tempo de degradação e possível contaminação biológica, preocupação fundamental da indústria polimérica (PADULA et al., 2004). Paralelamente, também é de interesse o aumento do tempo de prateleira dos alimentos. Felizmente a nanotecnologia possibilita tais desenvolvimentos, por meio do uso de materiais biodegradáveis conjuntamente com materiais bactericidas, formando nanocompósitos dando novas características aos materiais.

Com esse intuito será realizada a modificação do polímero polivinil álcool (PVA) pela inserção de

nanopartículas de prata (AgNps). Dentre as áreas que as AgNps têm gerado grande interesse estão a catálise, nanoeletrônica e médica. Grande parte dos estudos referentes às AgNps ou também conhecidas como prata coloidal, estão relacionados ao seu efeito contra microorganismos patogênicos.

Nos microorganismos, as AgNps de 1 a 100 nm, podem ser encontradas tanto no interior como nas membranas, porém a interação com aglomerados de prata não é observada (MORONES et al., 2005). Grupos que possuem enxofre ou fósforo apresentam grande afinidade com AgNps, sendo encontrados tanto nas membranas como no interior das bactérias. Na membrana celular ela causa danos no processo de respiração celular e, no seu interior interage com o DNA impedindo a divisão celular (MORONES et al., 2005). Os íons de prata possuem ação diferentes das AgNps, caracterizado pelo desenvolvimento de uma região de baixo peso molecular no centro da bactéria, a qual se acredita que seja formada por proteínas produzidas pela bactéria a fim de complexar os íons de prata (GUGGENBICHLER, et al., 1999).

Na literatura existem diversos modos de síntese de AgNps, podendo citar *Bottom Up* (BU)

como *Top Down* (TD), tais como ablação a laser (TD), método de annealing (BU) e pela redução dos íons de prata (BU). O método de redução escolhido como rota neste trabalho, ocorre por meio de agentes redutores moderados como o ácido cítrico ( $C_6H_8O_7$ ) ou fortes como o boro hidreto de sódio ( $NaBH_4$ ), nesse caso, estabilizantes moleculares ou surfactantes tem o objetivo de estabilizar as nanopartículas em suspensão (KAMAT et al., 2002).

## Materiais e métodos

A rota de síntese deste trabalho contém o polímero polivinil álcool (PVA) como estabilizante polimérico. Sua síntese é obtida pela mistura de soluções de nitrato de prata ( $AgNO_3$ ), PVA, e por fim a adição de boro hidreto de sódio ( $NaBH_4$ ), com todos os reagentes sobre forte agitação, em temperatura ambiente. As concentrações do sal de prata e do agente redutor foram mantidas em 0,5 mM e 2,0 mM respectivamente, variando se apenas as concentrações do PVA, 10 mM e 20 mM. A equação que descreve a redução dos íons de prata por meio do agente redutor é:



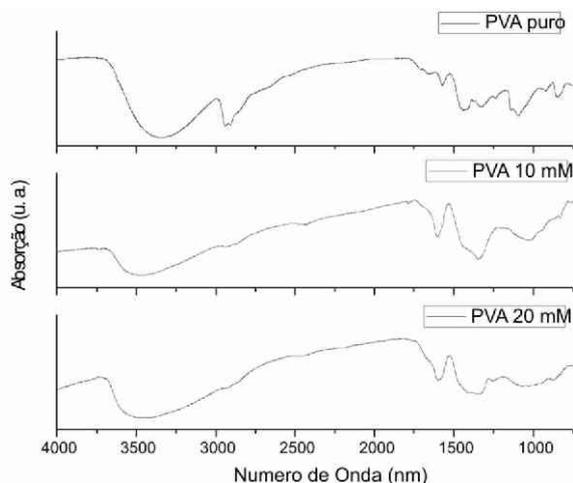
A caracterização foi feita por meio de espectroscopia no UV – Visível (equipamento Shimadzu UV-Vis) e no Infra Vermelho (equipamento FTIR Nicolet), espalhamento dinâmico da luz e medida do potencial Zeta das nanopartículas em suspensão (equipamento ZetaSizer Nano). A medida de espectroscopia no UV – Vis se baseia no fenômeno de ressonância da banda plasmônica, observado em nanopartículas metálicas.

## Resultados e discussão

Os espectros UV – vis de ambas as soluções são apresentados (não mostrado) apresentam o pico centrado por volta de 400 nm, característico de nanopartículas de prata com formato esférico.

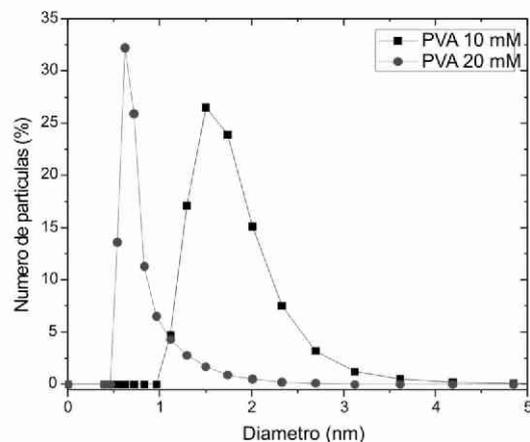
O estudo da interação das AgNps com o PVA foi realizado por meio da Espectroscopia no Infra Vermelho por Transformada de Fourier (FTIR), cujos espectros são mostrados na Figura 1. O PVA puro apresenta bandas bem definidas na faixa de  $3440\text{ cm}^{-1}$ , referente ao estiramento do grupo OH, e bandas na faixa de  $2900\text{ cm}^{-1}$  (alongamento anti-simétrico, e  $CH_2$  em  $2870\text{ cm}^{-1}$ , alongamento simétrico do  $CH_2$ ). A região entre  $550\text{ cm}^{-1}$  e  $750\text{ cm}^{-1}$  são correspondentes a assinatura de vibração fora do plano do grupo OH enquanto o pico em  $837\text{ cm}^{-1}$  é referente ao mesmo tipo de vibração, mas do grupo CH (MBHELE et al., 2003). O pico em  $1375\text{ cm}^{-1}$  é referente ao acoplamento entre os grupos OH e a banda em  $1420\text{ cm}^{-1}$  corresponde à vibração do CH. O deslocamento da banda de  $3440\text{ cm}^{-1}$  para valores de onda maiores, bem como o desaparecimento das

bandas na faixa de  $2900\text{ cm}^{-1}$ ,  $CH_2$ , e entre  $1500\text{ cm}^{-1}$  e  $750\text{ cm}^{-1}$  sugere a interação das partículas de prata com o grupo OH (MBHELE et al., 2003; KHANNA et al., 2005). O desaparecimento das assinaturas das vibrações referentes ao grupo CH é devido à interação OH/Ag, que inibe as mesmas.



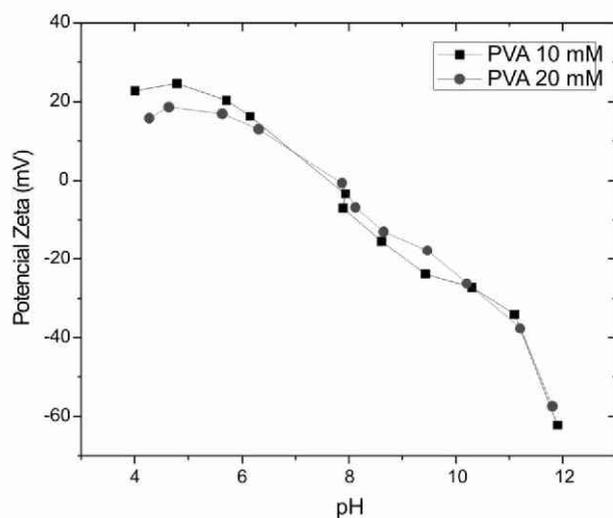
**Fig. 1.** Espectro de infra vermelho do PVA puro, e do nanocompósito com concentrações de 10 mM e 20 mM de PVA. O desaparecimento das bandas na região de  $550\text{ cm}^{-1}$  e  $750\text{ cm}^{-1}$  e o deslocamento demonstram a interação das nanopartículas de prata com o grupo OH do PVA.

A técnica de espalhamento de luz (DLS) foi utilizada para o estudo do tamanho das nanopartículas, Figura 2. O sistema com a maior concentração de PVA, 20 mM, apresentou partículas com diâmetro em torno de 0,62 nm. Já o sistema de menor concentração de PVA, 10 mM, apresentou partículas com tamanho de 1,5 nm de diâmetro. Tal diferença entre os tamanhos das partículas se deve a concentração do PVA. Com baixa concentração do estabilizante, as nanopartículas de prata estão mais livres para interagirem umas com as outras, possibilitando assim a formação de aglomerados.



**Fig. 2.** Tamanho das partículas obtido pela técnica de espalhamento dinâmico da luz, para as diferentes concentrações de PVA.

O potencial Zeta, Figura 3, mostrou que o ponto isoelétrico do nanocompósito não varia em relação à concentração do surfactante, PVA, presente nas amostras. Levando em consideração a estabilidade das amostras com relação ao potencial Zeta maior que 30 mV (em módulo), observa-se que os pHs mais adequados quanto à estabilidade são aqueles maiores que 10. Todavia, soluções com o pH levemente ácido, 6,0 à 6,8 apresentam também boa estabilidade, sendo que esta é a faixa de pH ideal para a maioria dos sistemas biológicos.



**Fig. 3.** Dependência do potencial Zeta em função do pH das duas amostras com a concentração de PVA de 10 mM e 20 mM.

## Conclusões

Por meio de uma rota simples de síntese foram obtidas nanopartículas de prata, nas quais o polivinil álcool (PVA) funcionou como estabilizante. A síntese das nanopartículas de prata foi confirmada por espectroscopia UV-vis., e análises de FTIR mostraram a interação das nanopartículas com os grupos OH do PVA. Os nanocompósitos mostraram-se estáveis para a faixa de pHs próximos de 7. Verificamos ainda que a estabilidade independe da concentração de PVA. Nanopartículas com tamanhos inferiores à 5 nm foram observadas nas duas concentrações de PVA utilizadas, entretanto, tamanhos maiores foram também observados para ambas as concentrações. O sistema com concentração de 20 mM de PVA apresentou uma distribuição do tamanhos menores de partículas.

## Agradecimentos

CNPQ, FINEP/MCT, EMBRAPA.

## Referências

- GUGGENBICHLER, J. P.; BOSWALD, M.; LUGAUER, S.; KRALL, T. A New Technology of Microdispersed Silver in Polyurethane Induces Antimicrobial Activity in Central Venous Catheters. **Infection**, Munchen, v. 27, supl. 1, p. S16-23, 1999.
- KAMAT, P. V. Photophysical, Photochemical and Photocatalytic Aspects of Metal Nanoparticles. **J. Phys. Chem. B**, Washington, v. 106, p. 7729-7744, 2002.
- KHANNA, P. K.; SINGH, N.; CHARAN, S.; SUBBARAO, V. V. V. S.; GOKHALE, R.; MULIK, U. P. Synthesis and characterization of Ag/PVA nanocomposite by chemical reduction method. **Materials Chemistry and Physics**, Lausanne, v. 93, p. 117-121, 2005.
- MBHELE, Z. H.; SALEMANE, M. G.; SITPERT, C. G. van; NEDELJKOVI, J. M.; DJOKOVI, V.; LUYT, A. S. Fabrication and Characterization of Silver-Polyvinyl Alcohol Nanocomposites. **Chem. Mater.**, Washington, v. 15, n. 26, p. 5019-5024, 2003.
- MORONES, J.; ELECHIGUERRA, J.; CAMACHO, A.; HOLT, K.; KOURI, J.; RAMIREZ, J.; YACAMAN, M. The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology*, Bristol, v. 16, p. 2346-2353, 2005.
- PADULA, M.; CUERVO, M. Legislação de embalagem para contato com alimentos: MERCOSUL e outros países Latinoamericanos. **Polímeros**, São Carlos, v. 14, n. 1, 2004.



## ESTABILIDADE DAS SUSPENSÕES DE NANOPARTICULAS DE QUITOSANA COM A INCORPORAÇÃO DE FERTILIZANTES TIPO NPK

Elisângela Corradini<sup>1,3\*</sup>, Márcia Regina de Moura<sup>2,3</sup>, Luiz H. C. Mattoso<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de São Carlos – Departamento de Engenharia de Materiais, São Carlos/SP

<sup>2</sup>Universidade Federal de São Carlos - Departamento de Química, São Carlos/SP

<sup>3</sup>Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa/CNPDia, São Carlos/SP-

\*elisangela@cnpdia.embrapa.br

Projeto Componente: PC4

Plano de Ação: 01.05.1.01.04.04

### Resumo

Nanopartículas de quitosana (QS-PMAA) foram sintetizadas a partir da polimerização do ácido metacrílico em solução de quitosana. As fontes de N, P e K utilizadas foram uréia, fosfato de cálcio e cloreto de potássio, respectivamente. As suspensões de QS-PMAA contendo N, P e K foram caracterizadas por tamanho de partícula e potencial zeta. A estabilidade da suspensão coloidal de QS-PMAA foi influenciada pela presença das espécies dissociadas provenientes uréia, cloreto de potássio e fosfato de cálcio. A estabilidade da suspensão coloidal de QS-PMAA foi maior com a adição de nitrogênio e potássio do que com adição de fósforo, devido a maior carga do ânion proveniente do fosfato de cálcio que as cargas dos ânions do cloreto de potássio e da uréia. O aumento máximo no diâmetro médio das nanopartículas de QS-PMAA foi maior com a adição do potássio, provavelmente devido ao menor volume das espécies provenientes do KCl que as espécies provenientes da uréia e do fosfato de cálcio.

**Palavras-chave:** Nanopartículas de quitosana, fertilizante NPK, potencial zeta.

### Introdução

A aplicação da tecnologia de nanopartículas e nanoencapsulação no setor agropecuário com finalidade de melhorar a eficiência funcional do fertilizante é muito promissora quando se considera que a liberação progressiva e controlada de nutrientes reduz o número de aplicações de tais materiais e conseqüentemente reduz custos e toxicidade. Além disso, o uso de polímeros naturais biodegradáveis para síntese de nanopartículas é de extrema necessidade para diminuição da poluição ambiental (WU e LIU, 2008; JAROSIEWICZ e TOMASZEWSKA, 2003).

Neste trabalho, nanopartículas de quitosana foram obtidas a partir da polimerização do ácido metacrílico e solução de quitosana. As fontes de N, P

e K utilizadas foram: uréia, fosfato de cálcio e cloreto de potássio, respectivamente. As suspensões de QS-PMAA contendo N, P e K foram caracterizadas por tamanho de partícula e potencial zeta.

### Materiais e métodos

Quitosana (QS) (MW= 71,3 kDa), grau de desacetilação 94%) foi fornecida pela Polymar Ciência e Nutrição S/A (Fortaleza). Persulfato de potássio ( $K_2S_2O_8$ ) foi fornecido pela Synth. Ácido metacrílico fornecido pela Aldrich. Fosfato de cálcio  $Ca(H_2PO_4)_2 \cdot H_2O$ , uréia  $CO(NH_2)_2$  e cloreto de potássio (KCl) foram fornecidos pela Synth.

Nanopartículas de quitosana-polimetacrílico (QS-PMAA) foram obtidas por polimerização do ácido metacrílico, de acordo com a metodologia

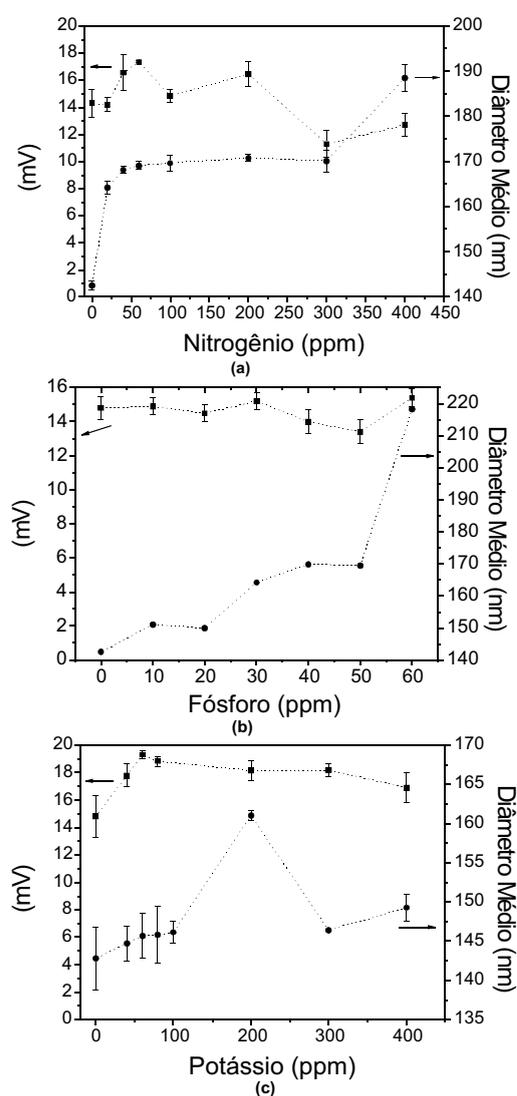
proposta por MOURA et al. (2008). Aproximadamente 0,20 g de quitosana foram dissolvidas em solução aquosa contendo 0,5 % (v/v) de ácido metacrílico (MAA). A solução de quitosana foi colocada em um balão de fundo redondo sob refluxo a 70 °C. Em seguida, foi adicionado persulfato de potássio, como iniciador da polimerização do ácido. Após uma hora de reação, o balão foi retirado do refluxo e colocado em banho de gelo.

As fontes de nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K) utilizadas foram uréia (NH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>), fosfato de cálcio Ca(H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>.H<sub>2</sub>O, e cloreto de potássio (KCl), respectivamente. Essas substâncias são utilizadas comumente em fertilizantes comerciais. O carregamento das suspensões de nanopartículas de QS-PMAA (em pH próximo de 4,0) com nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K) foi realizado adicionando-se diferentes quantidade de uréia, fosfato de cálcio e cloreto de cálcio, respectivamente em um béquer com 50 mL de dispersão das nanopartículas de quitosana (QS-PMAA) sob agitação mecânica a 25 °C durante 6 horas. As quantidades de uréia adicionadas às dispersões de QS-PMAA foram calculadas para resultar em soluções contendo 20, 40, 60, 80, 100, 200, 300, 400 e 500 ppm de N, as quais foram designadas de QS-PMAA(N20), QS-PMAA(N40), QS-PMAA(N60), QS-PMAA(N80) QS-PMAA(N100) e QS-PMAA(N200), QS-PMAA(N300) e QS-PMAA(N400) e QS-PMAA(N500), respectivamente. Dispersões contendo fósforo foram carregadas com até 60 ppm de fósforo, pois acima desta quantidade ocorreu a precipitação da dispersão coloidal de nanopartículas. As dispersões de QS-PMAA carregadas com 10, 20, 30, 40, 50 e 60 ppm de P foram designadas de QS-PMAA(P10), QS-PMAA(P20), QS-PMAA(P30), QS-PMAA(P40), QS-PMAA(P50) QS-PMAA(P60) e QS-PMAA(P100), respectivamente. Dispersões contendo potássio (K) foram carregadas com 20, 40, 60, 80, 100, 200, 300, 400 e 500 ppm de K. Acima de 500 ppm, a dispersão de QS-PMAA precipitou. Essas dispersões foram designadas de QS-PMAA(K20), QS-PMAA(K40), QS-PMAA(K60), QS-PMAA(K80) QS-PMAA(K100) e QS-PMAA(K200), QS-PMAA(K300), QS-PMAA(K400) QS-PMAA(K500), respectivamente. Para avaliar o efeito da adição dos elementos (N, P e K) na estabilidade das suspensões das nanopartículas de quitosana (QS-PMAA) foram realizadas medidas de potencial Zeta e tamanho de partícula em um aparelho Malvern 3000 Zetasizer NanoZS. As medidas foram realizadas no mesmo pH da solução resultante (em torno de 4,6).

## Resultados e discussão

A estabilidade da suspensão coloidal das nanopartículas de QS-PMAA em valores de pH menores que 5,5 é influenciada pela presença dos

íons positivos, já que a suspensão coloidal de QS-PMAA é carregada positivamente. A precipitação da suspensão coloidal de QS-PMAA foi verificada com adição de quantidades maiores que 400 ppm de N e K e quantidades maiores que 60 ppm de P. Esta diferença deve estar relacionada com a maior carga do ânion PO<sub>4</sub><sup>-2</sup> (oriundo do eletrólito Ca(H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>.H<sub>2</sub>O) em relação ao ânion Cl<sup>-</sup> (oriundo do eletrólito KCl), pois quanto maior a carga do íon, maior a eficiência na precipitação do colóide (CASTELLAN, 1995). Nas Figuras 1a, 1b e 1c são apresentados os valores de potencial zeta e diâmetro médio de partícula em função da quantidade de nitrogênio, fósforo e potássio, respectivamente (após 6 horas de agitação mecânica).



**Fig. 1.** Potencial Zeta ( ) e diâmetro médio de partícula (nm) para as dispersões de (QS-PMAA) com: a) 0, 20, 40, 60, 100, 200 ppm de nitrogênio; b) 0, 10, 20, 30, 40, 50 e 60 ppm de fósforo e c) 0, 20, 40, 60, 80, 100, 200, 300, 400 e 500 ppm de potássio, provenientes das moléculas da uréia (NH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>).

Foi verificado que para as dispersões coloidais de QS-PMAA com fósforo, os valores de potencial zeta ( $\zeta$ ) não foram significativamente alterados com adição de até 60 ppm de fósforo, indicando a estabilidade do sistema coloidal, nas condições estudadas. Os valores de  $\zeta$  das dispersões de QS-PMAA carregadas com até 200 ppm de N foram maiores em relação ao valor de  $\zeta$  da dispersão de QS-PMAA pura e para as dispersões com maiores quantidades de N que 200 ppm, os valores de  $\zeta$  foram um pouco menores. Isto indica que acima de 200 ppm está ocorrendo uma supressão das cargas positivas na dispersão coloidal de QS-PMAA, a qual deve ser devido à presença de grupos negativos.

Para as dispersões com potássio, o potencial zeta apresentou um aumento com a adição de potássio de 20 até 80 ppm em relação à dispersão de QS-PMAA pura, indicando um aumento de cargas positivas na dispersão coloidal e permanecendo praticamente constante com adição de até 400 ppm. Isto mostra que a presença dos íons  $\text{Cl}^-$  (provenientes do KCl) não afetou a estabilidade da dispersão coloidal até adições de 400 ppm e acima desta quantidade ocorreu a diminuição das cargas positivas e conseqüentemente a precipitação do sistema coloidal.

---

### **Conclusões**

---

A estabilidade da suspensão coloidal de QS-PMAA foi influenciada pela presença das espécies dissociadas provenientes de uréia, cloreto de potássio e fosfato de cálcio. A estabilidade da suspensão coloidal de QS-PMAA foi maior com a adição de nitrogênio e potássio do que com adição de fósforo, devido a maior carga do ânion proveniente do fosfato de cálcio que as cargas dos ânions do cloreto de potássio e da uréia. Outros estudos são necessários para entender o mecanismo e otimizar a incorporação dos elementos N, P e K nas nanopartículas de QS-PMAA.

---

### **Agradecimentos**

---

CNPQ, FINEP/MCT, EMBRAPA.

---

### **Referências**

---

- CASTELLAN, G. **Fundamentos da físico-química**. Rio de Janeiro: LCT, 1995.
- JAROSIEWICZ, A.; TOMASZEWSKA, M. Controlled-release NPK fertilizer encapsulated by polymeric membranes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Amsterdam, v. 51, n. 2, p. 413-417, 2003.
- MOURA, M. R.; AOUADA, F. A.; MATTOSO, L. H. C. Preparation of chitosan nanoparticules using methacrylic acid. **Journal Colloid Interface Science**, New York, v. 321, n. 2, p. 477-483, 2008.

WU, L; LIU, M. Z. Preparation and properties of chitosan-coated NPK compound fertilizer with controlled-release and water-retention **Carbohydrate Polymers**, [Birmingham], v. 72, n. 2, p. 240-247, 2008.



---

## TESTE DA TOXICIDADE AGUDA ORAL DE UM NOVO HIDROGEL PARA LIBERAÇÃO CONTROLADA DE INSUMOS AGROPECUÁRIOS

---

Eraldo José Madureira Tavares<sup>1</sup>, Washington Luiz Assunção Pereira<sup>2</sup>, Fauze Ahmad Aouada<sup>3</sup>, Flávio de Vasconcelos<sup>4</sup>, Márcia Regina de Moura<sup>3</sup>, Rafael Moysés Alves<sup>1</sup>, Luiz Henrique Capparelli Mattoso<sup>5</sup>, Marcos Enê Chaves Oliveira<sup>6</sup>.

<sup>1</sup>Embrapa Amazônia Oriental – eraldojo@cpatu.embrapa.br, rafael@cpatu.embrapa.br

<sup>2</sup>Universidade Federal Rural da Amazônia – wkarton@terra.com.br

<sup>3</sup>Universidade Federal de São Carlos – fauze@cnpdia.embrapa.br, mregina@cnpdia.embrapa.br

<sup>4</sup>Faculdade de Farmácia/UFPA. Flavio@ufpa.br

<sup>5</sup>Embrapa Instrumentação Agropecuária – mattoso@cnpdia.embrapa.br

<sup>6</sup>Embrapa Amazônia Oriental – meneov@cpatu.embrapa.br

**Projeto Componente:** PC4

**Plano de Ação:** 01.05.1.01.04.04

---

### Resumo

Estamos presenciando o desenvolvimento de novos polímeros para liberação lenta ou controlada de fármacos, pesticidas e fertilizantes. Entretanto, esses novos materiais sempre carregam preocupações quanto a sua toxicidade. A Embrapa produziu um novo e versátil hidrogel de poliacrilamida reticulada com metileno-bis-acrilamida e entrelaçada covalentemente com metilcelulose. Para avaliar em fase inicial sua toxicidade, foi realizado um teste de toxicidade aguda oral usando dose limite de 2000mg/kg em 10 camundongos. Não foi identificada qualquer diferença entre o hidrogel e o grupo controle usando o Teste Exato de Fisher ( $P = 1$ ). O material pode ser considerado seguro quanto à toxicidade oral aguda.

**Palavras-chave:** Toxicidade aguda; hidrogel, poliacrilamida.

---

### Introdução

Hidrogéis são polímeros capazes de absorver grande quantidade de água. Estruturalmente são constituídos por uma ou mais redes poliméricas tridimensionalmente estruturadas, formadas por cadeias macromoleculares interligadas por ligações covalentes (reticulações) ou interações físicas (OVIEDO *et al.* 2008). Devido a essas características, os hidrogéis apresentam alta hidrofiliabilidade e insolubilidade.

Apesar de a poliacrilamida ser reconhecida como segura (MCCOLLISTER, 1965), ela é sintetizada a partir de seu monômero, a acrilamida, que é muito tóxica e já foi extensivamente estudada (FRIEDMAN, 2003). A acrilamida é um sólido incolor e sem cheiro. É solúvel em água, tem alta

mobilidade no solo e é biodegradável (SMITH, 1996; SMITH, 1997). Estudos realizados por Smith *et al.* (1996) mostraram que a poliacrilamida pode ser depolimerizada por calor, luz e condições ambientais ao ar livre. Isso poderia ameaçar o uso da poliacrilamida como condicionador de solo e como controlador de liberação de fertilizantes, por exemplo, em vista do risco de a acrilamida ser assimilada pelas plantas. Mas Bologna *et al.* (1999) estudaram a presença de acrilamida residual em milho, batata, beterraba e feijão, crescidos em culturas que recebiam tratamento de poliacrilamida para evitar erosão. Todas as culturas apresentaram menos de 10 ppb de acrilamida. Além disso, concluiu-se que a acrilamida parece não ser estável no tecido vegetal (*ibid.*) por um mecanismo desconhecido (FRIEDMAN, 2003). Seybold (1994) afirma que a poliacrilamida não apresenta risco de

toxicidade se a quantidade de monômeros residuais de acrilamida for mínima (SEYBOLD, 1994).

O hidrogel desta pesquisa apresenta reatividade no organismo e digestibilidade desconhecidas. Haja vista que o hidrogel de poliacrilamida tem o potencial de ser utilizado para liberação controlada de insumos como fármacos, herbicidas e fertilizantes, é importante avaliação de sua toxicidade.

---

## Materiais e métodos

---

Os hidrogéis constituídos por PAAm e polissacarídeo biodegradável MC foram obtidos por meio de polimerização química do monômero acrilamida (AAm) em solução aquosa contendo MC, agente de reticulação N'-N metileno-bisacrilamida (MBAAm) e catalisador N,N,N',N'- tetrametil-etilenodiamina (TEMED). Persulfato de sódio foi utilizado como iniciador da reação de polimerização via radical livre.

Os animais utilizados na pesquisa foram camundongos de seis semanas de idade. O teste laboratorial foi planejado levando em consideração toda informação disponível sobre a substância, tais como a estrutura química, propriedades físico-químicas, resultados de toxicidade *in vitro*, dados de toxicidade de substâncias semelhantes e o uso previsto para a substância. Essas considerações ajudam a avaliar a necessidade da realização do teste e a escolher uma dose inicial.

Tendo em vista a baixa toxicidade de polímeros semelhantes ao hidrogel em teste, adotou-se uma adaptação ao *teste limite* do *Guideline 420* da OECD (2001). Substâncias que não apresentem toxicidade aguda na dose de 2000 mg/Kg podem ser consideradas atóxicas. Assim, em casos em que há boas razões para se considerar a substância atóxica, pode-se iniciar os testes com a dose máxima. Seguindo essa noção, uma dose equivalente a 2000 mg de hidrogel seco por kg de massa corpórea do animal foi administrada a 10 camundongos (5 machos e 5 fêmeas) por via oral (gavagem), e os efeitos tóxicos observados por quatorze dias. A dose foi administrada aos animais em jejum, mas com água *ad libitum*. Após o tratamento, os animais continuaram em jejum por 3-4 horas. Um grupo controle de 10 animais recebeu água, em volume equivalente. O camundongo foi escolhido, e não o rato, devido à dificuldade de se sintetizar hidrogéis em quantidade apropriada na fase inicial da pesquisa.

O hidrogel seco é muito rígido para ser administrado. Depois de intumescido, continua rígido demais para passar por uma sonda de gavagem. Assim, o hidrogel foi moído e peneirado (ficando entre as malhas 0,50 mm e 0,25 mm). O hidrogel seco foi pesado, separando-se material na proporção de 2000 mg/Kg para cada animal do grupo Teste. Então, o hidrogel moído foi intumescido por 2

h com água (totalizando 40 vezes sua massa seca). É importante intumescer o hidrogel para evitar problemas diversos, tais como alterações no balanço hídrico do animal e obstrução intestinal, já que se trata de um material muito absorvente. Depois de intumescido, o material foi adicionalmente moído com cadinho para permitir passagem pela sonda. O material administrado (hidrogel + água) representava 8% da massa corpórea do animal. Porém, o grande aumento de volume decorrente da adição de água é também um risco a ser considerado, já que aumenta a probabilidade de o animal regurgitar, principalmente em se tratando de camundongo. Assim, a dose foi administrada lentamente e com cuidado. Eventualmente e a depender da necessidade, volumes ainda muito maiores foram administrados em alguns estudos (como em BOYD, 1967).

Todos os animais foram observados pelo menos uma vez nos primeiros 30 minutos; em especial nas primeiras 4 horas; periodicamente durante 24 horas e diariamente por 14 dias. Todas as observações foram registradas. Observou-se cuidadosamente o aparecimento de sinais claros de toxicidade. As observações incluíram mudanças na pele, pelagem, olhos, membranas mucosas, nos sistemas circulatório, respiratório, autônomo e nervoso, além de alterações no comportamento, entre outros sinais descritos no *Humane Endpoints Guidance Document*, da OECD. Após os 14 dias, os animais foram sacrificados para necropsia e exames histopatológicos de órgãos.

Com o objetivo de obter resultados estatísticos importantes com poucos animais, utilizou-se o **Teste Exato de Fisher**, na versão bilateral (*two-tailed*). O Teste exato de Fisher é usado na literatura de toxicologia para análises de frequência (por exemplo, KOEPKE, 1988). Uma importante vantagem do uso do Teste Exato de Fisher é que sua sensibilidade é alta, mesmo com amostras pequenas. Esse teste até mesmo transforma a desvantagem de se ter amostras pequenas em um benefício (GLANTZ, 1997 p. 140).

---

## Resultados e discussão

---

Não foram observadas quaisquer alterações nos animais que fossem atribuídas à toxicidade do hidrogel. Alterações comportamentais menores foram observadas nos animais que receberam hidrogel, tais como redução do consumo de ração no dia seguinte, o que pode ser atribuído à ingestão de grande quantidade de material administrado.

Foi construída uma tabela de dados que simplesmente contabiliza o número de indivíduos que apresentam respostas adversas presumivelmente aplicáveis a efeitos tóxicos agudos (Tabela 1). “O efeito medido não precisa ser necessariamente a morte do animal, mas qualquer tipo de efeito que possa ser quantificado” (AZEVEDO, 2003 p. 145).

Os dados usados para identificar respostas adversas pelo Teste Exato de Fisher foram reunidos dos diversos exames patológicos. As patologias realizadas a olho nu e ao microscópio óptico foram realizadas sem o conhecimento prévio do patologista sobre os grupos a que pertenciam os animais. Apesar de a amostragem inicial de camundongos do grupo que recebeu hidrogel ter sido de 10 animais, um deles regurgitou parte do hidrogel pouco depois da administração e provavelmente parte do material deve ter obstruído as vias respiratórias, o que resultou na morte por insuficiência respiratória subsequente.

**Tabela 1.** Contabilização dos animais com ou sem efeitos adversos resultantes da administração oral (via sonda orogástrica – gavagem) do hidrogel de poli(acrilamida) a camundongos suíços. A probabilidade usando-se o Teste Exato de Fisher bilateral é de 1 (100%): aceita-se a hipótese nula.

Grupo	Nº de animais sem efeito adversos	Nº de animais com efeito adversos	Total
Controles	0	10	10
Hidrogel	0	9	9
Total	0	19	19

Usando-se um Teste Exato de Fisher bilateral (*two-tailed*), a probabilidade total de se obter dados tão ou mais extremos do que os que foram obtidos empiricamente é a probabilidade P de que as linhas e colunas sejam independentes (GLANTZ, 1997). Em nosso caso, os dados das colunas podem ser considerados independentes daqueles das linhas. Com isso, pode ser entendido que o grupo hidrogel não difere do grupo controle e a hipótese nula foi aceita.

## Conclusões

Não houve alterações sobre essa dose limite nos nove camundongos. Portanto, o hidrogel de poli(acrilamida) pode ser considerado de baixa toxicidade aguda nos resultados preliminares deste estudo. É ainda necessário realizar um estudo de toxicidade crônica, haja vista a possibilidade teórica de que monômeros de acrilamida sejam liberados em longo prazo em quantidade suficiente para apresentar riscos tóxicos.

## Agradecimentos

Reginaldo Trindade de Souza (Biotério da UFPA); CNPq, FINEP, EMBRAPA.

## Referências

AZEVEDO, F. A. de.; CHASIN, A. A. da M. (Org.) **As bases toxicológicas da ecotoxicologia**. São Paulo: Rima, 2003.

BOLOGNA, L. S.; ANDRAWES, F. F.; BARWENIK, F. W.; LENTZ, R. D.; SOJKA, R. E. Analysis of residual acrylamide in field crops. **J. Chromatogr. Sci.**, Niles, v. 37, p. 240-244, 1999.

BOYD, E. M.; KRUNEN, C. J.; PETERS, J. M. Lethal Amounts of Casein, Casein Salts and Hydrolyzed Casein Given Orally to Albino Rats. **J. NUTRITION**, Philadelphia, v. 93, n. 4, p. 429-437, 1967.

FRIEDMAN, M. Chemistry, Biochemistry, and Safety of Acrylamide. A Review. **J. Agric. Food Chem.**, Easton, v. 51, n. 16, p. 4504-4526, 2003.

GLANTZ, A. S. **Primer of biostatistics**. 4<sup>th</sup> ed. New York: McGraw-hill, 1997. 473 p.

KOEPKE, S. R.; CREASIA, D. R.; KNUTSEN, G. L.; MICHEJDA, C. J. Carcinogenicity of Hydroxyalkylnitrosamines in F344 Rats: Contrasting Behavior of  $\beta$ - and  $\alpha$ -Hydroxylated Nitrosamines. **Cancer Research**, Baltimore, v. 48, p. 1533-1536, 1988.

MCCOLLISTER D. D.; HAKE, C. L.; SADEK, S. E.; ROWE, V. K. Toxicologic investigations of polyacrylamides. **Toxicology and Applied Pharmacology**, San Diego, v. 7, n. 5, p. 639-651, 1965.

DEPASS, L. R. Alternative Approaches in Median Lethality (LD50) and Acute Toxicity Testing. **Toxicology Letters**, Amsterdam, v. 49, n. 2/3, p. 159-170, 1989.

OECD - ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. **Guidelines for testing of chemicals, nº 420**. Acute Oral Toxicity – Fixed Dose Procedure. Paris: OECD, 2001.

OVIEDO, I. R.; MENDEZ, N. A. N.; GOMEZ, M. P. G.; RODRIGUEZ, H. C.; MARTINEZ, A. R. Design of a physical and nontoxic crosslinked poly(vinyl alcohol) hydrogel. **Int. J. Polym. Mater.**, New York, v. 57, n. 12, p. 1095-1103, 2008.

SEYBOLD, C. A. Polyacrylamide review: Soil conditioning and environmental fate. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 25, n. 11/12, p. 2171 – 2185, 1994.

SMITH, E. A.; PRUEN, S. L.; OEHME, F. W. Environmental degradation of polyacrylamides. I. Effects of artificial environmental conditions: temperature, light and pH. **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, New York, v. 35, p. 121-135, 1996.

SMITH, E. A.; PRUES, S. L.; OEHME, F. W. Environmental degradation of acrylamides II. Effects of environmental (outdoor) exposure. **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, New York, v. 37, p. 76-91, 1997.



---

## RAÇÃO PARA CAMARÃO OBTIDA POR EXTRUSÃO EM PRESENÇA DE LINHAÇA

---

Fabiana Lindenberg Santos<sup>1</sup>, Cristina Tristão Andrade<sup>1,2\*</sup>, Kátia Gomes de Lima Araújo<sup>3</sup>

(1) Programa Ciência de Alimentos, Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, fabianalindenberg@yahoo.com.br; (2) Programa Ciência e Tecnologia de Polímeros, Universidade Federal do Rio de Janeiro, \*ctandrade@ima.ufrj.br; (3) Faculdade de Farmácia, Universidade Federal Fluminense

**Projeto Componente:** PC4

**Plano de Ação:** 01.05.1.01.04.03

---

### Resumo

O presente trabalho teve como objetivo obter formulação extrusada enriquecida com linhaça, para aplicação como ração de camarão. Após a oferta da ração extrusada a camarões *Macrobrachium rosenbergii*, foram avaliadas a expressão dos macronutrientes e o peso corporal dos camarões. Para isso, mil juvenis de 45 dias de idade, oriundos da fazenda Santa Helena, foram alimentados durante 90 dias. Foram investigados os efeitos das duas rações: 1ª) ração fornecida ao grupo teste, à base de albumina e semente de linhaça e a 2ª) ração comercial. A técnica de microscopia eletrônica de varredura revelou que a ração obtida experimentalmente é mais firme e densa.

**Palavras-chave:** extrusão, ração, camarão, linhaça.

---

### Introdução

A alimentação é um dos principais fatores que afetam a viabilidade de qualquer empreendimento de aquicultura. A semente ou o óleo de linhaça têm sido adicionados a rações para diferentes animais. Segundo Almeida e Bueno Franco (2006), o fornecimento de rações enriquecidas com ácidos graxos poliinsaturados aumenta o valor nutricional do teor lipídico de pescado de água doce.

De acordo com o conhecimento científico atual, a linhaça é considerada um alimento funcional, fonte dos ácidos alfa linolênico 18:3n<sup>3</sup> (LNA) e linoléico 18:2n<sup>6</sup> (LA). Esses ácidos têm a massa molar aumentada por ação enzimática para produzir o ácido docosa-hexaenóico 22:6 (DHA) e o ácido eicosapentaenóico 20:5 (EPA) (Furuya *et al*, 2006). Benefícios nutricionais do EPA e do DHA são evidenciados em muitos trabalhos científicos, como na prevenção e no tratamento de doenças cardiovasculares, hipertensão, inflamações em geral, asma, artrite e câncer (Suarez-Marecha *et al.*, 2002). Nas rações, o processo de extrusão é

fundamental para o rompimento das paredes celulares dos grãos. Com isso, o aumento da digestibilidade dos nutrientes é observado, o que facilita o teor de energia metabolizável. O manejo adequado das variáveis do processo de extrusão permite melhorar a qualidade das rações e aumentar a estabilidade na água. De acordo com a espécie-alvo, o alimento precisa flutuar ou afundar.

No presente trabalho, ração enriquecida com sementes de linhaça foi obtida por extrusão, e comparada a uma ração comercial.

### Materiais e métodos

O experimento foi realizado no período de 07/02/2009 a 07/05/2009. Foram utilizadas 1000 pós-larvas de camarão *Macrobrachium rosenbergii*, com peso inicial de 191 mg. As pós-larvas foram divididas em dois grupos: Grupo-teste: alimentado com ração à base de linhaça e albumina; Grupo alimentado com ração comercial. Os animais foram

mantidos em tanques *polyfit* de 1.000 litros. Cada tanque recebeu oxigenação constante. A ração foi elaborada de acordo com o Manual de Carcinicultura de Água Doce (SEBRAE/ES, 2005). O amido de milho, albumina, óleo de soja, celulose, suplemento vitamínico e mineral, fosfato bicálcico, calcário, butil hidroxil tolueno (BHT) e semente de linhaça foram usados para a obtenção da ração comercial. Os processamentos foram realizados em sistema Haake Rheocord 90 (Dallas, USA), equipado com extrusora mono-rosca. A amostragem dos tecidos dos camarões foi realizada durante o experimento após 0, 30, 60, 90 dias e no tempo final do experimento. A umidade, as cinzas e proteínas foram determinadas de acordo com a AOAC, e o extrato etéreo através do método de Bligh-Dyer (1959). Os resultados foram apresentados por meio de estatística descritiva, como média e desvio padrão. O teste *t* de Student não-pareado foi usado para a comparação entre as médias dos dois grupos. Foi aceito um nível de significância de 5%. As análises foram realizadas com o programa GraphPad InStat.

## Resultados e discussão

A composição química das rações é apresentada na Tabela 1. A quantidade adequada de proteínas para satisfazer às necessidades e atender à recomendação de proteína dietética para o *Macrobrachium rosenbergii* varia de 25% a 40%. A concentração de proteínas das rações utilizadas está em concordância com a literatura. A quantidade de lipídeos está bem próxima ao recomendado pelo LABOMAR (2005), de 5% a 12%. A concentração de cinzas (8-10%), carboidratos (30-40%), fibras (6-8%) e umidade (até 10%) estão de acordo com as características bromatológicas citadas pelo SEBRAE/E (2005). A ração comercial (RCM) excedeu na quantidade de cinzas, fibras e umidade. Na ração-teste (RT), foi priorizado diminuir os outros nutrientes para aumentar a quantidade de amido, o que melhorou o processamento da ração.

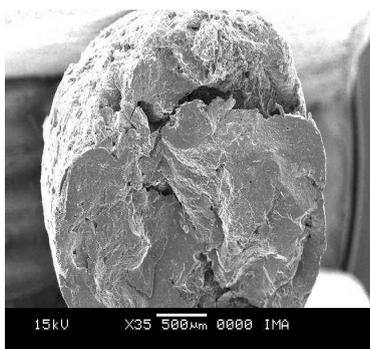


Fig. 1. Micrografia de SEM para a ração-teste.

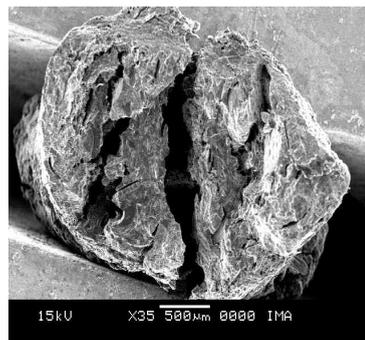


Fig. 2. Micrografia de SEM para a ração comercial.

Tabela 1: Composição centesimal das rações (g/100g) (média ± desvio-padrão).

Composição (%)	Tratamento	
	RT <sup>a</sup>	RCM <sup>b</sup>
Umidade	7,85±0,39	11,77±0,04
Cinzas	8,95±0,12	13,27±0,23
Proteínas	29,58±1,16	31,42±1,41
Lipídeos	4,76±0,05	8,15±0,45
Fibras	5,14±0,05	13,83±0,45
Carboidratos	43,72±1,18	21,56±1,07

<sup>a</sup>RT (ração teste), <sup>b</sup>RCM (ração comercial).

Os valores médios de minerais e proteínas do grupo comercial apresentaram diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os tratamentos ao final do experimento. No entanto, pode ser observado que o grupo-teste apresentou as menores médias para o teor em lipídeos. Esse resultado mostra que a carne desses camarões será mais saudável em relação à quantidade de lipídeos.

O teor de cinzas (Tabela 2) de ambos os grupos foi superior aos resultados obtidos por Pedrosa e Cozzolino (2001) (1,05g. 100<sup>-1</sup>g) em camarões *Penaeus brasiliensis*, Kirschnik e Viegas (2004) (1,35g. 100<sup>-1</sup>g) em camarões *Macrobrachium rosenbergii* e por Furuya *et al.* (2006) (1,5g. 100<sup>-1</sup>g) em camarões *Macrobrachium amazonicum*.

A concentração média de proteínas de ambos os grupos foi superior ao relatado por Pedrosa e Cozzolino (2001) (10,62g. 100<sup>-1</sup>g) em camarões *Penaeus brasiliensis* e ao relatado por Furuya *et al.* (2006) (24,8g. 100<sup>-1</sup>g) em camarões *Macrobrachium amazonicum*. A concentração de lipídeos de ambos os grupos foi superior ao relatado por Bragagnolo e Rodriguez-Amaya (2001) (1,1g. 100<sup>-1</sup>g) em camarões *M. rosenbergii*, e por Furuya *et al.* (2006) (1,5g. 100<sup>-1</sup>g) em camarões *M. amazonicum*.

A Tabela 3 mostra a média de variação do peso do *Macrobrachium rosenbergii* submetido aos diferentes tratamentos.

**Tabela 2** - Composição centesimal dos camarões submetidos aos diferentes tratamentos (g/100g) (média ± desvio-padrão, a comparação estatística foi feita entre os grupos para cada tempo).

\*Valores significativamente (P<0,05) diferentes entre os grupos (Teste t não pareado).

Dias	Umidade (%)	Cinzas (%)	Proteínas (%)	Lipídeos (%)	Carboidratos (%)
<b>Grupo teste</b>					
0	77,02±1,36	4,27±0,21	15,20±0,14	1,45±0,05	2,05±1,35
30	77,77±0,03*	4,78±0,74	14,39±1,03	1,63±0,18	1,41±0,81
60	82,87±2,53*	3,59±0,42	11,54±0,49	1,63±0,31	0,40±0,69
90	79,2±2,59*	3,57±0,17	14,75±0,41	1,68±0,03	1,29±1,74
<b>Grupo comercial</b>					
30	75,09±1,26	4,80±0,64	14,87±2,27	2,25±0,22*	2,98±1,52
60	73,03±5,39	4,75±0,19*	17,58±0,18*	2,39±0,03*	2,25±2,04
90	69,89±1,39	5,06±0,25*	21,07±0,11*	2,07±0,54	1,88±0,95

**Tabela 3** - Média da variação do peso do *M. rosenbergii* em diferentes tratamentos (média ± desvio-padrão, a comparação estatística foi feita entre os grupos para cada tempo).

Tratamento (em número de dias)	Peso (g)
<b>Grupo-teste</b>	
C0	0,19±0,06
C30	0,35±0,08
C60	0,45±0,37
C90	0,74±0,39
<b>Grupo comercial</b>	
C30T	0,47±0,12*
C60T	0,74±0,31*
C90T	1,27±0,42*

\*Valores significativamente (P<0,05) diferentes entre os grupos. (Teste t não pareado)

Podem ser observados valores superiores de peso no grupo comercial em relação ao grupo-teste durante todo o experimento apresentando, com diferença significativa (P<0,05). Essa diferença é justificada pelo fato de a quantidade de lipídeos da ração comercial ser o dobro daquela da ração-teste. No presente estudo, ambos os grupos mostraram valores inferiores aos relatados por Correia *et al.*(2002) (1,41g) em *M. rosenbergii* e ambos os grupos apresentaram valores superiores aos relatados por Frões *et. al.*(2007) (0,71g) em *Farfantepenaeus paulensis*.

Embora diferenças significativas tenham sido observadas quanto ao peso dos dois grupos, o tamanho não mostrou tais diferenças.

### Conclusões

O aumento do teor de amido contribuiu para facilitar o processamento e levou a uma ração mais firme. O decréscimo nos teores de lipídeos, minerais e fibras não prejudicou o crescimento de camarões.

### Agradecimentos

CNPq, FAPERJ

### Referências

- ALMEIDA, N. M.; FRANCO, M. *Rev.Inst. Adolfo Lutz*, v. 65, n.1, p. 7-14, 2006.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. *Off. Meth. of Ana.* Arlington, AOAC, 1995.
- BLIGH, E.G.; DYER, W.J. *Can. J. Biochem.*, v.37, p.911-917,1959.
- BRAGAGNOLO, N.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. *J. Food Compos. Anal.*, v. 14, 359-369, 2001.
- CORREIA, E. S. *et al.*, *Aquacultural Eng.*, v.26, p. 61-69, 2002.
- FRÓES, C.; *et al.*, *Atlântica*, v. 29, n. 1, p. 25-34, 2007.
- FURUYA, W. M.; *et al.*, *Rev. Bras. de Zootec.*, v.35, n.4, p. 1577-1580, 2006.
- KIRSCHNIK, P. G.; VIEGAS, E. M. M.. *Ciênc. e Tecol. Alim.*, Campinas, v.24, n.3, p.407-412, 2004.
- LABOMAR. Univ. Federal do Ceará. Fortaleza: Ceará, mar. 2005.
- PEDROSA, L. F. C.; COZZOLINO, S. M. F., *Ciênc. Tecnol. Alim.*, v.21, n 2, Campinas, maio ago, 2001.
- SEBRAE/ES. 2005. Serv. de apoio às micro e pequenas empresas do Espírito Santo. Manual de Carc. de Água Doce. Centro de Tecn. em Aqüic. e Meio Amb. Vitória, 2005.
- SUAREZ-MARECHA, H.; *et. al.*, *Boletim do instituto de Pesca*, v.28, n.1, p.101-110, 2002.



## SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE ZEÓLITA TIPO ZSM-5, UTILIZANDO REATOR HIDROTHERMAL E REAGENTES DE BAIXO CUSTO.

Fábio Plotegher<sup>1,2,3</sup>; Caue Ribeiro<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Mestrando em Química – PPGQ – UFSCar;

<sup>2</sup>Bolsista CAPES;

<sup>3</sup>Laboratório Nacional de Nanotecnologia Aplicado ao Agronegócio, Embrapa Instrumentação Agropecuária.

Projeto Componente: PC4

Plano de Ação: 01.05.1.01.04.04

### Resumo

Desde a sua descoberta, a utilização industrial e o estudo das zeólitas vêm crescendo mundialmente, as tendências do uso de energias renováveis, faz da zeólita um grande aliado nas reações com catálise heterogênea, despoluição de águas e trocas iônicas. A síntese da zeólita ZSM-5 é bem conhecida desde a década de sessenta, porém com a nova demanda, é importante obtê-la através de reações de baixo custo e em tamanho nanométrico aumentando sua área e número de sítios ativos que são serão decisivos no sucesso de sua aplicação na indústria, pesquisa e agronegócio.

**Palavras-chave:** Zeólita, ZSM-5, MFI, hidrotermal.

### Introdução

A descoberta das zeólitas aconteceu há mais de 250 anos pelo mineralogista sueco Crönstedt (GUISNET e RIBEIRO, 2004), que identificou a variedade estilbite ( $\text{NaCa}_2\text{Al}_5\text{Si}_3\text{O}_{36} \cdot 14\text{H}_2\text{O}$ ), que intumescia quando aquecida por uma chama. A essa nova classe de minerais aluminossilicatos hidratados ele deu o nome de zeólitas, do grego *zeo* e *lithos* (pedra que ferve). Com o advento das zeólitas sintéticas e da descoberta de grandes bacias sedimentares a utilização desses minerais ganhou novas aplicações. Atualmente já foram sintetizadas e caracterizadas mais de 130 tipos diferentes de zeólitas, enquanto que na natureza foram encontradas até agora cerca de 40 tipos. As primeiras zeólitas sintetizadas foram classificadas em três grandes grupos: adsorção, catálise e permuta iônica. A partir dessas descobertas abriu-se um grande campo para a síntese de novas zeólitas e utilização das mesmas na indústria (GUISNET e RIBEIRO, 2004). A grande vantagem das zeólitas sintéticas com relação as naturais é que pode-se ajustar

exatamente suas propriedades de interesse, tais como: tamanho do cristalito, composição, polaridade, tamanho dos centros ativos, etc. Outra etapa importante no desenvolvimento desses minerais foi feita por Weisz, demonstrando a seletividade de forma por peneiração molecular. A partir deste ponto, a Mobil desenvolveu o primeiro processo comercial conhecido baseado no conceito de seletividade de forma por peneiração molecular, o processo permitia aumentar o índice de octano de frações leves através do *cracking* de n-alcenos. O carro chefe desse processo foi uma zeólita sintetizada pela Mobil chamada “Zeolite Secony Mobil 5”, a ZSM-5 ou MFI, ela foi sintetizada utilizando *templates* orgânicos que permitiu obter zeólitas com altas razões entre Si/Al (BECK et al., 1992). Um bom exemplo de utilização como peneira molecular é a utilização da zeólita ZSM-5 na desidratação de etanol de cana-de-açúcar (LIMA et al., 2004). A síntese desta zeólita é bem conhecida na literatura e possui várias rotas para a obtenção da mesma. O presente trabalho baseia-se na avaliação do tamanho de partículas de uma síntese já conhecida na literatura, por meio de processo

hidrotermal, modificando as condições de tempo e temperatura da síntese para a obtenção da fase zeolítica nanoestruturada.

## Materiais e métodos

A síntese em que este trabalho se baseou foi proposta por Aguado et al. (2004), segundo os autores as proporções molares dos componentes para a obtenção da fase zeolítica foi:  $\text{Al}_2\text{O}_3:60\text{SiO}_2:11\text{TPABr}:900\text{H}_2\text{O}$ . O gel foi preparado utilizando fontes alternativas de alumínio, silício e direcionador de rede diferentes do proposto pelos autores, sendo assim, dissolvendo-se 2,92g de NaOH em 108mL água deionizada, em seguida adicionado 4,5g de  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$  terminada a dissolução, foi adicionado 19,44g do direcionador de rede TPABr, por fim foi adicionado 91,04mL de TEOS como fonte de silício, o gel foi envelhecido por 48 horas sob forte agitação. Terminado o tempo de envelhecimento, 100mL do gel foi transferido para um reator hidrotermal com funda de teflon e agitação magnética. As condições de sínteses foram: A = 200°C por 24 horas, B = 100°C por 24 horas, C = 150°C por 48 horas, D = 100°C por 72 horas e E = 200°C por 72 horas.

Terminadas as sínteses os pós foram lavados com água deionizada em centrifuga a 12000rpm por 15 minutos até que o pH da suspensão estivesse estável e próximo ao neutro. O pó foi seco a 110°C por 24 horas e caracterizado. Parte do pó foi calcinada a 550°C por 6 horas, com rampa de 10°C/min e o produto obtido após a calcinação também foram caracterizados.

As caracterizações dos materiais obtidos foram feitas por difratometria de raios X (Rigaku, DMax 2500PC, radiação de Cu-k, potência de 6000W) utilizando varredura de 3 a 35°, área de superfície por fisssorpsão de  $\text{N}_2$  utilizando a isoterma BET (ASAP 2000, Micromeritics), e tamanho de partículas por espalhamento de luz (ZetaSizer ZS 3600, Malvern), com laser vermelho de 532nm.

## Resultados e discussão

A Figura 1 mostra que na síntese “A” houve a formação da fase zeolítica, mostrados pelos principais picos assinalados (TREACY e HIGGINS, 2001), no caso das sínteses “C” e “E”, houve formação em parte e aparece claramente que parte do produto formado está em estado amorfo assim como mostra nas sínteses “B” e “D”. Isto demonstra que se pode obter a fase zeolítica em sínteses com altas temperaturas e baixos tempos. É conhecido na literatura que é possível obter a fase zeolítica com sínteses em baixas temperaturas, porém os tempos utilizados para a formação da fase chegam a ultrapassar duas semanas.

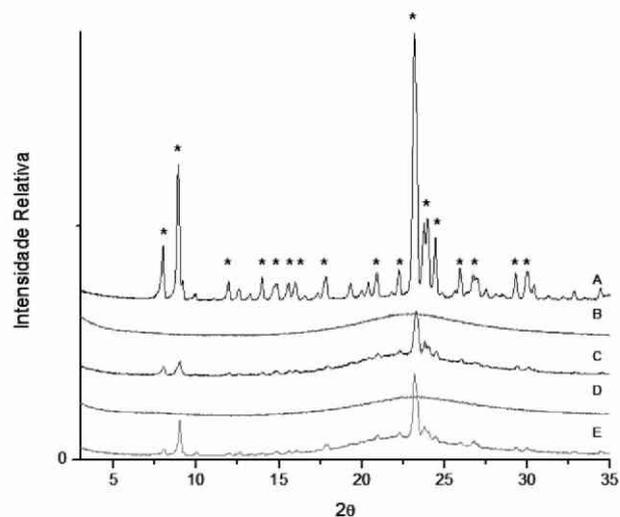


Fig. 1. Difratoograma de raios-X dos materiais obtidos antes da calcinação.

O difratograma da Figura 2, mostra os picos mais bem definidos devido a calcinação do material para eliminação do direcionador de rede orgânico (TPABr), utilizado na síntese.

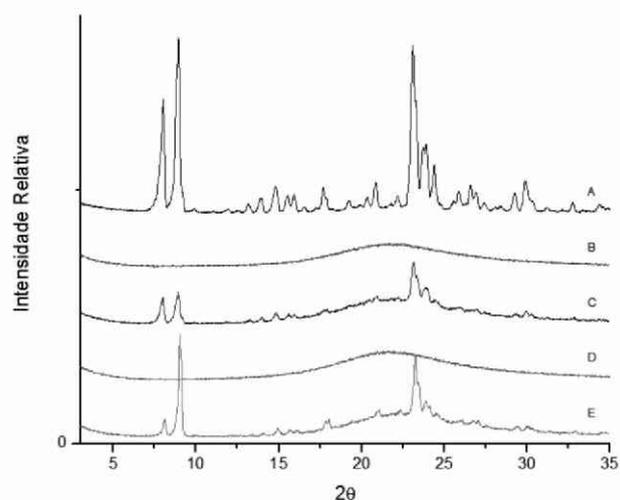


Fig. 2. Difratoograma de raios-X dos materiais obtidos após calcinação (550°C por 6 horas).

Os resultados das análises de BET mostradas na Tabela 1, atestam a formação da rede cristalina da zeólita ZSM-5, a síntese “A” que foi a mais cristalina mostrada pelos resultados de DR-X, foi a que obteve maior área superficial após a eliminação do direcionador de rede, mostrando claramente que ele ocupava espaço dentro da rede cristalina da zeólita. As sínteses “C” e “E” que possuem mistura de fase amorfa com fase cristalina obtiveram um aumento na área superficial com a eliminação do TPABr, e as outras duas sínteses “B” e “D” totalmente amorfas não obtiveram variação significativa após a calcinação, mesmo a síntese “D” ter a maior área superficial das cinco sínteses antes da calcinação.

**Tabela 1.** valores de área superficial obtidos pela isoterma de BET.

Amostra	Não calcinada área m <sup>2</sup> /g	Calcinada área m <sup>2</sup> /g
A	21,564	186,248
B	23,945	21,720
C	26,665	47,836
D	60,680	65,916
E	15,445	77,158

As medidas de tamanho de partículas por espalhamento de luz, geraram dados não satisfatórios, os diâmetros médios variaram desde 63nm para a síntese “A” até mais de 800nm para a síntese “D”, e os mesmos não foram reprodutíveis, isto indicou que, no pH em que as análises foram feitas houve aglomeração das partículas, isto pode ser contornado fazendo-se o potencial zeta desse material variando-se o pH do meio para obter o pH ótimo para se ter a suspensão mais dispersa, outra forma é fazendo microscopia eletrônica de varredura, para assim confirmar o real tamanho das partículas.

### Conclusões

A síntese pelo método proposto é possível, baixos tempos de síntese e envelhecimento, aliados a temperaturas mais altas contribuem para que o custo da síntese seja mais baixo, mesmo com o baixo custo é possível a obtenção de um nanomaterial cristalino com grandes áreas superficiais, que dá a esse material, grande aplicabilidade nas áreas de catálise, adsorção e trocas iônicas, esta última, sendo muito interessante na agricultura, podendo ser utilizado para a descontaminação de águas, fertilização de solos por exemplo, sendo usado na adubação de nitrogênio de lavouras, prendendo no solo os íons amônios não o deixando livre a ponto de sofrer lixiviação pela chuva, ou mesmo evaporando do solo na forma de gás amônia. Outra aplicabilidade, que apresenta grande progresso, é o uso zeólitas no setor de agroenergia, além de já ser utilizada como dessecante de etanol, ela pode ser aplicada como catalizador heterogêneo na reação de transesterificação para a obtenção de biodiesel, este ramo tem feito avanços promissores com a utilização desse tipo de material, contribuindo assim com o melhoramento da matriz energética e um melhor uso dos recursos naturais existentes.

### Agradecimentos

CAPES, CNPq, FINEP/MCT, EMBRAPA

### Referências

- AGUADO, J.; SERRANO, D. P.; ESCOLA, J. M.; RODRIGUEZ, J. M. Low temperature synthesis and properties of ZSM-5 aggregates formed by ultra-small nanocrystals. **Microporous and Mesoporous Materials**, Amsterdam, v. 75, n. 1/2, p. 41-49, 2004.
- BECK, J. S.; VARTULI, J. C.; ROTH, W. J.; LEONOWICZ, M. E.; KRESGE, C. T.; SCHMITT, K. D.; CHU, C. T-W.; OLSON, D. H.; SHEPPARD, E. W.; MCCULLEN, S. B.; HIGGINS, J. B.; SCHLENKERT, J. L. A new family of mesoporous molecular-sieves prepared with liquid-crystal templates. **Journal of American Chemical Society**, Easton, v. 114, p 10834-10843, 1992.
- GUINET, M.; RIBEIRO, F. R. **Zeólitos: um nanomundo ao serviço da catálise**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2004.
- LIMA, S. H.; SILVA, A. O. S.; SOUZA, M. J. B.; ARAUJO, A. S.; FERNANDES Jr, V. J.; CARVALHO, J. M.; SILVA, A. J. N. **Síntese, caracterização e aplicação das zeólitas HZSM-5 e HZSM-12 na desidratação de etanol**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE P&D EM PETRÓLEO E GÁS, 3., Salvador. **Anais...** Rio de Janeiro: IBP, 2005.
- MIGNONI, M. L.; DETONI, C.; PERGHER, S. B. **C. Estudo da síntese da zeólita ZSM-5 a partir de argilas naturais**. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 1, p. 45-48, 2007.
- TREACY, M. M. J.; HIGGINS, J. B. **Collection of Simulated XRD Powder Patterns for Zeolites**. 4<sup>th</sup> ed. [S. l.]: Elsevier, 2001.



