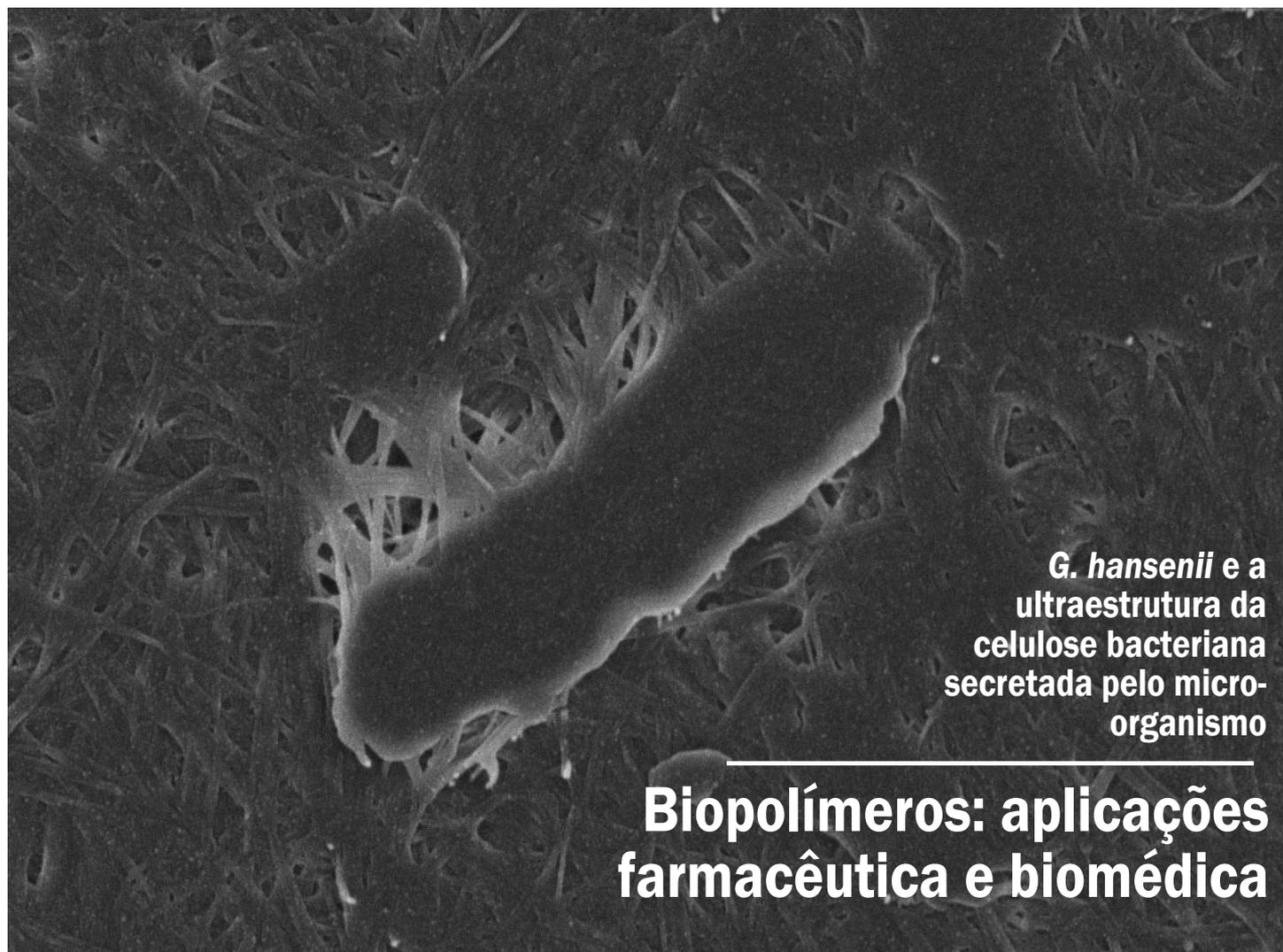




Eclética Química Journal

Volume 41 • year 2016



G. hansenii e a
ultraestrutura da
celulose bacteriana
secretada pelo micro-
organismo

**Biopolímeros: aplicações
farmacêutica e biomédica**

Aciclovir

Estudo comparativo
do antirretroviral
obtido via internet

Sunflower oil

Stepwise production of
biofuels and additives with
3-methylimidazolium
hydrogensulphate as
catalyst

DNA

Thermodynamics of
DNA with “hump”
Morse potential

Rutina

Determinação de
rutina em
formulações
farmacêuticas

unesp

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”



Instituto de Química
UNESP
Araraquara

ISSN 1678-4618

Eclética Química Journal

Original research publication in all aspects of Chemistry
homepage: <http://revista.iq.unesp.br/ojs/index.php/ecletica/>
ISSN 1678-4618

Eclética Química Journal publishes original research papers, review articles, and technical notes in all areas of Chemistry and chemistry-related subjects including, but not limited to, materials engineering, environment, biotechnology, and chemical and biological processes. Special issues dedicated to Symposia or Congresses of Chemistry may be published.

The journal is a peer-reviewed scientific periodic that does not charge author an article processing fee. All manuscripts undergo a rigorous double-blind peer-review process.

Eclética Química Journal is an open access journal published online quarterly by the Institute of Chemistry of Sao Paulo State University – UNESP since 1976. Its abbreviated title is **Eclet. Quim. J.**, which should be used for referencing purposes.

Editorial Team

Editors

Prof. Assis Vicente Benedetti, Institute of Chemistry Unesp Araraquara, Brazil (Editor-in-Chief)

Prof. Arnaldo Alves Cardoso, Institute of Chemistry Unesp Araraquara, Brazil

Prof. Antonio Eduardo Mauro, Institute of Chemistry Unesp Araraquara, Brazil

Prof. Maysa Furlan, Institute of Chemistry Unesp Araraquara, Brazil

Prof. Maria Célia Bertolini, Institute of Chemistry Unesp Araraquara, Brazil

Editorial Board

Prof. Jairton Dupont, Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, RS, Brazil

Prof. Enric Brillas, Facultat de Química, Universitat de Barcelona, Spain

Prof. Verónica Cortés de Zea Bermudez, Escola de Ciências da Vida e do Ambiente, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, Portugal

Prof. Lauro Kubota, Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Unicamp, SP, Brazil

Prof. Ivano Gerardt Rolf Gutz, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, USP, SP, Brazil

Prof. Massuo Jorge Kato, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, USP, SP, Brazil

Prof. Francisco de Assis Leone, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, USP-RP, SP, Brazil

Prof. Roberto Santana da Silva, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, USP-RP, SP, Brazil

Prof. José Antônio Maia Rodrigues, Faculdade de Ciências, Universidade do Porto, Portugal

Prof. Bayardo Baptista Torres, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, USP, SP, Brazil

Eclética Química Journal

Original research publication in all aspects of Chemistry
homepage: <http://revista.iq.unesp.br/ojs/index.php/ecletica/>
ISSN 1678-4618

EDITORIAL

Criada em 1976, com o nome Revista “Eclética Química”, teve como seu primeiro Editor o Prof. Waldemar Saffioti, também fundador do Curso de Química de Araraquara no Departamento de Química da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Araraquara, convertido no atual Instituto de Química quando da Criação da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP em 1976. A Revista “Eclética Química” destinava-se à publicação de trabalhos das mais diversas áreas da Química, em português, espanhol, inglês, alemão, italiano ou francês. Gradativamente, a Revista orientou suas publicações em português, inglês ou espanhol até 2016.

O presente número da Revista Eclética Química se reveste de um simbolismo único ao encerrar um longo ciclo de edições iniciado em 1976. Muitos foram os pesquisadores de universidades e centros de pesquisa brasileiros, bem como alguns do exterior, que encontraram na Eclética Química um periódico consistente e respeitável para a divulgação de seus resultados científicos. O lançamento pioneiro da Eclética Química à época rompeu paradigmas, atendendo a uma demanda de parte substancial da comunidade química e afins para disseminar seus artigos em um periódico respaldado numa análise criteriosa.

Uma leitura da realidade atual que cerca a edição de periódicos configurou um outro pioneirismo da Eclética Química, implicando em mudanças significativas na sua linha editorial. A partir do próximo número, os artigos serão publicados exclusivamente em inglês, o que levou à alteração do nome da revista para Eclética Química Journal (Eclét. Quim. J.). Foram implementados processos de submissão e de análise dos artigos comparáveis àqueles de respeitáveis periódicos internacionais. O *Digital Object Identifier* (DOI) já é uma realidade para a Revista **Eclética Química Journal**. Atualmente está sendo providenciada a indexação do Eclét. Quim. J. em várias bases de dados, diretórios, portais e divulgadores além dos que já estão ativos. Cabe reconhecer a história repleta de prestígio da Eclética Química e seu expressivo patrimônio científico. Isso se deve ao trabalho significativo desenvolvido pelos Editores, Corpo Editorial, assessores, avaliadores e especialmente os autores que contribuíram para a manutenção da revista.

Eclética Química Journal

Original research publication in all aspects of Chemistry
homepage: <http://revista.iq.unesp.br/ojs/index.php/eclética>
ISSN 1678-4618

| Vol. 41 | 2016 |

Biopolímeros: aplicações farmacêutica e biomédica

Eliane Trovatti^{1*}, Aline M. dos Santos², André C. Amaral¹, Andréia B. Meneguim¹³, Bruna D. M. Matos¹, Guilherme Pacheco¹, Renata A. de Carvalho¹, Silmara C. Lazarini¹, Valéria M. O. Cardoso², Wilton R. Lustri¹, Hernane S. Barud¹

Resumo: O estudo e desenvolvimento de polímeros para aplicação nas áreas biomédica e farmacêutica têm aumentado devido às suas propriedades peculiares que contribuem para a melhoria da qualidade de vida, como por exemplo, os polímeros usados em medicina regenerativa e sistemas de liberação de fármacos. O desenvolvimento de novos materiais baseados em polímeros depende desde os métodos de síntese, extração ou composição desses materiais até os estudos da influência de suas estruturas e propriedades em aplicações específicas, entre outras. Esta revisão descreve o uso de alguns de polímeros novos e convencionais com potencial para aplicação nas áreas farmacêutica e biomédica, enfatizando as principais propriedades que os tornam aplicáveis.

Palavras-chave: biopolímero, medicina regenerativa, liberação de fármacos

Abstract: The study and development of polymers for pharmaceutical and biomedical use has been increasing due to their peculiar properties that contribute for the improvement of the life quality, such as the polymers used in regenerative medicine and in drug release systems. The development of new polymer based materials and its composites depends on several steps, such as the synthesis approach, the extraction, the composition, the influence of their properties on the specific applications, and others. This review describes the use of conventional and new polymers with potential application in pharmaceutical and biomedical fields, highlighting the properties that allow them to be useful for such purposes.

Keywords: biopolymer, regenerative medicine, drug delivery

¹ Programa de Pós -Graduação em Biotecnologia em Medicina Regenerativa e Química Medicinal (PPGB-MRQM), Universidade de Araraquara, UNIARA, 14801-340, Araraquara - SP, Brasil

² Departamento de Fármacos e Medicamentos, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, UNESP, 14801-902, Araraquara - SP, Brasil

³ Centro de Ciências da Natureza – CCN, Universidade Federal do Piauí – UFPI, 64049-550, Teresina - PI, Brazil

* elianetrov@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

A demanda de novos materiais para a terapia celular, medicina regenerativa e liberação de fármacos é crescente em função do decréscimo do tempo de recuperação e a melhoria da qualidade de vida de pacientes beneficiados por tais sistemas. Sistemas para carreamento e liberação de fármacos e materiais para substituição permanente ou temporária de tecidos injuriados são exemplos de aplicações crescentes na área biomédica. Os polímeros degradáveis *in vivo*, naturais ou sintéticos, são outro exemplo a ser citado para aplicação em substituição temporária de tecidos. O desenvolvimento de novos materiais para uso nestas áreas sofreu grandes evoluções nas últimas décadas, porém, apesar de encontrar diversos sistemas e materiais com aplicação clínica, existe muito a ser explorado em busca daqueles com propriedades mais próximas das ideais^{1,2}. As propriedades dos polímeros, por sua vez, dependem da sua estrutura química.

A degradação desses materiais no interior de organismos animais leva conforto ao paciente no sentido de evitar uma cirurgia para remoção do material implantado. Nesse contexto, a estrutura química dos materiais está diretamente relacionada com sua taxa de degradação e ainda necessita ser estudado a respeito da relação estrutura química/degradação. Os produtos de degradação desses materiais também devem ser considerados durante a avaliação de um biomaterial, pois não devem ser tóxicos ou causar quaisquer tipos de efeitos não desejados ao paciente. Materiais não completamente degradáveis, porém, biocompatíveis, são também de grande valia para as áreas em questão, visto que podem compor sistemas inovadores, conforme apresentado no decorrer deste texto^{2,3}.

Dentro desse contexto, este trabalho descreve as principais propriedades e aplicações de alguns polímeros que vêm ganhando destaque nas áreas farmacêutica e biomédica, a iniciar-se pela fibrina, um polímero natural de função e aplicação já bem estabelecidas em procedimentos médicos. Em

seguida, serão abordados a celulose bacteriana, pectina, amido resistente, quitosana, goma gelana, ácido polilático e policaprolactona, polímeros que se encontram em estágio de pleno desenvolvimento para futuras aplicações práticas nas áreas aqui abordadas.

PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

1. BIOPOLÍMEROS

1.1. Fibrina

Fibrinogênio e fibrina constituem proteínas que apresentam funções importantes em vários processos biológicos, como coagulação sanguínea, fibrinólise, interações celulares, resposta inflamatória e processo de cicatrização⁴.

O fibrinogênio consiste em uma glicoproteína solúvel de 340 kDa, normalmente presente no plasma sanguíneo em concentração aproximada de 2,5 g L⁻¹ que, por ação proteolítica da trombina, é convertido em fibrina^{4,5}, sendo uma proteína bastante heterogênea devido a variações na proteólise parcial, fosforilação ou sulfatação de resíduos de aminoácidos, polimorfismo genético e *splicing* alternativo⁶.

Estruturalmente, o fibrinogênio é formado por cadeias $\alpha\alpha'$, $\beta\beta'$ e 2 cadeias γ unidas por 29 ligações bissulfeto. As regiões C-terminais das cadeias $\beta\beta'$ e γ formam os domínios D, e as regiões N-terminais das cadeias restantes, formam o domínio E. Os domínios D se encontram conectados ao domínio E por dois segmentos de α -hélices contorcidas (Figura 1). As regiões C-terminais $\alpha\alpha'$ são globulares e encontram-se ligadas ao domínio E^{7,8}.

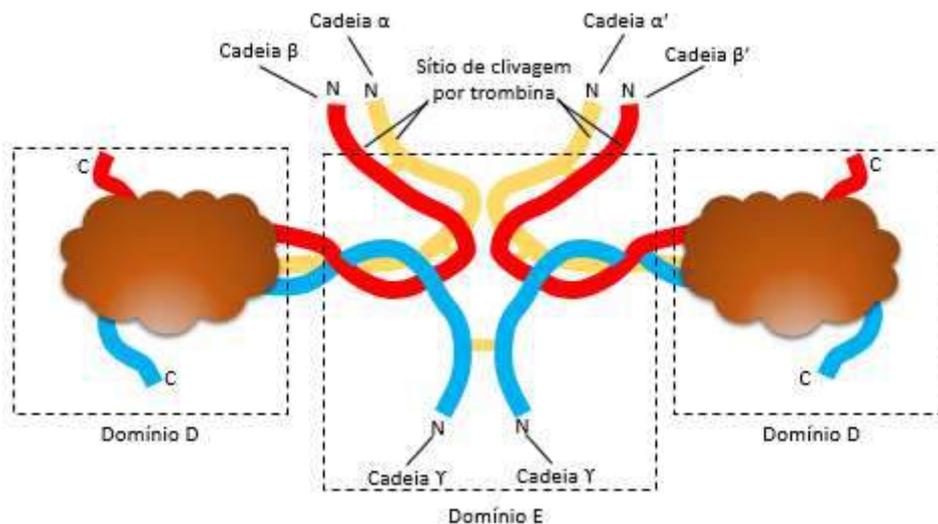


Figura 1. Estrutura do Fibrinogênio.

O processo de formação da fibrina tem início com a clivagem proteolítica da região N-terminal de $\alpha\alpha'$ e $\beta\beta'$, pela trombina, com a liberação dos fibrinopeptídeo A (FPA) e B (FPB), sendo que a clivagem do FPA induz a polimerização em protofibrilas⁵, enquanto FPB é clivado mais

lentamente do que FPA pela trombina⁹. A ligação cruzada entre os monômeros de fibrina é estabilizada pelo fator XIIIa (Figura 2) que proporciona melhoria nas propriedades mecânicas e bioquímicas da fibrina e promove resistência à fibrinólise¹⁰.

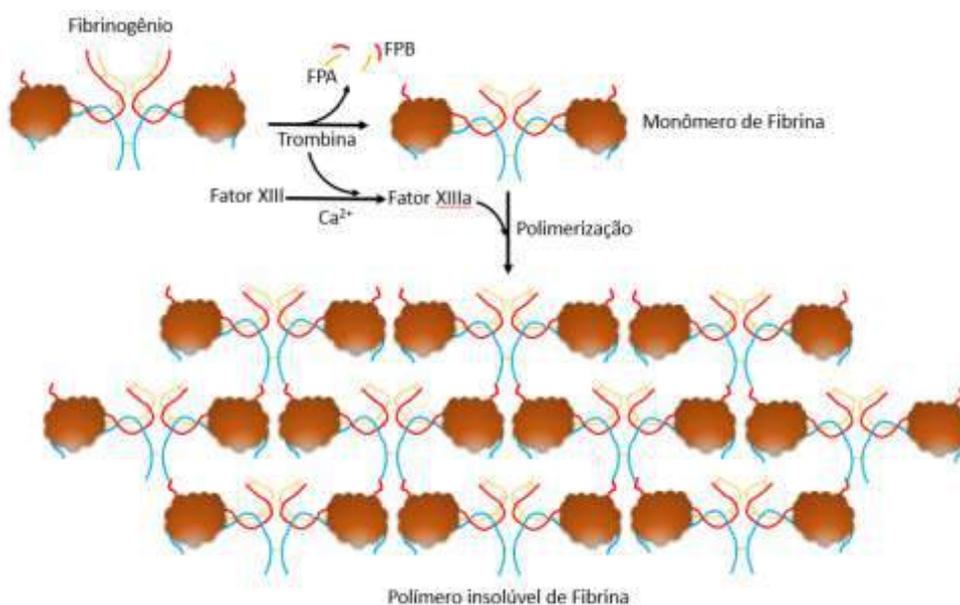


Figura 2. Polimerização e formação do polímero insolúvel de fibrina.

Outra propriedade importante da fibrina é a biodegradabilidade determinada pela ação da plasmina, originária do plasminogênio, por ação do

Fator Ativador de Plasminogênio Tecidual (AP-t) e a uroquinase (Figura 3).

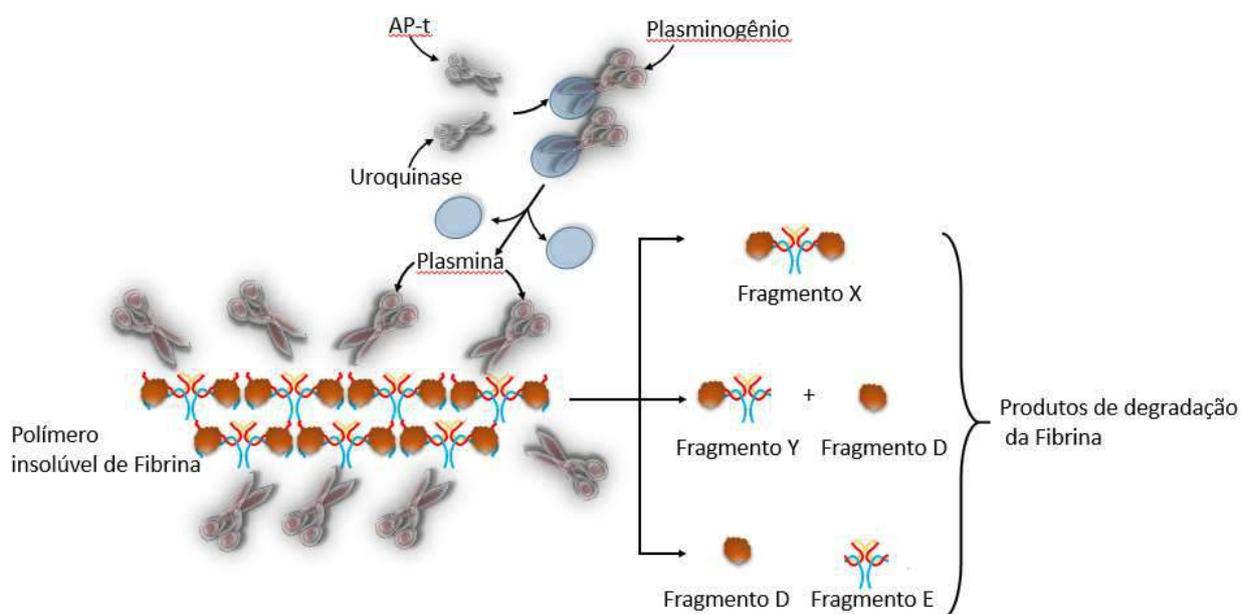


Figura 3. Fibrinólise.

As propriedades bioquímicas e mecânicas apresentadas pela fibrina permitem sua aplicação em medicina e bioengenharia como selante^{11,12} aprovado pelo *Food and Drug Administration* (FDA).

O selante de fibrina é um material constituído basicamente por dois componentes, fibrinogênio e trombina, que na presença de cálcio e do fator XIIIa, a trombina é capaz de converter fibrinogênio em fibrina insolúvel, que constitui a forma estável final do agente¹². Os relatos da utilização de selantes de fibrina datam de longo tempo, como pinça¹³, como adesivo¹⁴. São várias as aplicações dos selantes de fibrina em especialidades cirúrgicas, como cirurgia geral, cirurgia vascular e cardiovascular, neurocirurgia, cirurgia urológica¹⁵, cirurgia plástica e reconstrutiva, incluindo cirurgia de reconstituição de queimaduras, cirurgia craniofacial e cirurgia microvascular¹⁶, como cola hemostática¹⁷, artroplastia de joelho^{18,19} e cirurgias odontológicas²⁰. Sua vasta aplicação clínica deve-se basicamente às suas propriedades químicas, com

destaque para sua capacidade de adesão, biodegradabilidade e biocompatibilidade. Como se pode concluir, selantes de fibrina apresentam múltiplos usos e a realização de novos estudos randomizados *in vivo* devem resultar em melhorias na assistência intra e pós-operatória ao paciente.

1.2. Celulose Bacteriana

A celulose é um dos biopolímeros mais abundantes da natureza e, embora os vegetais constituam a fonte mais importante desse polímero, ele também pode ser produzido por vários tipos de organismos, incluindo bactérias^{21,22}. Em vegetais, a celulose encontra-se associada a outros componentes como lignina e hemicelulose. A celulose bacteriana (CB) constitui um homopolímero natural (poli β -(1 \rightarrow 4)-D-glicose) linear com estrutura constituída por unidades de β -D-glicopiranosose unidas por ligações glicosídicas do tipo β -(1 \rightarrow 4) isento de lignina e hemicelulose (Figura 4)²³.

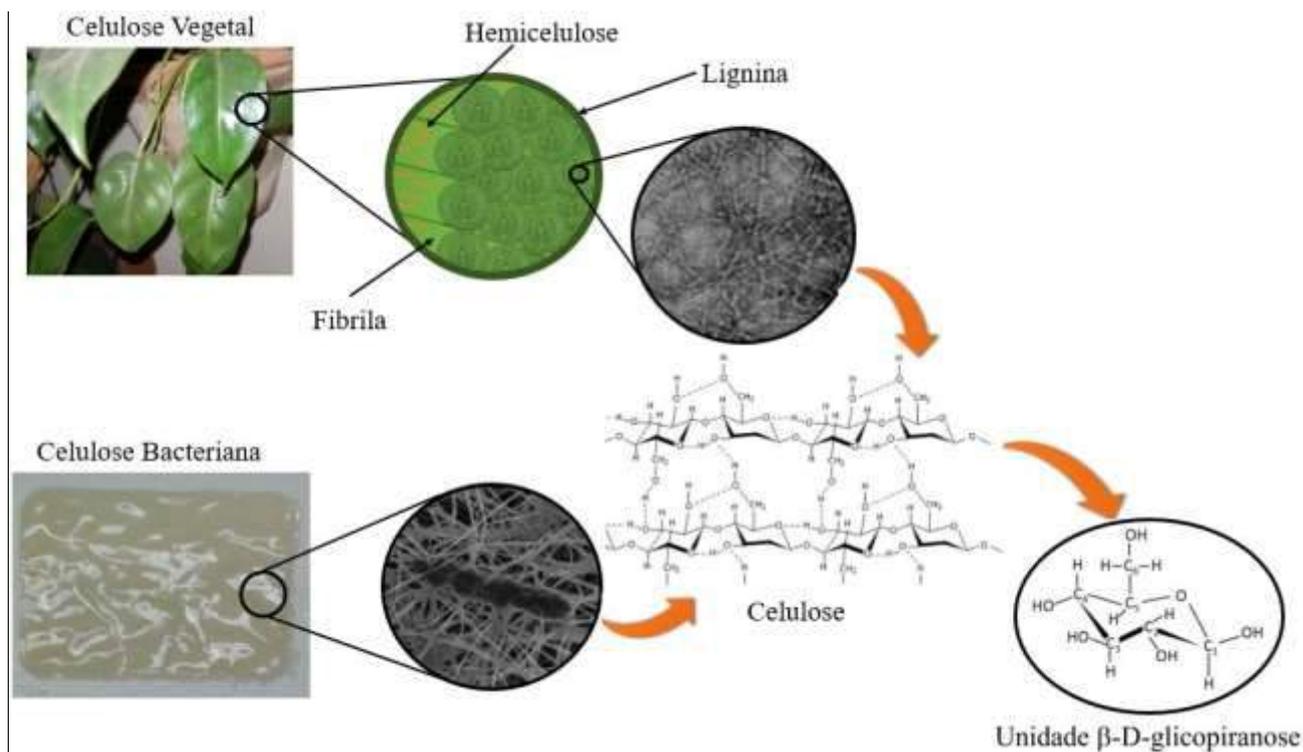


Figura 4. Desenho esquemático da diferença entre celulose vegetal constituída de celulose, lignina e hemicelulose e a celulose bacteriana constituída pela celulose pura²⁴.

A CB possui a mesma estrutura química da celulose proveniente de plantas, mas suas fibras de dimensões nanométricas conferem-lhe propriedades distintas. Entre essas propriedades, destacam-se a alta resistência mecânica à tração e a possibilidade de inserção de materiais para obtenção de compósitos no espaço entre as fibras. Recentemente, essas inserções têm sido feitas *in situ*, durante o cultivo de bactérias do gênero *Gluconacetobacter*²³.

A formação de fibras de celulose é devida à ocorrência de ligações de hidrogênio, responsáveis

pela consistente associação entre as macromoléculas lineares de celulose. Estruturalmente, a CB é composta por uma rede tridimensional de nanofibras, mantidas por ligações de hidrogênio com interações intra e interfibrilares (Figura 5) resultando em um hidrogel com elevada resistência mecânica. O primeiro tipo de interação é responsável pela rigidez da cadeia e o segundo pela formação da fibra vegetal^{25,26}.

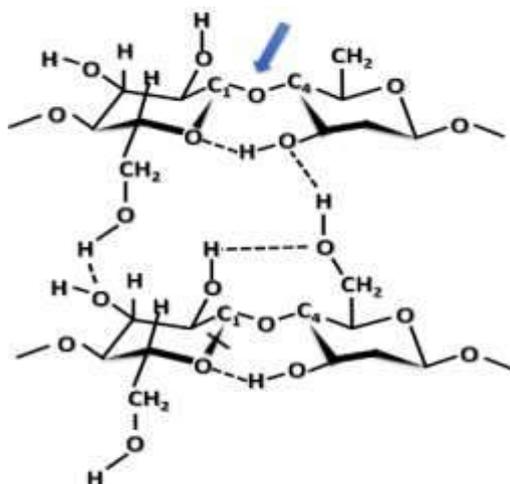


Figura 5. Estrutura da celulose. As linhas pontilhadas esquematizam as ligações de hidrogênio possíveis e a seta azul, a ligação β -(1 \rightarrow 4).

As nanofibras constituem uma estrutura tridimensional com grande quantidade de espaços vazios entre as fibras, criando assim uma área de superfície estendida com geometria variada dos poros (Figura 6) proporcionando propriedades notáveis à CB, incluindo alta resistência mecânica, elevada cristalinidade, alta capacidade de retenção de água, biodegradabilidade, biocompatibilidade e capacidade de ter suas estruturas tridimensionais moldadas durante a síntese^{23,27}.

As membranas de CB também apresentam elevada capacidade de absorção de diferentes espécies iônicas, moleculares ou até mesmo a estabilização de partículas, pois apresentam uma estrutura altamente hidratada. Essa estrutura tem favorecido a utilização da CB como agente de reforço, como molde, na preparação de copolímeros e na formação de redes interpenetradas com elevado grau de inter cruzamento^{28,29}.

A CB pode ser produzida por bactérias como *Sarcina*, *Agrobacterium*, *Rhizobium* e *Acetobacter*³⁰, entre outros micro-organismos. Um destaque especial é dado às bactérias do gênero *Gluconacetobacter*, especialmente pelas espécies *G. xylinus* e *G. hansenii* (Figura 6) devido à sua alta produtividade, utilizando uma variedade de meios de cultivo naturais ou sintéticos, com diferentes fontes de carbono. Desde a sua descoberta, a CB demonstrou ser um biopolímero de grande interesse

para aplicação em várias áreas industriais e médicas^{31,32}.



Figura 6. Microscopia Eletrônica de Varredura da *G. hansenii* e a ultraestrutura da CB secretada pelo micro-organismo.

Bactérias do gênero *Gluconacetobacter* utilizam uma variedade de substratos carbônicos para sintetizar a celulose, entretanto, a síntese depende do ciclo de pentoses e do ciclo de Krebs^{23,33}. A conversão da glicose, transportada a partir do ambiente externo para o citoplasma, é catalisada por quatro enzimas bacterianas: glucoquinase (responsável pela obtenção da glicose-6-fosfato), fosfoglicomutase (responsável pela catálise da glicose-6-fosfato a glicose-1-fosfato), UDPG-pirofosforilase (responsável pela síntese da UDP-glicose) e a celulose sintase (responsável pela polimerização da celulose a partir da UDP-glicose)

(Figura 7). A reação de síntese da celulose bacteriana consome cerca de 10% do ATP gerado

no metabolismo bacteriano, dessa forma, utilizando para sintetizar a celulose o metabolismo aeróbico³⁴.

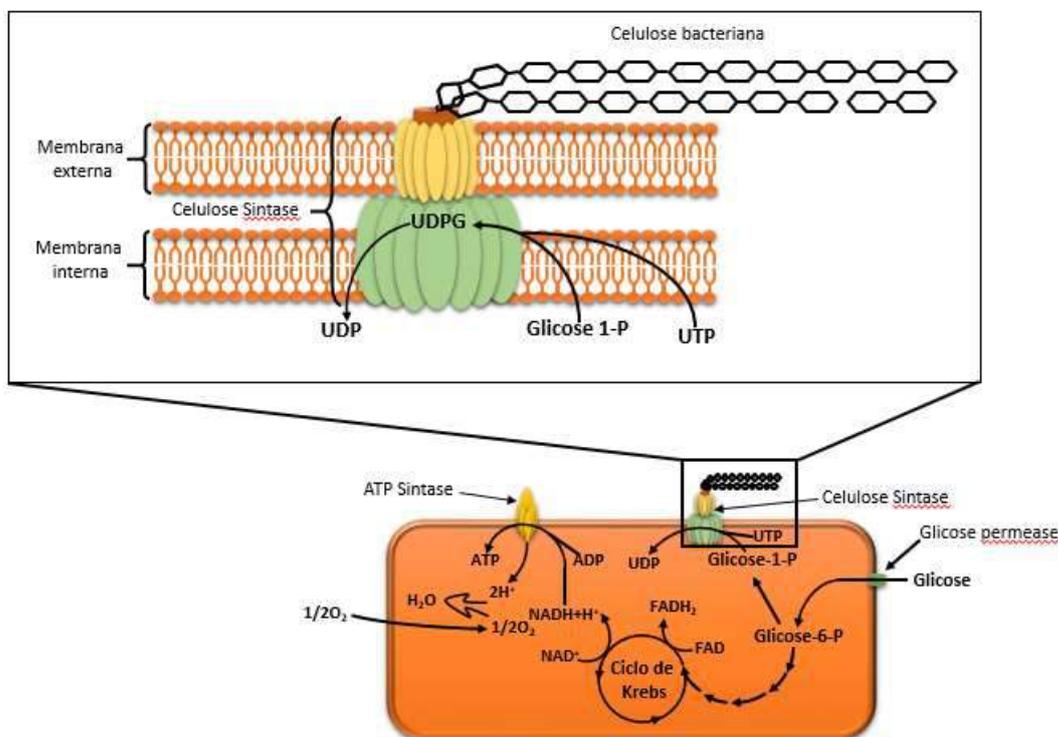


Figura 7. Representação esquemática da síntese da CB.

A degradação da celulose, considerando as fontes vegetais ou bacterianas, acontece através de reações enzimáticas³⁵. A celulose, por ser um polímero complexo e insolúvel, formada por moléculas de glicose, precisa necessariamente, para sua degradação, a ação das celulases³⁶. Na natureza, a hidrólise da celulose ocorre por ação de micro-organismos produtores de celulases, enzimas que hidrolisam a ligação glicosídica.

Segundo Backdahl e colaboradores³⁷, a degradação da CB não está bem esclarecida nem *in vitro*, nem *in vivo*. Em animais, a ausência das celulases faz com que sua degradação seja limitada para aplicação na área biomédica. Embora o interesse na área biomédica seja de um material completamente degradável, a otimização e a sincronia do tempo de degradação relacionado às propriedades mecânicas de biomaterial, como a CB, também pode ser vantajoso em relação aos degradáveis³⁸.

A elevada pureza e as propriedades físico-químicas da CB oferecem uma variedade de

aplicações potenciais, como por exemplo, em indústrias de alimentos, indústria têxtil e, especialmente na área biomédica como curativos para ferimentos^{25,32,39}, substituto temporário de pele no tratamento de úlceras, queimaduras, lesões e enxertos³⁸, vasos sanguíneos⁴⁰ e, em particular, como *scaffolds* para engenharia de tecidos^{41,42} e matriz para liberação controlada de fármacos⁴³. Diante do exposto, pode-se concluir que membranas de CB apresentam diversas aplicações industriais e médicas e a realização de novos estudos para otimizar a produção com baixo custo tem atraído pesquisadores no mundo todo.

1.3. Pectina

A pectina é um heteropolissacarídeo encontrado principalmente na lamela média e na parede celular primária das plantas, sendo responsável pela manutenção de estruturas e pela sustentação da planta^{44,45}. Ela é encontrada abundantemente na natureza, porém, poucas plantas são utilizadas como fonte desse polissacarídeo,

devido ao custo, ao rendimento e ao tempo do processo de extração. As substâncias pécicas normalmente são extraídas a partir de tecidos frescos ou secos de frutas ou vegetais através de diferentes tipos de processos extrativos, tais como extração com água quente, com compostos quelantes e com enzimas. As fontes naturais de pectina que apresentam maior rendimento na sua extração são frutas cítricas, maracujá, toranja e manga; no entanto, esse polissacarídeo tem sido obtido basicamente das cascas de frutas cítricas ou do bagaço da maçã e de resíduos das indústrias que processam sucos^{44,46,47}.

Quimicamente, as pectinas são macromoléculas compostas por homogalacturonana (HG) e ramnogalacturonanas (RG), que são divididas em dois tipos: ramnogalacturonanas I (RG I) e ramnogalacturonanas II (RG II). Ainda existe um quarto domínio denominado xilogalacturonana (XG)^{45,48}.

A HG, descrita como a região lisa ou *smooth region*, representa cerca de 65% da estrutura total da pectina e é uma cadeia linear constituída de resíduos de ácidos galacturônicos (GalA) unidos por ligações glicosídicas do tipo α -(1→4), parcialmente esterificados com grupamentos metila e acetila^{46,48,49}.

As RG I e RG II são definidas como *hairy region* ou regiões altamente ramificadas. A RG I compreende 20 a 35% da estrutura da pectina, constituída de unidades repetidas de dissacarídeos de ácido D-galacturônico ligadas α -(1→4) e ramnose α -(1→2), com uma variedade de cadeias laterais de resíduos de arabinose e galactose, ligadas na forma de mono ou oligossacarídeos^{49,50,51}. A RG II, representante da região mais complexa da estrutura da pectina, é composta por uma cadeia principal, com aproximadamente nove ligações de ácido galacturônico com quatro cadeias laterais complexas, compreendendo 12 monossacarídeos distintos ligados por cerca de 20 diferentes ligações glicosídicas^{52,53}. Dentre os açúcares das cadeias laterais incluem-se os açúcares raros, como o ácido acérico, a apiose, o Dha (ácido 3-deoxi-D-lixoheptulosárico) e o K do (ácido 2-ceto-3-deoxi-D-manooctulosônico)⁵³⁻⁵⁵.

As XG são constituídas por cadeias de HG, parcialmente substituídas na posição O-3 β -D-xilose, e estas podem ser substituídas por uma molécula adicional de xilose gerando um dissacarídeo^{45,56}.

As moléculas de pectina compreendem segmentos lineares de ácido galacturônico, nos quais os grupos carboxílicos podem estar esterificados com metanol (metoxilação). O grau de esterificação (DE) da pectina é definido a partir da proporção dos resíduos de ácido galacturônico metoxilados presentes na molécula. Alguns dos grupos carboxílicos podem se converter em grupos carboxamida, quando a amônia é utilizada no processo de desesterificação, formando pectina amidada. Dessa forma, o DE e o grau de amidação (DA) determinam o conteúdo de ácido carboxílico presente nas cadeias de pectina^{47,57}.

De acordo com o DE, as pectinas são divididas em duas classes: pectinas de alto grau de metoxilação, quando DE > 50%, e pectinas de baixo grau de metoxilação, com um DE < 50%^{44,58}.

O gel de pectina é formado pela reação de reticulação das cadeias de HG, resultando em uma rede tridimensional em que ocorre o aprisionamento de água e outras moléculas⁴⁶. Os fatores que influenciam a formação do gel e que determinam a ocorrência da geleificação são temperatura, pH, concentração de pectina, concentração de solutos (açúcares) e concentração de íons, tais como o Ca^{+2} ^{46,47,57}. A forma como estes fatores influenciam a geleificação são diretamente proporcionais às propriedades moleculares das pectinas, como massa molar, o grau de esterificação e de amidação, a presença de ésteres de acetila na cadeia de galacturonana e a distribuição de ramnose ao longo da cadeia de pectina^{46,47}.

Os mecanismos de geleificação são diferentes para as pectinas de alto grau de metoxilação e pectinas de baixo grau de metoxilação⁴⁷. Nas pectinas de alto grau de metoxilação ocorre a formação de zonas de junção por interações hidrofóbicas e ligação de hidrogênio entre os grupos metoxilados, em pH ácido (< 3,5) e na presença de elevada concentração de açúcares. Nas pectinas de baixo grau de metoxilação, a formação

de géis ocorre na presença de cátions divalentes, como íons Ca^{+2} , que agem como uma ponte entre pares de grupos carboxílicos de diferentes cadeias de pectinas, formando zonas de junção em uma ampla faixa de pH (Figura 8)^{46,47}. Esta condição de formação de zonas de junção é relatada através do modelo caixa de ovos (*egg box*), no qual as cadeias de pectinato são hélices duplas com arranjo

antiparalelo, e essas cadeias, por sua vez, formam espaços ou fendas de ligações nas zonas de junção, aprisionando íons cálcio que ligam as cadeias entre si. O mecanismo de geleificação supostamente compreende duas etapas, sendo a primeira a formação de dímeros (*egg box*) e a segunda a condensação destes dímeros em agregados (*egg box* sobrepostas)⁴⁷.

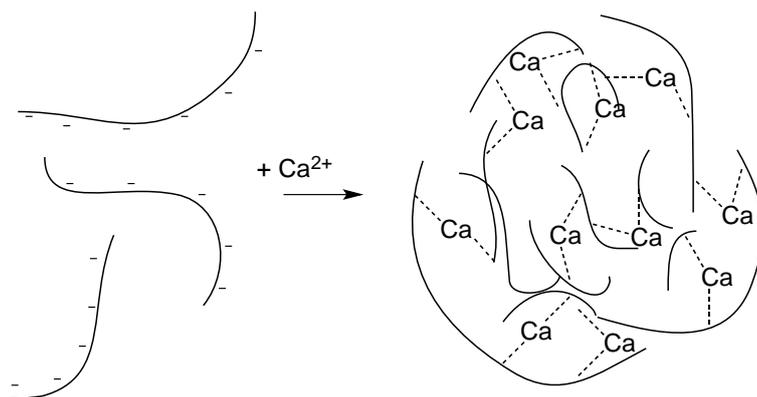


Figura 8. Mecanismo de reticulação da pectina de baixo grau de metoxilação na presença de íons Ca^{+2} ⁷³.

Nos últimos anos, a pectina tem sido amplamente empregada pela indústria de alimentos como agente espessante, geleificante e estabilizante^{46,59}. Dentro da área farmacêutica vem sendo explorada para o desenvolvimento de novos sistemas de liberação de fármacos, devido às propriedades promissoras desse material como baixa toxicidade, biocompatibilidade, degradabilidade e baixo custo^{60,61}. Outra vertente muito explorada é a utilização da pectina como excipiente na obtenção de sistemas de liberação cólon-específica de fármacos, uma vez que em meio ácido permanece como agregados de macromoléculas, além de ser resistente às proteases e às amilases presentes nas porções superiores do trato gastrointestinal (TGI), sendo degradada por enzimas produzidas pela microbiota colônica^{44,50,57}. Além disso, a pectina apresenta reconhecida propriedade mucoadesiva, que agrega significativa vantagem no delineamento de sistemas de liberação controlada de fármacos, devido a capacidade desse material de interagir com a mucina, promovendo um contato mais íntimo entre o sistema e a

membrana biológica^{62,63}. Apesar dessas propriedades favoráveis da pectina, o grande desafio da utilização desse polissacarídeo no desenvolvimento de sistemas de liberação controlada de fármacos, é sua elevada solubilidade em meio aquoso, que pode resultar na liberação prematura e indesejável do fármaco nas porções superiores do TGI^{64,65}.

A pectina isolada ou combinada com outros polímeros, naturais ou sintéticos, também denominadas blendas poliméricas, representa uma estratégia racional para a obtenção de materiais com propriedades moduladas, permitindo o desenvolvimento de sistemas inovadores que atendem a necessidades terapêuticas específicas^{57,66}. O desenvolvimento de sistemas orais baseados em misturas de pectina com outros polissacarídeos, bem como o método de reticulação, têm sido amplamente explorados, visando à liberação sítio específica de fármacos no cólon^{64,66}.

Recentemente, a pectina também tem sido investigada na vetorização de genes⁵⁰, na cicatrização de feridas^{54,67}, no direcionamento

(*targeting*) de fármacos no tratamento do câncer⁶⁸ e na modificação da superfície de dispositivos médicos⁶⁹. Além disso, surgiu um grande interesse na utilização da pectina na engenharia de tecidos, principalmente devido à semelhança química desse material com a matriz extracelular de tecidos dos mamíferos^{54,70}. Desta forma, géis de pectina têm sido empregados no desenvolvimento de *scaffolds* para aplicações em tecido ósseo a fim de estimular a regeneração e promover sua reconstrução^{44,70}. Além disso, a pectina apresenta atividade anti-inflamatória⁷¹ e anticarcinogênica^{72,73}. Nesse sentido, a pectina apresenta diferentes propriedades que evidenciam sua importância para o desenvolvimento de novos sistemas de liberação de fármacos, permitindo a busca de aplicações inovadoras de acordo com as diferentes necessidades terapêuticas.

1.4. Amido Resistente

O amido, um dos biopolímeros naturais mais importantes, está presente como principal fonte de energia nos grãos de cereais e de tubérculos, incluindo o arroz, o trigo, o milho, a cevada, dentre outros. O polímero se apresenta na forma de grânulos de 1 a 100 μm de diâmetro e é composto principalmente por cadeias de amilose, correspondente à fração linear com ligações glicosídicas α -1,4, e amilopectina, a qual representa um glicano ramificado com ligações α -1,6⁷⁴ (Figura 9). No entanto, de acordo com a espécie vegetal do amido, verifica-se uma grande variação morfológica e estrutural, bem como nas quantidades de amilose, amilopectina, proteína e lipídeo, resultando em diferentes propriedades físico-químicas^{75,76}.

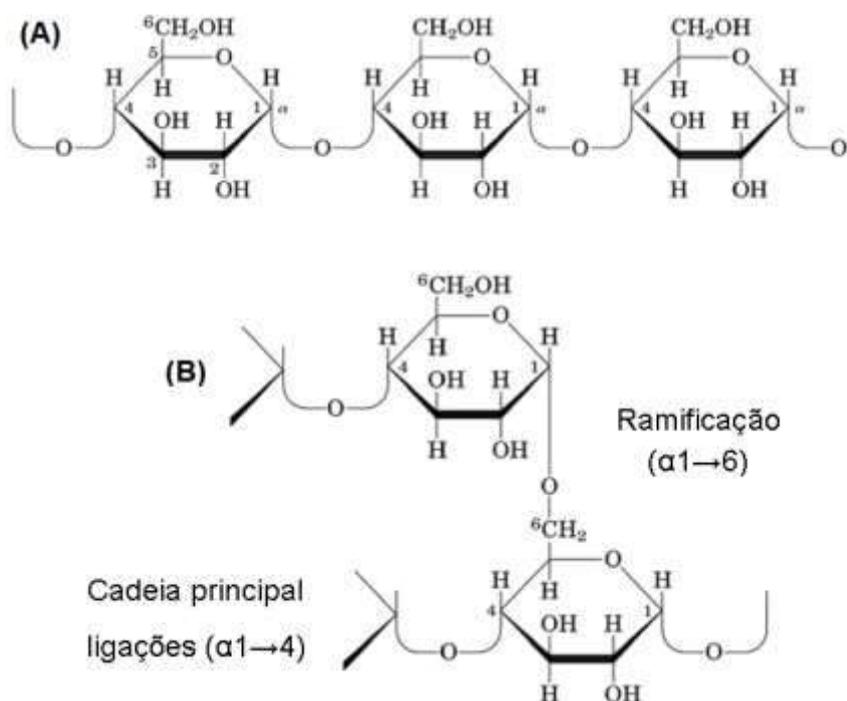


Figura 9. Estrutura da amilose (A) e amilopectina (B)⁷⁴.

A estruturação do amido no grânulo pode ocorrer de diversas maneiras, as quais são classificadas em 6 níveis⁷⁷, iniciando-se com ramificações individuais e distribuídas no sentido do comprimento das cadeias (nível 1), as quais podem se organizar e levar à formação de aglomerados (nível 2). Em seguida, formam-se as

lamelas cristalinas (ramificações de amilopectina) e amorfas (amilose), em resposta ao empacotamento das cadeias de glicano para formação de duplas hélices (nível 3). A organização das lamelas em camadas de crescimento concêntricas com as lamelas cristalinas e amorfas separadas radialmente corresponde ao grânulo de amido (nível 4), o qual,

ao se associar à proteínas e lipídeos, dá origem ao endosperma (nível 5), seguido pelo nível final (nível 6), o qual corresponde ao grão de amido inteiro de 1 mm de tamanho, incluindo estruturas bastante organizadas.

O amido tem sido alvo de extensa pesquisa nas últimas décadas nas áreas alimentícia, cosmética e de medicamentos, merecendo destaque a última, como excipiente de formas farmacêuticas sólidas, devido às suas importantes vantagens como a biodegradabilidade exercida pela microbiota colônica, atoxicidade, baixa reatividade com substâncias ativas medicamentosas e baixo custo^{78,79}. Contudo, a aplicação do amido no desenvolvimento de novos sistemas de liberação de fármacos requer propriedades físicas e químicas específicas, que muitas vezes o amido nativo não apresenta, como, por exemplo, baixa solubilidade em água, baixo intumescimento e alta resistência contra a degradação enzimática⁸⁰. Nesse sentido, a modificação do amido através de métodos físicos, químicos e/ou enzimáticos torna-se essencial para a otimização de suas propriedades⁷⁸.

Um tipo de amido modificado que vem sendo bastante difundido é o amido resistente (AR), o qual corresponde à fração do amido que não participa da digestão no intestino delgado, sendo fermentado

pelas enzimas bacterianas colônicas em ácidos graxos de cadeias curtas, propriedade fundamental para sua aplicação em sistemas de liberação colôn-específica de fármacos⁸¹.

De acordo com a natureza do amido, o AR pode ser dividido em 4 subtipos, sendo o AR tipo 1 fisicamente inacessível à digestão devido seu aprisionamento na matriz; o AR tipo 2 que não é gelatinizado, o AR tipo 3 que é o amido retrogradado e o AR tipo 4 que é o amido quimicamente modificado⁸².

Devido à sua estabilidade térmica e baixa solubilidade, o amido retrogradado (AR tipo 3) tem despertado grande interesse⁸³⁻⁸⁵. Sua obtenção se dá através do processo de retrogradação, iniciando-se com a etapa de gelatinização, na qual a estrutura semicristalina do amido torna-se amorfa pelo aquecimento em excesso de água, seguido por ciclos térmicos de armazenamento e resfriamento para a recristalização lenta dos componentes do amido em estruturas tridimensionais mais organizadas⁷⁶, que ocorre pela formação de ligações de hidrogênio e forças de Van Der Waals inter e intramoleculares, no intuito de se alcançar uma forma metaestável de mais baixa energia livre⁸⁶, (Figura 10).



Figura 10. Processo esquemático da obtenção do amido retrogradado.

A alta amilose (amido modificado composto por 70% de amilose) tem sido considerada o material preferido para obtenção de AR^{65,87}, uma vez que é responsável pela formação de uma matriz amorfa onde os cristalitos permanecem embebidos e, então, protegidos da degradação enzimática.

Dispersões filmógenas com elevado teor de AR (~96%) foram obtidas por Meneguín e colaboradores⁶⁵ a partir da retrogradação de alta amilose na presença de pectina por meio de ciclos térmicos alternados a 4 °C e 30 °C durante 16 dias, sendo 2 dias em cada temperatura. Filmes de revestimento foram obtidos pela evaporação do

solvente dessas dispersões retrogradadas, dando origem a filmes livres com propriedades mecânicas (resistência à perfuração e alongamento durante a perfuração) e de barreira (permeabilidade ao vapor d'água) adequadas. Além disso, esses filmes demonstraram ser excelentes candidatos para a liberação cólon-específica de fármacos, uma vez que os mesmos se mostraram altamente resistentes contra a degradação quando incubados com α -amilase pancreática, além de terem exibido baixa dissolução (%) em meio ácido.

Recife⁸⁸ em estudos com comprimidos matriciais de amido retrogradado avaliou a influência do método de retrogradação nas propriedades físico-químicas e de liberação do diclofenaco de sódio, concluindo que ciclos mais curtos (8 dias ao invés de 16) e isotérmicos (4 °C) levam à obtenção de materiais com propriedades semelhantes, o que representa a possibilidade de um processo mais simples e curto e, conseqüentemente, com custos reduzidos. Em outro estudo com comprimidos obtidos a partir de géis de amido de milho ceroso retrogradado para liberação controlada da teofilina, foi observado que o processo de retrogradação levou à redução do tamanho dos poros dos géis, bem como à diminuição das propriedades de intumescimento em meio contendo enzimas. Esses efeitos contribuíram para a resistência contra a erosão enzimática e o prolongamento das taxas de liberação da teofilina⁸⁹.

Em estudos recentes, Cardoso⁹⁰ obteve com sucesso hidrogéis e micropartículas a base de misturas de goma gelana e amido retrogradado através dos métodos de geleificação ionotrópica (Al^{3+}) e dupla reticulação (Al^{3+} /glutaraldeído), e verificou que os sistemas apresentaram reduzidas taxas de liberação do fármaco em meio ácido e o significativo controle da liberação em pH 7,4, indicando o potencial do sistema para liberação cólon específica de fármacos. É importante ressaltar que o amido retrogradado, inicialmente explorado pela área alimentícia, também é bastante utilizado para fins nutricionais e terapêuticos, como para prevenção da *Diabetes mellitus* tipo 2, melhoria da saúde intestinal, saciedade, redução da glicemia⁹¹,

além da diminuição dos níveis de colesterol e triglicérides⁹².

Amini e colaboradores⁹³ também sugerem seu uso como um composto bioativo na prevenção do câncer colorectal, uma vez que o desenvolvimento deste tipo específico de patologia está bastante relacionado com a dieta. Estudos anteriores revelaram que o butirato (ácido graxo de cadeia curta), o principal produto de fermentação no cólon, possui atividade supressora da proliferação de células tumorais e o consumo de amido resistente eleva o conteúdo de ácido butírico.

Em face ao exposto, conclui-se que a modificação do amido pode originar materiais com diferentes propriedades físico-químicas, as quais podem se adequar a diferentes necessidades terapêuticas e levar à obtenção de sistemas de liberação prolongada de fármacos bem como propiciar a vetorização de fármacos para o cólon.

1.5. Quitina e Quitosana

A quitina é o polissacarídeo extraído do exoesqueleto de crustáceos e resíduos da indústria de pesca, utilizada para o preparo da quitosana. As cascas secas de crustáceos possuem em torno de 15-20% e resíduos de lula e molusco contém de 35-40% de quitina⁹⁴, constituindo um rejeito da indústria da pesca abundante e de baixo custo. A quitina também é encontrada na parede celular de fungos e outros micro-organismos, porém, o processo de extração a partir dessas fontes é de custo elevado e de difícil extração⁹⁵. Após extraída, a quitina é submetida a tratamentos ácidos e básicos, os quais retiram o conteúdo mineral das cascas, promovem desproteínização e causam desacetilações brandas. Para obter a quitosana, a quitina deve ser processada em solução de hidróxido de sódio 40%, em temperatura de 120 °C durante três horas⁹⁶.

A quitina é um polímero linear, com unidades repetitivas de um dissacarídeo formado por β -(1 \rightarrow 4) - 2-amino-2-desoxi-D-glicose e β -(1 \rightarrow 4) -2-acetamida-2-desoxi-D-glicose, unidos por ligação glicosídica⁹⁷, encontrada na natureza como um material rígido, anelástico e esbranquiçado. A

estrutura química da quitina é representada na Figura 11.

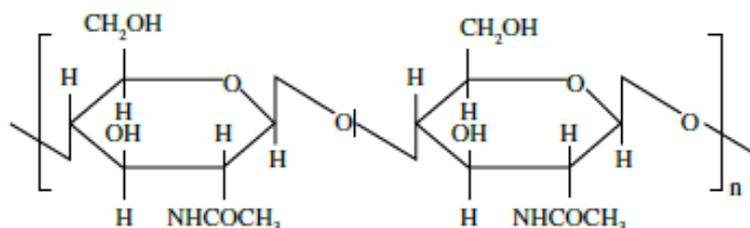


Figura 11. Estrutura química da quitina⁹⁶.

A quitosana é originada a partir da modificação química da quitina, através de uma

reação de desacetilação parcial (Figura 12), geralmente por tratamento alcalino⁹⁶.

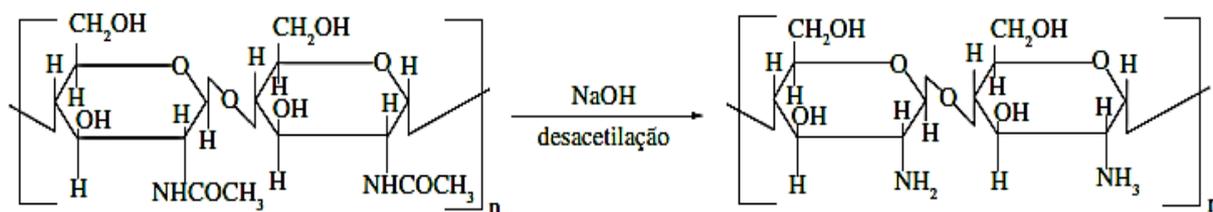


Figura 12. Reação de desacetilação da quitina, originando a quitosana⁹⁶.

A quitosana, cuja estrutura química é representada na Figura 13, é constituída por unidades de β - (1,4)-2-amino-2-desóxi-D-

glicopirano, com menores números de unidades de β -(1-4)-2- acetamido-2-desóxi-D-glicose⁹⁸.

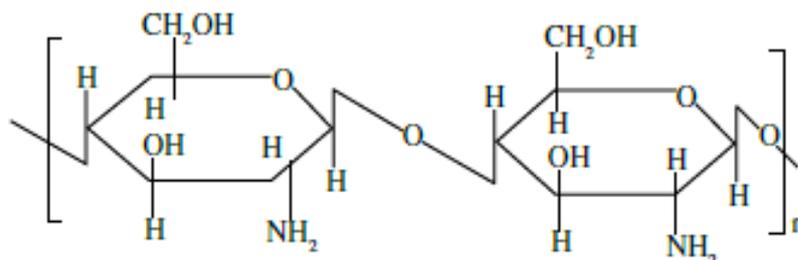


Figura 13. Estrutura química da quitosana⁹⁶.

A quitosana pode ser preparada em forma de filme, permitindo sua utilização como curativo no tratamento de queimaduras. Este material é degradado por uma enzima presente na pele, a lisozima, o que anula a necessidade da retirada do mesmo, quando utilizado como curativo e por ser permeável à água e ao oxigênio, auxilia no processo de cicatrização. Além disso, a quitosana também pode ser utilizada em odontologia, na forma de gel, para diversos tipos de tratamento, inclusive para preenchimento ósseo, regeneração óssea

periodontal⁹⁹ e preenchimento de bolsas periodontais¹⁰⁰.

Sua composição química, rica em amins primárias livres leva à atividade antimicrobiana contra fungos e bactérias. Assim, a quitosana pode ser utilizada para tratar a superfície de sementes, inibindo a ação de fungos, e como cobertura comestível para frutos, além de manter a qualidade dos alimentos por evitar a perda de água e retardar o amadurecimento¹⁰⁰. Na área farmacêutica, pode ser utilizada para liberação de fármacos para uso nasal,

oral, parenteral e transdérmico⁹⁹. Na área alimentícia é utilizada também em formulações para aumentar a saciedade, diminuir o colesterol e absorver a gordura ingerida na alimentação. Além das atividades descritas, a capacidade de inibição de células tumorais, ação hipocolesterolêmica e hemostática, também já foram relatadas⁹⁸.

A quitosana é degradada pela enzima lisozima, pela hidrólise das ligações glicosídicas do polímero. A degradação é dependente do grau de desacetilação e cristalinidade da quitosana, sendo que quanto maior sua desacetilação, maior a degradação, porém, sua degradação é lenta, em torno de meses⁹⁷.

Quanto à toxicidade, a quitosana tem se demonstrado atóxica⁹⁹, e fatores de genotoxicidade não foram detectados, sendo esse um fator essencial para sua utilização em humanos, sem causar riscos à saúde⁹⁶. Porém, em períodos longos de utilização como suplemento alimentar para ratos, foi detectado o bloqueio da absorção de vitaminas lipossolúveis e cálcio, acarretando retardo do

crescimento, disfunções ósseas e deficiências vitamínicas. A DL₅₀ em ratos é de 16 g/kg¹⁰¹.

1.6. Goma Gelana

Desenvolvida pela empresa Kelco em 1978, a goma gelana (GG) nativa é um exopolissacarídeo linear aniônico hidrofílico de elevado peso molecular sintetizado por fermentação aeróbica pelo micro-organismo *Sphingomonas elodea*¹⁰², também conhecido como *Auromonas elodea* ou *Pseudomonas elodea*^{103,107}. A forma nativa é estruturalmente constituída por unidades repetidas de β-1,3-D-glicose, β-1,4-D-ácido glucurônico, β-1,4-D-glicose e α-1,4-L-ramnose (Figura 14)^{106,108}. Seus grupos 2-acila e 6-gliceril são removidos pela reação de hidrólise alcalina, em elevadas temperaturas, originando a GG de baixo grau de acetilação (Figura 15), comercialmente conhecida como Gelrite® ou Kelcogel®, de uso nas áreas alimentícia e farmacêutica em variados tipos de produtos^{102,106,109,110}.

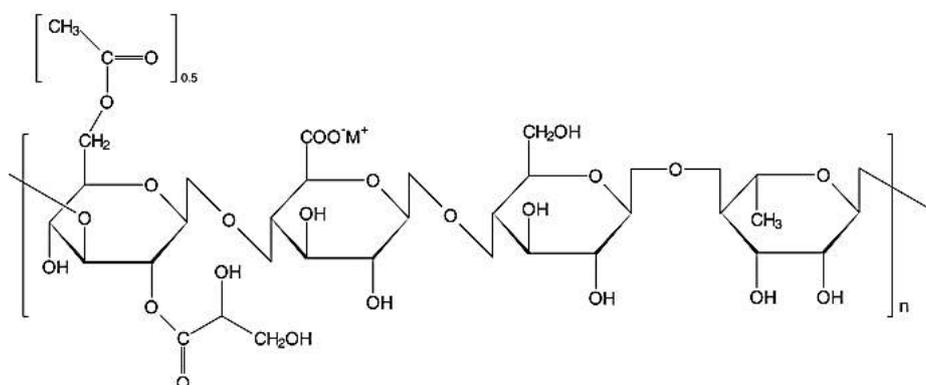


Figura 14. Estrutura química da forma nativa da goma gelana (baixa acetilação) (Adaptado de Mao, 2000)¹¹¹.

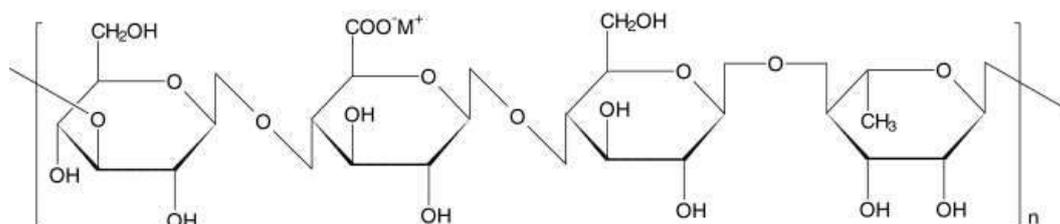


Figura 15. Estrutura química da forma deacetilada da goma gelana (Adaptado de Mao, 2000)¹¹¹.

Sua característica hidrofílica e elevada capacidade de geleificação na presença de cátions di- ou trivalentes tem sido muito explorada para obtenção de novos sistemas para liberação controlada de fármacos^{119,120}. Algumas de suas características, tais como atoxicidade, biodegradabilidade, baixo custo, propriedades mucoadesivas e degradação específica pela microbiota colônica¹⁰⁵, a tornam um polissacarídeo atrativo e bastante promissor para o *design* de diferentes formas farmacêuticas.

A utilização da GG tem aumentado significativamente nos últimos anos, pois possui uma ampla aplicabilidade nas indústrias de alimentos e farmacêutica, e mais atualmente também na área da medicina regenerativa¹⁰⁵. A gelana foi aprovada para uso alimentar em 1988 no Japão, e desperta o interesse de muitos pesquisadores devido à sua propriedade de formar géis transparentes e resistentes a variações de calor e a ambientes ácidos, mesmo quando utilizada em baixas concentrações^{110,120,121}. A gelana utilizada como um aditivo alimentar atua como estabilizante, espessante, excelente gelificante e é capaz de produzir gel com diferentes propriedades de textura. Alguns exemplos clássicos do uso da GG em produtos alimentares são recheios para pães, confeitaria, produtos lácteos, géis sobremesa, glacês, doces e geleias, pudins, molhos, alimentos estruturados, coberturas, entre outros¹⁰⁶.

A GG já possui uma aplicação reconhecida, de longa data, em meios microbiológicos, como alternativa ao ágar¹²² e como meio de crescimento bacteriano, já que seus géis termoestáveis são capazes de suportar longos períodos de incubações e elevadas temperaturas. Nessas aplicações em meios de cultura microbiológicos, características como alta pureza e a claridade do gel são vantagens adicionais que a gelana possui e que a torna um material adequado para essa finalidade¹⁰⁶.

Na área farmacêutica, a crescente utilização da gelana pode ser exemplificada por diversos sistemas de liberação de fármacos descritos na literatura destinados ao tratamento dos mais diversos tipos de patologias, dentre eles estão os

hidrogéis¹¹³, microesferas^{112,117}, microcápsulas^{118,119}, esferas flutuantes¹²³, entre outros.

Recentemente, a gelana tem sido estudada para aplicações biomédicas, mais precisamente na medicina regenerativa. Suas características de biocompatibilidade e biodegradabilidade a tornam um material com grande potencial na regeneração de tecidos e seu uso para o preparo de *scaffolds* tem demonstrado grandes resultados¹²⁴. Estudos recentes mostram que estruturas baseadas em gelana podem ser explorados como biomaterial para regeneração de cartilagens na forma de discos, membranas, fibras e partículas^{105,125}, como *scaffolds* para melhorar a capacidade de regeneração óssea¹²⁶ ou ainda em forma de *scaffolds* nanofibrosos de blendas com polivinilálcool. É utilizada como matriz para regeneração de tecidos por permitir a diferenciação e proliferação celular.

Assim, polímeros de origem natural, como a gelana, podem oferecer inúmeras vantagens, já que sua semelhança a macromoléculas biológicas, evita o reconhecimento pelo organismo como um corpo estranho¹²⁷. A vantagem na utilização da GG no contexto das aplicações biomédicas fundamenta-se não só pelas suas inúmeras propriedades descritas anteriormente, mas também pela possibilidade de ser utilizada como um sistema injetável, já que possui uma similaridade estrutural com as glicosaminoglicanas presentes no tecido conjuntivo, devido à presença dos resíduos de ácido glucurônico na sua estrutura¹²⁵.

A goma gelana é um dos polissacarídeos de origem natural utilizado como excipiente multifuncional para as mais variadas formas de dosagens farmacêuticas e como aditivos na indústria alimentícia. Suas propriedades particulares a tornam um material versátil, que pode ser modulado de acordo com as necessidades específicas, de modo que possa apresentar uma variedade de aplicações potenciais em áreas importantes como nos domínios da engenharia de tecidos e medicina regenerativa.

1.7. Poli (Ácido Láctico)

O ácido láctico é o monômero utilizado como precursor na síntese do poli (ácido láctico) (PLA). É

um ácido orgânico abundante, de ocorrência natural, usado nas indústrias alimentícia, farmacêutica, cosmética, têxtil, de couro e química¹²⁸. O ácido láctico (2-ácido hidroxipropiônico) é uma das moléculas quirais mais simples, e existe na forma de dois estereoisômeros, L- e D- ácido láctico, que se diferenciam pelo efeito da luz polarizada¹²⁹. O ácido láctico pode ser produzido por síntese química ou fermentação.

A síntese química de ácido láctico é baseada principalmente na hidrólise de lactonitrila, derivado petroquímico, pela ação de ácidos fortes, que fornece a mistura racêmica de ácido láctico D- e L-¹³⁰. No caso de processos biotecnológicos, o ácido láctico pode ser facilmente sintetizado por bactérias, como por exemplo, pelos micro-organismos do gênero *Lactobacillus*, a partir de matéria prima de baixo custo¹³¹. Neste caso, o L-ácido láctico é preferencialmente sintetizado. O interesse na produção fermentativa de ácido láctico tem aumentado devido às perspectivas relacionadas à produção do polímero de ácido láctico, o PLA, que é totalmente biodegradável na natureza, portanto, apresenta um grande apelo ambiental. Outros dois fatores de grande importância são a vantagem da síntese por fermentação em relação à síntese química, por ser um processo de baixo impacto ambiental e alto rendimento e a utilização de produtos provenientes de fontes renováveis de baixo custo como o amido, celulose, cana de açúcar, entre outros, como nutrientes para os micro-organismos que o sintetizam por fermentação¹³².

O PLA é um poliéster alifático (Figura 16), de fórmula química $[(C_3H_4O_2)_n]$. Possui dois estereoisômeros: poli(L-ácido láctico) (PLLA) e o poli(D-ácido láctico) (PDLA), sua mistura racêmica gera o poli(D,L-ácido láctico) (PDLLA)¹³³. O

PDLA e o PLLA são imagens especulares um do outro, ambos opticamente puros e semicristalinos¹³⁴, enquanto o PDLLA é racêmico, amorfo e opticamente inativo¹³⁵.

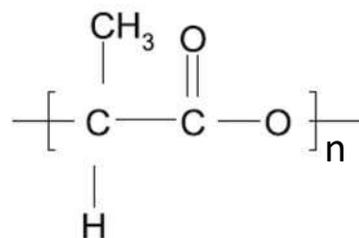


Figura 16. Estrutura química do poli(ácido láctico).

A síntese do PLA pode ocorrer por diversas rotas químicas incluindo policondensação, polimerização direta e polimerização por abertura de anel. As rotas mais utilizadas para a produção do PLA são a policondensação e a polimerização por abertura de anel¹³⁶.

O processo de policondensação é realizado a vácuo, sob alta temperatura e com a utilização de solventes para a extração de água produzida pela reação de condensação. A polimerização via abertura de anel envolve um dímero cíclico de ácido láctico, o lactídeo, na presença de um catalisador. Esse processo gera um polímero de baixa massa molecular. Durante a síntese é possível associar as variáveis de tempo, temperatura e concentração do catalisador o que permite controlar as proporções e as sequências de unidades de D- e L-láctico no polímero final (Figura 17)¹³⁷. A policondensação do ácido láctico resulta em um polímero de baixa massa molecular, enquanto a polimerização por abertura de anel leva a formação de polímeros de maior massa molecular¹³⁸.

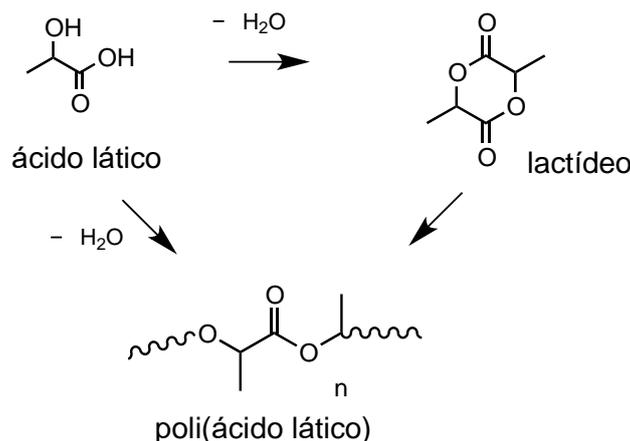


Figura 17. Rotas de síntese do PLA. (Adaptado de Avine)¹³⁷.

Devido às suas propriedades mecânicas, processabilidade termoplástica e propriedades biológicas, como biocompatibilidade e biodegradabilidade, o PLA tem se mostrado um polímero promissor¹³⁹ tanto para substituição de polímeros convencionais no uso cotidiano, devido à sua degradabilidade na natureza, quanto para aplicações biológicas, devido à sua degradabilidade *in vivo*.

As propriedades do PLA dependem dos componentes isoméricos resultantes da quiralidade do ácido láctico, onde os dois centros assimétricos existem de quatro formas diferentes. Essas propriedades podem ser modificadas pela variação dos isômeros (L (+) / D (-)) e a homo (D (-), L (+)), da temperatura de processamento, do tempo de recozimento e da massa molecular¹⁴⁰. O PLA pode ser amorfo ou cristalino dependendo da estereoquímica e de seu histórico térmico. O material totalmente amorfo pode ser sintetizado pelo aumento relativo do isômero D (>20%),

enquanto que o material cristalino é obtido quando a quantidade de D é < que 2%. Esse polímero é relativamente rígido com temperatura de transição vítrea entre 60 °C – 70 °C e a temperatura de fusão entre 170 °C- 180 °C¹³⁹.

Os poliésteres, incluindo o PLA, são polímeros hidroliticamente degradáveis. A hidrólise do PLA, através de quebras de suas ligações ésteres, gera grupos terminais carboxila e hidroxila, conforme representado na Figura 18¹⁴¹. Em organismos vivos, o ácido láctico gerado pela degradação do PLA é incorporado ao ciclo do ácido cítrico, resultando, ao final do processo metabólico, em subprodutos como dióxido de carbono e água¹⁴². As taxas de degradação são determinadas por fatores como o local do implante, massa molar, composição estereoquímica, cristalinidade e morfologia¹⁴³.

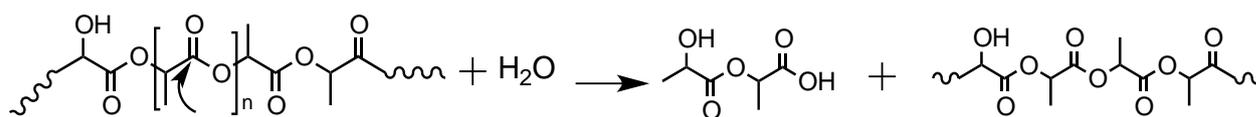


Figura 18. Esquema da degradação hidrolítica do PLA (Rathi, 2014)¹⁴¹.

Devido às suas propriedades, incluindo a natureza não-tóxica dos produtos de degradação, o PLA tem se mostrado atraente para a indústria

biomédica, podendo ser utilizado como material de implante cirúrgico, sistema de liberação de fármacos e também como suporte poroso para o

crescimento de células e tecidos com aplicação na medicina regenerativa¹⁴⁴.

Embora o PLA se mostre um polímero promissor, algumas desvantagens como fraca ductibilidade, taxa de degradação lenta e alta hidrofobicidade, limitam suas aplicações. Desta forma estudos vem sendo realizados com a finalidade de modificar suas propriedades buscando expandir seus domínios de aplicação.

1.8. Policaprolactona

A policaprolactona (PCL) é um poliéster alifático sintetizado pela primeira vez em 1934 pelo grupo do famoso pesquisador americano Van-Natta¹⁴⁵. Em 1958 foi relatada a primeira síntese da PCL descrevendo o mecanismo de reação através da abertura do anel do monômero pela adição de carbonato de potássio, em uma temperatura de 150 °C por 5 horas¹⁴⁶. O processo de obtenção da PCL consiste na polimerização (por abertura do anel) do monômero de ϵ -caprolactona, resultando no produto de condensação de um grupo hidroxílico e um carboxílico, gerando, dentro da mesma molécula, o grupamento poliéster, pertencente à família dos poliésteres alifáticos, representado na Figura 17¹⁴⁷. Existem pelo menos quatro tipos de mecanismos de polimerização, a polimerização aniônica, catiônica, de coordenação e radicalar. Cada método afeta algumas resultantes, como a distribuição de massa molecular, a composição do grupo terminal e da estrutura química do polímero a ser formado, e também se é em bloco, ou randomizado. Estas características, por sua vez, são importantes na definição da permeabilidade, biodegradabilidade e propriedades mecânicas do polímero¹⁴⁸.

A PCL é um polímero hidrofóbico, semicristalino, tenaz, flexível, possui baixa temperatura de transição vítrea (T_g) entre -60 e -70 °C e funde-se a cerca de 60 °C, apresentando boas propriedades mecânicas e grande potencial para uso como biomaterial devido à sua fácil moldabilidade em temperaturas relativamente baixas¹⁴⁹. É solúvel em vários solventes à temperatura ambiente, incluindo tetrahydrofurano, clorofórmio, diclorometano, tetracloreto de carbono, benzeno, tolueno, ciclohexano, di-hidropirano, e 2-

nitropropano. É pouco solúvel em acetona, 2-butanona, acetato de etila, acetonitrila, e dimetilformamida, e insolúvel em álcoois, éter de petróleo, e dietiléter^{148,150}.

Esse polímero pode ser biodegradado enzimaticamente por fungos e bactérias¹⁵¹, porém, em animais e humanos, devido à falta de enzimas adequadas para isso, a degradação dá-se por hidrólise das ligações ésteres por ação da água, originando produtos na forma de oligômeros, ou monômeros solúveis¹⁵². O período médio de degradação do homopolímero de caprolactona *in vivo* é de 2 a 3 anos^{153,154}. Quando não enzimática, a degradação desse polímero é iniciada na região amorfa no momento em que a água entra em contato com sua superfície, interagindo com os grupos carboxílicos e hidroxilas terminais, até a completa e gradativa difusão por toda a estrutura¹⁵⁵. Esse processo hidrolisa as macromoléculas em oligômeros, e estes em monômeros, os quais se difundem para os arredores do material, caracterizando o processo de erosão. Essa erosão na superfície do material permite a entrada de uma quantidade maior de água no interior do polímero, acelerando o processo de degradação¹⁵⁰.

A liberação rápida dos produtos de sua degradação como oligômeros e subprodutos ácidos, pode resultar em reações inflamatórias *in vivo*. Nestes casos, se o tecido circundante não for capaz de tamponar a alteração do pH devido à má vascularização ou baixa atividade metabólica, podem ocorrer distúrbios temporários, como, por exemplo, aumento da pressão osmótica através da acumulação de fluído locais, em casos de degradação rápida¹⁵⁶.

O processo de biodegradação pode ser modulado de diversas formas, sendo a mais comum, a síntese de copolímeros, isto é, a associação da PCL com outros polímeros. Em geral, se associa com outras lactonas quando se quer estender o período de degradação¹⁵⁷, ou adicionado de um DL-lactídio, por exemplo, a fim de se encurtar esse período, ou com outros polímeros para obter comportamentos específicos para a finalidade desejada¹⁴⁸.

A PCL também tem a capacidade de formar misturas compatíveis com outros polímeros, o que pode afetar a cinética de degradação e propiciar o preparo de materiais com perfis de liberação de fármacos desejados¹⁵⁰. Estes atributos conduzem sua aplicação no preparo de sistemas de liberação como, por exemplo, em forma de microesferas ou nanoesferas¹⁵⁸. Diversos trabalhos relatam a pesquisa com liberação de fármacos a partir da PCL. Exemplos são a liberação de papaverina¹⁵⁹ ou proteínas¹⁶⁰ a partir de microesferas de PCL e a liberação de tamoxifeno a partir de nanopartículas de PCL¹⁶¹. Porém, uma das principais áreas de estudo ou aplicação da PCL na medicina é no desenvolvimento de *scaffolds* para regeneração tecidual em ossos¹⁶²⁻¹⁶⁴, cartilagens¹⁶⁵⁻¹⁶⁷, vasos sanguíneos^{168,169}, peles^{170,172} e nervos^{173,174}. Para estas aplicações são frequentemente descritas as técnicas de copolimerização ou de modificação química da superfície do *scaffold*, que mantêm as propriedades do material, alterando apenas sua superfície, para melhorar a biocompatibilidade¹⁷⁵.

O aumento das linhas de pesquisas em PCL e seus derivados reflete a versatilidade deste polímero e indica uma tendência de aumento de suas aplicações não só na área onde este é usado em

substituição aos polímeros convencionais, mas também com grande potencial para as áreas médica e farmacêutica.

CONCLUSÕES

De forma geral, os polímeros discutidos apresentam potencial para aplicações em diversas áreas que incluem desde o preparo de novos materiais para substituição de polímeros convencionais, até materiais para aplicação médica e farmacêutica. Características como biocompatibilidade e moldabilidade são essenciais para suas aplicações nas áreas discutidas neste texto e a questão de serem, em sua maioria, provenientes de recursos renováveis é vantajosa no sentido da disponibilidade e baixo custo dos mesmos. Apesar do baixo volume desses materiais em formas disponíveis comercialmente, muitas pesquisas encontram-se atualmente focadas no desenvolvimento de produtos neles baseados, na tentativa, e com boas perspectivas, conforme indicado pelos trabalhos aqui descritos, de aumentar a gama de suas aplicações.

REFERÊNCIAS

- [1] S. M. Willerth, S. E. Sakiyama-Elbert, Combining stem cells and biomaterial scaffolds for constructing tissues and cell delivery. Melton, D. Stem Book. Harvard Stem Cell Institute, Massachusetts. Massachusetts General Hospital, 2013. Disponível em <http://www.stembook.org/about.html>
- [2] S. N. Lakshmi, T. L. Cato, Biodegradable polymers as biomaterials, *Progr. Polym. Sci.*, **2007**, *32*, 762-798.
- [3] B. D Ratner, A. S. Hoffman, F. J. Schoen, J. E. Lemons, Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine, Elsevier Inc.: Oxford, 2014.
- [4] M. W. J. Mosesson, Fibrinogen and fibrin structure and functions, *J. Thromb. Haemost.*, **2005**, *3*, 1894-1904.

- [5] Z. Yang, I. Mochalkin, R. F. Doolittle, A model of fibrin formation based on crystal structures of fibrinogen and fibrin fragments complexed with synthetic peptides, *Proc Natl Acad Sci U S A*, **2000**, *97*, 14156-14161.
- [6] A. H. Henschen-Edman, Fibrinogen non-inherited heterogeneity and its relationship to function in health and disease, *Ann. N. Y. Acad Sci.*, **2001**, *936*, 580-593.
- [7] R. A. Burton, G. Tsurupa, L. Medved, N. Tjandra, Identification of an ordered compact structure within the recombinant bovine fibrinogen alphaC-domain fragment by NMR, *Biochemistry*, **2006**, *45*, 2257-2266.
- [8] G. Tsurupa, R. R. Hantgan, R. A. Burton, I. Pechik, N. Tjandra, L. Medved, Structure, stability, and interaction of the fibrin(ogen) alphaC-domains, *Biochemistry*, **2009**, *48*, 12191-12201.
- [9] T. Riedel, J. Suttner, E. Brynda, M. Houska, L. Medved, J. E. Dyr, Fibrinopeptides A and B release in the process of surface fibrin formation, *Blood*, **2011**, *117*, 1700-1706.
- [10] K. F. Standeven, A. M. Carter, P. J. Grant, J. W. Weisel, I. Chernysh, L. Masova, S. T., Lord, Functional analysis of fibrin {gamma}-chain cross-linking by activated factor XIII: determination of a cross-linking pattern that maximizes clot stiffness, *Blood*, **2007**, *110*, 902-907.
- [11] P.A. Janmey, J. P. Winer, J. W. Weisel, Fibrin gels and their clinical and bioengineering applications, *J. R. Soc. Interface*, **2009**, *6*, 1-10.
- [12] W. D. Spotnitz, Fibrin Sealant: The Only Approved Hemostat, Sealant, and Adhesive—a Laboratory and Clinical Perspective, *ISRN Surgery*, **2014**, 1-28.
- [13] S. Bergel, Über die Wirkung des Fibrins, *Dtsch. Med. Wochenschr.*, **1909**, *35*, 663-665.
- [14] J. Z. Young, P. B. Medawar, Fibrin suture of peripheral nerves: measurement of the rate of regeneration, *The Lancet.*, **1940**, *236*, 126-128.
- [15] D. M. Albala, J. H. Lawson, Recent clinical and investigational applications of fibrin sealant in selected surgical specialties, *J. Am. Coll. Surg.*, **2006**, *202*, 685-697.
- [16] E. M. D. Mooney, C. M. D. Loh, L. L. Q. M. D. Pu, The use of fibrin glue in plastic surgery, *Plast. Reconstr. Surg.*, **2009**, *124*, 989-992.
- [17] M. Yeboah, FDA approves first biodegradable sealant patch for cardiovascular surgery, Tech. Rep. 2010, FDA News Release.
- [18] S. Patel, E. C. Rodriguez-Merchan, F. S. Haddad, The use of fibrin glue in surgery of the knee, *J. Bone, Joint Surg.*, **2010**, *92*, 1325-1331.
- [19] H. Wang, L. Shan, H. Zeng, M. Sum, Y. Hua, Z. Cai, Is fibrin sealant effective and safe in total knee arthroplasty? A meta-analysis of randomized trials, *J. Orthop. Surg. Res.*, **2014**, *9*, 1-8.