---

## APLICAÇÃO DE HIDROGÉIS EM SISTEMAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE PESTICIDA

---

Fauze Ahmad Aouada<sup>1,4</sup>, Zhongli Pan<sup>2</sup>, Bor-Sen Chiou<sup>3</sup>, William J. Orts<sup>3</sup>, Luiz Henrique Capparelli Mattoso<sup>4\*</sup>

<sup>1</sup>Depto. de Química - UFSCar, 13560-905, São Carlos, SP

<sup>2</sup>Processed Foods Research Unit, USDA-ARS-WRRC, Albany, CA, United States

<sup>3</sup>Bioproduct Chemistry & Engineering Research Unit, USDA-ARS-WRRC, Albany, CA, United States

<sup>4</sup>Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação Agropecuária, 13560-970, São Carlos, SP \*mattoso@cnpdia.embrapa.br

**Projeto Componente:** PC4

**Plano de Ação:** 01.05.1.01.04.04

---

### Resumo

Neste trabalho, a potenciabilidade de aplicação de hidrogéis de poliacrilamida (PAAm) e metilcelulose (MC) como carreador em sistemas de liberação controlada do pesticida paraquat foi investigada por medidas espectroscópicas UV-Visível. Os resultados indicaram que a taxa de liberação pode ser controlada pela relação entre AAm/MC e que sua liberação torna-se mais prolongada à medida que se aumentam os grupamentos hidroxilas provenientes do polissacarídeo MC. A cinética de liberação pode ser otimizada (até 45 dias) pelo controle da hidrofiliabilidade através da variação entre a relação acrilamida / metilcelulose na solução formadora dos hidrogéis. Por tudo apresentado e pela alta absorção de água dos hidrogéis, estes materiais podem ser considerados como promissores para serem aplicados em diferentes campos na agricultura, destacando a liberação controlada de insumos agrícolas.

**Palavras-chave:** hidrogéis, poliacrilamida, metilcelulose, pesticida, liberação controlada, agronegócio.

---

### Introdução

Pesticidas podem ser definidos como substâncias utilizadas para matar, controlar ou inibir (ART, 1998) todas as formas de vidas, vegetais ou animais presentes em culturas agrícolas, pecuária, nas casas e jardins, saúde pública, no combate de vetores de doenças transmissíveis, etc. São utilizados na agricultura com três principais objetivos: aumentar a produtividade das culturas, produzir culturas de alta qualidade e reduzir o custo de mão-de-obra. O polissacarídeo metilcelulose (MC) trata-se de um polímero polihidroxilado hidrofílico solúvel em meio aquoso, podendo ser transformado em gel através de reticulação química

utilizando di-aldeídos na presença de ácido forte (TOMIHATA e IKADA, 1997; PARK et al., 2001). No entanto, hidrogéis de metilcelulose apresentam pobre resistência mecânica limitando à sua aplicação tecnológica. Já hidrogéis sintetizados a partir de monômeros sintéticos apresentam excelentes propriedades mecânicas e hidrofílicas. Assim, a síntese de hidrogéis de metilcelulose suportadas mecanicamente em redes poliméricas constituídas por poliacrilamida (PAAm) reticuladas torna-se uma perspectiva para possibilitar à sua aplicação. Dentre as diferentes aplicações, as relacionadas com o agronegócio, principalmente a liberação controlada de pesticidas, têm se tornado uma interessante vertente (ISIKLAN, 2007). Sendo que as principais propriedades que credenciam os hidrogéis são:

atoxicidade; biodegradabilidade; variação de propriedades em função de estímulos externos (intensidade iônica e pH); alta hidratação em um curto intervalo de tempo; capacidade de liberação prolongada/controlada de água e insumos agrícolas. O objetivo principal desse sistema é aumentar a eficiência funcional do insumo, reduzindo os riscos de toxidez para o homem e contaminação ambiental.

Este trabalho teve como objetivo principal desenvolver hidrogéis de poli(acrilamida) contendo o polissacarídeo metilcelulose buscando hidrogéis para aplicação em sistemas carreadores para liberação controlada do pesticida paraquat.

## Materiais e métodos

Os hidrogéis constituídos por PAAm e polissacarídeo biodegradável MC foram obtidos por meio de polimerização química do monômero acrilamida (AAm) em solução aquosa contendo MC, agente de reticulação N'-N metileno-bisacrilamida (MBAAm) e catalisador N,N,N',N'- tetrametil-etilendiamina (TEMED). Persulfato de sódio foi utilizado como iniciador da reação de polimerização via radical livre.

Inicialmente foi quantificada a adsorção de paraquat nos hidrogéis através da inserção de um hidrogel previamente seco em uma dada solução de paraquat com concentração conhecida ( $C_0$ ). As concentrações do paraquat foram determinadas utilizando-se um espectrofotômetro UV-Visível baseando-se em uma curva de calibração, previamente construída em um específico comprimento de onda ( $\lambda = 258 \text{ nm}$ ),  $R^2 = 0.9991$ . Posteriormente, foi realizado o estudo de liberação do pesticida paraquat em meio aquoso. Para isso, o hidrogel foi retirado da solução de estudo  $C_0$  e adicionado em um recipiente contendo volume conhecido de água, sendo que alíquotas foram retiradas e quantificadas utilizando o mesmo procedimento descrito acima. Após as medidas em cada tempo, as alíquotas foram recolocadas na solução de origem, para que o volume do sistema não sofresse alteração. Os resultados de liberação foram quantificados em termos de liberação cumulativa (LC) em função do tempo utilizando a Eq. 1:

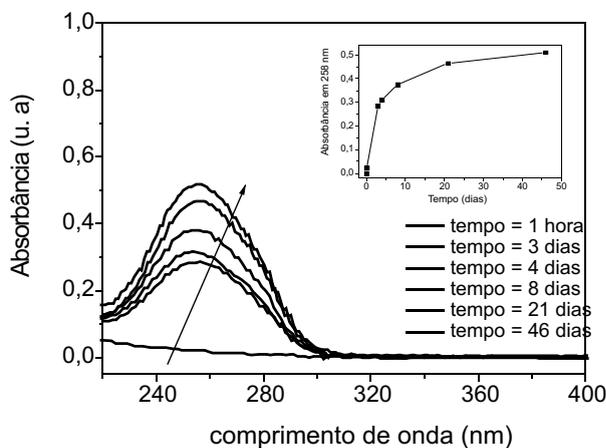
$$LC(\%) = \frac{M_t}{M} \times 100 \quad (1)$$

onde  $M_t$  é a quantidade de pesticida liberada pelo hidrogel no tempo  $t$  e  $M$  é a quantidade total de pesticida carregada no hidrogel.

## Resultados e discussão

A potencialidade de liberação controlada do pesticida paraquat a partir de hidrogéis de PAAm e MC foi investigada utilizando a técnica

espectroscópica UV-Visível. Na Figura 1 são mostrados a variação espectral de absorção do pesticida paraquat em toda a região ultravioleta e o processo cinético de liberação do paraquat no comprimento de onda de absorção máxima ( $\lambda = 258 \text{ nm}$ ) (Inset) do hidrogel constituído por 6,0 % de AAm e 1,0 % de MC.



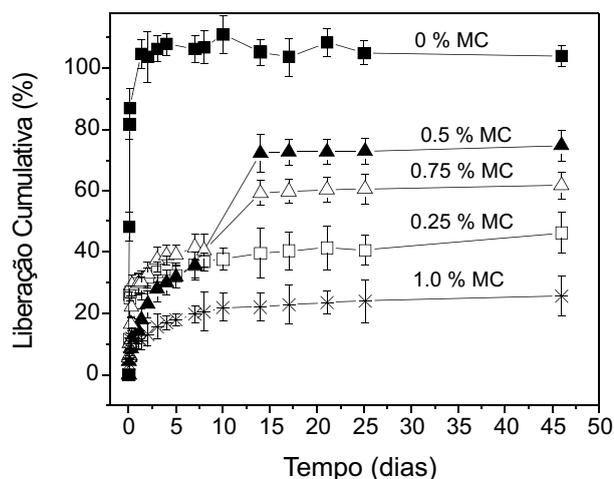
**Fig. 1.** Cinética de liberação do pesticida paraquat através do hidrogel de PAAm-MC:  $[AAm] = 6,0 \%$  (m/v),  $[MC] = 1,0 \%$  (m/v),  $[C_0] = 37,5 \text{ mg L}^{-1}$ , e  $T = 25,0 \pm 0,1 \text{ }^\circ\text{C}$ .

Na Figura 2 são mostradas as percentagens de liberação cumulativa em função do tempo para hidrogéis com 6,0 % de AAm e diferentes teores de MC. Pode-se observar que a menor quantidade de paraquat liberada foi obtida para os hidrogéis constituídos apenas por PAAm. Esse hidrogel libera praticamente todo o paraquat adsorvido em apenas 1 dia, devido a pequena interação que sua matriz possui com o pesticida. Nessas condições o processo de adsorção ocorre via interação hidrofóbica entre grupamentos amidas (via PAAm) e regiões catiônicas do pesticida. À medida que a concentração de MC é aumentada observa-se aumento na quantidade de paraquat liberada, o que é desejável. Os valores de liberação cumulativa para hidrogéis contendo MC foram 41; 73; 60 e 24 % para 0,25; 0,5; 0,75 e 1,0 % de MC, respectivamente. O hidrogel com 0,5 % de MC apresentou o máximo de liberação de paraquat. Ainda é observada que a cinética atinge o estado de equilíbrio em torno de 15-20 dias.

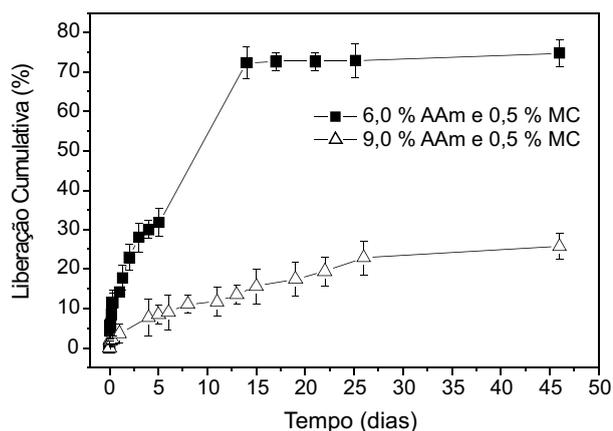
Foi investigada também a influência da concentração de acrilamida no processo de liberação controlada do pesticida paraquat e seus resultados estão mostrados na Figura 3.

O aumento da concentração de AAm, e consequentemente aumento da rigidez da matriz polimérica (PAAm + MC), provoca diminuição considerável na percentagem de pesticida liberada. Isto indica que a interação pesticida-matriz é mais forte nessas condições. Também, outro fator que contribui para esse efeito é o menor grau de

intumescimento. Observa-se ainda a extensão do processo de liberação para 45 dias.



**Fig. 2.** Dependência da liberação cumulativa em função do tempo para hidrogéis de PAAm-MC: [AAm] = 6,0 % (m/v), [C<sub>0</sub>] = 37,5 mg L<sup>-1</sup>, e T = 25,0 0,1 °C.



**Fig. 3.** Dependência da liberação cumulativa em função do tempo para hidrogéis de PAAm-MC: [MC] = 0,5 % (m/v), [C<sub>0</sub>] = 37,5 mg L<sup>-1</sup>, e T = 25,0 0,1 °C.

## Conclusões

O estudo destes materiais possibilitou a otimização do controle da cinética de liberação do paraquat (até 45 dias) por meio do controle da hidrofiliicidade dos mesmos através da variação entre a relação acrilamida / metilcelulose na solução formadora dos hidrogéis. O processo de liberação foi fortemente dependente das concentrações de metilcelulose e acrilamida. Sendo que sua liberação torna-se mais prolongada à medida que se aumentam os grupamentos hidroxilas.

Por tudo apresentado e pela alta absorção de água dos hidrogéis, estes materiais podem ser

considerados como promissores para serem aplicados em diferentes campos na agricultura, destacando a liberação controlada de insumos agrícolas.

## Agradecimentos

CNPq, FAPESP, FIPAI, FINEP/MCT, EMBRAPA, USDA.

## Referências

- ART, H. W. **Dicionário de ecologia e Ciências ambientais**. São Paulo: Melhoramentos, 1998.  
 ISIKLAN, N. J. **Appl. Polym. Sci.**, New York, v. 105, n. 2, p. 718-725, 2007.  
 PARK, J. -S.; PARK, J. -W.; RUCKENSTEIN, E. **Polymer**, [S.l.], v. 42, n. 9, p. 4271-4280, 2001.  
 TOMIHATA, K.; IKADA, Y. **J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.**, Easton, v. 35, n. 16, p. 3553-3559, 1997.



## EMPREGO DE ISOTERMAS DE LANGMUIR E FREUNDLICH NO PROCESSO DE ADSORÇÃO DE PARAQUAT POR HIDROGÉIS DE POLIACRILAMIDA E METILCELULOSE

Fauze Ahmad Aouada<sup>1,4</sup>, Zhongli Pan<sup>2</sup>, Bor-Sen Chiou<sup>3</sup>, William J. Orts<sup>3</sup>, Luiz Henrique Capparelli Mattoso<sup>4\*</sup>

<sup>1</sup>Depto. de Química - UFSCar, 13560-905, São Carlos, SP

<sup>2</sup>Processed Foods Research Unit, USDA-ARS-WRRC, Albany, CA, United States

<sup>3</sup>Bioproduct Chemistry & Engineering Research Unit, USDA-ARS-WRRC, Albany, CA, United States

<sup>4</sup>Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação Agropecuária, 13560-970, São Carlos, SP \* mattoso@cnpdia.embrapa.br

**Projeto Componente:** PC4

**Plano de Ação:** 01.05.1.01.04.04

### Resumo

O presente trabalho teve como objetivo principal aplicar as isotermas de adsorção descritas por Langmuir e Freundlich no processo de adsorção do pesticida paraquat pelos hidrogéis de poliacrilamida e metilcelulose. Os resultados demonstraram que os dados experimentais obtidos são melhores descritos quando a isoterma de Freundlich é aplicada. Pelas análises dos parâmetros obtidos a partir das isotermas de Freundlich ( $K_F$  e  $n$ ) conclui que o processo de adsorção é mais favorável para hidrogéis com concentração de metilcelulose em torno de 0,5 %:  $K_F = 0,619 \text{ L g}^{-1}$  e  $1/n = 1,060$ .

**Palavras-chave:** hidrogéis, isotermas de Langmuir, isotermas de Freundlich, adsorção, paraquat.

### Introdução

Isotermas de adsorção são modelos matemáticos que descrevem a distribuição de adsorbatos entre líquidos e adsorventes, baseando-se em um conjunto de dados que principalmente estão relacionados com a homogeneidade/heterogeneidade das superfícies das espécies adsorventes, e a possibilidade de interação entre as espécies adsorbadas (CHEN et al., 2007).

O processo de adsorção ocorre principalmente como resultado da interação entre duas moléculas, no nosso caso entre moléculas adsorventes (superfície do hidrogel) e moléculas de pesticida, que atua como adsorbato.

A equação de Langmuir, que foi inicialmente utilizada para descrever a adsorção de gases por

sólidos, baseia-se em três suposições: (a) a superfície de adsorção é homogênea, isto é, a adsorção é constante e independente da extensão da cobertura da superfície; (b) a adsorção ocorre em sítios específicos, sem interação com as moléculas do soluto; (c) a adsorção torna-se máxima quando uma camada monomolecular cobre totalmente a superfície do adsorvente (ALLEONI et al., 1998). Já a isoterma de Freundlich assume que o processo de adsorção ocorre em superfícies heterogêneas. Em geral, em sistemas que seguem essa isoterma, o processo de adsorção ocorre com a formação de multicamadas.

Este trabalho teve como objetivo estudar através das isotermas de Langmuir e Freundlich o processo de adsorção do pesticida paraquat pelos hidrogéis de PAAm e MC.

## Materiais e métodos

Os hidrogéis constituídos por PAAm e polissacarídeo biodegradável MC foram obtidos por meio de polimerização química do monômero acrilamida (AAm) em solução aquosa contendo MC, agente de reticulação N'-N metileno-bisacrilamida (MBAAm) e catalisador N,N,N',N'- tetrametil-etilenodiamina (TEMED). Persulfato de sódio foi utilizado como iniciador da reação de polimerização via radical livre. Foi adotada a notação (AAm-MC) para identificação dos hidrogéis.

Com o intuito de investigar o tipo de adsorção, modelos de Langmuir e Freundlich que são os mais usados para descrever isothermas para aplicações em remediação de água. O modelo de Langmuir pode ser representado pela Equação abaixo:

$$\frac{C_{eq}}{q_{eq}K_L} = \frac{1}{K_L} + \frac{C_{eq}}{q_{eq}}$$

onde  $q_{eq}$  é a adsorção máxima de pesticida pelo hidrogel ( $mg\ g^{-1}$ ),  $C_{eq}$  é a concentração da solução de pesticida no equilíbrio ( $mg\ L^{-1}$ ),  $K_L$  ( $L\ g^{-1}$ ) e  $\frac{1}{K_L}$  ( $L\ mg^{-1}$ ) são constantes das isothermas de Langmuir.

O modelo baseado na isoterma de Freundlich pode ser expresso pela seguinte Equação:

$$\ln q_{eq} = \ln K_F + \frac{1}{n} \ln C_{eq}$$

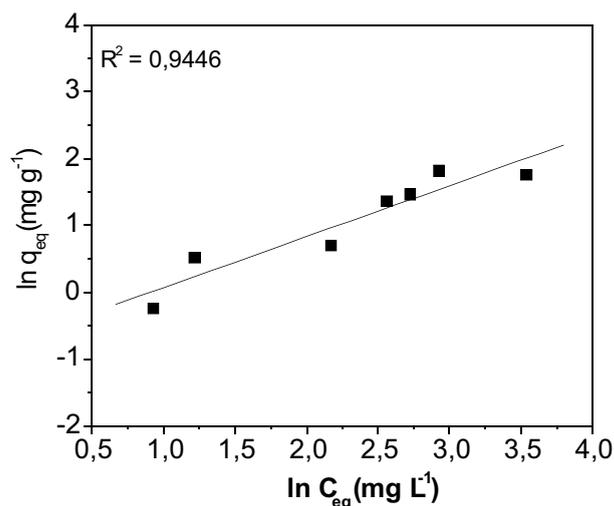
onde  $K_F$  ( $L\ g^{-1}$ ) e  $n$  ( $mg\ L^{-1}$ ) são constantes que incorporam todos os fatores que refletem o processo de adsorção (capacidade e intensidade de adsorção).

## Resultados e discussão

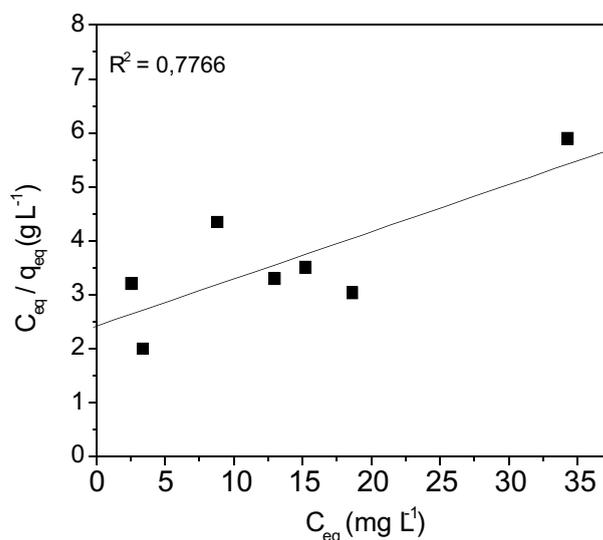
As análises de adsorção foram realizadas a partir de solução aquosa com diferentes concentrações de paraquat. As condições do estudo foram: [paraquat] = 4,6 – 45,7  $mg\ L^{-1}$  (1  $mg\ L^{-1}$  = 1 ppm), [AAm] = 6,0 % (m/v) e [MC] = 0 – 1,0 % (m/v). A cinética de adsorção foi acompanhada até o estado de equilíbrio, com temperatura controlada de 25,0 ± 0,1 °C. As concentrações do paraquat foram determinadas em espectrofotômetro UV-Visível baseando-se em uma curva de calibração, previamente construída em  $\lambda = 258\ nm$ ,  $R^2 = 0.9991$ .

Exemplos da aplicação das isothermas de Freundlich e Langmuir aplicados para o mesmo hidrogel são mostrados nas Figuras 1 e 2, respectivamente.

Os valores das constantes e do coeficiente de regressão linear ( $R^2$ ) obtidos para cada modelo estão listados na Tabela 1. Baseando nos valores de  $R^2$ , a adsorção do pesticida paraquat em hidrogéis constituídos por PAAm e MC seguiu o modelo de Freundlich.



**Fig. 1.** Curva da isoterma de Freundlich realizado para o estudo de adsorção do pesticida paraquat para o hidrogel de PAAm-MC constituído por 6,0 % AAm e 0,25 % MC.



**Fig. 2.** Curva da isoterma de Langmuir realizado para o estudo de adsorção do pesticida paraquat para o hidrogel de PAAm-MC constituído por 6,0 % AAm e 0,25 % MC.

O parâmetro  $K_F$  é uma constante do sistema e está diretamente relacionada com a energia de ligação, que geralmente é definida como sendo um coeficiente de adsorção ou distribuição. Tal constante nos informa sobre a quantidade de paraquat adsorvido nos hidrogéis. O parâmetro  $1/n$  também é uma medida da intensidade de adsorção em superfícies heterogêneas (TSAI et al., 2004). Segundo Aygun et al. (2003) quanto mais o valor de  $1/n$  se aproximar de zero, maior afinidade o adsorbato terá pelo adsorvente. Além disso, valores de  $n > 1$  indicam que a adsorção está acontecendo em multicamadas.

**Tabela 1.** Valores das constantes obtidas através das análises das isotermas de Langmuir e Freundlich para o estudo de adsorção do pesticida paraquat em hidrogéis (AAM-MC).

	Constantes de Langmuir			
	$K_L$	$L$	$Q_0^*$	$R^2$
(6,0-0)	0,079	0,0644	1,225	0,8740
(6,0-0,25)	0,413	0,0362	11,417	0,7766
(6,0-0,5)	0,558	-0,0099	-56,107	0,0948
(6,0-0,75)	0,427	-0,0117	-36,690	0,0825
(6,0-1,0)	0,512	-0,01734	-29,521	0,1161
	Constantes de Freundlich			
	$K_F$	$n$	$1/n$	$R^2$
(6,0-0)	0,140	1,939	0,516	0,9042
(6,0-0,25)	0,498	1,309	0,764	0,9446
(6,0-0,5)	0,619	0,943	1,060	0,8231
(6,0-0,75)	0,475	0,889	1,125	0,6939
(6,0-1,0)	0,377	0,737	1,357	0,7983

$$* Q_0 = K_L / L$$

Os coeficientes indicaram que quanto maior a concentração de metilcelulose, mais os sistemas desviam de um comportamento simples de adsorção. Também, provavelmente esses desvios possam indicar que o paraquat adsorve em sítios preferenciais da metilcelulose e/ou poliacrilamida.

Os valores de  $K_F$  aumentam com o aumento da concentração de metilcelulose na solução de síntese atingindo um valor máximo em MC = 0,5 % ( $K_F = 0,619 \text{ L g}^{-1}$ ). Acima dessa concentração, pode ser observado um decréscimo em  $K_F$ . Isto é um indício que ocorre saturação dos grupamentos hidroxilas pela interação com paraquat para MC > 0,5 %.

Adicionalmente, os valores de  $1/n$  mostraram que o processo de adsorção é mais favorável para hidrogéis com concentração de metilcelulose menor que 0,5 %. Onde o máximo do processo de adsorção ocorre para  $1/n = 1$ , hidrogéis constituídos por 6,0 % AAm e 0,5 % MC.

## Conclusões

O tipo de adsorção do paraquat foi melhor descrito pelo modelo baseado nas isotermas de Freundlich. Os resultados mostraram que os valores de  $K_F$  dos hidrogéis aumentam com o aumento da concentração de metilcelulose na solução de síntese atingindo um valor máximo em MC = 0,5 % ( $K_F = 0,619 \text{ L g}^{-1}$ ). Os valores de  $1/n$  mostraram que o processo de adsorção é mais favorável para hidrogéis com concentração de metilcelulose em torno de 0,5 % ( $1/n = 1$ ).

## Agradecimentos

CNPq, FAPESP, FIPAI, FINEP/MCT, EMBRAPA, USDA.

## Referências

- ALLEONI, L. R. F.; CAMARGO, O. A.; CASAGRANDE, J. C. *Sci. Agric., [Piracicaba]*, v. 55, n. 3, p. 379-387, 1998.
- AYGUN, A.; YENISOY-KARAKAS, S.; DUMAN, I. *Microporous Mesoporous Mater.*, [S. l.], v. 66, n. 2-3, p. 189-195, 2003.
- CHEN, C.; LI, X.; ZHA, D.; TAN, X.; WANG, X. *Colloids Surf.*, A, Amsterdam, v. 302, n. 1-3, p. 449-454, 2007.
- TSAI, W. T.; LAI, C. W.; HSIEN, K. J. *Chemosphere*, Oxford, v. 55, n. 6, p. 829-837, 2004.



---

## DESLIGNIFICAÇÃO DA MEDULA DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR E OBTENÇÃO DE NANOFIBRAS DE CELULOSE

---

Francieli B. de Oliveira<sup>1</sup>, Thalita J. Bondancia<sup>1,3</sup>, Eliangela de M. Teixeira<sup>1</sup>, Francys K.V. Moreira<sup>1,2</sup>, Luiz H. C. Mattoso<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>LNNA / EMBRAPA, Laboratório Nacional de Nanotecnologia aplicada ao Agronegócio, Empresa Brasileira de Instrumentação Agropecuária \*e-mail: mattoso@cnpdia.embrapa.br

<sup>2</sup>DEMa/UFSCar, Departamento de Engenharia de Materiais, Universidade Federal de São Carlos

<sup>3</sup>DQ/UFSCar, Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos

**Projeto Componente:** PC4

**Plano de Ação:** 01.05.1.01.04.04

---

### Resumo

A produção de álcool de cana-de-açúcar é uma importante atividade econômica no estado de São Paulo, conseqüentemente, gera uma grande quantidade de resíduos - bagaço de cana-de-açúcar. Este, por sua vez, pode ser usado como fonte de obtenção de nanofibras de celulose. As nanofibras de celulose foram extraídas por hidrólise ácida da medula de bagaço de cana-de-açúcar. Estas foram extraídas por hidrólise ácida da medula do bagaço de cana-de-açúcar. Em seguida, estas foram caracterizadas por termogravimetria (TG) para avaliar estabilidade térmica, microscopia eletrônica de transmissão (MET) para avaliar a morfologia, cristalinidade (difração de raio X). Os resultados mostraram a obtenção de nanofibras em torno de 250 e 7 nm de comprimento e diâmetro, respectivamente.

**Palavras-chave:** celulose, nanofibra, bagaço de cana-de-açúcar, matriz biodegradável.

---

### Introdução

---

Nos últimos anos a conscientização a respeito da preservação do meio ambiente resultou em um crescente interesse no uso de materiais que causem menor impacto ambiental. Tal fato é motivado principalmente pelo aumento do consumo de materiais poliméricos não biodegradáveis, os quais se acumulam em diversas esferas do ecossistema terrestre. Desta forma, o uso de materiais sustentáveis tem crescido, principalmente, aqueles obtidos de fontes renováveis, tais como amido e celulose (AVÉROUS e HALLEY, 2009). Conseqüentemente, observa-se o aumento significativo de pesquisas envolvendo a substituição de fibras sintéticas por fibras de origem vegetal, devido às suas propriedades específicas na preparação de compósitos poliméricos (PASQUINI et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2008; MARTINS et

al., 2009a). A partir de fibras lignocelulósicas é possível obter nanofibras por meio de hidrólise ácida. Neste contexto, nanofibras de celulose podem ser uma alternativa viável para desenvolver materiais de elevado desempenho mecânico, uma vez que apresentam baixa densidade e, ainda são biodegradáveis (MARTINS et al., 2009). As nanofibras de celulose podem ser extraídas de resíduos vegetais, por exemplo, a medula bagaço da cana-de-açúcar (MBC), o que possibilita a agregação de valor a essa matéria-prima. O Brasil é atualmente o principal produtor de cana-de-açúcar no mundo, com produção de cerca de 691 milhões de toneladas em junho de 2009 (IBGE, 2009). Este também representa o maior subproduto gerado nos engenhos de etanol e açúcar no país, especialmente no estado de São Paulo, onde se concentram as plantações tradicionais da cultura (HOAREAU et al., 2004). O teor de celulose (~50%) associado com

o baixo custo e elevada quantidade de resíduo gerada torna atrativo seu uso como fonte de nanofibras de celulose. No entanto, essa fibra deve passar por um processo de isolamento da celulose ou deslignificação, também conhecido como branqueamento. O presente estudo descreve a deslignificação da medula de bagaço de cana-de-açúcar (MBC), para preparação e caracterização de nanofibras de celulose e posterior incorporação em matriz biodegradável de amido.

## Materiais e métodos

As fibras de medula de bagaço de cana-de-açúcar foram previamente trituradas foram branqueadas por diferentes tratamentos: (A) Hidróxido de sódio (NaOH): as fibras foram adicionadas a um béquer contendo solução de NaOH (5 %) mantidas sob agitação mecânica por 60 min a 90 °C. (B) Mistura dos ácidos acético (CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H) e nítrico (HNO<sub>3</sub>): as fibras foram adicionadas a um béquer contendo uma mistura de soluções dos ácidos acético (80 %) e nítrico (70 %), sendo mantidas sob agitação por 30 min a 90 °C. (C) Peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>): as fibras foram adicionadas a um béquer contendo uma mistura de soluções de hidróxido de sódio (NaOH 4%) e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (40%) e mantidas sob agitação mecânica por 90 min a 55 °C. Em seguida, para todos os branqueamentos, as fibras foram lavadas com água destilada, até atingir pH idêntico ao da água usada na lavagem e secas em estufa de circulação de ar (50 °C), até massa constante. Os experimentos de microscopia eletrônica de transmissão (MET) foram feitos em equipamento marca TECNAI F20G2 com aceleração de voltagem 120 kV no módulo STEAM, a suspensão foi diluída, depositada sobre gride. As análises de termogravimetria (TG) foram feitas em aparelho TA Instruments Q500: 7,5 – 9,5 mg; 25 – 700 °C; atmosfera de nitrogênio; 10 °Cmin<sup>-1</sup>; 60 mL.min<sup>-1</sup>. As análises de difração de raios X foram feitas em difratômetro RIGAKU, comprimento de onda 1,542 (k Å), velocidade de 2 ° min<sup>-1</sup>, 5 – 40° (ângulo de Bragg 2 θ), potência de 40 mA e 40 kV. O índice de cristalinidade foi determinado através da relação entre os picos de intensidade máxima (Imáx) e mínima (Imín), de acordo com a equação (SEGAL et al., 1959):  $I_{cr} = [(I_{máx} - I_{mín}) / I_{máx}] \times 100$ , leia-se:  $I_{cr}$ : índice de cristalinidade;  $I_{máx}$ : intensidade máxima ( $I_{22^\circ}$ ),  $I_{mín}$ : intensidade mínima ( $I_{18^\circ}$ ).

## Resultados e discussão

Os resultados para os teores de lignina, estabilidade térmica e cristalinidade das fibras submetidas a diferentes tratamentos são apresentados na Tabela 1. Todos os tratamentos químicos empregados reduzem o teor de lignina da MBC *in natura* em torno de 50 %. No entanto, o tratamento C, o qual utiliza H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em meio alcalino

em duas etapas de deslignificação, se mostrou mais eficiente na remoção da lignina, com o teor residual de 5,8 %.

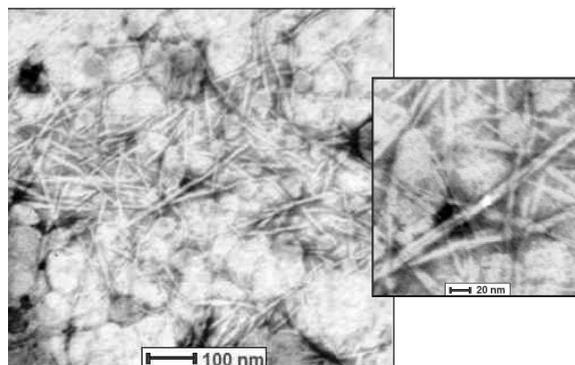
**Tabela 1.** Valores de lignina, cristalinidade e estabilidade térmica para MBC submetidas a diferentes tratamentos.

Tratamentos	Lignina (%)	Cristalinidade (%)	T <sub>i</sub> (°C)
MBC <i>in natura</i>	26,4	50	253
MBC - A	12,5	69	241
MBC - B	9,7	67	247
MBC - C	5,8	78	278

T<sub>i</sub>: Temperatura inicial de degradação térmica obtida via TG

Os tratamentos de deslignificação, além de remover a lignina, aumentaram o índice de cristalinidade, da MBC *in natura*. Tal comportamento é atribuído ao rearranjo das cadeias celulósicas após a remoção da lignina. Os reagentes utilizados nos tratamentos reagem, preferencialmente, com a lignina devido a grande quantidade de grupos cromóforos presentes na sua cadeia polimérica. As cadeias de lignina localizam-se próximas a superfície da fibra vegetal, enquanto as cadeias de celulose se encontram mais protegidas de ataques químicos no interior da fibra (SUN et al., 2004). Então se tem como resultado final, um aumento das regiões cristalinas da fibra proporcionalmente ao teor de celulose final após o processo de deslignificação (BLEDZKI et al., 1999). Para a MBC submetida ao tratamento C ocorreu um aumento na temperatura inicial de degradação térmica de 253 para 278°C, resultado compatível com maior valor de índice de cristalinidade obtido para este tratamento. Portanto, o tratamento C se mostra o mais adequado para a extração de nanofibras a partir da celulose da MBC.

Os estudos conduzidos atualmente pelo grupo de pesquisa em nanofibras de celulose do LNNA, focam o uso de hidrólise ácida para a obtenção das nanofibras de celulose. A Figura 1 apresenta uma micrografia obtida por MET, onde é ilustrada a morfologia das nanofibras obtidas da MBC - C.



**Fig. 1.** MET para as nanofibras de MBC.

As nanofibras apresentam um formato de hastes alongadas, bem como homogeneidade em suas dimensões. O comprimento e o diâmetro médio foram determinados, utilizando-se o programa de análise de imagem (ImagePlus), situam-se em torno de 250 e 7 nm, respectivamente.

---

### **Conclusões**

---

Os resultados mostraram que o uso de fibras de medula de bagaço de cana-de-açúcar são uma alternativa viável para obtenção de nanofibras de celulose.

---

### **Agradecimentos**

---

FAPESP, CNPq, EMBRAPA, FINEP/MCT.

---

### **Referências**

---

- AVÉROUS, J-L.; HALLEY, P.J. **Biofuels, Bioproducts & Biorefining**, v. 3, p. 329-343, 2009.
- BLEDZKI, A.K.; GASSAN, J. **Progress in Polymer Science**, v. 24, p. 221-274, 1999.
- GAÑÁN, P.; ZUALUAGA, R.; RESTREPO, A.; LABIDI, J.; MONDRAGON, I. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 486-491, 2008.
- HOHEAU, W.; TRINDADE, W.G.; SIEGMUND, B.; CASTELLAN, A.; FROLLINI, E. **Polymer Degradation and Stability**, v. 86, p. 567-576, 2004.
- MARTINS, I.V.G.; MAGINA, S.P.; OLIVEIRA, L.; FREIRE, C.S.R.; SILVESTRE, A.J.D.; NETO, C.P.; GANDINI, A. **Composites Science and Technology**, v. 69, p. 2163-2168, 2009.
- OLIVEIRA, F. B.; GARDRAT, C.; ENJALBAL, C.; FROLLINI, E.; CASTELLAN, A. **Journal of Applied Polymer Science**, New York, v. 109, p. 2291-2303, 2008.
- PASQUINI, D.; TEIXEIRA, E. M.; CURVELO, A. A. S.; BELGACEM, M. N.; DUFRESNE, A. **Composites Science and Technology**, Barking, v. 68, p. 193-201, 2008.
- SEGAL, L.; CREELY, J. J.; MARTIN Jr, E.; CONRAD, C. M. **Textile Research Journal**, Princeton, v. 29, p. 786-794, 1959.
- SUN, J. X.; SUN, X. F.; ZHAO, H.; SUN, R. C. **Polymer Degradation and Stability**, Essex, v. 84, p. 331-339, 2004.



---

## FILMES BIODEGRADÁVEIS DE AMIDO DE MANDIOCA, EXTRATO DE SOJA E ARGILA

---

Geisa Oliveira Rocha<sup>1</sup>, Carla Silva Teba<sup>1</sup>, Carlos Wanderlei Piler Carvalho<sup>2\*</sup>, José Luis Ramírez Ascheri<sup>2</sup>, Diego Palmiro Ramirez Ascheri<sup>3</sup>, Cristina Tristão de Andrade<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós Graduação em Alimentos, UFRRJ, Seropédica/RJ

<sup>2</sup>Laboratório de Extrusão, Embrapa Agroindústria de Alimentos, 23020-470, Rio de Janeiro/RJ

\*cwpiler@ctaa.embrapa.br

<sup>3</sup>Universidade Estadual de Goiás, Anápolis/GO

<sup>4</sup>IMA-UFRJ, Rio de Janeiro/RJ

**Projeto Componente:** PC4

**Plano de Ação:** 01.05.1.01.04.03

---

### Resumo

Misturas de amido de mandioca, glicerol (30%), extrato de soja (0 a 40%) argila (0 a 13,6%) foram processadas em uma analisador rápido de viscosidade obtendo-se soluções filmogênicas que pela técnica de espalhamento formaram filmes finos após secagem controlada. A espessura, permeabilidade ao vapor de água (PVA) e a solubilidade foram determinadas nos filmes. Com aumento dos teores de argila e proteína houve significativo aumento da espessura (12% de argila e 40% de proteína). Os valores de PVA reduziram com a redução do teor de argila, enquanto a proteína não exerceu efeito. A solubilidade dos filmes aumentou consideravelmente com a adição de proteína e ligeiramente foi reduzida com argila. Filmes finos de amido elaborados por espalhamento e adicionados de argila apresentam baixa barreira à umidade do ar, enquanto a solubilidade em água aumenta com a adição de proteína.

**Palavras-chave:** filmes biodegradáveis, argila, embalagem.

---

### Introdução

Atualmente as pesquisas de filmes biodegradáveis para embalagens vêm aumentando, em função do aumento do custo das resinas de petróleo, bem como da maior conscientização ambiental. O filme biodegradável é uma película fina de material biológico, que pode agir como uma barreira a elementos externos e consequentemente, conferir maior proteção ao produto, o que aumenta a sua vida útil (WOO et al., 2000).

No Brasil, a soja é considerada uma fonte protéica vegetal disponível em abundância e economicamente competitiva. A presença de partículas nanoestruturadas pode influenciar nas propriedades de barreira e solubilidade em água dos materiais. A adição de argila tem sido usada devido a sua propriedade de melhoria das propriedades

mecânicas dos filmes por permitir associação entre o polímero e as camadas interplanares da argila.

O objetivo deste trabalho foi estudar o efeito do extrato de soja e da argila Cloisite®15A na matriz amilácea dos filmes, através da determinação das propriedades de espessura, permeabilidade ao vapor de água e solubilidade em água.

---

### Materiais e métodos

---

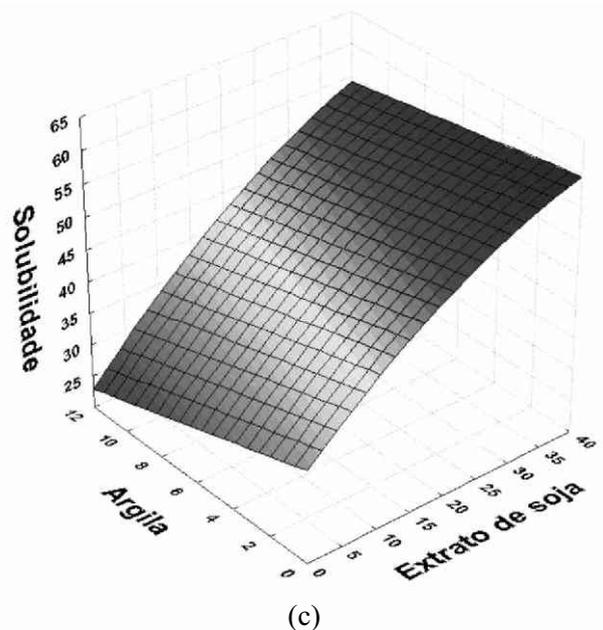
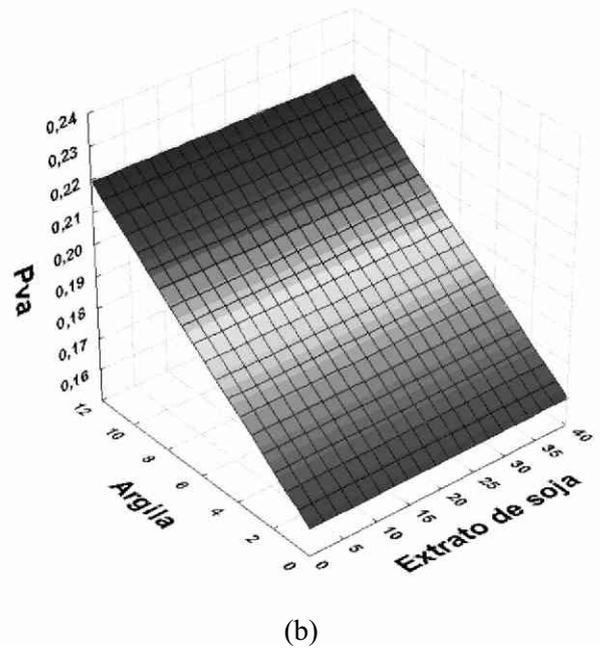
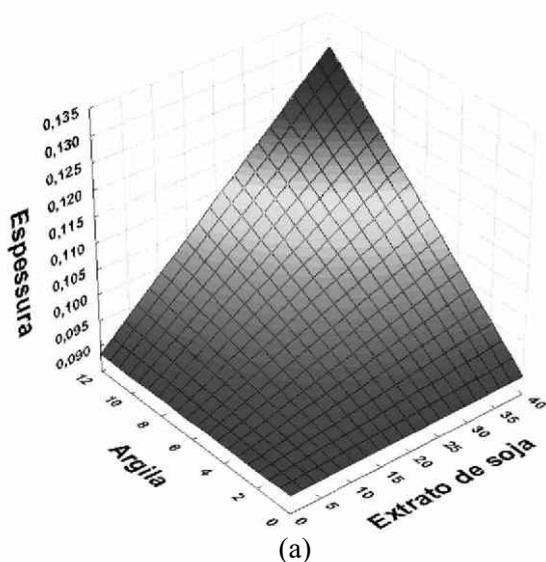
O delineamento experimental central composto rotacional de 2º ordem e o modelo matemático superfície de resposta foram utilizados para o estudo das variáveis independentes, concentração de soja e teor de argila cloisite 15A.

As soluções filmogênicas a 2,5% (p/p) de sólidos totais (ST) de amido de mandioca, de extrato

protéico de soja (0,015; 5,9; 20,1; 34,3 e 40,18%), de argila (0,01; 2,0; 6,8; 11,6 e 13,58%) e glicerol 30% (calculado com base no teor de sólidos totais), em pH 12, foram usadas na elaboração de filmes biodegradáveis pela técnica de espalhamento. Aliquotas de 41,7 g da SF foram colocadas em placas de Petri descartáveis, e levadas à estufa com circulação de ar forçada ( $30^{\circ}\text{C} \pm 2$ ) por 24 h e mantidos em umidade relativa controlada (53%). Após equilíbrio, os filmes foram analisados quanto a sua espessura em cinco pontos aleatórios, com auxílio de um micrômetro conforme a metodologia descrita por Cao et al. (2007), a permeabilidade ao vapor de água (PVA) foi determinada gravimetricamente a  $25^{\circ}\text{C}$ , de acordo com o método E96-80, descrito na ASTM (American Society for Testing and Materials) com modificações e a solubilidade em água dos filmes foi determinada segundo a metodologia proposta por Gontard et al. (1992). Todas análises foram conduzidas em triplicata.

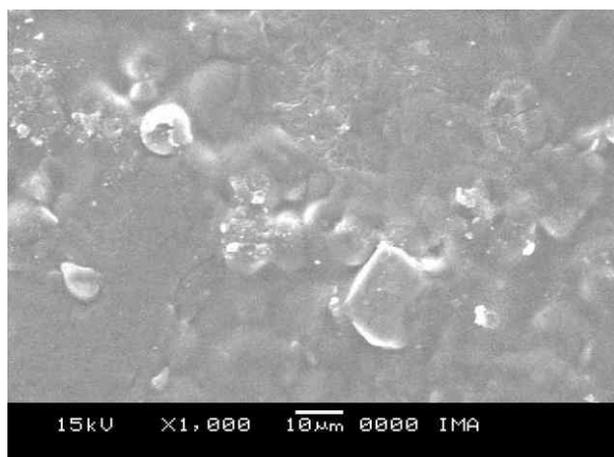
## Resultados e discussão

As superfícies de resposta dos efeitos estatisticamente significativos do teor de argila e de extrato de soja nas características físicas dos filmes estão dispostas na Figura 1a, b e c. A espessura dos filmes foi influenciada pela interação extrato de soja e argila, a redução destes dois fatores resulta numa redução da espessura. Já a variável permeabilidade ao vapor de água foi influenciada apenas pelo teor de argila, onde pode-se observar a redução da permeabilidade ao vapor de água com a redução linear da concentração de argila. A solubilidade em água dos filmes foi influenciada pela interação das 2 variáveis, onde a redução do teor de extrato de soja e aumento do teor de argila favoreceram a redução da solubilidade em água dos filmes.

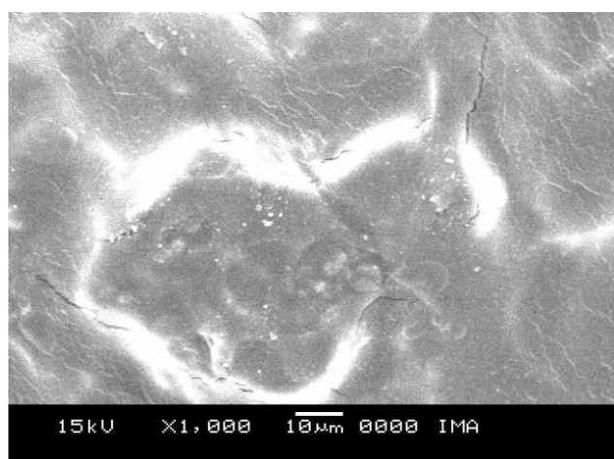


**Fig. 1.** Efeito da argila e do extrato de soja sobre a espessura (a), permeabilidade ao vapor de água (b) e solubilidade em água dos filmes(c).

A microestrutura dos filmes de amido e soja que não foram adicionados de argila estão apresentados na Figura 2 A,B. O filme A com maior teor de amido apresentou maior número de estruturas circulares em relação ao filme com menor de soja. A presença destas estruturas poderia ser atribuída a incompleta conversão do amido, seja simplesmente por apresentar maior concentração de amido nestes filmes em relação à fração protéica. No entanto, não é possível verificar se houve interação entre amido e proteína com as micrografias obtidas devido a magnitude alcançada pela técnica ou equipamentos usados.



(A)



(B)

**Fig. 2.** Microscopia eletrônica de varredura do filme de amido de mandioca: (A) 20,8 % de extrato protéico de soja, (B) 40,18% extrato protéico de soja.

---

### Conclusões

---

Os filmes produzidos com baixo teor de extrato de soja apresentaram-se menos espessos e solúveis em água, enquanto que os filmes produzidos com níveis menores de argila apresentaram-se menos espessos e permeáveis, porém mais solúveis.

---

### Agradecimentos

---

À Embrapa, ao CNPq e à FAPERJ (processo E-26/111.483/2008).

---

### Referências

---

CAO, N., FU, Y., HE, J. **Food Hydrocolloids** v.21, p. 1153–1162, 2007.

GONTARD, N. **Films et enrobages comestibles: étude amélioration des propriétés filmogènes du glúten**. 1991. 174p. Tese (Dotoract Biochimie, Biologie, Cellulaire et moleculaire/ Sciecens des aliments), Université des Sciecens et techniques du Languedoc, Montpellier, 1991. apud VICENTINI, N.M. **Elaboração e caracterização de filmes comestíveis a base de fécula de mandioca para uso em pós-colheita** (Tese de Doutorado) Faculdade de Ciências Agrônômicas – UNESP, Botucatu – SP, 2003. GONTARD, N., GUILBERT, S., CUQ, J.L. **Journal of Food Science**, v.57, n.1, p. 190-195, 1992. WOO, G.L.Y., MITTELMAN, M.W., SANTERRE, J.P. **Biomaterials**, v.21, n.12, p.1235-1246, 2000.



## SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE ZNO VIA MÉTODO SOLVOTERMAL E SUA APLICAÇÃO COMO CATALISADOR NA FORMAÇÃO DE BIODIESEL

Giovanni P. Mambrini\*, Gabriela S. do Nascimento<sup>2</sup>, Caue Ribeiro<sup>1</sup> e Luiz A. Colnago<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Instrumentação Agropecuária, 13560-970, São Carlos/SP

<sup>2</sup>Depto. de Química - UFSCar, 13560-905, São Carlos/SP

\*gpmambrini@hotmail.com

Projeto Componente: PC 4

Plano de Ação: 01.05.1.01.04.02

### Resumo

A busca por combustíveis derivados de produtos agrícolas cresce atualmente devido à necessidade de diminuir a emissão de gases causadores do efeito estufa, provenientes principalmente da queima de combustíveis fósseis. Ésteres provenientes da reação de transesterificação de óleos vegetais são tidos como potenciais substitutos para o óleo diesel, combustível mais utilizado no Brasil. Desta forma, o objetivo deste trabalho é sintetizar e caracterizar nanopartículas de óxido de zinco e testar sua atividade catalítica frente a reação de transesterificação de óleos vegetais, utilizando técnicas de ressonância magnética nuclear na análise dos produtos obtidos.

**Palavras-chave:** Biodiesel, catálise, nanopartículas, ZnO, RMN.

### Introdução

Atualmente, a demanda mundial de energia cresce em torno de 1,7% ao ano, devendo alcançar em 2030 o volume de 15,3 bilhões tep (toneladas equivalentes de petróleo). A maior parte dessa energia é proveniente de combustíveis fósseis como o carvão mineral e o petróleo. As reservas confirmadas destes combustíveis são suficientes para suprir a demanda mundial apenas pelos próximos quarenta anos, sendo que 78% destas reservas estão no sub-solo de países pertencentes à OPEP (Organização dos Países Exportadores de Petróleo).

Com esse cenário, torna-se necessária a busca por fontes alternativas de energia que sejam renováveis e menos poluentes, como por exemplo, a energia solar, eólica, biomassa e também outros derivados agrícolas.

O uso de biomassa e derivados agrícolas para geração de energia é particularmente interessante por serem fontes renováveis e menos poluentes, pois

não aumentam a concentração global de CO<sub>2</sub> atmosférico. Além disso, os combustíveis obtidos emitem menos monóxido de carbono e gases derivados de enxofre (SO<sub>x</sub>).

A reação de transesterificação de óleos vegetais com álcoois leva à formação de ésteres e glicerina. Estes ésteres possuem características adequadas para substituir o óleo diesel proveniente de petróleo. O grande obstáculo para o uso em larga escala deste biocombustível ainda é a ausência de metodologias sintéticas que permitam a fabricação de grandes quantidades a preços compensadores.

Faz-se então necessária a busca por novos catalisadores para a produção do biodiesel. Cabe aqui ressaltar que este é um dos tópicos previstos no Plano Nacional de Agroenergia 2006-2011, publicado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

O óxido de zinco vem sendo apontado como um potencial catalisador para o preparo de biodiesel a partir da reação de transesterificação de óleos vegetais. Porém, nestes trabalhos são utilizadas

amostras de ZnO comerciais, sem qualquer especificação quanto a tamanho de partícula. Sabe-se que nanopartículas têm uma maior atividade catalítica devido à sua elevada área superficial específica. Desta forma, a utilização de nanopartículas de ZnO parece ser uma boa opção para a síntese de biodiesel a partir de óleos vegetais. Desta forma, o objetivo principal deste trabalho foi sintetizar nanopartículas de ZnO via método solvotermal e testar sua atividade catalítica frente à reação de transesterificação de óleo de milho.

## Materiais e métodos

Nanopartículas de ZnO foram preparadas a partir de um método semelhante àquele apresentado por Niederberger et al. para o preparo de nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  (5). Em resumo, dissolveu-se acetato de zinco em benzil álcool, cuja concentração foi de  $30\text{mmol L}^{-1}$ . Após a completa dissolução, transferiu-se a solução para um frasco fechado que foi colocado em estufa à  $120^\circ\text{C}$  por 48h. Após este intervalo de tempo, a suspensão coloidal obtida foi separada por centrifugação. Lavou-se então o pó obtido com tetra-hidro-furano e por, secou-se em placa aquecida à  $50^\circ\text{C}$  por 10min. Este pó foi então caracterizado por difratometria de raios X, utilizando-se um difratômetro Rigaku modelo D/Max 2500PC.

Após a caracterização do óxido, o mesmo foi utilizado como catalisador para a reação de transesterificação de óleo de milho. Neste ensaio, aqueceu-se uma alíquota de óleo a  $70^\circ\text{C}$ , adicionou-se então o equivalente a 5 % em massa de óleo de catalisador. Seguiu-se então a adição de metanol, cuja massa foi igual à massa de óleo. O sistema foi mantido sob agitação na mesma temperatura por duas horas.

Após este intervalo de tempo, uma alíquota de 20 L da solução foi dissolvida em 0,5 mL de clorofórmio deuterado e resfriado, a fim de conter a reação. Analisou-se então o resultado da reação pela técnica de ressonância magnética nuclear. Utilizou-se nestes ensaios um espectrômetro Varian modelo Inova 400, com campo magnético de 9,4T, equivalente a 400MHz para o  $^1\text{H}$ .

## Resultados e discussão

A Figura 1 mostra os resultados de difratometria de raios X da amostra de óxido de zinco sintetizada a partir do método descrito anteriormente.

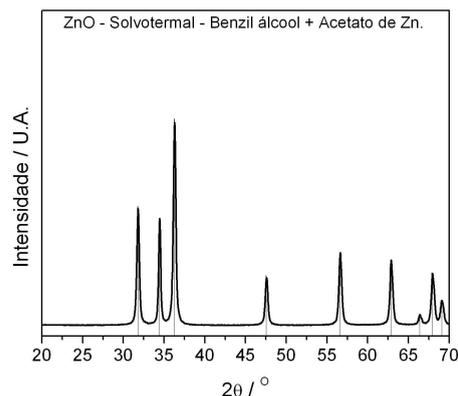


Fig. 1. Difratograma da amostra de ZnO.

Como pode ser visto na Figura 1, o material formado é cristalino. As linhas verticais mostram as posições esperadas para os picos de difração referentes ao óxido de zinco, de acordo com a ficha cristalográfica JCPDS de número 36-1451. Desta forma, verificou-se que a amostra é constituída de ZnO puro. A partir da equação de Scherrer, calculou-se o tamanho médio de cristalito, cujo valor obtido foi de 50nm. Os resultados de DRX nos mostram então a formação de óxido de zinco monofásico e nanoestruturado.

Na Figura 2 são mostrados espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio ( $^1\text{H}$ -RMN) do óleo de milho utilizado na reação de transesterificação e de uma amostra de biodiesel padrão.

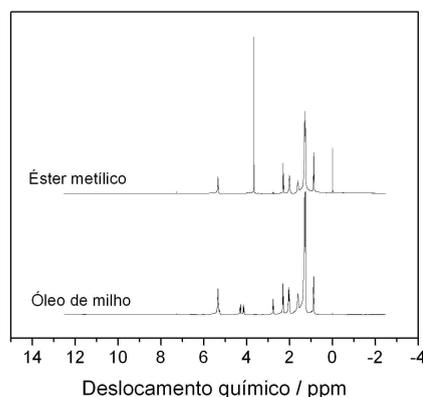


Fig. 2.  $^1\text{H}$ -RMN do óleo e dos respectivos ésteres metílicos.

Observou-se que os espectros de  $^1\text{H}$ -RMN do óleo de milho e de seus respectivos ésteres metílicos são bastante parecidos. Porém, notou-se uma clara diferença na região entre 3,5 e 4,5 ppm. No espectro do óleo, aparecem nesta região sinais devido aos átomos de hidrogênio ligados ao grupo glicerol, enquanto no espectro do produto da transesterificação aparece um singlete em 3,6 ppm, relacionado com o grupo metoxila do éster metílico

do biodiesel. Ester dois sinais foram utilizados na quantificação de biodiesel após a reação utilizando nanopartículas de ZnO como catalisador. Estes resultados são mostrados na Figura 3.

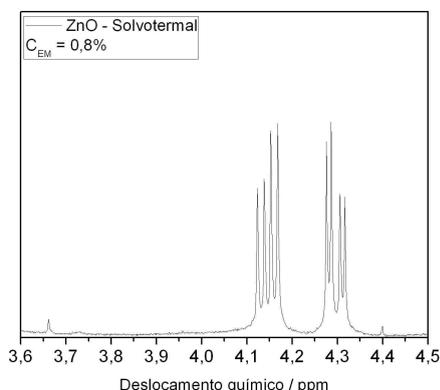


Fig. 3. <sup>1</sup>H-RMN da mistura reacional após 2h a 70°C.

A partir da integração dos dois sinais mostrados na Figura 3, verificou-se que a conversão de óleo em biodiesel foi de apenas 0,8%.

Este resultado está muito aquém do esperado e também do observado na literatura. Por outro lado, observou-se nos trabalhos de referência que tempos mais longos de reação e também temperaturas mais altas foram utilizadas.

Desta forma, verificou-se que a espectroscopia de <sup>1</sup>H- RMN é uma boa ferramenta para a análise da reação de transesterificação, permitindo uma análise rápida e acurada do produto da reação. Novos teste devem ainda ser realizados a fim de obter maiores rendimentos na reação de transesterificação de óleos vegetais.

---

## Conclusões

---

O método solvotermal resultou em amostras de óxido de zinco nanoparticulados e com pureza de fase, como mostrados pelos resultados de difratometria de raios X. A espectroscopia <sup>1</sup>H\_ RMN é adequada para a análise tanto qualitativa quanto quantitativa da mistura entre óleo vegetal e seus respectivos ésteres metílicos. O ZnO não mostrou uma atividade catalítica satisfatória nas condições experimentais utilizadas neste trabalho. Desta forma, novos testes serão realizados a fim de buscar as condições ótimas de síntese de biodiesel a partir de óleos vegetais.

---

## Agradecimentos

---

CNPq, CAPES, FAPESP, FINEP/MCT, EMBRAPA

---

## Referências

---

- OLIVEIRA, A. J.; RAMALHO, J. (Coord.). **Plano nacional de agroenergia 2006-2011**. 2nd ed. Brasília, DF: MAPA, 2006.
- FUKUDA, H.; KONDO, A.; NODA, H. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, Osaka, v. 92, p. 405, 2001.
- JITPUTTI, J.; KITIYANAN, B.; RANGSUNVIGIT, P.; BUNYAKIAT, K.; ATTANATHO, L.; JENVANITPANJAKUL, P. **Chemical Engineering Journal**, Lausanne, v. 116, p. 61, 2006.
- GRYGLEWICZ, S. **Bioresource Technology**, Essex, v. 70, p. 249, 1999.
- NIEDERBERGER, M.; BARTL, M. H.; STUCKY, G. D. **Chem. Mater.**, Washington, v. 14, p. 4364, 2002.

## CARACTERIZAÇÃO MECÂNICA DE PALHAS DE MILHO

Gustavo Miranda Guimarães<sup>1</sup>, Édson Noriyuki Ito<sup>2</sup>, Maria Cristina Dias Paes<sup>3</sup>, Flávia França Teixeira<sup>3</sup>, José Manoel Marconcini<sup>\*</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Instrumentação Agropecuária, 13560-970, São Carlos/SP. \*marconcini@cnpdia.embrapa.br

<sup>2</sup>Depto. de Materiais - UFRN, 13560-905, Natal/RN

<sup>3</sup>Embrapa Milho e Sorgo, 13560-970, Sete Lagoas/MG

Projeto Componente: PC4

Plano de Ação: 01.05.1.01.04.04

### Resumo

Na área de novos usos de materiais, a compreensão das propriedades de destes materiais. Neste trabalho, palhas de milho de diferentes origens foram caracterizadas mecanicamente. Amostras para os ensaios mecânicos de tração foram preparadas no sentido longitudinal e transversal às fibras principais das palhas de milho. Os resultados dos ensaios mecânicos indicam que as propriedades mecânicas das palhas são anisotrópicas. Os ensaios mecânicos de tração de palhas de milho são apropriados para distinguir e avaliar tipos distintos de palha de milho, com resistência mecânica diferenciada.

**Palavras-chave:** palhas de milho, ensaios de tração, propriedades mecânicas.

### Introdução

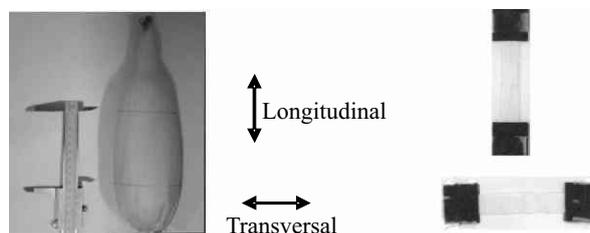
Palhas de milho são utilizadas de modo geral na produção de cigarros, e na produção artesanal, como empalhamento de cadeiras, na confecção de bonecas e artesanato em geral (REDDY, N.; YANG, Y., 2005a; REDDY, N.; YANG, Y., 2005b).

A utilização deste material em novos usos necessita de uma caracterização destes para compreender os fatores que são importantes para dadas propriedades. Além disso, o uso de resíduos agrícolas é importante para o meio ambiente e na redução de matérias primas dependentes do petróleo. O objetivo deste trabalho é a caracterização de palhas de milho por meio de ensaios mecânicos, auxiliando na seleção de plantas que apresentem propriedades específicas.

### Materiais e métodos

Dois tipos de corpos de prova foram testados, no sentido longitudinal e transversal às fibras da palha de milho. Esses foram amostrados da região

interna das palhas, do terço medial, evitando-se a obtenção de corpos de prova irregulares e acúmulo de tensões mecânicas. A Figura 1 mostra uma típica palha de milho e os sentidos de corte para se obter os corpos de prova



**Fig. 1.** Palha de milho típica e corpos de prova no sentido longitudinal e transversal.

Inicialmente, 60 corpos de prova foram testados, 30 em cada sentido, para se verificar a metodologia. Os ensaios mecânicos de tração foram realizados em uma máquina universal de ensaios mecânicos EMIC modelo DL3000, com garras pneumáticas, a 5 mm/min e célula de carga de 50kgf.

Uma vez que a metodologia foi validada, 10 tipos de palhas de milho provenientes de híbridos de milho elite do banco de germoplasma da Embrapa Milho e Sorgo foram testadas, no total de 600 corpos de prova.

## Resultados e discussão

Nas Figuras 2, 3 e 4 são apresentados os resultados das propriedades mecânicas, força máxima na ruptura, resistência à tração na ruptura e deformação na ruptura, respectivamente, para os 10 tipos de palhas de milho testadas.

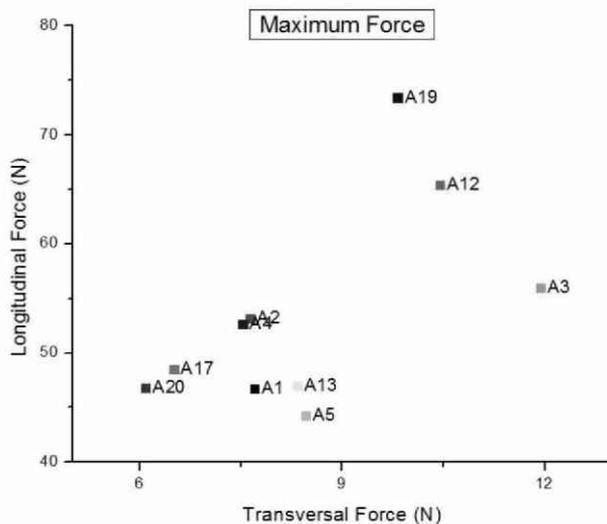


Fig. 2. Força máxima na ruptura das palhas de milho estudadas nos sentidos longitudinal e transversal.

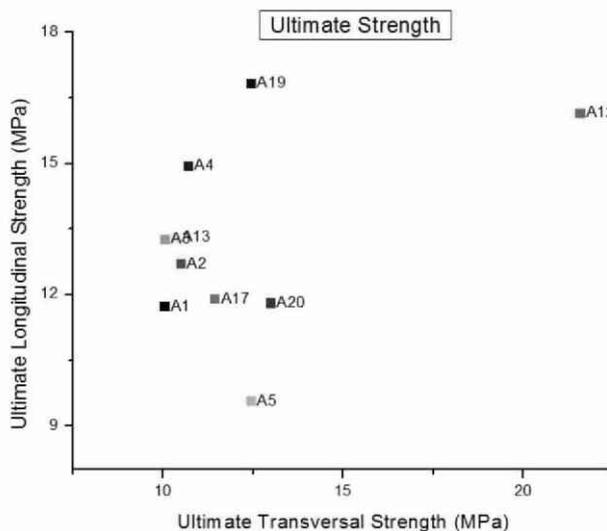


Fig. 3. Resistência à tração das palhas de milho estudadas nos sentidos longitudinal e transversal.