- [20] M. Gogulanathan, P. Elavenil, A. Gnanam, V. B. Krishnakumar Raja, Evaluation of fibrin sealant as a wound closure agent in mandibular third molar surgery—a prospective, randomized controlled clinical trial, *Int. J. Oral Maxillof. Surg.*, **2015**, *44*, 871-875.
- [21] R. M. Brown, Cellulose structure and biosynthesis: What is in store for the 21st century?, *J. Polym. Sci.*, **2004**, *42*, 487-495.
- [22] S. Tanskul, K. Amornthatree, N. Jaturonlak, A new cellulose-producing bacterium, *Rhodococcus* sp. MI 2: Screening and optimization of culture conditions, *Carbohydr. Polym.*, **2013**, *92*, 421-428.
- [23] I. A. N. Donini, D. T. B de Salvi, F. K. Fukumoto, W. R. Lustri, H. S. Barud, R. Marchetto, Y. Messaddeq, S. J. L. Ribeiro, Biossíntese e recentes avanços na produção de celulose bacteriana, *Eclét. Quím.*, **2010**, *35*, 165-178.
- [24] Y. H. P. Zhang, Reviving the carbohydrate economy via multi-product lignocellulose biorefineries, *J. Ind. Microbiol. Biot.*, **2015**, *35*, 367-375.
- [25] L. Fu, J. Zhang, G. Yang, Present status and applications of bacterial cellulose-based materials for skin tissue repair, *Carbohydr. Polym.*, **2013**, *92*, 1432-1442.
- [26] S. C. Lazarini, R. Aquino, A. C. Amaral, F. A. A. Corbi, P. P. Corbi, H. S. Barud, W. R. Lustri, Characterization of bilayer bacterial cellulose membranes with different fiber densities: a promising system for controlled release of the antibiotic ceftriaxone, *Cellulose*, **2016**, *23*, 737-748.
- [27] M. Ul-Islam, J. H. Ha, T. Khan, J. K. Park, Effects of glucuronic acid oligomers on the production, structure and properties of bacterial cellulose, *Carbohydr. Polym.*, **2013**, *92*, 360-366.
- [28] D. Klemm, B. Heublein, H. P. Fink, A. Bohn, Cellulose: fascinating biopolymer and sustainable raw material, *Angew Chem. Int. Edit.*, **2005**, *44*, 3358-3393.
- [29] M. Scherner, S. Reutter, D. Klemm, A. Sterner-Kock, M. Guschlbauer, T. Richter, G. Langebartels, N. Madershahian, T. Wahlers, J. Wippermann, In vivo application of tissue-engineered blood vessels of bacterial cellulose as small arterial substitutes: proof of concept?, *J. Surg. Res.*, **2014**, *189*, 340-347.
- [30] A. Pietak, S. Korte, E. Tan, A. Downard, M.P. Staiger, Atomic force microscopy characterization of the surface wettability of natural fibres, *Appl. Surf. Sci.*, **2007**, *253*, 3627-3635.
- [31] M. Ul-Islam, T. Khan, J. K. Park, Water holding and release properties of bacterial cellulose obtained by in situ and ex situ modification, *Carbohydr. Polym.*, **2012**, *88*, 596-603.
- [32] N. Shah, M. Ul-Islam, W. A. Khattak, J. K. Park, Overview of bacterial cellulose composites: A multipurpose advanced material, *Carbohydr. Polym.*, **2013**, *98*, 1585-1598.
- [33] R. Mayer, P. Ross, H. Weinhouse, D. Amikam, G. Volman, P. Ohana, R. D. Calhoon, H. C. Wong, A. W. Emerick, M. P. Benziman, Polypeptide composition of bacterial cyclic diguanylic acid-dependent cellulose synthase and the occurrence of immunologically crossreacting proteins in higher plants, *Natl. Acad. Sci. USA*, **1991**, *88*, 5472-5476.

- [34] M. Poletto, H. L. O. Junior, eds.; W. R. Lustri, H. G. de O. Barud, H. S. Barud, M. F. S. Peres, J. Gutierrez, A. Tercjak, O. B. de Oliveira, S. J. L. Ribeiro, *Microbial Cellulose Biosynthesis Mechanisms and Medical Applications*, InTechn (2015) cap. 6.
- [35] M. Martson, J. Viljanto, T. Hurne, P. Laippala, P. Saukko, Is cellulose sponge degradable or stable as implantation material? An in vivo subcutaneous study in the rat, *Biomaterials*, **1989**, *20*, 1989-1995.
- [36] V. A. Oliveira, C. R. Rambo, L. M. Porto, Production and in vitro degradation of bacterial cellulose tubular structures, *Polímeros*, **2013**, *23*, 559-564.
- [37] H. Bäckdahl, G. Helenius, A. Bodin, U. Nannmark, B.R. Johansson, B. Risberg, P. Gatenholm, Mechanical properties of bacterial cellulose and interactions with smooth muscle cells, *Biomaterials*, **2006**, *27*, 2141-2149.
- [38] N. Chiaoprakobkij, N. Sanchavanakit, K. Subbalekha, P. Pavasant, M. Phisalaphong, Characterization and biocompatibility of bacterial cellulose/alginate composite sponges with human keratinocytes and gingival fibroblasts, *Carbohydr. Polym.*, **2011**, *85*, 548-553.
- [39] W. C. Lin, C. C. Lien, H. J. Yeh, C. M. Yu, S. H. Hsu, Bacterial cellulose and bacterial cellulose-chitosan membranes for wound dressing applications, *Carbohydr. Polym.*, **2013**, *94*, 603-611.
- [40] D. O. S. Recouvreux, C. R. Rambo, F. V. Berti, C. A. Carminatti, R. V. Antônio, L. M. Porto, Novel three-dimensional cocoon-like hydrogels for soft tissue regeneration, *Mater. Sci. Eng. C.*, **2011**, *31*, 151-157.
- [41] H. S. Barud, *Preparo e caracterização de novos compósitos de celulose bacteriana*. Dissertação de mestrado. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP, Araraquara, 2006.
- [42] J. M. Dugan, J. E. Gough, S. J. Eichhorn, Bacterial cellulose scaffolds and cellulose nanowhiskers for tissue engineering, *Nanomedicine UK.*, **2013**, *8*, 287-298.
- [43] M. M. Abeer, M. C. I. M. Amin, C. J. Martin, A review of bacterial cellulose-based drug delivery systems: their biochemistry, current approaches and future prospects, *J. Pharm. Pharmacol.*, **2014**, *66*, 1047-1061.
- [44] Y. L. Lam, S. Muniyandy, H. Kamaruddin, A. Mansor, P. Janarthanan, Radiation cross-linked carboxymethyl sago pulp hydrogels loaded with ciprofloxacin: Influence of irradiation on gel fraction, entrapped drug and in vitro release, *Radiation Phys. Chem.*, **2015**, *106*, 213-222.
- [45] D. Mohnen, Pectin structure and biosynthesis, *Curr. Opin. Plant Biol.*, **2008**, *11*, 266-277.
- [46] W. G. T. Willats, J. P. Knox, J. D. Mikkelsen, Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel, *Trends Food Sci. Tech.*, **2006**, *17*, 97-104.
- [47] C. Rolin, R. L. Whistler, J. N. BeMiller, eds, Pectin, In *Industrial gums: polysaccharides and their derivatives*, Academic Press: London, 3rd edn., 1993.
- [48] G. A. Morris, M. C. Ralet, E. Bonnin, J. F. Thibault, S. E. Harding, Physical characterisation of the rhamnogalacturonan and homogalacturonan fractions of sugar beet (*Beta vulgaris*) pectin, *Carbohydr. Polym.*, **2010**, *82*, 1161-1167.

- [49] Z. K. Mukhiddinov, D. K. Khalikov, F. T. Abdusamiev, C. C. Avloev, Isolation and structural characterization of a pectin homo and rhamnogalacturonan, *Talanta*, **2000**, *53*, 171-176.
- [50] T. Katav, L. Liu, T. Traitel, R. Goldbart, M. Wolfson, J. Kost, Modified pectin-based carrier for gene delivery: Cellular barriers in gene delivery course, *J. Control. Release*, **2008**, *130*, 183-191.
- [51] A. Nakamura, H. Furuta, H. Maeda, T. Takao, Y. Nagamatsu, Structural Studies by Stepwise Enzymatic Degradation of the Main Backbone of Soybean Soluble Polysaccharides Consisting of Galacturonan and Rhamnogalacturonan, *Biosci Biotech Bioch.*, **2002**, *66*, 1301-1313.
- [52] M. A. Rodriguez-Carvajal, C. H. Penhoat, K. Mazeau, T. Doco, S. Pérez, The three-dimensional structure of the mega-oligosaccharide rhamnogalacturonan II monomer: a combined molecular modeling and NMR investigation, *Carbohydr. Res.*, **2003**, *338*, 651-671.
- [53] G. B. Seymour, J. P. Knox, Pectins and their manipulation, Blackwell: Oxford, 2002.
- [54] F. Munarin, M. C. Tanzi, P. Petrini, Advances in biomedical applications of pectin gels, *Int. J. Biol. Macromol.*, **2012**, *51*, 681-689.
- [55] M. A. O'Neill, D. Warrenfeltz, K. Kates, P. Pellerin, T. Doco, A. G. Darvill, A. Peter, Rhamnogalacturonan-II, a Pectic Polysaccharide in the Walls of Growing Plant Cell, Forms a Dimer That Is Covalently Cross-linked by a Borate Ester in vitro conditions for the formation and hydrolysis of the dimer, *J. Biol. Chem.*, **1996**, *271*, 22923-22930.
- [56] J. Zandleven, G. Beldman, M. Bosveld, H. A. Schols, A. G. J. Voragen, Enzymatic degradation studies of xylogalacturonans from apple and potato, using xylogalacturonan hydrolase, *Carbohydr. Polym.*, **2006**, *65*, 495-503.
- [57] L. Liu, M. L. Fishman, J. Kost, K. B. Hicks, Pectin-based systems for colon-specific drug delivery via oral route, *Biomaterials*. *24* (2003) 3333-3343.
- [58] A. M. F. Lima, V. Soldi, R. Borsali, Dynamic light scattering and viscosimetry of aqueous solutions of pectin, sodium alginate and their mixtures: effects of added salt, concentration, counterions, temperature and chelating agente, *J. Braz. Chem. Soc.*, **2009**, *20*, 1705-1714.
- [59] E. N. Fissore, A. M. Rojas, L. N. Gerschenson, P. A. Williams, Butternut and beetroot pectins: Characterization and functional properties, *Food Hydrocolloid.*, **2013**, *31*, 172-182.
- [60] G. A. Morris, M. S. Kök, S. E. Harding, G. G. Adams, Polysaccharide drug delivery systems based on pectin and chitosan, *Biotechnol. Genet. Eng. Rev.*, **2010**, *27*, 257-284.
- [61] J. P. Souto-Maior, A. V. Reis, L. N. Pedreiro, O. A. Cavalcanti, Phosphated pectin application in the development of films for drug delivery systems: Evaluation of permeability properties and swelling, *Ver. Bras. Cienc. Farm.*, **2008**, *44*, 203-213.
- [62] N. Thirawong, J. Nunthanid, S. Puttipipatkachorn, P. Sriamornsak, Mucoadhesive properties of various pectins on gastrointestinal mucosa: An in vitro evaluation using texture analyzer, *Eur. J. Pharm Biopharm.*, **2007**, *67*, 132-140.

- [63] J. W. Lee, J. H. Park, J. R. Robinson, Bioadhesive-based dosage forms: the next generation, *J. Pharm. Sci.*, **2000**, *89*, 850-866.
- [64] A. B. Meneguim, B. S. F. Cury, R. C. Evangelista, Films from resistant starch-pectin dispersions intended for colonic drug delivery, *Carbohydr. Polym.*, **2014**, *99*, 140-149.
- [65] V. R. Sinha, R. Kumria, Polysaccharides in colon-specific drug delivery, *Int. J. Pharm.*, **2001**, *224*, 19-38.
- [66] G. A. Soares, A. D. D. Castro, B. S. F. Cury, R. C. Evangelista, Blends of cross-linked high amylose starch/pectin loaded with diclofenac, *Carbohydr. Polym.*, **2013**, *91*, 135-142.
- [67] L. Liu, Y. J. Won, P. H. Cooke, D. R. Coffin, M. L. Fishman, K. B. Hicks, P. X. Ma, Pectin/poly(lactide-co-glycolide) composite matrices for biomedical applications, *Biomaterials*, **2004**, *25*, 3201-3210.
- [68] R. K. Dutta, S. Sahu, Development of oxaliplatin encapsulated in magnetic nanocarriers of pectin as a potential targeted drug delivery for cancer therapy, *Results Pharm. Sci.*, **2012**, *2*, 38-45.
- [69] M. Morra, C. Cassinelli, G. Cascardo, Effects on Interfacial Properties and Cell Adhesion of Surface Modification by Pectic Hairy Regions, *Biomacromolecules*, **2004**, *5*, 2094-2104.
- [70] N. Ninan, M. Muthiah, I. Park, A. Elain, S. Thomas, Y. Grohens, Pectin/carboxymethyl cellulose/microfibrillated cellulose composite scaffolds for tissue engineering, *Carbohydr. Polym.*, **2013**, *98*, 877-885.
- [71] C. Chen, M. Sheu, T. Chen, Y. Wang, W. Hou, D. Liu, T. Chung, Y. Liang, Suppression of endotoxin-induced proinflammatory responses by citrus pectin through blocking LPS signaling pathways, *Biochem. Pharmacol.*, **2006**, *72*, 1001-1009.
- [72] H. Salman, M. Bergman, M. Djaldetti, J. Orlin, H. Bessler, Citrus pectin affects cytokine production by human peripheral blood mononuclear cells, *Biomed. Pharmacother.*, **2008**, *62*, 579-582.
- [73] M. Rinaudo, Physicochemical properties of pectins in solution and gel states, *Progress in Biotechnology*, **1996**, *14*, 21-33.
- [74] J. Zhu, S. Zhang, B. Zhang, D. Qiao, H. Pu, S. Liu, L. Li, Structural Features and Thermal Property of Propionylated Starches With Different Amylose/Amylopectin Ratio, *Int. J. Biol. Macromolec.*, **2017**, *97*, 123-130.
- [75] G. F. Perotti, J. Tronto, M. A. Bizeto, C.M.S. Izumi, M. L. A. Temperini, A. B. Lugão, D. F. Parra, V.R.L. Constantino, Biopolymer-Clay Nanocomposites: Cassava Starch and Synthetic Clay Cast Films, *J. Braz. Chem. Soc.*, **2014**, *25*, 320-330.
- [76] A. C. Dona, G. Pages, R. G. Gilbert, P. W. Kuchel, Digestion of starch: In vivo and in vitro kinetic models used to characterise oligosaccharide or glucose release, *Carbohydr. Polym.*, **2010**, *80*, 599-617.
- [77] S. Ball, H. P. Guan, M. James, A. Myers, P. Keeling, G. Mouille, From glycogen to amylopectin: a model for the biogenesis of the plant starch granule, *Cell.*, **1996**, *86*, 349-352.

- [78] D. Li, B. Liu, F. Yang, X. Wang, H. Shen, D. Wu, Preparation of uniform starch microcapsules by premix membrane emulsion for controlled release of avermectin, *Carbohydr. Polym.*, **2016**, *136*, 341-349.
- [79] V. Rana, P. Rai, A.K. Tiwary, R.S. Singh, J.F. Kennedy, C.J. Knill, Modified gums: Approaches and applications in drug delivery, *Carbohydr. Polym.*, **2011**, *83*, 1031-1047.
- [80] W. Błaszczaka, A. Bucinski, A. R. Górecki, In vitro release of theophylline from starch-based matrices prepared via high hydrostatic pressure treatment and autoclaving, *Carbohydr. Polym.*, **2014**, *117*, 25-33.
- [81] A. K. Htoon, S. Uthayakumaran, U. Piyasiri, A. M. Appelqvist, A. López-Rubio, E. P. Gilbert, R. Mulder, The effect of acid dextrinisation on enzyme-resistant starch content in extruded maize starch, *J. Food Chem.*, **2010**, *120*, 140-149.
- [82] S. G. Haralampu, Resistant starch-a review of the physical properties and biological impact of RS₃, *Carbohydr. Polym.*, **2000**, *41*, 285-292.
- [83] A. Dimantov, E. Kesselman, E. Shimoni, Surface characterization and dissolution properties of high amylose corn starch-pectin coatings, *Food Hydrocolloid.*, **2004**, *18*, 29-37.
- [84] R. C. Eerlingen, M. Crombez, J. A. Delcour, Enzyme-Resistant Starch. I. Quantitative and Qualitative Influence of Incubation Time and Temperature of Autoclaved Starch on Resistant Starch Formation, *Cereal Chem.*, **1993**, *70*, 339-344.
- [85] D. Sievert, Y. Pomeranz, Enzyme-Resistant Starch. I. Characterization and Evaluation by Enzymatic, Thermoanalytical, and Microscopic Methods, *Cereal Chem.*, **1989**, *66*, 342-347.
- [86] H. Liu, L. Yu, L. Chen, L. Li, Retrogradation of corn starch after thermal treatment at different temperatures, *Carbohydr. Polym.*, **2007**, *69*, 756-762.
- [87] M. L. Fishman, D. R. Coffin, J. J. Unruh, T. Ly, Pectin/starch/glycerol films: blends or composites, *J. Macromol. Sci.-Pure Appl. Chem.*, **1996**, *33*, 639-654.
- [88] A. C. D. Recife. *Amido retrogradado como excipiente de comprimidos para liberação controlada de fármacos: obtenção e caracterização*. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP, Araraquara, 2013.
- [89] H. S. Yoon, J. H. Lee, S. T. Lim, Utilization of retrograded waxy maize starch gels as tablet matrix for controlled release of theophylline, *Carbohydr. Polym.*, **2009**, *76*, 449-453.
- [90] V. M. O. Cardoso. *Síntese e caracterização de hidrogéis de amido retrogradado e goma gelana utilizados como matriz em sistemas de liberação colón específica de fármacos*. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP, Araraquara, 2014.
- [91] Y. C. Shi, C. C. Maningat, *Resistant Starch – Sources, Applications and Health Benefits*, John Wiley & Sons, New York, 2013.
- [92] Z. Zhou, F. Wang, X. Ren, Y. Wang, C. Blanchard, Resistant starch manipulated hyperglycemia/hyperlipidemia and related genes expression in diabetic rats, *Int. J. Biol. Macromol.*, **2015**, *75*, 316-321.

- [93] A. Amini, L. Khalili, A.K. Keshtiban, A. Homayouni, Resistant Starch as a Bioactive Compound in Colorectal Cancer Prevention, R. Watson, V.R. Preedy (eds.), Academic Press, London, 2016.
- [94] S. P. Campana-Filho, D. Britto, E. Curti, F. R. Abreu, M. B. Cardoso, M. V. Battisti, P. C. Sim, R. C. Goy, R. Signini, R. L. Lavall, Extraction, structures and properties of α - AND β -chitin, *Quim. Nova*, **2007**, *30*, 644-650.
- [95] C. Moura, P. Muszinski, C. Schmidt, J. Almeida, L. Pinto, Quitina e quitosana produzidas a partir de resíduos de camarão e siri: avaliação do processo em escala piloto, *Vetor*, **2006**, *16*, 37-45.
- [96] R. Spin-Neto, C. Pavone, R. M. Freitas, R. A. C. Marcantonio, E. Marcantonio-Júnior, Biomateriais à base de quitosana com aplicação médica e odontológica: revisão de literatura, *Rev. Odontol. UNESP*, **2008**, *30*, 155-161.
- [97] M. C. M. Laranjeira, V. T. Fávere, Quitosana: biopolímero funcional com potencial industrial biomédico, *Quim. Nova*, **2009**, *32*, 672-678.
- [98] C. Damian, L. H. Beirão, A. Francisco, M. L. P. Espirito-Santo, E. Teixeira, Quitosana: um amino polissacarídeo com características funcionais, *Alim. Nutr.*, **2005**, *16*, 195-205.
- [99] M. Rinaudo, Chitin and chitosan: Properties and applications, *Prog. Polym. Sci.*, **2006**, *31*, 603-632.
- [100] K. B Dias, D. P. Silda, L. A. Ferreira, R. R. Fidelis, J. L Costa, A. L. L. Silva, G. N. Scheidt, Chitinandchitosan: Characteristics, uses and production current perspectives, *J. Biotech Biodivers.*, **2013**, *4*, 184-191.
- [101] H. S. R. C. Silva, K. S. C. R. Santos, E. I. Ferreira, Quitosana: derivados hidrossolúveis, aplicações farmacêuticas e avanços, *Quim. Nova*, **2006**, *29*, 776-785.
- [102] I. Giavasis, L. M. Harvey, B. Mcneil, Gellan gum, *Crit. Rev. Biotechnol.*, **2000**, *20*, 177-211.
- [103] S. M. Hasheminya, J. Dehghannya, An overview on production and applications of gellan biopolymer, *Int. J. Agric. Crop Sci.*, **2013**, *5*, 3016-3019.
- [104] E. R. Morris, K. Nishinari, M. Rinaudo, Gelation of gellan – A review, *Food Hydrocolloid.*, **2012**, *28*, 373-411.
- [105] T. Osmalek, A. Froelich, S. Tasarek, Application of gellan gum in pharmacy and medicine, *Int. J. Pharm.*, **2014**, *466*, 328-340.
- [106] V. D. Prajapati, G. K. Jani, B. Zala, T. A. Khutliwala, An insight into the emerging exopolysaccharide gellan gum as a novel polymer, *Carbohydr. Polym.*, **2013**, *93*, 670-678.
- [107] G. R. Sanderson, Gellan gum, *Food gels*, **1990**, 201-232.
- [108] K. Manjanna, T. P. Kumar, B. Shivakumar, Natural polysaccharide hydrogels as novel excipients for modified drug delivery systems: a review, *Int. J. Chem. Tech. Res.*, **2010**, *2*, 509-525.

- [109] D. M. Kirchmajer, B. Steinhoff, H. Warren, R. Clark, Enhanced gelation properties of purified gellan gum, *Carbohydr. Polym.*, **2014**, 388, 125-129.
- [110] C. S. F. Picone, R. L. Cunha, Chitosan–gellan electrostatic complexes: Influence of preparation conditions and surfactant presence, *Carbohydr. Polym.*, **2013**, 94, 695-703.
- [111] R. Mao, J. Tang, B. G. Swanson, Texture properties of high and low acyl mixed gellan gels, *Carbohydr. Polym.*, **2000**, 41, 331-338.
- [112] S. A. Agnihotri, S. S. Jawalkar, T. M. Aminabhavi, Controlled release of cephalexin through gellan gum beads: effect of formulation parameters on entrapment efficiency, size, and drug release, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **2006**, 63, 249-261.
- [113] V. M. Oliveira Cardoso, B. S. F. Cury, R. C. Evangelista, M. P. D. Gremião, Development and characterization of cross-linked gellan gum and retrograded starch blend hydrogels for drug delivery applications, *Mech. Behav. Biomed.*, **2017**, 65, 317-333.
- [114] M. Ahuja, S. Singh, A. Kumar, A., Evaluation of Carboxymethyl Gellan Gum as a Mucoadhesive Polymer, *Int. J. Biol. Macromol.*, **2013**, 53, 114-121.
- [115] S. Maiti, S. Ranjit, R. Mondol, S. Ray, B. Sa, Al³⁺ ion cross-linked and acetalated gellan hydrogel network beads for prolonged release of glipizide, *Carbohydr. Polym.*, **2011**, 85, 164-172.
- [116] A. B. Meneguim. *Obtenção e caracterização de filmes de misturas de amido Resistente e pectina como estratégia para liberação cólon Específica de fármacos*. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP, Araraquara, 2012.
- [117] M. Narkar, P. Sher, A. Pawar, Stomach-specific controlled release gellan beads of acid-soluble drug prepared by ionotropic gelation method, *AAPS PharmSci.*, **2010**, 11, 267-277.
- [118] R. V. Kulkarni, B. S. Mangond, S. Mutalik, B. Sa, Interpenetrating polymer network microcapsules of gellan gum and egg albumin entrapped with diltiazem–resin complex for controlled release application, *Carbohydr. Polym.*, **2011**, 83, 1001-1007.
- [119] F. G. Prezotti, B. S. F. Cury, R. C. Evangelista, Mucoadhesive beads of gellan gum/pectin intended to controlled delivery of drugs, *Carbohydr. Polym.*, **2014**, 113, 286-295.
- [120] H. Moritaka, H. Fukuba, K. Kumeno, N. Nakahama, K. Nishinari, Effect of monovalent and divalent cations on the rheological properties of gellan gels, *Food Hydrocolloid.*, **1991**, 4, 495-507.
- [121] E. Ogawa, R. Takahashi, H. Yajima, K. Nishinari, Effects of molar mass on the coil to helix transition of sodium-type gellan gums in aqueous solutions, *Food Hydrocolloid.*, **2005**, 20, 378-385.
- [122] D. Shungu, M. Valiant, V. Tutlane, E. Weinberg, B. Weissberger, L. Koupal, H. Gadebusch, E. Stapley, GELRITE as an Agar Substitute in Bacteriological Media, *Appl. Environ. Microbiol.*, **1983**, 46, 840-845.
- [123] P. Rajinikanth, B. Mishra, Preparation and in vitro characterization of gellan based floating beads of acetohydroxamic acid for eradication of H. pylori, *Acta Pharm.*, **2007**, 57, 413-427.

- [124] P. Vashisth, K. Nikhil, P. Roy, P. A. Pruthi, R. P. Singh, V. Pruthi, A novel gellan-PVA nanofibrous scaffold for skin tissue regeneration: Fabrication and characterization, *Carbohydr. Polym.*, **2016**, *136*, 851-859.
- [125] J. T. Oliveira, L. Martins, R. Picciochi, P. B. Malafaya, R. A. Sousa, N. M. Neves, J. F. Mano, R. L. J. Reis, Gellan gum: A new biomaterial for cartilage tissue engineering applications, *Biomed. Mater. Res., Part A*, **2010**, *93*, 852-863.
- [126] R. R. Sehgal, S. I. Roohani-Esfahani, H. Zreiqat, R. Banerjee, Nanostructured gellan and xanthan hydrogel depot integrated within a baghdadite scaffold augments bone regeneration, *J. Tissue Eng. Regener. Med.*, **2017** 1195-1211.
- [127] J. F. Mano, G. A. Silva, H. S. Azevedo, P. B. Malafaya, R. A. Sousa, S. S. Silva, L. F. Boesel, J. M. Oliveira, T. C. Santos, A. P. Marques, N. M. Neves, R. L. Reis, Natural origin biodegradable systems in tissue engineering and regenerative medicine: present status and some moving trends, *J. R. Soc. Interface*, **2007**, *4*, 999-1030.
- [128] R. F. Oliveira, M. Soudaleff, M. V. S. Lima, H. O. S. Lima, Produção fermentativa de ácido láctico a partir do melaço da cana-de-açúcar por *Lactobacillus casei*: VII BMCFB, *Braz. J. Food Technol.*, **2009**, *7*, 34-40.
- [129] J. Lunt, Large-scale Production, Properties and Commercial Applications of Polylactic Acid Polymers, *Polym. Degrad. Stab.*, **1998**, *59*, 145-152.
- [130] A. J. R. Lasprilla, G. A. R. Martinez, B. H. Lunelli, A. L. Jardini, F. R. Maciel, Poly-lactic acid synthesis for application in biomedical devices - A review, *Biotechnol. Adv.*, **2012**, *30*, 321-328.
- [131] N. Narayanan, P. K. Roychoudhury, A. Srivastava, L (+) lactic acid fermentation and its product polymerization, *Biotechnol.*, **2004**, *7*, 167-178.
- [132] N. K. Madhavan, N. R. Nair, R. P John, An overview of the recent developments in polylactide (PLA) research, *Bioresour. Technol.*, **2010**, *10*, 8493-8501.
- [133] M. Vert, J. Feijen, A. Albertson, G. Scott, E. Chiellini, Em Biodegradable polymers and plastics, Royal Society of Chemistry Cambridge, 1992, 302.
- [134] R. H. Auras, Poly(lactic-acid): Synthesis, Structures, Properties, Processing, and Applications, Lim, L. T., Selke, S. E. M.; Tsuji, eds., Wiley & Sons, Inc., 2010
- [135] H. Tsuji, Y. Ikada, Crystallization from the melt of poly(lactide)s with different optical purities and their blends, *Macromol Chem Phys.*, **1996**, *197*, 3483-3499.
- [136] O. Avine, A. Khoddami, Overview of Poly(lactic acid) (PLA) Fibre, *Fibre Chem.*, **2010**, *41*, 391-401.
- [137] M. S. Lopes, A. L. Jardini, R. Maciel Filho, Synthesis and Characterizations of Poly (Lactic Acid) by Ring-Opening Polymerization for Biomedical Applications, *Chem.Eng. Trans.*, **2014**, *38*, 331-336.

- [138] D. P. Queiroz, *Diagrama de fases, propriedades térmicas e morfológicas de blendas de Poli (ácido láctico) e Poli (metacrilato de metila)*. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Unicamp, Campinas, 2000.
- [139] B. Gupta, N. Revagade, J. Hilborn, Poly(lactic acid) fiber: An overview, *Prog. Polym. Sci.*, **2007**, *34*, 455-482.
- [140] Y. Cheng, S. Deng, P. Chen, R. Ruan, Polylactic acid (PLA) synthesis and modifications: a review, *Front. Chem. China*, **2009**, *4*, 259-264.
- [141] S. R. Rathi, E. B. Coughlin, S. L. Hsu, C. S. Golub, G. H. Ling, M. J. Tzivanis, Maintaining Structural Stability of Poly(lactic acid): Effects of Multifunctional Epoxy based Reactive Oligomers, *Polymers*, **2014**, *6*, 1232-1250.
- [142] S. J. Sharma, *Handbook of Applied Biopolymer Technology: Synthesis, Degradation and Applications*. Royal Society of Chemistry. London, 2011.
- [143] S. H. Barbanti, C. A. C. Zavaglia, Polímeros bioreabsorvíveis na engenharia de tecidos, *Polímeros*, **2005**, *15*, 13-21.
- [144] R. P. Pawara, S. U. Tekalea, S. U. Shisodiaa, J. T. Totrea, A. J. Dombb, Biomedical Applications of Poly(Lactic Acid), *Recent Pat. Regener. Med.*, **2014**, *4*, 40-51.
- [145] F. J. Van-Natta, J. W. Hill, W. H. Carruthers, Studies of Polymerization and Ring Formation. XXIII.1 ϵ -Caprolactone and its Polymers, *J. Am. Chem. Soc.*, **1934**, *56*, 455-457.
- [146] G. Natta, Stereospecific polymerizations by means of coordinated anionic catalysis: Introductory Lecture, *J. Inorg. Nucl. Chem.*, **1958**, *8*, 589-611.
- [147] W. Amass, A. Amass, B. Tighe, You have full text access to this contentA review of biodegradable polymers: uses, current developments in the synthesis and characterization of biodegradable polyesters, blends of biodegradable polymers and recent advances in biodegradation studies, *Polym. Int.*, **1998**, *47*, 89-144.
- [148] M. Chasin, R. Langer, *Biodegradable polymers as drug delivery systems*, Marcel Dekker, New York, 1990, chap. 3.
- [149] A. G. A. Coombes, S. C. Rizzi, M. Williamson, J. E. Barralet, S. Downes, W. A. Wallace, Precipitation casting of polycaprolactone for applications in tissue engineering and drug delivery, *Biomaterials*, **2004**, *25*, 315-325.
- [150] M. A. Woodruff, D. W. Hutmacher, The return of a forgotten polymer—Polycaprolactone in the 21st century, *Prog. Polym Sci.*, **2010**, *35*, 1217-1256.
- [151] M. Vert, Degradable and bioresorbable polymers in surgery and in pharmacology: beliefs and facts, *J. Mater. Sci: Mater.Med.*, **2009**, *20*, 437-446.
- [152] S. H. Barbanti, C. A. C. Zavaglia, E. A. R. Duek, Degradação acelerada de suportes de poli(ϵ -caprolactona) e poli(D,L-ácido láctico-co-ácido glicólico) em meio alcalino, *Polímeros*, **2006**, *16*, 141-148.

- [153] R. L. Kronenthal, *Polymer Science and Technology: Polymers in Medicine and Surgery*. Springer, New York, 1975.
- [154] J. C. Middleton, A. J. Tipton, Synthetic biodegradable polymers as orthopedic devices, *Biomaterials*, **2000**, *21*, 2335-2346.
- [155] S. Shalaby, A. Hoffman, B. D. Ratner, T. A. Horbett, *Polymers as Biomaterials prolactone*, Springer, 1984, chap. 13.
- [156] V. R. Sinha, K. Bansal, R. Kaushik, R. Kumria, A. Trehan, Poly-epsilon-caprolactone microspheres and nanospheres: an overview, *Int. J. Pharm.*, **2004**, *278*, 1-23.
- [157] P. Gunatillake, R. Mayadunne, R. Adhikari, Recent developments in biodegradable synthetic polymers, *Biotechnology Annual Review*, **2006**, *12*, 301-347.
- [158] A. R. Pohlmann, F. N. Fonseca, K. Paese, C. B. Detoni, K. Coradini, R. CR. Beck, S. S. Guterres, Poly(ϵ -caprolactone) microcapsules and nanocapsules in drug delivery, *Expert. Opin. Drug Deliv.*, **2013**, *10*, 623-638.
- [159] J-C. Jeong, J. Lee, K. Cho, Effects of crystalline microstructure on drug release behavior of poly(epsilon-caprolactone) microspheres, *J. Control. Release*, **2003**, *92*, 249-258.
- [160] V. R. Sinha, A. J. Trehan, Biodegradable microspheres for protein delivery, *Control. Release*, **2003**, *90*, 261-280.
- [161] J. S. Chawla, M. M. Amiji, Biodegradable poly(epsilon -caprolactone) nanoparticles for tumor-targeted delivery of tamoxifen, *Int. J. Pharm.*, **2002**, *249*, 127-138.
- [162] F. Wu, J. Wei, C. Liu, B. O'Neill, Y. Ngothai, Fabrication and properties of porous scaffold of zein/PCL biocomposite for bone tissue engineering, *Compos. Part B-Eng.*, **2012**, *43*, 2192-2197.
- [163] J. P. Temple, D. L. Hutton, B. P. Hung, P. Y. Huri, C. A. Cook, R. Kondragunta, X. Jia, W. L. Grayson, Engineering anatomically shaped vascularized bone grafts with hASCs and 3D-printed PCL scaffolds, *J. Biomed. Mater. Res-A*, **2014**, *102*, 4317-4325.
- [164] D. Milovac, T. C. Gamboa-Martínez, M. Ivankovic, G. G. Ferrer, H. Ivankovic, PCL-coated hydroxyapatite scaffold derived from cuttlefish bone: in vitro cell culture studies, *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.*, **2014**, *42*, 264-272.
- [165] X. Shao, J. C. Goh, D. W. Huttmacher, E. H. Lee, G. Zigang, Repair of large articular osteochondral defects using hybrid scaffolds and bone marrow-derived mesenchymal stem cells in a rabbit model, *Tissue Eng.*, **2006**, *12*, 1539-1551.
- [166] J. Xue, B. Feng, R. Zheng, Y. Lu, G. Zhou, W. Liu, Y. Cao, Y. Zhang, W. J. Zhang, Engineering ear-shaped cartilage using electrospun fibrous membranes of gelatin/polycaprolactone, *Biomaterials*, **2013**, *34*, 2624-2631.

[167] C.-H. Chen, M.-Y. Lee, V. B.-H. Shyu, Y.-C. Chen, C.-T. Chen, J.-P. Chen, Surface modification of polycaprolactone scaffolds fabricated via selective laser sintering for cartilage tissue engineering, *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.*, **2014**, *40*, 389-397.

[168] S. H. Lee, B. S. Kim, S. H. Kim, S. W. Choi, S. I. Jeong, I. K. Kwon, S. W. Kang, J. Nikolovski, D. J. Mooney, Y. K. Han, Y. H. Kim, Elastic biodegradable poly(glycolide-co-caprolactone) scaffold for tissue engineering, *Biomed. Mater. Res. A.*, **2003**, *66*, 29-37.

[169] J. E. Arenas, H. Ahn, T. K. Hill, J. M. Young, H. Chang, J. Yoo, S. J. Lee, Dual seeded polycaprolactone (PCL)/collagen electrospun vascular scaffold for engineering small diameter blood vessel and clinical translation, *Am. Coll. Surgeons*, **2012**, *215*, S139-S140.

[170] H. M. Powell, S. T. Boyce, Engineered Human Skin Fabricated Using Electrospun Collagen-PCL Blends: Morphogenesis and Mechanical Properties, *Tissue Eng. Part A*, **2009**, *15*, 2177-2187.

[171] S. Gautam, C.-F. Chou, A. K. Dinda, P. D. Potdar, N. C. Mishra, Surface modification of nanofibrous polycaprolactone/gelatin composite scaffold by collagen type I grafting for skin tissue engineering, *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.*, **2014**, *34*, 402-409.

[172] N. T. Daia, M. R. Williamson, N. Khammo, E. F. Adams, A. G. A. Coombes, Composite cell support membranes based on collagen and polycaprolactone for tissue engineering of skin, *Biomaterials*, **2004**, *25*, 4263-4271.

[173] A. J. Reid, A. C. Luca, A. Faroni, S. Downes, M. Sun, G. Terenghi, P. J. Kingham, Long term peripheral nerve regeneration using a novel PCL nerve conduit, *Neurosci Lett.*, **2004**, *544*, 125-130.

[174] E. Schnell, K. Klinkhammer, S. Balzer, G. Brook, D. Klee, P. Dalton, Guidance of glial cell migration and axonal growth on electrospun nanofibers of poly- ϵ -caprolactone and a collagen/poly- ϵ -caprolactone blend, *Biomaterials*, **2007**, *28*, 3012-3025.

[175] A. Kurella, N. B. Dahotre, Review paper: surface modification for bioimplants: the role of laser surface engineering, *J. Biomater. App.*, **2005**, *20*, 5-50.

Eclética Química Journal

Original research publication in all aspects of Chemistry
homepage: <http://revista.iq.unesp.br/ojs/index.php/eclética/>
ISSN 1678-4618

| Vol. 41 | 2016 |

Determinação de rutina em formulações farmacêuticas utilizando um sistema de análise por injeção em fluxo envolvendo multicomutação

Déborah C. Azzi¹, Geiser G. Oliveira¹, Bruno C. Janegitz^{1,2}, Viviane G. Bonifácio³, Orlando Fatibello-Filho¹ & Luiz H. Marcolino-Junior^{4*}

Resumo: O presente trabalho descreve um método quimiluminescente de análise por injeção em fluxo envolvendo multicomutação, para a determinação de rutina em formulações farmacêuticas. O método é baseado na oxidação da rutina pelo hipoclorito de sódio, a qual promove o decréscimo da magnitude do sinal quimiluminescente, se comparado à reação na ausência de rutina. Sob condições otimizadas, foi obtida uma curva analítica para concentrações de rutina variando de $5.0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ a $1.0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ($r = 0,996$) com um limite de detecção de $9.7 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ e uma frequência de amostragem de 120 h^{-1} . Estudos de repetibilidade para uma concentração de rutina de $7,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ apresentaram um desvio padrão relativo (DPR) menor que 5,0% para 10 determinações consecutivas. O método proposto foi aplicado com sucesso na determinação de rutina em formulações farmacêuticas.

Palavras-chave: Análise por injeção em fluxo, Rutina, Quimiluminescência, Multicomutação

Abstract: This paper reports a flow injection chemiluminescence method involving multicommutation for rutin determination in pharmaceutical formulations. The method is based on the oxidation of rutin by sodium hypochlorite which decreases the signal magnitude when compared with the same reaction without the rutin. Under optimized conditions, an analytical curve was obtained for rutin concentration range from $5.0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ to $1.0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ($r = 0.9966$) with detection limit of $9.7 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ and a sampling frequency of 120 h^{-1} . Repeatability study for a $7.0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ rutin concentration showed a relative standard deviation (RSD) less than 5.0% for ten consecutive determination. The proposed method was applied successfully for rutin determination in pharmaceutical products.

Keywords: Flow injection analysis, Rutin, Chemiluminescence, multicommutation.