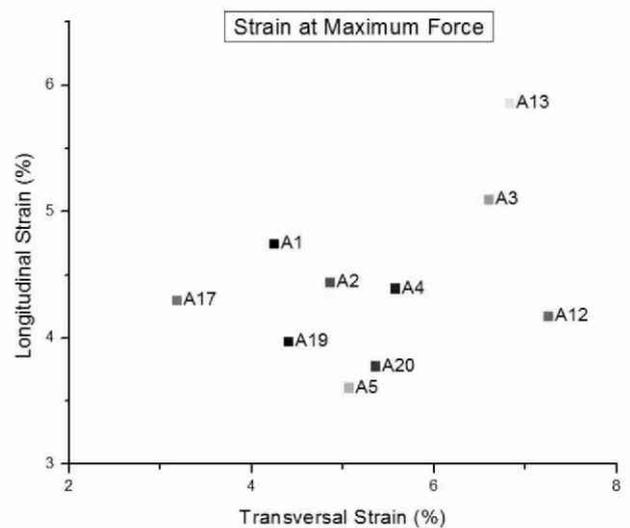


Fig. 4. Deformação na ruptura das palhas de milho estudadas nos sentidos longitudinal e transversal.

Observou-se que a resistência mecânica medida na direção longitudinal é geralmente maior que na transversal. Este efeito de anisotropia depende das estruturas longitudinais que reforçam a palha de milho neste sentido. Diferenças com relação à deformação na ruptura entre as palhas de milho também foram observadas, com maior capacidade de deformação na direção transversal.

## Conclusões

Foi possível obter, nanopartículas a partir da A metodologia utilizada para a caracterização de ensaios mecânicos foi validada. Observou-se claramente que as propriedades mecânicas variaram significativamente nas diferentes direções estudadas e para diferentes tipos de palha de milho.

## Agradecimentos

NPq, FIPAI, EMBRAPA, FINEP/MCT.

## Referências

- CREDDY, N.; YANG, Y. Properties and potential applications of natural cellulose fibers from cornhusks. **Green Chem.**, Cambridge, v. 7, p. 190, 2005a.
- REDDY, N.; YANG, Y. Biofibers from agricultural byproducts for industrial applications. **TRENDS in Biotechnology**, Amsterdam, v. 23, n. 1, 2005b.



## MAXIMIZAÇÃO DO DESEMPENHO DE FILMES NANOCOMPÓSITOS DE QUITOSANA E NANOCELULOSE

Henriette M. C. de Azeredo<sup>1\*</sup>, Luiz H. C. Mattoso<sup>2</sup>, Gino Ceotto Filho<sup>3</sup>, Maximiliano L. Munford<sup>3</sup>, Tara H. McHugh<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Agroindústria Tropical, 60511-110, Fortaleza/CE. \*Ette@cnpat.embrapa.br

<sup>2</sup>Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação Agropecuária, 13560-970, São Carlos/SP

<sup>3</sup>Departamento de Física, Laboratório de Nanoscopia, Universidade Federal de Viçosa, 36570-000, Viçosa/MG;

<sup>4</sup>Agricultural Research Service, Western Regional Research Center, 94710, Albany, CA, USA

**Projeto Componente:** PC4

**Plano de Ação:** 01.05.1.01.04.04

### Resumo

O objetivo do trabalho foi maximizar o desempenho de filmes de quitosana, em termos de propriedades mecânicas, barreira a vapor de água e temperatura de transição vítrea. O estudo foi conduzido segundo um delineamento composto central, em função das concentrações de nanofibras de nanocelulose (NFC, 0-20%) e de glicerol (0-30%). Todas as respostas (exceto a alongação na ruptura) foram favorecidas por altas concentrações de NFC e baixos teores de glicerol. As condições ótimas foram definidas como: concentração de glicerol, 18%, e de NFC, 15%.

**Palavras-chave:** filmes comestíveis, nanocompósitos, nanotecnologia, polissacarídeos.

### Introdução

A quitosana é um biopolímero obtido por desacetilação de quitina, que forma filmes com boa barreira ao O<sub>2</sub> (JEON et al., 2002), que podem ser usados para embalagem de alimentos (DURANGO et al., 2006). Entretanto, os filmes são quebradiços, requerendo o uso de plastificantes, como glicerol, para torná-los mais flexíveis (SUYATMA et al., 2004). Além disso, os biopolímeros têm desempenho mais fraco que os filmes sintéticos, o que pode ser melhorado pela adição de agentes de reforço nanoestruturados (LUDUEÑA et al., 2007). Os objetivos deste estudo foram: avaliar o efeito de nanofibras de celulose (NFC) e glicerol sobre propriedades físicas de filmes de quitosana, e definir a formulação com a melhor combinação de propriedades relacionadas ao desempenho dos filmes para uso em embalagem.

### Materiais e métodos

As NFC (Avicel® PH, dimensões médias: 8 nm de diâmetro e 98,1 nm de comprimento) foram fornecidas pela FMC, e a quitosana (71.3 kDa, 94% de desacetilação), pela Polymar. O experimento foi conduzido segundo um delineamento composto central (Tabela 1), com 2 variáveis: concentrações de NFC (0-20%) e glicerol (0-30%) nos filmes (p/p, em base seca). Foi preparada uma solução de quitosana a 3% com 1,5% de ácido acético. As NFC e o glicerol foram adicionados à solução, e as dispersões foram homogeneizadas (4500 rpm, 30 min) em Polytron PT 3000 (Brinkmann). As dispersões filmogênicas foram submetidas a vácuo para remoção de bolhas. Os filmes foram depositados sobre placas de vidro e deixadas a secar (16 h, 22°C, 42% UR). Amostras dos filmes foram cortadas e destacadas da superfície para as análises.

**Tabela 1.** Formulações dos diferentes tratamentos (valores codificados entre parênteses).

Tratamento	Glicerol (%)	NFC (%)
1	4,36 (-1)	2,91 (-1)
2	25,64 (1)	2,91 (-1)
3	4,36 (-1)	17,09 (1)
4	25,64 (1)	17,09 (1)
5	0,00 (-1,41)	10,00 (0)
6	30,00 (1,41)	10,00 (0)
7	15,00 (0)	0,00 (-1,41)
8	15,00 (0)	20,00 (1,41)
9	15,00 (0)	10,00 (0)
10	15,00 (0)	10,00 (0)
11	15,00 (0)	10,00 (0)

O método D882-97 (ASTM, 1997) foi usado para medida das propriedades mecânicas (resistência à tração - RT; alongação na ruptura - ER; módulo de elasticidade - ME), usando Instron 55R4502 (célula de carga, 100 N). O método proposto por McHUGH et al. (1993) foi usado para medida da PVA (permeabilidade a vapor de água). A temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) foi medida por calorimetria diferencial de varredura (30oC-200oC, taxa de aquecimento de 10oC/min).

Os modelos foram gerados pelo programa Minitab 15. Para estabelecer a região experimental ótima, a função de curvas de contorno sobrepostas foi utilizada. Definiram-se limites inferiores para as respostas a serem maximizadas (RT, ER, ME e  $T_g$ ) e um limite superior para PVA (a ser minimizada). Dentro da região de intersecção dos limites, um ponto experimental foi escolhido para representar as condições ótimas, que foram usadas em um tratamento de validação, para comparação dos resultados experimentais com os preditos. Imagens de microscopia de força atômica (AFM) foram tomadas de um filme produzido sob as condições ótimas, e outro com o mesmo teor de glicerol, mas sem NFC. Utilizou-se um microscópio Ntegra (NT-MDT) em modo semi-contato, sondas de silício, cantilêveres retangulares com constante de mola de 0,4-2,7 N/m e frequência de ressonância de 62-123 Khz.

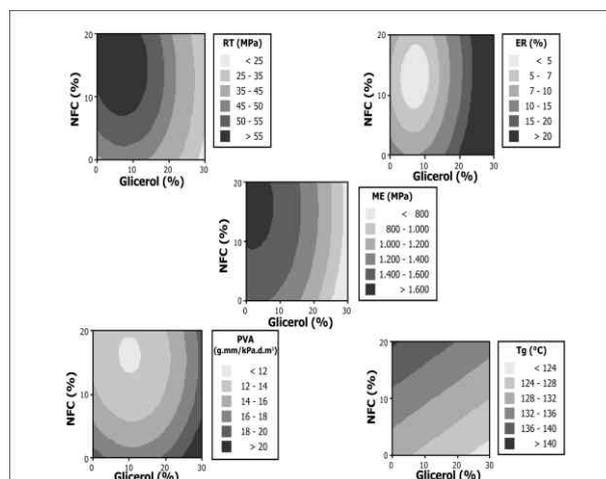
## Resultados e discussão

Todas as regressões foram altamente significativas ( $p < 0,01$ ), com bons valores de  $R^2$  (Tabela 2).

**Tabela 2.** Coeficientes de regressão e índices estatísticos dos modelos.

Termo	RT	ER	ME	PVA	$T_g$
Constante	53,32	7,97	1413,48	12,91	131,42
[GLI]	-9,27	9,71	-321,24	1,62	-2,44
[NFC]	2,96	-1,81	67,94	-1,65	3,96
[GLI] <sup>2</sup>	-6,01	6,39	-127,45	1,91	-
[NFC] <sup>2</sup>	-2,45	1,72	-42,84	0,99	-
[GLI][NFC]	-0,89	-0,46	-4,57	0,16	-
$R^2$ (%)	96,6	99,2	99,2	96,9	94,3
F	28,21	124,05	129,49	31,54	66,03
p	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01

As curvas de contorno (Fig. 1) indicam que as NFC aumentaram a RT e o ME dos filmes, sugerindo boa dispersão das fibras na matriz e boa adesão fibra-polímero (GARDNER et al., 2008); por outro lado, as NFC reduziram a ER. O glicerol, como esperado, teve efeitos opostos, devido à redução da cristalinidade dos filmes (BANGYEKAN et al., 2006). A PVA foi reduzida pela adição de NFC, devido ao aumento de tortuosidade do caminho a ser percorrido pelo permeante (LAGARON et al., 2004). O glicerol teve o efeito oposto, como se espera de um plastificante hidrofílico. A  $T_g$  foi aumentada pelas NFC, corroborando os resultados de Alemdar e Sain (2008), e reduzida pelo glicerol, devido ao efeito plastificante.



**Fig. 1.** Curvas de contorno referentes às respostas.

Exceto a ER, todas as propriedades foram favorecidas por teores altos de NFC e baixos de glicerol. As curvas de contorno sobrepostas (Fig. 2) foram criadas segundo os critérios: RT 50 MPa; ME 1300 MPa; ER 10%;  $T_g$  °C; WVP 13 g.mm.kPa<sup>-1</sup>.dia<sup>-1</sup>.m<sup>-2</sup>. As condições ótimas foram definidas como: 18% de glicerol, 15% de NFC.

O experimento de validação indicou que os valores preditos pelos modelos foram próximos aos observados experimentalmente para as condições definidas como ótimas (Tabela 3).

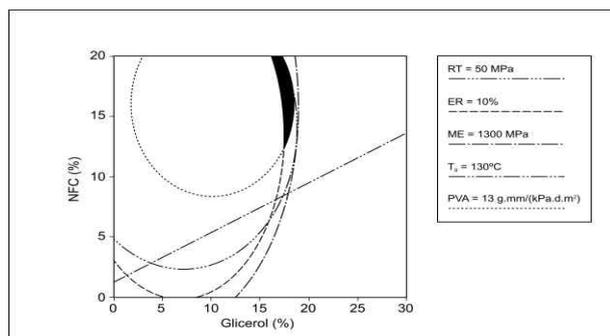


Fig. 2. Curvas de contorno sobrepostas.

Tabela 3. Propriedades físicas (preditas e observadas) de filmes obtidos sob as condições ótimas (desvios padrão entre parênteses).

Propriedades	Preditas	Observadas
RT (MPa)	50,9	52,7 (3,5)
ER (%)	10,7	10,3 (0,5)
ME (Mpa)	1338,1	1367,9 (79,4)
PVA (g mm kPa·dia·m <sup>2</sup> )	12,89	12,6 (0,6)
T <sub>g</sub> (°C)	103,5	129,2 (6,6)

As nanofibras mostraram-se bem dispersas na matriz (Fig. 3), sem agregação significativa, e aparentemente com boa interação com a quitosana, o que explica o bom desempenho dos filmes.

Fig. 3. Topografia dos filmes por AFM (esq: filme com glicerol e NFC; dir: filme apenas com glicerol).

### Conclusões

As propriedades físicas dos filmes de quitosana foram melhoradas pela adição de nanofibras de celulose. O filme obtido sob as condições otimizadas (15% de NFC e 18% de glicerol) apresentou boas propriedades, exceto por uma baixa elongação, o que limita seu uso para aplicações que requerem alta flexibilidade.

### Agradecimentos

CNPq, FINEP/MCT, ARS/Embrapa-Labex.

### Referências

- ALEMDAR, A.; SAIN, M. Biocomposites from wheat straw nanofibers: Morphology, thermal and mechanical properties. **Composites Science and Technology**, Barking, v. 68, p. 557-65, 2008.
- ASTM. Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. D882-97. In: ASTM. **Annual book of American Standard Testing Methods**. Philadelphia, 1997.
- BANGYEKAN, C.; AHT-ONG, D.; SRIKULKIT, K. Preparation and properties evaluation of chitosan-coated cassava starch films. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 63, n. 1, p. 61-71, 2006.
- DURANGO, A. M.; SOARES, N. F. F.; ANDRADE, N. J. Microbiological evaluation of an edible antimicrobial coating on minimally processed carrots. **Food Control**, Guildford, v. 17, p. 336-341, 2006.
- GARDNER, D. J.; OPORTO, G. S.; MILLS, R.; AZIZI SAMIR, M. A. S. Adhesion and surface issues in cellulose and nanocellulose. **Journal of Adhesion Science and Technology**, Utrecht, v. 22, p. 545-567, 2008.
- JEON, Y. J.; KAMIL, J. Y. V. A.; SHAHIDI, F. Chitosan as an edible invisible film for quality preservation of herring and Atlantic cod. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 50, p. 5167-5178, 2002.
- LAGARON, J. M.; CATALÁ, R.; GAVARA, R. Structural characteristics defining high barrier polymeric materials. **Materials Science and Technology**, London, v. 20, p. 1-7, 2004.
- McHUGH, T. H.; AVENA-BUSTILLOS, R. J.; KROCHTA, J. M. Hydrophilic edible film: modified procedure for water vapor permeability and explanation of thickness effects. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 58, n. 4, p. 899-903, 1993.
- SUYATMA, N. E.; COPINET, A.; COMA, V.; TIGHZERT, L. Mechanical and barrier properties of biodegradable films made from chitosan and poly(lactic acid) blends. **Journal of Polymers and the Environment**, [D.1.], v. 12, p. 1-6, 2004.



---

## FILMES NANOCOMPÓSITOS DE PURÊ DE MANGA REFORÇADOS COM NANOFIBRAS DE CELULOSE

---

Henriette M. C. de Azeredo<sup>1\*</sup>, Luiz H.C. Mattoso<sup>2</sup>, Delilah Wood<sup>3</sup>, Tara H. McHugh<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Agroindústria Tropical, 60511-110, Fortaleza/CE, \*ette@cnpat.embrapa.br

<sup>2</sup>Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação Agropecuária, 13560-970, São Carlos/SP

<sup>3</sup>Agricultural Research Service, Western Regional Research Center, 94710, Albany, CA, USA

**Projeto Componente:** PC4

**Plano de Ação:** 01.05.1.01.04.04

---

### Resumo

Nanofibras de celulose (NFC) foram adicionadas em diferentes concentrações (até 36 g/100 g) como agente de reforço a filmes comestíveis de purê de manga. As NFC aumentaram a resistência à tração e o módulo de elasticidade, especialmente o último, sugerindo uma boa dispersão de nanofibras na matriz. Além disso, a adição das nanofibras melhorou a barreira dos filmes a vapor de água, e promoveu um ligeiro aumento da  $T_g$ . O estudo demonstrou que as propriedades de filmes comestíveis de purê de manga podem ser significativamente melhoradas pela adição de NFC.

**Palavras-chave:** filmes comestíveis, embalagem, nanotecnologia, frutas tropicais.

---

---

### Introdução

As embalagens de alimentos geram um enorme volume de lixo não biodegradável, com enorme impacto ambiental. Vários biopolímeros podem ser usados para produção de filmes comestíveis, que podem substituir total ou parcialmente os polímeros sintéticos. Purês de frutas têm sido usados para formação de filmes (SENESI e McHUGH, 2002; ROJAS-GRAÜ et al., 2007), graças à presença de polissacarídeos. No entanto, o uso de filmes comestíveis é limitado pelo fraco desempenho dos biopolímeros em comparação com os polímeros sintéticos, o que pode ser melhorado pela adição de agentes de reforço nanoestruturados. Entre os nanomateriais, destacam-se as nanofibras de celulose (NFC), de baixo custo e boas propriedades mecânicas (PODSIADLO et al., 2005). O objetivo deste trabalho foi o de avaliar os efeitos de NFC sobre as propriedades mecânicas, permeabilidade a vapor de água e temperatura de transição vítrea de filmes de purê de manga.

---

### Materiais e métodos

O purê foi obtido de mangas Keitt. As NFC (Novacel® PH-101) foram fornecidas pela FMC BioPolymer. Diferentes concentrações de NFC (1-36%, p/p, base seca) foram adicionadas ao purê de manga, e as dispersões foram homogeneizadas (6500 rpm, 30 min) usando um Polytron PT 3000 (Brinkmann). Um filme controle foi elaborado apenas com purê de manga. As dispersões filmogênicas foram submetidas a vácuo para remoção de bolhas, e os filmes foram depositados sobre placas de vidro e deixados para secar (16 h, 22°C, 42% UR). Amostras dos filmes foram cortadas e destacadas da superfície, e estocadas sob refrigeração até as análises.

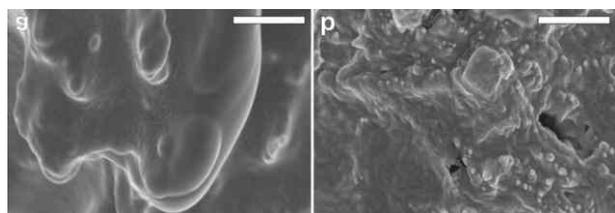
As dimensões das CNF foram medidas por microscopia eletrônica de transmissão, e os filmes foram visualizados por microscopia eletrônica de varredura (MEV). Os detalhes dos métodos foram descritos em AZEREDO et al. (2009). As propriedades mecânicas (resistência à tração – RT;

elongação na ruptura – ER; e módulo de elasticidade – ME) foram medidos segundo o método D882-97 (ASTM 1997), usando um Instron 55R4502 com célula de carga de 100 N. A permeabilidade a vapor de água (PVA) foi medida segundo McHUGH et al. (1993). A temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) foi medida por calorimetria diferencial de varredura usando um mDSC 2910 (TA Instruments), de -40°C a 40°C, com taxa de aquecimento de 10°C/min.

Os efeitos das NFC foram avaliados por comparação das médias das propriedades de filmes com diferentes níveis de NFC (Tukey,  $p < 0,05$ ).

## Resultados e discussão

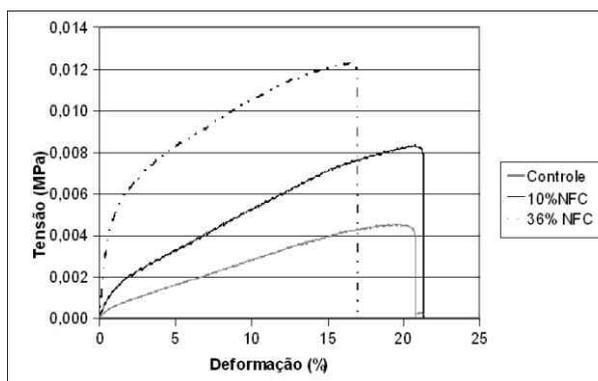
As dimensões médias das NFC foram: 82,6 nm de comprimento e 7,2 nm de diâmetro, resultando em uma razão de aspecto de 11,5. A Fig. 1 apresenta a ultraestrutura de filmes de purê de manga sem e com NFC. As NFC (áreas mais claras, Fig. 1b) mostraram-se bem dispersas, sem efeitos de aglomeração, e com boa interação aparente com a matriz (áreas mais escuras). A celulose pode ter interagido com cadeias laterais de pectina, por ligações de hidrogênio (ZYK WINSKA et al., 2005). Além disso, as porções hidrofílicas do amido podem ter interagido com grupos hidroxila da celulose, também por ligações de hidrogênio (CHEN et al., 2009).



**Fig. 1.** Ultraestrutura (por MEV) de filmes de purê de manga (a: controle; b: com 36% p/p de NFC).

A Fig. 2 apresenta curvas típicas de tensão-deformação de filmes sem NFC (controle) e com NFC (10% e 36%). Os filmes com NFC mostraram limite de escoamento a 3% de elongação, abaixo do qual os filmes tiveram uma deformação elástica com ME bem aumentado em relação ao controle. Acima de 3% de elongação, a deformação dos filmes com NFC foi irreversível (comportamento plástico), enquanto o controle mostrou limite de escoamento praticamente imperceptível.

A Tabela 1 apresenta as propriedades físicas dos filmes contendo diferentes concentrações de NFC. RT e o ME (especialmente este) aumentaram com a adição de NFC. A forte influência das NFC sobre o ME pode ser atribuída à boa dispersão das nanofibras na matriz, provavelmente unidas por ligações de hidrogênio (HELBERT et al., 1996). A elongação apenas foi comprometida a concentrações de NFC maiores que 10%.



**Fig. 2.** Curvas tensão-deformação de filmes de purê de manga puro (controle) e com NFC.

**Tabela 1.** Propriedades físicas dos filmes.

NFC (%)	RT	ER	ME	PVA	$T_g$
0	4.09 <sup>c</sup>	44.07 <sup>a</sup>	19.85 <sup>c</sup>	2.66 <sup>a</sup>	-10.63 <sup>c</sup>
1	4.24 <sup>dc</sup>	42.42 <sup>ab</sup>	21.55 <sup>c</sup>	2.40 <sup>b</sup>	-8.51 <sup>d</sup>
2	4.42 <sup>dc</sup>	43.30 <sup>ab</sup>	22.56 <sup>c</sup>	2.17 <sup>bc</sup>	-8.57 <sup>d</sup>
5	4.58 <sup>cd</sup>	41.79 <sup>b</sup>	30.93 <sup>d</sup>	2.16 <sup>bc</sup>	-7.72 <sup>c</sup>
10	4.91 <sup>c</sup>	43.19 <sup>ab</sup>	40.88 <sup>c</sup>	2.03 <sup>c</sup>	-6.81 <sup>b</sup>
18	5.54 <sup>b</sup>	39.8 <sup>b</sup>	78.82 <sup>b</sup>	1.90 <sup>cd</sup>	-5.88 <sup>a</sup>
36	8.76 <sup>a</sup>	31.54 <sup>c</sup>	322.05 <sup>a</sup>	1.67 <sup>d</sup>	-6.04 <sup>a</sup>

RT: resistência à tração (MPa); ER: elongação na ruptura (%); ME: módulo de elasticidade (MPa); PVA: permeabilidade ao vapor de água (g.mm/kPa.h.m<sup>2</sup>);  $T_g$ : temperatura de transição vítrea (°C).

A adição de NFC foi efetiva em reduzir a PVA. Isso se explica porque a presença de fibras cristalinas aumenta a tortuosidade do caminho percorrido por permeantes na matriz, retardando a difusão e, portanto, reduzindo a permeabilidade (SANCHEZ-GARCIA et al., 2008). Neste estudo, as interações das NFC entre si e com os polissacarídeos do purê de manga podem ter favorecido a barreira.

A baixa  $T_g$  dos filmes deve-se provavelmente ao efeito plastificante dos mono- e dissacarídeos de manga (GHANBARZADEH et al., 2006). O aumento da  $T_g$  com a adição de CNF pode ser atribuído a um ou mais dos seguintes efeitos: (a) interações de celulose com água, com redistribuição das moléculas de água, reduzindo seu efeito plastificante (SONG e ZHENG, 2009); (b) interações entre componentes da matriz e as CNF, reduzindo a mobilidade da matriz (SONG e ZHENG, 2009); (c) aumento de cristalinidade (com consequente redução de mobilidade) da matriz promovida pelas NFC (AZIZI SAMIR et al., 2004). No entanto, os aumentos da  $T_g$  com a adição de NFC, embora tenham sido significativos, foram pequenos, e os valores permaneceram negativos. Por um lado, valores negativos de  $T_g$  sugerem baixa estabilidade química do material, devido à alta mobilidade

molecular (e, conseqüentemente, alta reatividade) de seus componentes. Por outro lado, esses baixos valores de  $T_g$  implicam em boa flexibilidade dos filmes, mesmo a temperaturas de refrigeração, o que é uma vantagem em termos de aplicação do material para embalagem de alimentos.

---

### Conclusões

---

As nanofibras de celulose mostraram-se bem dispersas na matriz de purê de manga. O desempenho dos filmes foi perceptivelmente melhorado pela adição das nanofibras. As propriedades mecânicas (exceto a alongação) foram melhoradas, a permeabilidade ao vapor de água foi reduzida, e a temperatura de transição vítrea foi aumentada, embora o efeito tenha sido pequeno.

---

### Agradecimentos

---

CNPq, FINEP/MCT, ARS/Embrapa-Labex.

---

### Referências

---

ASTM. Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. D882-97. In: **Annual book of American Standard Testing Methods**. Philadelphia: ASTM, 1997.

AZEREDO, H.M.C.; MATTOSO, L.H.C.; WOOD, D.; WILLIAMS, T.G.; AVENA-BUSTILLOS, R.J.; McHUGH, T. Nanocomposite edible films from mango puree reinforced with cellulose nanofibers. **Journal of Food Science**, v.74, n.5, p.N31-N35, 2009.

AZIZI SAMIR, M.A.S.; ALLOIN, F.; SANCHEZ, J.Y.; DUFRESNE, A. Cellulose nanocrystals reinforced poly(oxyethylene). **Polymers**, v. 45, p. 4149-4157, 2004.

GHANBARZADEH, B.; OROMIEHIE, A.R.; MOUSAVI, M.; EMAM DJOMEH, Z.; RAZMIRAD, E.; MILANI, J. Effect of plasticizing sugars on rheological and thermal properties of zein resins and mechanical properties of zein films. **Food Research International**, v. 39, p. 882-90, 2006.

CHEN, Y.; LIU, C.; CHANG, P.R.; CAO, X.; ANDERSON, D.P. Bionanocomposites based on pea starch and cellulose nanowhiskers hydrolyzed from pea hull fibre: effect of hydrolysis time. **Carbohydrate Polymers**, v.76, n.4, p.607-615, 2009.

HELBERT, W.; CAVAILLE, J.Y.; DUFRESNE, A. Thermoplastic nanocomposites filled with wheat straw cellulose whiskers. Part I: Processing and mechanical behavior. **Polymer Composites**, v.17, n.4, p.604-11, 1996.

McHUGH, T.H.; AVENA-BUSTILLOS, R.J.; KROCHTA, J.M. Hydrophilic edible film: modified procedure for water vapor permeability and explanation of thickness effects. **Journal of Food Science**, v.58, n.4, p.899-903, 1993.

PODSIADLO, P.; CHOI, S.Y.; SHIM, B.; LEE, J.; CUDDIHY, M.; KOTOV, N.A. Molecularly engineered nanocomposites: Layer-by-layer assembly of cellulose nanocrystals. **Biomacromolecules**, v.6, p.2914-2918, 2005.

ROJAS-GRAÜ, M.A.; AVENA-BUSTILLOS, R.J.; OLSEN, C.; FRIEDMAN, M.; HENIKA, P.R.; MARTIN-BELLOSO, O.; PAN, Z.; McHUGH, T.H. Effects of plant essential oil compounds on mechanical, barrier and antimicrobial properties of alginate-apple puree edible films. **Journal of Food Engineering**, v.81, p.634-641, 2007.

SANCHEZ-GARCIA, M.D.; GIMENEZ, E.; LAGARON, J.M. Morphology and barrier properties of solvent cast composites of thermoplastic biopolymers and purified cellulose fibers. **Carbohydrate Polymers**, v.71, p.235-244, 2008.

SENESE, E.; McHUGH, T.H. Film e coperture eduli com matrici a base di fruta. **Industrie Alimentari**, v.41, n.420, p.1289-94, 2002.

SONG, Y.; ZHENG, Q. Structure and properties of methylcellulose microfiber reinforced wheat gluten based green composites. **Industrial Crops and Products**, v.29, n.2-3, p.446-454, 2009.

ZYKWINSKA, A.W.; RALET, M.C.J.; GARNIER, C.D.; THIBAUT, J.F.J. Evidence for in vitro binding of pectin side chains to cellulose. **Plant Physiology**, v.139, p.397-407, 2005.



---

## SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOCOMPÓSITOS MAGNÉTICOS E SUA APLICAÇÃO NA FOTODEGRADAÇÃO DE RODAMINA B.

---

Henrique A. J. L. Mourão<sup>1,2\*</sup>, Caue Ribeiro<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Depto. de Química - UFSCar, 13560-905, São Carlos/SP

<sup>2</sup>Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação Agropecuária, 13560-970, São Carlos/SP \*mourao@cnpdia.embrapa.br

Projeto Componente: PC4

Plano de Ação: 01.05.1.01.04.04

---

### Resumo

Este trabalho descreve a síntese de nanocompósitos magnéticos fotocatalisadores, baseados na associação de nanopartículas magnéticas centrais (ferritas) com o semicondutor SnO<sub>2</sub> superficialmente distribuído. Para isso, foi sintetizadas ferritas de CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> pelo método dos precursores poliméricos e posteriormente, estas foram recobertas com SnO<sub>2</sub> resultando na formação de nanocompósitos de SnO<sub>2</sub>/CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>. Estes nanocompósitos foram caracterizados por DRX, MET e o potencial fotocatalítico destes nanocompósitos foi avaliado através da fotodegradação do corante rodamina B.

**Palavras-chave:** fotocatalise, síntese, nanocompósito magnético.

---

### Introdução

---

Atualmente, a questão ambiental é pauta de discussões em todo o mundo e projetos de diversas áreas cada vez mais devem considerar este tema. Um problema ambiental bastante grave é a contaminação de águas, sendo a contaminação por resíduos de compostos orgânicos uma das mais preocupantes. Diversos métodos de tratamento de resíduos de compostos orgânicos vêm sendo estudados, em especial, os processos oxidativos avançados (POAs). Estes envolvem a geração de radicais por diversos sistemas, como por exemplo, a geração destes radicais na superfície de semicondutores fotoexcitados (LEGRINI et al., 1993). A maioria dos trabalhos desta área é relativa à utilização do TiO<sub>2</sub>, especialmente na forma anatase; entretanto o SnO<sub>2</sub>, que possui algumas características que se assemelham às do TiO<sub>2</sub> (como por exemplo, valores de band gap próximos) ainda foi pouco explorado em

fotocatalise. Em fotocatalise heterogênea, a alta área superficial do fotocatalisador é importante para a eficiência do processo, sendo este fato o grande motivador para utilização de materiais nanoestruturados, visto que estes possuem elevada área superficial específica. No entanto, a utilização de fotocatalisadores nanoparticulados, tem como principal obstáculo a sua separação do meio reacional para reutilização após o processo fotocatalítico, devido à alta estabilidade em meio aquoso.

Uma alternativa para contornar este problema é associar à fase de interesse uma fase com propriedade magnética pela formação de um nanocompósito que possa ser efetivamente desestabilizado pela aplicação de campo magnético. Esta foi a meta central deste trabalho: o desenvolvimento de nanocompósitos magnéticos com potencial para aplicação na fotodegradação de compostos orgânicos, utilizando-se o método dos precursores poliméricos,.

## Materiais e métodos

As nanopartículas magnéticas (ferritas) de  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  via método dos precursores poliméricos foram sintetizadas como apresentado em trabalhos anteriores (MOURÃO, 2009; RIBEIRO e MOURÃO, 2007). Posteriormente, foi feito o recobrimento da ferrita  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  com  $\text{SnO}_2$  via método dos precursores poliméricos obtendo o nanocompósito de  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  recoberta por  $\text{SnO}_2$  ( $\text{SnO}_2/\text{CoFe}_2\text{O}_4$ ). Foi obtida uma resina de Sn a aproximadamente 0,1 mol/L através do método dos precursores poliméricos, utilizando-se o seguinte procedimento: a uma solução de ácido cítrico, foi adicionado  $\text{SnCl}_2$  em uma razão molar ácido cítrico: Sn igual a 3:1. Em seguida, adicionou-se etilenoglicol à esta solução, em uma proporção molar etilenoglicol:ácido cítrico igual a 2:1, sob agitação a  $50^\circ\text{C}$  por aproximadamente 30 minutos, obtendo-se assim a resina de Sn. Posteriormente, as nanopartículas de  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  obtidas pelo método dos precursores poliméricos foram dispersas nesta resina de Sn e a suspensão resultante foi levada a moinho atritor por 2 horas para desaglomeração das nanopartículas dispersas. Após a moagem, esta suspensão foi rotoevaporada e o produto obtido foi tratado termicamente a  $450^\circ\text{C}$  por 2 horas, obtendo-se os nanocompósitos de  $\text{SnO}_2/\text{CoFe}_2\text{O}_4$  numa proporção em massa igual 44: 56 ( $\text{SnO}_2$ :  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ ).

Os nanocompósitos sintetizados foram caracterizados por difração de raios - X (DRX) utilizando-se um equipamento Rigaku modelo D Max 2500PC (radiação  $\text{CuK}$  ) e microscopia eletrônica de transmissão (MET) em um microscópio eletrônico de transmissão Philips CM200. O potencial fotocatalítico destes nanocompósitos a  $100 \text{ mg.L}^{-1}$  foi avaliado frente a fotodegradação do corante rodamina B ( $2,5 \text{ mg.L}^{-1}$ ) sob radiação UV. Em intervalos regulares, amostras foram coletadas e analisadas por espectroscopia UV-Visível a 554 nm (equipamento Shimadzu UV-1601PC), para monitoramento da concentração de Rodamina B.

## Resultados e discussão

Os nanocompósitos de  $\text{SnO}_2/\text{CoFe}_2\text{O}_4$  foram inicialmente caracterizados por DRX. A Figura 1 apresenta o difratograma obtido, onde pode-se observar que foram identificadas as fases  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  e  $\text{SnO}_2$ -cassiterita.

Pode-se observar a presença de picos mais alargados para o material modificador ( $\text{SnO}_2$ ) e assim, pode-se sugerir que as partículas de  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  estão maiores do que as partículas do material modificador (neste caso, o  $\text{SnO}_2$ ). Assim, foi feito a estimativa do tamanho de cristalito utilizando-se a equação de Scherrer (CULLITY, 1997). A Tabela 1 apresenta os resultados de tamanho médio de cristalito obtidos utilizando-se todos os picos de difração identificados. O valor estimado foi de 20,6 e

3,4 nm para as nanopartículas de  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  e  $\text{SnO}_2$ , respectivamente.

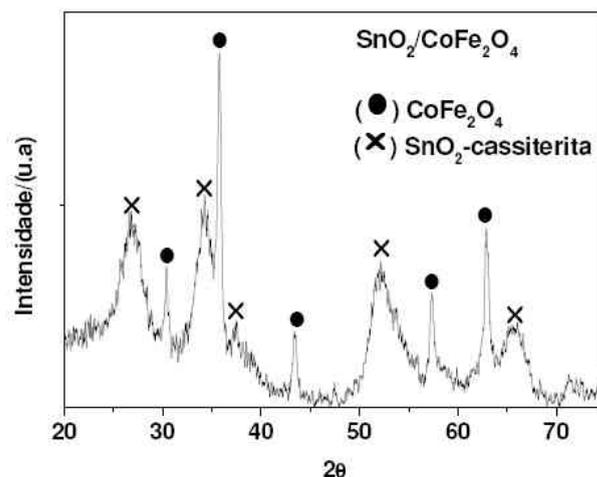


Fig. 1. Difratograma dos nanocompósitos de  $\text{SnO}_2/\text{CoFe}_2\text{O}_4$ .

Tabela 1. Tamanho médio de cristalito de  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  e  $\text{SnO}_2$ .

$\text{SnO}_2$			$\text{CoFe}_2\text{O}_4$		
hkl	$2\theta$	$D_{\text{DRX}}$ nm	hkl	$2\theta$	$D_{\text{DRX}}$ nm
110	26,611	3,2	220	30,084	25,7
101	33,893	3,6	311	35,437	22,5
211	51,780	3,5	400	43,058	16,4
301	65,937	3,4	511	56,973	20,5
-	-	-	440	62,585	19,3
	Média	3,4		Média	20,6

Posteriormente, os nanocompósitos de  $\text{SnO}_2/\text{CoFe}_2\text{O}_4$  foram caracterizados por MET. A Figura 2 apresenta as imagens obtidas onde observa-se a presença de nanopartículas de  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  rodeadas por várias nanopartículas de  $\text{SnO}_2$  menores. Pode-se observar também que não ocorreu a formação de uma camada uniforme de recobrimento sobre a superfície das ferritas, e que em alguns locais das imagens existem regiões separadas com grandes quantidades de nanopartículas de  $\text{SnO}_2$  ou  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ .

Por fim, a Figura 3 apresenta a curva de fotodegradação da rodamina pura e na presença dos nanocompósitos de  $\text{SnO}_2/\text{CoFe}_2\text{O}_4$ . Pode-se observar que os nanocompósitos sintetizados apresentaram eficiência fotocatalítica na fotodegradação do corante, visto que a diminuição da concentração da rodamina na presença dos nanocompósitos foi maior do que a fotólise direta do corante.

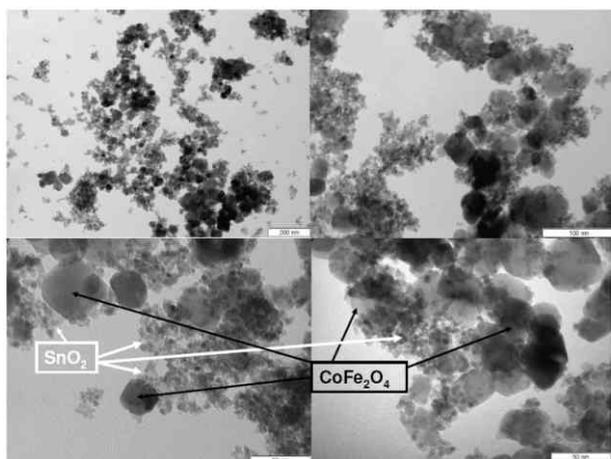


Fig. 2. Imagens obtidas por MET dos nanocompósitos de  $\text{SnO}_2/\text{CoFe}_2\text{O}_4$ .

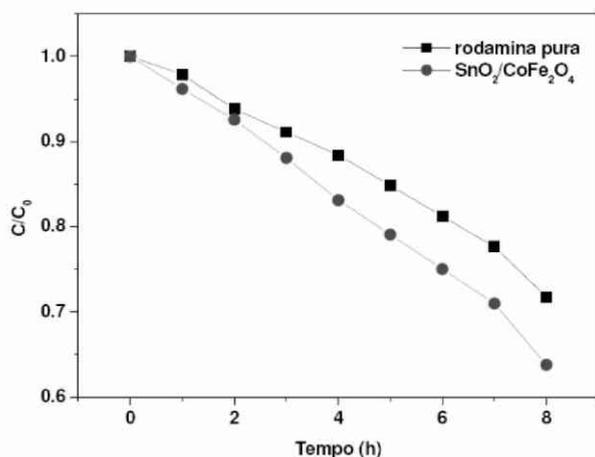


Fig. 3. Curva de fotodegradação de rodamina B, sob radiação UV.

## Conclusões

Através do método dos precursores poliméricos foi possível sintetizar nanocompósitos magnéticos de  $\text{SnO}_2/\text{CoFe}_2\text{O}_4$ , sendo observado a presença de nanopartículas de  $\text{SnO}_2$  superficiais menores e com uma distribuição não uniforme sobre a superfície das ferritas de  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ . Estes nanocompósitos apresentaram atividade fotocatalítica na fotodegradação do corante rodamina B e a sua propriedade magnética (devido a presença das ferritas centrais) pode ser utilizada para separar o material do meio reacional após o processo fotocatalítico.

## Agradecimentos

CNPq, FINEP/MCT, LIEC/UFSCar, FAPESP (processo: 07/53026-6), EMBRAPA/CNPDI.

## Referências

- CULLITY, B. D. **Elements of x-ray diffraction**. [S. l.]: Addison-Wesley, 1967.
- LEGRINI, O.; OLIVEROS, E.; BRAUN, A. M.; **Photochemical Processes for Water Treatment**. *Chem. Rev.*, Washington, v. 93, p. 671-698, 1993.
- MOURÃO, H. A. J. L. **Síntese e caracterização de nanocompósitos magnéticos e sua aplicação na despoluição de águas**. 2009. 92 f. Dissertação (Mestrado) – UFSCar, São Carlos.
- RIBEIRO, C.; MOURÃO, H. A. J. L. **Desenvolvimento de catalisadores magnéticos para despoluição de águas contaminadas com pesticidas**. São Carlos, SP: Embrapa Instrumentação Agropecuária, 2007. 7 p. (Embrapa Instrumentação Agropecuária. Circular Técnica; 39.



---

## ANÁLISE DA DISTRIBUIÇÃO DE TAMANHO DE PARTÍCULAS DE TITÂNIO METÁLICO NANOMÉTRICO

---

João Paulo Saraiva Morais<sup>1\*</sup>, Adriana Coatrini Thomazi<sup>2</sup>, Giovanni Pimenta Mambrini<sup>2</sup>, Tânia Regina Giraldi<sup>2</sup>, Cauê Ribeiro<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Algodão;

<sup>2</sup>Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação Agropecuária,

\*saraiva@cnpa.embrapa.br

**Projeto Componente:** PC4

**Plano de Ação:** 01.05.1.01.04.04

---

### Resumo

A síntese de nanopartículas é um dos elementos chave da Nanotecnologia. A síntese das mesmas, pela via do álcool benzílico, é uma alternativa que permite a obtenção de materiais com estrito controle de tamanho e área superficial. A fim de se conhecer melhor a composição do solvente após a reação, realizou-se a determinação do tamanho de partículas, obtendo-se informações sobre nanopartículas residuais de titânio.

**Palavras-chave:** Síntese sol-gel; nanotoxicologia, reaproveitamento de coprodutos.

---

### Introdução

---

A Nanotecnologia é uma área de pesquisa e desenvolvimento muito ampla e interdisciplinar, baseada nos mais diversos materiais (polímeros, cerâmicas, metais, dentre outros) estruturados em escala nanométrica. A síntese controlada desses materiais é o objetivo central da Nanotecnologia (MEDEIROS; PATERNO; MATTOSO, 2006).

Nanopartículas de óxido de titânio já vem sendo usadas em grande quantidade ao redor do mundo, e óxidos de titânio nanoestruturados já são empregados há mais de meio século como agentes tixotrópicos em pigmentos e cosméticos. Muito desse volume é produzido sob fase de chama em vapor ou plasma, sob condições altamente controladas (BORM et al., 2006).

A pesquisa na síntese de óxidos de titânio por meio da química sol-gel em sistemas não aquosos data do início do século XX, tendo se popularizado no final desse século, quando foi desenvolvida a síntese de pós de óxidos, usando álcoois e alcóxidos metálicos. Um solvente particularmente versátil é o benzil álcool, que permite a síntese de nanopartículas

de titânio com bom controle de qualidade não só sobre o tamanho de partículas, como também sobre a área superficial (NIEDERBERGER; GARNWEITNER, 2006).

Na síntese pela via do álcool benzílico, são geradas nanopartículas, que podem ser separadas do solvente por centrifugação. O objetivo deste trabalho foi verificar a distribuição de tamanho de partículas no solvente sobrenadante, servindo de subsídio para o futuro aproveitamento desse coproduto da síntese.

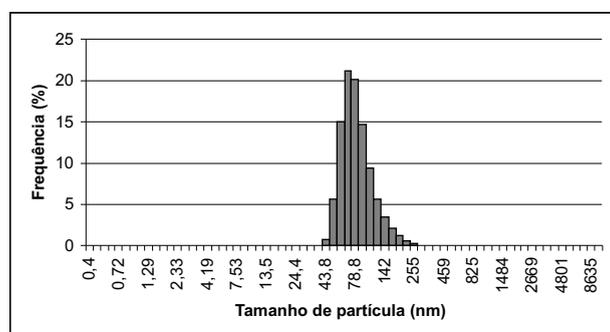
### Materiais e métodos

---

Foi utilizado um analisador de tamanho de partículas por espalhamento de luz Zetasizer Nano ZS. Foi recolhido o sobrenadante do benzil álcool utilizado na síntese solvotermal de nanopartículas de titânio, em repouso por pelo menos 72 horas. Um volume entre 10 e 15 mm de solvente foi adicionado na cubeta, que foi lida no modo automático do aparelho (11 varreduras de 10 segundos cada), com intervalo de equilíbrio de 2 minutos antes do início das medidas. Essa medida foi realizada com cinco replicatas, calculando-se a média para o preparo do histograma.

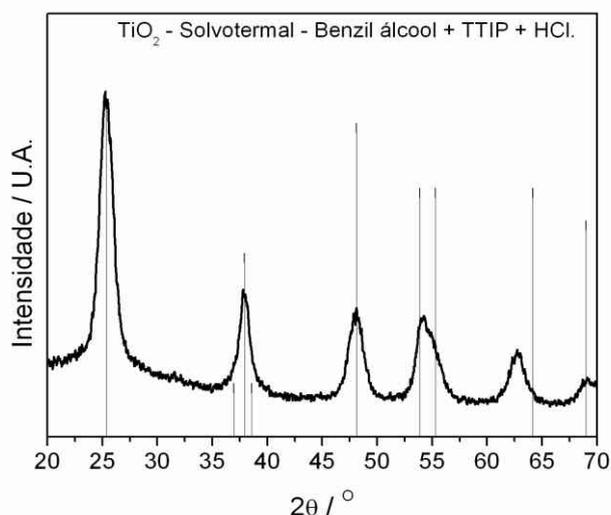
## Resultados e discussão

Como se pode observar pela Figura 1, a distribuição de frequências do tamanho de partículas variou de 43,82 nm a 295,3 nm, com mais de 90% entre 43,82 nm e 122,4 nm e maior frequência a 68,06 nm (21,26%).



**Fig. 1.** Histograma do tamanho de partículas de titânio nanoestruturado sintetizado em álcool benzílico.

A Figura 2 mostra o difratograma de raios X das nanopartículas sintetizadas, confirmando-as como óxido de titânio.



**Fig. 2.** Difratograma de raios X da amostra de óxido de titânio, sintetizado pelo método solvotermal.

## Conclusões

Pode-se concluir que a centrifugação não consegue separar todas as nanopartículas do solvente, devendo-se levar em consideração essa informação nos futuros tratamentos desse coproduto da síntese.

## Agradecimentos

Agradecimentos ao FINEP/MCT pela aquisição do equipamento e à EMBRAPA, FAPESP e CNPq por concessão de bolsas.

## Referências

- MEDEIROS, E. S.; PATERNO, L. G.; MATTOSO, L. H. C. Nanotecnologia. In: DURAN, N.; MATTOSO, L. H. C.; MORAIS, P. C. **Nanotecnologia**. São Paulo: Artliber Editora, 2006. p. 13-29.
- BORM, P. J. A.; ROBBINS, D.; HAUBOLD, S.; KUHLBUSCH, T.; FISSAN, H.; DONALDSON, K.; SCHINS, R.; STONE, V.; KREYLING, W.; LADEMANN, J.; KRUTMANN, J.; WARHEIT, D.; OBERDORSTER, E. The potential risks of nanomaterials: a review carried out for ECETOC. **Particle and Fibre Toxicology**, [S. l.], v. 3, n. 11, 2006.
- NIEDERBERGER, M.; GARNWEITNER, G. Organic reaction pathways in the nonaqueous synthesis of metal oxide nanoparticles. **Chemistry A European Journal**, [S. l.], v. 12, 2006.



---

## DETERMINAÇÃO LIGNOCELULÓSICA DA TORTA DE DENDÊ

---

João Paulo Saraiva Morais<sup>1</sup>, Adriana de Campos<sup>2</sup>, Silviane Zanni Hubinger<sup>2</sup>, José Manoel Marconcini<sup>2</sup>, Eraldo José Madureira Tavares<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Algodão;

<sup>2</sup>Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação Agropecuária;

<sup>3</sup>Embrapa Amazônia Oriental, saraiva@cnpa.embrapa.br

**Projeto Componente:** PC 4

**Plano de Ação:** 001.05.1.01.04.02

---

### Resumo

O dendê (*Elaeis guineensis*) é um importante elo da cadeia produtiva do biodiesel. Juntamente com a produção do óleo, são gerados coprodutos não aproveitados por essa cadeia, o que torna necessário o seu uso para demais finalidades. Este trabalho visou a determinação das frações lignocelulósicas (lignina e celulose totais), bem como a umidade e cinzas em torta de dendê, resultante da prensagem para extração de óleo combustível, para estudos futuros de aproveitamento desse resíduo.

**Palavras-chave:** Coprodutos, florestas energéticas, óleo de palma, polifenóis, fibras naturais.

---

### Introdução

---

Tradicionalmente, o óleo de dendê (*Elaeis guineensis*) é um importante recurso para as indústrias alimentícia e oleoquímica, tendo se tornado recentemente um biocombustível emergente usado para mover ônibus na Malásia e gerar eletricidade na Amazônia brasileira (REIJNDERS; HUIJBREGTS, 2008).

A torta de dendê é um resíduo de processamento obtido durante a extração do óleo, com significantes quantidades de materiais lignocelulósicos (GÜTIERREZ; SANCHEZ; CARDONA, 2009). Com a crescente preocupação sobre o volume de resíduos produzidos no setor agropecuário, aliada à crescente demanda energética, que vem sendo suprida com o uso de biodiesel, surge a necessidade de se reaproveitar coprodutos de cadeias produtivas do combustível. No caso do dendê, já há alguns estudos sobre o desenvolvimento de biocompósitos que empregam polímeros sintéticos e fibras extraídas de resíduos do dendê (KHALID et al., 2008; KHALIL et al., 2009),

uso das fibras na remoção de metais pesados (ISA et al., 2008) e extração de celulose e lignina, dentre outras utilizações (JIMENEZ et al., 2009; ALRIOLS et al., 2009).

O uso de fibras naturais como reforço para termoplásticos também tem despertado interesse crescente, principalmente para termoplásticos reciclados, devido ao baixo custo, utilização de recursos naturais brasileiros disponíveis, além de contribuir para a diminuição da geração de resíduos (BONELI et al., 2005).

O objetivo deste trabalho foi caracterizar fibras da torta de dendê, cedidas pela Embrapa Amazônia Oriental.

### Materiais e métodos

---

As fibras cedidas pela Embrapa Amazônia Oriental foram trituradas em moinho. As fibras moídas frescas foram usadas para a análise de umidade. O material utilizado para as amostras de cinzas, lignina e celulose foram previamente secas em estufa a 105°C por 24 horas. Foram seguidas as

normas TAPPI T211 om-02, T412 om-02 e T222 om-02, respectivamente, para a determinação de umidade, cinzas e lignina insolúvel. Para a determinação de lignina solúvel seguiu-se o procedimento adotado por Morais et al. (2005). O teor de holocelulose foi calculado por diferença.

## Resultados e discussão

Os resultados obtidos encontram-se na Tabela 1.

**Tabela 1.** Composição média de torta de dendê em frações umidade, cinzas, lignina e celulose.

Componente	Conteúdo (% m/m)
Umidade	6,76
Cinzas	4,42
Lignina total	50,51
Lignina insolúvel	48,99
Lignina solúvel	1,52
Holocelulose	38,3

Esses dados demonstram o alto teor de lignina presente nas fibras da torta de dendê, notadamente a insolúvel. O trabalho de Gutiérrez, Sánchez e Cardona<sup>2</sup> comenta que a fibra da torta de dendê possui 14,4% de lignina, 3,0% de cinzas, 40,0% de umidade<sup>2</sup> e 24,0% enquanto Alriols e colaboradores<sup>7</sup> determinaram para esses mesmos parâmetros, respectivamente, 24,0%, 2,3% e 6,6% e 60,0%<sup>7</sup>. Essas diferenças encontradas, provavelmente, são devidas ao genótipo e tratos culturais das diferentes palmeiras fornecedoras dos materiais.

## Conclusões

Os resultados indicam que a torta de dendê estudada é rica em lignina, favorecendo a futura utilização deste coproduto como fonte de lignina para diferentes aplicações como reforço polimérico, revestimento de proteção contra raios UV, produção de carvão ativado, dentre outros usos. Além disso, sua alta concentração de minerais permite estimar seu uso também na adubação vegetal. Por fim, pretende-se determinar o teor de -celulose e de nanofibras presentes na porção holocelulósica.

## Agradecimentos

Agradecimentos à EMBRAPA, FINEP/MCT e CNPq por concessão de bolsas e recursos para a realização dessa pesquisa.

## Referências

- REIJNDERS, L.; HUIJBREGTS, M. A. J. Palm oil and the emission of carbon-based greenhouse gases. **Journal of Cleaner Production**, Amsterdam, v. 16, n. 4, p. 477-482, 2008.
- GUTIERREZ, L. F.; SANCHEZ, O. J.; CARDONA, C. A. Process integration possibilities for biodiesel production from palm oil using ethanol obtained from lignocellulosic residues of oil palm industry. **Bioresource Technology**, Essex, v. 100, n. 3, p. 1227-1237, 2009.
- KHALID, M.; SALMIATON, A.; CHUAH, T. G.; RATNAM, C. T.; CHOONG, S. Y. T. Effect of MAPP and TMPTA as compatibilizer on the mechanical properties of cellulose and oil palm fiber empty fruit bunch-polypropylene biocomposites. **Composite interfaces**, Zeist, v. 15, n. 2-3, p. 251-262, 2008.
- KHALIL, H. P. S. A.; POH, B. T.; ISSAM, A. M.; JAWAID, M.; RIDZUAN, R. Recycled Polypropylene Oil Palm Biomass: The Effect on Mechanical and Physical Properties. **Journal of Reinforced Plastics and Composites**, Westport, 2009. doi: 10.1177/0731684409103058.
- ISA, M. H.; IBRAHIM, N.; AZIZ, H. A.; ADLAN, M. N.; SABIANI, N. H. M.; ZINATIZADEH, A. A. L.; KUTTY, S. R. M. Removal of chromium (VI) from aqueous solution using treated oil palm fibre. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 152, n. 2, p. 662-668, 2008.
- JIMENEZ, L.; SERRANO, L.; RODRIGUEZ, A.; SANCHEZ, R. Soda-anthraquinone pulping of palm oil empty fruit bunches and beating of the resulting pulp. **Bioresource Technology**, Essex, v. 100, n. 3, p. 1262-1267, 2009.
- ALRIOLS, M. G.; TEJADO, A.; BLANCO, M.; MONDRAGON, I.; LABIDI, J. Agricultural palm oil tree residues as raw material for cellulose, lignin and hemicelluloses production by ethylene glycol pulping process. **Chemical Engineering Journal**, Lausanne, v. 148, n. 1, p. 106-114, 2009.
- BONELLI, C. M. C.; ELZUBAIR, A.; SUAREZ, J. C. M.; MANO, E. B. Comportamento térmico, mecânico e morfológico de compósitos de polietileno de alta densidade reciclado com fibra de piaçava. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, São Carlos, v. 15, n. 4, p. 256-260, 2005.
- MORAIS, S. A. L.; NASCIMENTO, E. A.; MELO, D. C. Análise da madeira de *Pinus oocarpa* Parte I - Estudo dos constituintes macromoleculares e extrativos voláteis. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 29, n. 3, p. 461-470, 2005.



## EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FIBRA DE BOCAIÚVA (*ACROCOMIA ACULEATA*) PROVENIENTE DO PANTANAL

José Alexandre Simão<sup>1</sup>, Elisangela Corradini<sup>1</sup>, Luiz Henrique Capparelli Mattoso<sup>1</sup>, Fábio Galvani<sup>2</sup>,  
Marçal Henrique Amici Jorge<sup>2</sup>, Márcia Toffani Simão Soares<sup>2</sup>, José Manoel Marconcini<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Instrumentação Agropecuária, 13560-970, São Carlos/SP. \* marconcini@cnpdia.embrapa.br

<sup>2</sup>Embrapa Pantanal, 79320-900, Corumbá/MS

Projeto Componente: PC4

Plano de Ação: 01.05.1.01.04.04

### Resumo

O estudo de fibras provenientes do Pantanal, como a bocaiúva, vem sendo realizado com o propósito de auxiliar pesquisas relacionadas à nanofibras como reforços em nanocompósitos, e fibras como reforços em matrizes poliméricas. O trabalho apresenta a calandragem como método de extração de fibras de folhas *in natura*, apresenta também métodos de caracterização dessa fibra, como termogravimetria, medidas de diâmetros, testes de pH e análise morfológica por MEV, visando sempre obter informações que sejam importantes parâmetros para avanços tecnológicos, como na nanotecnologia.

**Palavras-chave:** extração de fibras, caracterização, bocaiúva.

### Introdução

Além de condições climáticas extremamente favoráveis à agricultura, solos férteis e abundantes, o Brasil deve aproveitar a oportunidade de promover o desenvolvimento econômico e social auto-sustentado através do incentivo a projetos cuja matéria-prima utilize produtos de origem vegetal, agregando valor a esses produtos. Esses fatores ambientais aliados a potenciais matérias primas para desenvolvimento tecnológico, fica claro objetivo desse estudo, que é dar início a um ciclo de estudos focando essas fibras vegetais (AMICO et al., 2001).

A bocaiúva (*Acrocomia aculeata*) é uma palmeira encontrada em quase todo o Brasil (do Pará até São Paulo e Mato Grosso do Sul), ocorrendo também na Bolívia, Paraguai e Argentina. No Pantanal, toda a planta da bocaiúva é muito utilizada pela população. As folhas podem ser usadas para suplementação alimentar de cavalos e bois, sua madeira é utilizada como caibros e ripas e na construção de paredes. Além dos usos tradicionais dessa espécie, é importante a realização de estudos

científicos para avaliar o potencial em outras aplicações tecnológicas, como por exemplo, a partir da extração de nanofibras usadas como reforços em nanocompósitos.

### Materiais e métodos

Foram coletadas no Pantanal, aproximadamente 7,5kg de folhas de bocaiúva. Para extração das fibras utilizou-se o processamento via calandragem, onde as folhas foram comprimidas entre dois cilindros concêntricos. Seguiu-se então o processo de lavagem com água, e posteriormente as fibras foram secas em estufa de circulação de ar por 48h a 50°C. Para medidas de massa antes da extração uma balança Filizola com capacidade de 20kg e precisão de 1g foi utilizada, após a extração e moagem, as massas foram pesadas em balança analítica com capacidade de 600g e precisão de 0,1g. Parte das fibras extraídas foi destinada à realização de medidas do diâmetro médio das fibras extraídas através do processo de escaneamento e análise pelo software Fibras e Raízes desenvolvido na Embrapa

Instrumentação Agropecuária. No preparo de amostra para termogravimetria e medida de pH, as fibras foram moídas em moinho de faca, com peneira de 10 mesh. Para a avaliação do pH, preparou-se uma suspensão de 8g de fibra em 200mL de água destilada sob agitação por 24h. A termogravimetria foi realizada em um aparelho TGA Q500 da TA Instruments, para avaliação da temperatura de início de degradação, a uma razão de aquecimento utilizadas de 10°C/min em ar sintético para uma massa de amostra em torno de 6mg. Para análise morfológica foi realizado a microscopia eletrônica de varredura em um DSM 960/Zeiss com as fibras previamente liofilizadas e sem nenhum tratamento químico.

## Resultados e discussão

Foram obtidos 60,2% de massa de fibra seca em relação às folhas *in natura*, através da calandragem. Os diâmetros médios obtidos foram de 0,5mm. O pH encontrado após as 24h de agitação foi de 5,85. A partir da termogravimetria determinou-se a temperatura de início de degradação em torno de 200°C (Fig 1.). Essa temperatura é um importante parâmetro para estudos de processamento dessa fibra como reforço em compósitos e nanocompósitos de matrizes poliméricas.

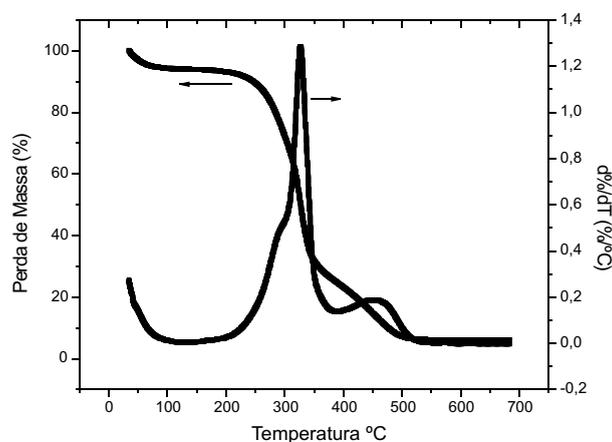


Fig. 1. Curva TG/DTG para bocaiúva (razão de 10°C/min em ar sintético).

A superfície da fibra pode ser observada na Figura 2, apresentou-se irregular, indicando a presença de ceras e graxas na estrutura, aceitável, já que a fibra não passou por nenhum tratamento químico prévio.

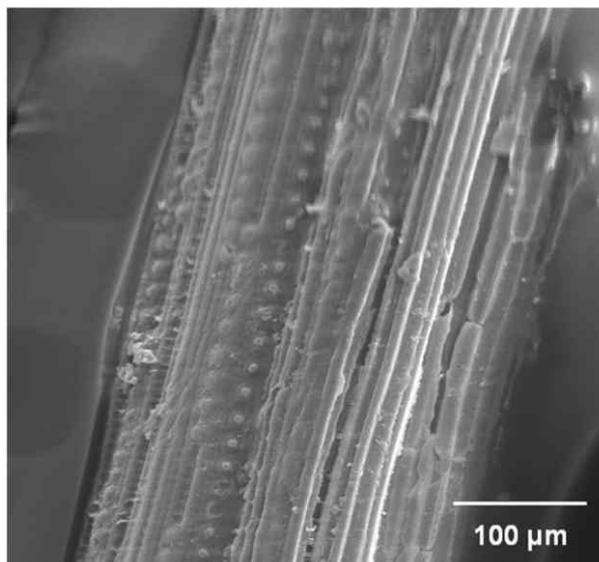


Fig. 2. Micrografia eletrônica de varredura obtida para bocaiúva.

## Conclusões

Com os resultados obtidos pode-se afirmar que um método eficaz de extração de fibras de folha de bocaiúva foi encontrado e que através da caracterização das fibras, foram obtidas informações de grande valia para estudos envolvendo nanofibras.

## Agradecimentos

CNPq, FINEP/MCT, EMBRAPA e FIPAI.

## Referências

- AMICO, S. C.; COSTA, T. H. S.; CARRERA, L. C.; SANTANA, W.; GALVÃO, D. A. Characterization of sisal fibers from the northeast region of Brazil. *Materials Science*, Wroclaw, v. 2, p. 41, 2001. Proceedings of COBEM 2001.
- POTT, A.; POTT, V. J. *Plantas do Pantanal*. Brasília, DF: CPAP e SPI, 1994.
- CORRADINI, E.; MATTOSO, L. H. C.; AGNELLI J. A. M.; DE MORAIS, L. C. Compósitos biodegradáveis de amido/glúten de milho/glicerol reforçados com fibras de sisal. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, São Carlos, v. 18, n. 4, p. 353-358, 2008.



## EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FIBRAS DE TABOIA (*TYPHA DOMINGENSIS*) PROVENIENTES DO PANTANALES

José Alexandre Simão<sup>1</sup>, Elisangela Corradini<sup>1</sup>, Luiz Henrique Capparelli Mattoso<sup>1</sup>, Fábio Galvani<sup>2</sup>,  
Marçal Henrique Amici Jorge<sup>2</sup>, Márcia Toffani Simão Soares<sup>2</sup>, José Manoel Marconcini<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Instrumentação Agropecuária, 13560-970, São Carlos/SP. \*marconcini@cnpdia.embrapa.br

<sup>2</sup>Embrapa Pantanal, 79320-900, Corumbá/MS

Projeto Componente: PC4

Plano de Ação: 01.05.1.01.04.04

### Resumo

Neste estudo, o vegetal denominado popularmente de taboia (*Typha domingensis*), proveniente do Pantanal, foi estudada para extração de suas fibras e caracterização das mesmas, a fim de reunir resultados relevantes para avanços tecnológicos variados, inclusive abrangendo a nanotecnologia, através da extração de nanofibras e produção de nanocompósitos. As fibras foram extraídas através da calandragem e caracterizadas através de análise térmica (termogravimetria), testes de pH em água, medidas de diâmetro médio e microscopia eletrônica de varredura (MEV) para análise morfológica.

**Palavras-chave:** extração de fibras vegetais, caracterização, taboia.

### Introdução

A taboia (*Typha domingensis*) é uma planta emersa que cresce nas margens de lagoas e represas, sendo muito frequente em brejos e pântanos; ocorre em toda a América tropical e sub-tropical. Suas longas folhas, de coloração verde, são utilizadas para a manufatura de esteiras de dormir, cestas e muitos outros utensílios. Apresenta grandes espigas marrons formadas por frutos de fibra lanulosa, das quais se aproveita a paina para enchimento de almofadas. Seu caule, muito rico em amido, após ser moído e tratado produz um polvilho comestível. É utilizada também como bioindicadora da qualidade de ecossistemas (POTT et al., 1994; POTT, 2000). A substituição de fibras sintéticas por fibras naturais na utilização como reforço é uma possibilidade bastante atraente principalmente por ser biodegradável, de fonte renovável e de baixo custo, o que vem de encontro aos esforços de proteção ao meio ambiente (MOHANTY et al., 2002). A produção de nanocompósitos através da extração de nanofibras a partir dessa fibra já caracterizada é viabilizada, a

partir de resultados obtidos no presente estudo. As fibras lignocelulósicas sofrem pouco dano durante os métodos convencionais de processamento de polímeros e possuem também menor densidade que fibras sintéticas. O Brasil é um dos países que possuem a maior biomassa do mundo e a maior extensão territorial cultivável, cujo potencial deve ser melhor explorado, para os usos em materiais compósitos e nanocompósitos de fontes renováveis (CORRADINI et al., 2006). Este trabalho tem como objetivo a caracterização de fibras extraídas de taboia (*Typha domingensis*), avaliando-se propriedades que tenham potencial de uso em nanotecnologia.

### Materiais e métodos

Foram coletados aproximadamente 10,0kg de taboia no Pantanal. Para extração das fibras utilizou-se o processamento via calandragem, onde as folhas foram comprimidas entre dois cilindros ido na Embrapa Instrumentação Agropecuária. No preparo de amostra para termogravimetria e medida de pH, as

fibras foram moídas em moinho de faca, com peneira de 10 mesh. Para a avaliação do pH, preparou-se uma suspensão de 8g de fibra em 200mL de água destilada sob agitação por 24h. A termogravimetria foi realizada em um equipamento TGA Q500 da TA Instrumencêntricos. Seguiu-se então o processo de lavagem com água das fibras, seguido de secagem em estufa de circulação de ar por 48h a 50°C. Para medidas de massa antes da extração uma balança Filizola com capacidade de 20kg e precisão de 1g foi utilizada, após a extração e moagem, as massas foram pesadas em balança analítica com capacidade de 600g e precisão de 0,1g. Parte das fibras extraídas foi destinada à realização de medidas do diâmetro médio das fibras extraídas através do processo de escaneamento e análise pelo software Fibras e Raízes desenvoltvs, para avaliação da temperatura de início de degradação, razão de aquecimento de 10°C/min em ar sintético e massa de amostra em torno de 6mg. Para análise morfológica foi realizado a microscopia eletrônica de varredura em um DSM 960/Zeiss com as fibras previamente liofilizadas e sem nenhum tratamento químico.

## Resultados e discussão

A partir da calandragem foi possível extrair 21,0% de massa de fibra seca em relação às folhas *in natura*. O diâmetro médio das fibras de taboa foi de 0,3mm.

O teste de pH forneceu após as 24h de agitação 6,38. A partir da termogravimetria determinou-se a temperatura de início de degradação em torno de 200°C (Fig. 1) em ambas atmosferas.

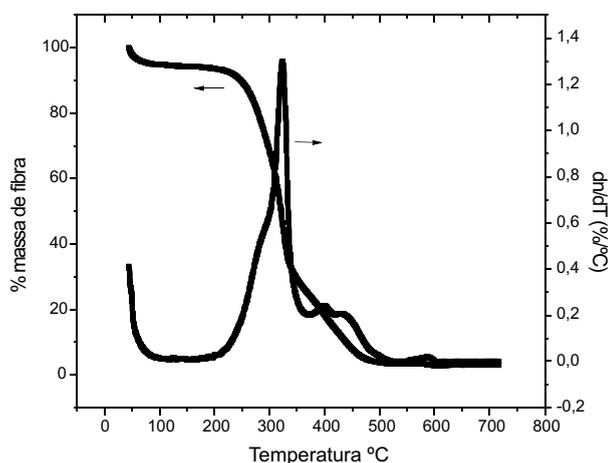


Fig. 1. Curva TG/DTG para fibras de taboa (razão de 10°C/min em ar sintético).

Na Figura 2 é mostrada a foto de microscopia eletrônica de varredura obtida para fibra de taboa. A superfície da fibra apresentou-se irregular, indicando a presença de ceras e graxas na estrutura, aceitável, já que a fibra não passou por nenhum tratamento químico prévio.

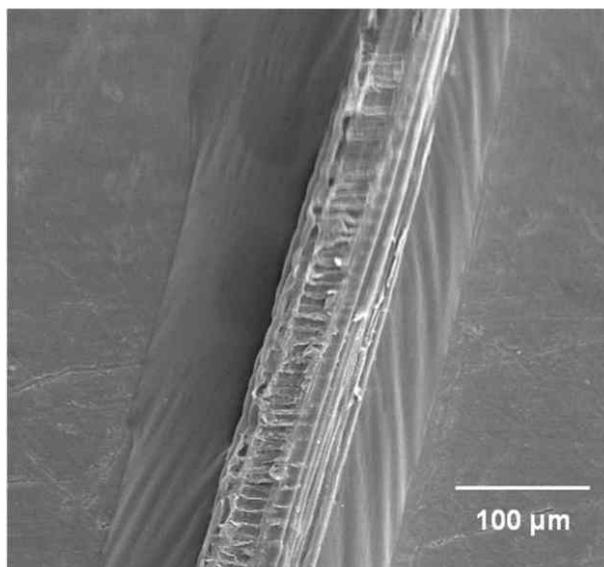


Fig. 2. Micrografia eletrônica de varredura obtida da fibra de taboa.

## Conclusões

A calandragem apresentou-se satisfatória como método de extração para fibras vegetais a partir de folhas *in natura*. Com a caracterização foi possível obter informações importantes para futuros estudos nanotecnológicos com fibras vegetais, como, por exemplo, obter nanofibras para reforços de nanocompósitos.

## Agradecimentos

CNPq, FINEP/MCT, EMBRAPA, FIPAI.

## Referências

- CORRADINI, E.; DE MEDEIROS, E. S.; CARVALHO, A. J. F.; CURVELO, A. A. S.; MATTOSO, L. H. C. Mechanical and morphological characterization of starch/zein blends plasticized with glycerol. **Journal of applied polymer science**, New York, v. 101, n. 6, p. 4133-4139, 2006.
- MOHANTY, A. K.; MISRA, M.; DRZAL, L. T. Sustainable bio-composites from renewable resources: Opportunities and challenges in the green materials world. **Journal of polymers and the environment**, [S.l.], v. 10, n. 1-2, 2002.
- POTT, A.; POTT, V. J. **Plantas do Pantanal**. Brasília, DF: CPAP e SPI, 1994.
- POTT, V. J. **Plantas Aquáticas do Pantanal**. Brasília, DF: CPAP e CTT, 2000.



---

## PROPRIEDADES MECÂNICAS DE COMPÓSITOS BIODEGRADÁVEIS DE FARINHA DE MANDIOCA E PROTEÍNA DE SOJA POR EXTRUSÃO TERMOPLÁSTICA

---

Juan Antonio Ruano Ortiz<sup>1</sup>, Geisa Oliveira Rocha<sup>1</sup>, Carla Silva Teba<sup>1</sup>, Carlos Wanderlei Piler Carvalho<sup>2\*</sup>, José Luis Ramírez Ascheri<sup>2</sup>, Diego Palmiro Ramirez Ascheri<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós Graduação em Alimentos, UFRRJ, Seropédica/RJ

<sup>2</sup>Laboratório de Extrusão, Embrapa Agroindústria de Alimentos, 23020-470, Rio de Janeiro/RJ

\* cwpiler@ctaa.embrapa.br

<sup>3</sup>Universidade Estadual de Goiás, 75.001-970, Anápolis/GO.

**Projeto Componente:** PC4

**Plano de Ação:** 01.05.1.01.04.03

---

### Resumo

As preocupações ambientais associadas à grande disposição de materiais plásticos têm promovido a investigação de alternativas para substituição ao plástico comum. Misturas de farinha de mandioca, proteína de soja e glicerol foram processadas em uma extrusora de parafuso único empregando-se um delineamento central composto rotacional e a metodologia de superfície de resposta para obtenção de modelos matemáticos preditivos. As variáveis respostas foram tensão na tração (N), deformação na tração e módulo de elasticidade. De acordo com análise de variância ( $P < 0,05$ ) a tensão na tração não foi significativa, enquanto o efeito do glicerol e proteína para as respostas deformação na tração e módulo de elasticidade foram estatisticamente significativas e houve efeito de interação do glicerol e do teor de água e a interação proteína de soja com o teor de água.

**Palavras-chave:** compósitos biodegradáveis, amido de mandioca, mandioca.

---

### Introdução

---

As preocupações ambientais associadas à grande disposição de materiais plásticos têm proporcionado a investigação de alternativas para substituição ao plástico comum. No Brasil, cerca de 240 mil toneladas de lixo são produzidas por dia, constituindo um sério problema sanitário (VILPOUX e AVEROUS, 2003)

Dessa forma, várias pesquisas com diferentes materiais (amido, celulose e lipídios) têm sido desenvolvidas na tentativa de minimizar, diminuir ou solucionar o problema da poluição através da obtenção de plásticos biodegradáveis. O amido tem recebido especial atenção, pois o amido possui baixo

custo, abundância e alta aplicabilidade (CUQ et al., 1995).

De acordo com a literatura, os compósitos a base de proteínas diferem nas propriedades mecânicas em relação aos compósitos a base de polissacarídeos. Isso se deve ao fato de que, contrariamente aos polissacarídeos, que são homopolímeros, apresentam seqüências repetidas de um mesmo monômero e as proteínas têm estrutura específica, derivada de 20 diferentes monômeros, que conferem uma gama maior de propriedades funcionais potenciais, por formar ligações intra e intermoleculares diferindo nas posições, tipos e energias (FELLOWS, 2006).

## Materiais e métodos

O processo de elaboração dos compósitos laminares foi conduzido em uma extrusora de parafuso simples Brabender DS9/20DN (Duisburg, Alemanha) acoplado a um reômetro de torque DCE-330 (Duisburg, Alemanha). A extrusão de cada tratamento (Tabela 1) foi iniciada após o aquecimento programado das três zonas (70, 80 e 90°C), ajuste do parafuso alimentador a 20 rpm (~ 3 kg/h) e velocidade de parafuso de 100 rpm.

A tensão e deformação na ruptura e o módulo de elasticidade foram determinados baseando-se no método padrão D 828-95a da American Society for Testing and Materials (ASTM). Os compósitos em formato de fitas foram cortados em corpos de prova com 30 mm de largura e 150 mm de comprimento e fixados em um analisador de textura TAHDi (Stable Microsystems, Surrey, Inglaterra). A distância inicial ( $l_0$ ) entre as garras será de 30 mm e a velocidade de tração 0,9 mm/s. A tensão na ruptura foi calculada pela relação entre força e área da seção transversal inicial do filme, e a deformação na ruptura, considerada como deformação linear  $[(l - l_0) / l_0]$ , foram determinadas através da curva de tensão x deformação. O módulo da elasticidade foi calculado como sendo inclinação da região linear da curva de tensão em função da deformação.

**Tabela 1.** Níveis codificados das variáveis independentes do experimento

Variáveis	Níveis				
	- =1,682	-1	0	+1	=1,682
Glicerol $X_1$	0,636	2	4	6	7,364
Umidade $X_2$	21,59	25	30	35	38,41
Soja $X_3$	0,636	2	4	6	7,364

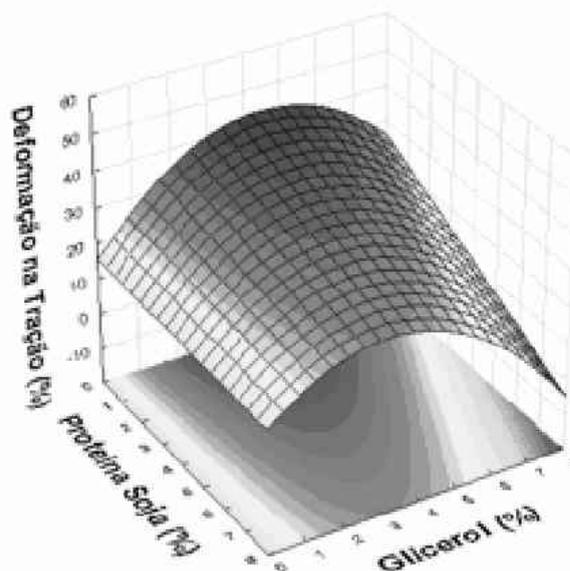
## Resultados e discussão

A representação gráfica tridimensional dos modelos preditivos dos efeitos significativos ( $P < 0,05$ ), de coeficiente de regressão superior a 70%, estão dispostas nas Figura 1, 2 e 3.

Na Figura 1 nota-se que o efeito quadrático negativo do teor de glicerol foi o mais significativo ( $P < 0,001$ ), seguido do efeito linear negativo do teor de proteína de soja ( $p < 0,001$ ), bem como do efeito quadrático positivo do teor da proteína ( $P < 0,01$ ), seguido das diferentes interações estudadas tornando-se desta forma características prioritárias nas propriedades dos compósitos.

No trabalho de VICENTINI (2003), a deformação na ruptura na tração dos filmes de fécula de mandioca aumentou linearmente com o incremento da concentração de glicerina e sorbitol de 10 para 25%, respectivamente. No estudo de PALMU (2003), o qual elaborou filmes dcomenstíveis a base de glúten de trigo preparados com diferentes teores de etanol e glicerol a diferentes pH, o aumento da deformação na tração se deu com a

elevação da concentração de glicerol, enquanto o aumento da concentração de glúten a reduziu. Desta forma, é interessante considerar o teor de água como plastificante coadjuvante, pois em combinação com o glicerol apresenta significância sinérgica negativa, concordando com o autor anteriormente citado.



**Fig. 1.** Efeito do teor de soja e glicerol na deformação à tração.

Na Figura 2 e 3, pode-se observar que o teor de água, em suas concentrações mais elevadas, resultam em valores mínimos do módulo de elasticidade, quando combinado com o teor de glicerol e teor de proteína de soja próximo a faixa compreendida entre 4 e 5%, para ambos. Zhang, et. al., (2001) verificaram que o módulo de elasticidade dos filmes de proteína soja foram mudando com o ajuste do nível de glicerol para filmes biodegradáveis elaborados pelo método de espalhamento ou *casting*. Para os filmes que continha 10 e 20 partes de glicerol, o módulo de elasticidade foi alto e quando o conteúdo de glicerol aumentou para 30 partes, o módulo de elasticidade dos filmes de proteína de soja diminuiu significativamente, indicando que os filmes produzidos exclusivamente com proteínas de soja foram amolecidos e ficaram semi-rígidos. Baseando-se no estudo deste autor, pode-se confirmar o efeito combinado das variáveis analisadas, além de constatar que o comportamento dos filmes variam e até certo ponto onde existe redução das interações polímero-polímero, aumentando o volume livre entre as cadeias, promovendo a diminuição no módulo de elasticidade (LIMA et al., 2007). Após este ponto existe uma ligação direta entre polímeros adjacentes, prejudicando desta forma, as propriedades mecânicas dos polímeros biodegradáveis.

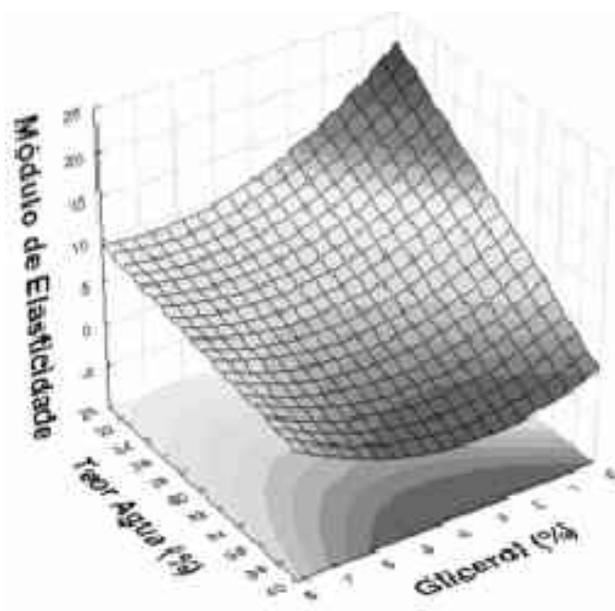


Fig. 2. Efeito do teor de água e glicerol no módulo de elasticidade.

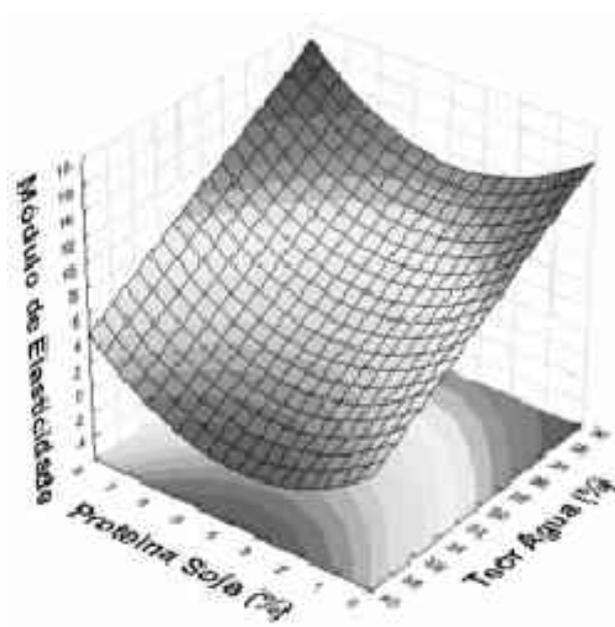


Fig. 3. Efeito do teor de água e proteína no módulo de elasticidade.

---

## Conclusões

---

As propriedades mecânicas dos compósitos de amido de mandioca e extrato protéico de soja são grandemente afetadas pelo teor de água de processamento seguido do teor de glicerol. Compósitos apresentaram-se mais deformáveis na faixa média de adição de glicerol (4%) e baixo teor de proteína.

---

## Agradecimentos

---

A Embrapa, ao CNPq e a UFRRJ.

---

## Referências

---

- CUQ, B.; AYMARD, C.; CUQ, J.L.; GULBERT, S. J. *Food Sci.* v.60, n.6, p.1369-1374. 1995.
- FELLOWS, P. J. **Tecnologia do processamento de alimentos: princípios e prática**. 2a ed., Porto Alegre: Artmed, 2006, 602p.
- LIMA, A. M. F.; ANDREANI, L.; SOLDI, V.. *Química Nova*, Vol. 30, No. 4, 832-837, 2007
- PALMU, P. S. T. **Preparação, propriedades e aplicação de biofilmes comestíveis à base de glúten de trigo**. [Tese Doutorado] Campinas, SP: [s.n], 2003. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos, 2003.
- VICENTINI, N.M. **Elaboração e caracterização de filmes comestíveis a base de fécula de mandioca para uso em pós-colheita** (Tese de Doutorado) Faculdade de Ciências Agrônomicas – UNESP, Botucatu – SP, 2003.
- VILPOUX, O.F.; AVEROUS, L. **Plásticos a base de amido**. In: Cereda, M. P.; Vilpoux, O. F. (Ed.). São Paulo: Fundação Cargill, 2003. p. 499-529.
- ZHANG, J.; MUNGARA, P.; JANE, J. *Polymer*, v.42, p. 2569–2578, 2001.



## EXTRUSABILIDADE DE FARINHA DE MANDIOCA E PROTEÍNA DE SOJA NA ELABORAÇÃO DE COMPÓSITOS BIODEGRADÁVEIS.

Juan Antonio Ruano Ortiz<sup>1</sup>, José Luis Ramírez Ascheri<sup>2</sup>, Carlos Wanderlei Piler Carvalho<sup>2\*</sup>, Diego Palmiro Ramirez Ascheri<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós Graduação em Alimentos, UFRRJ, Seropédica/RJ

<sup>2</sup>Laboratório de Extrusão, Embrapa Agroindústria de Alimentos, 23020-470, Rio de Janeiro/RJ

\*Cwpiler@ctaa.embrapa.br

<sup>3</sup>Universidade Estadual de Goiás, 75.001-970, Anápolis/GO.

**Projeto Componente:** PC4

**Plano de Ação:** 01.05.1.01.04.03

### Resumo

As preocupações ambientais associadas à grande disposição de materiais plásticos têm promovido a pesquisa de alternativas para substituição ao plástico comum. Em função do exposto, no presente trabalho utilizou-se farinha de mandioca misturada com diferentes proporções de proteína soja e glicerol para elaborar filmes biodegradáveis por extrusão termoplástica. Foram analisadas as variáveis percentual protéico de soja, teor de umidade e percentual de glicerol num delineamento estatístico de metodologia de superfície de resposta para obter modelos matemáticos preditivos. As variáveis resposta em quanto a extrusabilidade do material foram pressão estática de saída na extrusora (MPa), vazão (kg/h) de saída.

**Palavras-chave:** compósitos biodegradáveis, amido de mandioca, mandioca.

### Introdução

As preocupações ambientais associadas à grande disposição de materiais plásticos têm proporcionado a investigação de alternativas para substituição ao plástico comum. No Brasil, cerca de 240 mil toneladas de lixo são produzidas por dia, constituindo um sério problema sanitário (VILPOUX e AVEROUS, 2003)

Dessa forma, várias pesquisas com diferentes materiais (amido, celulose e lipídios) têm sido desenvolvidas na tentativa de minimizar, diminuir ou solucionar o problema da poluição através da obtenção de plásticos biodegradáveis. O amido tem recebido especial atenção, pois o amido possui baixo custo, abundância e alta aplicabilidade (CUQ et al., 1995).

De acordo com a literatura, os compósitos a base de proteínas diferem nas propriedades mecânicas em relação aos compósitos a base de polissacarídeos.

Isso se deve ao fato de que, contrariamente aos polissacarídeos, que são homopolímeros, apresentam seqüências repetidas de um mesmo monômero e as proteínas têm estrutura específica, derivada de 20 diferentes monômeros, que conferem uma gama maior de propriedades funcionais potenciais, por formar ligações intra e intermoleculares diferindo nas posições, tipos e energias (FELLOWS, 2006).

### Materiais e métodos

Farinha integral de mandioca fornecida por Embrapa Soja, e isolado protéico de soja ISOPRO 500A da empresa Olvebra (Eldorado do Sul, RS).

As amostras de farinha de mandioca foram acondicionadas para vários níveis de umidade, sendo 21,6, 25, 30, 35 e 38,4%. A quantidade de água adicionada foi calculada de acordo com a Equação 1:

$$Y = \left[ \frac{(U_f - U_i) \times Pa}{100 - U_f} \right] \quad (1)$$

Onde:

Y = quantidade de água a ser adicionada (ml)

U<sub>f</sub> = umidade final da amostra (%)

U<sub>i</sub> = umidade inicial da amostra (%)

Pa = peso da amostra (g)

#### Processamento por extrusão

O processo de extrusão foi realizado numa extrusora Brabender de parafuso simples DSE 20 (Duisburg, Alemanha), sistema de refrigeração manual a ar para controle de temperatura na camisa de extrusão, sensor de pressão imediatamente anterior à parede interna da matriz, rosca de alimentação e rosca principal com controle de velocidade. O diâmetro interno do cilindro foi de 20 mm, apresentando-se com ranhuras internas por toda sua extensão, e a relação comprimento: diâmetro de 20:1. Uma matriz laminar de 1 mm acoplada ao cilindro principal da extrusora, e serviu como suporte à terceira resistência elétrica de aquecimento e ao sensor de pressão. O sensor de pressão foi acoplado à parede da matriz laminar, de forma a permanecer em contato com a mistura extrusada para registro da pressão estática.

A extrusão de cada amostra foi iniciada após o aquecimento programado das três zonas de temperaturas controladas para o barril. Cada amostra foi quantificada em triplicata a pressão estática e vazão pra caracterizar sua extrusabilidade. Os parâmetros utilizados durante o processo foram:

#### Parâmetros Constantes:

Taxa de compressão do parafuso: 3:1 (taxa intermediária de cisalhamento). Rotação do parafuso: 100 rpm e Matriz laminar de 1mm

#### Parâmetros Variáveis:

Umidade das farinhas: 25, 30 e 35%. Teor de glicerol: 2, 4 e 6%. Teor de proteína: 2, 4 e 6%. Temperatura: 50°C (zona 1); 90°C (zona 2); 70°C (zona 3).

A pressão estática foi manipulada pela variação da restrição ao escoamento e a extrusão das amostras foi iniciada após as zonas de alimentação, transição e alta pressão, atingirem as temperaturas desejadas de acordo com o delineamento experimental. O produto extrusado foi coletado 3 minutos após o início do processamento, quando as zonas encontraram-se em equilíbrio de temperatura e o material homogêneo, isento de bolhas e grânulos na superfície.

#### Extrusabilidade

Esta variável é definida como o resultado da interação entre os diferentes componentes da mistura

a ser extrusada que ao atravessar o cilindro se transforma em um novo produto, fluindo continua e constantemente em função das diferentes variáveis estabelecidas em determinado extrusor (temperatura, configuração de parafuso, matriz, etc.). Para este fim foi utilizada a medição da pressão e a vazão em triplicata para caracterizar cada um dos tratamentos estudados.

O arranjo experimental, o qual seguiu o delineamento experimental central composto rotacional está disposto na Tabela 1.

**Tabela 1.** Níveis codificados das variáveis independentes do experimento.

Variáveis	Níveis				
	-1,682	-1	0	+1	+1,682
Glicerol X <sub>1</sub>	0,636	2	4	6	7,364
Umidade X <sub>2</sub>	21,59	25	30	35	38,41
Soja X <sub>3</sub>	0,636	2	4	6	7,364

## Resultados e discussão

De acordo com o conceito de equivalência energética (ZHENG e WANG, 1994), calor e cisalhamento são responsáveis pela transformação molecular da matéria-prima durante a extrusão. O cisalhamento causa rompimento da estrutura do amido, reduzindo-o a grânulos menores que 0,5 µm (ZHENG et al., 1995). Fraiha et al. (1997) observaram que a pressão estática é influenciada pela interação entre configuração da matriz e temperatura da massa, e a taxa de cisalhamento sobre a massa pode ser manipulada pela alteração da configuração da matriz.

Os dados apresentados neste trabalho com uma única matriz indicaram que a alteração da taxa de cisalhamento resultante do uso de diferentes umidades resultou em variação do grau de cozimento das amostras de farinha de mandioca e proteína de soja.

As equações do modelo matemático proposto para as variáveis independentes codificadas (equação 2 e 3) ficam definidas como:

Pressão de saída = 15,6 - 9,6403 X<sub>2</sub> + 1,08 X<sub>1</sub>

+ 3,1661 X<sub>22</sub> + 0,8501 X<sub>32</sub> (2)

Vazão = 15,6 + 0,032 X<sub>1</sub> - 0,19 X<sub>2</sub> - 0,028 X<sub>3</sub> +

0,107 X<sub>12</sub>

+ 0,13 X<sub>2</sub>

+ 0,8501 X<sub>3</sub>

+ 0,058 X<sub>2</sub> X<sub>3</sub> (3)

De acordo com os resultados expressos na Tabela 2, para a variável resposta Pressão de saída (MPa), nota-se que o coeficiente de determinação expressou um valor considerado bom (0,9536), explicando 95 % da variação total da variável resposta. Embora evidencie a falta de ajuste do modelo aos dados experimentais, uma vez que, a variação devido à falta de ajuste é estatisticamente significativa (P > 0,05) (Tabela 2).

Fator	Pressão (MPa)	Vazão (kg/h)
	Coefficiente de Regressão	Coefficiente de Regressão
X <sub>0</sub>	1,56E+01 ***	2,26E+00 ***
X <sub>1</sub>		
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	1,08E+00	1,07E-01 *
X <sub>2</sub>	-9,64E+00	1,90E-01 *
X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	3,17E+00	1,33E-01 *
X <sub>3</sub>		
X <sub>3</sub> <sup>2</sup>	8,50E-01	
X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>		
X <sub>1</sub> X <sub>3</sub>		
X <sub>2</sub> X <sub>3</sub>		
<b>R<sup>2</sup></b>	0,9536	0,6447

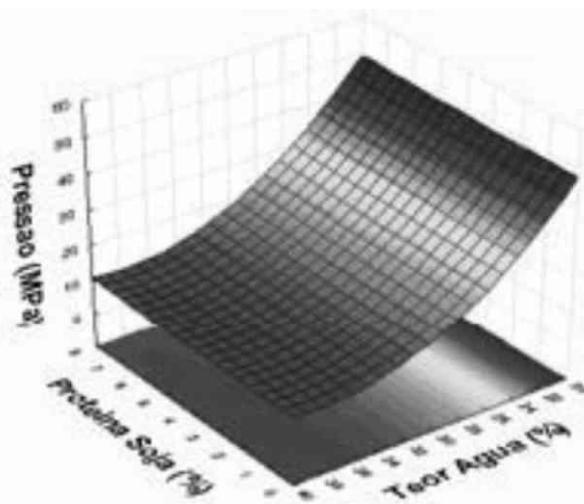
X<sub>1</sub>: Glicerol (%), X<sub>2</sub>: Teor de água (%), X<sub>3</sub>: Proteína de soja (%), n.s= Não significativo, \* = Significante ao nível de 5% de probabilidade, \*\* = Significante ao nível de 1% de probabilidade, \*\*\* = Significante ao nível de 0,1% de probabilidade

Com relação às variáveis, podemos perceber que houve contribuição linear negativa do teor de umidade na formulação e um efeito positivo das variáveis quadráticas porcentual de glicerol, teor de umidade e porcentual de proteína de soja, nos valores de pressão de saída. De acordo com o efeito negativo da variável linear teor de água, pode-se dizer que conforme o aumento da umidade há uma tendência à redução dos valores de pressão (inversamente proporcionais), sendo que a mesma apresentou maior contribuição na variação dos resultados. Por outro lado, as interações entre as variáveis independentes não foram significativas ao nível de 5 % de probabilidade, não contribuindo para a variável resposta pressão de saída.

Os gráficos tridimensionais de superfície de resposta (Figura 1) representam o efeito das variáveis glicerol (%) teor de água (%) e proteína de soja (%), na pressão de saída. Como visto em outros estudos, a pressão estática sobre a massa submetida à extrusão é influenciada pela interação entre configuração da matriz (neste caso uniforme) e temperatura da massa (FRAIHA et al., 1997). Porém, a umidade exerce uma grande influência na Pressão. Neste estudo, o menor valor de pressão (9 MPa) foi verificado no tratamento que apresentava maior teor de umidade antes do processamento (38.40 %).

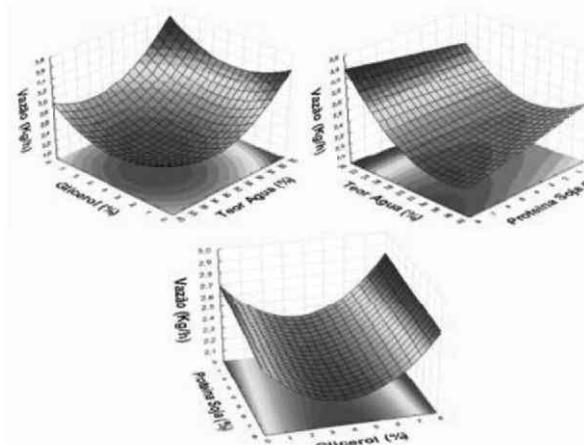
Com referência à vazão os tempos mínimos e máximos de residência sofreram efeitos da interação entre o teor de água e proteína de soja. Este padrão está consistente com a previsão de maior retenção da massa ao longo do cilindro quando há maior dificuldade de escoamento do material, e o conseqüente aumento da pressão (MILLER e MULVANEY, 2000). Este aumento de volume na região de alimentação pode estar associado à maior mistura do material higroscópico pela alta umidade o que resultou numa maior resistência da matéria prima, indicando tempos de residência maiores, embora as outras variáveis tenham sido significativas quando estudadas isoladamente. Para a vazão o valor do coeficiente de determinação R<sup>2</sup> (0,6447) para o modelo quadrático foi baixo

podendo indicar que este modelo não é preditivo. Embora os níveis de significância para os coeficientes de determinação indicam que as variáveis independentes escolhidas são preditivas para o fenômeno estudado. A variação dos tempos mínimo e máximo de residência foi explicada pelas interações entre o teor de água (%) e teor de proteína de soja (%).



**Fig. 1.** Efeito das variáveis quantitativas Glicerol (%), Proteína de Soja (%) e Teor de água (%), na Pressão de saída (MPa) dos compósitos biodegradáveis extrusados de farinha de mandioca.

Na Figura 2 se observa uma tendência de maiores tempos mínimos de residência nas amostras com teores de umidade entre 30 e 34 %, quando o porcentual de soja aumenta, diminuindo desta forma a vazão do filme extrusado em estudo.



**Fig. 2.** Efeito das variáveis quantitativas Glicerol (%), Proteína de Soja (%) e Teor de água (%), na Vazão (Kg/h) dos filmes biodegradáveis extrusados de farinha de mandioca.

---

## **Conclusões**

---

De acordo com os experimentos realizados e resultados expostos conclui-se que há possibilidade de utilizar os parâmetros propostos (pressão de saída e vazão) para caracterizar a extrusabilidade da produção de filmes biodegradáveis, utilizando farinha mandioca, isolado protéico de soja e glicerol, através do processo de extrusão. a faixa média de adição de glicerol (4%) e baixo teor de proteína.

---

## **Agradecimentos**

---

A Embrapa, ao CNPq e a UFRRJ.

---

## **Referências**

---

- CUQ, B.; AYMARD, C.; CUQ, J.L.; GULBERT, S. J. Food Sci. v.60, n.6, p.1369-1374. 1995.
- FELLOWS, P. J. **Tecnologia do processamento de alimentos: princípios e prática**. 2a ed., Porto Alegre: Artmed, 2006, 602p.
- LIMA, A. M. F.; ANDREANI, L.; SOLDI, V.. Química Nova, Vol. 30, No. 4, 832-837, 2007
- PALMU, P. S. T. **Preparação, propriedades e aplicação de biofilmes comestíveis à base de glúten de trigo**. [Tese Doutorado] Campinas, SP: [s.n], 2003. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos, 2003.
- VICENTINI, N.M. **Elaboração e caracterização de filmes comestíveis a base de fécula de mandioca para uso em pós-colheita** (Tese de Doutorado) Faculdade de Ciências Agrônomicas – UNESP, Botucatu – SP, 2003.
- VILPOUX, O.F.; AVEROUS, L. **Plásticos a base de amido**. In: Cereda, M. P.; Vilpoux, O. F. (Ed.). São Paulo: Fundação Cargill, 2003. p. 499-529.
- ZHANG, J.; MUNGARA, P.; JANE, J. **Polymer**, v.42, p. 2569–2578, 2001.



## CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA, TERMOGRAVIMÉTRICA E MORFOLÓGICA DE FIBRAS DE AÇAÍ (*EUTERPE PRECATORIA*)

Juliane Cristina Borba<sup>1</sup>, Elisangela Corradini<sup>1</sup>, Francys Kley Vieira Moreira<sup>1</sup>, Mariana Coutinho Magnani Carneiro<sup>1</sup>, Luiz Henrique Capparelli Mattoso<sup>1</sup>, José Dalton Cruz Pessoa<sup>1</sup>, José Manoel Marconcini<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Instrumentação Agropecuária, 13560-970, São Carlos/SP. \*Marconcini@cnpdia.embrapa.br

Projeto Componente: PC4

Plano de Ação: 01.05.1.01.04.04

### Resumo

A utilização de fibras naturais como reforço em polímeros tem sido crescente devido as características como serem biodegradáveis, baixa natureza abrasiva, além de ajudarem na despoluição agroindustrial. Neste trabalho, fibras de açaí foram caracterizadas química, termogravimétrica e morfológicamente, avaliando-se seu potencial de uso em aplicações de nanotecnologia.

**Palavras-chave:** açaí, fibra do açaí, termogravimetria.

### Introdução

*Euterpe precatoria*, o açaí, é uma palmeira nativa da Região Norte, muito popular pela produção do “vinho do açaí”, bebida extraída do epicarpo e do mesocarpo, partes comestíveis do fruto do açaí, e também por ser matéria prima para agroindústria do palmito. Há algum tempo o açaí era praticamente todo para consumo local, porém conquistou e vem conquistando novos mercados, tornando-se importante fonte de renda e de emprego. A venda da polpa nos estados brasileiros pode chegar à cerca de 10 mil toneladas, sendo que sua exportação ultrapassa mil toneladas por ano. Estima-se que as atividades de extração, transporte, comercialização e industrialização de frutos e palmito de açazeiro são responsáveis pela geração de 25 mil empregos diretos, sendo uma das principais fontes de renda para populações ribeirinhas principalmente no estado do Pará e Amapá. Todas as partes da palmeira possuem grande utilidade, a raiz pode ser utilizada como vermífugo, o caule é usado na construção de cercas, as folhas são utilizadas como ração animal e na produção de artesanato, e os cachos secos são aproveitados como vassouras (ROGEZ, 2000). O caroço pode ser utilizado na torrefação de café,

carvão vegetal entre outros. Já as fibras podem ser utilizadas, por exemplo, na fabricação de móveis, placas acústicas e indústria automobilística. Na cidade de Belém, são comercializados cerca de 100 a 120 mil toneladas de frutos de açaí por ano e somente cerca de 17% do fruto é comestível. O descarte de 91,3 mil toneladas de uma combinação de caroço com fibra, sendo que desse total aproximadamente 5,5 mil toneladas são fibras. Novas soluções tecnológicas devem ser propostas diante deste problema ambiental, considerando que estas fibras são um resíduo agroindustrial, e que podem ser utilizadas, por exemplo, como reforço em matrizes poliméricas. Neste trabalho foi realizada a caracterização química e termogravimétrica das fibras do açaí (*Euterpe precatoria*), avaliando-se o potencial de aplicação em nanotecnologia.

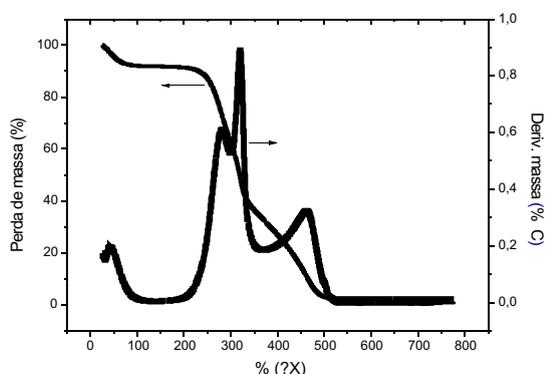
### Materiais e métodos

As fibras de açaí foram adquiridas da empresa Amazon Frut. As medidas de comprimento médio da fibra foram realizadas com a utilização de um paquímetro e de um software livre ImageJ. O diâmetro médio das fibras foi determinado utilizando o ImageJ e o software Fibras e Raízes

desenvolvido na Embrapa Instrumentação Agropecuária. A densidade aparente foi obtida em triplicata utilizando a relação entre densidade, volume e massa. O pH foi determinado com a imersão de 4,6g de fibra em 200mL de água destilada após agitação por 24 horas. Para determinação do teor dos extrativos solúveis em água e em solvente orgânico foi feita a remoção dos mesmos em um extrator soxlet e calculado por diferença das massas antes e após a extração. A obtenção do teor de lignina solúvel de Klason foi realizada utilizando a norma T 222 om-02. A termogravimetria das fibras foram realizadas em um equipamento TGA Q500 marca TA Instruments em atmosfera de ar sintético a uma razão de aquecimento de 10°C/min, com massa de amostra em torno de 7,0mg. Análise morfológica das fibras foi realizada por microscopia eletrônica de varredura (MEV), utilizando um microscópio eletrônico de varredura DSM 960/Zeiss. No preparo de amostras para microscopia, as fibras foram liofilizadas e não passaram por nenhum tratamento químico.

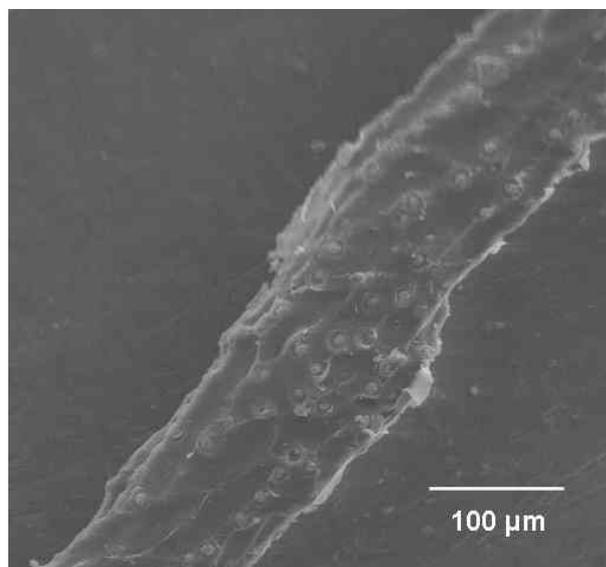
## Resultados e discussão

O comprimento médio determinado por meio de paquímetro e por meio do software ImageJ para a fibra foi de 14,2mm e 18,7mm, respectivamente. Os diâmetros médios obtidos foram 0,49 mm e 0,40 mm para o software ImageJ e o Fibras e Raízes, respectivamente. A densidade aparente determinada foi 0,70 g/cm<sup>3</sup> e o pH de equilíbrio 5,49. O teor de extrativos obtido em solvente orgânico foi de 13,75% e em água 1,68%. Enquanto que o teor de lignina insolúvel determinado foi de 48,8%. A partir da termogravimetria das fibras de açaí, em atmosfera de ar sintético observou-se uma perda de massa de 8,3% entre temperatura ambiente e 150°C, que corresponde à perda de voláteis, principalmente água. Em seguida uma segunda faixa de degradação que vai de 200 a 500 °C, indicando que a fibra possui estabilidade térmica similar a fibras de sisal e coco, como já foi visto em alguns trabalhos (MARTINS, 2005). Pode-se observar que ao final da análise em aproximadamente 700 °C restam 2,5% de resíduo, material que corresponde a porção inorgânica da fibra (Fig. 1).



**Fig. 1.** Curva TG/DTG da fibra de açaí, razão de aquecimento 10°C/min em ar sintético.

A partir dos resultados de MEV (Fig. 2), pode-se observar que a superfície é rugosa e irregular. Como não foi realizado nenhum tratamento químico da fibra, provavelmente ainda há resíduos de ceras e graxas na superfície.



**Fig. 2.** Micrografia eletrônica de varredura obtida para a fibra de açaí.

## Conclusões

A faixa de temperatura de uso das fibras de açaí permitem utiliza-la diretamente na confecção de compósitos poliméricos. Apesar dos altos valores de lignina encontrado, há possibilidade de realizar tratamentos químicos para obtenção de celulose e nanocelulose a partir de fibras de açaí. Os resultados indicam que há um potencial de uso para misturas de fibras de açaí com matrizes termoplásticas, na aplicação em compósitos poliméricos e na extração de nanofibras.

## Agradecimentos

Embrapa. FINEP/MCT, CNPq e FIPAI.

## Referências

- MARTINS, M. A.; MATTOSO, L. H. C.; PESSOA, J. D. C. **Comportamento Térmico da Fibra do Açaí**. São Carlos, SP: Embrapa Instrumentação Agropecuária, 2005. 3 p. (Embrapa Instrumentação Agropecuária. Comunicado Técnico, 68).
- ROGEZ, H. **Açaí: preparo, composição e melhoramento da conservação**. Belém: EDFPA, 2000.



## PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOCOMPÓSITO DE QUITOSANA COM ARGILA ORGANOFÍLICA COM APLICAÇÕES AMBIENTAIS

Júlio Ximenes<sup>1</sup>, Rafael Salomão<sup>2</sup>, Mariselma Ferreira<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Centro de Ciências Naturais e Humanas - UFABC, 09210-170, Santo André/SP\*

<sup>2</sup>Centro de Engenharia, Modelagem e Ciências Sociais Aplicadas, UFABC, 09210-170, Santo André/SP

\*mariselma.ferreira@ufabc.edu.br

Projeto Componente: PC 4

Plano de Ação: 01.05.1.01.04

### Resumo

A quitosana por conseguir formar filmes e membranas em soluções ácidas diluídas, possui diversas aplicações que exploram esta propriedade. O material híbrido de quitosana e argila organofílica foram preparadas por secagem do solvente. Os nanocompósitos foram estudados por microscopia de reflectância, análises de FTIR e difração de raio-X. Os resultados mostraram que ocorreu a formação dos nanocompósitos de forma homogênea, que as argilas permaneceram estáveis mesmo na presença da quitosana e que a cristalinidade dos nanocompósitos diminui a medida que a quantidade de argila diminui.

**Palavras-chave:** quitosana, argila e nanocompósitos.

### Introdução

A nanociência e a nanotecnologia tratam de materiais e dispositivos com dimensões nanométricas, ou seja, objetos com tamanho muito pequeno na escala de nanômetros, englobando a criação e utilização de materiais, dispositivos e sistemas, em nível atômico e molecular (XIMENES, 2007).

Nanocompósitos são uma classe de materiais híbridos em que pelo menos um dos componentes tem dimensões nanométricas. Tal como acontece nos compósitos tradicionais, um dos componentes serve de matriz, cujas as propriedades se deseja modificar. A fase dispersa se encontra em menor quantidade e ela será responsável pela modificação das propriedades da matriz. (CHOUDALAKIS e GOTSIS, 2009).

A quitosana é solúvel em ácidos orgânicos, quando o pH da solução é menor do que 6,5. Nesta faixa de pH os grupos amínicos da quitosana estão protonados ( $\text{NH}_3^+$ ), de forma que a cadeia polimérica

esteja carregada positivamente, ocasionando a sua dissolução e assim pode interagir com materiais carregados negativamente (MARRECO DALLAN, 2003).

Para o uso em processos de imobilização a quitosana possui outra característica bastante peculiar, no qual o gel de quitosana, precipita quando submetido à elevação de pH, tornando-se insolúvel em água e se complexando com polieletrólitos aniônicos. Assim, dependendo da maneira como a precipitação ocorre, pode-se obter biomateriais de diferentes formas como em esferas, membranas e cápsulas (RINAUDO, 2006).

Argilas organofílicas são argilas que contém moléculas orgânicas intercaladas entre as camadas estruturais e a inserção destas moléculas muda sua natureza de hidrofílica para hidrofóbica e com isso proporciona diversas possibilidades de aplicações para as argilas. Podendo ser usadas no tratamento de águas contaminadas, sendo ainda indicada para revestimentos de reservatórios de disposição de resíduos, tratamento de efluentes, derramamento controlado, em tanques de óleos ou gasolina e em revestimento de aterros (PAIVA et al., 2008).

## Materiais e métodos

Os nanocompósitos foram preparadas nas concentrações de 1, 0,75, 0,5 e 0,25 % (p/v) de argila organofílica em quitosana 2 % (p/v) que foram dispensadas em placas de Petri de Poliestireno. O gel de quitosana nas placas foram secas em estufa a 60°C.

O tamanho médio dos aglomerados da argila organofílicas, sua dispersão e a topografia dos nanocompósitos foram realizadas em um microscópio óptico ( Zeiss, modelo Axioskop 40 com câmera acoplada AxioCam ICc1) utilizando o modo de reflectância.

As membranas foram acondicionadas em dessecador por *overnight* no dia anterior as medidas. As determinações foram realizadas no em equipamento de ATR-FTIR (Bruker, modelo Vertex-70) com espectros de 650 a 4000  $\text{cm}^{-1}$  número de ondas, com resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ , sendo realizado com 32 varreduras e em atmosfera inerte ( $\text{N}_2$ ). As análises de FTIR foram importantes para analisar possíveis modificações químicas que possam ocorrer no processo de confecção dos nanocompósitos.

A espectroscopia de energia dispersiva de Raios-X (EDX) foi empregada na análise dos nanocompósitos para estudo da sua microestrutura. As análises foram feitas em um aparelho de Difração de Raios-X da Rigaku Rota Flex, modelo RU200B. A análise foi realizada utilizando-se tubo de cobre de comprimento de onda de 1,54 Å, com tensão de 50 KV, corrente de 100 mA, espectro de 3° até 30°, com tempo de 2°/min e passos de 0,02°.

## Resultados e discussão

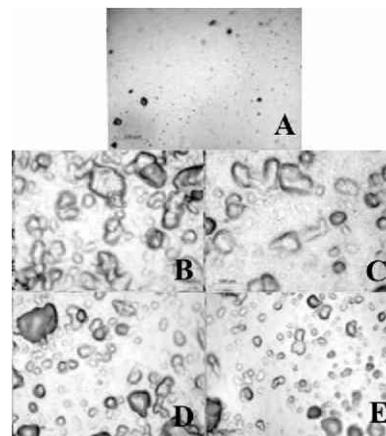
As membranas foram preparadas por meio de secagem do solvente, no qual a solução polimérica é depositada em uma placa de poliestireno e depois é acondiciona em estufa. Esta metodologia foi capaz de produzir membranas uniformes, estáveis e sem falhas aparentes, como bolhas e enrugamentos.

Através das imagens de microscopia de reflectância é possível observar que as argilas apresentam boa distribuição dentro da matriz de quitosana (Fig. 1), sendo homogêneas. No entanto, não há uma boa dispersão, visto que não ocorre esfoliação das lamelas de argila (Figura 1). Esta característica é importante para estas argilas já que demonstra a grande afinidade e estabilidade entre o surfactante e as lamelas da montmorilonita.

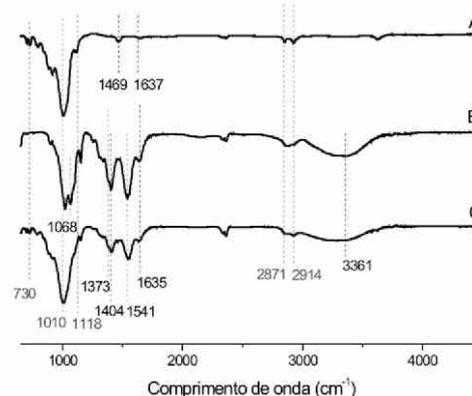
Os espectros de FTIR (Fig. 2) demonstram, claramente, que os principais picos da argila organofílica, como em 2914, 2871, 1118, 1010 e 730  $\text{cm}^{-1}$  (Fig. 2A) e da membrana de quitosana, como em

3361, 1635, 1541, 1404 e 1373  $\text{cm}^{-1}$  (Fig. 2B), persistem no nanocompósito confeccionado a partir da união da matriz polimérica de quitosana e da peça cerâmica quimicamente modificada (Fig. 2C).

Pode-se observar, também, através do espectro de FTIR do nanocompósito (Fig. 2C) que a organofilização continua estável mesmo quando colocado junto a solução de quitosana no processo de mistura. Pois, a frequência vibracional das bandas em 1541  $\text{cm}^{-1}$ , na membrana de quitosana, pode ser considerado um pico de referência, pois caso seja deslocado para valores de menor frequência pode indicar a intercalação da quitosana entre as lamelas da argila, substituindo o surfactante (ZUBITUR et al., 2009).



**Fig. 1.** Fotomicrografia por reflectância das membranas de quitosana (A) e dos nanocompósitos com argilas 1% (B), 0,75% (C), 0,5% (D) e 0,25% (E) com aumento de 20X.



**Fig. 2.** FTIR da argila organofílica (A), membrana de quitosana (B) e nanocompósito de quitosana/argila (C). O tracejado em vermelho indica a comparação de picos existentes, exclusivamente, entre os espectros A e C.

No entanto, isso não ocorre pois os valores de frequência na região de 1541  $\text{cm}^{-1}$  permanecem constantes mesmo quando há uma variação na

concentração da argila dentro da matriz de quitosana (Fig. 5). Assim, a quitosana consegue interagir com a argila organofílica envolvendo-a como suporte polimérico, mas não consegue interagir intercalando-a. Além disso, os demais picos presentes nos nanocompósitos, também, permanecem inalterados o que indica uma boa estabilidade química para estes nanocompósitos.

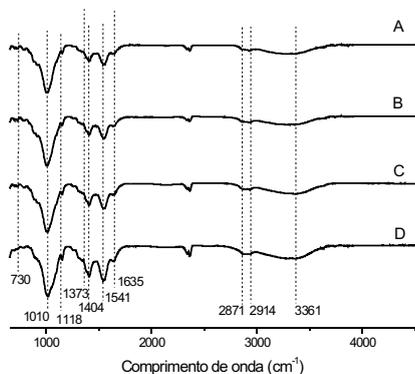


Fig. 3. FTIR dos nanocompósitos de 1% (A), 0,75% (B), 0,5% (C) e 0,25% (D).

Através da análise dos espectros é possível afirmar a presença dos picos em  $8,36^\circ$ ,  $11,48^\circ$  e  $18,24^\circ$  (Fig. 4C), mas com intensidades bastante reduzidas o que pode indicar uma diminuição na ordem cristalina da matriz de quitosana. A literatura descreve que uma amostra de quitosana com baixa cristalinidade pode permitir uma rápida cinética de absorção e uma capacidade máxima de fixação. Muitos estudos têm demonstrado que a diminuição da cristalinidade resulta em uma melhora na propriedade de absorção dos íons metálicos (QI e XU, 2004). Logo, esta característica visível nos nanocompósitos pode indicar que estes materiais possam servir como filtros para poluentes, pois eles permitiram a passagem de íons metálicos e poluentes dentro da matriz permitindo que as argilas modificadas quimicamente possam fazer a sua retenção.

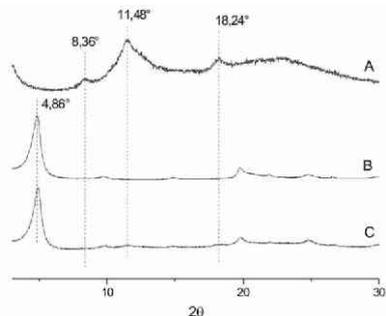


Fig. 4. Difratomogramas da membrana de quitosana (A), da argila organofílica (B) e do nanocompósito há 1% (C). O tracejado em vermelho indica a comparação de picos existentes, exclusivamente, entre os espectros A e C.

Realizando uma análise comparando a intensidade dos picos de cada um dos nanocompósitos nas respectivas concentrações é possível observar que a medida que a concentração da argila diminui dentro da matriz a intensidade dos picos também diminui e isto pode estar relacionado, simplesmente, a quantidade de argila ou há mudanças na cristalinidade do nanocompósito. (QI e XU, 2004; WANG, et al., 2006).

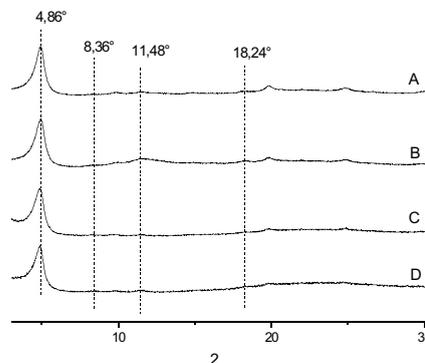


Fig. 5. Difratomogramas dos nanocompósitos de 1% (A), 0,75% (B), 0,5% (C) e 0,25% (D).

## Conclusões

O método de preparação do nanocompósito foi efetivo, com boa estabilidade química e morfológica. No entanto, através dos estudos de raio-X entre as membranas o melhor nanocompósito é o que possui 0,25% (p/v) de argila, pois apresenta menor cristalinidade e isso pode contribuir diretamente na porosidade para que os poluentes possam passar por dentro da matriz e assim entrar em contato com a argila quimicamente modificada.

## Agradecimentos

CNPq, IFSC-USP e UFC.

## Referências

- CHOU DALAKIS, G.; GOTSIS, A. D. *European Polymer Journal*, New York, v. 45, p. 967984, 2009.
- MARRECO DALLAN, P. R. *Síntese e caracterização de membranas de quitosana para aplicação na regeneração de pele*. Campinas: [s. n.], 2005.
- PAIVA, L. B.; MORALES, A. R.; DÍAZ, F. R. V. *Cerâmica*, São Paulo, v. 54, p. 213-226, 2008.
- QI, L.; XU, Z. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical Engineering Aspects*, [S. l.], v. 251, p. 183190, 2004.
- RINAUDO, M. *Progress in Polymer Science*, Elmsford, v. 31, p. 603632, 2006.
- WANG, X.; DU, Y.; YANG, J.; WANG, X.; SHI, X.; HU, Y. *Polymer*, [S. l.], v. 47, p. 6738-6744, 2006.
- XIMENES, J. C. M. *Dispersão de nanotubos de carbono em biomoléculas*. Fortaleza: [s. n.], 2007.
- ZUBITUR, M.; GÓMEZ, M. A.; CORTÁZAR, M. *Polymer Degradation and Stability*, Essex, v. 94, p. 804809, 2009.



---

## NANOFIBRAS DE SISAL OBTIDAS SOB CONDIÇÕES ÁCIDAS

---

Kelcilene Bruna Ricardo Teodoro<sup>1,2</sup>, Thalita Jéssika Bondancia<sup>2</sup>, Eliangela de Moraes Teixeira<sup>1</sup>, Francieli Borges de Oliveira<sup>1</sup>, Luiz Henrique Capparelli Mattoso<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação Agropecuária, 13560-970, São Carlos/SP \*mattoso@cnpdia.embrapa.br

<sup>2</sup>Depto. de Química - UFSCar, 13560-905, São Carlos/SP

Projeto Componente: PC4

Plano de Ação: 01.05.1.01.04.04

---

### Resumo

Fibras de sisal foram submetidas ao processo de branqueamento e subsequente hidrólise ácida. Esta foi realizada sobre a fibra de sisal com a finalidade de extrair nanofibras celulósicas. As nanofibras obtidas foram caracterizadas segundo rendimento do processo por gravimetria, aspectos morfológicos (forma, comprimento e diâmetro) por microscopia eletrônica de transmissão (MET), cristalinidade por difração de raios-X (DRX) e estabilidade térmica por análise termogravimétrica (TG).

**Palavras-chave:** sisal, sisal branqueado, nanofibras de sisal.

---

### Introdução

---

A celulose é o biopolímero mais abundante da Terra e tem atraído um grande interesse em sua utilização como reforço em nanocompósitos. (BHATTACHARYA et al., 2008). Tal interesse pode ser atribuído a entidades nanométricas designadas fibrilas, que participam da construção de fibras vegetais e que possuem alta resistência mecânica. (HUBBE et al., 2008). As fibrilas são constituídas por um conjunto de cadeias de celulose empacotadas. A agregação das fibrilas forma estruturas maiores conhecidas como agregados fibrilares que atuam como agentes de reforço em uma matriz amorfa constituída por lignina e hemicelulose, tais constituintes sustentam os diferentes tecidos das fibras vegetais (SILVA et al., 2009). Ela apresenta ainda a versatilidade de, sob controladas condições de hidrólise ácida, poder gerar nanoestruturas altamente cristalinas conhecidas como “whiskers” os quais apresentam módulo elástico em torno de 150 GPa, superior ao das convencionais fibras de vidro (85 GPa) e aramidadas (65 GPa) (MORÁN et al., 2008). As nanofibras celulósicas são estruturas que possuem

alta cristalinidade em função da remoção da fase amorfa, apresentando diâmetros máximos de até 100 nm e comprimentos até 1 µm dependendo da celulose de origem (HUBBE et al., 2008).

A fibra de sisal é a principal fibra dura produzida no mundo, correspondendo a, aproximadamente, 70% da produção comercial de todas as fibras desse tipo. A partir da fibra de sisal pode-se extrair nanofibras da celulose para aplicações em nanotecnologia, especialmente na área de nanocompósitos poliméricos constituindo, dessa forma, uma alternativa para manter o equilíbrio ambiental (devido ao seu caráter renovável e biodegradável) e agregação de valores de produtos do setor da agricultura.

Neste trabalho, a partir da fibra de sisal branqueada, realizou-se a hidrólise ácida com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> para se obter nanofibras.

---

### Materiais e métodos

---

As fibras de sisal foram branqueadas a partir de uma solução composta por ácido acético (80%) e ácido nítrico (70%), à cerca de 70°C, onde permaneceram

imersas sob constante agitação por 30 minutos. Após esse tempo, foi adicionada água deionizada gelada e, então, procedeu-se uma filtração a vácuo até que as fibras se apresentassem neutras. Em seguida, foram lavadas com etanol e secas em estufa de circulação de ar a 50°C por 24 h. Após secas, as fibras foram moídas em moinho de facas e, então, submetidas ao processo de extração de nanofibras de celulose. Este processo foi realizado via hidrólise ácida, onde se usou uma solução de ácido sulfúrico (60%) à 45°C. As fibras foram imersas à essa solução e mantidas sob a vigorosa e constante agitação (cerca de 4000 rpm) de um agitador mecânico, durante 75 minutos. Em seguida, água deionizada gelada foi adicionada ao sistema, o qual foi agitado por mais 20 minutos. Centrifugação e diálise foram processos também realizados a fim de diminuir a concentração do ácido e neutralizar a suspensão. Esta passou por 5 minutos de sonificação e, então, secagem em estufa com circulação de ar a 50°C por 12 horas.

O cálculo do rendimento do processo foi realizado a partir de alíquotas da suspensão, bem como as análises morfológicas por MET. Neste caso, uma alíquota da suspensão foi diluída em água destilada e corada com solução de acetato de uranila 1,5% e, então, depositada em um gride de cobre para posterior análise em um microscópio Tecnai™ G2 F20.

As amostras de nanofibras utilizadas foram secas em estufa de circulação para as determinações de cristalinidade e estudo de estabilidade térmica. As caracterizações de difração de raios-X foram feitas em um difratômetro Universal, Carl-Zeiss-Jena, modelo URD6 a uma velocidade de 1,2°/min operando a uma potência de 40 KV/20 mA e radiação de CuK $\alpha$  ( $\lambda = 1,5406\text{\AA}$ ), à temperatura ambiente e intervalo de ângulos  $2\theta$  de 5 a 40°.

As análises termogravimétricas das fibras e nanofibras foram realizadas em um equipamento da TA Instruments, TA Q500, nas condições: massa: 11,0  $\pm$  0,5 mg; atmosfera: ar sintético; vazão de gás 60 mL min $^{-1}$ ; razão de aquecimento: 10°C min $^{-1}$ ; intervalo de temperatura: 25 a 600°C e porta amostra de platina.

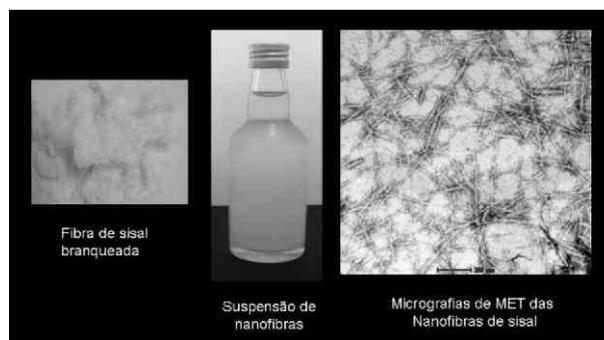
## Resultados e discussão

O teor de lignina remanescente na fibra de sisal branqueado foi avaliado em 5,5%, valor significativamente baixo quando comparado ao teor de 11,5% da fibra original. O rendimento do processo de extração de nanofibras, seguido por sonificação alcançou valores de 63,0%.

A Figura 1 mostra a fibra de sisal branqueada, a suspensão de nanofibras resultante e a micrografia de MET.

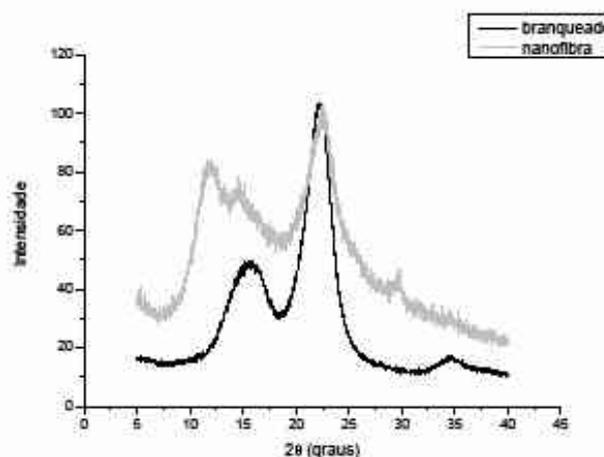
Observa-se na Figura 1 a forma agulhada das nanofibras e com auxílio do programa ImageJ, calculou-se o diâmetro e comprimento médio das nanofibras. Os valores foram:  $6,0 \pm 2,0$  e 150-450 nm de diâmetro e comprimento, respectivamente.

Trabalhos encontrados na literatura envolvendo nanofibras de sisal, revelaram valores de diâmetro avaliados via microscopia de força atômica (MFA) de  $30,9 \pm 12,5$  nm (MORÁN et al., 2008) e por MET em torno de  $4,0 \pm 1,0$  nm (RODRIGUEZ et al., 2006). Neste último, o comprimento médio obtido foi em torno  $250 \pm 100$  nm. Logo, os valores obtidos corroboram com a literatura.



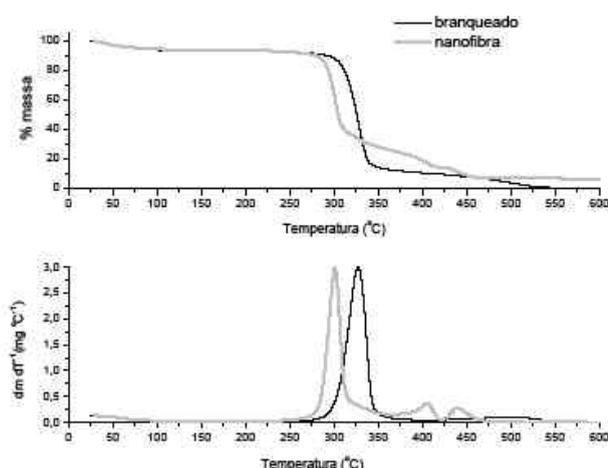
**Fig. 1.** Fibra de sisal branqueada, suspensão de nanofibras obtida a partir da fibra e micrografia de MET (escala: 200 nm).

Nas Figuras 2 e 3 encontram-se os difratogramas e as curvas de TG e dTG da fibra branqueada e nanofibras.



**Fig. 2.** Difratograma de raios-X da fibra branqueada e das nanofibras.

Observa-se uma redução da cristalinidade da nanofibra em relação à fibra contrário ao esperado. Esse resultado sugere que as condições de hidrólise empregada, podem estar acarretando a degradação da nanofibra de celulose, apesar de tê-las obtido. Estudos adicionais sobre otimização das condições de extração de nanofibras de sisal estão em progresso. Apesar disto, observa-se através da Fig. 3 e Tabela 1 que as nanofibras obtidas apresentaram alta estabilidade térmica, maior até que a da fibra de origem.



**Fig. 3.** Curvas de TG e dTG da fibra branqueada e nanofibras.

O índice de cristalinidade e a temperatura inicial de degradação térmica ( $T_{id}$ ) das amostras encontram-se na Tabela 1.

**Tabela 1.** Índice de cristalinidade ( $I_c$ ) e temperatura inicial de degradação térmica ( $T_{id}$ ) da fibra branqueada de sisal e de suas nanofibras.

Amostra	$I_c$ (%)	$T_{id}$ (%)
Sisal branqueado	80	250
Nanofibra	62	285

## Conclusões

Através do estudo realizado, pôde-se obter nanofibras a partir da fibra de sisal de alto rendimento (63,0%) cujas dimensões médias foram de  $6,0 \pm 2,0$  nm e 150-450 nm de diâmetro e comprimento respectivamente. As nanofibras resultantes apresentaram alta estabilidade térmica, porém, mostram menor cristalinidade que a fibra de sisal indicando que um certo nível de degradação da celulose pode ter ocorrido. Dessa forma as condições de extração devem ser otimizadas.

## Agradecimentos

CNPQ, FINEP/MCT, EMBRAPA, FAPESP.

## Referências

BHATTACHARYA, D.; GERMINARIO, L. T.; WINTER, W. T. Isolation, preparation and characterization of cellulose microfibrils obtained from bagasse. *Carbohydrate Polymers*, Barking, v. 73, n. 3, p. 371-377, 2008.  
 HÜBBE, M. A.; ROJAS, O. J.; LUCIA, A. L.; SAIN, M. Cellulosic nanocomposites: a review. *BioResources*, [S. l.], v. 3, n. 3, p. 929-980, 2008.

SILVA, R.; HARAGUSHI, S. K.; MUNIZ, E. C.; RUBIRA, A. F. Aplicações de fibras lignocelulósicas na química de polímeros e em compósitos. *Química Nova*, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 661-671, 2009.

MORÁN, J. I.; ALVAREZ, V. A.; CYRAS, V. P.; VÁZQUEZ, A. Extraction of cellulose and preparation of nanocellulose from sisal fibers. *Cellulose*, [S. l.], v. 15, n. 1, p. 149-159, 2008.  
 RODRIGUEZ, N. L. G. de; THIELEMANS, W.; DUFRESNE, A. Sisal cellulose whiskers reinforced polyvinyl acetate nanocomposites. *Cellulose*, [S. l.], v. 13, n. 3, p. 261-270, 2006.



## EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA FIBRA DE CAMALOTE (*Eichhornia crassipes* (Mart)) PROVENIENTE DO PANTANAL

Kleber Augusto da Silva<sup>1</sup>, Elisangela Corradini<sup>1</sup>, Luiz Henrique Capparelli Mattoso<sup>1</sup>, Fábio Galvani<sup>2</sup>,  
Marçal Henrique Amici Jorge<sup>2</sup>, Márcia Toffani Simão Soares<sup>2</sup>, José Manoel Marconcini<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação Agropecuária,  
13560-970, São Carlos/SP – \*marconcini@cnpdia.embrapa.br

<sup>2</sup>Embrapa Pantanal, 79320-900, Corumbá/MS

**Projeto Componente:** PC4

**Plano de Ação:** 01.05.1.01.04.04

### Resumo

Neste trabalho, o camalote, planta típica do Pantanal, foi utilizado para a extração de suas fibras, assim como a caracterização das mesmas. Por meio da calandragem, realizou-se a extração das fibras e como técnicas de caracterização foram realizadas as medidas dos diâmetros destas por meio de um software, assim como, análises termogravimétricas e microscopia eletrônica de varredura. Tem-se como objetivo o estudo desta fibra para verificação da possibilidade de aplicações desta na área de extração de nanofibras, e também na produção de materiais nanocompósitos, utilizando esta fibra como reforço em matrizes poliméricas.

**Palavras-chave:** Extração, caracterização, camalote.

### Introdução

Atualmente, as fibras lignocelulósicas têm sido usadas como reforços em matrizes termoplásticas e termofixas, visto que, garantem uma melhora significativa nas propriedades mecânicas e físicas da matriz polimérica. Tais benefícios são: aumento da rigidez (módulo de elasticidade), aumento da resistência mecânica, pode gerar isolamento acústico e propriedades de amortecimento para alguns tipos de matrizes (MOHANTY et al., 2002). Outro ponto importante é o processamento destes materiais de maneira convencional por meio de equipamentos como extrusora e injetora.

A planta camalote, *Eichhornia crassipes* (Mart), é uma erva aquática livre, estolonífera e perene. O hábito e o tamanho (15 a 80 cm) de altura. É uma planta ornamental, rica em um composto rico em celulose que tem um grande potencial para a seda sintética usada na Índia para papel e papelão, enquanto que as fibras espessas do pecíolo servem

para a produção de corda, barbante, tapete e sola de alpargata (POTT et al., 1994; POTT, 2000).

Neste trabalho, realizou-se a extração e caracterização de fibras de camalote, avaliando-se seu potencial de usos em compósitos e nanocompósitos de matriz polimérica.

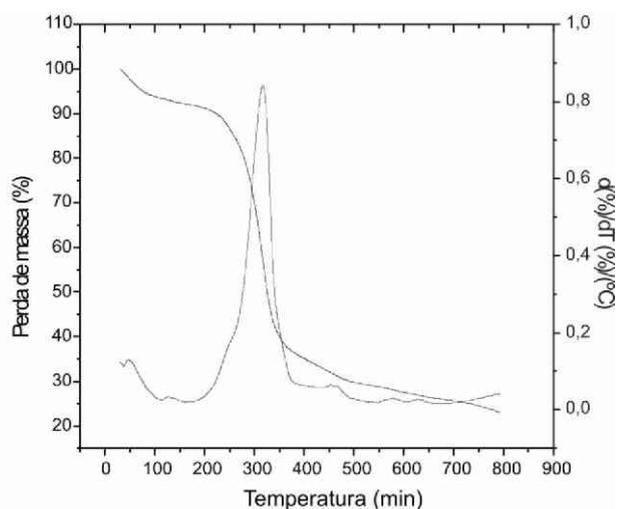
### Materiais e métodos

Foram coletadas no Pantanal aproximadamente 5kg de amostras de camalotes. A extração das fibras foi realizada utilizando-se o processo de calandragem. Este processo consiste em colocar as partes de interesse das plantas e passá-las entre dois rolos que giram em sentido contrário e à velocidade constante. Os materiais em questão foram comprimidos entre esses rolos e então, obtendo-se as fibras naturais do caule desta planta, seguido de lavagem com água. A seguir, as fibras foram secas em estufa de circulação de ar a 50°C por 48h. As medidas de massa foram realizadas em uma

balança Filizola com capacidade de 20kg e em uma balança analítica com capacidade de 600g e precisão de 0,1g. As fibras foram separadas manualmente e os diâmetros foram medidos por meio do software Fibras e Raízes. Realizou-se a termogravimetria em um equipamento TGA Q500 marca TA Instruments das fibras em atmosferas de nitrogênio a uma razão de aquecimento de 15°C/min, com massa de amostra em torno de 6,5mg. A morfologia analisada em um microscópio eletrônico de varredura DSM 960/Zeiss com as fibras previamente liofilizadas e sem tratamento químico.

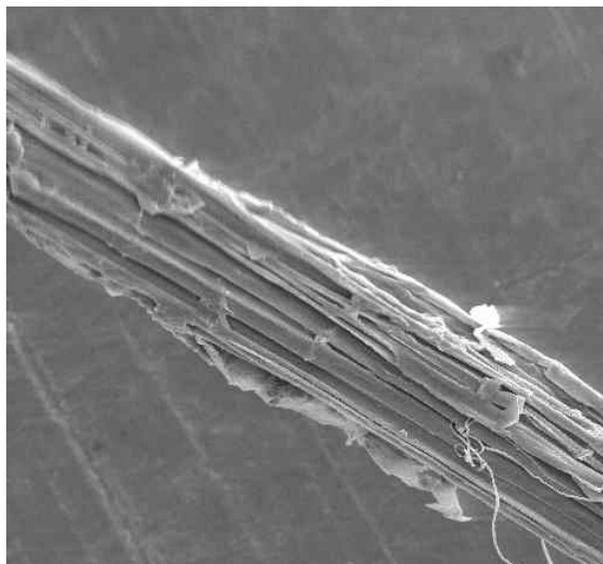
## Resultados e discussão

A partir da calandragem e das medidas de massa, foi possível observar que o rendimento da extração de fibras de camalote foi 0,7% em massa de fibra seca em relação ao caule *in natura*. É válido ressaltar que esse número é muito baixo, pois esta planta aquática apresenta uma estrutura com poucas fibras, vários espaços internos porosos onde a água se acumula. Com a utilização do software Fibras e Raízes, as medidas de diâmetro médio obtidas para as fibras de camalote foram 0,59mm. Por meio das termogravimetria das fibras de camalote, em atmosferas de nitrogênio a temperatura inicial de degradação foi de 188°C (Fig. 1).



**Fig. 1.** Curva TG/DTG para fibra de camalote em atmosfera de nitrogênio em razão de aquecimento de 15°C/min.

Na Figura 2, a partir dos resultados de MEV, observam-se que as fibras estão todas orientadas preferencialmente na direção longitudinal, aparentando a presença de ceras e graxas na superfície destas.



**Fig. 2.** Micrografia eletrônica de varredura obtida para a fibra de camalote.

## Conclusões

Por meio destas técnicas de caracterização foi possível obter importantes resultados a respeito desta fibra para futuras pesquisas na área de materiais nanocompósitos utilizando-as como reforços em matrizes poliméricas.

## Agradecimentos

CNPq, FINEP/MCT, EMBRAPA, FIPAI.

## Referências

- MOHANTY, A. K.; MISRA, M.; DRZAL, L. T. Sustainable bio-composites from renewable resources: Opportunities and challenges in the green materials world. **Journal of polymers and the environment**. [S. l.], v. 10, n. 1-2, 2002.
- POTT, A.; POTT, V. J. **Plantas do Pantanal**. Brasília, DF: CPAP e SPI, 1994.
- POTT, V. J. **Plantas Aquáticas do Pantanal**. Brasília, DF: CPAP e CTT, 2000.



---

## EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FIBRAS DE TUCUM (*BACTRIS GLAUDESCENS DRUDE*) PROVENIENTES DO PANTANAL

---

Kleber Augusto da Silva<sup>1</sup>, Elisangela Corradini<sup>1</sup>, Luiz Henrique Capparelli Mattoso<sup>1</sup>, Fábio Galvani<sup>2</sup>,  
Marçal Henrique Amici Jorge<sup>2</sup>, Márcia Toffani Simão Soares<sup>2</sup>, José Manoel Marconcini<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Instrumentação Agropecuária, 13560-970, São Carlos/SP. \*Marconcini@cnpdia.embrapa.br

<sup>2</sup>Embrapa Pantanal, 79320-900, Corumbá/MS

**Projeto Componente:** PC4

**Plano de Ação:** 01.05.1.01.04.04

---

### Resumo

O tucum, *Bactris glaucescens Drude*, planta típica do Pantanal, foi estudado para a extração de fibras, a partir de suas folhas, caracterizando-as térmica e morfológicamente. Por meio da calandragem, realizou-se a extração das fibras e como técnicas de caracterização foram realizadas as medidas dos diâmetros e comprimentos de fibras, termogravimetria e microscopia eletrônica de varredura. Tem-se como objetivo o estudo desta fibra para verificação das aplicações desta na área de extração de nanofibras, e também na produção de materiais nanocompósitos, utilizando esta fibra como reforço em matrizes poliméricas.

**Palavras-chave:** Extração, caracterização, tucum.

---

### Introdução

Na área de materiais compósitos e nanocompósitos, um dos desafios é se obter novos materiais que sejam produzidos a partir de fontes renováveis de matérias-primas. Como reforço dos materiais plásticos, as fibras vegetais apresentam algumas vantagens em relação às fibras sintéticas, descritas a seguir: grande abundância devido à enorme variedade de plantas disponíveis na biodiversidade, são fontes de recurso renovável, possuem baixo custo relacionado à extração destas, são biodegradáveis e possuem baixa densidade. Por outro lado, apresentam algumas desvantagens, tais como, variabilidade de propriedades e fraca adesão em seu estado natural a inúmeras matrizes (MOHANTY, 2002).

A planta tucum, *Bactris glaucescens Drude*, é uma palmeira que possui de 1 a 4m de altura, distribuída em agrupamentos densos. O fruto produzido por esta palmácea é muito consumido por aves e peixes e também muito usado como isca na pesca de pacu. A partir deste fruto, é possível

produzir um óleo comestível rico em vitamina A e com sabor agradável, mas que não se conserva bem. Além disso, a partir das folhas, podem-se extrair fibras longas de excelente qualidade (POTT et al. 1994; POTT, 2000). Neste trabalho, a realização de estudos científicos de extração e caracterização de fibras de tucum é importante na avaliação do potencial de uso em outras aplicações tecnológicas, como no uso das fibras como reforço ou na extração de nanofibras de celulose para uso em nanocompósitos.

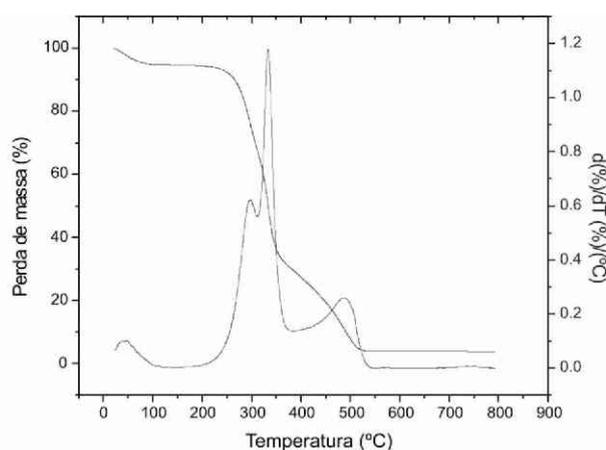
### Materiais e métodos

A extração das fibras de tucum foi realizada utilizando-se o processo de calandragem. Este processo consiste em colocar as folhas dessa planta e passá-las entre dois rolos que giram em sentido contrário e à velocidade constante. Os materiais em questão foram comprimidos entre esses rolos e então, consegue-se obter as fibras naturais desta planta. Após este procedimento, realizou-se a

lavagem das mesmas por meio de água. A seguir, as fibras foram secas em estufa de circulação de ar a 50°C por 48h. As fibras foram separadas manualmente e mediram-se os valores do diâmetro por meio do software Fibras e Raízes. Realizou-se termogravimetria das fibras em um equipamento TGA Q500 marca TA Instruments em atmosfera de nitrogênio a uma razão de aquecimento de 15°C/min, com massa de amostra em torno de 6,5mg. Para a análise morfológica destas fibras, realizou-se a microscopia eletrônica de varredura em um equipamento DSM 960/Zeiss utilizando as fibras previamente liofilizadas.

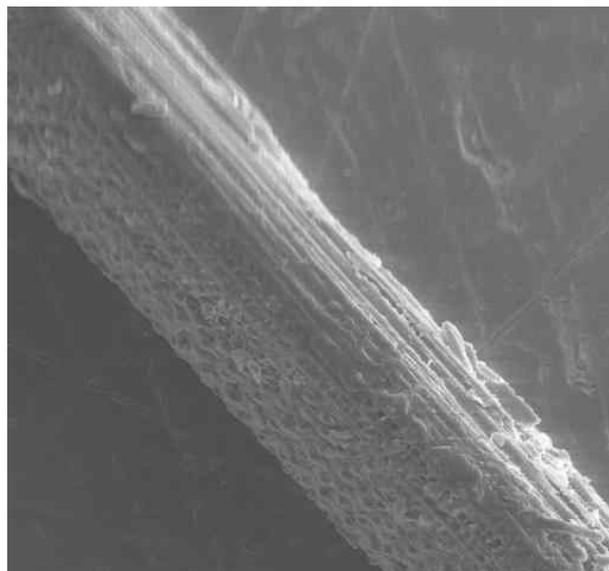
## Resultados e discussão

Com a utilização do software Fibras e Raízes, as medidas de diâmetro médio obtidas para as fibras de tucum foi de 0,68 mm. Por meio da termogravimetria, determinou-se a temperatura inicial de degradação em torno de 250°C em atmosfera de nitrogênio (figura 1).



**Fig. 1.** Curva TG/DTG para fibra de tucum em atmosfera de nitrogênio em razão de aquecimento de 15°C/min.

Na figura 2, observa-se a micrografia eletrônica da fibra de tucum. A partir desta imagem é possível observar uma estrutura rugosa que possui fibras orientadas na direção longitudinal e também a presença de alguns vazios e reentrâncias na superfície da fibra. Estas irregularidades superficiais podem auxiliar no ancoramento de cadeias poliméricas, aumentando a resistência da interface polímero-fibras em materiais compósitos. A partir destas estruturas observadas na fibra podem se obter estruturas nanométricas através de métodos químicos e físicos.



**Fig. 2.** Micrografia eletrônica de varredura obtida para a fibra de tucum.

## Conclusões

Por meio destas técnicas de caracterização foi possível obter importantes resultados a respeito desta fibra para futuras pesquisas na área de materiais compósitos e nanocompósitos utilizando-as como reforços.

## Agradecimentos

CNPQ, FINEP/MCT, EMBRAPA.

## Referências

- MOHANTY, A. K.; MISRA, M.; DRZAL, L. T. Sustainable bio-composites from renewable resources: Opportunities and challenges in the green materials world. **Journal of polymers and the environment**, [S.L.], V. 10, N.1-2, 2002.
- POTT, A.; POTT, V. J. **Plantas do Pantanal**. Brasília, DF: CPAP e SPI, 1994.
- POTT, V. J. **Plantas Aquáticas do Pantanal**. Brasília, DF: CPAP e CTT, 2000.



---

## EFEITO DE GLÚTEN MICRONIZADO E GLICEROL NAS PROPRIEDADES MECÂNICAS E DE BARREIRA A ÁGUA EM FILMES FINOS DE AMIDO DE MANDIOCA.

---

Leonardo Marinho Fernandes<sup>2</sup>, Geisa Oliveira Rocha<sup>1</sup>, Carla Silva Teba<sup>1</sup>, Carlos Wanderlei Piler Carvalho<sup>2\*</sup>, José Luis Ramírez Ascheri<sup>2</sup>, Diego Palmiro Ramirez Ascheri<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós Graduação em Alimentos, UFRRJ, Seropédica/RJ

<sup>2</sup>Laboratório de Extrusão, Embrapa Agroindústria de Alimentos, 23020-470, Rio de Janeiro/RJ

\*cwpiler@ctaa.embrapa.br

<sup>3</sup>Universidade Estadual de Goiás, 75.001-970, Anápolis/GO.

**Projeto Componente:** PC4

**Plano de Ação:** 01.05.1.01.04.03

---

### Resumo

Os efeitos das variáveis glúten de trigo e teor de glicerol nas propriedades mecânicas e permeabilidade ao vapor de água de filmes de amido de mandioca foram estudados usando um delineamento central rotacional e o modelo matemático de superfície de resposta. As propriedades mecânicas foram afetadas pelo teores de glúten e glicerol. A adição crescente de glicerol produziu filmes flexíveis enquanto que o aumento do teor de glúten combinado com baixo teor de glicerol aumentou o módulo de Young. Por outro lado, a permeabilidade ao vapor de água aumentou com glicerol até o nível de adição de 7% (p/p) de glúten. Em contraste, máximos valores de permeabilidade de água foram encontrados em filmes com baixo teor de glicerol e alto teor de glúten micronizado.

**Palavras-chave:** filmes biodegradáveis, amido de mandioca, mandioca.

---

### Introdução

Inúmeros estudos têm sido realizados no sentido de proporcionar novas aplicações dos biopolímeros na indústria de alimentos. Tais polímeros podem proporcionar aos alimentos a manutenção de suas qualidades, por retardar o processo de transferência de gases para frutas e hortaliças e a migração de umidade para produtos de baixa atividade de água (DONHOWE & FENNEMA, 1992). Entre os polissacarídeos, o amido é o mais usado na elaboração de filmes comestíveis, devido a sua abundância na natureza, grande disponibilidade e baixo custo. Geralmente os filmes de amido apresentam boa barreira ao oxigênio, porém não são eficientes quanto a barreira ao vapor de água e apresentam variações nas propriedades mecânicas sob diferentes teores de umidade (VILPOUX & AVEROUS, 2003).

Em razão das variações nas propriedades mecânicas, a adição de plastificante na preparação dos filmes, tem capacidade de aumentar sua flexibilidade. Enquanto que os filmes glúten em comparação com os de amido, apresentam menor permeabilidade ao vapor de água e boas propriedades mecânicas (GONTARD, 1992). O objetivo deste trabalho foi desenvolver e avaliar os efeitos do glúten e glicerol nas propriedades mecânicas, de barreira e na opacidade de filmes produzidos à base de amido de mandioca, glúten e glicerol.

### Materiais e métodos

Os filmes biodegradáveis foram preparados a partir da mistura de soluções filmogênicas de amido de mandioca (Yoki Alimentos, PR) e glúten

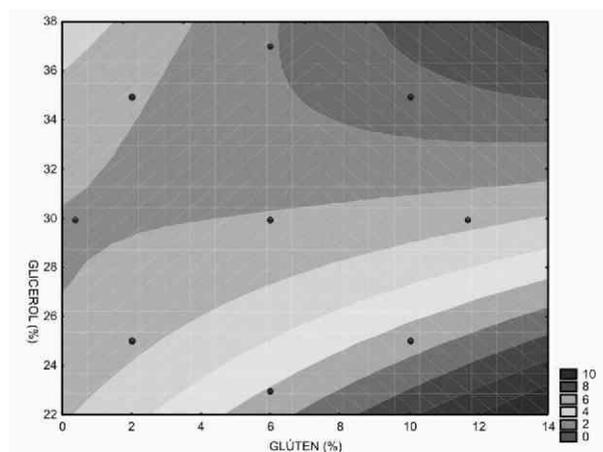
seco de trigo (China). A solução filmogênica de amido foi preparada em um Viscoamilógrafo (Brabender, Duisburg, Alemanha), utilizando-se 2% de amido. A solução filme de glúten foi preparada em várias etapas, de acordo com a metodologia proposta por Gontard et al., (1992). As soluções de amido e glúten foram adicionadas de glicerol e misturadas de acordo com as concentrações desejadas (Tabela 1) e aplicadas em placas de acrílico de modo a se obter 1,32 g de sólidos (8 mg/cm<sup>2</sup>). A solução filme foi seca em estufa com circulação de ar (30°C ±2) por 24 h e mantidos em 53% de umidade relativa por 7 dias. Após equilíbrio, os filmes tiveram a sua espessura medida. Para avaliação das propriedades mecânicas, foi utilizado um analisador de textura TA.HDi (Stable Microsystems, Surrey, Inglaterra) de acordo com o padrão D 828-95a da American Society for Testing and Materials (ASTM, 1995). O teste de permeabilidade ao vapor de água foi determinado gravimetricamente. Foram utilizadas células de permeação preenchidas com 20 mL de água destilada. As células de permeação foram então acondicionadas em dessecadores contendo sílica gel. A opacidade aparente dos filmes foi determinada com a ajuda de um espectrofotômetro Femto 700 PLUS (São Paulo, SP) a 500 nm, conforme a metodologia descrita por CAO et al. (2007).

**Tabela 1.** Níveis codificados das variáveis independentes do experimento

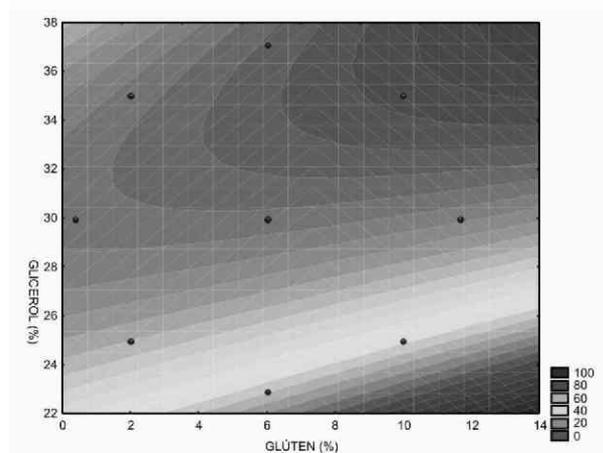
Variáveis	Níveis				
	- =1,41	-1	0	+1	=1,41
Glúten (%)	0,36	2	6	10	11,64
Glicerol (%)	22,95	25	30	35	37,05

## Resultados e discussão

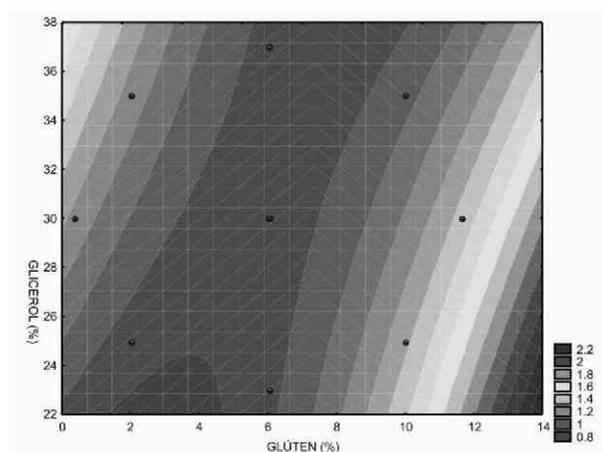
A tensão na ruptura, o módulo de elasticidade e a permeabilidade ao vapor de água foram estatisticamente significativos ( $P < 0,05$ ) indicando interação entre as variáveis independentes. A opacidade e a porcentagem de deformação dos filmes não apresentaram resultados significativos. Na Figura 1A, pode-se observar que os filmes com maior teor de glicerol apresentaram menores valores de tensão na ruptura, resultados semelhantes aos obtidos por SHIMAZU et al., (2007), este efeito pode ser atribuído ao aumento da mobilidade molecular entre as cadeias de amido, diminuindo o grau de interação e conseqüentemente a resistência do material. Além disso, em concentrações mais baixas de glicerol, até 30%, o aumento da concentração de glúten tendeu a aumentar os valores de tensão. Com base na Figura 1B é possível observar que os filmes com menor teor de glicerol e altas concentrações de glúten são mais rígidos. Em altas concentrações de glicerol, este efeito não foi observado, sendo que o aumento da concentração do glúten contribuiu para reduzir o módulo de elasticidade.



(a)



(b)



(c)

**Fig. 1.** Efeito da concentração de glúten e de glicerol sobre as propriedades mecânicas dos filmes (A) tensão na ruptura (B) módulo de elasticidade (C) permeabilidade ao vapor de água (As cores do amarelo ao vermelho representam os maiores valores, enquanto que as do verde claro ao escuro são os menores).

Com base na Figura 1C, observa-se que a permeabilidade ao vapor de água nos filmes aumentou de acordo com o teor de glicerol, similar aos resultados encontrados por GONTARD et al. (1992). Em concentrações de glúten de até 7%, os filmes apresentaram menor permeabilidade ao vapor de água, porém este efeito não foi observado para concentrações maiores.

---

### **Conclusões**

---

O glicerol em altas concentrações produziu filmes mais flexíveis, indicado pelo menor módulo de elasticidade, porém aumentou a permeabilidade ao vapor de água dos filmes. Alto teor de glúten associado à baixa concentração de glicerol aumentou a rigidez dos filmes, enquanto que a permeabilidade ao vapor de água reduziu em concentrações abaixo de 7% e aumentou acima deste valor.

---

### **Agradecimentos**

---

Ao CNPq, à EMBRAPA e à FAPERJ (processo E-26/111.483/2008).

---

### **Referências**

---

- ASTM. **Annual book of American Standard Testing Methods**. D882-95. Philadelphia, Pa.: ASTM, 1995.
- CAO, N.; FU, Y. H.; HE, J. H. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 21, n. 7, p. 1153-1162, 2007.
- DONHOWE, G.; FENNEMA, O. **Journal of American Chemistry Society**, [S. l.], v. 6, p. 1081-1087, 1992.
- GONTARD, N.; GUILBERT, S. CUQ, J. L. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 57, n. 1, p. 190-199, 1992.
- SHIMAZU, A. A.; MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 28, n. 1, p. 79-88, 2007.
- VILPOUX, O.; AVEROUS, L. Culturas de tuberosas amiláceas latino americanas: In: CEREDA, M. P.; VILPOUX, O. (Coord.). **Tecnologia, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas Latino Americanas**. São Paulo: Cargill, 2003. v. 3. p. 500-530.



---

## FILMES FINOS COMESTÍVEIS DE AMIDO DE MANDIOCA COM ADIÇÃO DE VITAMINA C E $\beta$ -CAROTENO

---

Luiz Gustavo Viana de Souza<sup>1</sup>, Carlos Wanderlei Piler Carvalho<sup>2\*</sup>, José Luis Ramírez Ascheri<sup>2</sup>, Ronoel Godoy<sup>2</sup>, Lourdes Maria Correa Cabral<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Engenharia de Alimentos, UFRRJ, Seropédica/RJ

<sup>2</sup>Laboratório de Extrusão, Embrapa Agroindústria de Alimentos, 23020-470, Rio de Janeiro/RJ

\*cwpiler@ctaa.embrapa.br

**Projeto Componente:** PC4

**Plano de Ação:** 01.05.1.01.04.03

---

### Resumo

Filmes comestíveis têm sido considerados em aplicações farmacêuticas uma vez que seu uso pode ser considerado como veículos para inserção de vitaminas ou substâncias de efeito medicinal. Misturas de amido de mandioca, glicerol e variável teor de suco de acerola (*Malpighia glabra* L.) proveniente de polpa congelada foram processadas em um analisador rápido de viscosidade obtendo-se uma solução filmogênica que após desidratação controlada, filmes finos foram formados. Os filmes adicionados de 50 e 100% de polpa não se desprenderam-se do substrato, enquanto que os filmes elaborados com teor inferior a 40% apresentaram-se com melhor desempenho alto teor de acerola foram de difícil remoção do substrato sendo que os filmes produzidos com 40% de suco foi possível removê-los. Pequena perda de vitamina C foi observada na formação da solução filmogênica. Os filmes formados apresentaram considerável concentração de vitamina C e  $\beta$ -caroteno indicando que soluções ricas em amido podem prevenir a perda destas vitaminas por calor, cisalhamento e oxidação. A gelatinização de amido como veículo para algumas vitaminas apresentam grande potencial para aplicação em filmes finos comestíveis.

**Palavras-chave:** filmes comestíveis, vitaminas, mandioca.

---

### Introdução

---

Os filmes comestíveis são películas de variadas espessuras constituídas por diferentes substâncias naturais e/ou sintéticas que se polimerizam e isolam o alimento, sem riscos à saúde do consumidor, podendo ser ingeridos (MAIA et al., 2000). Um dos materiais mais usados na elaboração de filmes comestíveis é o amido devido a sua abundância e baixo custo.

A acerola (*Malpighia glabra* L.) é originária da América Tropical e seu principal atrativo é o alto teor de vitamina C, com teores de ácido ascórbico bastante variáveis, de 300 a 4.676 mg/100g de polpa (ASSIS et al., 2001). O fruto inteiro possui cerca de

90,5% de umidade, 0,9% de proteína, 0,2% de lipídeos, 8% de carboidratos, 1,5% de fibras e 0,4% de fibras. A polpa de acerola é rica em vitamina C e  $\beta$ -carotenos. A vitamina C é uma vitamina hidrossolúvel e termolábil, a qual previne o escorbuto e é importante na defesa do organismo contra infecções, bem como fundamental na integridade das paredes dos vasos sanguíneos. Enquanto que os  $\beta$ -carotenos são capazes de serem convertidos em vitamina A e, como tal, previnem doenças relacionadas à carência da mesma (ARAÚJO et al., 2007).

Devido às características de funcionalidade da acerola, sua adição em filmes finos biodegradáveis de amido foi considerada neste trabalho como uma

forma de uso como veículo potencial de consumo de vitamina C e A. Sendo assim, o objetivo do trabalho foi avaliar o efeito da adição de polpa de acerola quanto a perda de vitamina C em filmes comestíveis de amido de mandioca e glicerol.

## Materiais e métodos

Polpa de acerola congelada (julho de 2007) foi obtida na planta piloto de processamento de frutas da Emprapa Agroindústria de Alimentos foi filtrada. A polpa foi filtrada em peneira com abertura de 500 µm, sendo o bagaço descartado, e o filtrado usado na elaboração dos filmes. Os filmes foram preparados a partir de misturas de amido de mandioca, glicerol e suco de acerola (Tabela 1) em um analisador rápido de viscosidade (Rapid Visco Analyser, Newport Scientific, Warriewood, Austrália), cujo perfil de temperatura foi o standard 1 recomendado para determinação de viscosidade aparente de farinhas (temperatura atinge 95°C e permanecendo por 2 min). A mistura filmogênica foi distribuída uniformemente em placas de polietileno e levadas em estufa de circulação a 30°C por 48 h e posteriormente colocadas no dessecador em solução saturada de Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (53% de umidade relativa) por sete dias.

A análise do teor de sólidos solúveis foi realizada com uso do refratômetro RT-30 ATC (Instrutherm Instrumentos de Medição Ltda, São Paulo). A determinação de vitamina C e β-caroteno foram feitas por método de análise em cromatografia líquida de alta eficiência e exclusão iônica conforme a metodologia descrita em YUAN e CHEN, 1999, modificada.

**Tabela 1.** Tratamentos aplicados na produção dos filmes com vitamina C de acerola

Trata m.	Amido (%)	Glicerol (%)	Suco (%)
A	4	10	100
B	3	5	50
C	4	5	40

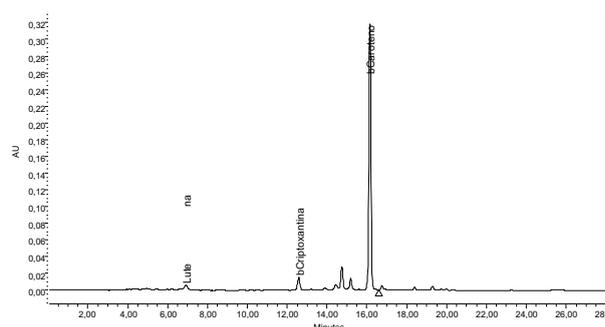
## Resultados e discussão

Os valores de pH e sólidos solúveis no fruto foram de 3,2 e 2,5, respectivamente. Os teores de vitamina C e β-carotenos no suco, na mistura filmogênica e no filme são apresentados na Tabela 3. Dos três filmes produzidos (Tabela 1), apenas o filme correspondente ao tratamento C foi possível remover da placa/substrato sem rompimento de sua integridade. De acordo com a tabela Dietary Reference Intake- DRI (2000) a dose diária para um adulto é de 60 mg de vitamina C, sendo interessante notar que a perda de vitamina C do suco de acerola e da mistura filmogênica foi de apenas 4,8% (Tabela 2)

indicando que mesmo após o processamento em alta temperatura (90°C), o teor de vitamina C, conhecida por ser termolábil, foi muito próximo ao do suco *in natura*. Observou-se que os valores de vitamina C no filme também se mantiveram consideravelmente altos, sendo cerca de cinco vezes superior ao recomendado pela DRI, mesmo o suco ter sido diluído a 40%. Em relação ao teor de vitamina C do filme comestível e do suco houve uma perda de apenas 20,3%. Quanto ao teor de β-caroteno verificou-se queda de 29,80% do suco para o filme. Os resultados indicaram um possível encapsulamento da vitamina C e do β-caroteno pela rede polimérica, formada entre o amido de mandioca e a pectina do suco de acerola, protegendo-as das ações do calor, cisalhamento e oxidação. No entanto, esta possível explicação para a reduzida perda não pôde ser confirmada por meio de análises.

**Tabela 2.** Teor de vitamina C e β-caroteno no suco, solução filmogênica e filme

Amostras	Vitamina C (mg/100g)	-caroteno (g/100g)
Suco de Acerola	384,7	178,0
Solução Filmogênica	366,4	144,8
Filme Comestível	306,5	125,8



**Fig. 2.** Cromatograma do gel de amido e suco de acerola indicando a presença de betacaroteno.

## Conclusões

Particularmente o teor de vitamina C encontrado no filme comestível foi alto quando comparado a frutas conhecidas por serem fontes desta vitamina. Sendo assim, o uso de filmes comestíveis poderia ser usado em veículos de vitamina ou aplicados em condições onde as propriedades destas vitaminas pudessem ser atuantes para fins alimentícios e medicinais.

## Agradecimentos

Ao CNPq, à EMBRAPA e à FAPERJ (processo E-26/111.483/2008).

---

**Referências**

---

ASSIS, S.A.; LIMA, D.C.; OLIVEIRA, O.M.M.F. **Food Chemistry**, v.74, p.133-137, 2001.

ARAÚJO, P.G.L.; FIGUEIREDO, R.W.; ALVES, R.E.; MAIA, G.A.; PAIVA, J.R. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.27 n.1., 2007.

DIETARY REFERENCE INTAKES for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids, Washington, 529 p., 2000

MAIA, L. H.; PORTE, A.; SOUZA, V. F. **Boletim do CEPPA**, Curitiba, v.18, n.1, 2000.

YUAN, J.; CHEN, F. **Food Chemistry**, vol. 64, p. 423-427, 1999.



---

## DESENVOLVIMENTO DE NANOPARTÍCULAS A BASE DE SÍLICA PARA LIBERAÇÃO CONTROLADA DE SEMIQUÍMICOS

---

Magali Aparecida Rodrigues<sup>1,2</sup>, Luciano Paulino da Silva<sup>1</sup>, Andréia Aparecida de Souza<sup>1</sup>,  
Raul Alberto Laumann<sup>2</sup>, Miguel Borges<sup>2</sup>, Maria Carolina Blassioli-Moraes<sup>2</sup>

Laboratório de Espectrometria de Massas<sup>1</sup> e Laboratório Semioquímicos<sup>2</sup>  
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.  
e-mail: mcbmoraes@cenargen.embrapa.br, magarodrig@gmail.com.

Projeto Componente: PC4

Plano de Ação: 01.05.1.01.04

---

### Resumo

Partículas de sílica em escala nanométrica foram obtidas utilizando-se a metodologia de sol-gel. O potencial de adsorção de compostos voláteis nas partículas foi avaliado por meio de pesagem, após 24 horas de exposição de 1 grama de partícula a aproximadamente 10 mg de (*E*)-2-hexenal. Após esse período aproximadamente 0,3mg do composto foi adsorvido por grama de partícula. Bioensaios com a partícula contendo (*E*)-2-hexenal não induziram preferência do inseto alvo, mas este respondeu preferencialmente para partículas puras quando comparadas com ar.

**Palavras-chave:** sol-gel, compostos voláteis, *Telenomus podisi*

---

### Introdução

Visando à preservação do ambiente, os semioquímicos podem ser utilizados alternativamente aos agrotóxicos tradicionais no controle de pragas na agricultura. Um exemplo disso são os feromônios sexuais e de alarme dos percevejos que são usados como informação pelo parasitóide *Telenomus podisi* para encontrar o seu hospedeiro. Entre os feromônios de alarme estão dois aldeídos o (*E*)-2-hexenal e o (*E*)-2-decenal (Laumann et al., 2009; Moraes et al., 2009). Contudo, para um emprego eficaz dos semioquímicos é necessário desenvolver dispositivos de liberação controlada. Os semioquímicos podem ter um efeito contrário ao desejado se não forem liberados nas quantidades próximas às que são encontradas no meio-ambiente. Desta forma, a obtenção de materiais que permitam a liberação de forma controlada desses voláteis é de grande importância para agricultura.

Nanopartículas de sílica obtidas pelo método de sol-gel, conhecidas como MCM, têm sido

candidatas ao emprego como liberadoras de drogas controladas. Elas possuem características altamente desejadas como biocompatibilidade, área superficial alta e tamanho reduzido dos seus poros (Sabougi et al., 2008). Essas partículas têm poros que podem variar de 2 a 15 nm, podendo reter moléculas de tamanhos pequenos a médios (Asefa et al., 2009).

Neste estudo foram obtidas nanopartículas pela metodologia de sol-gel e posteriormente elas foram saturadas com (*E*)-2-hexenal. Estudos de liberação dos voláteis foram realizados por meio de bioensaios utilizando o parasitóide de ovos *Telenomus podisi*.

### Materiais e métodos

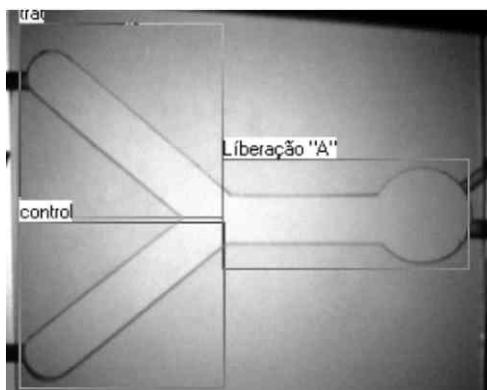
**Síntese das nanopartículas:** Para obtenção das nanopartículas seguiu-se o procedimento descrito por Lelong et al. 2008. Depois de sintetizadas as partículas foram secas sob vácuo. O (*E*)-2-hexenal foi adsorvido as partículas em atmosfera saturada até não se observar mais variação nas suas massas. O processo de adsorção foi

acompanhado por meio de pesagens diárias em balança semi-analítica. Ao final foi possível verificar que 3 mg de (*E*)-2-hexanal foram adsorvidos por grama de partícula.

**Microscopia de Força Atômica:** A microscopia de força atômica das partículas de sílica foi realizada usando um equipamento SPM-9600 da Shimadzu, Japão. As imagens foram adquiridas em modo de contato com força constante e utilizando um cantilever em formato V, com comprimento de 200  $\mu\text{m}$  (constante de mola nominal de  $\sim 0,15$  N/m e frequência ressonante de 24 kHz), integrados com ponteiros piramidais (raio de curvatura  $< 20$  nm). Para a obtenção das imagens, um scanner de dimensões máximas de varredura de 125  $\mu\text{m}$  nas direções XY e 7  $\mu\text{m}$  na direção Z foi utilizado. Todas as imagens foram adquiridas em 512x512 pixels com uma frequência de varredura de 1 Hz.

**Insetos:** Fêmeas dos parasitóides, *Telenomus podisi*, foram colocadas em presença de ovos de *E. heros* durante 24 h. Após este período os ovos foram mantidos em sala climatizada para desenvolvimento dos estágios imaturos dos parasitóides. Os parasitóides adultos foram alimentados com mel de abelha. Os insetos foram mantidos em sala climatizada à temperatura de  $26 \pm 2$  °C e umidade de  $60 \pm 10$  % UR e fotofase de 14 h.

**Bioensaio:** Para a realização dos bioensaios, utilizou-se um bloco em acrílico com cavidade em forma de Y, colocados entre duas placas de vidros conforme descrito por Moraes *et. al.* 2009 (Figura 1). Os bioensaios foram conduzidos com os seguintes materiais: partícula adsorvida com (*E*)-2-hexanal versus partícula pura (N=30) e partícula pura versus ar (N=15). Para análise o inseto (*Telenomus podisi*) foi colocado na área de liberação e a primeira escolha e o tempo de residência em cada região do olfâmetro foram avaliados (Fig. 1).

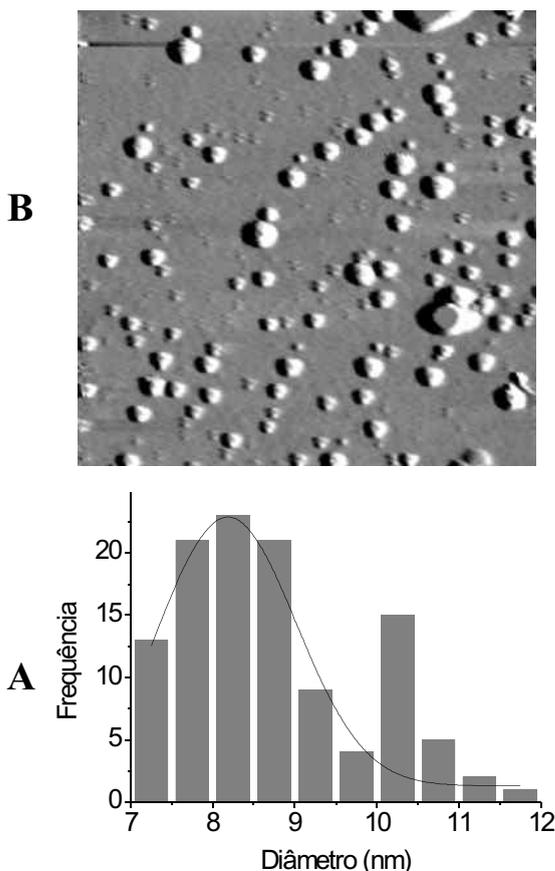


**Fig. 1.** Sistema de olfâmetro para bioensaio. Liberação = região de liberação do *Telenomus podisi*, control = Região de escolha referente ao controle e trat = região de escolha tratamento.

## Resultados e discussão

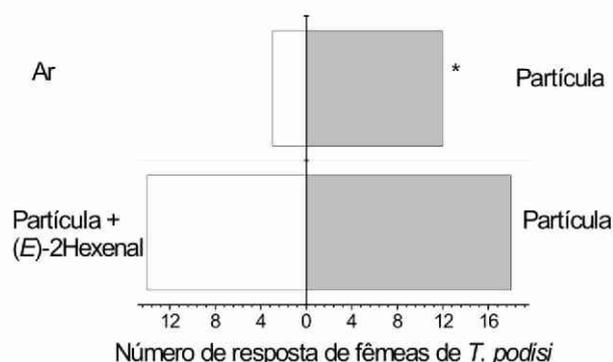
Nas Figuras 2A e B estão apresentadas a imagem e o histograma da frequência do diâmetro das partículas, respectivamente. Por meio da observação da Figura 2A verifica-se que as partículas apresentam um formato aproximadamente esférico. Pela análise do histograma (Fig. 2B) é possível observar que as partículas possuem uma distribuição normal com diâmetro (altura) médio(a) de aproximadamente 8,12 nm. Foi observada ainda uma população significativa de partículas com diâmetro aproximado de 10,5 nm.

Para avaliar a capacidade das partículas como liberadoras controladas de semioquímicos, bioensaios com *T. podisi* foram conduzidos. Dois tipos de testes foram realizados; i) o tratamento foi considerado como sendo a partícula contendo (*E*)-2-hexanal e para controle foi considerada somente a partícula pura, ii) o tratamento foi a partícula sem (*E*)-2-hexanal e o ar foi o controle. Em ambos os casos foram avaliados a primeira escolha do inseto (Fig. 3) e o seu tempo de permanência (Fig. 4) em um dos braços do olfâmetro.

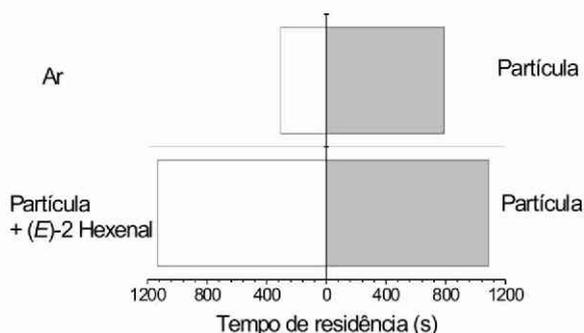


**Fig. 2.** A. Imagem das nanopartículas. B. histograma da frequência do diâmetro das partículas. Ambos foram obtidos por AFM.

Quando a primeira escolha foi avaliada (Fig. 3), o parasitóide *T. podisi* não mostrou preferência quando 0.1 mg de (*E*)-2-hexenal estavam adsorvidos nas partículas em comparação com partículas sem o composto adsorvido (Fig. 3; teste chi-quadrado,  $\chi^2=0,5$ ,  $p=0,472$ ). Por outro lado, quando o parasitóide foi estimulado com partículas puras versus ar, *T. podisi* respondeu preferencialmente às partículas (teste chi-quadrado,  $\chi^2=5,4$ ,  $p=0,02$ ) (Fig. 3). Na avaliação do tempo de residência (Fig. 4) os parasitóides não mostraram preferência por nenhum dos tratamentos: (*E*)-2-hexenal versus partículas puras (Teste t,  $t=0,05$ ;  $p=0,704$ ) ou partículas puras quando comparadas ao ar (Teste t,  $t=0,05$ ,  $p=0,2418$ ).



**Fig. 3.** Resultados do bioensaio mostrando a frequência da primeira escolha do parasitóide *Telenomus Podisi* aos braços do olfátômetro. **Parte superior do gráfico:** o tratamento, partícula sem (*E*)-2-hexenal e controle, ar. **Parte inferior do gráfico:** o tratamento, partícula contendo (*E*)-2-hexenal e controle, partícula sem o composto volátil.



**Fig. 4.** Resultados do bioensaio mostrando o tempo de residência do *Telenomus podisi* nos braços do olfátômetro. **Parte superior do gráfico:** o tratamento, partícula sem (*E*)-2-hexenal e o controle, ar. **Parte inferior do gráfico:** o tratamento, partícula contendo (*E*)-2-hexenal e controle, partículapura.

## Conclusões

As partículas de sílica sintetizadas através da técnica de sol-gel apresentaram tamanhos de poros adequados para adsorção de moléculas pequenas, como os semioquímicos, mostrando grande potencial para serem usadas em armadilhas liberadoras de feromônios. Os primeiros testes de adsorção do (*E*)-2-hexenal foram bastante promissores. Os bioensaios mostraram que o parasitóide está sendo atraído por um volátil das partículas, mesmo sem o (*E*)-2-hexenal. Uma vez que essas partículas não foram calcinadas, esses resultados indicam que voláteis derivados dos materiais precursores da síntese da partícula causam mudança no comportamento do parasitóide. Provavelmente este efeito é devido à presença da amônia, usada como catalisador durante a síntese. Desta forma, novos testes serão conduzidos usando diferentes concentrações de (*E*)-2-hexenal, e antes da adsorção do semioquímico, as partículas serão aquecidas a diferentes temperaturas para eliminar a amônia.

## Agradecimentos

CNPQ, FAPDF, FINEP/MCT; EMBRAPA MP2 nº 020660100.06.

## Referências

- LELONG, G.; BHATTACHARYYA, S.; KLINE S.; THOMAS, CACCIAGUERRA, M. A. G.; ABOUNGI, M. **J. Phys. Chem. C**, Washington, v. 112, p. 1067410680, 2008.  
 LAUMANN, R. A.; AQUINO, M. F. S.; MORAES, M. C. B.; PAREJA, M.; BORGES, M.. **J. Chem. Ecol.**, New York, v. 35, p. 819, 2009.  
 MORAES, M. C. B.; LAUMANN, R. A.; PAREJA, M.; SERENO, F.T. P. S.; MICHEREFF, M. F. F.; BIRKETT, M. A.; PICKETT, J. A.; BORGES M. **Entomol. Exp. Appl.**, Dordrecht, v. 131, p. 178188, 2009.



---

## ANÁLISE GENOTÓXICA DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS DE QUITOSANA/ÁCIDO POLIMETACRÍLICO COM DIFERENTES TAMANHOS

---

Márcia R. de Moura<sup>1\*</sup>, Renata de Lima<sup>2</sup>, Leandro Feitosa<sup>2</sup>, Fauze A. Auada<sup>1</sup>, Leonardo F. Fraceto<sup>3</sup>, Luiz H. C. Mattoso<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório Nacional de Nanotecnologia-Embrapa-CNPDI São Carlos, SP,

\*Mregina@cnpdi.embrapa.br ;

<sup>2</sup>Departamento de Biotecnologia, Universidade de Sorocaba;

<sup>3</sup>Departamento de Engenharia Ambiental, Unesp/Campus Sorocaba

**Projeto Componente:** PC4

**Plano de Ação:** 01.05.01.001.04.02

---

### Resumo

Neste trabalho foi realizado estudo citogenético em células de linfócitos para avaliar a genotoxicidade de nanopartículas de quitosana/ácido polimetacrílico (QS/PMAA) com diferentes tamanhos (60 nm e 82 nm). A genotoxicidade das nanopartículas foi avaliada utilizando três diferentes concentrações de nanopartículas (0,018%, 0,0018%, 0,00018%). Nos resultados obtidos não foram observadas alterações morfológicas nos cromossomos das células de linfócitos. Os valores de índice mitóticos relativos sofreram um aumento quando da exposição das células às nanopartículas de QS/PMAA com 60 nm de tamanho, indicando que ocorreu um aumento na divisão celular. Os testes realizados contribuem de forma positiva para avaliação da segurança das nanopartículas de QS/PMAA.

**Palavras-chave:** nanotecnologia, nanopartículas poliméricas, citogenética, mutagênese.

---

### Introdução

---

Nos últimos anos a nanotecnologia tem apresentado um grande avanço nas mais diferentes áreas do conhecimento, uma vez que estão sendo desenvolvidos vários materiais nanoestruturados (ROCO, 2003; SUH *et al.*, 2009). Dentre os materiais nanoestruturados destacam-se as nanopartículas poliméricas, que são estruturas que apresentam tamanho entre 1 e 100 nm e tem sido amplamente preparadas, para, por exemplo, carrear compostos bioativos (fármacos, proteínas, pesticidas, nutrientes, etc). No entanto a avaliação dos impactos das nanopartículas aos seres vivos e ambiente se faz necessária para a garantia da segurança de sua utilização (WANG *et al.*, 2007). Neste trabalho foi realizada a análise citogenética

das nanopartículas poliméricas Quitosana/Ácido polimetacrílico (QS/PMAA) com diferentes tamanhos (60 nm e 82 nm) para verificar sua possível genotoxicidade. Para o trabalho foram utilizadas culturas de linfócitos humanos, que foram expostas a soluções contendo nanopartículas em três concentrações distintas 0,018 %, 0,0018 % e 0,00018 %.

### Materiais e métodos

---

#### *Síntese e caracterização das nanopartículas de QS/PMAA*

As nanopartículas (NPs) de QS-PMAA foram preparadas por polimerização do ácido metacrílico em solução de quitosana, a partir de duas

etapas (MOURA et al., 2008). Na primeira etapa, a quitosana foi solubilizada em solução de ácido metacrílico por 12 horas, sob agitação magnética. As concentrações de quitosana utilizada na síntese foram de 0,2; 0,5 e 0,8 (% m/v). Na segunda etapa, adicionou-se sob a solução previamente solubilizada persulfato de potássio ( $K_2S_2O_8$ ) com agitação mecânica. O sistema foi fechado e mantido a 70 °C por 1 hora, para que ocorresse a polimerização do ácido metacrílico e formação das nanopartículas QS-PMAA. O tamanho médio das partículas foi analisado em um Fiber Optic Quasi Elastic Light Scattering (FOQELS) (Brookhaven, USA). As medidas foram realizadas em triplicata à 25 °C. As suspensões de partículas foram caracterizadas quanto à forma das partículas e homogeneidade da suspensão, através de Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET). O microscópio utilizado foi um Philips Cm200.

#### Estudo citogenético

As amostras de sangue periférico foram coletadas de três indivíduos diferentes, não fumantes e com hábitos regulares de alimentação. Os voluntários realizaram a participação após assinatura do termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Protocolo Comitê de ética em pesquisa/Universidade de Sorocaba, Protocolo número: 008/08).

Para cada estudo, cada um dos voluntários contribuiu com 2,5 mL de sangue periférico, que foram utilizados em quatro culturas diferentes, sendo utilizado para cada uma delas 500 µL de sangue. Uma das amostras serviu de controle negativo e três outras foram utilizadas para os tratamentos com diferentes concentrações suspensões de QS/PMAA que resultaram em concentração final de 0,018 %, 0,0018 % e 0,00018 %, aplicadas logo no início da cultura. Todas as culturas foram incubadas em 5 mL de solução final que consta de 78 % de meio de cultura RPMI (Cultilab®) suplementado com 20 % de soro fetal bovino e 2 % de fitohemaglutinina, estas foram mantidas a 37 °C em incubadora com umidade controlada e com 5 % de  $CO_2$  durante 72 h.

Aproximadamente 30 minutos do período final da incubação foram adicionados 15 µL de colchicina em cada cultura, no fim do período de 72 h de incubação foi realizada a hipotonia celular com solução de KCl 0,075M a 37 °C, por 40 min. A fixação das metáfases foi realizada utilizando mistura de metanol/ácido acético (3:1, v/v). As lamínas foram montadas e a coloração realizada utilizando o corante Giemsa, seguidamente as lamínas foram analisadas por microscopia. O índice mitótico foi determinado contando o número de metáfases pelo número total de células, o índice mitótico relativo determinado pelo índice mitótico da concentração dividido pelo índice mitótico do controle negativo.

## Resultados e discussão

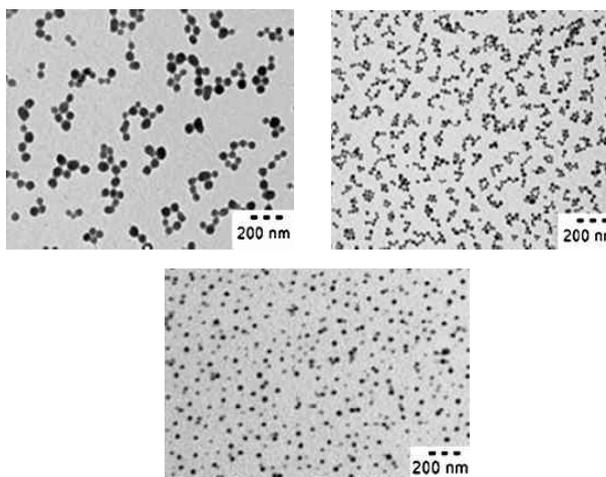
### Caracterização das nanopartículas de QS/PMAA

Na Tabela 1 é apresentada a dependência entre a quantidade de quitosana na síntese e o tamanho médio das nanopartículas. Pode ser observado que aumentando a quantidade de quitosana na síntese das nanopartículas, o tamanho médio das NPs apresentou um decréscimo.

**Tabela 1.** Valores de tamanho médio para as diferentes NPs de quitosana em pH = 4,0.

Nanopartícula	Tamanho de partícula (nm)
0,2 % m/v de QS	110 ± 4
0,5 % m/v de QS	82 ± 2
0,8 % m/v de QS	60 ± 4

Todas as nanopartículas analisadas apresentam morfologia homogênea, com uniforme distribuição de tamanho de partículas e esféricos formatos, como apresentado na Figura 1.

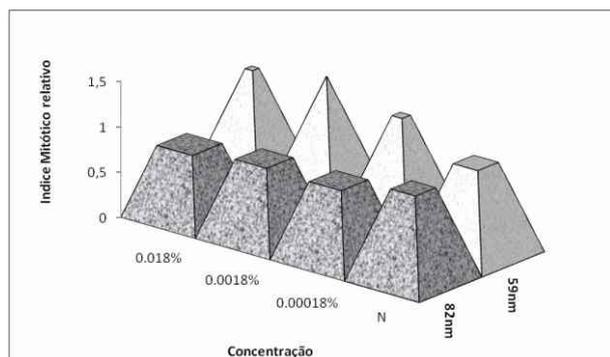


**Fig. 1.** Micrografias de MET das nanopartículas de quitosana preparadas com (a) 0,2; (b) 0,5 e (c) 0,8 (m/v) de quitosana a pH 4.

### Análise citogenética

As análises citogenéticas (qualitativas e quantitativas) foram realizadas com auxílio de microscópio e constaram de observação e contagem de células em divisão celular, foi estabelecido o índice mitótico para cada concentração e condição testada. A Figura 2 apresenta os resultados de valores de índice mitótico determinados. Os testes mostraram que as nanopartículas de QS/PMAA de

59 nm apresentaram um aumento no valor do índice mitótico relativo, indicando que as células de linfócitos na presença destas nanopartículas sofrem um aumento na divisão celular. O mesmo comportamento não foi observado para as nanopartículas de QS/PMAA com tamanho de 82 nm. Cabe ressaltar ainda que as alterações nos valores de índices mitóticos não foram concentração dependente, o que indica que estas modificações observadas devem-se principalmente a diferença de tamanho das nanopartículas.



**Fig. 2.** Valores de índices mitóticos relativos obtidos pelas análises das células expostas as nanopartículas de QS/PMAA de diferentes tamanhos (59 nm e 82 nm) e do negativo (N), (n=3).

## Conclusões

As nanopartículas QS-PMAA foram sintetizadas com sucesso, através da polimerização de ácido metacrílico na presença de solução de quitosana. O tamanho das partículas foi dependente da concentração de quitosana utilizada na preparação das nanopartículas. Microscopias eletrônicas de transmissão (MET) mostraram que nanopartículas de QS-PMAA apresentaram morfologia homogênea em forma e distribuição de tamanho, com predominância da forma esférica. Os resultados obtidos neste trabalho são promissores e fornecem informações sobre a genotoxicidade de nanopartículas de QS/PMAA e os diferentes efeitos observados em função das diferenças de tamanho destas. No entanto, este estudo é restrito a um tipo celular e desta maneira, outros ensaios devem ser realizados para se obter informações adicionais sobre a segurança desta nanopartículas poliméricas, bem como seus impactos aos seres humanos e ambiente.

## Agradecimentos

FAPESP, CNPq, FINEP/MCT, EMBRAPA.

## Referências

- MOURA, M. R. de.; AOUADA, F. A.; MATTOSO, L. H. C. **J. Colloid Interf. Sci.**, [S. l.], v. 321, n. 2, p. 477-483, 2008.
- ROCO, M. C. **Curr. Opin. Biotechnol.**, London, v. 14, n. 3, p. 337-346, 2003.
- SUH, W. H.; SUSLICK, K. S.; STUCKY, G. D.; SUH, Y. H. **Prog. Neurobiol.**, Oxford, v. 87, n. 3, p. 133-170, 2009.
- WANG, J. J.; SANDERSON, B. J. S.; WANG, H. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v. 628, n. 2, p. 99-106, 2007.