¹ Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos-SP, Brasil;

² Departamento de Ciências da Natureza, Matemática e Educação, Universidade Federal de São Carlos, Araras-SP, Brasil;

³ Departamento de Química, Universidade Estadual de Goiás, Anápolis-GO, Brasil;

⁴ Departamento de Química, Universidade Federal do Paraná, Curitiba-PR, Brasil.

*e-mail: luiz1berto@ufpr.br

INTRODUÇÃO

Os flavonoides são compostos fenólicos que apresentam diversidades estruturais, os quais podem ser divididos em diferentes classes^{1,2}. Entre elas podemos destacar as flavanonas, antocianidinas, flavonas, isoflavonas e flavonóis³. Os flavonóis apresentam atividades farmacológicas, os quais têm sido utilizados em tratamentos de doenças como *diabetes mellitus*, alergias e úlceras pépticas⁴. Eles são fitoquímicos, ou seja, de origem vegetal, sendo considerados princípios ativos em muitas plantas.

A rutina (quercetina-3-ramnosilglicosídeo) é um flavonol glicosídico, encontrado em frutas cítricas e em alguns vegetais, que apresentam grande importância terapêutica atuando na inibição da formação de radicais livres e na melhora da resistência das paredes dos vasos capilares³. Além disso, possui ações antioxidantes, anti-inflamatórias, vasodilatadoras, antialérgicas, antivirais, propriedades estimulantes do sistema imunológico e auxilia também no aumento da eficácia da vitamina C evitando sua oxidação^{4,7}.

Diversas técnicas analíticas têm sido empregadas para a determinação de rutina, incluindo cromatografia com detecção espectrofotométrica⁸, eletroquímica^{3,9} e métodos espectrofotométricos¹⁰. Os métodos espectrofotométricos utilizando análise por injeção em fluxo (FIA) são alternativas interessantes para a detecção de compostos em formulações farmacêuticas pois são procedimentos relativamente baratos e facilmente adaptáveis em análise de rotina aplicada em laboratórios de controle de qualidade¹¹. Os sistemas FIA apresentam algumas vantagens, tais como o baixo consumo de reagentes e amostras, baixo risco de contaminação durante a análise e baixo custo da instrumentação¹²⁻¹⁵. Quando associado a um sistema com multicomutação, tais procedimentos tornam-se ainda mais atrativos, pois apresentam alta frequência de amostragem e boa versatilidade¹⁶. O sistema FIA por multicomutação é um sistema no qual comutadores independentes, controlados por computador, controlam a adição de pequenas frações de reagentes e amostras alternadamente no sistema analítico utilizando uma rede de tubos

interconectados, o que permite direcionar os fluxos e utilizá-los em distintos procedimentos analíticos com diferentes tipos de reação.

A luminescência é um fenômeno que descreve a emissão de luz quando uma molécula no estado excitado decai para o estado fundamental. Há alguns tipos de luminescência que se diferenciam pelo estímulo de energia empregada para se obter o estado excitado. Quando a fonte de energia é proveniente de uma reação química, emprega-se o termo quimiluminescência¹⁷. Uma das reações mais exploradas desde o ano 1928 é a oxidação do luminol sendo empregados diversos compostos como agente oxidante¹⁸⁻²². Na literatura encontram-se procedimentos envolvendo reações quimiluminescentes para a determinação de diferentes espécies. Esses procedimentos destacam-se por apresentarem boa sensibilidade e ampla faixa de resposta linear²³⁻²⁶.

O presente trabalho descreve um procedimento analítico para a determinação de rutina em formulações farmacêuticas utilizando um sistema de análise por injeção em fluxo envolvendo multicomutação com a inibição do sinal quimiluminescente, produzido pela oxidação do luminol após a reação com hipoclorito de sódio. A adição de rutina consome parcialmente o hipoclorito, diminuindo assim a intensidade luminosa proporcionalmente à concentração de rutina na amostra. O uso da multicomutação, bem como a quantificação do analito a partir da inibição do sinal medido são as principais novidades do procedimento proposto. Além disso, um aumento significativo da sensibilidade e também da frequência analítica foi observado.

PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

Reagentes e soluções

As soluções foram preparadas empregando-se água deionizada e reagente com grau analítico. Os reagentes luminol e rutina foram obtidos da Sigma-Aldrich. Carbonato de potássio (K_2CO_3) e hipoclorito de sódio (NaClO) foram obtidos da Vetec. Uma solução de luminol $9,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada

com uma solução de K_2CO_3 $0,60 \text{ mol L}^{-1}$ com pH 11. Soluções de hipoclorito de sódio $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ foram preparadas a partir de uma solução de 6% v/v diariamente. Também foram preparadas soluções de rutina $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ e posteriormente foram diluídas em água deionizada. As amostras comerciais da marca Novarrutina[®] foram adquiridas em farmácias da cidade de São Carlos-SP.

Equipamentos

Foram empregadas válvulas solenoides de três vias (NResearch, West Caldwell, 161T031), tubos de polietileno de 0,8 mm de diâmetro interno e conectores feitos de acrílico. O gerenciamento das válvulas solenoides foi realizado por um microcomputador equipado com uma interface eletrônica (Advantec Corp. PCL 711S). A propulsão das soluções no sistema em fluxo foi realizada por uma bomba peristáltica (Ismatec, modelo 7618-50, 8-canais, Zurique, Suíça) equipada com tubos de Tygon. Empregou-se um fotodetector (OSD50-E, RS 846-711)²⁷ e uma cela de fluxo em polietileno²⁸ para a obtenção das medidas de radiação quimioluminescentes.

Após a aquisição de cada sinal transiente, os dados referentes às medidas da intensidade luminescente (mV) são salvos no arquivo previamente definido, em colunas independentes e o sinal transiente é mostrado no espaço reservado no formulário. Assim, os valores em mV são associados aos valores de tempo nos quais a aquisição foi efetuada.

Diagrama de fluxo e procedimento

Na Figura 1 é apresentado o diagrama de fluxo utilizado no procedimento proposto. O módulo apresentado é constituído por 4 válvulas solenoides (V_1 - V_4), que gerenciam a inserção de reagentes e da solução transportadora no sistema. Inicialmente, todas as válvulas estão fechadas, sendo que a V_1 está invertida. A solução transportadora flui pelo sistema, enquanto as outras soluções ficam reciclando para seus respectivos frascos. Abrindo-se a válvula V_4 , por exemplo, a solução transportadora continua fluindo, as soluções A e R_1 continuam reciclando e a solução R_2 é

introduzida no sistema e, subsequentemente, é transportada à célula de detecção.

Para a obtenção do branco, a válvula V_3 (hipoclorito de sódio) é acionada juntamente com a solução transportadora, as quais fluem pelo percurso analítico por um tempo a ser estabelecido. Na sequência, é então acionada a válvula V_4 (luminol), por um tempo também determinado, permitindo a reação entre o luminol e o hipoclorito, obtendo-se assim o sinal da luminescência.

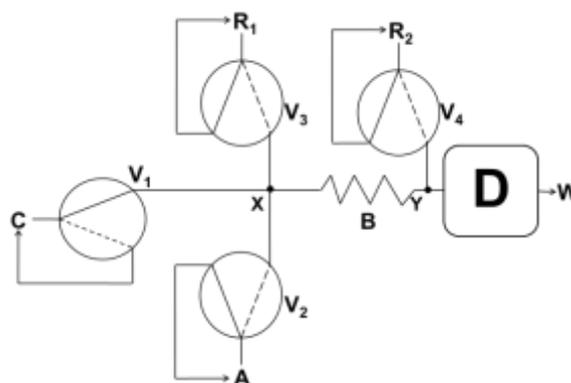


Figura 1. Diagrama de fluxo utilizado para a análise de rutina. C = solução transportadora (K_2CO_3); A = rutina; R_1 = solução de hipoclorito sódio; R_2 = solução de luminol; V_1 , V_2 , V_3 e V_4 = Válvulas solenoides de 3 vias para controle das soluções; D = detector; B = percurso analítico; W = descarte; X e Y = pontos de confluência.

A inibição do sinal da luminescência é promovida pela reação entre a rutina, hipoclorito de sódio e luminol, a qual ocorre abrindo-se simultaneamente as válvulas solenoides V_2 (solução padrão rutina/amostra, A), V_3 (hipoclorito de sódio, R_1) e a V_1 (solução transportadora de carbonato de potássio, C) por um tempo previamente determinado. Assim, a solução transportadora (V_1) retorna para seu frasco e alíquotas de amostra/padrões (V_2) e solução de hipoclorito de sódio (V_3) são inseridas no percurso analítico no ponto X. No percurso analítico (B), ocorre então a reação entre a solução de rutina e hipoclorito de sódio (oxidação da rutina pelo hipoclorito). Na sequência, a válvula V_4 (luminol, R_2) é então acionada e uma alíquota de luminol é inserida no sistema no ponto Y. O luminol reage com o excesso de hipoclorito, que não foi consumido pela rutina, obtendo-se assim o sinal da luminescência. A

diferença entre os sinais do branco (hipoclorito e luminol) e da reação entre hipoclorito, rutina e luminol é determinada, sendo esta proporcional à concentração de rutina.

Preparo das amostras

As amostras de rutina foram preparadas a partir da trituração, com auxílio de um almofariz e pistilo, de dez comprimidos previamente pesados. A massa de dez comprimidos de rutina foi pesada e triturada com auxílio de um almofariz e pistilo. Então, a massa equivalente a de um comprimido de rutina foi transferida para um balão volumétrico de 100 mL e dissolvida com água deionizada. A solução foi filtrada

por gravidade utilizando um funil de vidro e papel de filtro (10 cm de diâmetro). Transferiu-se uma alíquota desta para um balão volumétrico de 25 mL e completou-se com água deionizada. A solução preparada foi empregada para a determinação de rutina através do procedimento proposto a 25 °C.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A determinação da rutina baseou-se na supressão do sinal quimioluminescente gerado a partir da reação do hipoclorito de sódio com luminol (Figura 2).

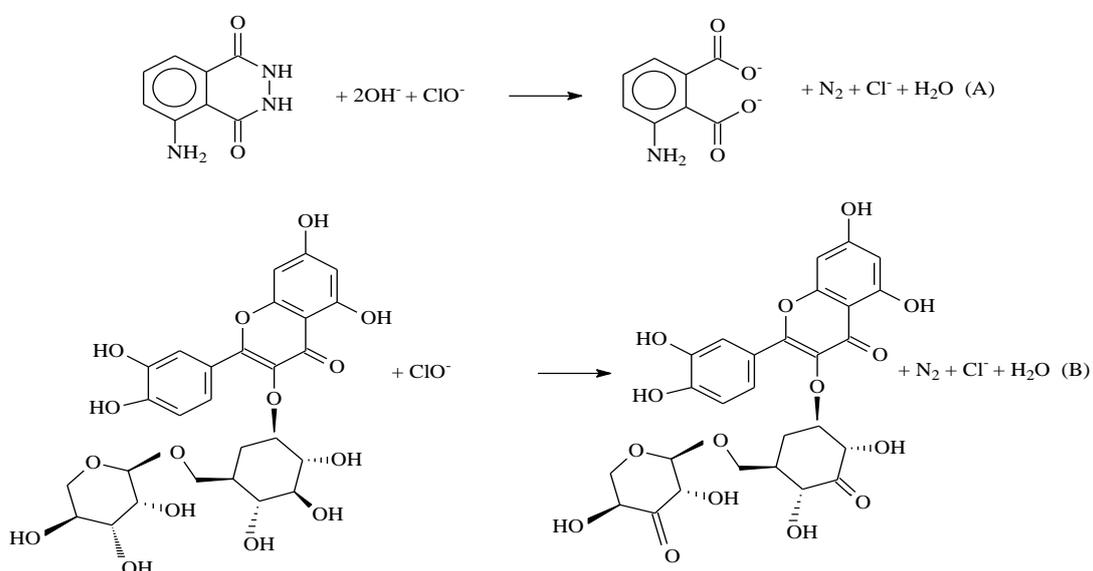


Figura 2. Reação de oxidação da rutina pelo hipoclorito em (A); reação do hipoclorito com o luminol em (B).

Primeiramente, há reação do hipoclorito de sódio com luminol (em meio básico de K_2CO_3 $0,60 \text{ mol L}^{-1}$, com pH 11). (Figura 3A). A adição de rutina consome parcialmente o hipoclorito, diminuindo assim a

intensidade luminosa proporcionalmente à concentração de rutina na amostra (Figura 3B):

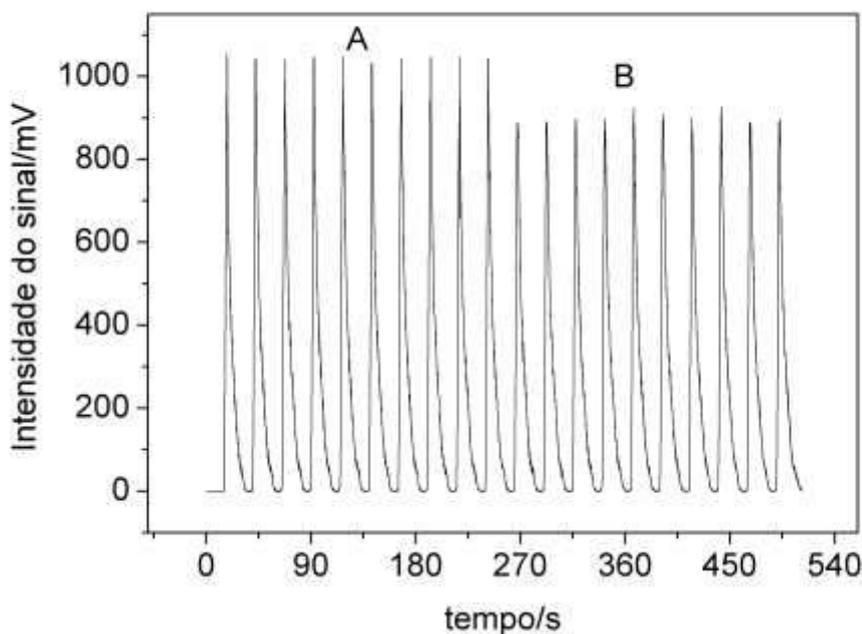


Figura 3. Sinais transientes obtidos empregando-se o sistema proposto: (A) reação do hipoclorito de sódio $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ com luminol $3,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e (B) após a injeção solução da rutina na concentração de $7,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Demais parâmetros: bobina helicoidal de 75 cm; vazão de 2 mL min^{-1}

Inicialmente, estudou-se a concentração de hipoclorito de sódio no intervalo de concentração de $5,0 \times 10^{-4}$ a $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando o sistema proposto. As seguintes condições experimentais empregadas foram: solução transportadora de carbonato de sódio $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, $66 \mu\text{L}$ de solução de rutina $3,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ($V_2 = 2 \text{ s}$), $66 \mu\text{L}$ de solução de hipoclorito de sódio ($V_3 = 2 \text{ s}$) e $66 \mu\text{L}$ de solução de luminol $3,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ($V_4 = 2 \text{ s}$), bobina helicoidal de 25 cm e vazão de $2,0 \text{ mL min}^{-1}$. Houve um aumento do sinal analítico entre as concentrações de $5,0 \times 10^{-4}$ a $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e não se observou aumento da variação de sinal para maiores concentrações, pois a partir de concentrações superiores a $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ não há um excedente de luminol (reagente limitante) para reagir com o excesso de hipoclorito de sódio. Portanto, selecionou-se a solução de hipoclorito de sódio $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ para estudos posteriores.

A influência da concentração de luminol no sinal analítico foi também avaliada no intervalo de concentração de $5,0 \times 10^{-4}$ a $9,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Mantiveram-se as condições do sistema fixadas em:

$66 \mu\text{L}$ de solução de rutina $3,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ($V_2 = 2 \text{ s}$), $66 \mu\text{L}$ de solução de hipoclorito de sódio $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ($V_3 = 2 \text{ s}$) e $66 \mu\text{L}$ de solução de luminol nas concentrações mencionadas acima ($V_4 = 2 \text{ s}$), bobina helicoidal de 25 cm, vazão de $2,0 \text{ mL min}^{-1}$ e a solução transportadora de carbonato de sódio $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. Observou-se um aumento da variação do sinal analítico até $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de luminol e a partir de então, não ocorreu aumento significativo de sinal, neste caso o hipoclorito se comporta como o reagente limitante da reação, selecionando-se a concentração da solução de luminol $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ para demais estudos.

A próxima etapa do trabalho foi o estudo do tempo de acionamento das válvulas solenoides para as soluções de hipoclorito de sódio e rutina, avaliando-se de maneira simultânea o tempo de acionamento das válvulas. Para isso, variou-se o tempo de acionamento das válvulas solenoides entre 1 a 6 s com a vazão fixa de todos os canais, solução transportadora e reagentes, em $2,0 \text{ mL min}^{-1}$. As demais condições utilizadas foram: solução transportadora de carbonato de sódio $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, $66 \mu\text{L}$ de solução de rutina $3,0 \times 10^{-5}$

mol L⁻¹ (V₂ = 2 s), 66 µL de solução de hipoclorito de sódio 1,0 × 10⁻³ mol L⁻¹ (V₃ = 2 s), 66 µL de solução de luminol 5,0 × 10⁻³ mol L⁻¹ (V₄ = 2 s) e percurso analítico de 25 cm. Constatou-se um aumento do sinal analítico com o tempo de acionamento das válvulas solenoide V₂ e V₃ até 4 s. Para tempos superiores, a resposta permaneceu praticamente constante. Sendo assim, selecionou-se o tempo de 4 s de acionamento simultâneo das válvulas solenoides para hipoclorito de sódio e rutina. Também foi realizado o estudo do tempo de acionamento da válvula solenoide da solução de luminol (V₄) entre 1 e 6 s. Observou-se, que há um aumento do sinal analítico até 3 s e, acima desse tempo, a resposta manteve-se constante. Então, o tempo de 3 s foi selecionado para o acionamento da válvula contendo o reagente quimioluminescentes.

O efeito do comprimento do percurso analítico (B) de 25 a 150 cm foi avaliado. Observou-se que há um aumento da variação do sinal analítico até 75 cm. Em comprimentos maiores que este houve um decréscimo da resposta analítica, o que pode estar

relacionado à diluição do hipoclorito de sódio durante o percurso. Sendo assim, o comprimento selecionado foi de 75 cm.

Estudou-se a influência da vazão das soluções simultaneamente na faixa de 1,0 a 3,0 mL min⁻¹. Verificou-se um aumento no sinal analítico com a vazão até 2,0 mL min⁻¹. Acima desta vazão observou-se o aumento na pressão hidrodinâmica do sistema, além de não se obter sinais reprodutíveis. Portanto, a vazão de 2,0 mL min⁻¹ foi selecionada para estudos posteriores.

Após a otimização dos parâmetros instrumentais, construiu-se a curva analítica para rutina no intervalo de concentração de 5,0 × 10⁻⁶ mol L⁻¹ a 1,0 × 10⁻⁴ mol L⁻¹ utilizando o método FIA proposto como observado na Figura 4. A equação da reta é descrita pela equação: ΔI (mV) = 0,968 – 8,32 × 10³ [Rutina] (mol L⁻¹); r = 0,994 (n=3), com um limite de detecção de 9,70 × 10⁻⁷ mol L⁻¹ ((3 X SD)/S), sendo SD o desvio padrão do branco e S a inclinação da curva analítica).

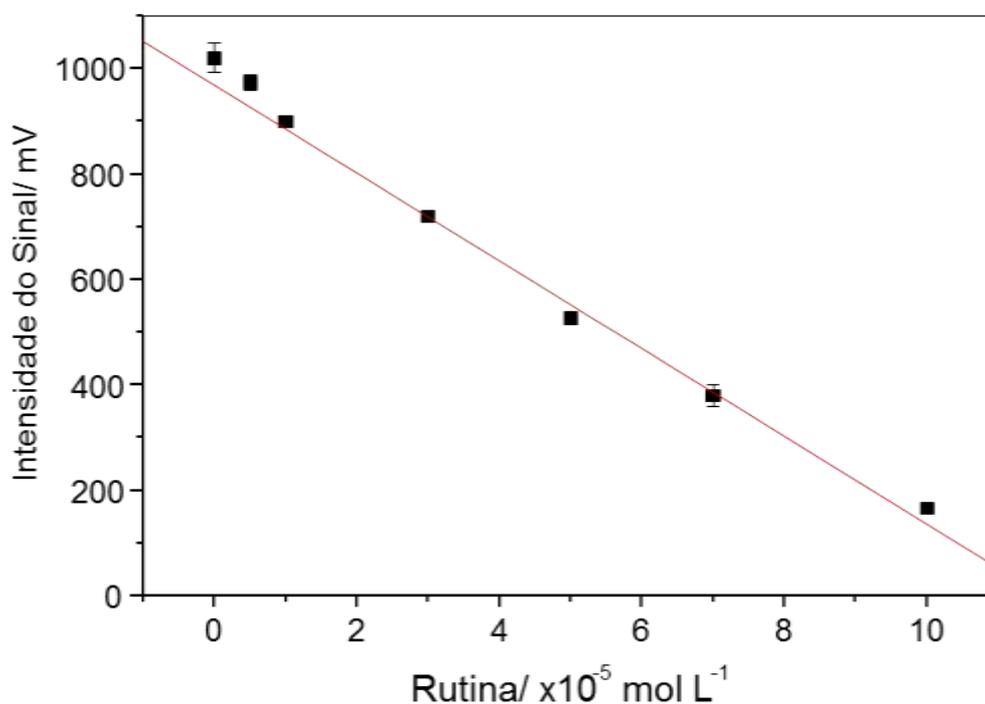


Figura 4. Curva analítica obtida a partir das seguintes adições de rutina: 5,0 × 10⁻⁶; 7,0 × 10⁻⁶; 1,0 × 10⁻⁵; 3,0 × 10⁻⁵; 5,0 × 10⁻⁵; 7,0 × 10⁻⁵ e 1,0 × 10⁻⁴ mol L⁻¹.

Demais condições utilizadas foram: solução transportadora de carbonato de sódio 0,05 mol L⁻¹, hipoclorito de sódio 1,0 × 10⁻³ mol L⁻¹, luminol 5,0 × 10⁻³ mol L⁻¹.

Demais parâmetros: bobina helicoidal de 75 cm e vazão de 2 mL min⁻¹

Obteve-se uma frequência de amostragem de 120 h⁻¹. Para o estudo da repetibilidade (n=10), o sistema proposto apresentou um desvio padrão relativo de 2,8% e 2,6% para as concentrações de rutina de 1,0 × 10⁻⁵ e 7,0 × 10⁻⁵ mol L⁻¹, respectivamente. Realizou-se o estudo de adição e recuperação utilizando soluções padrão em duas diferentes concentrações de rutina (1,0 × 10⁻⁵ e 5,0 × 10⁻⁵ mol L⁻¹), obtendo-se recuperações variando de 97,0 a 104%.

O efeito de potenciais interferentes na determinação de rutina em formulações farmacêuticas foi estudado utilizando-se uma solução de rutina de 3,0 × 10⁻⁵ mol L⁻¹. Excipientes e estabilizantes como

amido, sacarose, cafeína e óxido de ferro foram testados um a um nas concentrações declaradas nos produtos comerciais. Não se observou interferência significativa sobre o sinal analítico nos valores estudados para essas substâncias.

Realizou-se a determinação de rutina em formulações farmacêuticas comerciais pelo método quimioluminescente proposto e por um método espectrofotométrico comparativo²⁹. Os resultados obtidos estão em boa concordância dentro de um intervalo de confiança de 95%, empregando-se o teste-t pareado como observado na Tabela 1.

Tabela 1. Determinação de rutina em formulações farmacêuticas pelo procedimento proposto e pelo o método comparativo²⁹

Amostras	Rutina (mg g ⁻¹)			Er(%)		Teste t*	Test f
	Valor rotulado	Comparativo	Proposto	E ₁	E ₂		
A	300	295±2	298±3	-0,6	1,0		
B	300	297±3	291±4	-3,0	-2,0	0,225	0,75
C	300	299±2	300±2	0	0,3		

n = 3, nível de confiança de 95%

E₁= procedimento proposto vs. valor rotulado

E₂= procedimento proposto vs. procedimento comparativo

*t_{crit}=2,92

*f_{crit}=19

Ademais, o procedimento proposto apresentou faixa linear e limite de detecção semelhante a alguns trabalhos descritos na literatura para a determinação de rutina como observado na Tabela 2.

Tabela 2. Procedimentos analíticos propostos para a determinação de rutina

Técnica	Faixa linear (mol L ⁻¹)	Limite de detecção (mol L ⁻¹)	Ref
Voltametria	$1,0 \times 10^{-7} - 2,0 \times 10^{-6}$	$2,3 \times 10^{-8}$	[30]
Fluorescência	$5,0 \times 10^{-6} - 4,0 \times 10^{-5}$	$1,2 \times 10^{-6}$	[31]
Cromatografia	$8,2 \times 10^{-5} - 6,6 \times 10^{-4}$	$4,2 \times 10^{-5}$	[32]
Espectrofotometria	$6,6 \times 10^{-6} - 3,9 \times 10^{-5}$	$1,2 \times 10^{-6}$	[33]
Quimiluminescência	$5,0 \times 10^{-6}$ a $1,0 \times 10^{-4}$	$9,7 \times 10^{-7}$	Este trabalho

CONCLUSÕES

Neste trabalho apresentamos um método de análise por injeção em fluxo envolvendo multicomutação e quimiluminescência para a determinação de rutina em formulações farmacêuticas. A adição de rutina consumiu parcialmente o hipoclorito (que reage com o luminol), diminuindo assim a intensidade luminosa proporcionalmente à concentração de rutina na amostra. O procedimento proposto foi aplicado com sucesso na determinação de rutina em formulações farmacêuticas. Os resultados obtidos estão em boa concordância dentro de um intervalo de confiança de 95%, empregando-se o

teste-t pareado. O método é simples, de baixo custo com alta frequência de amostragem e acurácia e pode ser utilizado para a determinação deste fármaco em laboratórios de análises de rotina e de controle de qualidade. Ademais, o procedimento proposto pode ser utilizado em aulas de química analítica quantitativa e química analítica instrumental para ampliar os conhecimentos de alunos de graduação.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq, a CAPES e à FAPESP (2015/19099-2) pelo suporte financeiro.

REFERÊNCIAS

- [1] P. H. Marco, R. J. Poppi, I. S. Scarminio, Procedimentos analíticos para identificação de antocianinas presentes em extratos naturais, *Quim. Nova*, **2008**, *31*, 1218-1223.
- [2] H. P. Hendrickson, A. D. Kaufman, C. E. Lunte, Electrochemistry of catechol-containing flavonoids, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **1994**, *12*, 325-334.
- [3] G. Magarelli, L. H. C. Lima, J. G. Silva, J. R. Souza, C. S. P. de Castro, Rutin and total isoflavone determination in soybean at different growth stages by using voltammetric methods, *Microchem. J.*, **2014**, *117*, 149-155.
- [4] H. G. Rodrigues, Y. S. A. Diniz, L. A. Faine, J. A. Almeida, A. A. H. Fernandes, E. L. B. Novelli, Suplementação nutricional com antioxidantes naturais: efeito da rutina na concentração de colesterol-HDL, *Revista de Nutrição*, **2003**, *16*, 315-320.
- [5] S. Yang, G. Li, J. Zhao, H. Zhu, L. Qu, Electrochemical preparation of Ag nanoparticles/poly(methylene blue) functionalized graphene nanocomposite film modified electrode for sensitive determination of rutin, *J. Electroanal. Chem.*, **2014**, *717*, 225-230.
- [6] D. Miao, J. Li, R. Yang, J. Qu, L. Qu, P. B. Harrington, Supersensitive electrochemical sensor for the fast determination of rutin in pharmaceuticals and biological samples based on poly(diallyldimethylammonium chloride)-functionalized graphene, *J. Electroanal. Chem.*, **2014**, *732*, 17-24.
- [7] W. Sun, X. Wang, H. Zhu, X. Sun, F. Shi, G. Li, Z. Sun, Graphene-MnO₂ nanocomposite modified carbon ionic liquid electrode for the sensitive electrochemical detection of rutin, *Sens. Act. B*, **2013**, *178*, 443-449.
- [8] N. K. Glavac, K. Stojilkovski, S. Kreft, C. H. Park, I. Kreft, Determination of fagopyrins, rutin, and quercetin in Tartary buckwheat products, *LWT-Food Sci. Technol.*, **2017**, *79*, 423-427.
- [9] R. M. Xing, H. T. Yang, S. N. Li, J. H. Yang, X. Y. Zhao, Q. L. Wang, S. H. Liu, X. H. Liu, A sensitive and reliable rutin electrochemical sensor based on palladium phthalocyanine-MWCNTs-Nafion nanocomposite, *J. Solid State Electrochem.*, **2017**, *21*, 1219-1228.
- [10] D. Lupascu, C. Tuchilus, F. G. Lupascu, S. Constantin, M. Apotrosoaei, I. M. Vasincu, A. T. Iacob, L. Profire, Rutin semisynthetic derivatives with antifungal properties, *Farmacia*, **2017**, *65*, 184-188.
- [11] L. H. Marcolino-Junior, V. G. Bonifácio, F. C. Vicentini, B. C. Janegitz, O. Fatibello-Filho, Amperometric Determination of Captopril Using a Carbon Paste Electrode in Flow Analysis, *Can. J. Anal. Sci. Spectr.*, **2009**, *54*, 45-51.
- [12] V. G. Bonifacio, O. Fatibello-Filho, L. H. Marcolino-Junior, Flow-injection spectrophotometric determination of dipyrone in pharmaceutical formulations using a solid-phase reactor with copper(II) phosphate, *Central Eur. J. Chem.*, **2013**, *11*, 1830-1836.
- [13] F. C. Vicentini, W. T. Suarez, E. T. G. Cavalheiro, O. Fatibello-Filho, Flow-injection spectrophotometric determination of captopril in pharmaceutical formulations using a new solid-phase reactor containing AgSCN immobilized in a polyurethane resin, *Braz. J. Pharm. Sci.*, **2012**, *48*, 325-333.

- [14] G. G. Oliveira, B. C. Janegitz, M. B. Batistao, F. H. Salami, O. Fatibello-Filho, O. D. Leite, Determinação de paracetamol pela inibição da reação quimiluminescente do luminol-hipoclorito de sódio em um sistema de análise em fluxo empregando o conceito de multicomutação, *Quim. Nova*, **2009**, *32*, 1755-1759.
- [15] W. T. Suarez, O. D. Pessoa-Neto, B. C. Janegitz, H. J. Vieira, R. C. Faria, O. Fatibello-Filho, Flow Injection Spectrophotometric Determination of N-Acetylcysteine and Captopril Employing Prussian Blue Generation Reaction, *Anal. Lett.*, **2011**, *44*, 2394-2405.
- [16] A. F. Lavorante, M. A. Feres, B. F. Reis, Multi-commutation in Flow Analysis: A Versatile Tool for the Development of the Automatic Analytical Procedure Focused on the Reduction of Reagent Consumption, *Spectr. Lett.*, **2006**, *39*, 631-650.
- [17] E. C. Ferreira, A. V. Rossi, A Quimiluminescência como Ferramenta Analítica: do Mecanismo a Aplicações da Reação do Luminol em Métodos Cinéticos de Análise, *Quim. Nova*, **2002**, *25*, 1003-1011.
- [18] J. Q. Chen, J. Shu, J. Chen, Z. R. Cao, A. Xiao, Z. Y. Yan, Highly luminescent S,N co-doped carbon quantum dots-sensitized chemiluminescence on luminol-H₂O₂ system for the determination of ranitidine, *Luminescence*, **2017**, *32*, 277-284.
- [19] W. Y. Gao, C. Wang, K. Muzyka, S. A. Kitte, J. P. Li, W. Zhang, G. B. Xu, Artemisinin-Luminol Chemiluminescence for Forensic Bloodstain Detection Using a Smart Phone as a Detector, *Anal. Chem.*, **2017**, *89*, 6161-6165.
- [20] Y. Y. Sheng, H. L. Yang, Y. Wang, L. Han, Y. J. Zhao, A. P. Fan, Silver nanoclusters-catalyzed luminol chemiluminescence for hydrogen peroxide and uric acid detection, *Talanta*, **2017**, *166*, 268-274.
- [21] M. Zhou, A. L. Wang, C. Li, X.W. Luo, Y. J. Ma, Flow-based determination of methionine in pharmaceutical formulations exploiting TGA-capped CdTe quantum dots for enhancing the luminol-KIO₄ chemiluminescence, *J. Lumin.*, **2017**, *183*, 206-211.
- [22] H. Yao, X. M. Huang, P. Y. Shi, Z. Lin, M. L. Zhu, A. L. Liu, X. H. Lin, Y. H. Tang, DPPH-luminol chemiluminescence system and its application in the determination of scutellarin in pharmaceutical injections and rat plasma with flow injection analysis, *Luminescence*, **2017**, *32*, 588-595.
- [23] M. Amjadi, J. L. Manzoori, T. Hallaj, T. Shahbazsaghir, Application of the chemiluminescence system composed of silicon-doped carbon dots, iron(II) and K₂S₂O₈ to the determination of norfloxacin, *Microchim. Acta*, **2017**, *184*, 1587-1593.
- [24] S. T. Li, T. Z. Yang, J. J. Zhao, Y. Huang, S. L. Zhao, Chemiluminescence Noncompetitive Immunoassay Based on Microchip Electrophoresis for the Determination of β -Subunit of Human Chorionic Gonadotropin, *J. Chromatogr. B.*, **2017**, *1053*, 42-47.
- [25] Z. Saeedi, A. Lotfi, J. Hassanzadeh, N. Bagheri, Highly sensitive determination of copper (II) ions using fluorescence and chemiluminescence emissions of modified CdS quantum dots after its preconcentration by dispersive liquid-liquid microextraction, *Can. J. Chem.*, **2017**, *95*, 704-709.
- [26] D. Q. Yang, Y. Y. He, Y. Y. Sui, F. N. Chen, Determination of catechol in water based on gold nanoclusters-catalyzed chemiluminescence, *J. Lumin.*, **2017**, *187*, 186-192.

- [27] O. D. Leite, O. Fatibello, H. J. Vieira, F. R. P. Rocha, N. S. Miranda Cury, A Multicommutated Flow-based System for Hydrogen Peroxide Determination by Chemiluminescence Detection Using a Photodiode, *Anal. Lett.*, **2007**, *40*, 3148-3157.
- [28] O. D. Leite, O. Fatibello, F. R. P. Rocha, Um Experimento de Análise em Fluxo Envolvendo Reações Enzimáticas e Quimiluminescência, *Quim. Nova*, **2004**, *27*, 337-341.
- [29] Rutin in drugs, Official Methods of Analysis of AOAC Internacional, Arlington:AOAC Internacional, 1995, Vol. 1
- [30] Y. Lei, D. Du, L. Tang, C. Tan, K. Chen, G.-J. Zhang, Determination of Rutin by a Graphene-Modified Glassy Carbon Electrode, *Anal. Lett.*, **2014**, *48*, 894-906.
- [31] J. M. Carvalho, K. C. Leandro, A. R. da Silva, R. Q. Aucélio, Selective Determination of Rutin by Fluorescence Attenuation of the CdS-2-mercaptopropionic Acid Nanocrystal Probe, *Anal. Lett.*, **2012**, *46*, 207-224.
- [32] K. Ashok Kumar, S. Ramachandra Shetty, L. Narsu, HPTLC Method Development and Validation for Determination of Rutin in Flavanoidal Fraction of Hibiscus micranthus Linn, *E-Journal Chem.*, **2011**, *8*, 1444-1450.
- [33] H. Xu, Y. Li, H.-W. Tang, C.-M. Liu, Q.-S. Wu, Determination of Rutin with UV-Vis Spectrophotometric and Laser-Induced Fluorimetric Detections Using a Non-Scanning Spectrometer, *Anal. Lett.*, **2010**, *43*, 893-904.

Estudo comparativo *in vitro* e avaliação da qualidade físico-química do antirretroviral aciclovir comprimidos obtidos via internet

Marina C. dos Santos¹, Wilsione J. Carneiro^{1*}

Resumo: O aciclovir é um fármaco análogo do nucleosídeo da guanosina que inibe a replicação viral através da interrupção da cadeia de DNA com alta especificidade para os vírus do herpes. É necessário que consumidores de medicamentos antirretrovirais obtenham produtos confiáveis do mercado farmacêutico, e para isso, os ensaios analíticos contribuem para comprovar a sua qualidade durante o seu prazo de validade. Este trabalho tem por objetivo realizar um estudo comparativo *in vitro* e avaliar a qualidade de comprimidos de aciclovir 200 mg disponíveis no mercado virtual. Os métodos utilizados para realizar os testes de controle de qualidade físico-química de aspecto, doseamento, dissolução, desintegração, dureza, friabilidade, peso médio, umidade e uniformidade, seguiram as recomendações das literaturas. Os resultados obtidos indicaram que as especialidades farmacêuticas cumpriram com seus parâmetros de qualidade, porém, apresentaram resultados de friabilidade, uniformidade e de teor de umidade próximos aos limites máximos preconizados pela Farmacopeia Brasileira, 5ª Ed. Diante disso, a avaliação da qualidade durante o prazo de validade dos produtos obtidos pela internet tem implicações na segurança e eficácia dos medicamentos, e isso deve ser considerado pelos profissionais de saúde para salvaguardar a terapêutica dos pacientes.

Palavras-chave: aciclovir, avaliação da qualidade, mercado virtual

Abstract: Acyclovir is an analog of guanosine nucleoside drug which inhibits viral replication by interrupting DNA chain with high specificity for the herpes virus. It is necessary that consumers of antiretroviral drugs obtain reliable products from pharmaceutical market, and for this, the analytical tests contribute to prove its quality during its shelf life. This work aims to carry out a comparative study *in vitro* and evaluate the quality of acyclovir 200 mg tablets available in the virtual market. The methods used to perform the physical-chemical quality control testing aspect, assay, dissolution, disintegration, hardness, friability, weight, humidity and uniformity followed the recommendations of the literature. The results indicated that the medicinal products have met with their quality parameters, but presented results of friability, uniformity and moisture content near the maximum limits recommended by the Brazilian Pharmacopoeia, 5th Ed. Therefore, the quality assessment over the shelf life of the products obtained via internet has implications for the safety and efficacy of the drugs, and this should be considered by health professionals to safeguard the treatment of patients.

Keywords: acyclovir, quality assessment, virtual market

¹ Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde - Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT) - Avenida Valdon Varjão, nº 6.390, CEP: 78600-000, fone: (66) 3401-5317 - Barra do Garças - Mato Grosso/Brasil.

*E-mail: wilsione.carneiro@hotmail.com

INTRODUÇÃO

O sucesso do tratamento antirretroviral veio com a descoberta do aciclovir (ACV), um fármaco análogo do nucleosídeo da guanosina com alta especificidade para os vírus do herpes. Sua força de atuação varia conforme o vírus e é mais ativo contra o vírus do herpes simples e menos ativo contra o vírus varicela-zoster^{1,2}.

Quando administrado por via oral, o medicamento com dosagens de 200 e 400 mg tem sua biodisponibilidade entre 10% a 30%, não sendo proporcional ao aumento da dose. Sua distribuição é ampla pelos líquidos corporais com tempo de meia-vida de 2,5 horas. Seu metabolismo é feito pelas enzimas hepáticas do citocromo P450 e sua eliminação dá-se por excreção renal, principalmente por secreção tubular¹.

Em razão de o Brasil ser conhecido como um dos maiores vendedores virtuais e também produtores de medicamentos do mundo, é observado que o crescimento no consumo de medicamentos aumentou de forma significativa. Diante disso, necessita-se de produtos confiáveis no mercado farmacêutico e de realização de ensaios analíticos que comprovem sua qualidade durante seu prazo de validade^{3,6,10}.

A qualidade de um produto é considerada como a soma de características e propriedades satisfatórias, a fim de atender as necessidades dos consumidores, com isso o controle da qualidade dos medicamentos na indústria farmacêutica é indispensável para sua comercialização. A qualidade de um medicamento é avaliada em diversas etapas, inicia-se na análise das matérias-primas, ocorre durante o processo produtivo, na obtenção do produto acabado e na sua comercialização⁴⁻⁶.

Muitos medicamentos são adquiridos via internet e transportados pelo sistema de transporte de encomendas para diferentes regiões do país. O processo de transporte inadequado pode ocasionar alteração na qualidade do produto que será entregue ao consumidor. No transporte das formas farmacêuticas pelo sistema de transporte de encomendas, esses produtos podem sofrer intensas variações climáticas e físicas, como alterações na temperatura, exposição à luz, umidade, fricção e atrito. Essas variações contribuem para reduzir a

qualidade do produto farmacêutico que será entregue ao consumidor^{3,6,10}.

É indispensável realizar estudos comparativos entre medicamentos genéricos e referência, uma vez que ensaios analíticos *in vitro* são determinantes para provar a semelhança entre os produtos⁷. Realizar testes de controle de qualidade físico-química em medicamentos avalia se a forma farmacêutica atende as especificações estabelecidas pela Farmacopeia Brasileira ou por outros compêndios oficiais. Se durante o estudo houver a reprovação em algum ensaio, é comprovado o comprometimento da qualidade do produto, o que comprometerá a segurança e a eficácia do medicamento^{6,8}.