---

## AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES MORFOLÓGICAS E DE BARREIRA EM FILMES COMESTÍVEIS SINTETIZADOS A PARTIR DE HIDROXIPROPIL METILCELOSE E NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA

---

Márcia Regina de Moura<sup>1,4\*</sup>, Roberto J. Avena-Bustillos<sup>2</sup>, Tara H. McHugh<sup>2</sup>, John M. Krochta<sup>3</sup>,  
Luiz Henrique Capparelli Mattoso<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Depto. de Química - UFSCar, São Carlos/SP

<sup>2</sup>Agricultural Research Service, Western Regional Research Center, Albany, CA, USA.

<sup>3</sup>University of California, Davis, USA.

<sup>4</sup>Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio,  
Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos/SP \* mregina@cnpdia.embrapa.br

**Projeto Componente:** PC4

**Plano de Ação:** 01.05.1.01.04.02

---

### Resumo

Derivados de celulose como o hidroxipropil metilcelulose (HPMC) são promissores materiais para síntese de filmes comestíveis. Entretanto, apresenta pobre propriedade de barreira contra permeabilidade ao vapor de água. Esse fato é devido a alta solubilidade desses materiais em água. A quitosana (QS) é um material bastante interessante na utilização em embalagens devido suas características biodegradáveis, e de ser considerado um agente antifúngico. O objetivo do presente trabalho é estudar o efeito da adição de nanopartículas de quitosana em filmes de HPMC a fim de melhorar as propriedades de barreira contra vapores de água e aumentar a resistência térmica dos filmes. Um resultado interessante observado foi que o filme controle de HPMC sem nanopartículas apresentou valores de permeação de água através do filme de  $0,79 \pm 0,03$  g mm/ kPa h m<sup>2</sup>. A permeabilidade decresceu quando nanopartículas foram adicionadas na matriz do filme de HPMC. A permeabilidade decresceu para  $0,64 \pm 0,04$ ;  $0,59 \pm 0,06$  e  $0,47 \pm 0,07$  para filmes contendo NPs de 59 nm; 82 nm e 110 nm, respectivamente. Esses e outros resultados sugerem que nanopartículas de QS-PMAA melhoram as propriedades dos filmes de HPMC.

**Palavras-chave:** nanopartículas de quitosana, temperatura de degradação, filmes comestíveis.

---

### Introdução

---

Filmes comestíveis são camadas finas de materiais formados diretamente na superfície do produto, sendo usados para substituir o revestimento de cera de proteção natural e para reduzir a perda de água de frutas e hortaliças. Nem sempre eles podem substituir materiais de embalagem sintética, não comestível, mas servem como adjunto para

proporcionar maior qualidade, estendendo a vida-de-prateleira e possibilitando economia com materiais de embalagem (AZEREDO et al., 2000; MIN et al., 2008). Filmes comestíveis e para revestimentos devem ajudar a manter a qualidade dos alimentos depois que a embalagem sintética é aberta, protegendo contra mudanças de umidade, oxigênio e perda de aroma. Os filmes devem apresentar resistência adequada à ruptura e à abrasão permitindo uma boa proteção do alimento sem

perder qualidade por manuseio. Eles também devem ser flexíveis o suficiente para se adaptar às eventuais deformações dos alimentos, sem danos mecânicos. Muitas embalagens flexíveis são feitas com plásticos, isto é, materiais sintéticos, que apesar de possuírem excelentes propriedades funcionais, são considerados não-biodegradáveis e estão envolvidos em problemas de gerenciamento de resíduos sólidos municipais. Por isso, a produção de embalagens biodegradáveis comestíveis ou não para alimentos é um fato extremamente importante no mundo atual. Por esses fatores, a pesquisa em nanotecnologia aplicada em embalagens é algo de extrema importância e interesse no campo mundial, pois a exigência dos consumidores é cada vez maior, assim como o interesse em trabalhar e desenvolver materiais não prejudiciais ao ambiente, mas para uma maior preservação. Esse trabalho teve como objetivo principal, sintetizar filmes comestíveis com a incorporação de nanopartículas de quitosana e melhoria das propriedades térmicas e de barreira ao vapor de água.

### Materiais e métodos

As nanopartículas (NPs) de QS-PMAA foram preparadas por polimerização do ácido metacrílico em solução de quitosana, a partir de duas etapas (MOURA et al., 2008). Na primeira etapa, a quitosana foi solubilizada em solução de ácido metacrílico por 12 horas, sob agitação magnética. As concentrações de quitosana utilizada na síntese foram de 0,2; 0,5 e 0,8 (% m/v). Na segunda etapa, adicionou-se sob a solução previamente solubilizada persulfato de potássio ( $K_2S_2O_8$ ) com agitação mecânica. O sistema foi fechado e mantido a 70 °C por 1 hora, para que ocorresse a polimerização do ácido metacrílico e formação das nanopartículas QS-PMAA. Para o preparo dos filmes foi empregada a técnica de "casting", que consiste no preparo de solução coloidal composta de água, HPMC com e sem nanopartículas, depositado em um suporte, seguida de secagem (MOURA et al. 2008). As morfologias dos filmes formados foram analisadas em um microscópio Hitachi S-4700 (Hitachi High-Tech Corp., Tokyo, Japan). As amostras dos filmes foram depositadas em um porta amostras, contendo fita de carbono (Ted Pella Inc., Redding, CA, U.S.A.) e recobertas com ouro (Denton Vacuum Inc., Moorestown, NJ, U.S.A.) por 45 s em 20 mA. Todas as amostras foram examinadas utilizando 1,5 kV. As ampliações foram de 10, 20 e 60k. Valores de permeabilidade ao vapor de água (WVP) foram determinados a partir do método modificado ASTM E96-92, utilizado para determinar a umidade relativa (RH) do filme, descrito na literatura por McHUGH et al. 1993. A temperatura de degradação foi analisada em um TGA Q-500. Utilizou-se uma massa de amostra de 6-7 mg. Os experimentos foram realizados na faixa de temperatura de 20 500 °C com razão de aquecimento de (10 °C min<sup>-1</sup>) para cada

amostra. A vazão de nitrogênio foi mantida em 60 cm<sup>3</sup> min<sup>-1</sup>. O porta amostra utilizado foi de platina. As análises foram realizadas em triplicata.

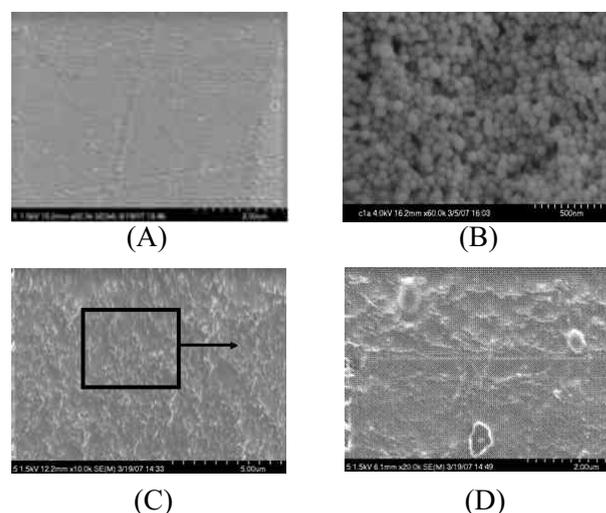
### Resultados e discussão

Na Tabela 1 é apresentada a dependência entre a quantidade de quitosana na síntese e o tamanho médio das nanopartículas. Pode ser observado que aumentando a quantidade de quitosana na síntese das nanopartículas, o tamanho médio das NPs apresentou um decréscimo.

**Tabela 1.** Valores de tamanho médio para as diferentes NPs de quitosana em pH = 4,0.

Nanopartícula	Tamanho de partícula (nm)
0,2 % m/v de QS	110 ± 4
0,5 % m/v de QS	82 ± 2
0,8 % m/v de QS	60 ± 4

Visualmente o filme apresentou boas propriedades, apresentando transparência e aspecto tátil não quebradiço. A morfologia dos filmes de HPMC contendo nanopartículas foi analisada através de microscopia eletrônica de varredura (Fig. 1).



**Fig. 1.** Micrografias de MEV: (a) filme controle (somente HPMC); (b) QS-PMAA nanopartículas com 0,2 % (m/v) de quitosana; (c) filme de HPMC contendo 6,3 % de nanopartículas com 110 nm; (d) o mesmo que (c) em 20.000 X de magnificação.

O filme controle que foi sintetizado a partir de uma solução de HPMC (hidroxipropil metilcelulose) em água (Fig. 1A) apresenta alto grau de porosidade. Na Figura 1B é apresentada a

micrografia das nanopartículas de QS-PMAA preparadas com 0,2% m/v, podemos ver homogeneidade de tamanho e forma. Na Figura 1C é apresentada uma maior compactação do filme de HPMC com adição das nanopartículas de QS-PMAA. As nanopartículas passam a ocupar os poros desses filmes aumentando assim sua compactação. Melhorando as propriedades mecânicas desse material. A permeação de água através do filme controle de HPMC foi de  $0,79 \pm 0,03$  g mm/kPa h m<sup>2</sup>. A permeabilidade decresceu quando nanopartículas foram adicionadas na matriz do filme de HPMC. Por exemplo, a permeabilidade decresceu para  $0,64 \pm 0,04$ ;  $0,59 \pm 0,06$  e  $0,47 \pm 0,07$  para filmes contendo NPs de 59 nm; 82 nm e 110 nm, respectivamente. Uma das causas desse decréscimo na permeabilidade com a inserção das NPs é o caminho mais tortuoso que a água tem que percorrer para permear. A característica térmica dos polímeros, principalmente no caso de materiais utilizados em embalagens, é de extrema importância. Uma vez que esses materiais poderão em escala industrial serem produzidos em temperatura elevada, a fim de diminuir o tempo de processamento, desde que se saiba de antemão que a temperatura de degradação do material não será atingida. A Tabela 2 mostra valores da temperatura de degradação (Td) para filmes de HPMC, com e sem nanopartículas, obtidos através de curvas de TG.

**Tabela 2.** Temperatura de degradação dos filmes de HPMC e HPMC com nanopartículas.

Filmes	Tamanho de Partícula (nm)	Td (°C)
Filme HPMC	-	232
Filme HPMC + NPs 0,2 % m/v	110	350
Filme HPMC + NPs 0,5% m/v	82	362
Filme HPMC + NPs 0,8% m/v	60	369

Os filmes que contêm somente HPMC apresentam temperatura de degradação térmica em 232 °C. Nos filmes que apresentam nanopartículas em sua composição, a temperatura de degradação térmica aumenta para 350 (110 nm), 362 (82 nm) e 369 °C (59 nm). Esse fato é muito importante para o processamento de filmes na indústria, pois a temperatura de degradação influencia na temperatura de processamento dos filmes.

## Conclusões

Em conclusão, esse estudo foi o primeiro a investigar a incorporação de nanopartículas de quitosana em filmes de HPMC. O estudo sugere que filmes de HPMC com nanopartículas de quitosana inclusas, oferecem grande potencial para serem

aplicados em alimentos no futuro. Foram observadas as reduções em WVP com a incorporação de nanopartículas. A presença das nanopartículas nos filmes pode ser observada em imagens de MEV, através da mudança na compactação do filme. Além disso, um fato interessante é um pequeno aumento na estabilidade térmica dos filmes com a presença de nanopartículas, que foi observado pelo aumento na temperatura de degradação. Por fim, com o auxílio da nanotecnologia esse trabalho auxilia no início dos estudos que podem buscar a melhoria de qualidade de vários tipos de filmes de interesse comercial para utilização como embalagens de alimentos.

## Agradecimentos

CNPq, FAPESP, FINEP/MCT, FIPAI, EMBRAPA, USDA.

## Referências

- ASTM. Standard test methods for water vapor transmission of materials. E96 - 92. In: ASTM. **Annual book of ASTM standards: American society for testing and materials**. Philadelphia, PA, 1990.
- AZEREDO, H. M. C.; FARIA, J. A. F.; AZEREDO, A. M. C. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 20, p. 337, 2000.
- MCHUGH, T. H.; AVENA-BUSTILLOS, R.; KROCHTA, J. M. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 58, p. 899, 1993.
- MIN, S.; RUMSEY, T. R.; KROCHTA, J. M. **Journal of Food Engineering**, [S. l.], v. 84, p. 39, 2008.
- MOURA, M. R. de; AOUADA, F. A.; MATTOSO, L. H. C. **Journal of Colloid Interface Science**, [S. l.], v. 321, p. 477, 2008.
- MOURA, M. R. de; AVENA-BUSTILLOS, R. J.; MCHUGH, T. H.; KROCHTA, J. M.; MATTOSO, L. H. C. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 73, p. 31, 2008.



---

## NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA APLICADAS EM FILMES COMESTÍVEIS DE HPMC PARA MELHORIA NAS PROPRIEDADES

---

Márcia Regina de Moura<sup>1,4\*</sup>, Roberto J. Avena-Bustillos<sup>2</sup>, Tara H. McHugh<sup>2</sup>, John M. Krochta<sup>3</sup>, Luiz Henrique Capparelli Mattoso<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Depto. de Química - UFSCar, São Carlos/SP

<sup>2</sup>Agricultural Research Service, Western Regional Research Center, Albany, CA, USA.

<sup>3</sup>University of California, Davis, USA.

<sup>4</sup>Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos/SP. \*mregina@cnpdia.embrapa.br

**Projeto Componente:** PC4

**Plano de Ação:** 01.05.1.01.04.02

---

### Resumo

Alguns desafios que enfrentam a indústria de alimentos na produção de embalagens e que devem ser melhorados são: i) propriedades mecânicas das películas; ii) aspecto ambiental, utilização de materiais biodegradáveis na síntese das embalagens. O objetivo do nosso trabalho é desenvolver embalagens comestíveis de hidroxipropil metilcelulose (HPMC), contendo nanopartículas de quitosana (QS) com a finalidade de melhorar as propriedades mecânicas dessas embalagens. As nanopartículas sintetizadas foram obtidas a partir de QS e tripolifosfato de sódio (TPP) pelo método de gelatinização iônica. As nanopartículas foram caracterizadas através de análises de tamanho médio. Para caracterização dos filmes de HPMC foram realizadas medidas de tensão, alongação e módulo de elasticidade, além de medidas de permeabilidade do filme ao vapor de água. Esses estudos mostraram que a síntese de nanopartículas QS-TPP foi realizada com sucesso e que os filmes comestíveis, contendo nanopartículas inclusas, apresentaram aumento nas propriedades mecânicas.

**Palavras-chave:** nanopartículas, quitosana, filmes comestíveis, HPMC.

---

### Introdução

---

Há cerca de 10 anos muitos pesquisadores de todo mundo estão focalizando suas pesquisas e desenvolvendo filmes comestíveis e embalagens para alimentos, cada vez mais sofisticadas em termos de qualidade. A nanotecnologia tem sido muito estudada na indústria de embalagens, como veículo no desenvolvimento de novas embalagens para proteção de alimentos (KROCHTA e MULDER-JOHNSTON, 1997; LEE et al., 2008; DEL NOBILE et al., 2008). A quitosana é um polímero natural derivado do processo de

desacetilação da quitina, considerado o segundo polissacarídeo mais abundante na natureza, atrás apenas da celulose (ALMENAR et al., 2009). Na agricultura está sendo bem explorada devido as características de ser um material biodegradável e atóxico. O derivado de celulose, HPMC, é um promissor material para ser aplicado em filmes para alimentos. HPMC é um polímero solúvel em água, utilizado na indústria de alimentos como agente gelificante e estabilizante. Entretanto filmes de HPMC apresentam pobres propriedades mecânicas e de barreira de água. Filmes comestíveis e para revestimentos devem ajudar a manter a qualidade

dos alimentos, apresentar adequada resistência à ruptura e à abrasão permitindo uma boa proteção do alimento sem perder qualidade por manuseio. Devem ser flexíveis para se adaptar às eventuais deformações dos alimentos, sem danos mecânicos. O objetivo do nosso trabalho é sintetizar filmes de HPMC melhorando suas propriedades mecânicas, através da incorporação de nanopartículas de quitosana em sua estrutura.

## Materiais e métodos

Para a preparação de nanopartículas de quitosana (QS) e tripolifosfato de sódio (TPP), utilizou-se o método de gelatinização iônica de QS com ânion de TPP (CALVO et al., 1997). Na primeira etapa solubilizou-se a quitosana em solução de ácido acético nas concentrações de 3,0 e 4,4 mg/mL. Após esse período, a solução foi alocada em um homogenizador (Polytron PT 3000- Brinkmann). Sob agitação, as soluções de TPP com concentração de 1,2 e 2,1 mg/ mL foram adicionadas sob as soluções de QS. A taxa de adição da solução de TPP foi de 1 mL/min, a zona de suspensão opalescente atribuiu-se as nanopartículas formadas. A distribuição do tamanho das partículas foi medida no equipamento Horiba LA 900, (Horiba Instruments Inc., Irvien, CA, USA), que opera pelo princípio de difração de raios laser. As medidas foram realizadas em triplicata na temperatura de 25 °C.

Para o preparo dos filmes foi empregada a técnica de "casting", que consiste no preparo de solução coloidal composta de água, HPMC com e sem nanopartículas, aplicação em um suporte, seguida de secagem. Esse procedimento está relatado no trabalho do nosso grupo (MOURA et al., 2009).

Após os filmes secos, esses foram retirados das placas e alocados em sacos plásticos. O teste mais comumente realizado para a determinação da resistência mecânica é o teste de tensão x deformação. As propriedades mecânicas dos filmes foram determinadas pelos testes de tração (ASTM D882-97). O equipamento utilizado para a análise foi um Instron Universal Testing Machine (Model 1122, Instron Corp., Canton, Mass., U.S.A.). Valores de permeabilidade ao vapor de água (WVP) foram determinados a partir do método modificado ASTM E96-92, utilizado para determinar a umidade relativa (RH) do filme, descrito na literatura por McHUGH et al. (1993).

## Resultados e discussão

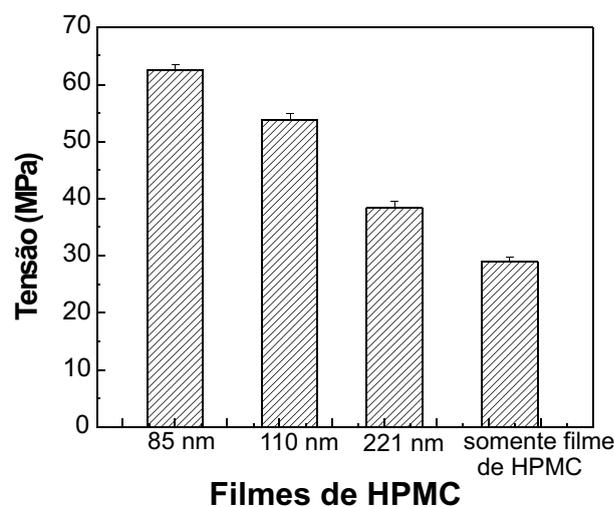
A Tabela 1 apresenta a influência da concentração de quitosana e TPP nos tamanho das nanopartículas. Um aumento no tamanho das partículas foi observado, com o aumento nas concentrações de quitosana e TPP. A utilização de embalagens é fortemente dependente das

propriedades mecânicas dos materiais. Tensão, alongação e módulo elástico são parâmetros que estão relacionados com as propriedades mecânicas dos filmes e suas estruturas químicas.

**Tabela 1.** Influência da concentração de QS e TPP no tamanho médio de nanopartículas.

Concentração de quitosana (mg/mL)	Concentração de TPP (mg/mL)	Tamanho de partícula (nm)
3,15	0,6	221 ± 2,3
2,14	0,6	110 ± 2,1
2,14	0,3	85 ± 2,5

Na Figura 1 é apresentada a dependência entre os filmes com e sem nanopartículas e a tensão de ruptura dos filmes. Os filmes de HPMC que contêm nanopartículas com tamanho menor, apresentam alto valor de tensão de ruptura. Um fator importante é que os filmes que não apresentam nanopartículas em sua composição possuem menor resistência mecânica que os demais.



**Fig. 1.** Efeito da adição de nanopartículas em filmes de HPMC nas propriedades mecânicas dos filmes.

A porcentagem de alongação também sofre variação, com o decréscimo de tamanho das partículas, como apresentado na Tabela 2.

Um acréscimo nos valores de alongação do filmes aumenta a tenacidade do material. Partículas de tamanhos menores são as que apresentaram maiores porcentagens de alongação. O módulo de elasticidade não apresentou variação significativa, com a mudança nos valores de tamanho médio de partículas. Somente variou com a adição das partículas, onde é observado um pequeno acréscimo nos valores. Um acréscimo nos valores de alongação

do filmes aumenta a tenacidade do material. Partículas de tamanhos menores são as que apresentaram maiores porcentagens de alongação. O módulo de elasticidade não apresentou variação significativa, com a mudança nos valores de tamanho médio de partículas. Somente variou com a adição das partículas, onde é observado um pequeno acréscimo nos valores.

**Tabela 2.** Efeito do tamanho de partículas nas propriedades mecânicas dos filmes.

Filmes de HPMC sem/com nanopartículas	Módulo de Elasticidade (MPa)	Elongação (%)
(Sem Nanopartículas)	900 ± 34	8,1 ± 0,7
221	1204 ± 64	5,7 ± 1,0
110	1190 ± 93	5,2 ± 1,0
85	1264 ± 65	11,1 ± 1,0

Na Tabela 3 são apresentados os valores de WVP para filmes de HPMC e nanopartículas com diferentes tamanhos. De acordo com análises de variância, observou-se que a presença de nanopartículas de QS-TPP nos filmes, provoca um decréscimo nos valores de WVP desses filmes. Esse fato é muito importante no campo da nanotecnologia. O valor de WVP para filmes sem nanopartículas é de 0,794 g mm kPa<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> m<sup>2</sup>. O decréscimo nos valores de WVP é atribuído à formação de ligações de hidrogênio entre a quitosana e a matriz de HPMC, o que influencia na difusão do vapor de água.

**Tabela 3.** Efeito da presença e do tamanho de partículas na permeabilidade ao vapor de água.

Tamanho de partícula (nm)	WVP g mm kPa <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> m <sup>2</sup>
(Sem Nanopartículas)	0,794 ± 0,03
85	0,331 ± 0,06
110	0,451 ± 0,05
221	0,587 ± 0,05

A estrutura dos filmes contendo nanopartículas é mais compacta o que dificulta a difusão do vapor através do filme. Além disso, há a influência do aumento dos obstáculos encontrados pelo vapor ao atravessar a matriz do filme, ou seja, o caminho para permear se torna mais tortuoso. Nanopartículas com tamanho pequeno induzem um maior decréscimo nos valores de WVP, quando comparado com os valores calculados para

partículas maiores. Isso ocorre, porque com a adição de partículas de tamanho menor nos filmes, essas apresentam maior habilidade em ocupar os espaços vazios, os poros, do filme. O que resulta em filmes com maior potencialidade de utilização como barreira ao vapor de água. Ou seja, essas partículas menores nesse caso não têm a característica de se agregarem e sim de total dispersão na matriz.

## Conclusões

Os filmes elaborados com HPMC e nanopartículas de QS-TPP apresentaram-se manuseáveis e visivelmente homogêneos. A presença de NPs melhora significativamente as propriedades de barreira (WVP) e propriedades mecânicas dos filmes. A resistência mecânica dos filmes foi preservada por um período de sete meses. A diferença de tamanho das nanopartículas também resultou em filmes com diferença nessas propriedades. As nanopartículas menores foram as que apresentaram filmes melhores (menor transferência de vapor de água através do filme e melhor propriedade mecânica). Assim, o uso de nanotecnologia pode melhorar a funcionalidade desses filmes na aplicação em alimentos que necessitam de embalagens com baixa permeabilidade de água e maior resistência.

## Agradecimentos

CNPq, FIPAI, FINEP/MCT, FAPESP, EMBRAPA, USDA.

## Referências

- ALMENAR, E.; HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P.; GAVARA, R. *Journal Agricultural Food Chemistry*, Easton, v. 57, p. 974, 2009.
- ASTM. Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. D882 - 97. In: ASTM. **Annual Book of American Standard Testing Methods**. Philadelphia, PA, 1997.
- ASTM. Standard test methods for water vapor transmission of materials. E96 - 92. In: ASTM. **Annual book of ASTM standards: American society for testing and materials**. Philadelphia, PA, 1990.
- CALVO, P.; REMUNÁN-LOPEZ, C.; VILA-JATO, J. L.; ALONSO, M. J. *Journal Applied Polymer Science*, [S. l.], v. 63, p. 125, 1997.
- DEL NOBILE, M. A.; CONTE, A.; CANNARSI, M.; SINIGAGLIA, M. *Journal of Food Engineering*, [S. l.], v. 85, p. 317, 2008.
- KROCHTA, J. M.; MULDER-JOHNSTON, C. *Food Technology*, Chicago, v. 51, p. 61, 1997.
- LEE, J-W.; SON, S-M.; HONG, S.-I. *Journal of Food Engineering*, [S. l.], v. 86, p. 484, 2008.
- MCHUGH, T. H.; AVENA-BUSTILLOS, R.; KROCHTA, J. M. *Journal of Food Science*, Chicago, v. 58, p. 899, 1993.
- MOURA, M. R. de; AOUADA, F. A.; AVENA-BUSTILLOS, R. J.; McHUGH, T. H.; KROCHTA, J. M.; MATTOSO, L. H. C. *Journal of Food Engineering*, [S. l.], v. 92, p. 448, 2009.



## CARACTERIZAÇÃO TÉRMICA DE NANOCOMPÓSITOS DE BORRACHA NATURAL E NANOFIBRAS DE CELULOSE

Maria Alice Martins<sup>1</sup>, Eliangela de Moraes Teixeira<sup>2</sup>, Paulo de Souza Gonçalves<sup>3\*</sup>, Luiz Henrique Capparelli Mattoso<sup>2</sup>, Mariselma Ferreira<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do ABC, CCNH, maria.martins@ufabc.edu.br, mariselma.ferreira@ufabc.edu.br.

<sup>2</sup>Lab. Nac. Nanotecnologia Agronegócio, Embrapa Instrumentação Agropecuária, eliangela@cnpdia.embrapa.br, mattoso@cnpdia.embrapa.br.

<sup>3</sup>Instituto Agronômico, Apta/IAC - Programa Seringueira, \*paulog@iac.sp.gov.br.

**Projeto Componente:** PC4

**Plano de Ação:** 01.05.1.01.04.02

### Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliação das propriedades térmicas (TG e DSC) de nanocompósitos de borracha natural do clone RRIM 600 e nanofibras de celulose obtidas de algodão comercial. Os nanocompósitos apresentaram resultados promissores, pois mostraram boa estabilidade térmica até 300 °C em atmosfera inerte e 250 °C em atmosfera oxidativa. A adição e o aumento no conteúdo de nanofibras de 2 para 12% não levou a uma redução da estabilidade térmica dos materiais obtidos e não influenciou nos valores obtidos para a transição vítrea, em torno de -66 °C para todas as amostras.

**Palavras-chave:** TG, DSC, algodão, borracha natural, nanocompósito.

### Introdução

Nanocompósitos são materiais multifásicos nos quais uma das fases possui dimensões nanométricas em pelo menos um dos eixos geométricos das partículas. Devido à sua estrutura, essa nova classe de materiais pode apresentar propriedades únicas, diferentes dos compósitos convencionais e dos seus constituintes, gerando novas tecnologias e aplicações (VARGUESE, 2003).

A borracha natural crua proveniente do látex da seringueira [*Hevea brasiliensis* (Willd. ex A.DC.) Muell.-Arg.], um polímero de alta massa molar de estrutura cis-1,4 poliisopreno, é uma matéria-prima agrícola importante para a manufatura de uma grande quantidade de produtos (MORTON, 1981). O látex obtido das árvores da seringueira contém, em adição ao hidrocarboneto poliisoprenico, uma grande quantidade de outras substâncias orgânicas e inorgânicas que têm influência nas propriedades físico-químicas do

polímero poliisopreno, sendo entre estas influência nas propriedades físico-químicas do polímero poliisopreno, sendo entre estas propriedades do material, o comportamento térmico é importante para a determinação dos parâmetros de formulação e processamento da borracha. (TANAKA, 1985; MARTINS et al., 2008).

O algodoeiro é uma das principais plantas domesticadas pelo homem e uma das mais antigas, tendo registros de seu uso a mais de 4.000 anos, e é cultivado comercialmente em mais de 65 países. Essa cultura representa no Brasil mais de 60% dos insumos têxteis, e nos Estados Unidos 65%. Cerca de 90% das fibras de algodão comercializadas no mundo são provenientes da espécie *Gossypium hirsutum* (BELTRÃO, 1999).

O objetivo deste trabalho foi avaliação das propriedades térmicas de nanocompósitos de borracha natural do clone RRIM 600 e nanofibras de celulose obtidas de algodão comercial.

## Materiais e métodos

O látex de borracha natural do clone RRIM 600 foi coletado em Pindorama dentro do programa Seringueira desenvolvido pelo IAC. A borracha foi avaliada através de ensaios de índice de retenção de plasticidade (PRI), plasticidade Wallace(Po), viscosidade Mooney ( $V_R$ ), extrato acetônico, e porcentagem de nitrogênio. O algodão para a obtenção das nanofibras foi adquirido no comércio local. Para preparação das nanofibras, cerca de 5 g de fibras de algodão foram dispersas em 100 mL de solução de ácido sulfúrico 6.5M a 45 °C, sob agitação por 75 min. A suspensão resultante foi submetida à diálise com água usando uma membrana de celulose até pH entre 6 e 7. A difratometria de raios X foi realizada em um equipamento VEB Carl Zeiss-JENA URD-6 Diffractometer, usando  $CuK\alpha$  radiation ( $\lambda = 1.5406\text{Å}$ ) operando a 40 kV e 20 mA. Para a obtenção dos nanocompósitos, a suspensão de nanofibras foi misturada ao látex sob suave agitação em diferentes proporções (2%-12% phr). Os nanocompósitos foram obtidos na forma de filme "by casting", a mistura foi depositada em um molde de teflon e seca em estufa a temperatura moderada.

Os ensaios de TG/DTG foram realizados à taxa de aquecimento de 10 °C/min, em atmosfera inerte (nitrogênio) e oxidativa (ar sintético) da temperatura ambiente até 800 °C num equipamento TA Q500. A temperatura de transição vítrea e o comportamento térmico da borracha natural e dos nanocompósitos foram determinados através de ensaios de DSC em um instrumento TA Q100. A razão de aquecimento utilizada foi 10 °C/min, entre 90 °C a 150 °C.

## Resultados e discussão

A Tabela 1 apresenta os resultados da avaliação da borracha através de ensaios de índice de retenção de plasticidade (PRI), plasticidade Wallace(Po), viscosidade Mooney ( $V_R$ ), extrato acetônico, e porcentagem de nitrogênio. Os resultados mostraram que a borracha utilizada tem qualidade dentro dos padrões da norma brasileira e internacional.

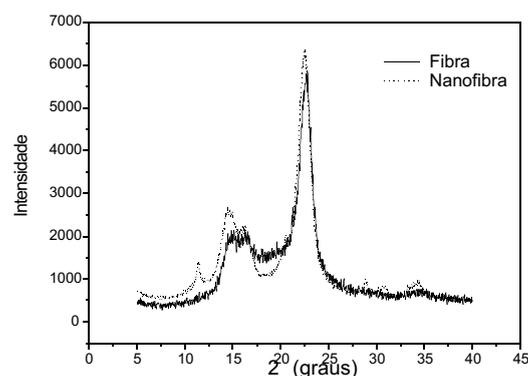
Na Figura 1 são apresentados os difratogramas da fibra de algodão e das nanofibras. Pode se observar a presença dos principais picos referentes aos planos cristalográficos nos seguintes ângulos de Bragg ( $2\theta$ ): 15,0° (plano 101); 16,5° (plano 101); 22,7° (plano 002); 34,4° (plano 040). A fibra de algodão comercial apresentou um índice de cristalinidade ( $I_c$ ) de 77% e ocorreu um aumento de cerca de 20% em relação ao das nanofibras, com  $I_c$  igual a 91%.

Em atmosfera inerte, as curvas de TG, Figura 2 mostraram que, em todos os casos, o processo de decomposição ocorreu em uma única etapa e que não existe diferença significativa entre as

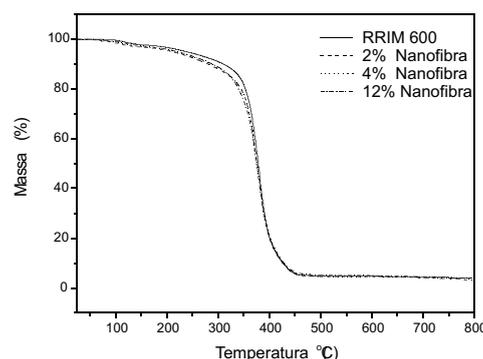
amostras, indicando que a adição e o aumento no conteúdo de nanofibras de 2 para 12% não levou a uma redução da estabilidade térmica do material obtido. Observou-se ainda que a temperatura inicial de decomposição é próxima a 300 °C, sendo que até esta temperatura ocorreu uma perda de massa de cerca de 10% em relação à massa inicial tanto para a borracha como para os nanocompósitos.

**Tabela 1.** Propriedades tecnológicas da borracha natural do clone RRIM 600.

Propriedade	Média	dia	C V. (%)
$V_R$	109		8
$P_O$	60		13
PRI	72		11
Extrato Acetônico	3,1		19
Nitrogênio (%)	0,5		29



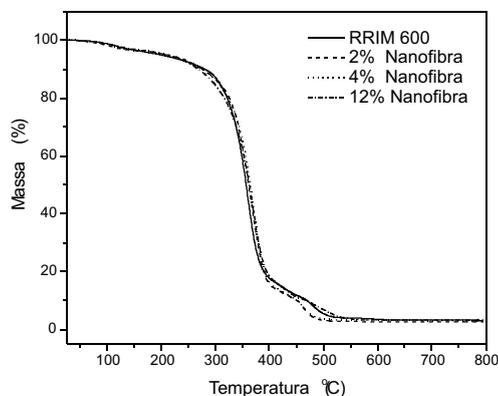
**Fig. 1.** Difratogramas de raios-X da fibra de algodão e das nanofibras.



**Fig. 2.** Curvas de TG para a borracha natural e para os nanocompósitos em atmosfera de nitrogênio, 10 °C/min.

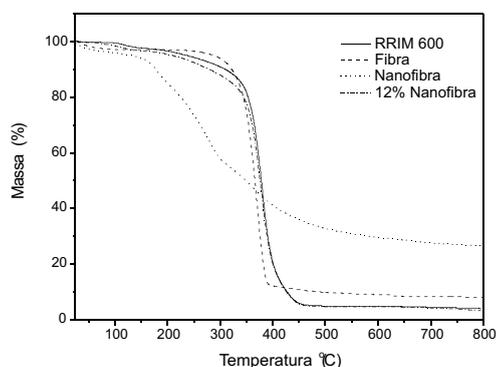
A Figura 3 mostra as curvas de TG em atmosfera oxidativa de ar sintético, observa-se que houve uma mudança no mecanismo de degradação tanto para a borracha quanto para os

nanocompósitos. A decomposição em atmosfera termo-oxidativa ocorre após uma perda de massa inicial, em três processos. Considerando-se a perda de massa inicial de cerca de 5%, atribuída à eliminação de voláteis, a etapa inicial de degradação ocorre na temperatura de cerca de 250 °C para todas as amostras.



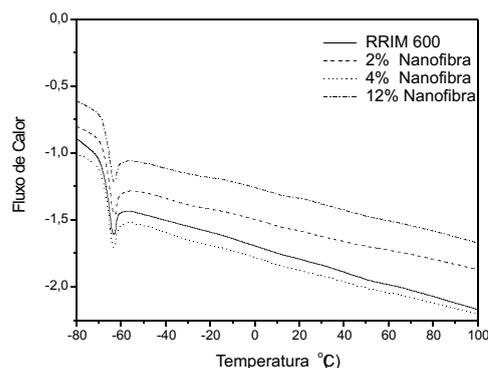
**Fig. 3.** Curvas TG para a borracha natural e para os nanocompósitos em atmosfera oxidativa, 10 °C/min.

Para comparação, a Figura 4 mostra as curvas de TG da fibra, da nanofibra, da borracha e de um nanocompósito como exemplo. Observa-se que a nanofibra apresenta a menor estabilidade térmica e que apesar disto a adição das nanofibras reduz somente levemente o desempenho térmico do material. Observa-se também que os nanocompósitos apresentam comportamento similar ao da borracha natural sem reforço.



**Fig. 4.** Curvas de TG para a borracha natural, fibra de algodão, nanofibra e nanocompósito com 12% de nanofibra, em atmosfera de nitrogênio, 10 °C/min.

Os resultados obtidos através da técnica de DSC são apresentados na Figura 5. A transição observada é atribuída à temperatura de transição vítrea (Tg). Observa que ocorreu pouca diferença nos valores de Tg entre os nanocompósitos, que apresentaram Tg em torno de -66 °C, resultados semelhantes foi observado por Bendahou et al. (2009).



**Fig. 5:** Curvas de DSC para a borracha natural e para os nanocompósitos.

## Conclusões

Os nanocompósitos apresentaram resultados bastante promissores, pois mostraram boa estabilidade térmica até cerca de 300 °C em atmosfera inerte e até aproximadamente 250 °C em atmosfera oxidativa. Observou-se também que a adição e o aumento no conteúdo de nanofibras de 2 para 12% não levou a uma redução da estabilidade térmica do material obtido. A adição de nanofibras também não influenciou nos valores obtidos para a transição vítrea, pois todas as amostras apresentaram Tg em torno de -66 °C, sugerindo que o material obtido tem capacidade de movimentação, ou flexibilidade das cadeias poliméricas semelhante.

## Agradecimentos

UFABC, EMBRAPA, FINEP/MCT, FAPESP e CNPq.

## Referências

- BELTRÃO, N. E. M. **O Agronegócio do Algodão no Brasil**, Brasília: [s. n.], 1999.
- BENDAHOU, A.; HABIBI, Y.; KADDAMI, H.; DUFRESNE, A. **Biobased Materials and Bioenergy**, [S. l.], v. 3, p. 81-90, 2009.
- MARTINS, M. A.; MORENO, R. M. B.; MATTOSO, L. H. C.; GONÇALVES, P. S. **Seringueira**. Belo Horizonte: EPAMIG, 2008.
- MORTON, M. **Rubber technology**. Malabar, Florida: [s. n.], 1981.
- VARGUESE, S.; KARGER-KOCSIS, J. **Polymer**, [S. L.], v. 44, p. 4921, 2003.
- TANAKA, Y. In: INTERNATIONAL RUBBER CONFERENCE. 1985, Kyoto. [S. l.: s. n.], 1985. p. 141-146.



---

## NANOCELULOSE DE FIBRAS DE COCO IMATURO PARA APLICAÇÃO EM NANOCOCOMPÓSITOS

---

Morsyleide F. Rosa<sup>1\*</sup>, Eliton S. Medeiros<sup>2</sup>, Syed H. Imam<sup>2</sup>, Diego M. Nascimento<sup>3</sup>, Amanda K. Monteiro<sup>3</sup>, José A. Malmonge<sup>4</sup>, Luiz Henrique C. Mattoso<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Agroindústria Tropical, Rua Dra Sara Mesquita, 2270, 60511-110, Fortaleza/CE.

\*morsy@cnpat.embrapa.br

<sup>2</sup>Bioproduct Chemistry & Engineering Research Unit, WRRRC, ARS-USDA, Albany, CA 94710, USA

<sup>3</sup>Universidade Federal do Ceará, Fortaleza/CE;

<sup>4</sup>UNESP - Campus de Ilha Solteira, Ilha Solteira, SP

<sup>5</sup>Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação Agropecuária, CP 741, 13560-970, São Carlos, SP, Brazil

**Projeto Componente:** PC4

**Plano de Ação:** 01.05.1.01.04.02

---

### Resumo

O interesse por nanocelulose proveniente de fontes renováveis tem crescido principalmente por causa das excepcionais características mecânicas desses materiais. A extração de nanocelulose se deu por meio da hidrólise ácida de fibras de coco imaturo, previamente branqueadas. O efeito da intensidade do branqueamento e do tempo de extração nas características da nanocelulose foi avaliado. Resultados mostraram que a estabilidade térmica das nanopartículas e a cristalinidade dependem da intensidade do branqueamento e que o tempo da hidrólise influencia o tamanho dos nanocristais.

**Palavras-chave:** nanocelulose, nanowhisker, fibra de coco.

---

### Introdução

A celulose é um polissacarídeo linear de alto peso molecular, abundante e cuja estrutura é organizada em fibrilas, que são envolvidas por uma matriz de lignina e hemicelulose (KRASSIG, 1993; HULT et al., 2000). Nanocristais de celulose, comumente referidos como *nanowhiskers* ou nanocelulose, podem ser obtidos de várias fontes. O interesse por *nanowhiskers* de celulose provenientes de fontes renováveis tem crescido principalmente por causa das características mecânicas excepcionais desses materiais, dos benefícios ambientais e do baixo custo.

As cascas de coco (*Cocos nucifera*) imaturo são resíduos da agricultura com alto potencial de aproveitamento, mas, infelizmente, com poucas ações implementadas no Brasil.

Este estudo avaliou a relação entre os diferentes tratamentos de branqueamento de fibras de coco imaturo e tempo de extração e as propriedades dos cristais de celulose extraídos a partir desta fonte. Foram conduzidos dois diferentes níveis de delignificação (branqueamento). A extração dos *nanowhiskers* de celulose se deu por meio da hidrólise ácida das fibras de coco imaturo previamente branqueadas. Os produtos finais foram caracterizados por meio de análise termogravimétrica (TGA), microscopia eletrônica de transmissão (MET) e Difração de Raios-X.

### Materiais e métodos

Fibras de coco imaturo contendo cerca de 37% de lignina e 32,5% de celulose, provenientes da região Nordeste do Brasil, foram fornecidas pela

Embrapa Agroindústria Tropical (Fortaleza, CE, Brazil). Inicialmente, as fibras passadas em peneira de 45 mesh (abertura de 354  $\mu\text{m}$ ) foram submetidas a um tratamento com NaOH (2%) para remoção de impurezas da superfície segundo a metodologia de Dinand et al. (1996), modificada por Malainine et al. (2003). Em seguida, foi conduzido o branqueamento com NaClO<sub>2</sub> (1%), objetivando remover parte da lignina presente nas fibras (WISE et al., 1946). Foram realizados branqueamentos em duas intensidades: um mais rigoroso (T1), constando de quatro estágios, e outro mais brando (T2), com apenas um estágio de branqueamento. Whiskers de celulose foram extraídas das fibras branqueadas por hidrólise ácida com ácido sulfúrico 64 % (m/m) a 120, 150 e 180 min (CRANSTON e GRAY, 2006; ORTS et al., 2005).

A morfologia dos nano cristais de celulose foi caracterizada usando microscopia eletrônica de transmissão.

Para avaliar a cristalinidade, análises de difração de Raios-X foram conduzidas em difratômetro Philips 1820, operado a 45 kV, 40 mA, de 5° a 40°. O grau de cristalinidade foi medido pela integração da área amorfa e cristalina de cada amostra. A estabilidade térmica dos *nanowhiskers* foi investigada por análise termogravimétrica, realizadas sob fluxo de nitrogênio, com taxa de fluxo do gás de 60 mL/min, com taxa de aquecimento de 10°C/min, sendo a faixa da temperatura varrida de 25°C a 600°C.

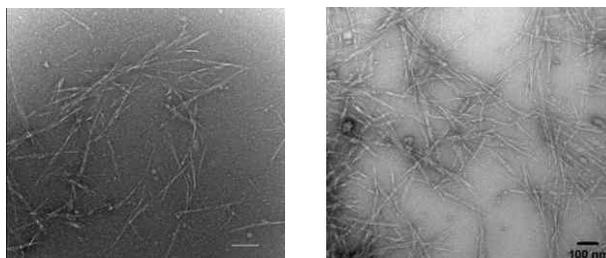
## Resultados e discussão

Para todas as amostras, suspensões de cor marrom de cristalitos de celulose foram obtidas, como foi evidenciado visualmente através da formação de suspensões estáveis e de análises microscópicas.

A Figura 1 mostra micrografias eletrônicas de transmissões típicas, obtidas de suspensões diluídas de *nanowhiskers* de celulose extraídos por meio de hidrólise ácida de fibras de coco imaturo branqueadas. Para o tratamento menos agressivo (um estágio de branqueamento - T2), onde a lignina residual de certa forma dificulta a hidrólise ácida, não houve tendência na diminuição do comprimento do nanocristal com o aumento do tempo de hidrólise. Contudo, quando uma maior quantidade de lignina é removida e a superfície do nanocristal fica mais exposta ao ataque ácido, observou-se uma leve tendência na diminuição do tamanho com o aumento do tempo de extração como uma consequência do prolongado ataque ácido que não apenas “dissolve” a parte amorfa mas também parcialmente destrói zonas cristalinas das fibrilas, resultando em um tamanho menor da nanopartícula.

Tipicamente, os monocristais de celulose extraídos da fibra de coco apresentaram comprimentos que variaram de 80 a 500 nm e diâmetros situados entre 4 e 6 nm; o que reproduziu uma razão de aspecto de  $39 \pm 16$ , considerada alta.

Estes resultados são consistentes com dados da literatura obtidos para diferentes fontes renováveis (BONDESON et al., 2006; ELAZZOUI-HAFRAOUI et al., 2008; KRASSIG, 1993; HULT et al., 2000; OKSMAN et al., 2006).



**Fig. 1.** Micrografias de Transmissão Eletrônica de *nanowhiskers* de celulose. Barra de escala: 100 nm

O tamanho das fibras (associado diretamente à razão aspecto) é, em especial, ligado ao ganho em propriedades mecânicas quando usadas como agente de reforço em compósitos. Como relatado na literatura, fibras longas proporcionam, em geral, maiores ganhos em propriedades mecânicas, enquanto fibras curtas acrescentam menores ganhos, já que tensões-deformações de cisalhamento na região interfacial fibra-matriz são responsáveis pela transferência de tensões em compósitos (MASOUMY et al., 2004).

As cristalinidades das fibras de coco branqueadas ou não e dos nanocristais extraídos estão listadas na Tabela 1.

**Tabela 1.** Grau de Cristalinidade (%) de fibras de coco comparadas com fibras branqueadas (T1 e T2) e nanocristais de celulose extraídos em diferentes tempos de hidrólise ácida.

	Tempo de Hidrólise (min)						
	Não hidrolisada		120	150	180		
Fibras	38.9	0.3	-	-	-	-	-
T1 (4 branq.)	50.9	0.5	65.6	64.3	64.1	64.1	0.4
T2 (1 branq.)	52.6	0.9	65.9	62.2	62.5	62.5	0.4

Tanto o tipo de branqueamento quanto as condições de hidrólise afetaram o grau de cristalinidade dos cristais de celulose. Para as amostras hidrolisadas, o tempo de extração influenciou o grau de cristalinidade, amostras submetidas a menores tempos de extração apresentaram maior cristalinidade. Isto provavelmente ocorreu devido à destruição parcial da parte cristalina.

Não houve diferença entre o comportamento térmico dos *nanowhiskers* extraídos em diferentes tempos de hidrólise ácida; entretanto, para o mesmo tempo de hidrólise, a intensidade de branqueamento das amostras de fibra afetou a estabilidade térmica dos nanocristais. Embora a temperatura inicial de decomposição térmica tenha sido praticamente a

mesma em todos os casos, a quantidade de material decomposto (proporcional à área sob a curva dos picos DTG) foi maior para *nanowhiskers* obtidos em amostras com menos lignina (branqueamento mais rigoroso – T1).

Estes resultados sugerem que a lignina residual promove uma maior estabilidade térmica aos nanocristais. A sua presença, adicionalmente, poderá conferir maior compatibilização com matrizes poliméricas hidrofóbicas.

---

## Conclusões

---

Nanocristais de celulose provenientes de fibras de coco imaturo foram obtidos por hidrólise ácida variando-se as condições de branqueamento e tempo de extração.

A estabilidade térmica dos nanocristais de celulose variou com a intensidade do branqueamento sendo independente do tempo de extração. Um maior conteúdo de lignina residual provavelmente promoveu uma maior estabilidade térmica.

Nanocristais de celulose com comprimento entre 80 a 500 nm, e diâmetro de 4 a 6 nm foram obtidos. Foi observada uma possível correlação entre as condições de preparo e o tamanho da nanopartícula. Quando comparados os graus de hidrólise, foi encontrado que o comprimento do nanocristal de celulose foi maior para tempos de extração mais curtos.

De acordo com os resultados obtidos, o branqueamento menos rigoroso (T2) e a hidrólise ácida por 120 min são consideradas condições mais apropriadas para a extração de *nanowhiscker* de fibra de coco verde.

Estes resultados mostram que *nanowhiskers* de celulose podem ser obtidos de fibras de coco imaturo, representando um potencial material de reforço em nanocompósitos, o que destaca esse resíduo agroindustrial como mais uma fonte de matéria-prima renovável a ser explorada.

---

## Agradecimentos

---

CNPq, FINEP/MCT, EMBRAPA, CAPES.

---

## Referências

---

BONDESON, D.; MATHEW, A.; OKSMAN, K. **Cellulose**, [S. l.], v. 13, p. 171–180, 2006.  
CRANSTON, E. D.; GRAY, D. G. **Biomacromolecules**, Washington, v. 7, p. 2522–2530, 2006.  
DINAND, E.; CHANZY, H.; VIGNON, M. R. **Cellulose**, [S. l.], v. 3, p. 183–188, 1996.  
ELAZZOUI-HAFRAOUI, S.; NISHIYAMA, Y.; PUTAUX, J.; HEUX, L.; DUBREUIL, F.; ROCHAS, C. **Biomacromolecules**, Washington, v. 9, p. 57–65, 2008.

HULT, E. L.; LARSSON, P. T.; IVERSEN, T. **Cellulose**, [S. l.], v. 7, p. 35–45, 2000.  
KRASSIG, H. A. **Cellulose**, v. 11, 1993, 240p.  
MALAININE, M. E.; DUFRESNE, A.; DUPEYERE, D.; MAHROUZ, M.; VUONG, R.; VIGNON, M. R. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 51, p. 77–83, 2003.  
MASOUMY, E., KACIR, L., KARDOS, J. L. **Polymer Composites**, Brookfield, v. 4, n. 1, p. 64–72, 2004.  
OKSMAN, K.; MATHEW, A.; BONDESON, D.; KVIEN, I. **Compos. Sci. Technol**, Barking, v. 66, n. 15, p. 2776–2784, 2006.  
ORTS, W. J.; SHEY, J.; IMAM, S. H.; GLENN, G. M.; GUTTMAN, M. E.; REVOL, J. F. **Journal of Polymers and the Environment**, [S. l.], v. 13, n. 4, p. 301–306, 2005.  
WISE, L. E.; MURPHY, M.; D'ADDIECO, A. A. **Paper Trade Journal**, [S. l.], v. 122, p. 35–43, 1946.



---

## NANOCOMPÓSITOS DE BORRACHA NATURAL REFORÇADOS COM NANOWHISKERS DE FIBRA DE COCO IMATURO

---

Morsyleide F. Rosa<sup>1\*</sup>, Eliton S. Medeiros<sup>2</sup>, Syed H. Imam<sup>2</sup>, José A. Malmonge<sup>3</sup>, Luiz Henrique C. Mattoso<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Agroindústria Tropical, Rua Dra Sara Mesquita, 2270, 60511-110, Fortaleza/CE.

\*morsy@cpat.embrapa.br

<sup>2</sup>Bioproduct Chemistry & Engineering Research Unit, WRRRC, ARS-USDA, Albany, CA 94710, USA

<sup>3</sup>Universidade do Estado de São Paulo - Campus de Ilha Solteira, Ilha Solteira, SP.

<sup>4</sup>Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação Agropecuária, CP 741, 13560-970, São Carlos, SP

**Projeto Componente:** PC4

**Plano de Ação:** 01.05.1.01.04.02

---

### Resumo

Nanocompósitos de borracha natural reforçados com nanocristais de celulose foram obtidos. O comportamento mecânico desses materiais foi investigado. Os nanocristais, preparados por hidrólise ácida de fibras de coco imaturo branqueadas, apresentavam diâmetros em torno de 5 nm e razão de aspecto de até 48. Os resultados do ensaio de tração mostraram que houve um aumento de 50% no valor da tensão de ruptura e uma redução de aproximadamente 50% na deformação na ruptura para o compósito com 10% de nanocristais.

**Palavras-chave:** nanocelulose, nanocompósito, fibra de coco, borracha natural.

---

### Introdução

Dentre as pesquisas voltadas para novos usos de materiais lignocelulósicos, destacou-se o aproveitamento de fibras naturais para a obtenção de nanopartículas de celulose (AZIZI *et al.*, 2005; LI *et al.*, 2009).

Nanopartículas de celulose, comumente referidas como *whiskers*, cristalitos, nanocristais ou nanocelulose, podem ser obtidos de várias fontes. O interesse por nanopartículas de celulose provenientes de fontes renováveis tem crescido principalmente por causa das características mecânicas excepcionais desses materiais, dos benefícios ambientais e do baixo custo (SAMIR *et al.*, 2005).

Uma das aplicações dos nanocristais é no reforço de matrizes poliméricas. A incorporação de *whiskers* de celulose, como agentes de reforço, tem sido apontada como altamente eficiente, melhorando

o desempenho de polímeros, mesmo quando em baixas concentrações (OKSMAN *et al.*, 2006). Neste trabalho, nanocompósitos elaborados com borracha natural, obtida da Seringueira (*Hevea brasiliensis*), e reforçados com nanocristais de celulose, obtidos pela hidrólise ácida de fibra de coco imaturo, foram estudados utilizando ensaios de tensão vs. deformação.

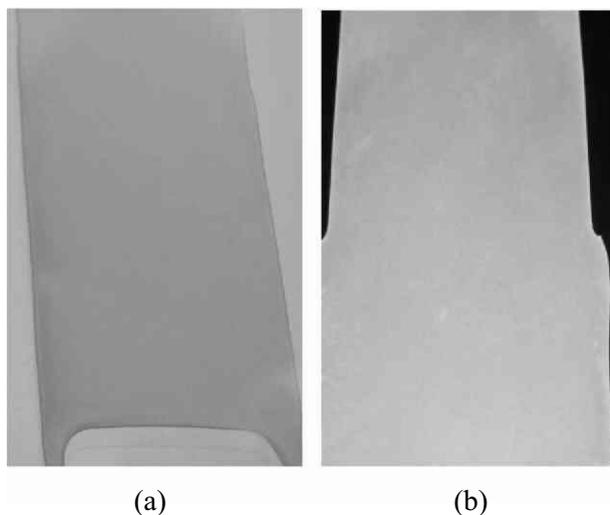
### Materiais e métodos

Nanocristais de celulose, com comprimento na faixa de 58 nm a 447 nm e espessura de  $5.5 \pm 1.4$  nm, foram isolados de fibras de coco imaturo, previamente branqueadas (WISE *et al.*, 1946), por meio de hidrólise ácida ( $H_2SO_4$ , 64%) a 45°C, por 150 min (CRANSTON e GRAY, 2006; ORTS *et al.*, 2005). A razão de aspecto média dos *nanowhiskers* foi estimada em  $36 \pm 12$ .

Os nanomateriais foram preparados a partir de uma suspensão aquosa de nanocristais de celulose e látex de Seringueira (*Hevea brasiliensis*), na proporção desejada (10%). A suspensão de nanocristais foi misturada ao látex e mantida sob agitação durante 20 min. Em seguida, o conteúdo foi vertido em placas de vidro e mantido por dois dias a temperatura ambiente. Os filmes assim obtidos foram colocados em estufa a 50°C por 12 h para completa secagem. Os ensaios de tensão deformação foram conduzidos em máquina de ensaios da Instron modelo 5500, segundo a norma ASTM D882-95a. A velocidade de deformação utilizada foi de 500 mm/min, com uma célula de carga de 100 N e distância entre as garras de 20 mm. A largura das amostras foi de 5mm e foram ensaiados no mínimo 5 corpos de provas para cada amostra.

## Resultados e discussão

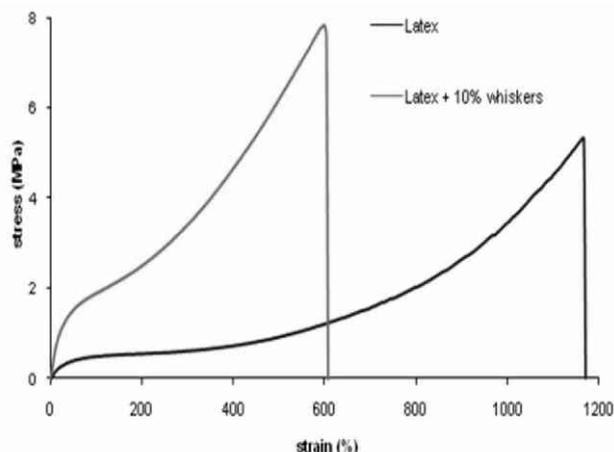
A Figura 1 apresenta filmes típicos, obtidos a partir do látex puro (a) e da mistura do látex com a suspensão de nanocristais de celulose (b).



**Fig. 1.** Filmes: (a) borracha natural, (b) nanocompósito borracha natural/nanocelulose

Observa-se que o nanocompósito (Fig. 1b) apresentou cor marrom, indicando que, apesar da fibra de coco, utilizada como matéria-prima para extração de *nanowhiskers* de celulose, ter sido previamente delignificada, a suspensão de nanocristais ainda continha relevante quantidade de lignina, o que conferiu a mudança de cor observada no filme. A uniformidade da cor, entretanto, é uma boa indicação de que a mistura látex/suspensão de nanocristais foi bem homogeneizada.

A Figura 2 apresenta os resultados do comportamento mecânico dos filmes obtidos a partir de látex puro e de látex incorporado com nanocristais de celulose (10%).



**Fig. 2.** Curvas de tensão vs. deformação para os filmes obtidos a partir de látex puro e de látex incorporado com *nanowhiskers* (10%).

A incorporação de nanocristais de celulose acarretou em aumentos na tensão de ruptura (TS) e no módulo de elasticidade e redução na deformação na ruptura.

O aumento de cerca de 50%, observado na TS, significa que as nanopartículas exerceram função de reforço no nanocompósito e não simplesmente de carga. Esse efeito é associado diretamente à eficiente transferência de stress entre matriz e nanopartículas. Os nanocompósitos apresentaram ainda significativa redução no valor da deformação na ruptura (cerca de 50%), o que reflete uma diminuição da capacidade dúctil do nanomaterial, comportamento geralmente esperado quando um componente mais rígido, no caso as nanopartículas de celulose, é adicionado a um outro material mais flexível (no caso o látex).

## Conclusões

Compósitos de borracha, proveniente do látex da Seringueira (*Hevea brasiliensis*), com nanocristais de celulose, da fibra de coco imaturo, foram obtidos. A tensão de ruptura aumentou em 50% com um conteúdo em massa de 10% de nanocristais. Estes resultados mostram que *nanowhiskers* de celulose obtidos de fibras de coco imaturo podem atuar como reforço em nanocompósitos.

## Agradecimentos

CNPq, FINEP/MCT, EMBRAPA, CAPES.

## Referências

AZIZI, S. M. A. S.; ALLOIN, F.; DUFRESNE, A. **Biomacromolecules**, Washington, v. 6, n. 2, p. 612-626, 2005.

CRANSTON, E. D.; GRAY, D. G. **Biomacromolecules**, Washington, v. 7, p. 2522-2530, 2006.

LI, R.; FEI, J.; CAI, Y.; LI, Y.; FENG, J.; YAO, J. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 76, p. 94-99, 2009.

OKSMAN, K.; MATHEW, A. P.; BONDESON, D.; KVIEN, I. **Composites Science and Technology**, Barking, v. 66, n. 15, p. 2776-2784, 2006.

ORTS, W. J.; SHEY, J.; IMAM, S. H.; GLENN, G. M.; GUTTMAN, M. E.; REVOL, J. F. **Journal of Polymers and the Environment**, [S. l.], v. 13, n. 4, p. 301-306, 2005.

SAMIR, M. A. S. A.; ALLOIN, F.; DUFRESNE, A. **Biomacromolecules**, Washington, v. 6, n. 2, p. 612-626, 2005.

WISE, L. E.; MURPHY, M.; D'ADDIECO, A. A. **Paper Trade Journal**, [S. l.], v. 122, p. 35-43, 1946.



---

## COMPÓSITOS BIODEGRADÁVEIS REFORÇADOS COM FIBRAS DE COCO IMATURO

---

Morsyleide F. Rosa<sup>1\*</sup>, Eliton S. Medeiros<sup>2</sup>, Syed H. Imam<sup>2</sup>, Luiz Henrique C. Mattoso<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Agroindústria Tropical, Rua Dra Sara Mesquita, 2270, 60511-110, Fortaleza/CE.

\*Morsy@cnpat.embrapa.br

<sup>2</sup>Bioproduct Chemistry & Engineering Research Unit, WRRRC, ARS-USDA, Albany, CA 94710, USA

<sup>3</sup>Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação Agropecuária, CP 741, 13560-970, São Carlos, SP

**Projeto Componente:** PC4

**Plano de Ação:** 01.05.1.01.04.02

---

### Resumo

Fibras de coco imaturo, submetidas a três diferentes tipos de pré-tratamentos (simples lavagem com água, mercerização e branqueamento), foram incorporadas a blendas de amido e EVOH. Todos os tratamentos produziram modificações superficiais e melhoraram a estabilidade térmica das fibras e conseqüentemente dos compósitos. As blendas reforçadas exibiram propriedades superiores e os melhores resultados foram obtidos para os compósitos reforçados com fibras mercerizadas, cuja tensão na ruptura aumentou em até 53%, em comparação aos materiais reforçados com fibras não tratadas, e em até 33,3%, quando comparada às blendas puras.

**Palavras-chave:** ibras naturais, fibra de coco, biocompósito, tratamento de superfície.

---

### Introdução

O interesse por polímeros biodegradáveis e mais especificamente por biocompósitos obtidos a partir de fontes renováveis tem sido crescente (ASHORI, 2008; BILBA et al., 2007; CHIELLINI et al., 2001; CHOUDHURY et al., 2007; YANG et al., 2003). O amido é um dos mais estudados e promissores recursos agrícolas para a produção de polímeros biodegradáveis como matrizes para aplicações em biocompósitos. Blendas constituídas por amido e o Copolímero de Etileno e Álcool Vinílico (EVOH) representam interessante sistema polimérico, com ampla faixa de aplicações, porém ainda com alto custo. Diferentes tipos de fibras lignocelulósicas têm sido investigadas como reforço ou carga em blendas para formulação de biocompósitos. Vários fatores contribuem para melhorar as propriedades de compósitos, sendo que a interação fibra-matriz representa um componente que afeta fortemente as propriedades mecânicas e,

conseqüentemente, o desempenho final dos materiais.

O objetivo do presente trabalho é avaliar a influência de diferentes tratamentos de fibra de coco imaturo, incluindo a simples lavagem com água, a mercerização com hidróxido de sódio e o branqueamento com peróxido de hidrogênio, nas propriedades térmicas e mecânicas de blendas extrusadas de amido/EVOH, reforçadas com fibras de coco.

### Materiais e métodos

Amido de trigo (12% umidade) foi fornecido pela Midwest Grains, Inc. (Atchinson, KS) e Poly(ethylene-co-vinyl alcohol) copolymer (EVOH) foi obtido da EVAL Company of America (Pasadena, TX), sob o nome comercial EVAL-E105. Fibras de coco imaturo foram cedidas pela Embrapa Agroindústria Tropical (Fortaleza, CE, Brazil).

Inicialmente, todas as fibras (40-mesh) foram lavadas abundantemente em água destilada e secas a

50°C, até peso constante. O processo de mercerização consistiu da imersão das fibras (200 g) em uma solução de hidróxido de sódio 10% p/v (2 L) por 3 h a 70 °C, com agitação frequente seguida de lavagem com água destilada (Corradini et al., 2006). Para o branqueamento, 200 g de fibra de coco foram adicionadas a 2 L de uma solução, contendo 320 mL (30% p/p) de peróxido de hidrogênio e 1 g de hidróxido de sódio, e mantida sob agitação por 1h a 85°C.