Diante do exposto, este trabalho tem por finalidade realizar ensaios comparativos *in vitro* e avaliar a qualidade físico-química de comprimidos dos medicamentos referência e genérico obtidos via internet, que contêm 200 mg do antirretroviral ACV, por meio dos ensaios de aspecto, doseamento, dissolução, desintegração, dureza, espessura, diâmetro, friabilidade, peso médio, umidade e uniformidade.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras, substância química de referência e reagentes

Comprimidos de duas diferentes especialidades farmacêuticas denominados de A (medicamento referência) e B (medicamento genérico), contendo 200 mg de ACV, foram adquiridos via internet de drogarias localizadas na cidade de São Paulo – SP e transportados para a UFMT/CUA – Barra do Garças – MT. Foi utilizado como substância química de referência ACV (SQR) produzido pela Farmacopeia Brasileira, lote: 1021. Todos os reagentes empregados apresentaram grau analítico.

Equipamentos

Balança analisadora de umidade por infravermelho (Gehaka, mod. IV2000), balança analítica (Celtac, mod. FA2104N), desintegrador (Nova Ética, mod. 301AC/03), dissolutor (Nova Ética, mod. 299 - 6TS), durômetro manual (Nova Ética, mod. 298/DGP), espectrofotômetro (Biospectro, mod.

SP - 220), friabilômetro (Nova Ética, mod. 300/1), paquímetro 6" (Zaas precision), sistema de purificação de água Milli-Q-plus (Millipore) e ultrassom (Unique, mod. USC – 2800).

Avaliação da qualidade dos comprimidos de aciclovir 200 mg

Este estudo comparativo *in vitro* que avalia a qualidade de comprimidos de ACV 200 mg, obtidos via internet, seguiu os parâmetros estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira, 5ª edição (volumes I e II) e literaturas¹⁻²⁸.

Aspecto dos comprimidos

Foram analisados 10 (dez) comprimidos de forma aleatória, a fim de observar as seguintes características: cor, odor, presença ou ausência de logomarca, sulco e revestimento, assim como formato e integridade das especialidades farmacêuticas⁹⁻¹¹.

Doseamento de aciclovir

Foram pesados 20 (vinte) comprimidos e em seguida pulverizados com auxílio de gral e pistilo. Foi transferido 0,1 g de ACV para balão volumétrico de 100,0 mL e adicionado 60 mL de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 mol L⁻¹. Após 15 minutos em ultrassom, o volume do balão volumétrico foi completado com o mesmo diluente (NaOH 0,1 mol L⁻¹), homogeneizado e filtrado. Foram transferidos 15,0 mL da solução obtida para balão volumétrico de 100,0 mL, adicionou-se 50 mL de água purificada obtida por osmose reversa, 5,8 mL de ácido clorídrico (HCl) 2,0 mol L⁻¹, foi completado o volume com água purificada obtida por osmose reversa e em seguida homogeneizou-se a solução. Em seguida, 5,0 mL foram transferidos para balão volumétrico de 50,0 mL e o volume foi completado com ácido acético 0,1 mol L⁻¹ e homogeneizado. Foi preparada uma solução contendo a SQR de ACV na concentração de 0,0015%, utilizando os mesmos solventes. As amostras foram preparadas em triplicata e as leituras das absorvâncias das soluções resultantes foram medidas em cubetas de quartzo de 1 cm à temperatura ambiente (27 ± 1) °C, no comprimento de onda de 255 nm. Empregou-se HCl 0,1 mol L⁻¹ para ajuste do zero¹².

O teor foi calculado com a Equação 1:

$$T = Ab_{amostra} \times 100 / Ab_{SQR} \quad (\text{Equação 1})$$

Em que, **T** = Teor; **Ab**_{amostra} = leitura de absorvância obtida pela solução amostra; **Ab**_{SQR} = leitura de absorvância obtida pela solução que contém a substância química de referência de ACV^{10,12,15}.

Teste de dissolução

Para o teste de dissolução foi utilizado o equipamento dissolutor. Foram analisados 6 comprimidos de ACV de cada especialidade farmacêutica¹².

O meio de dissolução utilizado foi HCl 0,1 mol L⁻¹ (900 mL) a uma temperatura de (37 ± 0,5) °C, sob rotação de 50 rpm/min. Após 45 minutos, foram retiradas alíquotas do meio de dissolução, que foram diluídas, quando necessário, com ácido clorídrico 0,1 mol L⁻¹, até concentração de 0,01 mg/mL. As leituras das absorvâncias foram medidas em 255 nm a temperatura ambiente (27 ± 1) °C e foi utilizado o mesmo solvente para ajuste do zero. Foi calculada a quantidade de ACV dissolvido no meio, a partir da comparação das leituras obtidas para a solução que continha a substância química de referência, na concentração de 0,001% (m/V). A SQR foi solubilizada previamente em ácido clorídrico 0,1 mol L⁻¹^{10,12,13}. As amostras foram preparadas em duplicata.

A quantidade de ACV dissolvida foi calculada conforme demonstrado na Equação 2.

$$Q_{dissolvido} = Ab_{amostra} \times 100 / Ab_{SQR} \quad (\text{Equação 2})$$

Em que, **Q**_{dissolvido} = Quantidade dissolvida de ACV dissolvido em HCL 0,1 mol L⁻¹ em 45 min; **Ab**_{amostra} = leitura de absorvância obtida pela solução amostra; **Ab**_{SQR} = leitura de absorvância obtida pela solução que contém a SQR^{10,12,13}.

De acordo com a Farmacopeia Brasileira, 5ª Ed., não menos que 80 + 5% (**Q**_{dissolvido}) da quantidade declarada de ACV devem se dissolver em 45 minutos para ser aprovado em primeiro estágio (E1)¹².

Tempo de desintegração

Para a realização deste ensaio foi necessária a utilização de aparelhagem específica, o desintegrador. Este teste consiste na utilização de 6 comprimidos, colocados unitariamente em 6 tubos de uma cesta com fundo metálico, e sobre os comprimidos foi adicionado um disco de acrílico. Após esse procedimento, a cesta foi submetida a movimentos suaves e verticais em solução aquosa a temperatura de (37 ± 1) °C durante 30 minutos. Ao final desse intervalo, foi avaliado o estado físico de cada comprimido^{8,10,14}.

Cumprem o teste os comprimidos que não deixarem resíduos na tela metálica do aparelho, ou comprimidos que, quando transformados em pasta, apresentarem núcleo seco após ser palpável no tempo final de desintegração^{10,14,15}.

Teste de dureza, espessura e diâmetro

A determinação da dureza foi realizada no aparelho denominado durômetro. O ensaio foi procedido conforme as recomendações da Farmacopeia Brasileira 5ª Ed., que preconiza a utilização de 10 comprimidos para que, individualmente, seja medida a força necessária para esmagá-los diametralmente, medida em Newton (N). A espessura e o diâmetro desses comprimidos foram medidos de forma aleatória, em 10 (dez) unidades, e com a utilização de um paquímetro. Os resultados encontrados são de caráter informativo^{8,14}.

Teste de Friabilidade

Para realizar a friabilidade (Fr) foram pesados 20 (vinte) comprimidos de ACV 200 mg e em seguida as unidades foram transferidas para um aparelho denominado friabilômetro. Foram ajustadas as rotações por minuto e o tempo, de modo que ocorressem 100 rotações durante 4 minutos. Após o teste, os comprimidos foram limpos e pesados novamente^{8,12}.

A Fr é representada pela diferença entre a massa inicial (M_i) e a massa final (M_f) dos comprimidos, de acordo com a Equação 3.

$$Fr = M_i - M_f \quad (\text{Equação 3})$$

Em que **Fr** = Friabilidade; M_i = massa inicial dos comprimidos e M_f = massa final dos comprimidos.

O cálculo para obtenção da friabilidade em função da porcentagem de pó perdido ($P_p\%$) é determinado conforme Equação 4.

$$P_p\% = Fr \times 100 / M_i \quad (\text{Equação 4})$$

Em que, $P_p\%$ = Porcentagem de pó perdido durante o teste de friabilidade; **Fr** = Friabilidade e M_i = massa inicial.

Para o lote ser considerado aprovado, o resultado obtido de $P_p\%$ não deverá ultrapassar 1,5% do M_i e ao finalizar o teste nenhum comprimido poderá ser encontrado lascado, quebrado, rachado ou partido^{14,16}.

Determinação de peso médio

Neste ensaio foi determinada a massa separadamente de 20 (vinte) comprimidos em balança analítica. Em seguida foi avaliada a variação percentual das massas das unidades em relação à massa média, conforme Equação 5.

$$P_m = \Sigma M_i / n \quad (\text{Equação 5})$$

Em que P_m = peso médio; ΣM_i = Soma das massas dos valores individuais e n = número de comprimidos avaliados^{10,14}:

Foram calculados os limites de variação máximo e mínimo, segundo a Equação 6.

$$L_v = V \times 100 / P_m \quad (\text{Equação 6})$$

Em que L_v = limite de variação; V = Massa unitária máxima e mínima encontrado no teste de peso médio e P_m = peso médio.

Cumprem o teste os comprimidos que, preferencialmente, não ultrapassem os limites superiores máximos e mínimos, conforme Quadro 1. Caso a massa individual esteja fora do especificado, tolera-se não mais que duas unidades e nenhuma unidade acima ou abaixo do dobro das porcentagens indicadas (Quadro 1).

Quadro 01: Critérios de aceitação para o Limite de variação para formas farmacêuticas sólidas por dose unitária em relação ao peso médio¹⁴

Formas farmacêuticas em dose unitária	Massa média	Limites de variação (L _v)
Comprimidos não revestidos ou revestidos com filme, comprimidos efervescentes, comprimidos sublinguais, comprimidos vaginais e pastilhas.	≤ 80 mg	± 10,0%
	> 80 mg e < 250 mg	± 7,5%
	≥ 250 mg	± 5,0%

Teste de verificação de umidade

Foi determinada na balança analisadora de umidade por infravermelho a porcentagem de água em 1,0 g de pó de comprimidos, previamente pulverizados no ensaio de doseamento. A amostra foi mantida no equipamento a uma temperatura de 105° C por 5 min, em seguida foi obtida a quantidade de água presente no *pool* analisado^{17,18}. A umidade não deve ultrapassar 6,0%, conforme especificado pela monografia do produto¹⁴.

Teste de uniformidade

Para a determinação da uniformidade foi utilizado o método de variação de peso¹⁴. Neste parâmetro é recomendado separar 30 unidades de cada especialidade farmacêutica e retirar, de maneira aleatória, 10 unidades para análise.

Os resultados individuais de uniformidade por peso deverão ser expressos em porcentagem da quantidade declarada pela Equação 7.

$$Q_u\% = P_u \times T / P_m \quad (\text{Equação 7})$$

Em que $Q_u\%$ = quantidade de fármaco em cada unidade; P_u = peso unitário dos comprimidos; T = Teor obtido no teste de doseamento e P_m = peso médio.

Para avaliação dos resultados de uniformidade por peso, foi calculado o valor de aceitação (VA) de acordo com as equações descritas no Quadro 2. Cumpre o teste de uniformidade VA inferior a 15^{12,14}.

Quadro 2. Equações para cálculo de VA em testes de uniformidade^{12,14}

Média dos conteúdos individuais obtidos no teste de uniformidade (X)	Cálculo do Valor de Aceitação (VA)
X < 98,5%	VA = 98,5 - X + 2,4 x DP
98,5 % ≤ X ≤ 101,5%	VA = 2,4 x DP
X > 101,5%	VA = X - 101,5 + 2,4 x DP

Legenda: **X** = média dos conteúdos individuais obtidos no teste de uniformidade; **VA** = valor de aceitação e **DP**: desvio padrão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Avaliar a qualidade de especialidades farmacêuticas durante o seu prazo de validade possibilita verificar se a forma farmacêutica produzida e dispensada à população cumpre com os critérios determinados na monografia do produto durante o seu período de comercialização^{14,19}.

A verificação do aspecto permitiu avaliar o formato da forma farmacêutica, a presença de sulco, assim como a coloração das unidades dos comprimidos. É preconizado na literatura que o

medicamento genérico seja equivalente farmacêutico do medicamento referência, podendo apresentar aspectos distintos, desde que estes não alterem a biodisponibilidade do fármaco^{14,19}.

Cor e formato são características que variam de um laboratório para o outro, pois são métodos adotados para facilitar o processo de produção, identificação do produto ou mesmo melhorar a estética dos comprimidos^{14,19}.

Foi observado que os comprimidos em análise apresentavam aspectos diferentes. Os medicamentos avaliados dispunham de aspecto uniforme e

mantiveram a sua integridade após a blistagem. Os comprimidos A possuíam coloração branca, formato hexagonal e plano, com presença de logomarca, ausência de odor, sulco e revestimento. Já os comprimidos B apresentavam cor azul, formato circular e abaulado, sem odor, ausência de sulco, logomarca e revestimento.

A administração de um medicamento com concentração de fármaco inadequada acarreta em falha terapêutica e uma alta dosagem poderá ocasionar intoxicação, de qualquer forma, poderá comprometer a saúde do paciente. Diante disso, é de extrema importância que o medicamento cumpra com as suas especificações de qualidade, durante e após o processo de produção, até o término do seu prazo de validade¹⁴.

A monografia de ACV comprimidos da Farmacopeia Brasileira, 5^a Ed., especifica que o teste de doseamento deverá apresentar no mínimo 95,0 % e no máximo 105,0% de fármaco em relação à quantidade declarada. Os comprimidos A e B apresentaram teores de 101,9% e 98,5% respectivamente. Ambos os produtos testados estão em conformidade com a especificação farmacopeica.

Ao se comparar os resultados obtidos neste ensaio é observado que os produtos analisados apresentaram valores de doseamento próximos, com uma diferença de dosagem menor que 2,0%. Isso indica que a quantidade de fármaco disponível em

ambas as especialidades farmacêuticas não possui diferença significativa^{10,14}.

É verificada a importância da realização do teste de doseamento, porque por meio desse ensaio é possível determinar a quantidade de fármaco presente nos comprimidos e avaliar se a especialidade farmacêutica cumpre com esse parâmetro de qualidade, uma vez que é possível encontrar no mercado farmacêutico medicamentos com critérios fora dos padrões estabelecidos para consumo^{14,20}.

O ensaio de dissolução possibilita a avaliação da liberação do fármaco pelas partículas desintegradas, sendo esse um dos ensaios mais relevantes para verificar a qualidade de um medicamento, uma vez que o processo de dissolução tem relação direta com a eficácia do produto nos ensaios “*in vivo*”. Baseando-se nessas informações, existe uma grande preocupação para que o produto esteja dentro dos padrões especificados na literatura^{13,14,21}.

Foi avaliada, nas especialidades farmacêuticas A e B em estudo, a quantidade de ACV dissolvido no meio de dissolução após tempo e rotação preconizados pela Farmacopeia Brasileira, 5^a Ed. (45 minutos a 50 rpm). A quantidade de fármaco dissolvida em cada cuba está representada na Tabela 1.

Especialidade Farmacêutica	Quantidade de fármaco liberado (%)					
	Cuba 1	Cuba 2	Cuba 3	Cuba 4	Cuba 5	Cuba 6
A	104,1	101,5	104,9	105,8	104,8	105,0
B	101,3	100,3	105,7	103,2	105,8	105,7

É especificado na literatura que serão aprovados em E1 medicamentos que apresentarem resultados maior ou igual a $Q + 5\%$ em todas as unidades testadas, sendo Q a quantidade do fármaco dissolvido indicada em sua monografia¹⁴. Conforme demonstrado na Tabela 1, todas as cubas analisadas estão aprovadas, porque apresentaram valores de liberação de ACV acima de $80,0 + 5\%$.

Ao avaliar os resultados dos ensaios de dissolução de aciclovir para as formulações A e B é observado que os valores encontrados neste teste são

maiores aos obtidos em doseamento. Muitos fatores são responsáveis por favorecer a solubilização de fármacos, entre eles podemos destacar a temperatura. Ao avaliar a técnica estabelecida pela Farmacopeia Brasileira, 5^a Ed., para análise de doseamento de aciclovir, o método não estabelece a utilização de temperatura, o que pode reduzir a solubilização do fármaco no ensaio de teor. Em 2015, Azeem e colaboradores realizaram um estudo de dissolução e algumas amostras deste ensaio apresentaram liberação *in vitro* de fármaco superior aos resultados de

doseamento, isso também é observado no estudo de Laporta e colaboradores em 2013^{29,30}.

A desintegração de comprimidos pode influenciar na atividade terapêutica, pois quando o comprimido não tem uma desintegração adequada, isso poderá reduzir a dissolução e absorção do fármaco. Diante disso, a desintegração deve ocorrer de forma apropriada, transformando o comprimido em partículas menores, o que favorecerá a dissolução, absorção e biodisponibilidade do fármaco no organismo^{6,15,21}.

As amostras A e B desintegraram em tempo inferior a 30 minutos, que é o limite máximo preconizado para desintegração de comprimidos de liberação rápida sem revestimento¹². As especialidades A e B desintegraram em 60 e 50 segundos respectivamente. A partir dos resultados é observado que os produtos submetidos ao teste estão em conformidade com o especificado, e não apresentaram diferenças significativas no tempo de desintegração.

Ao comparar o tempo máximo para desagregação dos comprimidos e os tempos atingidos nos ensaios, é verificado que ambos os produtos apresentaram uma desintegração relativamente rápida. Essa rápida velocidade de desintegração pode ter sido influenciada por fatores como presença de superdesintegrantes nas formulações dos medicamentos, força de compressão, e até mesmo mau acondicionamento e transporte do produto^{6,22}.

Em 2004, Gennaro e colaboradores relataram que a agitação turbulenta na realização do teste de desintegração não condiz com o que ocorre no processo *in vivo*, e por isso, não é um bom indicador para avaliar a liberação do fármaco, não podendo relacionar o baixo tempo de desintegração com maior eficácia do medicamento.

A dureza dos comprimidos determina a sua resistência mecânica. Os comprimidos devem resistir aos atritos sofridos durante o processo de blistagem, quando são armazenados, transportados e também no manuseio antes da administração pelo usuário. Embora um elevado grau de dureza traga os benefícios citados acima, se esta for alta, poderá influenciar na desintegração e dissolução dos comprimidos, o que comprometerá a biodisponibilidade do fármaco²¹.

Os comprimidos em estudo, A e B, apresentaram valores médios de resistência $82 \text{ N} \pm 13\%$ e $70 \text{ N} \pm 8\%$ respectivamente (Tabela 2). A literatura não preconiza valores mínimos ou máximos para o ensaio de dureza, pois os caracteriza apenas como resultados informativos¹².

Ao avaliar os comprimidos em suas embalagens primárias foi possível observar que não houve quebra ou ruptura de nenhuma unidade, isso também ocorreu após a retirada dos comprimidos do blíster. Estas características indicaram que as amostras apresentaram dureza adequada, pois quanto maior o seu valor, menor a chance dos comprimidos sofrerem rupturas e/ou desgastes^{8,14}.

Ao confrontar os resultados de dureza deste estudo com o ensaio de dissolução, é observado que o teste que avalia a resistência mecânica não influenciou de forma significativa na liberação do fármaco, pois ambas as especialidades farmacêuticas atingiram valores médios de liberação de ACV próximos a 100,0% no tempo de dissolução (45 minutos) (Tabela 1)^{12,14}. Para ensaios *in vitro* de formas farmacêuticas de liberação imediata são determinados valores de dissolução média de no mínimo 75,0% da substância ativa em até 45 minutos²⁴.

Tabela 2. Ensaio físicos dos comprimidos contendo 200 mg de aciclovir dos produtos A e B

Especialidade Farmacêutica	Dureza N ± DPR	Diâmetro mm ± DPR	Espessura mm ± DPR	Friabilidade %	Peso média mg ± DPR
A	82 ± 13	1,2 ± 0,0	0,37 ± 0,03	1,14	504,0 ± 0,6
B	70 ± 8	1,0 ± 0,0	0,48 ± 0,01	0,40	378,1 ± 1,2

As amostras de ACV A e B foram dimensionadas e apresentaram, respectivamente, valores de diâmetro de $(1,2 \pm 0,0)$ mm e $(1,0 \pm 0,0)$ mm e de espessura $(0,37 \pm 0,03)$ mm e $(0,48 \pm 0,01)$ mm (Tabela 2). Após análise dos resultados foi verificada uniformidade no formato das amostras de cada produto analisado, pois alterações significativas nos valores de espessura e diâmetro indicam possíveis desvios de peso nos comprimidos e nos resultados de dureza, o que poderia comprometer a qualidade do produto²⁵.

É determinado que o valor de friabilidade seja inferior a 1,5% e que nenhum comprimido apresente no final do teste danos como quebra ou rachadura. Estas condições indicam que os produtos serão resistentes aos impactos da manipulação e do transporte^{10,12}. Os resultados descritos na Tabela 2 demonstram que o medicamento A apresentou um valor de friabilidade maior (1,14%), quando comparado com B (0,40%). Isso ocorreu em função do formato hexagonal do comprimido A, pois ao ser submetido ao teste suas bordas foram desgastadas pelo impacto, o que possibilitou aumentar a perda de pó da forma farmacêutica.

Após comparar neste estudo os resultados encontrados nos testes de resistência mecânica dos produtos adquiridos pela internet, foi possível observar que o transporte dos antirretrovirais, da cidade de São Paulo – SP para a cidade de Barra do Garças – MT, não influenciou de maneira significativa nos valores de dureza e friabilidade, pois as amostras

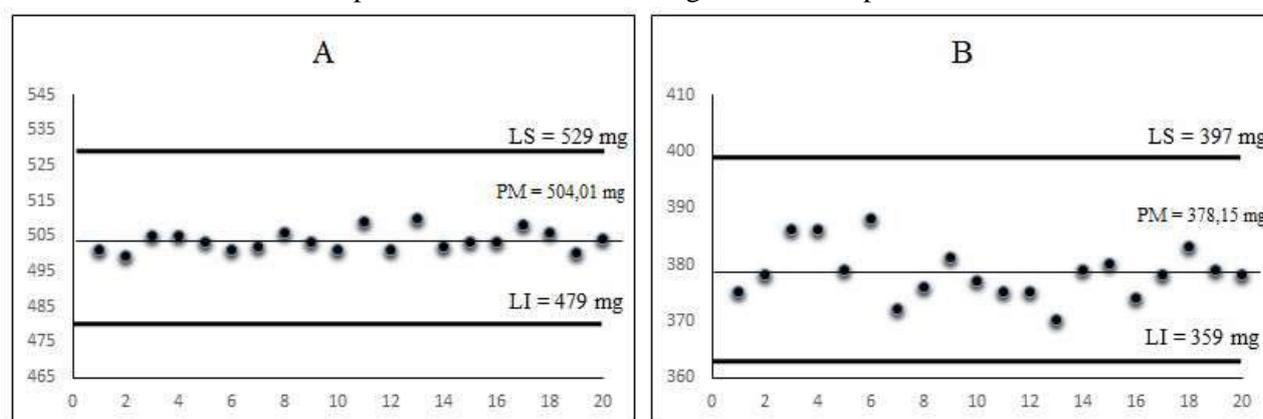
A e B cumpriram com suas especificações estabelecidas pela Farmacopeia Brasileira, 5ª Ed. (Tabela 2).

O ensaio de peso médio é uma ferramenta importante para o controle de qualidade, pois se não houver coerência e uniformidade das massas individuais dos comprimidos com os parâmetros estabelecidos, o lote do produto deve ser reprovado^{14,22}.

Em processos produtivos há uma dificuldade em manter constante a uniformidade de massa nas unidades produzidas, e é preferível a menor variação possível. Pela literatura essa variação é aceita, desde que não ultrapasse os valores previamente estipulados pela monografia do produto, e quanto menor o grau de variação, melhor a sua uniformidade em relação à massa^{14,22}.

Ao utilizar a ferramenta da qualidade gráfico controle é verificada a variação das massas individuais em ambos os produtos nota-se que nenhuma amostra ultrapassou os limites inferior (LI) (A = 479 mg; B = 359 mg) e superior (LS) (A = 529 mg; B = 397 mg) (Figura 1), e a maioria dos comprimidos apresentou massas próximas à massa média (A = $504,0 \pm 0,6\%$; B = $378,1 \pm 1,2\%$) (Tabela 2). Isso é observado principalmente para os comprimidos do medicamento A, o que indica que há um maior controle da massa durante a sua produção em relação ao medicamento B, pois o DPR encontrado em A (DPR = 0,61%) é menor quando comparado com B (DPR = 1,25%) (Tabela 2).

Figura 1. Gráfico de controle dos medicamentos A e B que avalia a massa individual de comprimidos de aciclovir 200 mg no ensaio de peso médio



Para comprimidos com massa média acima de 250 mg é estabelecida uma variação entre as unidades de no máximo $\pm 5,0\%$ e é tolerável não mais que duas e nenhuma unidade acima ou abaixo do dobro das porcentagens indicadas^{12,14}. Neste estudo, todas as amostras analisadas não ultrapassaram os LI e LS (Figura 1).

É importante a avaliação e determinação da umidade em formas farmacêuticas sólidas, já que uma quantidade elevada de água influencia na contaminação microbiológica, favorece reações de oxidação ou hidrólise no fármaco e excipientes, formação de possíveis produtos de degradação tóxicos, o que poderá alterar a estabilidade e a ação terapêutica do medicamento²⁷.

Após a realização do teste de umidade foram encontrados valores de 5,2% e 5,0% para os medicamentos A e B respectivamente. As amostras apresentaram resultados próximos ao limite máximo especificado pela Farmacopeia Brasileira, 5ª Ed. (6,0%). Esses altos índices de umidade nas especialidades farmacêuticas deste estudo podem comprometer a estabilidade do medicamento e possibilitar a formação de produtos de degradação e a contaminação microbiológica. Esses fatores poderão ocasionar alterações no prazo de validade do produto acabado, comprometendo a qualidade do medicamento que está disponível no mercado nacional e virtual^{3,27}. O transporte inadequado das formas farmacêuticas também pode ocasionar alteração na qualidade do produto que será entregue ao consumidor. Pelo sistema de transporte de encomendas, esses produtos podem sofrer intensas variações climáticas e físicas, como alterações na temperatura, exposição à luz, umidade, fricção e atrito. Estas variações contribuem para reduzir a qualidade do medicamento^{6, 10}.

O teste de uniformidade determina a quantidade de fármaco presente em cada conteúdo avaliado. Nos lotes de medicamentos que cumprem com o especificado para esse teste, é observado que o processo de produção foi adequado e favoreceu a distribuição homogênea do fármaco nas unidades avaliadas^{7,14,21}.

Foi avaliada a uniformidade por massa de 10 unidades de cada especialidade farmacêutica de

antirretrovirais adquiridos via internet e encontraram-se médias de 101,3% (Desvio padrão (DP) = 2,52) e 98,77% (DP = 5,40%); com VA de 6,05 e 12,96 para as amostras A e B respectivamente. Os VA foram calculados pela equação estabelecida pela Farmacopeia Brasileira, 5ª Ed.; $VA = 2,4 \times DP$; porque a média dos conteúdos individuais (X) obtidos no teste de uniformidade para ACV pelo teste de doseamento está entre $98,5\% \leq X \leq 101,5\%$. As amostras analisadas cumprem com o teste de uniformidade, pois apresentaram VA inferior ao estabelecido pela literatura ($VA \leq 15$)¹².

É importante avaliar a uniformidade das unidades dos medicamentos comercializados, uma vez que é necessário que a quantidade de fármaco esteja o mais próximo do valor declarado, porque isso irá garantir uma administração com dose adequada e será obtida uma melhor ação terapêutica ao paciente²⁸.

CONCLUSÕES

Consumidores que pretendem utilizar aciclovir no tratamento podem obtê-lo pela internet e com pouca dificuldade. Os resultados encontrados neste trabalho indicaram que as especialidades farmacêuticas cumpriram com seus parâmetros de qualidade, porém, apresentaram resultados de friabilidade para A (1,14%), uniformidade para B (VA = 12,96) e umidade para A e B (5,2% e 5,0% respectivamente) próximos aos limites máximos estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira, 5ª Ed. Diante disso, a avaliação físico-química durante o prazo de validade das formas farmacêuticas tem implicações para a qualidade e segurança dos medicamentos, e isso deve ser considerado pelos profissionais de saúde para salvaguardar a terapêutica dos pacientes e inspecionar os produtos disponíveis no mercado farmacêutico.

AGRADECIMENTOS

Ao Laboratório de Análise e Produção Farmacêutica (LAPPHARMA) da Universidade Federal de Mato Grosso – Câmpus Universitário Araguaia.

REFERÊNCIAS

- [1] L. L. Brunton, B. A. Chabner, B. C. Knollmann, As bases farmacológicas da terapêutica de Goodman & Gilman, AMGH Editora Ltda, Porto Alegre, 12^a ed., (2012).
- [2] H. P. Rang, M. M. Dale, J. M. Ritter, R. J. Flower, Farmacologia, Elsevier, Rio de Janeiro, 6^a ed., (2007).
- [3] V. Aida, M. Beatriz, A. Gisela, Perigo on-line, *Revista Época*, **2005**, p. 98.
- [4] L. F. Kohler, H. D. Nascimento, E. L. L. Schwengber, Z. M. P. Bandeira, G. V. Pazin, S. R. P. Machado, Avaliação biofarmacotécnica e perfil de dissolução de comprimidos de dipirona: equivalência farmacêutica entre medicamentos de referência, genéricos e similares, *Rev. Bras. Farm.*, **2009**, *90*, 309-315.
- [5] C. F. A. Camargo, V. B. Sa, L. G. Nogueira, Estudo comparativo de dipirona gotas entre medicamentos de referência, genérico e similar comercializados na cidade de Trindade [Monografia], Trindade, GO: Faculdade União de Goyazes, (2011).
- [6] L. H. C. Vaz, Estudo comparativo de equivalência farmacêutica e perfil de dissolução “*in vitro*” do paracetamol fabricado no Brasil e na Holanda [Monografia], Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, SC, (2013).
- [7] C. Rigobello, A.V. Gasparetto, A. Diniz, M.F. Rabito, M.M.F. Nery., Avaliação da qualidade e perfil de dissolução de comprimidos de cloridrato de propranolol, *Acta Sci.*, **2013**, *35*, 85-90.
- [8] M. A. Lamolha, A. C. P. Rodrigues, B. C. Silva, F. C. Granata, G. S. Podavin, J. C. O. Lima, Avaliação da equivalência farmacêutica de furosemida em comprimidos de 40 mg, *Rev. Bras. Farm.*, **2012**, *93*, 17-21.
- [9] H. G. Ferraz, Avaliação biofarmacêutica “*in vitro*” e “*in vivo*” (bioequivalência) de comprimidos de ampicilina 500 mg comercializados no Brasil [Tese], São Paulo, SP: Universidade de São Paulo, (1997).
- [10] V. L. Castro, Estudos de equivalência farmacêutica com comprimidos do cloridrato de bupropiona em medicamentos similar e de referência [Dissertação], Goiânia, GO, Pontífica Universidade Católica de Goiás, (2010).
- [11] J. J. R. G. Pinho, S. Storpirtis, Estudo comparativo “*in vitro*” das propriedades biofarmacotécnicas de comprimidos de cloridrato de metformina comercializados no Brasil, *Rev. Bras. Cienc. Farm.*, **2001**, *37*, 95-105.
- [12] Farmacopeia Brasileira, Parte II, São Paulo: Atheneu, 5^a ed.,(2010).
- [13] M. C. Alves, H. C. Polonini, U. P. Vaz, A. O. Ferreira, M. A. F. Brandão, Estudo comparativo de preparações orais sólidas contendo carbamazepina: teste e perfil de dissolução, *Rev. Bras. Farm.*, **2012**, *93*, 487-492.
- [14] Farmacopeia Brasileira, Parte I, São Paulo: Atheneu, 5^a ed., (2010).
- [15] V. C. B. Oliveira, R. Campos, Estudos de equivalência farmacêutica de comprimidos de ibuprofeno [Monografia]. Curitiba (PR) : UniBrasil, (2014).
- [16] L. M. Linsbinski, C. R. Musis, S. R. P. Machado, Avaliação da equivalência farmacêutica de comprimidos de captopril, *Rev. Bras. Farm.*, **2008**, *89*, 214-219.
- [17] D. B. Borges, M. R. Farias, E. P. Simões, E. P. Schenkel, Comparação das metodologias da Farmacopeia Brasileira para determinação de água em matérias-primas vegetais, e validação da determinação de água em

- analisador de umidade para *Calendula officinalis* L., *Foeniculum vulgare* Miller, *Maytenus ilicifolia* Mart. ex. Reissek e *Passiflora alata* Curtis, *Rev. Bras. Farmacogn.*, **2005**, *15*, 229-236.
- [18] D. S. Silva, Comparação de métodos de determinação de umidade em matérias-primas de uso farmacêutico [Monografia]. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, (2010).
- [19] L.V. Allen Jr., N. G. Popovich, H. C. Ansel, Formas Farmacêuticas e Sistemas de Liberação de fármacos. Porto Alegre, Editora Artmed, 8 ed., (2007).
- [20] M. D. Bianchin, C. R. Blatt, A. S. Soares, I. C. Kulkamp-Guerreiro, Avaliação da qualidade de comprimidos de propranolol e enalapril distribuídos no sistema público de saúde em uma cidade do sul do Brasil, *Ciê. Saúde Colet.*, **2012**, *17*, 491-498.
- [21] A. C. Rocha, Análise da qualidade físico-química de comprimidos de cloridrato de propranolol dispensados pelo programa Farmácia Popular do Brasil [Monografia]. Rio de Janeiro, RJ : Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro, (2013).
- [22] C. S. Bueno, D. Weber, A. C. Moreira, Avaliação da qualidade de quatro especialidades farmacêuticas contendo hidroclorotiazida, *Rev. Bras. Farm.*, **2010**, *91*, 126-132.
- [23] A. R. Gennaro, J.P. Remington, Remington: a ciência e a prática da farmácia. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 20ª ed., (2004).
- [24] R. D. C. n.31, Brasil, de 11 de agosto de 2010. Realização dos Estudos de Equivalência Farmacêutica e de Perfil de Dissolução Comparativo. Diário Oficial da União 2010, 11 ago.
- [25] R. P. Moises, Tecnologia de Produção de Comprimidos. Fármacos & Medicamentos, *Rev. Bras. Farm.*, **2006**, *7*, 38-46.
- [26] L.N.C. Rodrigues, S.P. Watanabe, H.G. Ferraz, Perfil de dissolução “*in vitro*” de comprimidos de primaquina disponíveis para tratamento de malária no Brasil, *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, **2008**, *41*, 41-45.
- [27] E. G. Leite, Estabilidade: importante parâmetro para avaliar a qualidade, segurança e eficácia de fármacos e medicamentos [Dissertação], Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, (2005).
- [28] F. J. Silva, M. H. Rodrigues, T. M. Freitas, M. V. Pinto, Controle de qualidade físico-químico de comprimidos de ibuprofeno 300 mg, *Revista Faculdade Montes Belos*, **2014**, *7*, 151-162.
- [29] M. Azeem, H. Naureen, M. Malik, Post market in-vitro bioequivalence study on representative brands of ciprofloxacin tablets (500 mg) prescribed in typhoid disease, *American Journal of Pharmacological Sciences*, **2014**, *2*, 8-1.
- [30] L.V. Laporta, T. F. Brum, F. R. Pons Junior, M. R. Santos, C. A. Gonçalves, Validação de método analítico para avaliação da qualidade de cápsulas de cloridrato de metformina manipuladas, *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, **2013**, *34*, 35-244.

Eclética Química Journal

Original research publication in all aspects of Chemistry
homepage: <http://revista.iq.unesp.br/ojs/index.php/ecletica/>
ISSN 1678-4618

| Vol. 41 | 2016 |

Sunflower oil methanolisys and glycerol ketalisation: stepwise production of biofuels and additives with 3-methylimidazolium hydrogensulphate as catalyst

Sandro L. Barbosa¹, Bruna K. Barbosa¹, Camila D. Lima¹, Alice L. Macedo¹, Jacqueline N. Mendonça², Giuliano C. Glososki², Norberto P. Lopes², Stanlei I. Klein³

Resumo: O líquido iônico hidrogenossulfato de 3-metilimidazólio é solúvel na fase glicerol que ele cria, após catalisar a transesterificação do óleo de girassol em ésteres metílicos de ácidos graxos (FAMES). A separação dessa fase e a adição de acetona permitem a produção do acetal de cinco membros 2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-yl-metanol, no qual o catalisador é insolúvel e é removido por decantação. Após secagem sob vácuo, o líquido iônico pode ser reutilizado para realizar o ciclo de dois estágios sem perda aparente de atividade.

Palavras-chave: óleo de girassol, transesterificação, produção de acetais, glicerol, líquido iônico, aditivo de biodiesel

Abstract: The ionic liquid 3-methylimidazolium hydrogensulfate is soluble within the glycerol phase that it creates, after catalyzing the transesterification of sunflower oil to fatty acids methyl esters with methanol. Separation of this phase and addition of acetone allow the production of the 5-membered ketal 2,2-dimethyl-1,3-dioxylane-4-yl-methanol, in which the catalyst is insoluble and is removed by decantation. After drying under vacuum, the ionic liquid is ready to rerun to the two-stage cycle with no apparent loss of activity.

Keywords: sunflower oil, transesterification, ketal production, glycerol, ionic liquid, biodiesel additive

¹ Department of Pharmacy, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, UFVJM, R. da Glória, 187 Centro, CEP 39100-000 Diamantina, MG, Brazil; e - mail: sandro.barbosa@ufvjm.edu.br; brunakaicy@hotmail.com; camila_dianalima@yahoo.com.br; alicelopesm@hotmail.com;

² Department of Physics and Chemistry, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Av. Do Café s/n, 14040-903 Ribeirão Preto, SP, Brazil; e-mail: glososki@yahoo.com.br; nplopes@fcrp.usp.br;

³ Department of General and Inorganic Chemistry, Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista – Unesp, R. Prof. Francisco Degni, 55, Quitandinha, CEP 14800-060 Araraquara, SP, Brazil; e - mail: stanleiklein@yahoo.com.br.

INTRODUCTION

The present situation of the research in biofuel production seems to be divided in two different fronts that of the environment friendly preparation of alkyl esters from triglycerides, and the overwhelming concern of what to do with the inevitable byproduct glycerol. The efforts to address the first issue have been nicely put into perspective by Sherstyuk and coworkers¹. On the other hand, the attempts to transform glycerol into value added chemicals have attracted attention all the way down from the production of C3 chemicals from hydrogenolysis or dehydration²⁻⁵ and glycerol carbonate formation⁶, to the more prosaic etherification⁷ and reactions with ketones or aldehydes to produce ketals for fuel additives⁸⁻⁹. An up to date account of these later efforts have been summarized by Fan et al., who called the attention to the fact that common inorganic acids used as catalysts for the ketalization reactions pose serious erosion of devices and other environmental problems; to circumvent these drawbacks, heterogeneous acidic catalysts such as cation-exchange resins, heteropolyacids, zeolites, solid superacids and supported metal oxides have been developed¹⁰. However, to the best of our knowledge, there is no account in the literature that describes, at the same time, the production of biodiesel and its ketal additive from a single source, e.g., sunflower oil, with the use of a single catalyst, in our case the ionic liquid 3-methylimidazolium hydrogensulfate.

EXPERIMENTAL PROCEDURES

Refined sunflower oil, anhydrous methyl alcohol (99.3%), acetonitrile, 1-methylimidazole, and glacial sulfuric acid are commercially available and were used without purification.

Preparation of 3-methylimidazolium hydrogensulfate ([Hmim]⁺HSO₄⁻)

Sulfuric acid (0.98 g, 0.01 mmol) was added dropwise to a stirred solution of 1-methylimidazole

(0.82 g, 0.01 mmol) dissolved in 10 mL of acetonitrile at 0 °C. The mixture was further stirred for 30 min, and the acetonitrile was decanted to afford the ionic liquid in quantitative yield.

General procedure for the biodiesel synthesis

25 mL of sunflower oil, 15 mL of methanol and 10.0 g of ([Hmim]⁺HSO₄⁻) were added to a 100 cm³, round-bottomed flask fitted with a reflux condenser. The transesterification was typically allowed to proceed for 24 h with vigorous stirring at the reflux temperature. The alcohol was distilled off in a rotatory evaporator, after which two phases were formed and separated. The upper layer, consisting of biodiesel, was washed with deionized water and dried over anhydrous MgSO₄. The lower layer, containing glycerol and catalyst, was dried under vacuum for 4 h and subsequently used for the synthesis of the ketal.

Preparation of ketal 2,2-dimethyl-1,3-dioxolane-4-yl methanol

The ionic liquid and glycerol from the previous preparation was mixed with 15 mL of acetone, and the mixture was heated to the reflux temperature for 12 h. After allowing the mixture to reach the room temperature, the organic layer was separated from the ionic liquid catalyst by decanting, and its composition identified by GC – MS.

([Hmim]⁺HSO₄⁻) was reused for the entire process after removal of water under vacuum, without loss the catalytical activity.

Instrumentation

Gas Chromatograph/Mass Spectrometer GC/MS-QP 2010/AOC-5000 AUTO INJECTOR/Shimadzu, equipped with a split capillary inlet was used. Separation of the different compounds was achieved in an Agilent J&W GC Columns DB-5MS (30°m°x°0.25°mm, 0.25°µm film thickness). Initial oven temperature was set at 100 °C, held for 4 min; ramped at 5 °C min⁻¹ up to 200 °C, held for 8 min; ramped at 10 °C min⁻¹ up to 260 °C and held for

10 min. The ionization energy used was 70 eV in EI (electron ionization) mode.