A preparação dos compósitos se deu por extrusão da mistura contendo amido (50%; p/p), EVOH (30%; p/p), água (10%, p/p) e glicerol (10%; p/p), como plastificante. O conteúdo das fibras adicionadas foi de 15% do peso total do polímero (amido e EVOH).

Tensão na ruptura, módulo elástico e alongação a quebra foram determinados de acordo com ASTM D3039, em Máquina Universal de Testes Instron 5500R. A morfologia foi caracterizada usando microscopia eletrônica de varredura (MEV) e a estabilidade térmica foi investigada por análise termogravimétrica, realizada sob fluxo de nitrogênio (60 mL/min) e taxa de aquecimento de 10°C/min, sendo a faixa da temperatura empregada de 25°C a 600°C.

## Resultados e discussão

As propriedades mecânicas dos compósitos contendo fibras de coco submetidas a diferentes tratamentos são mostradas na Tabela 1. As propriedades mecânicas dos compósitos foram fortemente influenciadas pela adesão entre a matriz e as fibras. A análise estatística mostrou que o tratamento com NaOH teve o maior efeito sobre a tensão na ruptura (TS) e o módulo de elasticidade (E), produzindo compósitos com as melhores propriedades. A TS de compósitos contendo fibras tratadas com NaOH aumentou cerca de 53% comparada a compósitos elaborados com fibras não tratadas e até 33% em relação à blenda pura (amido/EVOH).

**Tabela 1.** Propriedades mecânicas dos compósitos

Compósito	TS (MPa)	(%)	E (MPa)
Amido/EVOH	10.2 0.5 <sup>a</sup>	67 27 <sup>a</sup>	99 11 <sup>a</sup>
Amido/EVOH/fibra sem tratamento	8.9 0.6 <sup>a</sup>	28 9 <sup>a</sup>	147 20 <sup>a</sup>
Amido/EVOH/fibra lavada	11.2 1.2 <sup>ab</sup>	35 6 <sup>ab</sup>	172 30 <sup>ab</sup>
Amido/EVOH/fibra mercerizada	13.6 0.5 <sup>d</sup>	33 5 <sup>abc</sup>	172 17 <sup>abc</sup>
Amido/EVOH/fibra branqueada	11.7 0.6 <sup>ac</sup>	31 5 <sup>abcd</sup>	157 18 <sup>bc</sup>

TS, tensão na ruptura; %, deformação na ruptura; E, módulo de elasticidade.

Identical letters in the same column do not represent a significant difference at a 5% level in the Student's t-test.

Esta é uma indicação que as condições de mercerização promoveram boa molhabilidade e melhor adesão fibra-matriz, permitindo eficiente transferência de *stress* entre a matriz e as fibras. Além disso, como reportado por Mohanty et al. (2001), o tratamento alcalino reduz o diâmetro da fibra e conseqüentemente aumenta sua razão de

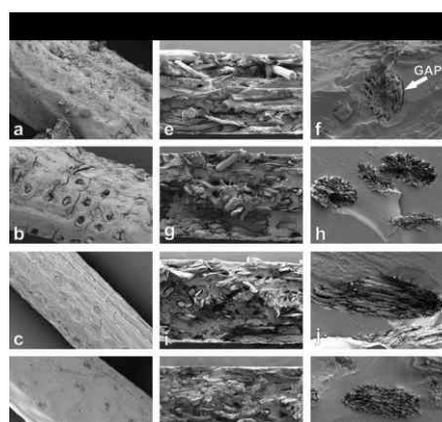
aspecto, melhorando as características mecânicas dos compósitos. Resultados similares com fibras de coco tratadas com solução alcalina e incorporadas a compósitos de amido, gluten e glicerol foram obtidos por Corradini et al. (2006).

A deformação na ruptura ( $\epsilon$ ) dos compósitos não foi afetada significativamente pelos diferentes tratamentos quando comparada com compósitos elaborados com fibras não tratadas. Contudo, a adição de fibras, independentemente de tratadas ou não, resultou em uma diminuição no valor de  $\epsilon$  e comparada às blendas sem fibras. Como mostrado na Tabela 1, a deformação na ruptura das blendas amido/EVOH diminuiu e o Módulo de Elasticidade aumentou consideravelmente em aproximadamente 75% com a incorporação de fibras, devido à natureza rígida das mesmas, reduzindo assim a ductibilidade dos novos materiais obtidos.

Os efeitos dos diferentes tratamentos na superfície da fibra e a adesão entre fibra e matriz foram investigados por MEV (Fig. 1). Observa-se que as superfícies das fibras contém impurezas, graxas e protusões, além de serem extremamente heterogêneas, com algumas porções rugosas dispersas. O papel do tratamento é principalmente remover estas impurezas, melhorando a molhabilidade.

Observa-se que a lavagem foi eficiente na remoção de impurezas; contudo, não foi capaz de remover as protusões como o tratamento alcalino que, adicionalmente, levou também à formação de uma superfície rugosa, o que resultou numa ancoragem mecânica que reduziu a ocorrência de *pullouts* nos compósitos.

Resultados similares foram observados por Choudhury et al., (2007) e Rahman e Khan (2007), que reportaram ainda que o tratamento alcalino resulta em uma maior quantidade de celulose exposta na superfície da fibra, aumentando assim o número de sítios de reação possíveis.



**Fig. 1.** MEV de (a–d) fibra de coco submetida a diferentes tratamentos (a: não tratada; b: lavada; c: mercerizada; d: branqueada) e seus compósitos (e–f: amido/EVOH e fibra não tratada; g–h: amido/EVOH e fibra lavada; i–j: amido/EVOH e fibra mercerizada; k–l: amido/EVOH e fibra branqueada). Barra de escalas: a–d, 50  $\mu$ m; e, g, i e k, 1 mm; f, h, j e l, 100  $\mu$ m.

De um modo geral, os tratamentos aumentaram a estabilidade térmica das fibras, possivelmente em função da remoção de substâncias facilmente hidrolisadas, que se decompõem mais rápido que os macrolementos (celulose, lignina e hemicelulose). As mudanças ocorridas nas fibras devido aos tratamentos produziram efeitos positivos no comportamento de degradação térmica dos compósitos.

---

### **Conclusões**

---

Todos os tratamentos modificaram a superfície e melhoraram a estabilidade térmica de ambos, fibras e compósitos reforçados com fibras de coco imaturo. Os resultados foram corroborados por análises de MEV.

Compósitos contendo fibras de coco imaturo tratadas tiveram melhor TS que aqueles com fibras não tratadas, e valores superiores para TS e E, quando comparados a blendas sem fibras.

Compósitos obtidos com fibras mercerizadas apresentaram considerável aumento na TS (33%) e no módulo de elasticidade (75%) em relação à blenda pura de amido/EVOH (sem fibras).

Os resultados indicaram melhor molhabilidade das fibras de coco tratadas com a matriz e corroboraram o papel das fibras não como carga, mas como agente de reforço.

Este estudo indicou que blendas de amido/EVOH reforçadas com fibras de coco imaturo tratadas têm características superiores às blendas puras. Fibras de coco representam uma fonte adicional de biomassa renovável com propriedades atraentes. Adicionalmente, apresenta baixo custo, é disponível em abundância e ainda permanece pouco explorada. Sua incorporação em biocompósitos representa uma economia substancial e ainda melhora as propriedades dos mesmos.

---

### **Agradecimentos**

---

CNPq, FINEP, EMBRAPA, CAPES

---

### **Referências**

---

- ASHORI, A. **Bioresource Technology**, Essex, v. 99, p. 4661–4667, 2008.
- BILBA, K.; ARSENE, M.-A. OUENSANGA, A. **Bioresource Technology**, Essex, v. 98, n. 1, p. 58–68, 2007.
- CHIELLINI, E.; CINELLI, P.; IMAM, S. H.; MAO, L. **Biomacromolecules**, Washington, v. 2, p. 1029–1037, 2001.
- CHOUDHURY, A.; KUMAR, S.; ADHIKARI, B. **Journal of Applied Polymer Science**, New York, v. 106, p. 775–785, 2007.
- CORRADINI, E.; MORAIS, L. C.; ROSA, M. F.; MAZZETTO, S. E.; MATTOSO, L. H.; AGNELLI, J. A. M. **Macromolecular Symposia**, Heidelberg, v. 245–246, p. 558–564, 2006.

- MOHANTY, A. K.; MISRA, M.; DRZAL, L. T. **Composite Interface**, v. 8, n. 5, p. 313–343, 2001.
- RAHMAN, M. M.; KHAN, M. A. **Composites Science and Technology**, Barking, v. 67, n. 11–12, p. 2369–2376, 2007.
- YANG, H.; KIM, H. J. **Bioresource Technology**, Essex, v. 86, n. 2, p. 117–121, 2003.



---

## FOTO/BIODEGRADAÇÃO DE FILMES DE PCL PARA POTENCIAL UTILIZAÇÃO EM NANOCOMPÓSITOS

---

Rejane Cristina Trombini Pereira<sup>1,2</sup>, José Augusto Marcondes Agnelli<sup>3</sup>, Luiz Henrique Capparelli Mattoso<sup>2</sup>, Sandra Mara Martins Franchetti<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Bioquímica e Microbiologia UNESP R. Claro/SP

<sup>2</sup>Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação Agropecuária, 13560-970, São Carlos/SP

<sup>3</sup>Departamento de Engenharia de Materiais UFSCar São Carlos/SP

\*samaramf@rc.unesp.br

**Projeto Componente: PC 4 Plano de Ação: 01.05.1.01.04.02**

---

### Resumo

Diferentes pré-tratamentos podem ser aplicados à matriz polimérica para facilitar sua degradação, sejam eles: irradiação com luz UV e ação microbiana. Estes tratamentos podem ser empregados isoladamente ou um após o outro, (subsequentemente), para produzir efeitos mais intensos no processo degradativo. Estes filmes de PCL - poli(caprolactona) foram estudados através análises de FTIR, calorimetria diferencial de varredura, microscopia eletrônica de varredura e termogravimetria. Os resultados obtidos mostraram que houve um efeito sinérgico na degradação de PCL, após o fototratamento seguido do biotratamento.

**Palavras-chave:** PCL, fototratamento, biotratamento

---

### Introdução

O PCL é um poliéster linear, hidrofóbico, e parcialmente cristalino que pertence ao grupo dos polímeros sintéticos biodegradáveis e que pode ser lentamente consumido por microrganismos Hung e Edelman citados por Scott (1995). Devido a suas propriedades físicas e a sua versatilidade comercial, o PCL tem se tornado não apenas um substituto para polímeros sintéticos não biodegradáveis, mas também para aplicações específicas em diversas áreas da medicina e da agricultura (DUBOIS et al., 1991; POTTS e JELINEK, 1965). A principal limitação do PCL é sua temperatura de fusão baixa ( $T_m$  65°C), que pode ser superada pela mistura com outros polímeros (KESEL et al., 1997).

Outra solução é o preparo de nanocompósitos de PCL que podem conter, por exemplo, silicatos laminados. Alguns estudos nesta área (USUKI et al., 1993; MESSERSMITH e GIANNELIS, 1993)

evidenciaram a melhora nas propriedades deste material.

O início deste trabalho foi focado apenas no estudo do comportamento de fotodegradação, biodegradação e foto/ biodegradação dos filmes de PCL.

---

### Materiais e métodos

---

Neste trabalho utilizou-se PCL da Solvay (K6800),  $M_w$  85000 g/mol.

O PCL foi processado inicialmente utilizando-se um misturador interno (Reômetro de Torque Haake), 50 rpm, por 5 minutos e com temperatura imposta de 160°C.

Os filmes foram obtidos por fusão do material obtido anteriormente, em prensa hidráulica com aquecimento à temperatura de 180°C, e submetidos à pressão de 44.5 kgf/cm<sup>2</sup>, obtendo-se filmes com espessura de aproximadamente 100  $\mu$ m.

### Fototratamento

Os filmes foram fototratados por irradiação de UV com lâmpada de mercúrio de 400W por um período de 15 horas. Durante a radiação, em um sistema fechado de ventilação e exaustão apropriado, as amostras foram colocadas a uma distância de 30 cm da fonte.

### Tratamento Microbiano em Meio Líquido

O inóculo em suspensão do fungo *Phanerochaete chrysosporium*, foi colocado em meio de cultura líquido Sabouraud-Malte (10g/L peptona, 40g/L glucose e 20g/L malte), previamente esterilizados.

As amostras de filmes poliméricos, em duplicatas, foram adicionadas neste meio de cultura, e mantidas a 28°C, durante 4 meses, em câmara de incubação. Após este tratamento, os filmes foram retirados, lavados rigorosamente com água destilada, secos em papel de filtro e em seguida colocados em dessecador a vácuo, por 48 horas (MARTINS-FRANCHETTI, 1999; CAMPOS et al., 2003).

As análises de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) das amostras foram feitas no espectrofotômetro modelo FTIR 8300, Shimadzu, com resolução 4 cm<sup>-1</sup>.

As medidas de DSC dos filmes poliméricos foram realizadas no equipamento DSC Ta Instrumental QS 100, na faixa de temperatura 25°C a 220°C, com uma taxa de aquecimento 10°C/min.

A microscopia dos filmes foi realizada em um microscópio eletrônico de varredura (MEV), modelo Carl Zeiss DSM 940-A, operando a 5 e 10KV, 200x de aumento (ESALQ-USP-Piracicaba). As amostras foram recortadas e acopladas nos *stubs* e recobertos com ouro, utilizando o metalizador Bal-Tec SCD 050.

As análises termogravimétricas foram realizadas num aparelho de TG Ta Instrumental QS 500, com faixa de temperatura 25°C a 600°C, e taxa de aquecimento foi de 10°C/min.

### Resultados e discussão

Após o fototratamento, a amostra de PCL apresentou-se mais opaca que a amostra original. Após o biotratamento houve um amarelamento da amostra e após o foto/biotratamento houve além do amarelamento e da maior opacidade, uma maior fragilidade. Neste caso, houve, aparentemente, um efeito sinérgico dos dois tratamentos favorecendo a degradação do polímero.

Os filmes foto/biotratados tiveram sua resistência e temperaturas de decomposição diminuídas.

Através do FTIR, verificou-se que o foto, bio e foto/biotratamento induziram à mudanças nos grupos O-C-C (deslocamentos da banda a 1280 cm<sup>-1</sup>) e presenças de novas bandas a: 1163 cm<sup>-1</sup>, atribuída a grupos C-C(=O)-O e a 3437 cm<sup>-1</sup>, atribuídas a alcoóis e ácidos, confirmados pela presença da banda à 669 cm<sup>-1</sup>. Estes resultados concordam com os de degradação de filmes de PCL obtido por *casting* em dicloroetano (CAMPOS, 2004).

### Conclusões

O duplo tratamento (foto e bio) parece ser mais eficiente na degradação de filmes de PCL. Podendo este tipo de tratamento ser estendido à nanocompósitos de PCL.

### Agradecimentos

FAPESP, EMBRAPA, UNESP, FINEP/MCT, CNPq.

### Referências

- CAMPOS, A. **Blendas de PVC/PCL foto/termo e biotratadas com fungos de solo (*Phanerochaete chrysosporium* e *Aspergillus fumigates*)**. 2004. Dissertação (Mestrado) - Depto. Bioq. Microb., Unesp, Rio Claro.
- CAMPOS, A.; MARTINS-FRANCHETTI, S. M.; AGNELLI, J. A. M. Biotransformation of Poly( $\epsilon$ -caprolactone) and poly(vinyl chloride) blend. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 34, Supl. 1, p. 111-113, 2003.
- MARTINS-FRANCHETTI, S. M.; SILVA, R. R.; TROMBINI, R. C. Biotransformation of PVC films by liquid waste from landfill. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 66, p. 133-136, 1999.
- HUNG, S. J.; EDELMAN, P. G. In: SCOTT, G.; GILEAD, D. (Ed.). **Degradable polymers: principles and applications**. London: Chapman & Hall, 1995. cap. 2.
- DUBOIS, P.; JACOBS, C.; JEROME, R.; TEYSSIE P. **Macromolecules**, Easton, v. 24, p. 2266, 1997.
- POTTS, J. E.; JELINEK, H. H. G. (Ed.). **Aspect degradation and stabilization of polymers**. Amsterdam: [s. n.], 1965.
- KESEL, C. D.; WAUVEN, C. V.; DAVID, C. **Polymer Degradation and Stability**, Essex, v. 55, p. 107, 1997.
- USUKI, A.; KOJIMA, Y.; KAWASUMI, M.; OKADA, A. **Journal of Material Research**, [S. l.], v. 8, p. 1179, 1993.
- MESSERSMITH, P. B.; GIANNELIS, E. P. **Chemistry Materials**, [S. l.], v. 5, p. 1064, 1993.



---

## DESENVOLVIMENTO DE NANOCOMPÓSITOS DE POLIETILENO E POLIPROPILENO COM QUITOSANA

---

Renata Cristina Gandolfi<sup>1\*</sup>, Júlio Ximenes<sup>1</sup>, Sérgio Campana Filho<sup>2</sup>, Luiz Henrique C. Mattoso<sup>3</sup>, Mariselma Ferreira<sup>1</sup>

\*

<sup>1</sup>CCNH, Universidade Federal do ABC, 09210-971, Santo André/SP renata.gandolfi@ufabc.edu.br <sup>2</sup>IQSC, Universidade de São Paulo, 13560-970, São Carlos/SP <sup>3</sup>Embrapa Instrumentação Agropecuária, 13560-970, São Carlos/SP

**Projeto Componente:** PC 4

**Plano de Ação:** 01.05.1.01.04.02

---

### Resumo

O estudo para o desenvolvimento de nanocompósitos é de suma importância devido às propriedades superiores, a multifuncionalidade, e a combinação de propriedades únicas, inatingíveis com materiais tradicionais, além da promissora viabilidade da utilização de quitosana na obtenção de nanocompósitos de polipropileno e polietileno, objetivando-se a preparação de filmes para embalagens de alimentos com propriedade antibacteriana e barreira ao O<sub>2</sub> e vapor d'água. As amostras de quitosana comercial (Polymar ®) foram caracterizadas de acordo com as suas propriedades químicas, de degradação térmica, e atividade biológica e posteriormente serão incorporadas no PP e no PE por extrusão, seguindo a Patente Americana 2008/0097003 A1, 24/04/2008.

**Palavras-chave:** nanocompósitos, quitosana, filmes, antibactericida.

---

### Introdução

---

Uma das maiores preocupações da indústria de alimentos é estender o tempo de armazenamento dos produtos. Para isso foram sintetizados diversos conservantes artificiais que são acrescentados aos alimentos de forma direta ou indireta, para melhorar o tempo de armazenamento dos mesmos. No entanto, tais aditivos, podem ser prejudiciais à saúde humana, bem como dar um peculiar sabor e aroma aos alimentos. A fim de superar estes problemas, é intensa a investigação para o desenvolvimento de filmes para embalagens com atividade antibacteriana. Atualmente, o desenvolvimento de filmes para embalagem de alimentos apresenta problemas como a afinidade com os materiais convencionais, transparência, e a forma de preparo do filme, uma vez que a solubilidade da quitosana é muito afetada pelo pH, solvente, temperatura e outros fatores (HAN, 2008). De modo geral, os

filmes poliméricos usados em embalagens devem manter a integridade do produto durante o manuseio, embalagem e transporte, sendo necessário que apresentem resistência mecânica, estabilidade a mudanças de temperatura, resistência em diferentes condições de ambiente e em situações com aplicação de força física, além da capacidade de deformação (DEBEAUFORT et al., 1998; GUILBERT, 1986). A quitosana, poli- (1,4)-2-amino-2-deoxi-D-glicose, um polímero natural facilmente derivado da quitina, principalmente pela N-desacetilação com álcalis, tem provado ser não tóxica, biodegradável, biofuncional, biocompatível e possuir características antimicrobianas. As coberturas de quitosana possuem boas propriedades mecânicas, entre as quais se destacam elasticidade, flexibilidade e difícil rompimento (BUTLER et al., 1996). Uma das razões da característica antimicrobiana da quitosana é a presença de carga positiva do grupo amino, o qual interage com as membranas celulares

carregadas negativamente, alterando a permeabilidade da parede celular, de modo que o citoplasma escorrega para fora da célula, levando à extinção da mesma (TRIPAYHI e DUTTA, 2008). A presença de O<sub>2</sub> em um alimento acondicionado é um dos fatores-chave que limitam a vida útil do produto. A oxidação pode provocar alterações no sabor, cor e aroma dos produtos alimentícios, assim como destrói nutrientes e facilita o crescimento de bactérias aeróbicas, conseqüentemente, a remoção de O<sub>2</sub> nas embalagens é benéfica para o aumento da vida útil dos produtos acondicionados. Uma das propriedades interessantes do polímero quitosana é a capacidade de formar películas. Estudos comprovam que as películas de quitosana são excelentes barreiras ao O<sub>2</sub> quando comparadas com polímeros comerciais (AGULLO et al., 2004). Existem algumas limitações para a aplicação dos filmes de quitosana em embalagens, devido a sua alta sensibilidade a umidade. Uma estratégia para superar esta desvantagem é associar a quitosana com uma mistura de polímero resistente, como é o caso do polietileno (PE) e do polipropileno (PP), que quando submetidos a um tratamento apropriado de superfície, podem apresentar propriedades antimicrobianas (ELSABEE et al., 2008).

---

## **Materiais e métodos**

---

Dois diferentes tipos de quitosanas comerciais (Polymar<sup>®</sup>), denominados quitosana de alta densidade (AD C) e quitosana de baixa densidade (BD C), foram testadas quanto a sua solubilidade, utilizando 2 g de quitosana em 500 mL de solução de ácido acético 1% sob agitação magnética até completa solubilização. Para purificação destas quitosanas, a solução foi posteriormente filtrada a vácuo, e o filtrado foi precipitado com NaOH 2M até pH 12 e filtrado a vácuo novamente. O precipitado foi lavado com água destilada até pH 7, e posteriormente lavado com metanol e seco em estufa (50 °C) por 24 horas, obtendo-se as amostras denominadas de quitosana de alta densidade purificada (AD P) e quitosana de baixa densidade purificada (BD P). As amostras de quitosana comerciais e purificadas, foram incineradas em mufla à temperatura de 600 °C por 4 horas, utilizando cadinhos de porcelana previamente calcinados e tarados. As análises termogravimétricas das amostras de quitosanas foram efetuadas no Thermal Analyst 2000 (TA Instruments) sob taxa de aquecimento de 10°C/min até 700 °C e atmosfera dinâmica de N<sub>2</sub> com vazão de 35 mL/min. As análises de DSC foram realizadas no DSC 2920 Modulated DSC (TA Instruments) sob taxa de aquecimento de

10°C/min até 400 °C e atmosfera dinâmica de N<sub>2</sub> com vazão de 35 mL/min. As amostras também foram analisadas através de medidas de difração de raios-X no Rota Flex RU200B (Rigaku), utilizando tubo de cobre de comprimento de onda de 1,54 Å, com tensão de 50 KV, corrente de 100 mA, espectro de 3° até 30°, com tempo de 2°/min e passos de 0,02°.

Foram realizadas medidas de FTIR no equipamento Nexus 470 FTIR ESP (Thermo Nicolet com o acessório Smart Multi-Bounce HATR ZnSe45°. A determinação da viscosidade intrínseca [η] da quitosana foi realizada dissolvendo-se aproximadamente 40 mg de quitosana em 25 mL de ácido acético 0,6 mol/L e 25mL de acetato de sódio 0,4 mol/L sob agitação magnética por 24h a temperatura ambiente. A solução foi filtrada sob pressão positiva em membrana (Millipore  $\text{\AA}$ ) de 0,22 μm. Uma alíquota de 15 mL de solução foi transferida para um capilar de vidro (φ = 0,45 mm) termostatizado em 25 ° ± 0,1 °C para diluição seriada. Os tempos de escoamento foram determinados em viscosímetro AVS-350 acoplado ao sistema diluidor automático AVS 20, ambos da Schott-Geräte. As amostras de quitosana foram analisadas via titulação potenciométrica para determinação do grau médio de desacetilação (%GD). Aproximadamente 100 mg de quitosana foi mantida sob agitação magnética por 24h com 25 mL de HCl 0,05 mol/L. A solução foi transferida para um balão volumétrico de 110 mL e uma alíquota de 50 mL foi transferida para o titulador automático Titronic Universal (Schott-Geräte), acoplado a um condutivímetro. A alíquota foi titulada com solução de NaOH 0,0928 mol/L, e o ponto de neutralização foi determinado potenciometricamente.

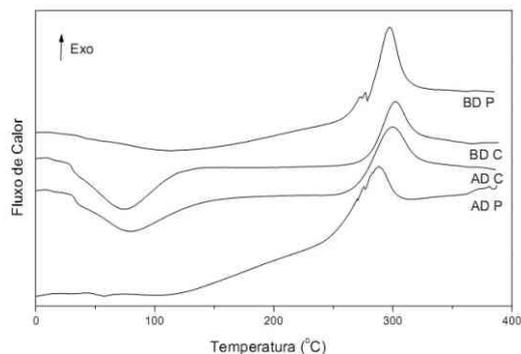
---

## **Resultados e discussão**

---

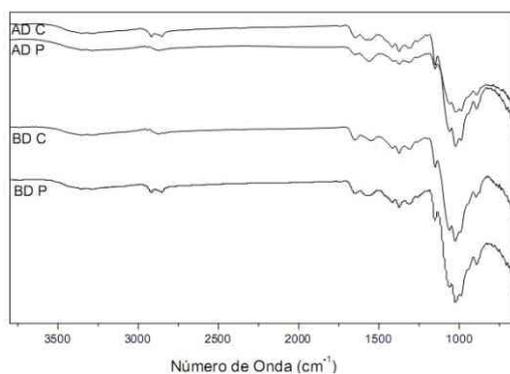
Os testes de solubilidade mostraram que ambas as quitosanas são completamente solúveis em solução aquosa de ácido acético, resultando em uma solução homogênea e transparente. O teste de cinzas mostrou que as quitosanas comerciais e as purificadas contêm um baixo teor de cinzas (aproximadamente 2%), o qual será posteriormente analisado por absorção atômica para determinar a sua composição. As análises termogravimétricas das quitosanas comerciais apresentaram dois picos, o primeiro correspondente ao processo de desidratação da amostra (aproximadamente 80°C), e o segundo pico corresponde ao processo de decomposição (aproximadamente 300°C), enquanto as amostras purificadas apresentaram apenas o pico de decomposição (aproximadamente 300°C). As análises de DSC com fluxo de N<sub>2</sub> apresentam resultados similares aos observados nas análises

termogravimétricas. Na Figura 1 pode-se observar um pico endotérmico correspondente ao processo de desidratação e um pico exotérmico, correspondente ao processo de decomposição comerciais e purificadas.



**Fig. 1.** Curvas DSC das amostras de quitosanas comerciais e purificadas.

As análises de difração de raio X mostram que as amostras de quitosanas purificadas são mais cristalinas que as comerciais. Em ambos os espectros de FTIR (Fig. 2) pode-se observar a banda axial de estiramento do grupo OH do anel de piranose entre 3440 a 3480  $\text{cm}^{-1}$ ; a deformação axial de C=O de amida I (entre 1660 e 1670  $\text{cm}^{-1}$ ); a deformação angular de N-H (entre 1580 e 1590  $\text{cm}^{-1}$ ); a deformação angular simétrica de  $\text{CH}_3$  em 1380  $\text{cm}^{-1}$ ; a deformação axial de -CN de amida por volta de 1425  $\text{cm}^{-1}$ ; a deformação axial de -CN de grupos amino entre 1300 e 1380  $\text{cm}^{-1}$ , e as bandas de estruturas polissacarídicas na região de 890-1150  $\text{cm}^{-1}$ .



**Fig. 2.** Espectros de FTIR das amostras de quitosanas comerciais e purificadas. A partir dos resultados de viscosidade intrínseca obtidos através das análises de viscosimetria, foi possível obter os valores de massa molecular das amostras de quitosanas comerciais e purificadas

**Tabela 1.** viscosidade intrínseca, massa molecular e grau de desacetilação das quitosanas comerciais e purificadas.

Amostra	$\eta(\text{mL/mg})$	MM (g/mol)	%GD
AD P	0,3017	54.350	95
AD C	0,3133	57.120	96
BD P	0,2524	43.000	89,5
BD C	0,2554	43.650	87,5

### Conclusões

As quitosanas comerciais caracterizadas apresentaram resultados promissores para o estudo da influencia dos diferentes tipos de quitosanas nas propriedades bactericidas e mecânicas dos filmes de polipropileno e polietileno para embalagem de alimentos. O peso molecular das quitosanas é muito próximo, porém há variação no grau de desacetilação das mesmas, o que sugere uma ligeira variação no grau de solubilidade e atividade antibactericida das mesmas.

### Agradecimentos

FINEP/MCT, EMBRAPA, CNPq e Quattor Petroquímica

### Referências

- AGULLÓ, E.; RODRÍGUEZ M. S.; MATO, R.; TAPIA, C.; VALENZUELA, F.; PENICHE, C.; CABALLERO, A. H.; ROMÁN, J. S.; ARGÜELLES, W.; GOYCOOLEA, F.; HIGUERA, I.; NAKAMATSU, J.; MAYORGA, A.; ABRAM, A. P. **Quitina y Quitosano: obtención, caracterización y aplicaciones.** Editora: Ana Pastor de Abram Pontificia Universidad Católica del Perú/Fondo Editorial, 2004.
- BUTLER, B. L. ; VERGANO, P. J. ; TESTIN, R. F.; BUNN, J. M.; WILES, J. L. Mechanical and barrier properties of edible chitosan films as affected by composition and storage. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 61, n. 5, p. 953-955, 1996.
- DEBEAUFORT, F.; QUEZADA-GALLO, J. VOILLEY, A. Edible films and coating: tomorrow's packagings: a review. **Critical reviews in Food Science and nutrition**, Boca Raton, v. 38, n. 4, p. 299-313, 1998.
- ELSABEE, M. Z.; ABDU, E. S.; NAGY, K. S. A.; EWEIS, E. Surface modications of polypropylene films by chitosan and chitosan/pectin multilayer. **Carbohydrate Polymers**, v. 71, p. 187-195, 2008.
- GUILBERT, S. Technology and application of edible protective films. In: MATHLOUTHI, M. **Food Packaging and Preservation: Theory and practice.** London: Elsevier H. Science Publishers, 1986. p. 371-395.
- HAN, J. H. **Process for preparation of food packaging film containing chitosan.** US 2008/0097003 A1, 24 abril 2008.
- TRIPATHI, S.; MEHROTRA, G. K.; DUTTA, P. K. Chitosan based antimicrobial films for food applications, **e-Polymers**, [S. l.], n. 93, 2008.



---

## ENSAIOS UTILIZADOS PARA AVALIAÇÃO DE CITO E GENOTOXICIDADE DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS

---

Renata de Lima<sup>1</sup> e Leonardo Fernandes Fraceto<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Biotecnologia, Universidade de Sorocaba. E-mail: renata.lima@prof.uniso.br;

<sup>2</sup>Departamento de Engenharia Ambiental, Unesp/Campus Sorocaba. E-mail: leonardo@sorocaba.unesp.br

**Projeto Componente:** PC4

**Plano de Ação:** 01.05.01.001.04.02

---

### Resumo

No presente trabalho são descritos alguns ensaios de cito e genotoxicidade utilizados para avaliar o efeito mutagênico de nanopartículas poliméricas. Para isso no trabalho são propostas utilização de culturas células de fibroblastos (3T3), de linfócitos humanos (citogenética, micronúcleo e ensaio cometa) e ensaios com células meristemáticas de raiz de *Allium cepa*, a fim de avaliar a exposição destas soluções contendo nanopartículas em diferentes concentrações. Os testes contribuem de forma positiva para avaliação da segurança de nanopartículas fornecendo informações mais seguras sobre a utilização futura de nanopartículas poliméricas.

**Palavras-chave:** citotoxicidade, genotoxicidade, nanotoxicologia, nanopartículas poliméricas.

---

### Introdução

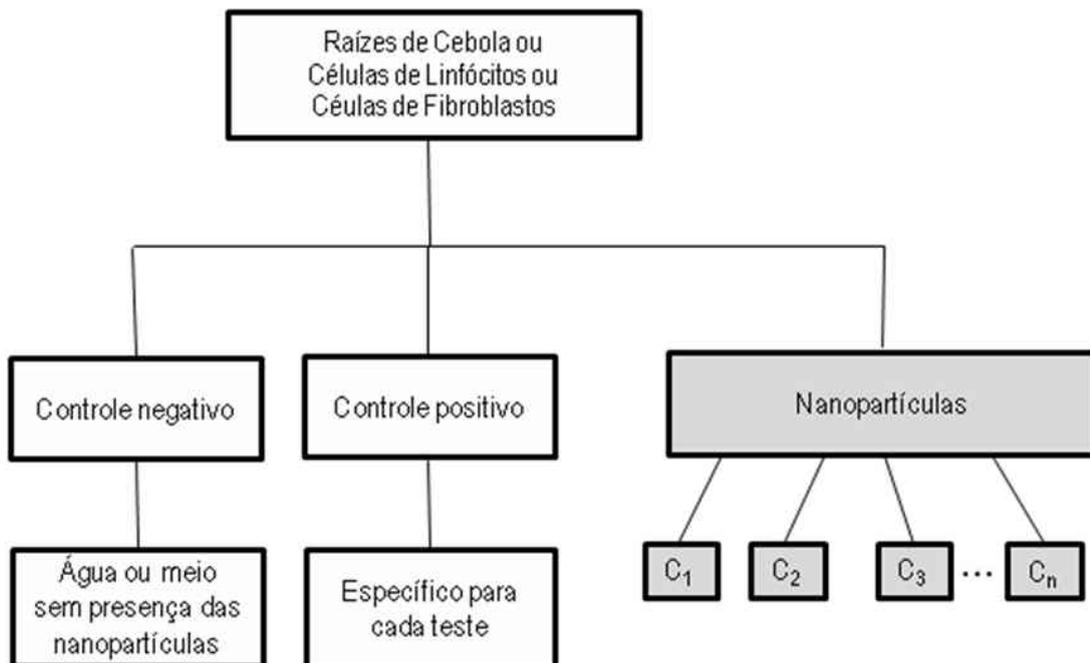
Atualmente a nanotecnologia tem desenvolvido muitos avanços em diferentes áreas do conhecimento científico e tecnológico, como por exemplo, nas áreas de biologia, química, física e engenharias, trazendo desta forma grande avanços na economia, sociedade e ambiente (SUH *et al.*, 2009). Neste sentido, inúmeros materiais nanométricos têm sido desenvolvidos (preparados e caracterizados) e já comercializados, dentre eles se destacam produtos eletrônicos, óticos, têxteis, como dispositivos médicos, cosméticos, células combustíveis, biosensores e agentes de biorremediação entre outros (ROCO, 2003; KARNIK *et al.*, 2005). No entanto, a avaliação do impacto destes nanoprodutos por agências regulatórias ainda mostra-se limitado (USEPA, 2007), porém muitos centros e pesquisa no mundo já iniciaram programas para avaliar o efeito destes materiais ao ambiente e sistemas vivos (SUH *et al.*, 2009). Trabalhos na literatura descrevem diferentes ensaios para observar a toxicidade destes sistemas

nanoestruturados, dentre eles destacam-se os que utilizam análises de viabilidade celular baseados na redução de sais de tetrazolium (MOSMANN, 1983), os ensaios de genotoxicidade (WANG *et al.*, 2007). Outros trabalhos também utilizam plantas nos ensaios de genotoxicidade, como exemplo o ensaio de aberração cromossômica com *Allium cepa* (KUMARI *et al.*, 2009; CABERA e RODRIGUEZ, 1999).

O objetivo do presente trabalho foi apresentar alguns ensaios de cito e genotoxicidade das nanopartículas utilizando ensaios com culturas de fibroblastos de camundongo, linfócitos humanos e também ensaio de aberração cromossômica *Allium cepa*, na tentativa de se obter maiores informações referentes ao impacto das nanopartículas poliméricas.

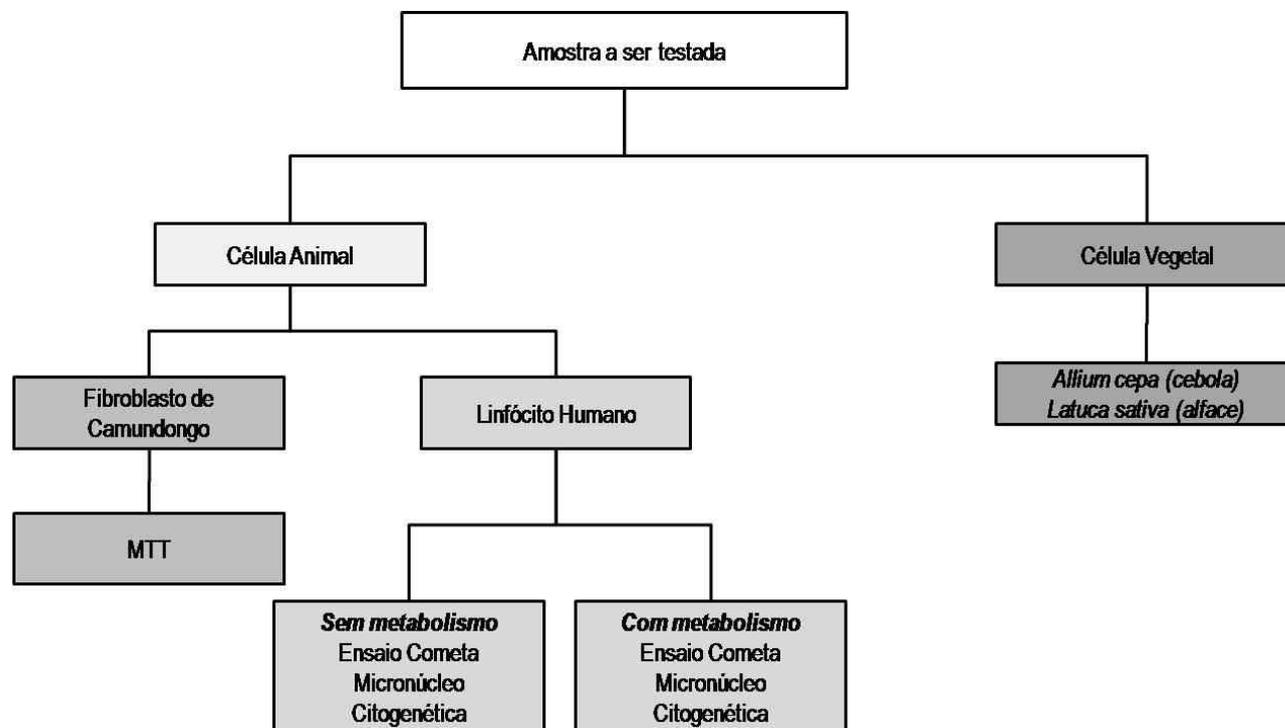
### Materiais e métodos

A cito e genotoxicidade das nanopartículas são avaliadas utilizando o delineamento experimental apresentado na Figura 1.



**Fig. 1.** Fluxograma utilizado para delineamento experimental dos ensaios de cito e genotoxicidade das nanopartículas poliméricas.

Cada amostra a ser testada é avaliada a partir de uma série de ensaios utilizando diferentes tipos celulares (animal e vegetal), conforme descrito na Figura 2.



**Fig 2.** Fluxograma utilizado para delineamento dos testes que são realizados com as nanopartículas poliméricas

## Resultados e discussão

Os testes realizados trazem informações referentes à viabilidade celular e alterações genéticas possíveis, isto ocorre porque devido a uma alteração química do microambiente.

A viabilidade celular informa quanto à toxicidade da partícula e a decisão celular de continuar sua sobrevivência ou entrar em apoptose (morte celular).

As alterações genéticas podem induzir a morte celular, porém muitas vezes o dano genético é passado para as células filhas o que pode estar relacionada ao câncer e outras doenças crônicas (Fig. 3).

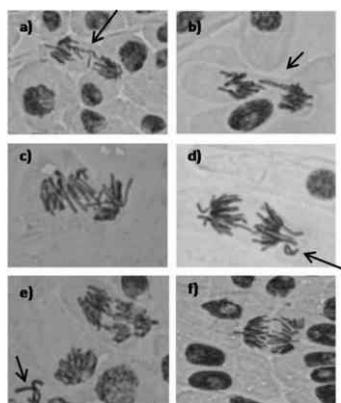
Uma vez que danos genéticos têm um papel importante na qualidade de vida do indivíduo, consequentemente a avaliação de danos pode trazer informações valiosas.

Cada um dos testes propostos traz diferentes informações quanto ao comportamento genético, como alterações na divisão celular que podem levar a alterações no número cromossômico, quebras cromossômicas que levam a ativação e desativação de genes aleatórios ou específicos e atividade apoptótica.



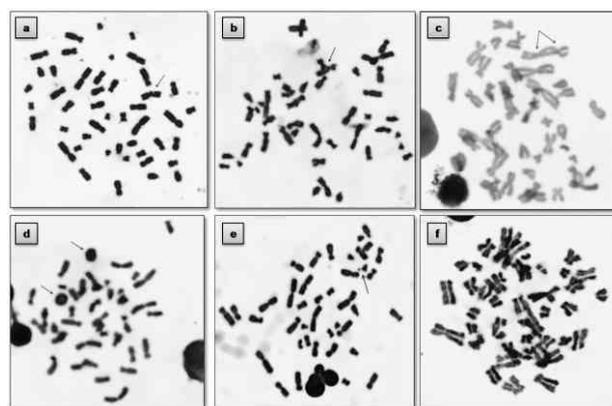
**Fig. 3.** Esquema das possíveis conseqüências dos danos genéticos no organismo.

As Figuras 4 a 7 apresentam algumas alterações típicas que podem ser encontradas em ensaios de genotoxicidade.

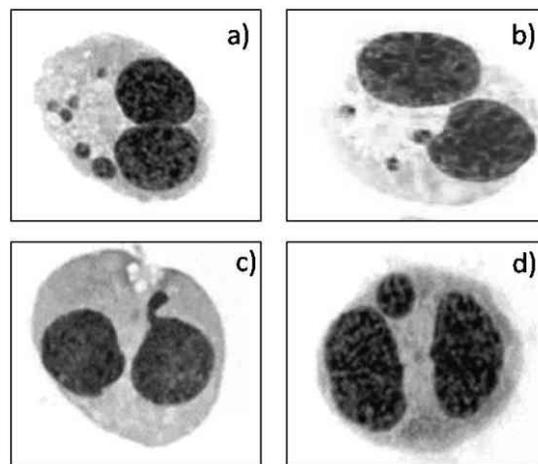


**Fig. 4.** Principais alterações encontradas na anáfase das células de raiz de cebola expostas a tratamento.

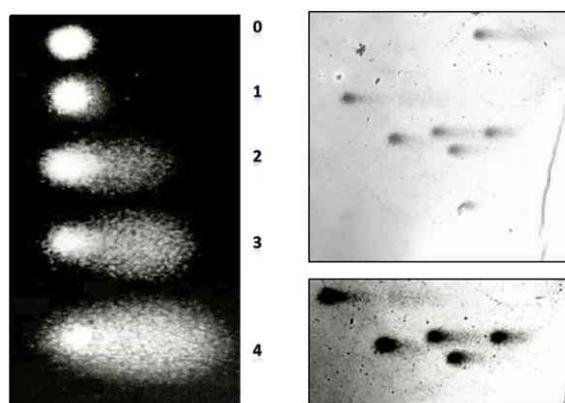
Figura a-f) as setas indicam pontes anafásicas e fragmentos cromossômicos.



**Fig. 5.** As setas indicam: a) quebra cromossômica. b) cromossomo trirradial. c) cromossomo diacêntrico. d) cromossomo circular (em anel). e) presença de fragmento. f) endoduplicação do conjunto cromossômico.



**Fig. 6.** As figuras a-d mostram células binucleadas com presença de micronúcleos e outras alterações. Em a) e b) micronúcleos verdadeiros. Em c) e d) estruturas que não são consideradas micronúcleos, por estarem fora do padrão estabelecido.



**Fig. 7.** Figura mostra a esquerda análise de cometa por fluorescência e a classificação utilizada para a análise. A direita análise cometa com coloração em prata.

---

## Conclusões

---

Os ensaios de cito e genotoxicidade propostos são úteis para a avaliação da toxicidade de nanopartículas poliméricas, porém cabe ressaltar que este estudo é restrito a alguns ensaios e tipo celulares. Outros ensaios, como por exemplo, a análise de expressão gênica, deve ser realizado para que se verifique possíveis alterações e danos que as nanopartículas poliméricas possam causar aos seres vivos e ao ambiente. As informações geradas serão de extrema importância para se avaliar a segurança destas nanopartículas.

---

## Agradecimentos

---

FAPESP, CNPq e Fundunesp.

---

## Referências

---

- CABRERA G. L.; RODRIGUEZ, D. M. G. **Mutat. Res.**, [Amsterdam], v. 426, p. 211, 1999.
- KARNIK, B. S.; DAVIES, S. H.; BAUMANN, M. J.; MASTEN, S. J. **Environ. Sci. Technol.**, [Easton], v. 39, p. 7656, 2005.
- KUMARI, M.; MUKHERJEE, A.; HANDRASEKARAN, N. **Sci. Total Environ.**, Amsterdam, 2009. doi:10.1016/j.scitotenv.2009.06.024.
- MOSMANN, T. J. **Immunol. Methods**, Amsterdam, v. 65, p. 55, 1983.
- PAPAGEORGIOU, I.; BROWN, C.; SCHINS, R.; SINGH, S.; NEWSON, R.; DAVIS, S.; FISHER, J.; INGHAM, E.; CAS, C. P. **Biomaterials**, Surrey, v. 28, p. 2946, 2007.
- PAPIS, E.; GORNATI, R.; PRATI, M.; PONTI, J.; SABBIONI, E.; BERNARDINI, G. **Toxicology Letters**, Amsterdam, v. 170, p. 185, 2007.
- ROCO, M. C. **Curr. Opin. Biotechnol.**, London, v. 14, n. 3, p. 337-346, 2003.
- SUH, W. H.; SUSLICK, K. S.; STUCKY, G. D.; SUH, Y. H. **Prog. Neurobiol.**, Oxford, v. 87, n. 3, p. 133-170, 2009.
- USEPA **Nanotechnology White paper**, February 15, 2007. Science Policy Council. Washington, DC: USEPA, 2007.
- WANG, J. J.; SANDERSON, B. J. S.; WANG, H.; **Mutat. Res.**, [Amsterdam], v. 628, p. 99, 2007.



---

## NANOFIBRAS DE PVA/TiO<sub>2</sub> PREPARADAS VIA ELETROFIAÇÃO

---

Rodrigo G. F. Costa<sup>1,2</sup>, Caue Ribeiro<sup>1\*</sup>, Luiz H. C. Mattoso<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos-SP, Brasil

<sup>2</sup>Laboratório de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio, Embrapa Instrumentação Agropecuária, Rua XV de Novembro, 1452, São Carlos-SP, 13560-970, Brasil

\*caue@cnpdia.embrapa.br

Projeto Componente: PC4

Plano de Ação: 01.05.1.01.04.04

---

### Resumo

Foram preparadas nanofibras de PVA/TiO<sub>2</sub> anatase utilizando o processo de eletrofiação. Estas nanofibras foram caracterizadas através das técnicas de microscopia eletrônica de varredura (MEV), difração de raios-x, espectroscopia de energia dispersiva (EDS) e espectroscopia de reflectância difusa no UV-vis. Os valores dos diâmetros médio das nanofibras variaram entre 350 e 150 nm, dependendo da quantidade de TiO<sub>2</sub> presente na fibra. O carregamento com TiO<sub>2</sub> mudou a absorção da luz na região do UV.

**Palavras-chave:** eletrofiação, PVA, TiO<sub>2</sub> anatase, nanopartículas, nanofibras, nanocompósitos.

---

### Introdução

---

Na última década e, principalmente, nos últimos anos o processo de eletrofiação tem sido muito utilizado tanto nas universidades quanto nas indústrias para se preparar nanofibras (GREINER e WENDORFF, 2007). Com esta técnica é possível obter nanofibras com alta razão área superficial/volume (LI e XIA, 2004). Dentre os vários polímeros pesquisados na engenharia de materiais, o poli(álcool vinílico)(PVA) é um dos mais usados para se preparar nanofibras, devido a sua biodegradabilidade, hidrofiliabilidade, estabilidade térmica e boas propriedades físicas (HE e GONG, 2003). Entretanto, a incorporação de nanopartículas ao PVA, como metais e óxidos, pode fazer com que estes materiais possuam novas propriedades, como por exemplo, catalíticas e óticas. Devido às boas propriedades do dióxido de titânio, tais como atividade fotocatalítica, fotoestabilidade e não-toxicidade, este material tem sido usado como carga nos nanocompósitos. Porém, poucos são os trabalhos nos quais o dióxido de titânio foi usado como carga nas nanofibras de PVA (WU et al., 2008).

Neste trabalho, nós desenvolvemos uma metodologia para se preparar nanofibras de PVA/TiO<sub>2</sub> e investigamos suas propriedades.

### Materiais e métodos

---

As soluções nanocompósitas foram preparadas em duas etapas. Na primeira etapa, o PVA foi solubilizado em água com agitação magnética e aquecimento por cerca de 2h a 80°C. Em seguida, o dióxido de titânio anatase foi disperso em água utilizando um ultra-som. Na segunda etapa, as duas soluções foram misturadas e agitadas magneticamente. Assim, foram obtidas soluções nanocompósitas com a porcentagem de TiO<sub>2</sub> variando entre 5 e 30% (massa de TiO<sub>2</sub>/massa de PVA). Estas soluções foram colocadas numa seringa cuja ponta da agulha foi conectada a uma fonte de alta tensão. Um mandril de alumínio aterrado foi usado como coletor. A velocidade do coletor foi de 30 rpm e a velocidade de injeção da solução foi de 0,7 ml/h. Estas soluções foram eletrofiadas na temperatura de 25°C. Os parâmetros do processo e da solução estão apresentados na Tabela 1.

**Tabela 1.** Parâmetros do processo e da solução.

% TiO <sub>2</sub>	Campo elétrico aplicado (KV/cm)	Condutividade elétrica da solução (mS/cm)	Viscosidade da solução (Pa/s)
0	0,80	1,522	1,310
5	0,80	1,610	0,655
30	1,75	1,640	0,188

As mantas eletrofiadas foram secas na estufa por 8h na temperatura de 60°C para posteriormente serem caracterizadas.

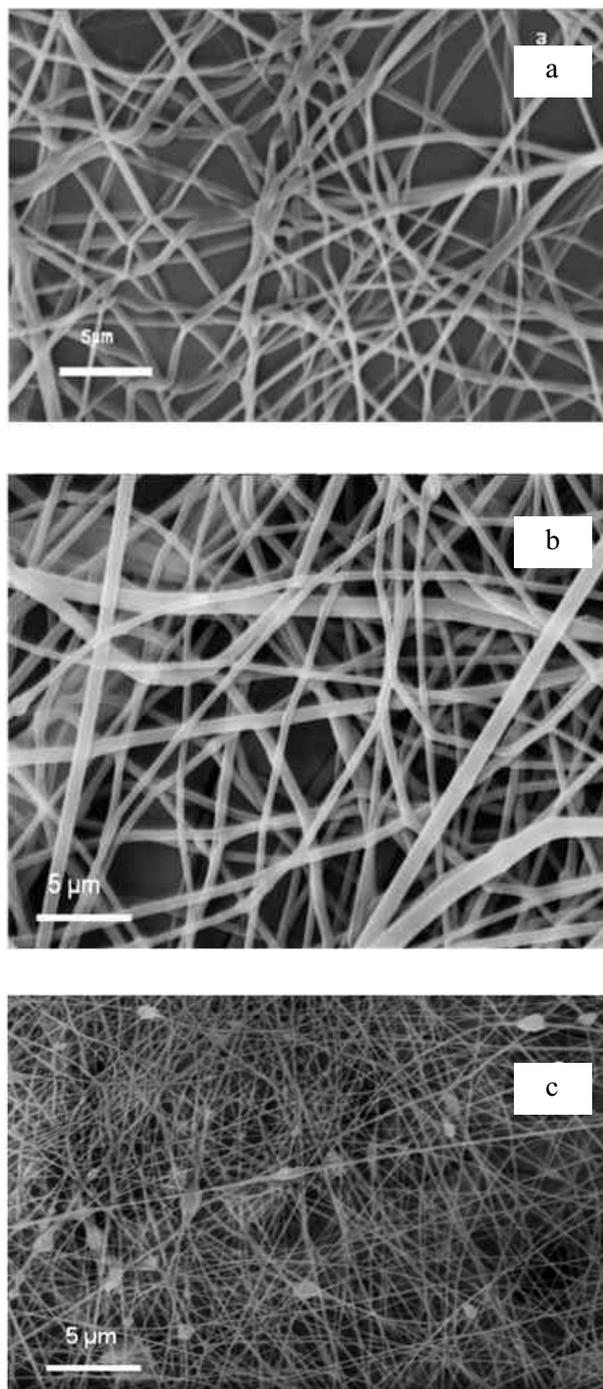
As nanofibras foram caracterizadas quanto à morfologia utilizando um Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) (Leo 440). Também, foi feito o mapa de EDS e o Espectro de EDS. Os difratogramas de raios-x das amostras foram obtidos utilizando um difratômetro Rigaku Max 2500 PC, com o ângulo de incidência variando de 5° a 70° ( $2\theta$ ). Os espectros de reflectância difusa no UV-vis foram obtidos com um espectrofotômetro da marca Varian Cary 5G. Estes espectros foram plotados utilizando a função de Kubelka-Munk (k/S) em função do número de onda (GONÇALVES e PETTER, 2007).

## Resultados e discussão

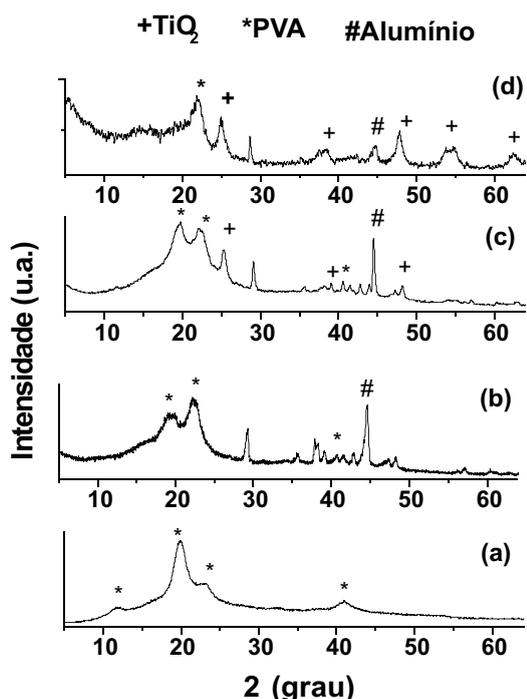
A fim de observar as morfologias das nanofibras e a dispersão das nanopartículas de TiO<sub>2</sub> no PVA, foram feitas as análises por MEV (Fig. 1). As micrografias foram obtidas para as fibras de PVA, PVA/TiO<sub>2</sub>(5%) e PVA/TiO<sub>2</sub>(30%). Nota-se, nas três micrografias que as morfologias das amostras são uniformes e parecidas. Entretanto, observa-se um maior número de *beads* para a fibra com maior carregamento de TiO<sub>2</sub>(30%). Não foi possível determinar o comprimento das fibras, mas aparentemente foi da ordem de micrometros. A análise estatística mostrou que o diâmetro médio das fibras de PVA e PVA/TiO<sub>2</sub>(5%) variou de 200 a 600 nm, enquanto que para a nanofibra com maior carregamento de óxido de titânio (30%), o diâmetro variou de 70 a 230 nm. Neste caso, os dois parâmetros que podem influenciar no diâmetro médio das fibras são o campo elétrico aplicado e a viscosidade das soluções (Tabela 1).

Com o objetivo de verificar os efeitos do processo de eletrofiação e da adição das nanopartículas na cristalização do PVA, foram feitos os difratogramas de raios-x do pó de PVA e das três nanofibras (Fig. 2). Ao comparar os difratogramas do pó de PVA(a) e da nanofibra de PVA(b), observa-se uma inversão na intensidade dos picos em  $2\theta = 19.9$  and  $23.2^\circ$ , o que indica que houve um processo de texturização nas fibras (ZONG et al., 2002). Também, nota-se a presença de outros picos na fibra de PVA puro, indicando que houve um aumento da cristalinidade devido à eletrofiação. Para a nanofibra com menor porcentagem de TiO<sub>2</sub>(c), todos os picos

do PVA eletrofiado estão presentes, assim como, o principal pico da fase anatase ( $2\theta = 25^\circ$ ). Porém, com o aumento do carregamento de TiO<sub>2</sub>(d) observa-se apenas dois picos do PVA eletrofiado em  $2\theta = 21,8$  e  $28,7$  e mais quatro da fase anatase ( $2\theta = 39,0; 48,2; 54,7$  e  $62,9^\circ$ ). A presença do alumínio é devido ao uso da folha de alumínio como suporte para as nanofibras.

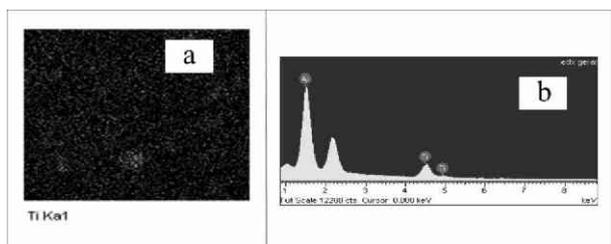


**Fig. 1.** (a) MEV da fibra de PVA; (b) fibra de PVA/TiO<sub>2</sub> (5,0 % m/m) e (c) fibra de PVA/TiO<sub>2</sub> (30 % m/m).



**Fig. 2.** Difratoograma de raios X do (a) pó de PVA, (b) fibra de PVA, (c) fibra de PVA/TiO<sub>2</sub> (5,0 % m/m) e (d) fibra de PVA/TiO<sub>2</sub> (30 % m/m).

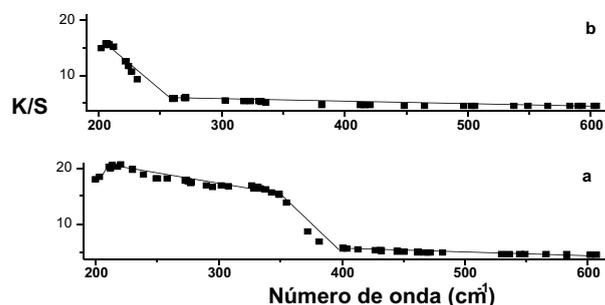
O mapeamento por EDS e o espectro de EDS da amostra com 5% de TiO<sub>2</sub> estão apresentados na Figura 3. O mapa de EDS de uma região selecionada mostra que a distribuição do elemento Ti é uniforme, indicando que as fibras são homogêneas, sem segregação de fases. O espectro de EDS confirma a presença do Ti na fibra.



**Fig. 3.** (a) Mapeamento por EDS de Ti da fibra de PVA/TiO<sub>2</sub>, (b) Espectro de EDS da fibra de PVA/TiO<sub>2</sub> (5,0% m/m).

Com o objetivo de avaliar as propriedades funcionais dos nanocompósitos, foram feitos os espectros de reflectância difusa no UV-Vis (Fig. 4). Nota-se nesse espectro que a fibra de PVA (b) é muito transparente na região do UV-Vis. Entretanto, na região da luz visível (> 400 nm), o espectro de reflectância difusa da fibra de PVA/TiO<sub>2</sub> (a) e da fibra de PVA (b) apresentam aproximadamente a mesma intensidade (k/S = 4,5). Observa-se também, que a fibra de PVA/TiO<sub>2</sub> tem uma transição em aproximadamente 380-390 nm, essa transição corresponde ao bandgap do TiO<sub>2</sub>. Estes resultados

indicam que os nanocompósitos de PVA/TiO<sub>2</sub> podem absorver a radiação UV e que o TiO<sub>2</sub> está distribuído uniformemente no PVA, como inicialmente planejado.



**Fig. 4.** Espectro de reflectância difusa no UV-Vis da (a) fibra de PVA/TiO<sub>2</sub> (5% m/m) e da (b) fibra de PVA.

## Conclusões

As micrografias mostraram que com o aumento do carregamento de TiO<sub>2</sub> houve um maior número de *beads* nas fibras. Entretanto, o mapa de EDS indicou que as nanopartículas de TiO<sub>2</sub> estão bem distribuídas nas fibras. Observou-se também, que o electrospinning modificou a cristalinidade do PVA.

## Agradecimentos

CAPES, FAPESP, FINEP/MCT, FIPAI, CNPQ, EMBRAPA.

## Referências

- GREINER, A.; WENDORFF, J. H. Cover Picture: Electrospinning: A Fascinating Method for the Preparation of Ultrathin Fibers. **Angewandte Chemie International Edition**, Weinheim, v. 46, n. 30, p. 5633, 2007.
- LI, D.; XIA, Y. Electrospinning of Nanofibers: Reinventing the Wheel? **Advanced Materials**, Weinheim, v. 16, n. 14, p. 1151-1170, 2004.
- HE, C. H.; GONG, J. The preparation of PVA-Pt/TiO<sub>2</sub> composite nanofiber aggregate and the photocatalytic degradation of solid-phase polyvinyl alcohol. **Polymer Degradation and Stability**, Essex, v. 81, p. 117-124, 2003.
- WU, H.; FAN, J.; QIN, X.; ZHANG, G. [Polymer]. **Materials Letters**, Amsterdam, v. 62, p. 828, 2008.
- GONÇALVES, I. G.; PETTER, C. O. Teoria de Kubelka-Munk aplicada na indústria de minerais industriais: predição do teor de contaminantes em caulim. **REM: Revista da Escola de Minas**, Ouro Preto, v. 60, n. 3, p. 491-496, 2007.
- ZONG, X.; KIM, K.; FANG, D.; RAN, S.; HSIO, B. S.; CHU, B. Structure and process relationship of electrospun bioabsorbable nanofiber membranes. **Polymer**, [S. l.], v. 43, p. 4403-4412, 2002.



## PREPARAÇÃO DE NANOFIBRAS DE PVA-AG COM ATIVIDADE ANTIBACTERIANA VIA ELETROFIAÇÃO

Rodrigo G. F. Costa<sup>1,2</sup>, Caue Ribeiro<sup>1\*</sup>, Luiz H. C. Mattoso<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos-SP, Brasil

<sup>2</sup>Laboratório de Nanotecnologia Aplicado ao Agronegócio, Embrapa Instrumentação Agropecuária, Rua XV de Novembro, 1452, São Carlos-SP, 13560-970, Brasil \*caue@cnpdia.embrapa.br

Projeto Componente: PC4

Plano de Ação: 01.05.1.01.04.04

### Resumo

Nanofibras de PVA-Ag foram preparadas via eletrofiação a partir de soluções aquosas de PVA-AgNO<sub>3</sub>. As nanofibras foram caracterizadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia de energia dispersiva (EDS) e espectroscopia de reflectância difusa no UV-vis. Também, foram feitos testes da atividade antibacteriana com as bactérias *E. coli* e *S. aureus*. Os resultados obtidos mostraram que os valores dos diâmetros médios das nanofibras são de aproximadamente 90 nm. Os nanocompósitos apresentaram bons valores de atividade antibacteriana.

**Palavras-chave:** nanofibras; nanocompósitos; poli(álcool vinílico); atividade antibacteriana; eletrofiação.

### Introdução

O foco em procedimentos industriais de sanidade e redução de contaminação biológica, principalmente em processos na indústria alimentícia, vem frequentemente ganhando destaque, tanto na mídia quanto na preocupação de trabalhos de pesquisa. Na indústria de plásticos, esta é uma preocupação legítima, tanto pelo uso destes materiais como embalagens de alimentos como também pelo fato de serem significativamente estáveis, gerando resíduos de difícil degradação. São, desta forma, potenciais vetores de proliferação de microorganismos quando contaminados e descartados. Assim, vários trabalhos enfocam nanocompósitos biodegradáveis com propriedades bactericidas ou bacteriostáticas (XU, 2006). Dentre estes, os nanocompósitos à base de PVA têm sido muito pesquisados (JIN, 2007). O PVA é um polímero produzido pela polimerização do acetato de vinila seguida pela reação de hidrólise do poli(acetato de vinila). Apesar de possuir ótimas

propriedades, este polímero não possui atividade antibacteriana (HE e GONG, 2003). Desta maneira, há necessidade de se incorporar nanopartículas que possuam essas propriedades, como por exemplo, nanopartículas de prata (HONG, 2007).

Neste trabalho, nós preparamos nanocompósitos de PVA/Ag na forma de nanofibras utilizando o processo de eletrofiação. Estes materiais foram caracterizados para depois serem feitos os testes com as bactérias *E. coli* e *S. Aureus*.