A Bruker micrOTOFQ II – Elettrospray Ionisation Time of Flight (ESI-TOF) Mass Spectrometer was used in positive mode detection, with an internal calibration solution of 10 mg/mL NA-TFA (TOF). Analytical conditions: End Plate: 500 V; Capillary: 4500 V; Capillary Exit: 120 V; Skimmer 1: 50 V; Skimmer 2: 22 V; Transfer: 57 μ s; Dry Gas Temp 180 °C; Dry Gas Flow 4 L/min; Neb Gas Pressure of nitrogen gas 0.4 bar.

RESULTS AND DISCUSSION

The most facile and trivial way to perform both transesterification reactions from triglycerides, and the conversion of polyols to ketals, is the use of protic, or Brönsted inorganic acids^{8,9}. However, the known environmental hazards derived from the use of those polluting acid residues preclude the large scale implementation of those processes. There is, however, a different kind of Brönsted acids, represented by the cations derived from the direct protonation of suitable tertiary nitrogen molecules, and this field of ionic liquids has been recently reviewed¹¹. Some characteristics of these Brönsted acids brought our attention, for instance, their capacity to form hydrogen bonds with suitable Lewis bases¹² suggested that they should easily interact with glycerides and their derivatives. Also, the known ability of imidazolium ionic liquids to serve as phase transfer agents¹³ should be helpful to keep in contact the hard to mix substances of different polarities. These qualities prompted us to use the easily prepared Brönsted acidic 3-methylimidazolium hydrogensulfate as catalyst for a) the transesterification of sunflower oil, and b) the ketalisation of glycerol with acetone, two reactions which suffer from the poor solubility of triglycerides in methanol, and glycerol in acetone. The known poor catalytic effect of imidazolium cations in etherification reactions¹³ indicated that more drastic reaction conditions should be used, if the intended transesterification and ketalisation reactions were to be properly performed. Fortunately, we found that these extreme conditions resumed to methanol or acetone reflux temperatures, with reaction times up to 24 h, two factors that do not imparted the

development of the combined processes. On the other hand, the easiness that it was found of the catalyst recovery from either of the chemical reactions now typifies the environmental friendliness of the entire process, which makes it an appropriate candidate for large scale implementation.

In our trial experiments, we determined the optimal conditions for the conversion of sunflower oil into biodiesel, by following the reactions progresses by thin layer chromatography, using a eluting mixture consisting of the addition of two drops of acetic acid to 10 mL of a 5:95 solution of ethyl acetate in hexane, since this mixture allows the separation, and therefore the easy visualization, of the mono and diglycerides produced within the original reaction mixture, with the disappearance of the monoglycerides spots taken as the end point of the experiments. In this way, we found that the conversion of sunflower oil into fatty acid methyl esters (FAME), mediated by the catalyst ([Hmim]⁺HSO₄⁻) was a slow process, when compared to the traditional methods of using alkaline hydroxides as catalysts¹⁴. On the other hand, it was very interesting to find that, after stripping off the remaining alcohol from the reacted mixture, the layers of FAME and glycerol separated nicely, as usual, and, more interesting, that the FAME phase was only slightly acidic, requiring few washings to achieve a neutral pH.

The outcome of the transesterification reaction was also followed by high resolution mass spectrometry. The ESI-MS (positive mode) of the pure oil is shown in Fig. 1, where the tri and diglycerides appear in the regions of m/z 880 and 600, respectively. Interestingly, the ESI-MS of the reacting mixture after one hour of reflux, Fig. 2, showed a reduction of the intensities of the peaks around m/z 880, but an increase of the peaks around m/z 960, which probably reflects the complexation of the cation [Hmim]⁺ with the triglycerides. Fig. 2 also shows a remarkable decrease of the peaks around m/z 600, which suggests that the glycerides containing at least one free -OH group may be transesterified first under the Brönsted ionic liquid conditions. This strong R-OH-[Hmim]⁺ interaction may also explain the relative easiness of ketal formation from glycerol and acetone, see below. Figure 3 shows the spectrum of the same reaction mixture after 24 hours of reflux, where the

signals around m/z 300 refer to the mixture of methylesters produced. According to the common interpretation of ESI-TOF-MS spectra, the major peaks can be associated to the protonated and sodiated forms of the methyl esters of linoleic ($[M + H]^+$ 293; $[M + Na]^+$ 315), oleic ($[M + H]^+$ 297; $[M + Na]^+$ 319),

stearic ($[M + H]^+$ 299; $[M + Na]^+$ 321) and palmitic acids ($[M + H]^+$ 271; $[M + Na]^+$ 393). It is also possible to observe in Fig. 3 the presence of residual diglycerides, however, in quantities well below those accepted by the ASTM D6584 limits for these biodiesel contaminants.

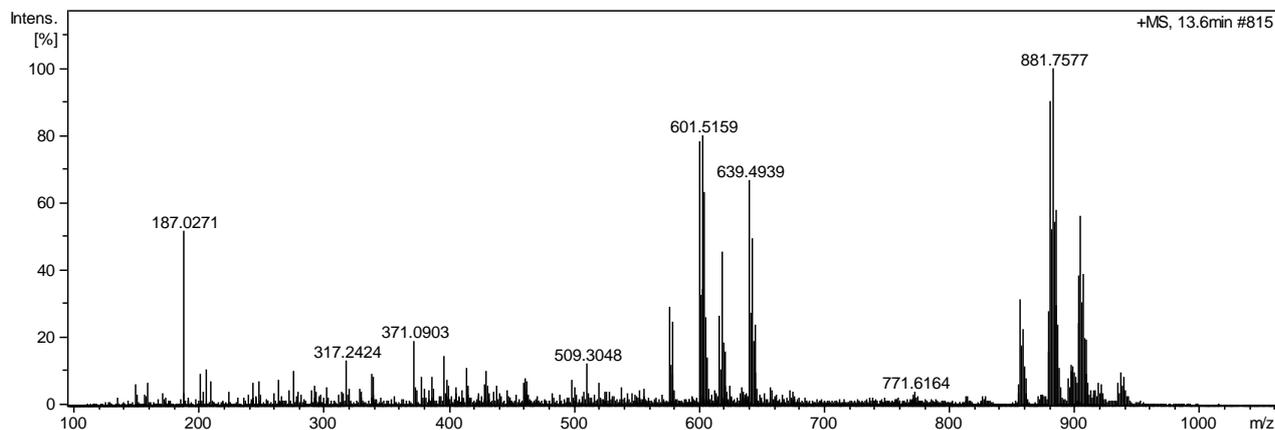


Figure 1. (+)ESI-TOF-MS refined sunflower oil, showing the prevalence of triglycerides around 880 m/z and diglycerides around 620 m/z .

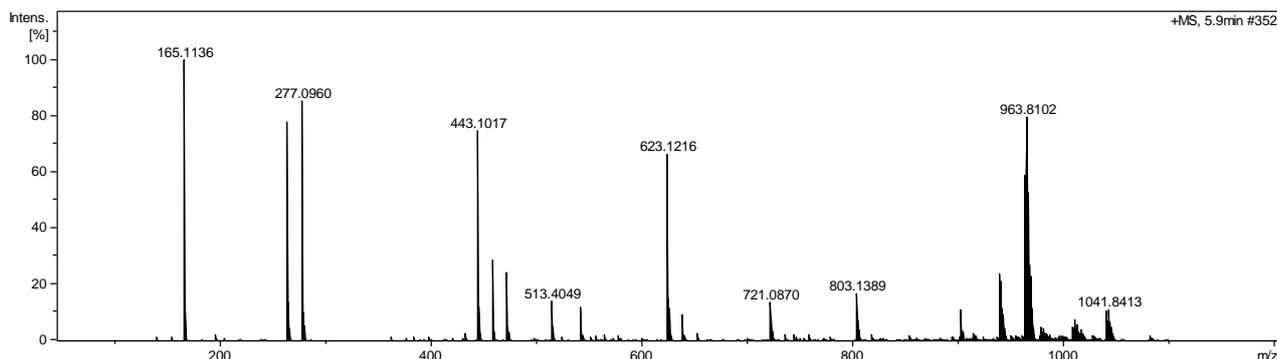


Figure 2. (+)ESI-TOF-MS of the sunflower oil, methanol and catalyst reaction mixture, after 1 hour of reflux. The peaks around m/z 960 are assigned to triglyceride- $[Hmim]^+$ adducts.

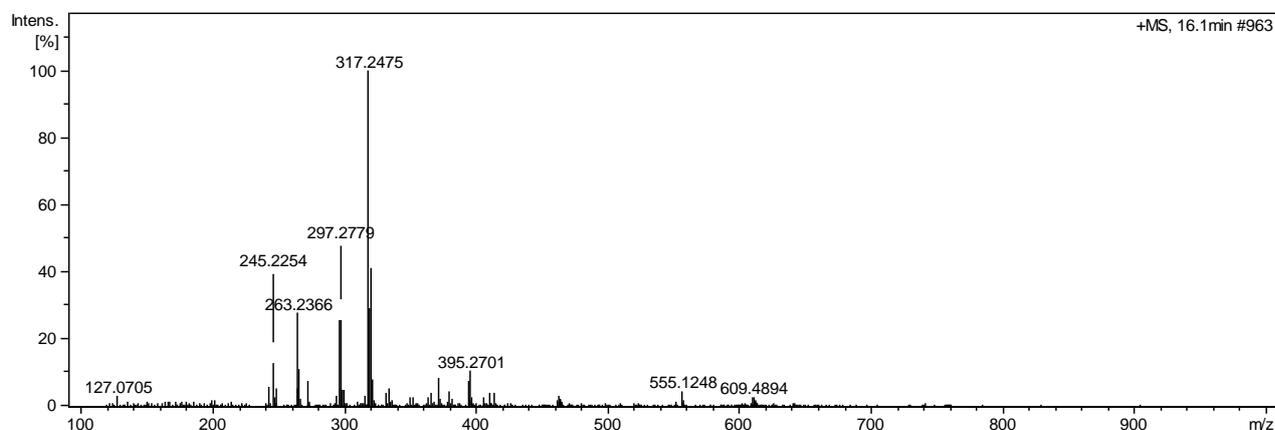


Figure 3. (+)ESI-TOF-MS of the reaction mixture after 24 hours reflux, showing the total consumption of triglycerides.

After the completion and cooling to room temperature of the transesterification reaction, the FAME phase was decanted, and the phase containing both glycerol and catalyst was mixed with the desired amount of acetone, and this mixture was heated to its reflux temperature for 12 h. After cooling down of the system to room temperature, it was found that the addition of a small portion of diethyl ether was beneficial, but not indispensable, for the rapid separation of the organic components from the ionic

liquid. The ether being removed, the fragmentation pattern of the GC-MS spectrum of the organic phase revealed it to be consisted of 93% of the five membered ring ketal 2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl methanol **1**, its six membered ring isomer being absent; the ether 1,4-dioxane-2,6-diyl dimethanol, **2** could be identified among the other 7% of the mixture; it is important to emphasize that these highly oxygenated compounds are themselves serious candidates for biodiesel fuels.

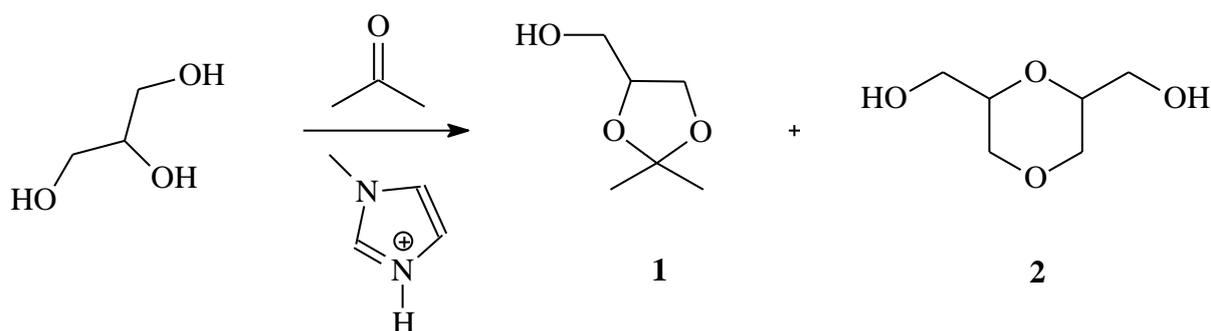


Figure 4. Major byproducts of the ketalisation of glycerol with acetone with [Hmin]⁺(HSO₄)⁻.

CONCLUSION

FAMEs biodiesel can be conveniently produced by the transesterification of sunflower oil with methanol, catalyzed by the easily prepared ionic liquid 3-methylimidazolium hydrogensulfate. The resulting solution of the catalyst and the glycerol byproduct can

be sequentially used in a ketalisation process with acetone, affording quantitative amounts of biodiesel additives, 93% of which consisted of 2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl methanol. The catalyst can be easily recovered.

REFERENCES

- [1] O.V. Sherstyuk, A.S. Ivanova, M. Y. Lebedev, M. V. Buckhtiyarova, L. G. Matvienko, A. A. Budneva, A. N. Simonov, V. A. Yakovlev, Transesterification of rapeseed oil under flow conditions catalyzed by basic solids: M—Al(La)—O (M = Sr, Ba), M—Mg—O (M = Y, La), *Appl. Catal. A*, **2012**, 419-420, 73-83.
- [2] A. Witsuthammakul, T. Sooknoi, Direct conversion of glycerol to acrylic acid via integrated dehydration–oxidation bed system, *Appl. Catal. A*, **2012**, 413-414, 109-116.

- [3] Y. Nakagawa, X. Ning, Y. Amada, K. Tomishige, Solid acid co-catalyst for the hydrogenolysis of glycerol to 1,3-propanediol over Ir-ReO_x/SiO₂, *Appl. Catal. A*, **2012**, 433-434, 128-134.
- [4] N. Hamzah, N. M. Nordin, A. H. A. Nadzri, Y. A. Nik, M. B. Kassim, M. A. Yarmo, Enhanced activity of Ru/TiO₂ catalyst using bisupport, bentonite-TiO₂ for hydrogenolysis of glycerol in aqueous media, *Appl. Catal. A*, **2012**, 419-420, 133-141.
- [5] A. Ulgen, W. F. Hoelderich, Conversion of glycerol to acrolein in the presence of WO₃/TiO₂ catalysts, *Appl. Catal. A*, **2011**, 400, 34-38.
- [6] J. H. Park, J. S. Choi, S. K. Woo, S. D. Lee, M. Cheong, H. S. Kim, H. Lee, Isolation and characterization of intermediate catalytic species in the Zn-catalyzed glycerolysis of urea, *Appl. Catal. A*, **2012**, 433-434, 35-40.
- [7] M. Di Serio, L. Casale, R. Tesser, E. Santacesaria, New process for the production of glycerol terc-butyl ethers, *Energy Fuels*, **2010**, 24, 4668-4672.
- [8] C. J. A. Mota, C. X. A. da Silva, V. L. C. Gonçalves, Gliceroquímica: novos produtos e processos a partir da glicerina de produção de biodiesel, *Quim. Nova*, **2009**, 32, 639-648.
- [9] P. H. R. Silva, V. L. C. Gonçalves, C. J. A. Mota, Glycerol acetals as anti-freezing additives for biodiesel, *Bioresour. Technol.*, **2010**, 101, 6225-6229.
- [10] C. N. Fan, C. H. Xu, C. Q. Liu, Z. Y. Huang, J. Y. Liu, Z. X. Ye, Catalytic acetalization of biomass glycerol with acetone over TiO₂-SiO₂ mixed oxides, *Reac. Kinet. Mech. Cat.*, **2012**, 107, 189-202.
- [11] H. Olivier-Bourbigou, L. Magna, D. Morgan, Ionic liquids and catalysis: Recent progress from knowledge to applications, *Appl. Catal. A*, **2010**, 373, 1-56.
- [12] T. L. Greaves, C.J. Drummond, Protic Ionic Liquids: Properties and Applications, *Chem. Rev.*, **2008**, 108, 206-237.
- [13] J. Bender, D. Jepkens, H. Hüsken, Ionic Liquids as Phase-Transfer Catalysts: Etherification Reaction of 1-Octanol with 1-Chlorobutane, *Organic Process Research Development*, **2010**, 14, 716-721.
- [14] M. P. Dorado, E. Ballesteros, F. J. Lopez, M. Mittelbch, Optimization of Alkali-Catalyzed Transesterification of *Brassica Carinata* Oil for Biodiesel Production, *Energy Fuel*, **2004**, 18, 77-83.

Eclética Química Journal

Original research publication in all aspects of Chemistry
homepage: <http://revista.iq.unesp.br/ojs/index.php/eclética/>
ISSN 1678-4618

| Vol. 41 | 2016 |

Thermodynamics of DNA with “hump” Morse potential

Hernán C. Gutiérrez¹, Elso Drigo Filho², José R. Ruggiero², Milton C. Gutierrez³, Liv C. F. Rivera⁴

Resumo: A desnaturação térmica do DNA, ou seja, a separação das duas cadeias, é um fenômeno causado pela amplitude das vibrações das bases, portanto, é necessário saber como essa separação é gerada para implementar o modelo alternativo do comportamento de fusão como uma função da sequência de nucleotídeos e terapias para combater o câncer. Propomos usar o modelo de Peyrard-Bishop (PB) de DNA não linear estendido para incluir um potencial anarmônico que represente a interação de empilhamento aromático entre n - e $(n-1)$ -enésimos pares de bases consecutivos para tratar o problema. Nós usamos métodos de diferença finita para determinar o valor médio do deslocamento para o potencial “corcunda de Morse” do modelo Peyrard-Bishop do DNA. Mostramos como o “pseudo-Schrödinger” estendido combinado com método de diferença finita pode ser usado para obter os deslocamentos do valor médio para a desnaturação térmica do DNA com o potencial Morse “da corcunda”.

Palavras-chave: Método das diferenças finitas, equação pseudo-Schrödinger, “corcunda” do potencial de Morse

Abstract: The thermal denaturation of DNA, i.e. the separation of the two strands is a phenomenon caused by the amplitude of the vibrations of the bases, therefore it is necessary to know how such separation is generated in order to implement alternative model of the melting behavior as a function of nucleotide sequence and therapies to combat the cancer. We propose to use the extended nonlinear Peyrard-Bishop(PB) model of DNA to include an anharmonic potential representing the aromatic stacking interaction between n - and $(n-1)$ -th consecutive base pairs to treat the problem. We use Finite-difference methods for determine the mean value of the displacement for the “hump Morse” potential of the Peyrard-Bishop model of DNA. We show how the extended “pseudo-Schrödinger” combined with finite difference method can be used to obtain the mean value displacements for the thermal denaturation of DNA with “hump” Morse potential.

Keywords: Finite-difference methods, “pseudo-Schrödinger” equation, “hump” Morse potential

¹ UNAC, Universidad Nacional Del Callao, Facultad de Ciencias de la Salud, Callao, Perú

² UNESP, Universidade Estadual Paulista, Departamento de Física, São José Rio Preto, Brasil

³ Universidad de Trujillo, Departamento de Matematica, Trujillo, Perú

⁴ Universidad San Juan Bautista, Facultad de Medicina, Lima, Perú

Correspondent author: hcortez@unac.pe

INTRODUCTION

We explore the thermodynamic properties solving the pseudo-Schrödinger equation of the transfer integral¹⁻⁷ for the “hump Morse”. The mathematical tools used in the theoretical study of the

problem are Finite Difference Method (FDM) and pseudo-Schrödinger equation with anharmonic stacking interactions for the DNA molecule.

THE MODELS

The Hamiltonian for the BP model is given by

$$H = \sum_{n=1}^N \frac{m}{2} (\dot{x}_n^2 + \dot{y}_n^2) + \sum_{n=1}^N \frac{\mu}{2} (x_n - x_{n-1})^2 + \sum_{n=1}^N \frac{\mu}{2} (y_n - y_{n-1})^2 + \sum_{n=1}^N V(y_n - x_n) \quad (1)$$

or in the general form:

$$H = \sum_{n=1}^N \frac{m}{2} (\dot{x}_n^2 + \dot{y}_n^2) + \sum_{n=1}^N W(x_n - x_{n-1})^2 + \sum_{n=1}^N W(y_n - y_{n-1})^2 + \sum_{n=1}^N V(y_n - x_n) \quad (1.1)$$

where W is given by:

$$W = \frac{\mu(1 + \rho e^{-\delta(y_n + y_{n-1})})}{2} \quad (1.2)$$

where x_n and y_n denote the relative displacements of the n^{th} nucleotide bases at each strand and N denotes the number of nucleotides. This expression can be viewed as a non-harmonic interaction with the parameter $\rho \neq 0$. The potential $V(y_n - x_n)$ in the original (PB) model is taken as a Morse potential.

Using a suitable change of coordinates (“stretching” and “center of mass”) in equation (1), defined by

$$u_n = \frac{x_n - y_n}{\sqrt{2}} \quad \text{and} \quad v_n = \frac{x_n + y_n}{\sqrt{2}} \quad , \quad (2)$$

the Hamiltonian (1) is divided in two parts, the acoustic (H_{ac}) and optical (H_{op}) parts. They are given by

$$H_{ac} = \sum_{n=1}^N \frac{m}{2} \dot{v}_n^2 + \sum_{n=1}^N \frac{\mu}{2} (v_n - v_{n-1})^2 \quad (3)$$

and

$$H_{op} = \sum_{n=1}^N \frac{m}{2} \dot{u}_n^2 + \sum_{n=1}^N \frac{\mu}{2} (u_n - u_{n-1})^2 + \sum_{n=1}^N V(\sqrt{2}u_n), \quad (4)$$

respectively.

The general form is:

$$H_{op} = \sum_{n=1}^N \frac{m}{2} \dot{u}_n^2 + \sum_{n=1}^N W(u_n - u_{n-1})^2 + \sum_{n=1}^N V(\sqrt{2}u_n) \quad (4.1)$$

The main interest here is in the optical Hamiltonian (4), because it contains the non-linearity of the problem. The equations of motion

for equation (4) are a system of discrete nonlinear Klein-Gordon (KG) equations ($n=1, 2, \dots, N$):

$$\ddot{u}_n + V'(u_n) + \mu(2u_n - u_{n-1} - u_{n+1}) = 0, \quad (5)$$

with $V'(u_n)$ being the derivative of the potential with respect to the coordinate u_n .

$$\{-1/(2\beta^2 \cdot \mu \cdot h(u_n)) d^2 / d u_n^2 + U_{eff}(u_n, \beta)\} \psi(u_n) = \varepsilon^* \psi(u_n) \quad (5.1)$$

$$U_{eff}(u_n, \beta) = V(\sqrt{2}u_n) + (1/2\beta) \ln(\beta\mu/2\pi) + (1/2\beta) \ln h(u_n) \quad (5.2)$$

where

$$h(u_n) = 1 + \rho e^{-2\delta u_n} \quad (5.3)$$

We use the hump Morse potential²⁸ in equation (4). The Morse Potential (PB model),

$$V(u) = \frac{D}{2} [\exp(-au) - 1]^2, \quad (6)$$

was solved in³². The case for the symmetric Morse potential (SPB model) given by

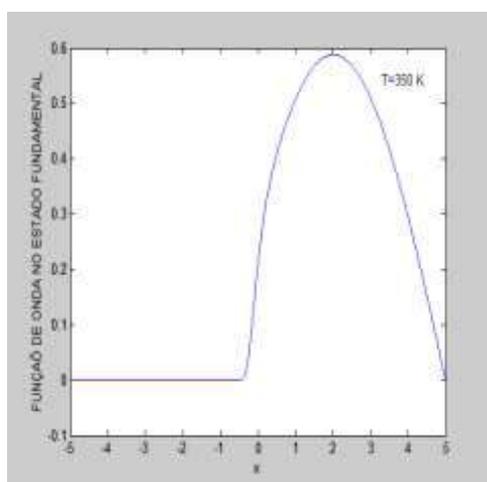
$$V(u) = \frac{D}{2} [\exp(-a|u|) - 1]^2. \quad (7)$$

was solved in²⁹.

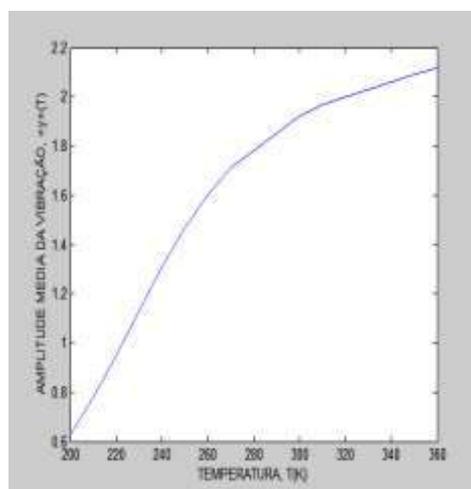
The evaluation of the partition of equation (4.1) using the transfer integral operator method in the thermodynamic limit reduces to solving the “pseudo-Schrödinger” equation:

THERMODYNAMICS: THE MEAN VALUE OF THE DISPLACEMENTS

We can use the Finite difference methods for obtain the ground state wave function and the mean value of the displacement using the formulas of the literature⁷. We use the model (1) with the Morse Potential and the parameters $\mu = 0.06$, $a = 4.45$ and $D = 0.04$. The Figure 1(b) shows that the mean of the amplitude is approximately 2.0 Å.



(a)



(b)

Figure 1. The ground state wave function ψ_0 for the Schrödinger equation (5.3) (a) and the mean of the displacements (b) using the formula: $\langle u \rangle = \int_{-\infty}^{+\infty} \psi^2_0 u du$ [7]. We solve the equation 5.3 using the Finite-difference methods with the parameter $\rho=0$.

We can use the Finite difference methods for obtain the ground state wave function and the mean value of the displacement for the Hybrid potential (“hump Morse”)²⁸ when the temperature is low and

high. The results of this method is showed in Fig. 2(b).

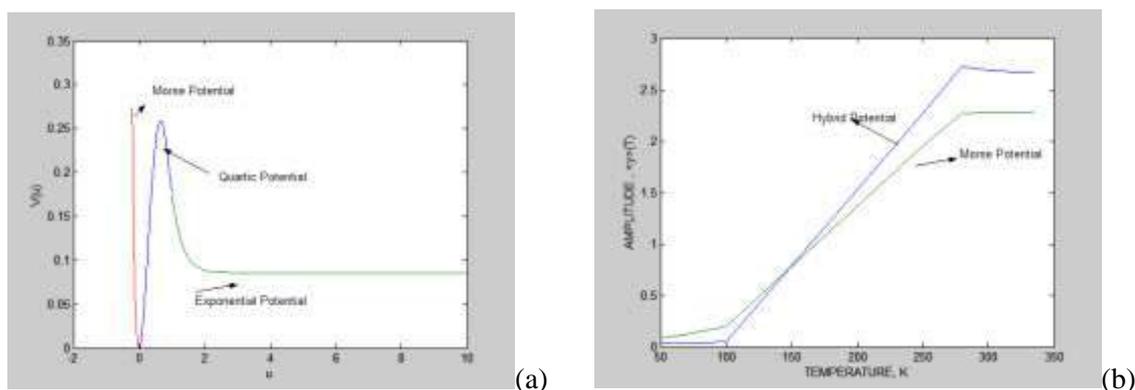


Figure 2. The “hump Morse”²⁸(a) and the mean of the displacements (b) using the formula: $\langle u \rangle = \int_{-\infty}^{+\infty} \psi^2 u du$ [7]. We solve the equation 5.3 using the Finite-difference methods with the parameter $\rho=3$, $\mu=0.01$ and $\delta=0.8$.

Also a model coupling vibrational and rotational motion for the DNA molecule³⁰ extend the original PB model and the denaturation with anharmonic stacking interaction (equation (1.2)) in DNA has the features of a first order phase transition. It is a consequence of the evaluation of the final average stretching using the partition function and the entropic barrier (the third term in equation (5.2)).

CONCLUSIONS

For the PB model we solve the “pseudo-Schrödinger” equation using the finite difference to

determine eigenfunctions, the mean value of the displacements with a threshold value of 2.0 Å for the denaturation temperature of 350 K. The “Hump Morse” allow the model to describe the tunneling currents and the sharp thermal denaturation of DNA. Finally, it is important to emphasize the importance of the partition function in the numerical evaluation of the average stretching of the original PB model³ with rotational motions for nucleotides³⁰ and anharmonic stacking for the existence of a first order phase transition.

REFERENCES

- [1] N. Theodorakopoulos, Phase transitions in one dimension: Are they all driven by domain walls?, *Physica D*, **2006**, *216*, 185-190.
- [2] L. Angelani, Relationship between phase transition and topological, *Phys. Rev. E.*, **2005**, *72*, 1-9.
- [3] M. Peyrard, A.R. Bishop, Statistical Mechanics of a nonlinear model for DNA denaturation, *Phys. Rev. Letters*, **1989**, *62*, 2755-2758.
- [4] T. Dauxois, N. Theodorakopoulos, M. Peyrard, Thermodynamic Instabilities in OnDimension: Correlations, Scaling and Solitons, *Journal of Statistical Physical*, **2002**, *107*, 869-891.
- [5] J. Cuevas, Moving breathers in DNA model with competing short and long-range dispersive interactions, *Physica D*, **2002**, *163*, 106-126.
- [6] A. Alvarez, J. F. R. Archilla, F. R. Romero, Dark breathers in Klein-Gordon Lattices. Band Analysis of their stability properties, *New J. Phys.*, **2002**, *4*, 1-72.

- [7] M. Peyrard, Nonlinear statistical physics of DNA, *Nonlinearity*, **2004**, *17*, 1-33.
- [8] J. de Luca, E. Drigo Filho, A. Ponno, J. R. Ruggiero, Energy localization in the Peyrard-Bishop model, *Physical Review E*, **2004**, *70*, 026213-1 to 026213-9.
- [9] M. Peyrard, The pathway to energy localization in nonlinear lattices, *Physica D*, **1998**, *119*, 184-199.
- [10] J. Cuevas, Moving discrete breather in a Klein-Gordon chain with an impurity, *J. Phys. A*, **2002**, *35*, 10519-10530.
- [11] M. Hisakado, Breather trapping mechanism in piecewise homogeneous DNA, *Physics Letters A*, **1997**, *227*, 87-93.
- [12] A. Alvare, J. Cuevas, J. F. R. Archilla, Discrete moving breather collisions in a Klein-Gordon chain oscillators, *Physics Letters A*, **2008**, *372*, 1256-1264.
- [13] F. C. Hoppensteadt, Analysis and Simulation of Chaotic Systems, Springer-Verlag, New York, 2000.
- [14] S. Aubry, Breathers in lattices: existence, linear stability, *Physica D*, **1997**, *103*, 201-250.
- [15] K. Forinash, M. Peyrard, B. Malomed, Interaction of discrete breathers with impurity modes, *Phys. Rev. E*, **1994**, *49*, 3400-3411.
- [16] R. S. Mackay, S. Aubry, Proof of existence of breathers for time-reversible for oscillators, *Nonlinearity*, **1994**, *7*, 1623-1643.
- [17] J. L. Marin, S. Aubry, Breathers in nonlinear lattices: numerical calculation from the anticontinuous limit, *Nonlinearity*, **1996**, *9*, 1501-1528.
- [18] H. Cortez, Modelo dinâmico e estatístico aplicado à transição de fase, Ph. D. Thesis, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, Sao Paulo, Brasil, 2009.
- [19] S. Flach, C.R. Willis, Discrete breathers, *Physics Reports*, **1998**, *295*, 181-264.
- [20] S. Aubry, T. Cretegny, Mobility and Reactivity of Discrete Breathers, *Physica D*, **1998**, *119*, 34-46.
- [21] Y. Zhang, Theory of DNA melting based on the Peyrard-Bishop, *Physical Review E*, **1997**, *56*, 7100-7115.
- [22] J. Cuevas, Effect of the introduction of impurities on the stability of multibreathers at low coupling, *Nonlinearity*, **2005**, *18*, 769-790.
- [23] J. Cuevas, F. Palmero, J. F. R. Archilla, F. R. Romero, Moving discrete breather in a Klein-Gordon chain, *J. Phys. A*, **2002**, *35*, 10519-10530.
- [24] O. Bang, Generation of high-energy localized vibrational modes in nonlinear Klein-Gordon, *Physical Review E*, **1996**, *53*, 4143-4152.
- [25] J. Cuevas, Moving breathers in a bent DNA model, *Physics Letters A*, **2002**, *299*, 221-225.
- [26] J. L. Marin, J. C. Eibeck, F. M. Russell, Localized moving in a 2D lattice, *Phys. Lett.*, **1998**, *A248*, 225-229.
- [27] J. L. Marin, 2d breather, *Nonlinear Science at the Dawn of the 21st Century*, Springer, Berlin, 2000, pp.293-306.
- [28] M. Peyrard, Modelling DNA at the mesoscale: a challenge for nonlinear science, *Nonlinearity*, **2008**, *21*, 91-100.

- [29] H. Cortez, E. Drigo, J. Ruggiero, Breather Stability in One Dimensional Lattices with a Symmetric Morse Potential, *TEMA Tend. Mat. Apl. Comput.*, **2008**, 9, 205-212.
- [30] R. Silva, E. Drigo, J. Ruggiero, A model coupling vibrational and rotational motion for the DNA molecule, *J. Biol. Physics*, **2008**, 34, 511-519.
- [31] M. Zoli, Path integral method for DNA denaturation, *Physical Review E*, **2009**, 79, 021122-1 to 021122-5.
- [32] P. Augusto, E. Drigo, J. Ruggiero, Statistical Model to DNA melting, *Eclét. Quim.*, **2001**, 26, 77-85.

Eclética Química Journal

Original research publication in all aspects of Chemistry
homepage: <http://revista.iq.unesp.br/ojs/index.php/eclética/>
ISSN 1678-4618

| Vol. 41 | 2016 |

Abordagem da “Química Verde” por professores no contexto da disciplina de Química do ensino médio

Francisca L. A. Fernandes¹, Neidimar L. M de Paula¹, Célia M. F. G. Amorim¹, Maria A. L. Milhome^{1*}

Resumo: Nos últimos 20 anos, a Química Verde (QV) vem se destacando em diversos estudos e pesquisas. Desse modo, a inserção da QV no ensino também deve ser utilizada de modo a tornar a aprendizagem mais satisfatória e os alunos socioambientalmente críticos. A presente pesquisa buscou analisar de modo qualitativo a abordagem da QV na perspectiva da Educação Ambiental por professores do ensino médio. Questionários foram aplicados a professores de Química da rede pública estadual no município de Iguatu/CE. Os resultados mostram que, dentre os sujeitos pesquisados, apesar de todos conhecerem a QV e os seus princípios, nem todos a abordam em suas aulas de Química, nem utilizam a interdisciplinaridade. Dessa forma, pode-se concluir que o ensino da QV nas escolas pesquisadas ainda tem sido abordado de forma discreta, sendo necessário um trabalho pedagógico mais efetivo, para que possa trazer maiores benefícios aos alunos e à sociedade em geral.

Palavras-chave: Química Verde, Educação Ambiental, Ensino Médio

Abstract: In the last 20 years, the Green Chemistry (Química Verde – QV) has been highlighted in several studies and research. Thus, the insertion of QV in education must also be used in order to make the learning most satisfactory and the students social and socio-environmentally critical. This study sought qualitatively analyzes the approach of QV in the perspective of environmental education for high school teachers. Questionnaires were applied to chemistry teachers of public schools in the city of Iguatu / CE. The results show that, among the research subjects, even though everyone knows the QV and its principles, not every address in your chemistry class, do not use interdisciplinarity. Thus, it can be concluded that the teaching of QV in schools surveyed still have been approached discretely, a more effective pedagogical work is needed, so you can bring greater benefits to students and society in general.

Keywords: Green Chemistry, Environmental education, High school

¹ Departamento de Química, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará-IFCE, Campus Iguatu, Rodovia Iguatu / Várzea Alegre, Km 05, Vila Cajazeiras, CEP 63500-000 Iguatu, Ceará, Brasil.

* e-mail: apmilhome2013@gmail.com.br

INTRODUÇÃO

O ensino de Química, na atualidade, tem sido abordado de forma simplista e, portanto, requer uma nova visão por parte do professor¹. De modo geral, contempla a memorização de conteúdos, fórmulas, cálculos, moléculas e afins. Dessa forma, o processo de ensino se torna fragilizado e os alunos não se desenvolvem para atuar nas discussões da sociedade moderna, sobretudo, nas que envolvem as questões ambientais.

Em meados da década de 1990, surgiu a “Química Verde” (*Green Chemistry*) através da Agência Americana de Proteção Ambiental e da Sociedade Americana de Química². Segundo Machado (2011), a criação da QV “envolveu uma transição da química da postura reducionista do racionalismo cartesiano (raciocínio linear causa/efeito, com único objetivo: o produto da reação), para a postura sistêmica (raciocínio por linhas paralelas, dirigido a objetivos múltiplos – envolvendo simultaneamente o produto e os resíduos)”³.

A QV estabelece 12 princípios fundamentais, relacionados à redução da geração de resíduos e à economia energética, a serem seguidos por empresas, indústrias e demais setores da sociedade que pretendem adotá-la em seus processos^{4,5}. Nos últimos anos, pesquisas relacionadas aos problemas ambientais e ao gerenciamento de resíduos em processos químicos têm sido crescente⁶⁻⁸.

Conceitos da química no ensino têm sido utilizados como instrumento para promover a Educação Ambiental⁹. A Constituição da República Federativa do Brasil (artigo 225) estabelece que “todos têm o direito ao meio ambiente ecologicamente equilibrado, bem de uso comum do povo e essencial à sadia qualidade de vida, impondo-se ao poder público e à coletividade o dever de defendê-lo e preservá-lo para todas as gerações”¹⁰. Dessa forma, os princípios da QV na perspectiva da Educação Ambiental deve se tornar uma prática no currículo de Química das escolas públicas e privadas, preferencialmente, em todos os níveis de ensino, como previsto pela legislação¹⁰. Os Parâmetros Curriculares Nacionais da Educação Básica (PCNs) e as Diretrizes Curriculares Nacionais da Educação Básica (DCNs) são

ferramentas indispensáveis na educação escolar de modo a promover mudanças na postura e nas atitudes da população. O primeiro documento aborda a temática da Educação Ambiental em um capítulo que contém 76 páginas dedicadas exclusivamente para essa finalidade. O segundo documento aborda a Educação Ambiental em 28 páginas, nas quais traz pareceres e legislações sobre o tema, tratando-o com mais seriedade na educação escolar brasileira.

Diante desse contexto, a pesquisa visa analisar a inserção da QV dentro da disciplina de Química por professores do ensino médio. De forma específica, procurou-se compreender de que modo esses professores estão abordando a QV no intuito de melhorar a aprendizagem dos alunos, identificar a existência de práticas ambientais realizadas por esses professores nas escolas em que atuam, bem como compreender e refletir sobre a abordagem desses professores sobre a Educação Ambiental a partir dos parâmetros, das leis e diretrizes para o ensino médio.

Na atual situação de agravamento dos conflitos ambientais na sociedade, os resultados e reflexões advindos dessa pesquisa justificam-na ao perceber suas contribuições para uma formação mais humana e integral no ensino médio, bem como apontar nuances que podem servir como subsídios para possíveis debates sobre a formação do professor de Química na atualidade a partir da proposta de Educação Ambiental pela legislação vigente.

PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

Enquadramento metodológico

O presente estudo trata de uma pesquisa qualitativa. Esta, de acordo com Godoy (1995), possibilita ao pesquisador uma melhor abordagem e compreensão dos fatos ocorridos/estudados, podendo ser analisados de forma integral. Para tanto, o pesquisador vai a campo buscando “captar” o fenômeno em estudo a partir da perspectiva das pessoas nele envolvidas, considerando todos os pontos de vista relevantes¹¹.

A referida autora compreende que a pesquisa qualitativa pode se dar através de vários caminhos, ou seja, contemplando diversos tipos de abordagens metodológicas, como a análise documental, o estudo

de caso e a pesquisa etnográfica. Frente a essas possibilidades, a presente pesquisa contempla o estudo de caso, que compreende ser a escolha de uma representação significativa de um caso a ser estudado, de modo que seja apto “a fundamentar uma generalização para situações análogas, autorizando inferências”¹².

Local e sujeitos da pesquisa

A presente pesquisa foi realizada em três (3) escolas públicas de ensino médio da rede estadual de ensino com quatro (4) professores de química. Entrouse em contato com tais pessoas, em seguida lhes foi entregue o instrumento de coleta de dados (o questionário), para posterior devolução.

As escolas públicas estaduais de ensino médio, seguindo a ética nas pesquisas, não terão os seus nomes divulgados. Dessas, uma escola atua em tempo integral na modalidade de educação profissional, contemplando, no seu currículo escolar, disciplinas da base comum, da base diversificada e da base específica/profissional. A outra escola iniciou, no referido ano letivo de 2016, a implantação do ensino em tempo integral, mas sem a educação profissional nas suas turmas de primeiro ano, sendo ampliado para as demais séries nos anos posteriores. Nessa escola, o currículo escolar é composto por disciplinas da base comum e da base diversificada. As turmas de segundos e terceiros anos são de tempo parcial e contemplam apenas a base comum. As outras duas escolas são de tempo parcial, contemplando apenas a base comum curricular.

Instrumento de coleta de dados

Foi utilizado como instrumento da coleta dos dados dessa pesquisa, o questionário, definido por Gil (1999, p. 128) “como a técnica de investigação composta por um número mais ou menos elevado de

questões apresentadas por escrito às pessoas, tendo por objetivo o conhecimento de opiniões, crenças, sentimentos, [...] situações vivenciadas etc.”¹³

Essa pesquisa foi organizada em três partes: a primeira com uma pergunta de múltipla escolha sobre a formação acadêmica dos sujeitos (ensino médio completo, superior incompleto, superior completo, especialização etc.); a segunda parte composta por sete perguntas objetivas; a terceira e última parte composta por cinco perguntas subjetivas, de modo a possibilitar maiores comentários por parte dos sujeitos da pesquisa. O questionário engloba os objetivos propostos pela presente pesquisa, buscando conhecer a prática dos professores dentro da QV e da sustentabilidade/Educação Ambiental.

Cabe ressaltar que, antes da aplicação dos questionários, foi apresentado aos sujeitos da presente pesquisa o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), assinado por eles em duas vias, sendo uma para o pesquisador e outra para o pesquisado. Cada sujeito, de modo a preservar sua identidade, recebeu um número de identificação, sendo denominados de sujeitos 01, 02, 03 e 04.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados coletados na primeira etapa mostraram que todos os sujeitos da pesquisa são licenciados em Química e atuam como professores temporários ou como efetivos/concursados no ensino médio, sendo três sujeitos com especialização e um apenas com a graduação. A média de tempo de docência no ensino médio para cada sujeito foi de cinco anos.

A segunda etapa envolveu questões relacionadas a QV, sumarizadas na figura 1.

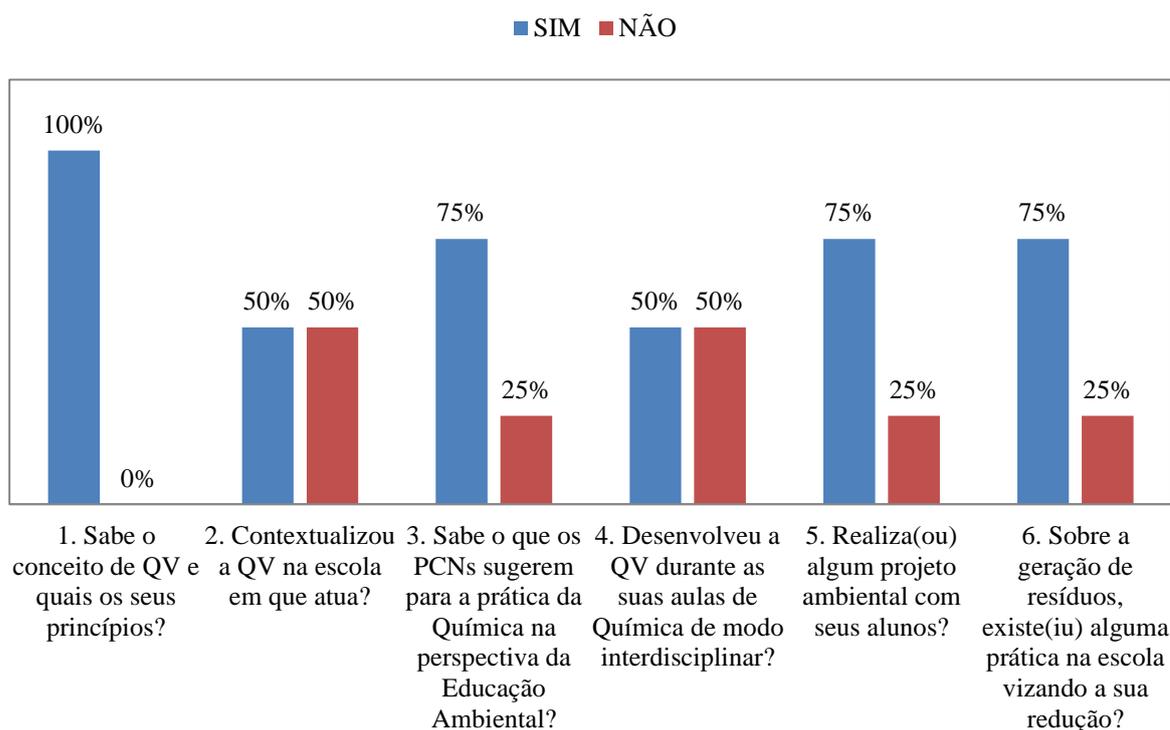


Figura 1. Questionamentos envolvendo a abordagem de QV por professores do Ensino Médio no município de Iguatu-CE.

Ao serem abordados sobre o conceito de QV, todos os professores participantes (100%) mostraram conhecer o tema, bem como os seus princípios (Figura 1). No entanto, assim como cita os PCNs, a abordagem sobre o Meio Ambiente e Educação Ambiental deve ser realizada de modo a possibilitar oportunidades de atuação dos alunos no sentido socioambiental¹⁴.

Assim, os professores foram interrogados sobre como contextualizam a QV em suas disciplinas dentro da escola em que atuam. Caso o professor/sujeito respondesse positivamente informando abordar a QV na escola em que atua, ele poderia descrever a maneira em que ocorre tal abordagem. Apesar de todos os sujeitos apontarem conhecer a QV e os seus princípios, a Figura 1 denota um contraste entre as perguntas 1 e 2 do questionário, pois apenas metade dos sujeitos disseram já terem feito alguma abordagem ou terem trabalhado a QV e os seus princípios na escola em que atuam. O sujeito 3 disse ter trabalhado através da “*exposição dos impactos ambientais, maquetes, debates e experiências em laboratório*”. Porém, cabe aqui a reflexão do que de fato é considerado

QV por esse sujeito, visto que se percebe nele uma falta de compreensão e significado dessa área da Química, resultando em um conhecimento raso e reducionista. Já o sujeito 4 disse assim ter trabalhado tal temática: “*Algumas vezes, especialmente quando estou trabalhando temas que requerem ou que me possibilitam uma abordagem mais voltada para o contexto ambiental, sempre gosto de tocar em pontos da QV... Os alunos adoram essas aulas, dizem que são as melhores por sair do mundo de fórmulas e cálculos da Química*”.

Através da sua fala, o sujeito 4 demonstra um maior conhecimento e habilidade para trabalhar a QV em suas aulas. Almeida (2012) sugere que as abordagens da QV na perspectiva da Educação Ambiental devem ser trabalhadas com base nos três pilares do desenvolvimento sustentável: ambiental, social e econômico¹⁵. Apoiando-se nessas três dimensões, o professor estará abordando não apenas a QV, mas também a Educação Ambiental como proposta pelas legislações apontadas anteriormente no referencial teórico dessa pesquisa. Tal apontamento direcionou a próxima pergunta que questionou se os sujeitos conheciam as sugestões

dos PCNs para o ensino de Química na perspectiva da Educação Ambiental.

Os dados apresentados na Figura 1 (questionamento 3) apontam que apenas 75% dos sujeitos conhecem o direcionamento dos PCNs para o ensino da Química na perspectiva da Educação Ambiental e 25% dos sujeitos disseram não conhecer tais recomendações. Essa porcentagem, ainda que relativamente pequena, remete a preocupações sobre a formação inicial do professor de Química. Os cursos de licenciatura diferenciam-se dos bacharelados justamente para que o docente tenha domínio de conhecimentos pedagógicos para uma melhor abordagem dos seus conteúdos, bem como para que o seu trabalho seja direcionado para dentro do contexto da educação escolar.

Os PCNs, bem como as DCNs, propõem a prática da interdisciplinaridade e a não fragmentação dos conteúdos escolares de forma a melhorar a aprendizagem dos alunos com relação à Educação Ambiental. E, nesse contexto, surgiu a pergunta aos sujeitos da pesquisa: Desenvolveu a QV nas suas aulas de Química de modo interdisciplinar? Em caso positivo, descreva como aconteceu. A Figura 1 mostra que 50% dos sujeitos disseram já ter trabalhado a QV de forma interdisciplinar e outra metade disse nunca ter feito tal prática. O sujeito 4 realizou a prática interdisciplinar na abordagem da QV nas suas aulas, associando a Língua Portuguesa (o poema e a música), as Artes (a música e os vídeos), as Ciências Humanas (abordagem do capitalismo). Além da interdisciplinaridade, foi perceptível a transversalização do conteúdo escolar na prática do professor, na qual os PCNs estabelecem que “trabalhar de forma transversal significa buscar a transformação dos conceitos, a explicitação de valores e a inclusão de procedimentos, sempre vinculados à realidade cotidiana da sociedade, de modo que obtenha cidadãos mais participantes”¹⁴.

Nesse contexto de contrastes entre as práticas docentes nas diferentes escolas, os professores foram perguntados sobre a realização/desenvolvimento de algum projeto na área da Educação Ambiental (questionamento 5) e, em caso positivo, poderiam descrever tais projetos. Dentre

os 75% dos sujeitos que apontaram ter algum projeto na área ambiental com os seus alunos, apenas 50% apontaram de forma rasa do que se tratavam os projetos (Figura 1). O sujeito 1 disse atuar na “*fabricação de tintas naturais e os seus impactos ambientais*”. O sujeito 2, apesar de sinalizar positivamente para essa pergunta, deixou em branco o espaço destinado para descrever o seu projeto. O sujeito 3 disse trabalhar com o “*óleo de cozinha e influência das cores com a radiação*”. O sujeito 4 disse não ter projeto nessa área, representando os 25% representado no gráfico. Nota-se que as falas dos sujeitos aparentam não ter uma conexão real com o que se ocorre na prática.

Com a execução desses projetos, lançou-se a seguinte pergunta (questionamento 6): sobre a geração de resíduos, existe alguma prática na escola em prol da sua redução? Se sim, como ela é realizada. Como observado na Figura 1, cerca de 75% disseram haver incentivos na escola em que atuam e 25% disseram não haver incentivos. O sujeito 1 disse haver incentivos através de palestras e de projetos desenvolvidos junto aos alunos. O sujeito 2, apesar de ter sinalizado positivamente, novamente não descreveu tais ações, e o sujeito 3 disse ser através de coleta de óleo para o descarte correto, da reciclagem de papel, descarte correto de pilhas e a produção de compostagem para a horta da escola. Tais práticas vão ao encontro do que é proposto pelas DNCs, em seu artigo 13, inciso IV, que estabelece o incentivo à participação individual e coletiva, permanente e responsável, na preservação do equilíbrio do meio ambiente, entendendo-se a defesa da qualidade ambiental como um valor inseparável do exercício da cidadania¹⁶.

Já na terceira parte do questionário, surge a pergunta sobre qual a visão dos professores sobre a inclusão da QV no currículo escolar. Os dados encontram-se na tabela 1.

Tabela 1 – Fala dos sujeitos sobre a inclusão da Química Verde no currículo escolar

Sujeito 01	<i>“Seria de bastante importância para conscientizar sobre os impactos ambientais existentes”.</i>
Sujeito 02	<i>“É de suma importância, pois possibilita a conscientização e conseqüentemente a adoção de práticas que visem minimizar os desgastes ambientais”.</i>
Sujeito 03	<i>“Extremamente importante porque faz parte do cotidiano do aluno”.</i>
Sujeito 04	<i>“Sim, visto que a Química Verde, junto com os seus princípios, possibilita uma melhor compreensão socioambiental e crítica da sociedade”.</i>

Fonte: Própria Autoria

Novamente, nota-se, através da tabela 1, o reducionismo e a visão simplista sobre a QV e os seus princípios com a simples justificativa de que é importante porque faz parte do cotidiano dos alunos. De acordo com Roloff e Marques (2014), a escola possui importante papel na busca de formas de superação dessas compreensões reducionistas de ambiente, cujo caminho precisa envolver os processos formativos de professores, proporcionando o domínio de competências técnicas para o tratamento das questões ambientais, além de formação em conhecimentos comportamentais que tornem os estudantes aptos a tomarem decisões críticas¹⁷.

Além da inserção da QV, é necessário também a inserção da Educação Ambiental no currículo escolar, como já apontado anteriormente. E nesse contexto, perguntou-se aos sujeitos se é possível perceber mudanças na escola em decorrência da inserção da Educação Ambiental nas escolas. Os sujeitos 1 e 2 não responderam a essa pergunta, deixando-a em branco. O sujeito 3 disse como resposta que *“busca mudança de acordo com a atualidade”*. Já o sujeito 4 disse *“sim, pois diante do cenário atual que encontramos o meio ambiente e a relação homem-natureza, as mudanças são de extrema urgência, e, apesar de muito lento, já nota-se a mudança na atitude de algumas pessoas, o que ainda é pouco”*. A fala do sujeito 3 denota ou uma falta de compreensão da pergunta ou uma falta de nexo entre o seu pensamento e o que está sendo abordado. O que se diferencia da fala do sujeito 4,

ao indicar a existência, ainda que de forma lenta, de mudanças perceptíveis na escola em que atua.

Sabendo que a formação do professor, seja inicial ou continuada, se caracteriza como de suma importância, perguntou-se aos sujeitos se já participaram ou receberam alguma formação na área ambiental. 50% disseram nunca ter feito/recebido e 50% disseram já ter feito/recebido tanto na graduação como de forma continuada. No entanto, cabe ressaltar que a porcentagem de sujeitos que disseram não ter tido nenhuma formação, já receberam, ainda que não se recordem, através da disciplina de Química Ambiental, presente nos cursos de Química, seja licenciatura ou não. Sobre isso, as DCNs estabelecem em seu artigo 8, *“a Educação Ambiental, respeitando a autonomia da dinâmica escolar e academia, deve ser desenvolvida como uma prática educativa integrada e interdisciplinar, contínua e permanente em todas as fases, etapas, níveis e modalidades, não devendo, como regra, ser implantada como disciplina ou componente curricular específico”*¹⁶.

É preciso considerar que nem toda (in)formação resulta em atividades/aplicações práticas. Assim, os sujeitos foram questionados se se consideravam preparados para atuarem como educadores ambientais. Todos os sujeitos apontaram que sim, porém, o sujeito 2 entra em contradição ao dizer que *“sim, desde que haja uma preparação”*. Ora, a pergunta foi direcionada no sentido de o professor já estar preparado, não na direção de que, caso venha a receber formação, ele se ache apto a atuar como tal profissional. Tal fala

implica, novamente, na questão da formação inicial do professor de Química no que tange à Educação Ambiental. Tais cursos, como apontam Roloff e Marques (2014), ainda não estão adotando tal abordagem na formação dos seus alunos, o que acaba interferindo na aprendizagem destes, priorizando o conteúdo escolar comum, como as fórmulas e conceitos¹⁷.

Por fim, como última pergunta, os sujeitos foram questionados quanto ao desenvolvimento de atividades voltadas para a Educação Ambiental dentro da disciplina de Química. Todos os sujeitos apontaram que desenvolvem alguma atividade, sendo 50% dos sujeitos atuam em atividades na reciclagem de óleo comestível e 50% em outras atividades que não foram detalhadas.

Os dados aqui apontados e discutidos trazem importantes reflexões sobre a utilização da Química Verde como suporte para a implantação da Educação Ambiental nas escolas brasileiras.

CONCLUSÕES

Os resultados mostram o notório despreparo da maioria dos sujeitos entrevistados para a abordagem da Química Verde como componente da Educação Ambiental e do ensino de Química no Ensino Médio. Apenas um sujeito adequava as suas respostas conforme eram feitas as perguntas de modo a se ter um melhor direcionamento. O conhecimento teórico sobre a Química Ambiental pelos professores apresentou-se frágil e fragmentado, com ausência de interdisciplinaridade, o que vai ao encontro do que é proposto pelos PCNs, DCNs, LDB e a própria Constituição Brasileira. Os sujeitos pesquisados tendem a ter uma visão muito reducionista, superficial e simplista do que venha a ser a Química Verde apontando para a importância do cotidiano dos alunos como justificativa para a sua utilização.

Dessa forma, pode-se concluir que o ensino de Química nas escolas pesquisadas ainda está longe de conceber um currículo escolar na referida disciplina de modo que traga benefícios para os seus alunos, não priorizando o conteúdo escolar, mas pautado em uma compreensão crítica e socioambiental.

REFERÊNCIAS

- [1] F. P. Gonçalves, C. A. Marques. A problematização das atividades experimentais na Educação Superior em Química: Uma pesquisa com produções textuais docentes, *Quím. Nova*, **2011**, *34*, 899-904.
- [2] E. J. Lenardão, Os 12 princípios da química verde e sua inserção nas atividades de ensino e pesquisa, *Quím. Nova*, **2003**, *26*, 123-129.
- [3] A. A. S. C. Machado, Da Gênese ao ensino da Química Verde, *Quím. Nova*, **2011**, *34*, 535-543.
- [4] F. M. Silva, P. S. B. de Lacerda, J. Jones Junior, Desenvolvimento sustentável e química verde, *Quím. Nova*, **2005**, *28*, 103-110.
- [5] A. A. S. C. Machado, Dos primeiros aos segundos doze princípios da Química Verde, *Quím. Nova*, **2012**, *35*, 1250-1259.
- [6] S. L. Farias, A. D. I. T. Fávaro, Vinte Anos de Química Verde: Conquista e desafios, *Quím. Nova*, **2011**, *34*, 1089-1093.
- [7] S. Cunha, O. B. S. da Costa, L. L. B. de Santana, W. A. Lopes, Acetanilida: Síntese Verde sem solvente, *Quím. Nova*, **2015**, *38*, 874-876.

- [8] C. C. Marinho, R. L. Bozelli, F. A. Esteves, A. C. B. Gonçalves, V. A. Rocha, W. H. da Silva, J. C. Affonso, Gerenciamento de resíduos químicos em um laboratório de ensino e pesquisa: a experiência do Laboratório de Limnologia da UFRJ, *Eclét. Quím.*, **2011**, *36*, 85-104.
- [9] P. T. A. Santos, I. J. Dias, V. E. Lima, M. J. Oliveira, L. J. A. Neto, V. Q. Celestino, Lixo e reciclagem como tema motivador no ensino de química, *Eclét. Quím*, **2011**, *36* , 78-92.
- [10] BRASIL, Constituição da República Federativa do Brasil, 1988. 35. ed. Brasília: Câmara dos Deputados, Edições Câmara, **2012**.
- [11] A. S. Godoy, Pesquisa Qualitativa – Tipos fundamentais, *Rev. Adm. Empres.*, **1995**, *35*, 20-29.
- [12] A. J. Severino, Metodologia do Trabalho Científico. 23. ed. São Paulo: Cortez, **2007**.
- [13] A. C. Gil, Métodos e técnicas de pesquisa social. 5. ed. São Paulo: Atlas, **1999**.
- [14] BRASIL, Parâmetros Curriculares Nacionais. Brasília: MEC, **2002**.
- [15] M. F. L. Almeida, Química Verde: desafios para o desenvolvimento sustentável, *Parc. Estrat.* **2012**, *17*, 113-166.
- [16] BRASIL, Diretrizes Curriculares Nacionais Gerais da Educação Básica –Brasília: MEC, SEB, DICEI, **2013**.
- [17] F. B. Roloff, C. A. Marques, Questões Ambientais na voz dos formadores de professores de Química em Disciplinas de cunho ambiental, *Quím. Nova*, **2014**, *37*, 549-555.

Eclética Química Journal

Original research publication in all aspects of Chemistry
homepage: <http://revista.iq.unesp.br/ojs/index.php/eclética/>
ISSN 1678-4618

| Vol. 41 | 2016 |

Parâmetros de qualidade físico-química de óleos e análise morfométrica de frutos e sementes da espécie *Orbignya phalerata* Martius por região ecológica

Débora S. Santos¹, Ilna G. da Silva¹, Maria do Carmo L. Barbosa², Maria do Desterro S. B. Nascimento², Maria Célia P. Costa¹

Resumo: Este trabalho teve como objetivo analisar as características físico-químicas de óleos e as características morfométricas de frutos e sementes (amêndoas) do babaçu (*Orbignya phalerata* Martius), por região ecológica do estado do Maranhão. Para isso, foram obtidas amostras de babaçu oriundas das regiões: Litoral, Cocais, Baixada, Cerrado e Pré-Amazônia maranhense e analisados os parâmetros físico-químicos: índice de acidez, índice de saponificação, índice de refração e umidade. Das mesmas regiões foram coletados, para análise das características morfométricas, frutos inteiros e de amêndoas da espécie estudada. Os resultados apontam que os índices de acidez estão dentro do limite máximo estabelecido pela norma nacional da ANVISA (2009); os índices de saponificação indicam a presença de lipídeos (ácidos graxos) de médio a alto peso molecular na composição química dos óleos, os resultados refratométricos estão condizentes com as normais atuais vigentes e o teor de umidade foi inferior a 1%. Os lotes de babaçu *Orbignya phalerata* Martius não apresentaram variabilidade significativa ($p > 0,05$) em tamanho (cm) para os frutos e amêndoas por região. Os parâmetros físico-químicos dos óleos aqui avaliados poderão contribuir com as indústrias que utilizam o óleo de babaçu em seus produtos manufaturados. As características morfométricas dos frutos inteiros e das amêndoas da espécie estudada poderão contribuir para propostas de produção de máquinas úteis para a quebra do coco babaçu.

Palavras-chave: Óleo de babaçu, *Orbignya phalerata* Martius, padronização

Abstract: The objective of this work was to analyze the physico-chemical characteristics of oils and the morphometric characteristics of babassu (*Orbignya phalerata* Martius) fruits and seeds (almonds), of each one of the ecological regions of the state of Maranhão. For this, samples of babassu were obtained from the following regions: Litoral, Cocais, Baixada, Cerrado and Pre-Amazonia of the state of Maranhão, and the physical-chemical parameters acidity index, saponification index, refraction index and humidity were analyzed. Whole fruits and almonds of the species studied were collected From the same regions in order to analyze their morphometric characteristics. The results indicate that the acidity indexes are within the maximum limit established by the national standard of ANVISA (2009), the saponification indices indicate the presence of medium to high molecular weight lipids (fatty acids) in the chemical composition of the oils; the results refractometers are in line with current standards and the moisture content was less than 1%. The *Orbignya phalerata* Martius babassu lots did not present significant variability ($p > 0.05$) in size (cm) for fruits and almonds by region. The physical-chemical parameters of the oils evaluated here may contribute to the industries that use babassu oil in their manufactured products. The morphometric characteristics of the whole fruits and the almonds of the studied species may contribute to the production of useful machines for the breaking of babassu coconut.

Keywords: Physicochemical analysis, *Orbignya phalerata* Martius, standardization

¹ Departamento de Química e Biologia, Universidade Estadual do Maranhão - UEMA, Campus Universitário Paulo VI, CEP 65055-970, São Luís - MA, Brasil.

² Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Maranhão - UFMA, Campus Universitário Bacanga, CEP 65080-040 São Luís, Brasil
Autora correspondente: celiacosta@prof.elointernet.com.br

INTRODUÇÃO

A palmeira de babaçu é uma palmeira robusta que pode crescer até 20 m de altura, com estipe isolado cilíndrico de 25 a 44 cm de diâmetro, possui 7 a 22 folhas medindo de 4 a 8 m de comprimento^{1,2}. Produz tipicamente de 15 a 25 frutos (cocos) dispostos em cachos, produzindo até seis cachos por palmeira^{1,3-4}. O meristema apical é até 70 cm abaixo do nível do solo, tornando-o mais resistente ao corte⁴.

Desta palmeira merece a atenção à exploração de amêndoas para a extração e produção de óleo². As amêndoas são brancas recobertas por uma película de coloração castanha, pesando em média de 3 a 4 g, contém elevado teor de óleo entre 60 a 68 % p/p, podendo alcançar até 72 % p/p em condições mais favoráveis da palmeira, óleo este rico em triacilgliceróis (> 60 % p/p). A partir de 140 kg de amêndoas é possível extrair aproximadamente 91 litros de óleo, as amêndoas são constituídas também por minerais (Al, Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Sr e Zn), fibras, proteínas e carboidratos^{5,6}. As exportações brasileiras de amêndoa e de óleo de babaçu têm aumentado nos últimos anos, devido às suas aplicações industriais, tais como; alimentos, detergentes, biocosméticos e também para a produção de biodiesel^{4,7-8}. O óleo de babaçu (*Orbignya phalerata* Martius) bruto possui coloração amarela, quando refinado passa ser visualmente mais claro. Contém um nível elevado de ácidos graxos saturados de cadeia média, como exemplo o ácido láurico, sendo o mais abundante (40 a 55 % p/p). Este óleo contém uma maior concentração de graxos insaturados (10 a 26 % p/p) quando comparado com o óleo de coco (*Cocos nucifera* L.) (6 a 12 % p/p)³.

A área total de ocorrência do babaçu no Brasil é estimada em 18,4 milhões de hectares, encontrado nas regiões Nordeste, Norte e Centro-Oeste do país, com maior ocorrência na primeira, que detém a maior produção de amêndoas e a maior área ocupada com babaçuais (como são chamadas as florestas desta espécie). Dentre os estados nordestinos que produzem amêndoas de babaçu destaca-se o Maranhão, pois as palmeiras ocupam

10,3 milhões de hectares em babaçuais, distribuídos em regiões ecológicas como: Cocais, Cerrado, Baixada e Pré-Amazônia Maranhense^{3,9-10}. No Maranhão, há uma predominância de palmeiras de babaçu da espécie *Orbignya phalerata* Martius, a qual atualmente vem sendo estudada^{11,12}.

O Codex Alimentarius¹³ norma internacional para alimentos, e a Resolução de Diretoria Colegiada RDC n° 482, de 23 de setembro de 1999 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA¹⁴ trazem os principais parâmetros de qualidade para óleos de babaçu da espécie *Attalea funifera*. A ausência de normas específicas para o controle de qualidade do óleo de babaçu da espécie *Orbignya phalerata* Martius dá margem a adulterações deste produto, pois sua autenticidade não pode ser verificada pelos órgãos competentes.

Entre as características físico-químicas do óleo; o índice de acidez está relacionado com o estado de conservação do óleo¹⁵, o teor de água tem relação com a durabilidade ou estabilidade do material¹⁶, o índice de saponificação demonstra matematicamente a existência ou não de ácidos graxos de baixo peso molecular na composição química do produto¹⁵, o índice de refração é um valor que relaciona o grau de saturação das ligações e é específico para cada óleo, sendo assim um parâmetro importante usado na comparação da massa molar média de um óleo em comparação a outros óleos¹⁵. Em conjunto, a verificação destes índices serve para a identificação e avaliação da maioria dos óleos e gorduras.

Trabalhos recentes têm revelado a aplicabilidade e a importância do óleo de babaçu na saúde quanto à sua administração oral e tópica¹⁷⁻¹⁹ e nos bancos de patentes é possível encontrar pedidos de depósitos de invenção relevantes à matéria-prima babaçu para diferentes finalidades, em especial com a utilização do óleo com aplicação farmacológica e nutricional (INPI n° BR 1020130292435²⁰; INPI n° BR10201602684²¹), nanotecnologia de produtos naturais antioxidantes (INPI n° BR10201601759²²), emulsões cosméticas e fotoproteção (INPI n° BR1020140029125²³; INPI n° BR10201700225²⁴).

O objetivo deste estudo foi determinar as características físico-químicas (índice de acidez,

índice de saponificação, índice de refração e umidade) de amostras de óleos de babaçu e analisar morfometricamente os frutos inteiros e as amêndoas coletadas por região ecológica do estado do Maranhão, com a finalidade de contribuir à avaliação da autenticidade do óleo de babaçu (*O. phalerata* Martius).

MATERIAIS E MÉTODOS

Material

As amêndoas de babaçu (*O. phalerata* Martius), das quais foram extraídos os óleos com

solvente, conforme descrito no item extração, foram oriundas das regiões: Litoral, Pré-Amazônia maranhense, Baixada, Cocais, Região de transição Cerrado/Cocais e Cerrado. De cada uma dessas regiões foi sorteado um município, representativo da produção de amêndoas: São Luís (SLZ), Imperatriz (IMP), Penalva (PEN), Esperantinópolis (EPT), Fortuna (FOR) e Riachão (RIA). As coordenadas geográficas de latitude (S) e longitude (W) e área (km²) de cada município encontram-se na **Tabela 1** conforme dados disponíveis no IBGE²⁵.

Tabela 1. Coordenadas geográficas: S, W; área; clima e região correspondente aos seis municípios em estudo

Município	Latitude (S)	Longitude (W)	Área (km ²)	Clima	Região
SLZ	-02° 31' 47"	44° 18' 10"	827	Tropical, quente e úmido	Litoral
IMP	-05° 31' 35"	47° 29' 30"	1.368	Tropical Sub-úmido	Pré-Amazônia
PEN	-03° 17' 39"	45° 10' 25"	786	Tropical úmido	Baixada
EPT	-04° 52' 00"	44° 42' 30"	481	Tropical Sub-úmido	Cocais
FOR	-05° 44' 00"	44° 09' 30"	695	Tropical com estação seca	Transição Cerrado/Cocais
RIA	-07° 21' 43"	46° 37' 02"	6.373	Tropical sazonal	Cerrado

Fonte: IBGE, 2009. **Legenda:** **SLZ:** São Luís; **IMP:** Imperatriz; **PEN:** Penalva; **EPT:** Esperantinópolis; **FOR:** Fortuna e **RIA:** Riachão.

Para a identificação da espécie (*O. phalerata* Martius), foram coletados frutos inteiros e folhas nos municípios de São Luís (SLZ), Penalva (PEN), Imperatriz (IMP) e Esperantinópolis (EPT), estes materiais foram transportados para o Herbário Rosa

Mochel da UEMA onde foram realizadas as exsiccatas depositadas e registradas com as respectivas numerações, conforme disponível no **Quadro 1**.

Quadro 1. Registro das exsicatas de *O. phalerata* Martius

Exsicatas	SLZ	PEN	IMP	EPT
Fruto (n°)	23	25	26	27
Folha (n°)	-	1794	1795	1797

	
---	--

Legenda: SLZ: São Luís; PEN: Penalva; IMP: Imperatriz; EPT: Esperantinópolis.

Métodos

Análises físico-químicas

Todas as análises físico-químicas realizadas neste trabalho foram realizadas no Laboratório de Macromoléculas e Produtos Naturais da UEMA, com repetições em quintuplicata (n=5) para determinação do índice de refração e em triplicata (n=3) para os demais testes, segundo as Normas do Instituto Adolfo Lutz²⁶. Estes métodos são aplicáveis a óleos brutos e refinados, vegetais e animais.

Extração

As amostras de óleos analisadas foram obtidas por meio de extração a quente com a utilização do solvente éter de petróleo (P.A) Quimex na proporção de 5:50 (m/v), seguindo o protocolo disponível nas Normas do Instituto Adolfo Lutz²⁶. Todo o procedimento de extração foi realizado no Laboratório de Bromatologia da Universidade Estadual do Maranhão – UEMA.

Acidez titulável (% ácidos graxos livres)

O Índice de Acidez é definido como o número de miligramas de KOH ou NaOH necessário para neutralizar os ácidos graxos livres em um grama da amostra²⁶. A acidez titulável resume-se em titular com soluções de álcali-padrão, a acidez do produto com base no percentual de ácidos graxos livres obtidos dos lipídios, expressado geralmente em % de ácido oleico¹⁵.

Neste trabalho pesou-se 1,0000 g da amostra em frasco erlenmeyer, adicionou-se 12,5 mL de solução éter-álcool (2:1) neutra. Em seguida adicionaram-se duas gotas do indicador fenolftaleína a 1%. Titulou-se com solução de NaOH 0,1N até o aparecimento da coloração rósea. As análises foram realizadas em triplicata.

Índice de Saponificação (IS)

O Índice de Saponificação (IS) é a quantidade de álcali necessário para saponificar uma quantidade definida de amostra, expressa o número de miligramas de KOH necessário para saponificar um grama de amostra²⁶. Neste trabalho calculou-se o Índice de Saponificação de Koettstorfer. Pesou-se 2,0000 g da amostra em um frasco erlenmeyer, adicionou-se 20 mL solução alcoólica de KOH a 4%, adaptou-se ao frasco um condensador de refluxo, em seguida colocou-se o sistema em aquecimento a 60°C durante 30 minutos, ao término pingaram-se duas gotas de fenolftaleína a 1% e titulou-se com solução de HCl 0,5N. Fez-se uma prova em branco. As análises foram realizadas em triplicata.

Índice de refração (n_D^{40})

Relacionado com o grau de saturação das ligações onde permite a comparação da massa molar média de um óleo com outros óleos¹⁵. O Índice de refração foi obtido à temperatura ambiente com posterior conversão à temperatura de 40 °C utilizando-se um refratômetro de Abbé

previamente calibrado em 1,333 a 20 °C em escala padrão. Colocou-se uma gota da amostra de óleo sobre o prisma de vidro, fez-se a leitura e anotou-se a temperatura para posterior conversão. O procedimento foi realizado adotando 05 repetições com variação de leitura igual a 0,0002.

Umidade (%)

A determinação da umidade constitui um dos parâmetros legais cuja finalidade é para a avaliação da qualidade de óleos e gorduras, sendo realizada por aquecimento direto da amostra a 105 °C²⁶. Pesou-se 5,0000 g de óleo em uma cápsula de porcelana, colocou-se a amostra pesada na estufa a 105 °C permanecendo por uma hora, em seguida, retirou-se e resfriou-se em dessecador, o procedimento foi repetido até peso constante.

Análises morfológica dos frutos e das amêndoas inteiros

Foram determinadas as medições do ápice (cm), diâmetro (cm), base (cm) e comprimento longitudinal (cm) dos frutos inteiros e amêndoas provenientes dos municípios pesquisados, com a utilização de um paquímetro digital resolução 0,01mm/0,001, Jomarca 150mm/0,01mm. Foram determinadas também suas respectivas massas (g). As sementes (amêndoas) selecionadas estavam com a película envoltória totalmente intacta, sem nenhuma deformação. Todo procedimento foi realizado no Laboratório de Pós-Colheita da

UEMA.

Análise estatística

Foram calculadas as médias aritméticas (\bar{X}), desvio-padrão (σ) e coeficiente de variância - CV (%) aplicando a ANOVA com nível de significância $p < 0,05$ (5%). Com a finalidade de se obter uma comparação estatística entre as amostras por região ecológica. Utilizaram-se as ferramentas Graphpad Prism 6 (Graphpad Software, California).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na **Tabela 2** constam os resultados obtidos para os Índices de Acidez dos óleos de babaçu (*O. phalerata* Martius) entre os municípios da pesquisa. Os valores médios de acidez Ácidos Graxos Livres (AGL), expressos em % de ácido láurico/oléico, p/p, determinados para as seis amostras de óleo bruto de babaçu (*O. phalerata* Martius) encontram-se dentro do limite observado para óleos brutos (máximo 5,0%) segundo a resolução n° 482 da Resolução de Diretoria Colegiada da ANVISA [14].

Tabela 2. Índice dos ácidos graxos livres (%) dos óleos de *O. phalerata* Martius por município

	$\bar{X} \pm \sigma$	CV (%)	Mín.	Máx.	PN	PI
SLZ	0,0628 ± 0,0102	16,2420				
IMP	0,0763 ± 0,0038	04,9803	0,0449	0,0763	5,0 %	0,3%
PEN	0,0673 ± 0,0178	26,4487	(FOR)	(IMP)		
EPT	0,0606 ± 0,0000	00,0000				
FOR	0,0449 ± 0,0038	08,4632				
RIA	0,0606 ± 0,0067	11,0561				

Legenda: SLZ: São Luís; IMP: Imperatriz; PEN: Penalva; EPT: Esperantinópolis; FOR: Fortuna; RIA: Riachão; \bar{X} : Média; σ : Desvio Padrão Amostral; CV: Coeficiente de Variação Amostral; Mín.: Mínimo; Máx.: Máximo; PN: Padrão Nacional ANVISA [14]; PI: Padrão Internacional Codex Alimentarius [13].

Conforme a **Tabela 2**, o óleo oriundo do município de Imperatriz (IMP) apresentou percentual de AGL maior com 04,9803 % de variação por amostra e o óleo de Fortuna (FOR) apresentou menor % em acidez. Estes resultados demonstram que entre as amostras não houve variação significativa ($p < 0,05$) em relação ao índice de acidez entre os óleos analisados por região geográfica. Ferreira et al. (2011) [27] encontrou para o óleo de babaçu (*O. phalerata* Mart.) índices de acidez com valores de 1,4 % p/p. Oliveira et al. (2007)²⁸ encontraram índices de acidez no intervalo de 0,690 a 1,660% ácido oléico p/p para amostras de óleo da espécie *O. phalerata* Martius oriunda do estado do Piauí. Machado et al. (2006)[15] encontraram valores de acidez entre 0,092 % p/p (28°C) e 0,096 % p/p (34°C) para os óleo de babaçu da espécie *O. martiana*. Neste trabalho, trabalhou-se à temperatura ambiente cujos índices de acidez encontrados foram de 0,0449 a 0,0763 % p/p, portanto inferiores aos encontrados pelos autores citados.

O Codex Alimentarius¹³ adota como padrão o índice máximo de acidez 0,3 % expressos em percentual de ácido láurico ($C_{12}H_{24}O_2$) para o óleo de babaçu, com base nessa informação, todos os resultados encontrados entre os municípios da pesquisa foram inferiores a 0,3% de acidez, estando assim dentro do limite estabelecido pela Norma Internacional. Os resultados de acidez para os óleos brutos de babaçu de diferentes regiões do estado do

Maranhão apontam que não houve diferenças significativas de um município para outro, contudo os mesmos foram inferiores quando comparados aos encontrados na literatura para *O. phalerata* Martius e *O. martiana*, no entanto, encontram-se dentro das normas vigentes, o que indica bom estado de conservação dos óleos.

A norma nº 482 da Resolução de Diretoria Colegiada da ANVISA¹⁴, adota como padrão para o Índice de Saponificação (IS) o intervalo entre 245 a 256 mg KOH/g óleo, esta faixa também corresponde a norma internacional Codex Alimentarius¹³ para o óleo de babaçu *A. speciosa*.

Neste trabalho os resultados de IS estão disponíveis na **Figura 1** foi determinado para o óleo do município de Riachão (RIA) um IS de 235,200 mg KOH/g e para o óleo do município de Esperantinópolis (EPT) IS de 200,900 mg KOH/g, índices maiores e menores respectivamente, quando comparados com as amostras dos municípios de SLZ, PEN, IMP. Não foi possível obter o IS para a amostra de FOR. Estes resultados corroboram com os dados encontrados por Oliveira et al. (2007)²⁸ para o óleo de babaçu da espécie *O. phalerata* Martius onde os autores encontraram IS compreendidos entre 164 a 252 mg KOH/g óleo. Tanto os dados de IS encontrados neste trabalho, por região geográfica maranhense, como os dados IS reportados na literatura²⁸ não estão em conformidade com as normas da ANVISA¹⁴ e Codex Alimentarius¹³.

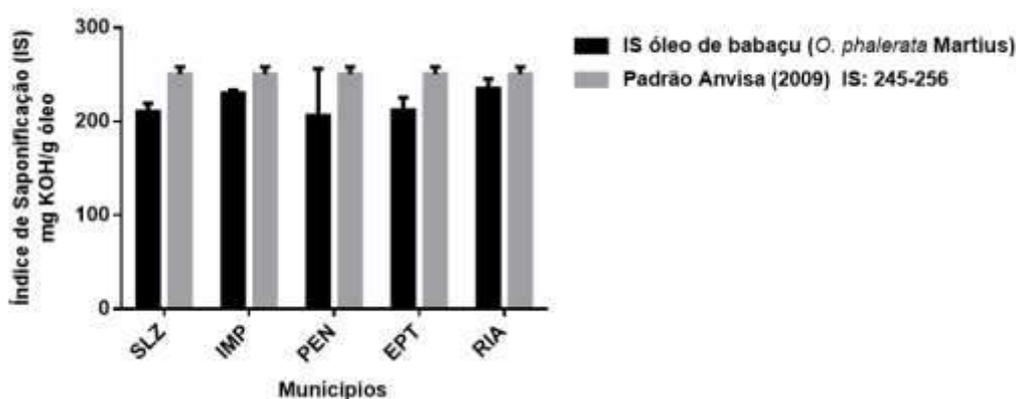


Figura 1. Dados dos Índices de Saponificação – IS, expressos em mg KOH/g óleo para os óleos de babaçu *O. phalerata* Martius por localização. **Legenda:** SLZ: São Luís; IMP: Imperatriz; PEN: Penalva; EPT: Esperantinópolis; RIA: Riachão, $p > 0,05$.

Vale ressaltar que os resultados encontrados para os Índices de Saponificação (IS) podem estar atribuídas às características particulares de cada óleo, como a espécie e a região de origem, visto que as pesquisas voltadas para o óleo de babaçu da espécie *O. phalerata* Martius apontam semelhanças próximas. A determinação do Índice de Saponificação (IS) serve para indicar qualitativamente ácidos graxos de baixo ou alto peso molecular que estão ligados nos triacilgliceróis, pois ésteres de ácidos graxos de baixo peso molecular vão requerer mais base para saponificar, ou seja, maior consumo de KOH, conseqüentemente promoverá um maior valor IS, já na presença de ésteres de ácidos graxos de alto peso molecular a relação é inversa.

Os resultados em relação ao índice de refração a 40 °C para os óleos de babaçu (*O. phalerata* Martius)

estão apresentados na **Tabela 3**. O Codex Alimentarius¹³ adota como padrão de índice de refração a 40°C para o óleo de babaçu o intervalo de 1,4480 a 1,4510 n_D^{40} , o mesmo adotado pela ANVISA¹⁴. Machado et al. (2006)¹⁵, determinaram para o óleo de babaçu (*O. martiana*), índices de refração e obtiveram respectivamente os índices refratômicos: 1,4485 n_D^{40} e 1,4505 n_D^{40} . Oliveira et al. (2007)²⁸, encontraram índices de refração no intervalo de 1,4550 a 1,4560 n_D^{40} para o óleo da espécie *O. phalerata* Martius.

Tabela 3. Índice de refração a 40°C para os óleos de babaçu (*O. phalerata* Martius).