### Materiais e métodos

O Poli(álcool vinílico) na concentração de aproximadamente 10% foi solubilizado em água e aquecido por 2 horas (60°C). Em seguida, foi adicionado ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>) para diminuir o pH (2-4). Finalmente, adicionou-se nitrato de prata (AgNO<sub>3</sub>) à solução de PVA e agitou-se por aproximadamente 30 minutos. Assim, obtiveram-se soluções de PVA e PVA/AgNO<sub>3</sub>. Estas soluções foram transferidas para uma seringa plástica de 10

mL, sendo que na agulha da seringa foi enrolada a ponta do fio de alimentação da fonte de alta tensão. Uma chapa metálica coberta com uma folha de alumínio e aterrado foi usada como coletor das mantas nanofibrilicas. A velocidade de injeção da solução foi de 0,02 ml/h. Os parâmetros do processo e da solução estão apresentados na Tabela 1. As mantas nanofibrilicas foram colocadas na estufa na temperatura de 60°C por aproximadamente 8 horas. As morfologias das nanofibras foram observadas com um microscópio eletrônico de varredura (Leo 440). Também, foi feito o mapeamento por EDS e o espectro de EDS. Os espectros de reflectância difusa no UV-Vis foram obtidos com um espectrofotômetro da marca Varian Cary 5G. Nestes espectros, os valores da função de Kubelka-Munk (k/S) foram calculados utilizando a seguinte equação:

$$k/S = (1 - R)^2 / (2R)$$

onde K é o coeficiente de absorção, S é o coeficiente de espalhamento da luz e R é a reflectância de uma camada de espessura infinita (GONÇALVES e PETTER, 2007).

Os testes da atividade antibacteriana da fibra de PVA-Ag foram feitos utilizando-se o método de contagem das colônias em placa.

## Resultados e discussão

A fim de observar as morfologias das nanofibras e a dispersão das nanopartículas de Ag no PVA, foram feitas as análises por MEV. As micrografias obtidas para as nanofibras de PVA e PVA/Ag estão apresentadas na Figura 1. Observa-se a presença de muitos *beads* na fibra de PVA. Entretanto, para a amostra de PVA/Ag existem poucos *beads*. Nesse caso, os dois principais fatores que podem influenciar na morfologia das fibras são a condutividade elétrica e o campo elétrico aplicado (Tabela 1). A análise estatística mostra que para as duas fibras os valores dos diâmetros variam entre 50 e 160 nm.

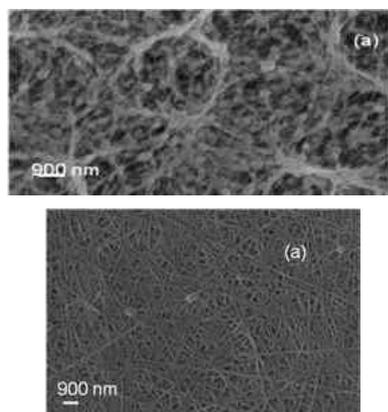


Fig. 1. Micrografias das nanofibras de (a) PVA e (b) PVA-Ag (20% m/m).

Tabela 1. Parâmetros do processo e da solução.

%Ag	Campo elétrico aplicado (KV/cm)	Condutividade elétrica da solução (mS/cm)	Viscosidade da solução (Pa/s)
0	1,5	1,248	0.0275
20	2,4	21,85	0.0256

Para verificar a distribuição da prata na nanofibra, foi feito o mapeamento por EDS (Fig. 2a). Observa-se no mapa de EDS que a distribuição do elemento Ag é uniforme, o que indica que as fibras são homogêneas. Também, observa-se que o espectro de EDS indica a presença da prata (Ag) na nanofibra (Fig. 2b).

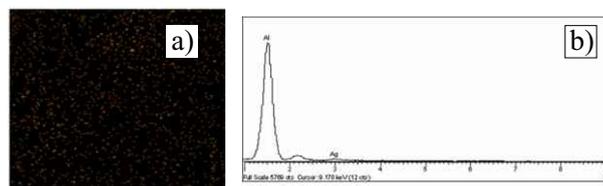


Fig. 2. (a) Mapeamento por EDS de Ag da fibra de PVA/Ag(20% m/m), (b) Espectro de EDS da fibra de PVA/Ag(20% m/m).

Os espectros de reflectância difusa no UV-Vis das fibras de PVA e PVA/Ag estão apresentadas na Figura 3. Através da Figura 3, observa-se a absorção das nanopartículas de prata em aproximadamente 420-425 nm na fibra de PVA/Ag (HONG, 2007). Estes resultados corroboram com o espectro de EDS, confirmando a presença das nanopartículas de prata.

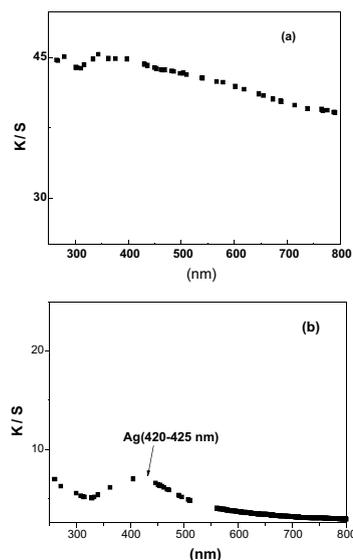


Fig. 3. Espectro de reflectância difusa no UV-Vis da (a) fibra de PVA e (b) fibra de PVA/Ag (20% m/m).

Com o objetivo de verificar a atividade antibacteriana das nanofibras de PVA-Ag frente às bactérias *S. aureus* e *E. coli*, utilizou-se o método de contagem das colônias em placa. A eficácia antibacteriana (EAB%) em porcentagem da fibra foi calculada utilizando-se a seguinte equação:

$$EAB(\%) = (B-A) / B \times 100$$

Onde:

- B é o número de células sobreviventes (UFC/mL) do controle;
- A é o número de células sobreviventes (UFC/mL) da fibra testada [PVA/Ag];
- UFC/mL são as unidades formadoras de colônias por mililitro (XU et al., 2006).

De acordo com os resultados obtidos verifica-se que a eficácia antibacteriana (EAB%) da fibra de PVA/Ag é maior para a bactéria *S. aureus* (87,8%) do que para a bactéria *E. coli* (85%). Esses resultados são muito interessantes e promissores em vista do potencial uso desses materiais como nanocompósitos nas áreas médicas e de alimentos.

**Tabela 2.** Teste da atividade antibacteriana com as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.

Bactéria	Células sobreviventes (UFC/mL) no controle após 48h	Células sobreviventes (UFC/mL) na fibra de PVA/ após 48h	EAB (%) após 48h
<i>S. Aureus</i>	9.108	11.107	87.8
<i>E. Coli</i>	2.108	3.107	85.0

## Conclusões

As nanofibras obtidas apresentaram diâmetros variando entre 50 e 160 nm. O mapeamento por EDS e o espectro de reflectância difusa no UV-vis confirmaram a presença das nanopartículas de prata nas fibras. Os testes das atividades antibacterianas com as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* mostraram que esses nanocompósitos têm um grande potencial para serem usados na indústria alimentícia.

## Agradecimentos

CAPES, FAPESP, FINEP/MCT, FIPAI, CNPq, EMBRAPA.

## Referências

- XU, X.; YANG, Q.; WANG, Y.; YU, Y.; CHEN, X.; JING, X. **European Polymer Journal**, New York, v. 42, p. 2081, 2006.
- JIN, W. J.; JEON, H. J.; KIM, J. H.; YOUK, J. H. **Synthetic Metals**, Lausanne, v. 157, p. 454, 2007.
- HE, C. H.; GONG, J. **Polymer Degradation and Stability**, Essex, v. 81, p. 117, 2003.
- HONG, K. H. **Polymer Engineer Science**, [S. l.], v. 47, p. 43, 2007.
- GONÇALVES, I. G.; PETTER, C. O. **Revista Escola de Minas**, Ouro Preto, v. 60, p. 491, 2007.



## VARIAÇÃO DO TEOR DE COBRE DA BORRACHA NATURAL CRUA DOS NOVOS CLONES DA SÉRIE IAC 300

Rogério Manoel Biagi Moreno<sup>1\*</sup>, Gilberto de Souza Batista<sup>2</sup>, Cristina Maria Cirino Picchi<sup>2</sup>, Paulo de Souza Gonçalves<sup>3</sup>, Luiz Henrique Capparelli Mattoso<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação Agropecuária, Rua XV de Novembro, 1452, C.P.741, CEP: 13. 560-970, São Carlos-SP, \*rogerio@cnpdia.embrapa.br;

<sup>2</sup>Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos-SP;

<sup>3</sup>Instituto Agrônômico, Campinas-SP.

Projeto Componente: PC4

Plano de Ação: 01.05.1.01.04.04

### Resumo

A borracha natural é uma matéria prima muito importante e estratégica para o agronegócio brasileiro. O teor de cobre da borracha natural crua dos novos clones da série IAC 300 foi determinado e monitorado pela técnica ICP-OES. Os resultados mostraram que houve variação entre clones e coletas e a borracha natural dos novos clones da série IAC 300 apresentaram desempenho superior ao do clone RRIM 600 (testemunha).

**Palavras-chave:** borracha natural crua, novos clones IAC 300, teor de cobre.

### Introdução

O Brasil importa grande parte da borracha natural (BN) consumida, sendo necessário o aumento da produção da BN e ela deverá ter boa qualidade. A Embrapa e o Instituto Agrônômico atuam na caracterização da BN e no melhoramento genético da seringueira, respectivamente. O objetivo desse trabalho foi determinar e monitorar o teor de Cu e compará-lo ao índice de retenção de plasticidade [PRI (%)].

### Materiais e métodos

A BN foi obtida nos meses de outubro (1), novembro (2) e dezembro (3) de 2006 dos clones IAC 328-331 e do RRIM 600 (testemunha). O PRI (%), utilizado como critério técnico para medir a resistência à degradação térmica da BN, foi obtido com o equipamento plastímetro Wallace da Grammatest, seguindo o procedimento da norma NBR 11597

(ABNT, 1996). As amostras de BN foram calcinadas em cadinhos de porcelana por 10 horas a 600°C para a obtenção das cinzas; diluição das cinzas em cadinhos HCl à 6M; cadinhos levados em banho de areia a 150°C até quase completa secagem; rediluição com HCl à 1M; permanecer no banho por mais 40 minutos (ferver), retirar do banho, esfriar e transferir quantitativamente, com água deionizada, para frasco Falcon desmineralizado; completar o volume para 50 mL com água Milli-Q®; submeter à leitura em ICP – OES (Espectrômetro com plasma acoplado indutivamente). Foi empregando um espectrômetro de emissão óptica simultâneo com configuração radial, VISTA PRO Radial (Varian, Mulgrave, Austrália), equipado com detector de estado sólido tipo CCD; sistema pré-óptico do equipamento purgado com argônio. As características do ICP OES VISTA PRO Radial: gerenciador radiofrequência 40MHz Free Running, detector CCD refrigerado a -35°C por sistema Peltier ~ 70.000 pixels arranjados de forma não linear com intervalo espectral de leitura ~ 167-785 nm.

## Resultados e discussão

As Figuras 1 e 2 apresentam as variações do teor de Cu (ppm) e do PRI (%) para as BN dos clones IAC 328 a 331 e do RRIM 600 (testemunha). Nota-se que os clones IAC 300 apresentaram valores do teor de Cu inferiores e valores do PRI (%) maiores que da testemunha, respectivamente; o clone IAC 331 apresentou a maior variabilidade no teor de Cu entre as coletas. Houve um comportamento geral de aumento do PRI (%) com a redução do teor de Cu (ppm). Algumas substâncias como os tocotrienóis, têm demonstrado uma relação positiva com a resistência da BN contra à termo-oxidação; substâncias inorgânicas, como Cu, Mn e Fe, por outro lado, demonstram atividade oxidante, sendo o Cu o mais ativo (HWEE e TANAKA, 1993). No látex, o Cu complexa-se com as proteínas e os aminoácidos. A atividade microbiana na BN degrada esses complexos com Cu, liberando-o para atuar como um catalisador do processo termodegradativo (SHELTON, 1972). Isso pode explicar a maior susceptibilidade geral da BN autocoagulada à degradação termo-oxidativa comparada com a BN coagulada por ácido.

## Conclusões

Houve variação entre clones e coletas, onde os clones IAC 300 apresentaram desempenho superior ao RRIM600.

## Agradecimentos

FAPESP, CNPQ, FINEP, EMBRAPA.

## Referências

- ABNT - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 11597**: Borracha natural. [S.l.], 1996.  
 HWEE, E. A.; TANAKA, Y. **Trends in Polymer Science**, Cambridge, v. 3, p. 493-513, 1993.  
 SHELTON, J. R. **Rubber Chemistry and Technology**, Akron, v. 45, p. 359-365, 1972.

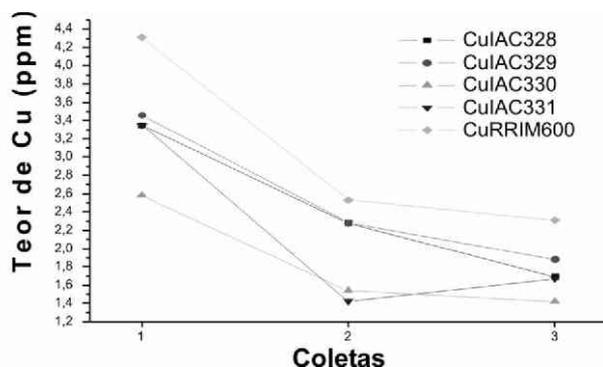


Fig. 1. Variação do teor de cobre da BN.

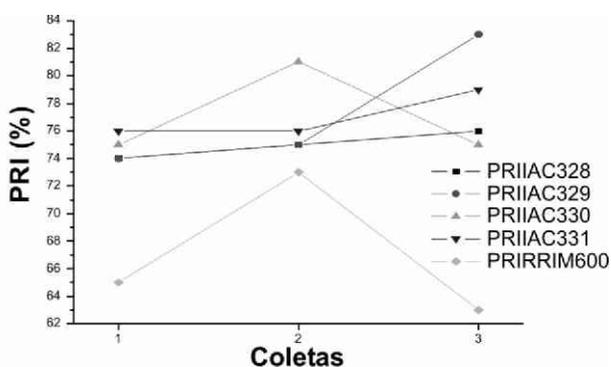


Fig. 2. Variação do PRI (%) da BN.

## EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOFIBRAS DE CELULOSE A PARTIR DE PALHAS DE MILHO

Ronaldo Franco de Oliveira Cardoso<sup>1</sup>, Eliangela Morais Teixeira<sup>1</sup>, Maria Cristina Dias Paes<sup>2</sup>, Flávia França Teixeira<sup>2</sup>, Luiz Henrique Capparelli Mattoso, José Manoel Marconcini<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Embrapa Instrumentação Agropecuária, 13560-970, São Carlos/SP - \*marconcini@cnpdia.embrapa.br

<sup>2</sup> Embrapa Milho e Sorgo, 13560-970, Sete Lagoas/MG

Projeto Componente: PC4

Plano de Ação: 01.05.1.01.04.04

### Resumo

Fibras naturais apresentam estrutura, propriedades e composição que as tornam apropriadas em diversas aplicações, tais como, papel, celulose, em produtos químicos, têxteis e materiais compósitos. Neste trabalho, estudou-se um material lignocelulósico fibroso, as palhas de milho, na extração e caracterização de nanocelulose. por meio de termogravimetria, infravermelho difração de raios-X e microscopia de força atômica. Os resultados mostram que é possível a obtenção de nanofibras de celulose a partir de palhas de milho, com aplicação potencial em nanocompósitos.

**Palavras-chave:** palhas de milho, nanofibras de celulose, caracterização.

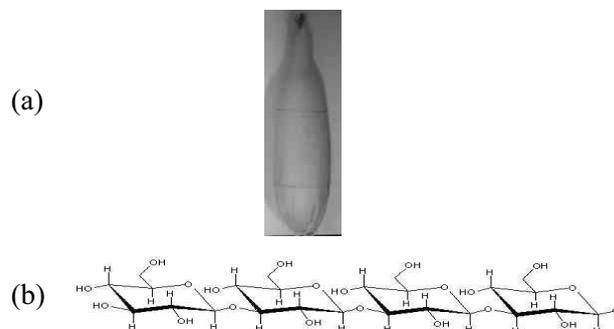
### Introdução

Produtos e co-produtos agrícolas lignocelulósicos são uma fonte de matéria prima barata e renovável. Atualmente, as palhas de milho são utilizadas de modo geral como embalagens, na produção de cigarros, e na produção artesanal, como empalhamento de cadeiras, na confecção de bonecas e artesanato em geral (REDDY, N.; YANG, Y., 2005a; REDDY, N.; YANG, Y., 2005b). Novos usos de resíduos agrícolas são importantes para o meio ambiente e na redução da dependência de matérias primas provenientes do petróleo. O objetivo deste trabalho é a extração e a caracterização da nanocelulose a partir de palhas de milho, procurando-se aplicações para estes materiais, como a formulação de nanocompósitos.

### Materiais e métodos

Foram utilizadas palhas de milho provenientes de híbridos de milho elite do banco de germoplasma da Embrapa Milho e Sorgo (fig. 1a).

A extração das nanofibras de celulose (fig 1b) foi realizada por meio de hidrólise ácida de acordo com Orts et al. 2005 e Moran et al., 2008. As nanoestruturas de celulose foram caracterizadas por meio de termogravimetria em atmosfera de ar sintético (TG), microscopia de força atômica (AFM), espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e difração de raios-X (XRD).



**Fig. 1.** (a) Palha de milho típica; (b) estrutura da celulose

## Resultados e discussão

Os resultados de microscopia de força atômica são apresentados na figura 2, os de termogravimetria na figura 3, os de FTIR na figura 4, e os de Raios-X na figura 5.

Observou-se analisando-se as imagens de AFM (fig. 2) que o diâmetro médio e o comprimento médio das nanofibras de celulose foi de 5nm e 150nm respectivamente. A partir dos resultados de termogravimetria, determinou-se a temperatura de início de termooxidação da nanofibras de 120°C, a porcentagem de voláteis de 5,1% e o resíduo a 650°C foi de 28,9%.

Os resultados de FTIR mostram as modificações químicas após a hidrólise ácida da palha de milho utilizada no processo de extração. A cristalinidade da celulose determinada por XRD foi de 52% nas palhas de milho, enquanto que nas nanofibras houve um aumento para 82%. Nota-se que o processo de extração remove a parte amorfa da celulose, aumentando o grau de cristalinidade.

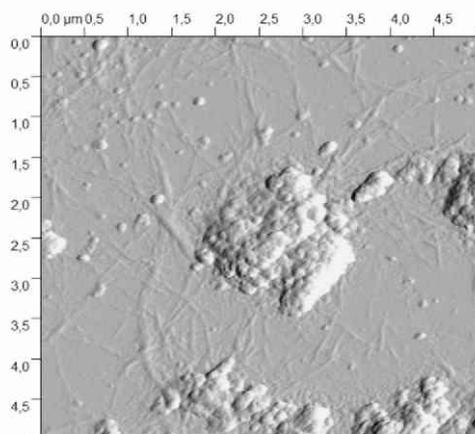


Fig. 2. Imagem obtida por AFM das nanofibras de celulose extraída das palhas de milho.

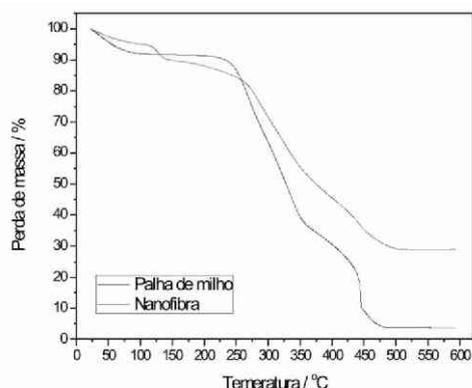


Fig. 3. Termogravimetria em atmosfera de ar sintético de palhas de milho e das nanofibras de celulose obtidas de palha de milho.

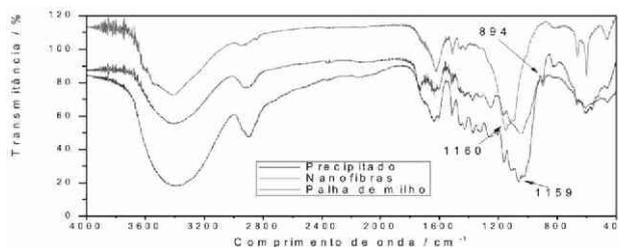


Fig. 4. FTIR da palha de milho, da nanocelulose obtida de palha de milho e do precipitado da reação de hidrólise.

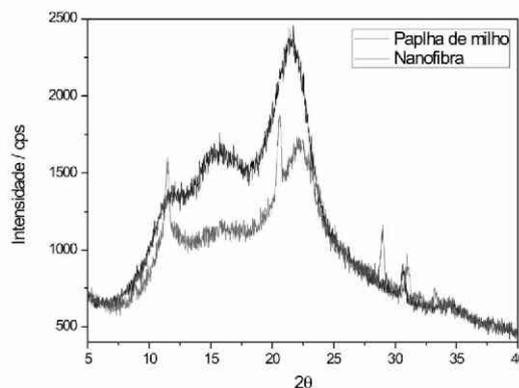


Fig. 5. Difração de raios-X da palha de milho e da nanofibra da palha de milho.

## Conclusões

Foi possível extrair e caracterizar nanoestruturas de celulose a partir de palhas de milho. Os resultados são promissores, levando a uma possibilidade de novos usos tecnológicos para a palha de milho.

## Agradecimentos

CNPq, FIPAI, EMBRAPA, FINEP/MCT, FAPESP

## Referências

- MORÁN, J. I. ; ALVAREZ, V. A.; CYRAS, V. P.; VÁZQUEZ, A. *Cellulose*, v.15, p.149, 2008.  
 ORTS, W. J.; SHEY, J.; IMAN, S. H.; GLENN, G. M.; GUTTMAN, M. E.; REVOL, J. *Journal Polymer Environment*, v.13, n.4, p.301, 2005.  
 REDDY, N.; YANG, Y. Properties and potential applications of natural cellulose fibers from cornhusks. *Green Chemistry*, v. 7, p. 190. 2005a.  
 REDDY, N.; YANG, Y. Biofibers from agricultural byproducts for industrial applications. *TRENDS in Biotechnology*, v.23, n.1, 2005b.



## NANOPARTÍCULAS DE FERRITAS UTILIZADAS COMO CATALISADORES HETEROGÊNEOS PELO PROCESSO FENTON

Tania R. Giralddi<sup>1</sup>, Cezar C. Arruda<sup>3</sup>, Elson Longo<sup>1</sup>, Caue Ribeiro<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Química - UNESP, Araraquara/SP

<sup>2</sup>Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação Agropecuária, 13560-970, São Carlos/SP \*caue@cnpdia.embrapa.br

<sup>3</sup>Depto. de Química - UFSCar, 13560-905, São Carlos/SP

Projeto Componente: PC4

Plano de Ação: 01.05.1.01.04.04

### Resumo

Nanopartículas de óxido e sais de ferro foram obtidas a partir de soluções sintetizadas pelo Método dos Precursores Poliméricos. A relação molar entre ácido cítrico e ferro foi variada. As soluções foram calcinadas a 450°C por 2 h, para a obtenção das nanopartículas. Estas foram caracterizadas por DRX e espectroscopia Mossbauer. A área superficial foi analisada por fisorção de N<sub>2</sub>. Para avaliação das nanopartículas como catalisadores heterogêneos, pelo processo Fenton, foi realizada a fotodegradação do corante Rodamina-B na presença destas nanopartículas e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Nanopartículas obtidas a partir da relação molar ácido cítrico:Fe 12:1 apresentaram melhor atividade catalítica na degradação da Rodamina-B.

**Palavras-chave:** nanopartículas, fotodegradação, ferritas, Fenton, Rodamina-B.

### Introdução

A gestão do uso da água é hoje um dos principais desafios para um desenvolvimento sustentável, principalmente em nações que dependem economicamente da produção agrícola. Dentre os vetores de contaminação da água no meio agrícola, merece particular destaque os pesticidas e fertilizantes químicos (agroquímicos). Dentre os tratamentos destes contaminantes, um dos mais importantes são processos oxidativos avançados. Estes envolvem a geração e consumo de uma espécie altamente oxidante e não seletiva, destacando-se, principalmente o radical hidroxila (OH•) e, em alguns casos, o oxigênio atômico (O(1D)) (GROMBONI et al., 2007). O Processo Fenton (SENN, 2004) é um dos métodos mais ativos de geração de espécies altamente oxidantes e é reportado como altamente eficiente na degradação de pesticidas em águas (COSTA et al., 2006).

No presente trabalho, nanopartículas de óxido de ferro foram sintetizadas para serem aplicadas no

processo de catálise heterogênea, pelo Processo Fenton. Os óxidos foram sintetizados pelo Método dos Precursores Poliméricos (KAKIHANA et al., 1999), obtendo-se nanopartículas com diferentes características morfológicas. Neste contexto, buscou-se identificar a correlação entre a degradação das partículas e suas características estruturais, como cristalinidade e superfície de contato, evidenciando assim a ocorrência de catálise heterogênea.

### Materiais e métodos

O Método dos Precursores Poliméricos envolve a polimerização de citrato metálico com etilenoglicol. Desta forma, para preparar nanopartículas de óxido de ferro, sintetizou-se citrato de Fe<sup>II</sup> e Fe<sup>III</sup>. Os reagentes utilizados foram: FeSO<sub>4</sub> (J.T.Baker), Fe<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> (Mallinckrodt) e ácido cítrico (CA) (J.T.Baker). Para determinar como as condições de síntese afetam as propriedades das ferritas, variou-se a relação molar entre os

reagentes em: 1:1:3, 1:1:6, 1:1:9 e 1:1:12, respectivamente. Duas soluções aquosas de citrato foram preparadas, adicionando-se  $\text{FeSO}_4$  e  $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$  separadamente, ambos com a mesma concentração molar. As soluções foram tratadas a  $60^\circ\text{C}$  em constante agitação. Os citratos foram misturados na proporção 1:1 em volume, sendo etilenoglicol (Synth) adicionado posteriormente, levando a uma reação de poliesterificação. As soluções foram submetidas a tratamento térmico, realizado em dois estágios, sendo o primeiro com aquecimento de  $300^\circ\text{C}$  por 4h (para eliminação da matéria orgânica), e o segundo a  $450^\circ\text{C}$  por 2 h, para a cristalização das partículas.

A estrutura cristalina foi avaliada por Difração de raio X (DRX), em equipamento Rigaku D Max 2500 PC. Em complemento a esta análise, foi feita espectroscopia de Mossbauer. A área superficial das nanopartículas foi verificada por isoterma de adsorção de  $\text{N}_2$ , em equipamento ASAP 2000.

Para o estudo de fotodegradação do corante, dispersões coloidais foram preparadas por mistura de 3mg de nanopartículas, 1mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Synth) em 50 mL de solução aquosa de Rodamina B (RB, Mallinckrodt,  $10^{-3} \text{ g L}^{-1}$ ). A solução de RB foi analisada por espectroscopia de UV-Visível (Shimadzu UV 1601 PC), sendo as medidas coletadas de tempos em tempos, com o intuito de verificar o tempo de degradação do corante. A concentração de RB foi determinada através de dados de absorbância a 554 nm.

## Resultados e discussão

A Figura 1 ilustra a DRX das nanopartículas obtidas.

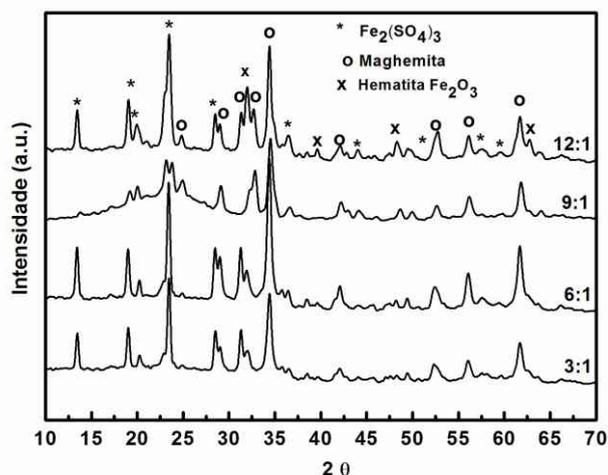


Fig. 1. DRX das nanopartículas de ferritas.

As nanopartículas sintetizadas com proporção molar AC:Fe 3:1, 6:1 e 9:1 apresentaram similar definição dos picos, ainda que nanopartículas sintetizadas com proporção molar AC:Fe 12:1 apresentaram maior definição dos picos referentes as

fases maghemita (ou magnetita) e hematita. Todas as composições apresentaram  $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$  residual, provavelmente devido ao precursor que não reagiu.

Em complemento as medidas de DRX, e para a verificação da valência do Fe nas nanopartículas, foi realizada espectroscopia de Mössbauer. O espectro é ilustrado na Figura 2.

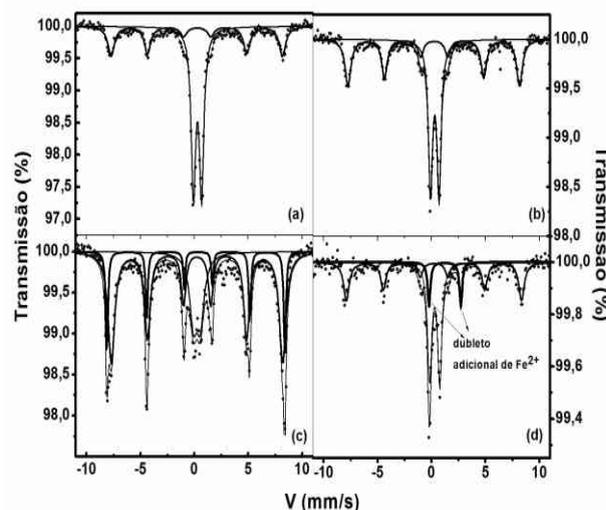


Fig. 2. Espectro Mössbauer das ferrites em diferentes proporções CA:Fe. (a) 3:1, (b) 6:1, (c) 9:1, (d) 12:1.

A presença de  $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$  revelada por DRX é comprovada de acordo com o Espectro Mössbauer, como duplete central presente em todas as amostras. No entanto, outros óxidos de ferro (hematita, goethita, maghemita) são evidenciados na forma de duplete, caso o tamanho das partículas sejam inferiores a 20nm, pois apresentam superparamagnetismo. Em amostras com relação AC:Fe 9:1, a intensidade do duplete é menor. No entanto, a intensidade do sexteto referente a maghemita é maior nesta composição. Nanopartículas preparadas com relação molar AC:Fe 12:1 apresentaram duplete adicional referente ao  $\text{Fe}^{2+}$ . A presença deste íon somente na proporção 12:1 pode ser atribuída pela atmosfera redutora, causada pela maior quantidade de material orgânico oriundo da solução precursora. A presença de  $\text{Fe}^{2+}$  é um importante fator para que o processo Fenton ocorra, já que este íon é o iniciador do processo.

O mesmo comportamento foi observado em experimentos de fisorção, indicados na Tabela 1.

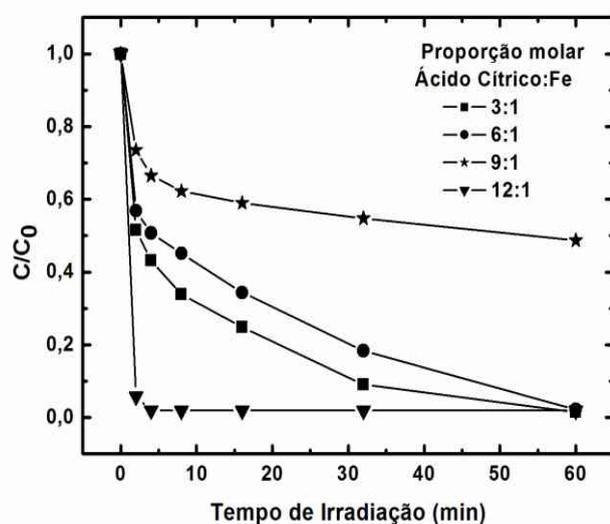
Tabela 1. Área Superficial das nanopartículas de ferritas

$\text{Fe}_3\text{O}_4$ (CA:Fe)	3:1	6:1	9:1	12:1
Área Superficial ( $\text{m}^2.\text{g}^{-1}$ )	9,09	17,21	24,5	48,5
Tamanho de Partícula (nm)*	132	70	49	25

\*cálculo assumindo  $AS = 6 / .D$ , considerando densidade (?) do óxido de ferro  $5 \text{ g/cm}^3$

A área superficial também pode ser relacionada com a quantidade de material orgânico presente na solução precursora. Verifica-se que quanto maior a quantidade de material orgânica no precursor, maior é a área superficial das nanopartículas. Acredita-se que tanto o tamanho de grãos quanto a área superficial podem estar relacionados com a rugosidade das partículas. Isto é, quanto maior a área superficial, mais rugosa é a superfície da partícula. Esta é uma característica favorável para materiais que apresentam potencial para serem aplicados como catalisadores.

Para o estudo do potencial catalítico, as nanopartículas foram utilizadas na degradação da solução de RB com  $H_2O_2$ , com concentração descrita no procedimento experimental. A Figura 3 ilustra estes resultados.



**Fig. 3.** Fotodegradação da Rodamina-B a usando-se nanopartículas de ferrites obtidas por diferentes proporções de ácido cítrico:Fe.

O decréscimo da concentração de RB utilizando diferentes nanopartículas indica que o corante foi degradado utilizando-se as nanopartículas obtidas em todas as condições descritas neste trabalho. No entanto, nanopartículas obtidas a partir da relação AC:Fe 12:1 degradaram praticamente 100% do corante após 4 minutos de reação. As proporções 3:1 e 6:1 apresentam comportamento similar (praticamente 100% em 60 minutos). No entanto, a proporção 9:1 apresentou propriedade catalítica inferior (aproximadamente 40% de degradação após 60 minutos). Estes resultados indicam que o processo de degradação está relacionado com a área superficial das nanopartículas, já que a proporção 12:1 apresenta maior taxa de degradação, e também maior superfície de contato. Além disso, esta composição foi a única que apresentou  $Fe^{2+}$ , sendo este um importante fator para a inicialização do Processo Fenton.

## Conclusões

Nanopartículas de ferrites obtidas pelo Método dos Precursores Poliméricos podem ser usadas como reagentes Fenton. Fatores morfológicos como estrutura cristalina e área superficial são importantes fatores que influenciam nas propriedades fotocatalíticas destas nanopartículas. A presença de  $Fe^{2+}$  apresenta melhora na eficiência da degradação. Desta forma, novas estratégias serão utilizadas serão estudadas como trabalhos futuros, para estabilizar  $Fe^{2+}$  nas ferritas obtidas.

## Agradecimentos

CNPq, FINEP/MCT, EMBRAPA.

## Referências

- COSTA, R. C. C.; LELIS, M. F. F.; OLIVEIRA, L. C. A.; FABRIS, J. D.; ARDISSON, J. D.; RIOS, R. R. V. A.; SILVA, C. N.; LAGO, R. M. **J Hazard Mater.**, Amsterdam, v. 129, n. 1-3, p. 171, 2006.
- GROMBONI, C. F.; FERREIRA, A. G.; KAMOGAWA, M. Y.; NOGUEIRA, A. R. A. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, p. 264, 2007.
- KAKIHANA, M.; YOSHIMURA, M. **Bull Chem Soc Jpn**, Tokyo, v. 72, p. 1427, 1999.
- SENNA, M. **Dekker Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology**. [S. l.]: Marcel Dekker, 2004. cap. Iron Oxide Nanoparticles.

## NANOCRISTAIS DE $\text{TiO}_2$ : ASPECTOS MORFOLÓGICOS E FOTOCATÁLISE

Vagner Romito de Mendonça<sup>1,2\*</sup>, Caue Ribeiro<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Depto. de Química - UFSCar, 13560-905, São Carlos/SP

<sup>2</sup>Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação Agropecuária, 13560-970, São Carlos/SP; \*vagneromito@yahoo.com.br

Projeto Componente: PC4

Plano de Ação: 01.05.1.01.04.04

### Resumo

Nanocristais de  $\text{TiO}_2$  foram sintetizados pelo método da decomposição do peroxo-complexo. Este método se mostrou viável para obtenção de nanocristais em diferentes morfologias sem a modificação de fase, apenas pelo controle do pH do meio. Os testes fotocatalíticos sobre a molécula teste Rodamina B evidenciam a influência da morfologia na efetividade do material, uma vez que não há correlação direta entre área superficial e atividade fotocatalítica.

**Palavras-chave:**  $\text{TiO}_2$ , Rodamina B, Fotocatálise.

### Introdução

Nanocristais de semicondutores têm sido largamente utilizados em fotocatalise devido sua elevada área superficial específica. É consenso que o melhor dentre estes é o  $\text{TiO}_2$  na forma anatase.<sup>1</sup> Até o momento, estudos relacionados a este material enfocam somente o controle da fase cristalina, presença de dopantes e percentuais de uso do material na efetividade do processo, negligenciando importantes fatores como a anisotropia do cristal.<sup>2</sup> Deste cenário, este trabalho tem como objetivo estudar a influência de parâmetros morfológicos na atividade fotocatalítica de nanocristais de  $\text{TiO}_2$  anatase, através de estudos de fotodegradação do corante Rodamina B (Rod. B) sob radiação ultravioleta.

### Materiais e métodos

O processo de síntese se deu via degradação do complexo peroxotitânico  $\{[\text{Ti}(\text{OH})_3\text{O}_2]^{-}\}$ , preparado pela dissolução de Ti metálico em solução de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e  $\text{NH}_4\text{OH}$  (soluções comerciais misturadas na proporção 3:1). A degradação foi conduzida em

célula hidrotermal operando a  $200^\circ\text{C}$  por 2,0h, em diferentes condições de pH<sup>3</sup>. Os testes fotocatalíticos foram efetuados com a adição do material em solução de Rodamina B, tendo o sistema ficado sob radiação UV. Em determinados períodos de tempo, a concentração do contaminante foi medida no tempo através do pico de absorção máxima do composto no espectro UV-vis para controle da cinética de degradação.

### Resultados e discussão

As três amostras obtidas estão na forma anatase (DRX não mostrados aqui). A Figura 1 mostra as imagens de MEV para as amostras de  $\text{TiO}_2$  obtidas em diferentes valores de pH.



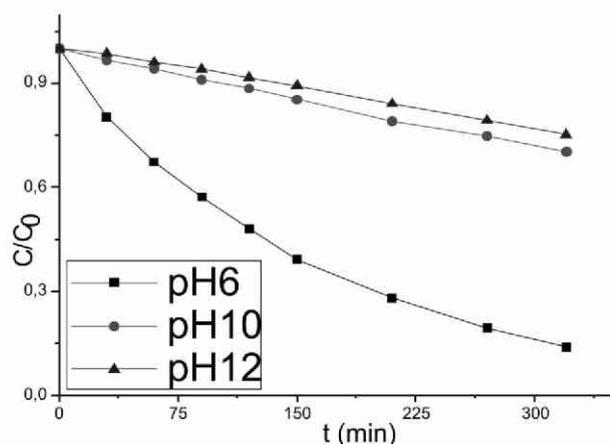
Fig. 1. MEV: a) pH 6; b) pH 10; c) pH 12

Na Tabela 1 encontram-se os valores de área superficial específica, obtidos por adsorção de  $N_2$  a 77K, utilizando-se isoterma de BET.

**Tabela 1.** Área superficial específicas das amostras sintetizadas.

Amostra	pH=6	pH=10	pH=12
A.S.(m <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	68,4	32,4	66,9

Após tratamento e lavagem dos pós de  $TiO_2$  obtidos, fez-se os testes fotocatalíticos com 20 mL de solução de Rod. B 5,0 mg.L<sup>-1</sup>, utilizando-se 3,5 mg de  $TiO_2$ . Os resultados são mostrados na Figura 2.



**Fig. 2.** Curva de degradação da Rod B. com diferentes fotocatalisadores.

A amostra obtida em pH=6, que apresentou morfologia esférica e maior área superficial específica, apresentou também maior fotoatividade. A amostra obtida em pH=10 possui a forma de bastonetes, devido a coalescência de partículas esféricas, e devido sua menor área superficial, apresentou menor atividade fotocatalítica. A amostra obtida em pH=12 mostrou forma de agulhas com elevada área superficial, provavelmente devido à dissolução e reprecipitação da amostra, porém apresentou baixa atividade fotocatalítica.

## Conclusões

Os resultados mostram a forte influência da morfologia na atividade do fotocatalisador, uma vez que a mudança de formas esféricas para outras na forma de agulha diminui drasticamente a atividade do material. Isto se deve a diferenças na superfície do material provenientes do ambiente de síntese, bem como diferença na cristalinidade do material, fator importante em fotocatalise por atuar no tempo de vida das cargas fotogeradas. A amostra obtida em pH 12 possui uma grande quantidade de defeitos atuando como centro de recombinação. De fato, para

a síntese em pH 14 há completa deformação da estrutura cristalina e a formação de uma nova fase, os titanatos de hidrogênio.

## Agradecimentos

FAPESP, EMBRAPA, FINEP/MCT, CNPq.

## Referências

- HOFFMANN, M. R.; MARTIN, S. T.; CHOI, W.; BAHNEMANN, D. W. Environmental applications of semiconductor catalysis. **Chem. Rev.**, Washington, v. 95, p. 69-96, 1995.
- CHOU, T.; ZHANG, Q.; RUSSO, B.; FRYXELL, G.; CAO, G. Titania Particle Size Effect on the Overall Performance of Dye-Sensitized Solar Cell. **J. Phys. Chem.C**, Washington, v. 111, n. 17, p. 6296-6302, 2007.
- RIBEIRO, C.; BARRADO, C. M.; CAMARGO, E. R.; LONGO, E.; LEITE, E. R.; Phase transformation in titania nanocrystals by the oriented attachment mechanism: the role of the pH value. **Chemistry**, Weinheim, v. 15, n. 9, p. 2217-2222, 2009.



---

## NANOSSÍLICA A PARTIR DE CASCA DE ARROZ: EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO

---

Vitor Brait Carmona<sup>1</sup>, Ricardo Martins de Oliveira<sup>2</sup>, Wilson Tadeu L. Silva<sup>1</sup>, José Manoel Marconcini<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Embrapa Instrumentação Agropecuária, 13560-970, São Carlos/SP \*  
marconcini@cnpdia.embrapa.br

<sup>2</sup>Dedini S/A Indústrias de Base, Piracicaba, SP, Brasil

**Projeto Componente:** PC4

**Plano de Ação:** 01.05.1.01.04.04

---

### Resumo

Neste trabalho, nanossílica foi extraída a partir de casca de arroz por um tratamento químico com soluções ácidas seguida de uma queima controlada. Termogravimetria foi utilizada para caracterizar o comportamento de queima da casca de arroz e a energia de ativação do processo de degradação térmica da casca de arroz foi avaliado pelo método de Osawa, onde determinou-se valores de  $E_a$  entre 100 e 200 kJmol<sup>-1</sup>. E dos materiais obtidos da queima da casca de arroz a 650°C foram realizados análises de infravermelho encontrando uma ótima correlação de bandas com a literatura e a distribuição média de tamanho de partícula confirmou a presença de estruturas nanométricas de até no mínimo 180nm.

**Palavras-chave:** Casca de arroz, nanossílica, termogravimetria, energia de ativação.

---

### Introdução

O interesse na obtenção de sílica a partir de casca de arroz não é recente e tem atraído a atenção de vários pesquisadores (AMICK, 1982, REAL et al. 1996, DE SOUZA, et al., 2000, DELLA et. al, 2006), incluindo patentes na obtenção deste material (DE SOUZA, et al., 1999). O Brasil se destaca como o maior produtor de arroz fora da Ásia, e atualmente está entre os 10 maiores produtores de arroz, com cerca de 11 milhões de toneladas, o que acarreta na geração de quase 2 milhões de toneladas de casca de arroz. A lavoura orizícola tem grande importância econômica para o Brasil, sendo que no ano de 2000 a produção no valor de R\$ 3,34 bilhões, representou 6,7% do valor bruto da produção agrícola nacional, perdendo apenas para a soja, milho, café e cana de açúcar. A casca de arroz é considerada um resíduo agrícola, com possibilidade de obtenção de até 400 mil toneladas de sílica, a partir do cultivo nacional (<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Arroz/ArrozIrrigadoBrasil/cap01.htm>,

acessado em julho de 2007). A composição química de substâncias orgânicas e inorgânicas da casca de arroz pode variar de acordo com vários fatores, tais como variedade, tipo do solo, condições climáticas e adubação. Em torno de 80% do peso seco da casca de arroz é constituído de compostos orgânicos, majoritariamente celulose, hemicelulose e lignina, além de uma pequena fração constituída de proteínas e óleos. Porém, a casca de arroz apresenta quantidade relativamente alta de compostos inorgânicos, representando aproximadamente 20% do peso seco da casca de arroz, onde 94% deste total é constituído de sílica e os outros 6% são óxidos alcalinos (HOUSTON, 1972; GALLO et al., 1974).

A sílica obtida de fontes vegetais pode ser utilizada na indústria de cosméticos, em materiais abrasivos, na indústria cerâmica, em formulações cerâmicas, na construção civil, em aditivo para concretos, na indústria eletrônica, na obtenção de silício e na indústria de plásticos, como aditivo ou carga em materiais nanocompósitos (DE SOUZA, et al., 2000).

## Materiais e métodos

Foram utilizadas as cascas de duas variedades de arroz, agulhinha e catetos, as quais foram tratadas quimicamente com solução de ácido cítrico 10% (m/v), ácido acético 10% (m/v), ácido fosfórico 0,2 molL<sup>-1</sup> e água destilada sob temperatura e pressão de 2kgf/cm<sup>2</sup> por 1 hora. Após o tratamento químico, as cascas de arroz foram lavadas com água até a estabilização do pH da água de lavagem e seca em estufa a 60°C por 18 horas. Depois de secas, as cascas de arroz foram levadas à calcinação em uma mufla até 650 °C com uma isoterma de 60 minutos, com uma razão de aquecimento de 10 °C/min.

Foram realizadas termogravimetrias das cascas de arroz submetidas a todos os tratamentos químicos com 6mg de amostra em 4 razões de aquecimento em ar sintético em uma balança termogravimétrica modelo TGA Q500, TA Instruments, USA, para se verificar os comportamentos de perda de massa da casca, assim como suas energias de ativação do processo de degradação térmica a partir da aplicação do método de Osawa (DOYLE et al, 1961).

Os materiais obtidos da queima da casca de arroz foram caracterizados por espectroscopia de infravermelho. As espectros foram obtidos com 64 scans e resolução de 2 cm<sup>-1</sup> com pastilhas prensadas sob alta pressão com KBr na proporção de 1:100 (amostra/ KBr).

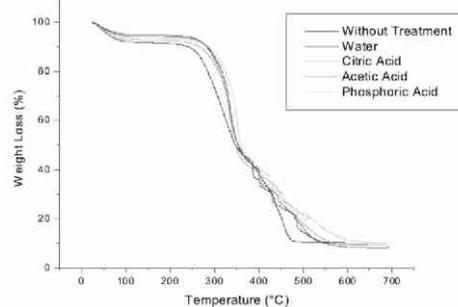
A determinação do tamanho médio de partícula do material obtido da queima da casca de arroz foi feita em um aparelho Malvern Zetasizer Nano series em alta resolução e comparada com o tamanho médio de partícula das sílicas Aldrich e Tixosil disponíveis no mercado. Para comparação dos tamanhos de partículas, as soluções saturadas foram preparadas em água com o material obtido da queima da casca de arroz macerado por 5 minutos e deixada em repouso por 48 horas para atingir o equilíbrio.

## Resultados e discussão

Foi possível a partir das termogravimetrias determinar a composição química da casca de arroz quanto à porcentagem de substâncias orgânicas e inorgânicas, e 3 temperaturas importantes no processo de queima da casca de arroz: T<sub>1</sub> que é a temperatura onde se tem o início do processo de degradação térmica, T<sub>2</sub> que é a temperatura onde as características da casca de arroz já estão modificadas pelo aquecimento e a T<sub>3</sub> que é a temperatura onde cessa a perda de massa do material, restando apenas o resíduo inorgânico da queima.

A figura 1 mostra as curvas TG da casca de arroz cateto tratadas e não tratadas quimicamente. É possível observar um aumento da estabilidade térmica das cascas de arroz tratadas com ácido.

As tabelas 1 e 2 mostram os valores médios dos teores de compostos orgânicos e inorgânicos da casca de arroz e T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> e T<sub>3</sub> para a queima das cascas de arroz agulhinha e cateto.



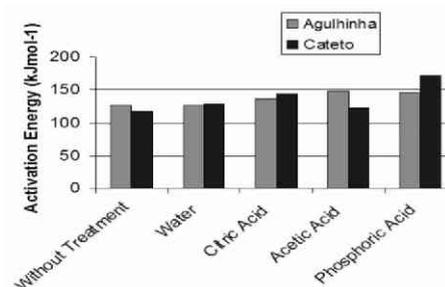
**Fig. 1.** Curvas TG das cascas de arroz agulhinha em ar sintético e razão de aquecimento de 10°C/min.

**Tabela 1.** composição orgânica e inorgânica, T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> e T<sub>3</sub> das cascas de arroz agulhinha.

Tratamento químico	Orgânicos (200 - 650 °C)	Resíduo (650 °C)	T <sub>1</sub> (°C)	T <sub>2</sub> (°C)	T <sub>3</sub> (°C)
Sem tratamento	74,70%	16,60%	173,1	263,6	496
Água	78,60%	15,50%	202,1	287,8	565,8
Ácido cítrico	77,40%	17,00%	191,4	315,8	619,6
Ácido Acético	76,60%	17,10%	184,7	310	623,3
Ácido Fosfórico	78,50%	14,40%	209,2	308,6	607,2

A energia de ativação (E<sub>a</sub>) da queima da casca de arroz de ambas as variedades, para todos os processos de extração, foi calculada pelo Método Osawa, e os valores obtidos estão mostrados na figura 2.

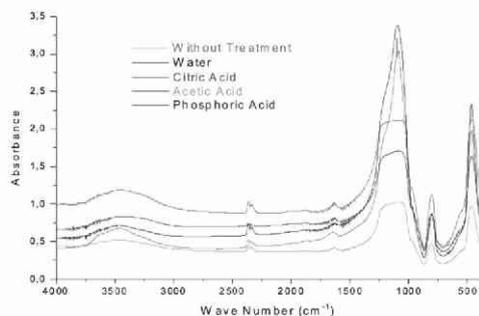
Pela figura 2 pode-se afirmar que houve um aumento da E<sub>a</sub> da casca de arroz causado pelos tratamentos ácidos, alcançando valores da ordem de 150kJmol<sup>-1</sup>.



**Fig. 2.** E<sub>a</sub> do processo de degradação térmica das cascas de arroz agulhinha e cateto.

Este aumento da  $E_a$  é explicado pela retirada de substâncias voláteis e menos estáveis termicamente pelos tratamentos realizados.

Pela análise de FT-IR (fig. 3) percebe-se uma ótima correlação de bandas com o espectro obtido na literatura, todas apresentando uma banda larga entre 2900 e 3800  $\text{cm}^{-1}$ , e as bandas em 1100  $\text{cm}^{-1}$  e em 900  $\text{cm}^{-1}$ , característicos das ligações OH e Si-O respectivamente. A figura 3 mostra os espectros de FT-IT dos materiais obtidos da queima das cascas de arroz agulhinha.



**Fig. 3.** Espectros FT-IR dos materiais obtidos a partir da queima da casca de arroz agulhinha.

A tabela 3 indica os valores médios da distribuição de partícula das sílicas comerciais Aldrich e Tixosil e das sílicas obtidas neste estudos. Pôde-se confirmar a presença de estruturas nanométricas de sílica a partir da casca de arroz, sendo a sílica a partir da casca de arroz cateto tratada com água a de menor tamanho médio de partícula, 180,2nm.

**Tabela 3.** Distribuição do tamanho médio de partícula dos materiais obtidos da queima da casca de arroz e das sílicas Aldrich e Tixosil.

Amostra	Diâmetro médio (nm)
Aldrich	292,1
Tixosil	265,6
Agulhinha sem tratamento	182,6
Agulhinha lavada 4x com água	190,6
Agulhinha tratada com ácido cítrico	250,4
Agulhinha tratada com ácido acético	294,7
Agulhinha tratada com ácido fosfórico	241,6
Cateto sem tratamento	181,2
Cateto lavada 4x com água	180,2
Cateto tratada com ácido cítrico	249,9
Cateto tratada com ácido acético	273,8
Cateto tratada com ácido fosfórico	239,8

### Conclusões

A partir do método utilizado para a extração de sílica a partir da casca de arroz, foi possível a obtenção de estruturas de tamanhos nanométricos, muitas vezes com tamanhos médios de partículas menores do que os das sílicas disponíveis no mercado, como mostra a análise de tamanho de partícula.

Foi encontrada uma maior quantidade de sílica na casca de arroz cateto, em torno de 15 % em massa e foi utilizado o método de Osawa para determinar as energias de ativação,  $E_a$ , para até 50% da massa da casca de arroz degradada. Com o tratamento com ácido fosfórico na casca de arroz cateto, foi obtida a maior energia de ativação,  $E_a = 170,6 \text{ kJmol}^{-1}$ , sugerindo uma maior retirada de compostos de baixo peso molecular, aumentando a estabilidade térmica da casca de arroz. O tratamento feito com 4 lavagens de água na casca de arroz não se mostrou tão eficiente quanto os tratamentos ácidos realizados. E partir das temperaturas  $T_1$ ,  $T_2$  e  $T_3$ , será possível determinar e otimizar temperaturas tanto para processos de incorporação das casca de arroz em polímeros para a fabricação de compósitos como para a extração de sílica com condições mais controladas, sendo portanto uma alternativa viável para o estudo da obtenção e formulação de compósitos a partir de matérias primas renováveis.

### Agradecimentos

CNPq, FINEP/MCT, EMBRAPA.

### Referências

- AMICK, J.K., *J. Electrochem. Soc.*, v. 129, (1982), p. 864-866.
- DELLA, V. P.; HOTZA, D.; JUNKES, J. A.; OLIVEIRA, A. P. N.; *Química Nova*; vol. 29, n. 6, 2006, p. 1175-1179
- DE SOUZA, M.F., BATISTA, P.S.; LIBORIO, J.B.L., **Patente Brasileira PI 9903208**, (1999)
- DE SOUZA, M.F.; MAGALHÃES, W.L.E.; PERSEGUIL, M.C., *Materials Research*, Vol. 5, No. 4, 467-474, 2000
- HOUSTON, D. F.; Rice Hull, in: Rice Chemistry and Technology; **American Association of Cereal Chemists Inc.**, Saint Paul, MN, 1972, p. 301-352.
- [http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/Fonte\\_sHTML/Arroz/ArrozIrrigadoBrasil/cap08.htm#top\\_o](http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/Fonte_sHTML/Arroz/ArrozIrrigadoBrasil/cap08.htm#top_o), (acessado em março de 2008).
- GALLO, J. R.; FURLANI, P. R.; BAYAGLIA, O. C.; HIROCE, R.; *Ciência e Cultura*; vol. 26, n. 3, 1974.

## ÍNDICE REMISSIVO

Adriana Coatrini Thomazi - 171  
Adriana de Campos - 113, 173  
Adriel Bortolin - 116  
Alexandra Manzoli - 56, 59  
Aline Carlos de Oliveira - 19, 32, 35, 37  
Amanda K. Monteiro - 219  
Ana Carolina Corrêa - 119, 127  
Ana Cristina de Oliveira Monteiro Moreira - 53, 61  
Andre Santiago Afonso - 22  
André Torre Neto - 56  
Andréa Renata Malagutti - 123  
Andréia Aparecida de Souza - 204  
Antonio Gomes Soares - 73  
Armando Henriques Vieira - 64  
Augusto César Vieira Neves Junior - 73  
Bor-Sen Chiou - 145, 148  
Camila Gregorut - 24  
Carla Silva Teba - 154, 179, 198  
Carlos Eduardo de Moraes Vieira - 98  
Carlos Manoel Pedro Vaz - 19, 32, 35, 37  
Carlos Wanderlei Piler Carvalho - 154, 179, 182, 198, 201  
Carlucio Roberto Alves - 61  
Cauê Ribeiro - 123, 130, 142, 157, 168, 171, 237, 240, 247, 250  
Celli Rodrigues Muniz - 76  
Cezar C. Arruda - 247  
Clarice Steffens - 56,59  
Clarissa Silva Pires de Castro - 19, 37  
Cláudio Habert - 85  
Cristina Maria Cirino Picchi - 243  
Cristina Tristão de Andrade - 139, 154  
Daniel Cordeiro da Costa - 76  
Daniela de Grandi - 73  
Delilah Wood - 165  
Diego M. Nascimento - 219

Diego Palmiro Ramirez Ascheri - 154, 179, 182, 198  
Douglas de Britto - 47, 79, 82, 92, 95, 101  
Edinaldo José Ferreira - 64  
Édson Noriyuki Ito - 160  
Eliangela de Moraes Teixeira - 119, 127, 151, 191, 216, 245  
Elias Antonio Berni Neto - 130  
Elisangela Corradini - 133, 175, 177, 186, 194, 196  
Eliton S. Medeiros - 219, 222, 225  
Elson Longo - 247  
Eraldo José Madureira Tavares - 136, 173  
Fabiana Eiko Shibahara Asano - 82  
Fabiana Lindenberg Santos - 139  
Fábio Galvani - 175, 177, 194, 196  
Fábio Plotegher - 142  
Fabio Rosa Barreira - 85  
Fauze Ahmad Aouada - 116, 136, 145, 148, 207  
Fernanda Ramos de Andrade - 32, 35  
Fernando Josepetti Fonseca - 24,26, 40  
Flávia França Teixeira - 160, 245  
Flávio de Vasconcelos - 136  
Francieli Borges de Oliveira - 151, 191  
Francys Kley V. Moreira - 151, 186  
Gabriela S. do Nascimento - 157  
Geisa Oliveira Rocha - 154, 179, 198  
Germano Inácio Netto - 29  
Gilberto de Souza Batista - 243  
Gino Ceotto Filho - 162  
Giovanni Pimenta Mambrini - 157, 171  
Guilherme S. Braga - 26  
Gustavo Figueira de Paula - 29  
Gustavo Miranda Guimarães - 160  
Helena Henriques Vieira - 64  
Henriette M. C. de Azeredo - 162, 165  
Henrique A. J. Loures Mourão - 123, 168  
Hidetake Imasato - 107  
Jackeline Salmeirão Rizzo - 101  
João Bosco de Carvalho - 61  
João Paulo Saraiva Moraes - 32, 35, 171, 173

John M. Krochta - 210, 213  
Jonatas Gomes da Silva - 19, 37  
José A. Malmonge - 219, 222  
José Alexandre Simão - 175, 177  
José Augusto Marcondes Agnelli - 228  
José Dalton Cruz Pessoa - 186  
José Luis Ramírez Ascheri - 154, 179, 182, 198, 201  
José Manoel Marconcini - 160, 173, 175, 177, 186, 194, 196, 245, 252  
José Roberto Garbin - 123  
Josemeyre Bonifácio da Silva - 24, 40  
Josiele Brilhante Silva - 76  
Juan Antonio Ruano Ortiz - 179, 182  
Juliana Aparecida Scramin - 89, 104, 107  
Juliane Cristina Borba - 186  
Juliano Elvis de Oliveira - 32, 35, 44, 50, 61  
Júlio Ximenes - 188, 230  
Jurandir R. de Souza - 37  
Kátia Gomes de Lima Araújo - 139  
Kelcilene Bruna Ricardo Teodoro - 127, 181  
Kleber Augusto da Silva - 194, 196  
Leandro Feitosa - 207  
Leandro Prezotto da Silva - 47  
Leonardo Fernandes Fraceto - 207, 233  
Leonardo Giordano Paterno - 24, 26  
Leonardo Marinho Fernandes - 198  
Lourdes Maria Correa Cabral - 85, 201  
Lúcia Helena Mascaro - 19, 37  
Luciano Paulino da Silva - 204  
Lucimara Aparecida Forato - 89, 101, 104, 107  
Luis C. Morais - 50  
Luiz A. Colnago - 89, 157  
Luiz Antonio Pessan - 119  
Luiz Gustavo Viana de Souza - 201  
Luiz Henrique Capparelli Mattoso - 22, 29, 32, 35, 44, 53, 61, 64, 67, 116, 119, 127, 133, 136, 145, 148,  
151, 162, 165, 175, 177, 186, 191, 194, 196, 207, 210, 213, 216, 219,  
222, 225, 228, 230, 237, 240, 243, 245  
Luzia Helena C. Lima - 37

Magali Aparecida Rodrigues - 204  
Marçal Henrique Amici Jorge - 175, 177, 194, 196  
Márcia Regina de Moura - 133, 136, 207, 210, 213  
Márcia Toffani Simão Soares - 175, 177, 194, 196  
Marcos Enê Chaves Oliveira - 67, 136  
Marcos Y. Kamogawa - 67  
Maria Alice Martins - 216  
Maria Carolina Blassioli-Moraes - 37, 204  
Maria Cristina Dias Paes - 160, 245  
Maria do Socorro Rocha Bastos - 76  
Maria Izabel Florindo Guedes - 61  
Mariana Coutinho Magnani Carneiro - 186  
Mariana R. L. e Silva - 37  
Marina Colzato - 89  
Mariselma Ferreira - 188, 216, 230  
Marta Érica Saide - 53  
Maximiliano L. Munford - 162  
Mercedes Concórdia Carrão-Panizzi - 24, 40  
Miguel Borges - 204  
Mirna Helena Regali Seleglim - 47  
Morsyleide F. Rosa - 219, 222, 225  
Murillo Freire Junior - 73, 85  
Nadja Karolina Leonel Wiziack - 24  
Nélson Consolin Filho - 64  
Odilio B.G. Assis - 47, 50, 79, 82, 89, 92, 95, 98, 101, 104, 107  
Paulo de Souza Gonçalves - 216, 243  
Paulo Sérgio de Paula Herrmann - 56, 59  
Pedro César Zavitoski - 56  
Rafael Moysés Alves - 136  
Rafael Salomão - 188  
Rafaella Takehara Paschoalin - 56, 59  
Raul Alberto Laumann - 204  
Regina Celi Cavestré Coneglian - 73  
Rejane Celi Goy - 95, 98  
Rejane Cristina Trombini Pereira - 228  
Renata Cristina Gandolfi - 230  
Renata de Lima - 207, 233  
Ricardo Martins de Oliveira - 252

Roberto J. Avena-Bustillos - 210, 213  
Rodrigo Fernando Pepino - 64  
Rodrigo G. F. Costa - 237, 240  
Rogério Manoel Biagi Moreno - 243  
Rolselayne Ferro Furtado - 53  
Ronaldo Censi Faria - 22  
Ronaldo Franco de Oliveira Cardoso - 245  
Ronoel Godoy - 201  
Rosa Amália Fireman Dutra - 53  
Rosa Fireman Dutra - 61  
Roselayne Ferro Furtado - 61, 76  
Rubens Bernardes Filho - 50, 98, 104, 107  
Sandra Helena Prudêncio - 40  
Sandra Mara Martins Franchetti - 113, 228  
Sérgio Campana Filho - 230  
Silviane Zanni Hubinger - 173  
Sinara T.B. Morais - 95  
Suely Pereira Freitas - 73, 85  
Syed H. Imam - 219, 222, 225  
Tania R. Giraldi - 171, 247  
Tara H. McHugh - 161, 165, 210, 213  
Tassiane Regina Alves Corrêa - 104  
Tatiane Duarte Mattos - 50  
Thalita Jéssika Bondancia - 127, 151, 191  
Vagner Romito de Mendonça - 250  
Valtencir Zucolotto - 44, 130  
Victor Bertucci Neto - 64  
Vieira, C.E.M. - 107  
Vitor Brait Carmona - 252  
Vitor Paulo Andrade da Silva - 61  
Viviane Grassi - 32, 35, 67  
Washington Luiz Assunção Pereira - 136  
William J. Orts - 145, 148  
Wilson Tadeu Lopes da Silva - 32, 35, 252  
Zhongli Pan - 145, 148







*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária*

*Embrapa Instrumentação Agropecuária*

*Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

*Rua XV de Novembro, 1452 - Caixa Postal 741 - CEP 13560-970 - São Carlos - SP*

*Telefone: (16) 2107 2800 - Fax: (16) 2107 2902*

*www.cnpdia.embrapa.br - sac@cnpdia.embrapa.br*

## Apoio:

**Ministério da  
Ciência e  
Tecnologia**



## Realização:



**Ministério da  
Agricultura, Pecuária  
e Abastecimento**