Grupos	\bar{X}	σ	CV (%)
SLZ	1,4501	0,0002	0,0153
IMP	1,4482	0,0002	0,0188
PEN	1,4492	0,0002	0,0188
EPT	1,4475	0,0000	0,0000
FOR	1,4488	0,0005	0,0393
RIA	1,4470	0,0003	0,0243

Legenda: \bar{X} : Média; σ : Desvio Padrão Amostral; CV: Coeficiente Variação Amostral ($p > 0,05$). **SLZ:** São Luís; **IMP:** Imperatriz; **PE:** Penalva; **EPT:** Esperantinópolis; **FOR:** Fortuna; **RIA:** Riachão.

Os resultados obtidos para o índice de refração do óleo de babaçu da espécie *O. phalerata* Martius oriundos dos municípios SLZ, IMP, PEN e FOR estão em conformidade com as normas nacionais e internacionais, ficando somente as amostras RIA e EPT abaixo dos padrões estabelecidos.

Os resultados encontrados para o percentual de umidade nos óleos foram < 1,0%. Uma porcentagem mínima de água representa uma quantidade de moléculas de H₂O livre na composição dos óleos. Esta pouca quantidade de água em óleos vegetais é importante uma vez que

reflete na qualidade e maior durabilidade do produto. A amostra IMP apresentou média percentual de 0,4258% e a amostra EPT média de 0,0239%, máximos e mínimos, respectivamente. Para as demais amostras foram obtidas médias equivalentes a: 0,4140 % (SLZ) e 0,0759 % (PEN). Não foi possível obter os dados de umidade para as amostras FOR e RIA.

Na **Tabela 4** constam os resultados com a apresentação dos desvios padrões amostrais (σ) e os coeficientes de variância - CV (%) das determinações do ápice (cm), diâmetro (cm), base (cm), comprimentos (cm) e massas (g) dos frutos

inteiros e das amêndoas de *O. phalerata* Martius para as amostras oriundas dos municípios de São

Luís (SLZ); Imperatriz (IMP), Penalva (PEN) e Esperantinópolis (EPT).

Tabela 4. Características morfométricas de frutos e amêndoas de *O. phalerata* Martius do estado do Maranhão por município / região ecológica

Município / Região	Parâmetros de dimensão	Frutos		Amêndoas	
		$\bar{X} \pm \sigma$	CV (%)	$\bar{X} \pm \sigma$	CV (%)
SLZ / Litoral	Ápice (cm)	4,27 ± 0,11	2,57	0,85 ± 0,06	7,05
	Diâmetro (cm)	5,37 ± 0,50	9,31	1,25 ± 0,12	9,60
	Base (cm)	4,34 ± 0,17	3,91	0,96 ± 0,09	9,37
	Compri. Longit. (cm)	8,45 ± 0,07	0,82	3,70 ± 0,17	4,59
	Massa ^a (g)	100,30 ± 0,60	0,59	2,59 ± 0,32	12,35
IMP / Pré-Amazônia	Ápice (cm)	4,83 ± 0,40	8,28	0,99 ± 0,16	16,16
	Diâmetro (cm)	5,91 ± 0,09	1,52	1,41 ± 0,12	8,51
	Base (cm)	5,25 ± 0,19	3,61	1,30 ± 0,17	13,07
	Compri. Longit. (cm)	9,93 ± 0,32	3,22	4,56 ± 0,15	3,28
	Massa ^b (g)	171,31 ± 8,62	5,03	4,62 ± 0,22	4,76
PEN / Baixada	Ápice (cm)	4,38 ± 0,06	1,36	1,01 ± 0,13	12,87
	Diâmetro (cm)	5,32 ± 0,12	2,25	1,34 ± 0,30	22,38
	Base (cm)	4,90 ± 0,16	3,26	1,16 ± 0,27	23,27
	Compri. Longit. (cm)	9,63 ± 1,03	10,69	4,23 ± 0,21	4,96
	Massa ^b (g)	154,92 ± 11,79	7,61	5,10 ± 1,03	20,19
EPT / Cocais	Ápice (cm)	4,48 ± 0,13	2,90	0,85 ± 0,06	7,05
	Diâmetro (cm)	5,96 ± 0,31	5,20	1,35 ± 0,09	6,66
	Base (cm)	5,17 ± 0,44	8,51	1,00 ± 0,04	4,00
	Compri. Longit. (cm)	9,5 ± 0,79	8,31	4,1 ± 0,36	8,78
	Massa ^b (g)	197,10 ± 12,60	6,39	4,32 ± 0,92	21,29

Legenda: \bar{X} : Média; σ : Desvio Padrão Amostral; CV: Coeficiente de Variação Amostral, ^{a,b}(p>0,05). **SLZ:** São Luís; **IMP:** Imperatriz; **PEN:** Penalva e **EPT:** Esperantinópolis.

Mitjá et al. (2008)²⁹, em estudo realizado no estado de Tocantins, sobre biometria de frutos e sementes de babaçu *Attalea speciosa* obtiveram as seguintes características; massa do fruto entre 207 a 291g, comprimento entre 111 a 125 mm (11,1cm a 12,5 cm). Para amêndoas, massa de 0,71 g e comprimento de 4,75 cm.

Porto (2004)³⁰ estudou parâmetros físicos do coco babaçu *O. phalerata* Martius, e obteve resultados equivalentes a: para os frutos inteiros encontrou médias de 9,48 cm de comprimento longitudinal; 6,27 cm de diâmetro e 78,23 g de massa. Para as amêndoas, 3,27 cm de comprimento longitudinal e 8,2 g de massa. Comparando os dados de massa (g) dos frutos inteiros encontrados no presente estudo com os dados de Mitjá et al. (2008)²⁹ e Porto (2004)³⁰, percebe-se que os

resultados foram inferiores em relação ao intervalo encontrado por Mitjá et al. (2008)²⁹ e superiores aos encontrados por Porto (2004)³⁰, no entanto, ao considerar a espécie estudada *O. phalerata* Martius, as demais características; comprimento e diâmetro dos frutos inteiros e das amêndoas dos lotes oriundos dos municípios de São Luís (SLZ), Imperatriz (IMP), Penalva (PEN) e Esperantinópolis (EPT) estão condizentes com os reportados por Porto (2004)³⁰.

São poucos os trabalhos na literatura que discorrem sobre as características morfométricas dos frutos inteiros e das amêndoas de babaçu (*O. phalerata* Martius), geralmente são apresentadas somente médias referentes à produção anual de frutos de babaçu por cacho/palmeira. Neste trabalho os frutos de *O. phalerata* Martius dos municípios de

São Luís (SLZ), Imperatriz (IMP), Penalva (PEN) e Esperantinópolis (EPT) são ovais alongados de coloração castanha para marrom. As sementes (amêndoas) apresentam uma película envoltória de coloração marrom claro a escuro variando por região. A obtenção das características morfológicas dos frutos de *O. phalerata* Martius por região ecológica maranhense é importante para a caracterização deste material. Foi possível analisar que há variação significativa ($p < 0,05$) somente em relação à massa (g) dos frutos inteiros quando comparada os lotes oriundos das regiões Pré-Amazônia, Baixada, Cocais em relação ao lote do Litoral.

CONCLUSÕES

As análises dos óleos de babaçu (*O. phalerata* Martius) para o teste de acidez, indicou que todas as amostras estavam dentro dos padrões

estabelecidos pelas normas vigentes, nacional e internacional indicando assim qualidade no bom estado de conservação, os índices de saponificação apontam possíveis presença de ácidos graxos de cadeia média e longa (alto peso molecular). Os dados refratométricos estão condizentes com as normas vigentes. Para o índice de umidade todas as amostras analisadas apresentaram percentuais inferiores a 1%. Os lotes (frutos e amêndoas) de babaçu *O. phalerata* Martius possuem características peculiares em tamanho, comprimento e massa por região geográfica.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Universidade Estadual do Maranhão – UEMA, CNPq, FAPEMA pelos auxílios concedidos e também as comunidades extrativistas, do estado do Maranhão, compostas em sua maioria por mulheres que cederam as amostras de babaçu.

REFERÊNCIAS

- [1] R. R. de Almeida, L. G. Lacerda, F. S. Murakami, G. Bannach, I. M. Demiate, C. R. Soccol, M. A. da S. C. Filho, E. Schnitzler, Thermal analysis as a screening technique for the characterization of babassu flour and its solid fractions after acid and enzymatic hydrolysis, *Thermochimica Acta*, **2011**, 519, 50–54.
- [2] A. P. Vieira, S. A. A. Santana, C. W. B. Bezerra, H. A. S. Silva, J. A. P. Chaves, J. C. P. Melo, E. C. S. Filho, C. Airoidi, Removal of textile dyes from aqueous solution by babassu coconut epicarp (*Orbignya speciosa*), *Chemical Engineering Journal*, **2011**, 173, 334-340.
- [3] É. C. D. Reipert, C. E. C. Rodrigues, A. J. A. Meirelles, Phase equilibria study of systems composed of refined babassu oil, lauric acid, ethanol and water at 303.2 K, *J. Chem. Thermodynamics*, **2011**, 43, 1784–1790.
- [4] M. P. Soler, E. F. Muto, L. Armiliato, R. M. Fukuzawa, Optimization of Shelling Technology for Babassu (*Orbignya speciosa*) Nut, *Journal of Food Science and Engineering*, **2013**, 3, 149-155.
- [5] L. R. de Oliveira, J. A. Neves, M. de J. M. da Silva, Avaliação da qualidade físico-química do óleo bruto da amêndoa de babaçu (*Orbignya spp*), *Comunicata Scientiae*, **2013**, 4 (2), 161-167.
- [6] D. S. Santos, I. G. Silva, B. Q. Araujo, C. A. Lopes Junior, N. B. N. Moncao, A. M. G. L. Cito, M. H. S. L. Souza, M. D. S. B. Nascimento, M. C. P. Costa, Extraction and Evaluation of Fatty Acid Composition of *Orbignya phalerata* Martius Oils (Arecaceae) from Maranhão State, Brazil. *J. Braz. Chem. Soc.*, **2013**, 24, 355-362.
- [7] B. A. Cinelli, J. A. Lopez, L. R. Castilho, D. M. G. Freire, A. M. Castro, Granular starch hydrolysis of babassu agroindustrial residue: A bioprocess within the context of biorefinery, *Fuel*, **2014**, 124, 41–48.
- [8] M. E. M. Ferreira, P. A. B. Costa, The Babassu as an Alternative Technology for Housing Construction. A Sustainable Development Approach, *Journal of Multidisciplinary Engineering Science and Technology*, **2014**, 1, 5.

- [9] J. A. López, C. da C. Lázaro, L. dos R. Castilho, D. M. G. Freire, A. M. de Castro, Characterization of multienzyme solutions produced by solid-state fermentation of babassu cake, for use in cold hydrolysis of raw biomass, *Biochemical Engineering Journal*, **2013**, 77, 231–239.
- [10] M. S. Leite, P. S. Alberto, F. P. Dionysus, F. S. Guimarães, *In vitro* cultivation of babassu embryos with different concentrations of sucrose and activated carbon, *Journal of Agricultural Technology*, **2014**, 10 (3), 705-716.
- [11] S. Germer, Development of near-surface perched water tables during natural and artificial stemflow generation by babassu palms, *Journal of Hydrology*, **2013**, 507, 262–272.
- [12] M. A. Teixeira, Babassu - A new approach for an ancient Brazilian biomass, *Biomass and Bioenergy*, **2008**, 32, 857 – 864.
- [13] CODEX ALIMENTARIUS (FAO/WHO). Codex Standard for Named Vegetable Oils, CODEX STAN 210 (Amended 2003). Codex Alimentarius, Roma, Itália, 2003.
- [14] BRASIL, Anvisa-Agência Nacional de Vigilância Sanitária, resolução RDC nº 482, de 23 de setembro de 1999, Disponível em: www.anvisa.gov.br. Acesso em: 01 de Março de 2009.
- [15] G. C. Machado, J. B. P. Chaves, R. Antoniassi, Composição em ácidos graxos e caracterização física e química de óleos hidrogenados de coco babaçu, *Revista Ceres*, **2006**, 53 (308), 463-470.
- [16] J. D. V. Carvalho, Cultivo de Babaçu e Extração do Óleo. Dossiê Técnico. Centro de Apoio ao Desenvolvimento Tecnológico da Universidade de Brasília – CDT/UnB. Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas – SBRT. Abril de 2007.
- [17] M. do C. L. Barbosa, E. Bouskela, F. Z. G. A. Cyrino, A. P. S. Azevedo, M. C. P. Costa, M. das. G. C. de Souza, D. S. Santos, F. L. Barbosa, L. F. A. Guerra, M. do D. S. B. Nascimento, Effects of babassu nut oil on ischemia/reperfusion-induced leukocyte adhesion and macromolecular leakage in the microcirculation: Observation in the hamster cheek pouch, *Lipids in Health and Disease*, **2012**, 11, 158.
- [18] M. H.S.L. Souza, C. A. Monteiro, P. M. S. Figueredo, F. R. F. Nascimento, R. N. M. Guerra, Ethnopharmacological use of babassu (*Orbignya phalerata* Mart.) in communities of babassu nut breakers in Maranhão, Brazil, *Journal of Ethnopharmacology*, **2011**, 133, 1–5.
- [19] R. S. Pessoa, E. L. França, E. B. Ribeiro, P. K. D. Lanes, N. G. A. Chaud, L. C. A. Moraes, A. C. H. França, Microemulsion of babassu oil as a natural product to improve human immune system function, *Drug Design Development and Therapy*, **2015**, 9, 21-31.
- [20] M. C. L. Barbosa, M. D. S. B. Nascimento, M. C. P. Costa, E. Bouskela, A. L. Câmara, Composição de solução oleosa e composições farmacêuticas na forma de cápsula contendo óleo do coco do babaçu como fator de proteção da microcirculação e como fonte energética segura para atletas de alto desempenho ou populações em estado de insegurança alimentar. 2013 Brasil. Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: BR1020130292435, Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial, Depósito: 05/11/2013; Em Domínio Público: 08/12/2015.
- [21] F. F. Silva, M. D. S. B. Nascimento, M. C. L. Barbosa, E. Bouskela, M. C. P. Costa, M. T. F. Fernandes, Composição alimentícia enriquecida com óleo não refinado do coco do babaçu. 2016, Brasil. Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: BR10201602684, Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial, Depósito: 17/11/2016.
- [22] D. S. Santos, J. P. F. Longo, R. B. de Azevedo, M. C. P. Costa, P. E. Narcizo, A. L. Camara, Nanoformulação antioxidante a partir do óleo do fruto de babaçu (*Orbignya phalerata* Martius) e seu processo de obtenção. 2016, Brasil. Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: BR10201601759, Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial, Depósito: 28/07/2016.
- [23] M.C. Pires Costa, A. L. Camara,; W. S. Cardoso, E. Ricci junior, E. P. Santos, L. H. A. Carmo, I. R. S. Vieira, J. S. Sales, C da L. Costa, D. S. Santos, M. J. C. Rodrigues, Processo de preparo de emulsões cosméticas o/a contendo óleo artesanal de babaçu (*Orbignya phalerata* Martius) do estado maranhão para aplicação tópica sob a forma de creme hidratante. 2014, Brasil. Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro:

BR1020140029125, Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial, Depósito: 06/02/2014; em Domínio Público: 08/12/2015.

[24] M. C. P. Costa, A. L. Camara, E. P. Santos, E. Ricci Junior, T. Hellmann, B. F. S. de Sousa, I. R. S. Vieira, C. dos S. Cerqueira, Fotoprotetor com óleo do babaçu. 2017, Brasil. Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: BR10201700225, Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial, Depósito: 02/02/2017.

[25] IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão (2009). Disponível em: <www.ibge.gov.br/cidadesat/default.php> acesso em 21/12/2009.

[26] O. Zenebon, N. Sadocco Pascuet, P. Tiglea, INSTITUTO ADOLFO LUTZ (São Paulo). Métodos físico-químicos para análise de alimentos/coordenadores; São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

[27] B. S. Ferreira, C. G. de Almeida, L. P. Faza, A. de Almeida, C. G. Diniz, V. L. da Silva, R. M. Grazul, M. L. Hyaric, Comparative Properties of Amazonian Oils Obtained by Different Extraction Methods, *Molecules*, **2011**, *16*, 5875-5885.

[28] L. R. Oliveira, S. F. Silva; M. J. M. Silva, L. F. M. Carvalho, Caracterização físico-química do óleo bruto de coco babaçu (*Orbignya phalerata* Mart.) comercializado na zona rural de José de Freitas-PI, II Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte Nordeste de Educação Tecnológica João Pessoa, PB 2007.

[29] D. Mitja, J.C.S. Silva, S.L. Melo, H.C. Filho, Biometria dos frutos e sementes de babaçu, Natividade-TO, Anais do IX Simpósio Nacional Cerrado, Desafios e estratégias para o equilíbrio entre sociedade, agronegócio e recursos naturais. Brasília: Embrapa Cerrados, 2008.

[30] M. J. F. Porto, Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica) Departamento de Engenharia Mecânica – Mestrado Profissional, Universidade Estadual de Campinas, São Luís, (2004) p.75.

Modificação química de sílica gel obtida de areia e seu uso na remoção de Cu^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+}

Elaine A. Faria¹, Alamir C. Batista Junior¹

Resumo: Neste trabalho foi obtida sílica gel a partir de uma fonte natural, a areia, modificada quimicamente com a incorporação em sua superfície de grupos básicos e aplicada na remoção de metais pesados (Cu^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+}) do meio aquoso. A sílica foi sintetizada usando areia e carbonato de sódio. Essa mistura foi colocada em um forno mufla a 850 °C, produzindo o Na_2SiO_3 que é solúvel a quente. Em seguida, o filtrado foi acidificado para a precipitação do SiO_2 , posteriormente foi feita a cloração da superfície da sílica e depois a incorporação dos grupos básicos (tetrametilguanidina). Esses materiais foram caracterizados por espectroscopia na região do infravermelho, difração de raios X e microscopia eletrônica de varredura. A quantidade de metais adsorvida foi determinada em um espectrômetro de absorção atômica, e todas as amostras foram analisadas em triplicata. Os resultados de adsorção foram ajustados ao modelo de Langmuir. O valor máximo da capacidade de adsorção foi de 3,4 mg g⁻¹ para o Cu^{2+} , 2,7 mg g⁻¹ para o Mn^{2+} , 2,5 mg g⁻¹ para o Zn^{2+} . O material produzido apresentou uma boa capacidade de remoção de metais pesados do meio aquoso. Com isso, pretendemos tornar mais acessível e mais barato o tratamento dos efluentes dos mais variados ramos da indústria química, proporcionando uma remoção mais efetiva dos diversos tipos de contaminantes lançados ao meio ambiente.

Palavras-chave: areia, sílica, adsorção, metais, tetrametilguanidina

Abstract: In this work, silica gel was obtained from a natural source, the sand, chemically modified with the incorporation on its surface of basic groups and applied in the removal of heavy metals (Cu^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+}) from the aqueous medium. The silica was synthesized using sand and sodium carbonate. This mixture was placed in a muffle at 850 °C, yielding the Na_2SiO_3 which is hot soluble, then the filtrate was acidified to the precipitation of SiO_2 , followed by chlorination of the silica surface, and then by the incorporation of the basic groups (tetramethylguanidine). The characterization of these materials was performed by infrared spectroscopy, X ray diffraction and scanning electron microscopy. The amount of adsorbed metal was determined by atomic absorption spectrometry, and all samples were analyzed in triplicate. The adsorption results were adjusted to the Langmuir model. The maximum adsorption capacity was 3.4 mg g⁻¹ for Cu^{2+} , 2.7 mg g⁻¹ for Mn^{2+} , 2.5 mg g⁻¹ for Zn^{2+} . The material produced had a good ability to remove heavy metals from the aqueous medium. With this, we aim to make the treatment of the most varied branches of the chemical industry more accessible and cheaper, providing a more effective removal of the different types of contaminants released to the environment.

Keywords: sand, silica, adsorption, metals, tetramethylguanidine

¹ Instituto Federal de Goiás – Campus Aparecida de Goiânia. Av. Universitária Vereador Wagner da Silva Ferreira, Qd-1, Lt 1-A – Parque Itatiaia. Aparecida de Goiânia-GO CEP: 74968-755.
Autora correspondente: faria.ea@gmail.com

INTRODUÇÃO

A areia é um material fundamental para qualquer tipo de construção. Esse material de origem mineral consiste em um conjunto de partículas de rochas degradadas, que se apresenta finamente dividido em grânulos ou granito e é formada principalmente por SiO_2 . A sílica pode ser cristalina ou amorfa e em sua estrutura química encontra-se o silício coordenado tetraedricamente a quatro átomos de oxigênio. A principal forma de ocorrência da sílica é a cristalina, porém diferentes fases podem ser encontradas dependendo das condições do meio, como temperatura, pressão e grau de hidratação¹.

Nos últimos anos, a sílica tem sido utilizada largamente em fases estacionárias para cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)², suporte na formação de novos materiais nanoestruturados^{2,3}; na imobilização de grupos funcionais para extração de íons de águas e efluentes^{5,6}; em encapsulamento e liberação controlada de fármacos⁷; aplicações catalíticas^{8,9} entre outras. A sílica tem também sido empregada no desenvolvimento de sensores químicos de alta sensibilidade e seletividade¹⁰ que associados às técnicas eletroanalíticas constituem uma área de pesquisa que produz avanços científicos significativos.

Com a ligação de diferentes espécies orgânicas na superfície da sílica, podemos obter compostos com maior versatilidade e com propriedades específicas¹¹. Dentre os compostos orgânicos de interesse, destacam-se neste artigo a tetrametilguanidina (TMG), que é uma base orgânica muito especial por apresentar em sua estrutura nitrogênio, que pode ser um excelente agente sequestrante de metais. Esses poluentes constituem uma das principais causas da poluição ambiental e são diariamente descartados em efluentes de diferentes indústrias¹².

Os problemas causados por uma substância tóxica estão associados à sua concentração no organismo independentemente do mecanismo de intoxicação. Em concentrações reduzidas, alguns cátions metálicos, ao serem descartados e alcançarem rios, se armazenam nos organismos vivos, tendo sua concentração grandemente aumentada nos tecidos dos seres vivos e se integram à cadeia alimentar do

ecossistema¹³. Para evitar a poluição de rios e mares é essencial tratar os efluentes antes de serem descartados nesses meios. Nesse quesito, ganha importância a sílica como um sólido poroso com propriedades químicas e físicas específicas que garantem uma diversidade de aplicações tecnológicas^{14,15}.

Nesta direção, a possibilidade de se obter a sílica gel a partir de uma fonte natural, a areia, com uma modificação química em que se produz um novo material capaz de interagir e remover metais pesados de água pode contribuir tanto para o ensino, formando profissionais qualificados, bem como para uma aplicação ambiental, ajudando a preservar o meio ambiente.

PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Produção da sílica a partir da areia

Uma mistura contendo 4,0 g de areia fina de construção e 8,0 g de carbonato de sódio foi colocada em um cadinho de porcelana e levada a um forno mufla a 850 °C durante 4 h. Ainda quente, esse material foi transferido para um filtro de placa sintetizada e lavado com água fervente. Ao filtrado foi adicionado HCl até pH 1, o que levou à formação de um precipitado. Esse precipitado foi separado por filtração e seco em estufa a 150 °C, resultando na ativação da sílica gel¹⁶.

Cloração da sílica com POCl_3

Após a ativação, a sílica gel foi adicionada a 50 mL de xileno mais 2,0 mL de POCl_3 . Esta reação ficou em temperatura de refluxo e agitação por 4 h. Após esse período, lavou-se o material com água e colocou-se em estufa a 130 °C¹⁶.

Ancoramento da tetrametilguanidina na superfície da sílica clorada

A sílica clorada, obtida na etapa anterior, foi suspensa com 1,0 mL de tetrametilguanidina e 50 mL de xileno. Essa mistura foi submetida à refluxo e sob agitação por 4 h. Em seguida, filtrou-se e lavou-se a mistura que foi seca em estufa a 150 °C. Esse produto foi denominado: SiTMG. Os resíduos de todas as

etapas de síntese foram encaminhados para incineração, a uma empresa especializada.

Caracterização dos materiais produzidos

A sílica produzida foi caracterizada por difração de raios X (DRX). Essa medida foi realizada em um difratômetro *Bruker D8 Discover* utilizando-se radiação monocromática de um tubo com anodo de cobre acoplado a um monocromador *Johansson* para $K\alpha_1$ operando em 40 kV e 40 mA, e a configuração Bragg-Brentano θ - 2θ , com detector unidimensional *Lynxeye®*, no intervalo em 2θ de 2° a 50° , com passo de $0,005^\circ$. As amostras foram mantidas em rotação de 15 rpm durante a medida para minimizar os efeitos de orientação preferencial.

As análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram realizadas em um microscópio eletrônico marca Jeol, modelo JSM-IT300 no modo SE (*Secondary Electrons*). Para as análises no MEV, uma pequena quantidade de cada amostra foi depositada sobre fita adesiva de carbono em um porta-amostra de alumínio e, em seguida, foi recoberta com ouro para torná-la condutora e possibilitar a análise no MEV. A caracterização dos materiais por espectroscopia na região do infravermelho foi obtida em um espectrofotômetro da Bruker Vertex 70. As amostras foram preparadas em pastilhas, com concentrações de aproximadamente 1% da amostra em KBr e os espectros foram adquiridos no intervalo espectral de $400 - 4000 \text{ cm}^{-1}$, com uma resolução de 4 cm^{-1} , sendo cada espectro o resultado da média de 64 medidas.

Estudos de remoção de Cu^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} pela sílica modificada com tetrametilguanidina

O processo de adsorção foi realizado em batelada sob agitação constante a 25°C por 12 h. Uma série de amostras contendo 50 mg de sílica modificada foi suspensa em $50,0 \text{ cm}^3$ de solução aquosa em pH neutro, contendo solução de Cu^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , com concentrações variando de 0,3 a 3 mg L^{-1} . As quantidades adsorvidas do contaminante foram determinadas por espectrofotômetro de absorção atômica da Perkim Elmer modelo Analyst – 200, e todas as amostras foram analisadas em triplicata.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A areia foi sintetizada com carbonato de sódio, e obteve-se o sólido Na_2SiO_3 , que é solúvel em água quente. A formação desse sólido ocorre pela Equação (1):



Após ser diluído em que silicato de sódio, o sólido reagiu com a água, foi filtrado e posteriormente foi acidificado até o pH 1 para que a sílica (SiO_2) precipitasse. O precipitado foi filtrado e seco em estufa a 150°C para secagem e ativação da sílica e para a desobstrução dos grupos silanois Si-OH, pois a hidratação impede a reatividade da sílica. Essa etapa da síntese apresentou um rendimento de 82%.

Na reação entre sílica gel ativada com POCl_3 ocorre a cloração da sílica, conforme descrito na parte experimental. Nessa reação ocorre a substituição dos grupos OH por Cl na superfície da sílica gel. Na sequência, a tetrametilguanidina foi imobilizada na superfície da sílica clorada para a obtenção do material quelante, vide Figura 1.

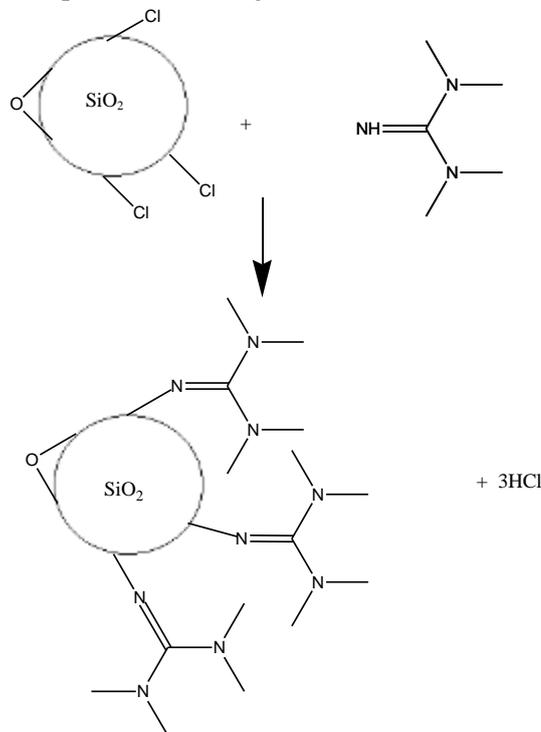
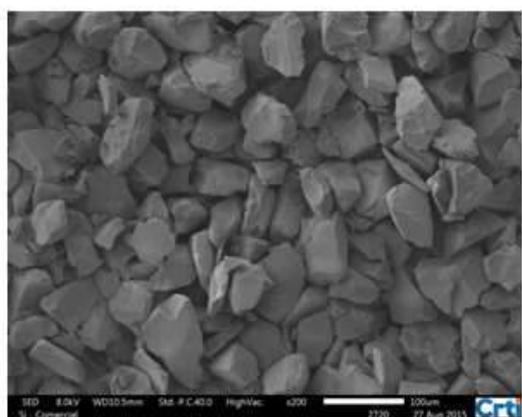
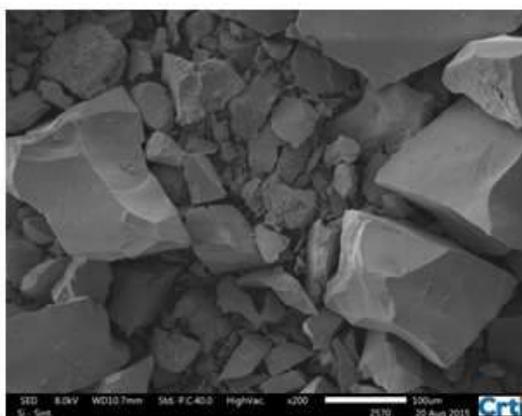


Figura 1: Representação esquemática da imobilização da tetrametilguanidina na superfície da sílica gel clorada.

O espectro de difração de raios X da sílica produzida é mostrado na Figura 2. O espectro mostra um pico em 2θ $22,5^\circ$, o que comprova a formação da sílica em sua forma amorfa¹⁷. Também foi analisada a morfologia superficial da sílica por MEV em que é possível observar que a sílica sintetizada a partir da areia apresenta morfologia bastante semelhante à sílica comercial (Figura 3), ambas apresentando estruturas amorfas.



A



B

Figura 2: Espectro de difração de raios X da sílica.

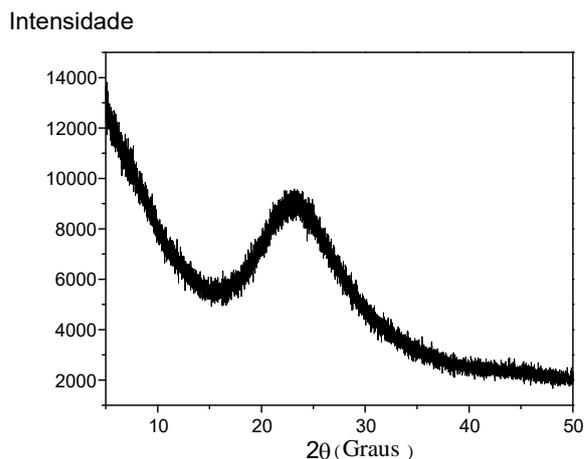


Figura 3: Imagens do MEV para sílica comercial (A) e para sílica sintetizada (B).

O espectro da sílica modificada com TMG, na região do infravermelho, encontra-se na Figura 4. Esse espectro mostra algumas bandas que são observadas também na sílica: uma banda larga e ampla entre $3600-3200\text{ cm}^{-1}$ atribuída à frequência de estiramento O-H dos grupos silanóis e de moléculas de água adsorvidas por ligações de hidrogênio; uma banda em 1650 cm^{-1} atribuída às vibrações angulares da água ligada ao esqueleto inorgânico; uma banda intensa na região de $1160-1040\text{ cm}^{-1}$ devida ao estiramento do siloxano (Si-O-Si), que confirma o esqueleto do suporte inorgânico; outra banda em 915 cm^{-1} atribuída ao estiramento assimétrico do grupo Si-OH. Esse espectro apresenta também uma banda característica em 2950 cm^{-1} atribuída ao estiramento C-H de carbono tetraédrico, que confirma o ancoramento da molécula de TMG na superfície da SiCl^{18} .

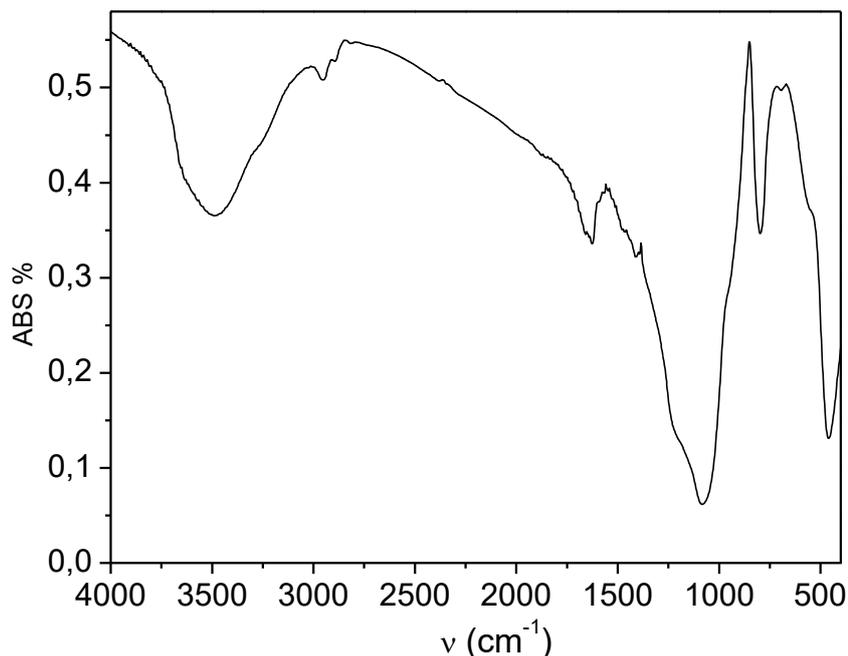


Figura 4: Espectro na região do infravermelho da sílica modificada com tetrametilguanidina.

Com a sílica produzida, caracterizada e modificada com TMG, foram feitos estudos de adsorção de Cu^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} em meio aquoso. Para esses estudos, as adsorções foram feitas em um período de 12 horas sob agitação constante em temperatura ambiente, com soluções dos metais com concentrações variando de 0,3 a 3 mg L^{-1} . A quantidade máxima em mol do metal adsorvido por grama (n_f) foi determinada usando a equação (2):

$$n_f = (C_o - C_e)V, \quad (2)$$

em que n_f é o número de mol adsorvido, C_o a concentração inicial do metal em mol L^{-1} , C_e a concentração no equilíbrio, V o volume de solução do metal usado e o M a massa do material adsorvente. A Figura 5 apresenta o gráfico de adsorção dos metais, na qual é possível observar que a presença de TMG na superfície da sílica atua como um bom complexante de metal, pois consegue adsorver uma boa quantidade do metal por grama do material adsorvente, sendo a ordem de eficiência: $\text{Cu}^{2+} > \text{Mn}^{2+} > \text{Zn}^{2+}$, o que comprova a grande eficiência do material produzido.

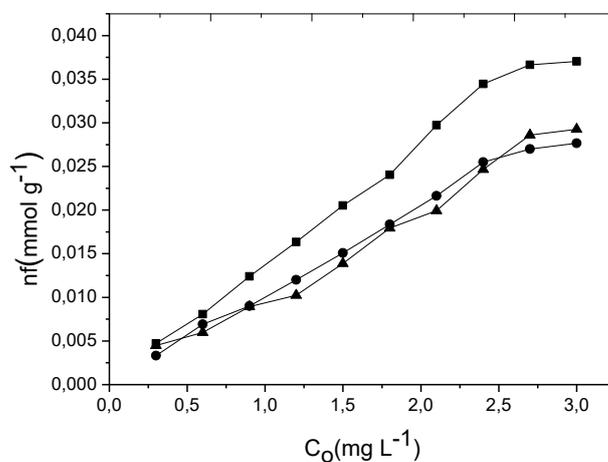


Figura 5: Curva de adsorção de Cu^{2+} (■), Zn^{2+} (●), Mn^{2+} (▲) em solução aquosa usando a SITMG.

A quantidade de um soluto adsorvido pela área do adsorvente em função da concentração de equilíbrio do soluto é a chamada isoterma de adsorção. Existe um grande número de isotermas que podem ser usadas para tratar os dados experimentais. Dentre elas, a isoterma de Langmuir é a mais

amplamente empregada para descrever isotermas para aplicação em tratamento de águas e efluentes¹⁹⁻²¹. Para determinar os parâmetros dessa isoterma foi utilizada a equação linearizada de Langmuir-Hinshelwood²²⁻²⁴:

$$\frac{Ce}{qe} = \frac{1}{q_m \cdot K_L} + \frac{1}{q_m} \cdot Ce \quad (3)$$

em que Ce é a quantidade dos metais no equilíbrio (mg L^{-1}) na solução, qe a quantidade do metal que foi adsorvido no equilíbrio (mg g^{-1}), K_L a constante de equilíbrio, q_m é a quantidade máxima que pode ser adsorvida em uma adsorção. As constantes de Langmuir (K_L e q_m) foram determinadas pela regressão linear da equação linearizada. Os resultados experimentais obtidos da regressão linear de cada curva foram $\text{Cu}^{2+} = 0,997$; $\text{Zn}^{2+} = 0,995$ e $\text{Mn}^{2+} = 0,998$. Esses resultados indicam que a equação linearizada de Langmuir-Hinshelwood e, portanto, a isoterma de Langmuir pode ser usada para descrever a adsorção desses cátions na superfície da sílica modificada e que essa adsorção parece ocorrer com formação de uma monocamada. Uma vez estabelecido o equilíbrio entre espécies químicas adsorvidas e em solução, o modelo de Langmuir assume²³: (a) ser constante o número de sítios com espécies adsorvidas na superfície; (b) cada sítio de adsorção é ocupado por

apenas uma espécie química; (c) o calor de adsorção não muda de um sítio a outro e independe do grau de cobertura da superfície; (d) não há interção lateral entre as espécies químicas adsorvidas. A velocidade de adsorção na superfície do substrato é maior do que a velocidade de qualquer reação química subsequente. Os valores das constantes K_L e q_m para metais Cu^{2+} , Zn^{2+} e Mn^{2+} , determinadas pelos gráficos de regressão linear da Figura 6 estão listados na Tabela 1.

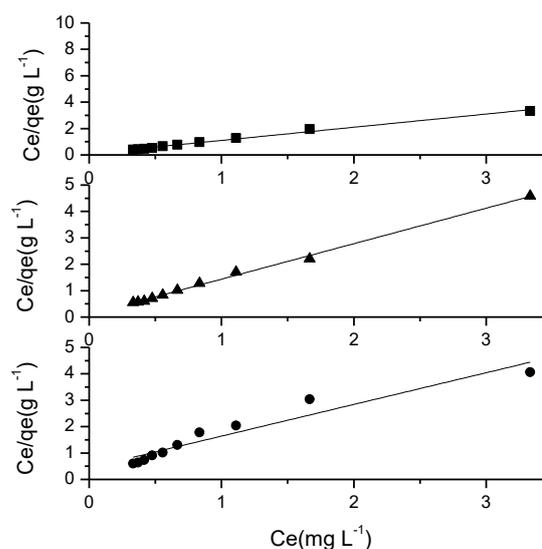


Figura 6: Cinética de degradação de Langmuir-Hinshelwood para os metais Cu^{2+} (■), Zn^{2+} (●), Mn^{2+} (▲).

Tabela 1. Dados referentes aos valores das constantes de adsorção e degradação dos metais

metais	$q_m/\text{mg g}^{-1}$	$K_L/\text{L mg}^{-1}$	R_L
Cu^{2+}	3,4	1,3	0,5
Zn^{2+}	2,5	1,2	0,6
Mn^{2+}	2,7	1,2	0,5

O parâmetro R_L de Langmuir é uma constante adimensional, conhecida como fator de separação, que pode ser utilizada para determinar se o processo de adsorção dos íons metálicos estudados na SiTMG é

favorável ou não ($0 < R_L < 1$). Esse parâmetro é calculado pela equação (4)²⁵:

$$R_L = \frac{1}{1 + K_L C_0} \quad (4)$$

Os resultados experimentais indicam que a adsorção desses cátions ocorre de forma favorável e os parâmetros de Langmuir encontrados mostram que a adsorção segue a ordem: $\text{Cu}^{2+} > \text{Mn}^{2+} > \text{Zn}^{2+}$.

CONCLUSÕES

Os resultados mostram que a produção de sílica usando uma fonte natural, a areia, pode ser facilmente realizada e apresenta um excelente rendimento (82%).

REFERÊNCIAS

- [1] B. S. Mitchell, An introduction to materials engineering and science: For chemical and materials engineers, Wiley & Sons, New York, (2004).
- [2] R. B. Silva, C. R. Silva, C. Airoidi, C. H. Collins, I. C. S. F. Jardim, Preparation and characterization of a new HPLC C18 reversed phase containing thiocarbamate groups, *Microchem.*, **2006**, 82, 150-158.
- [3] A. Sargsyan, A. Tonoyan, S. Davtyan, C. Schick, The amount of immobilized polymer in PMMA SiO₂ nanocomposites determined from calorimetric data, *Eur. Polym. J.*, **2007**, 43, 3113-3127.
- [4] P. S. Gouveia, M. T. Escote, E. Longo, E. R. Leite, N. L. V. Carreño, F. C. Fonseca, R. F. Jardim, Síntese e Caracterização de Nanocompósitos Ni:SiO₂ Processados na Forma de Filmes Finos, *Quim. Nova*, **2005**, 28, 842-846.
- [5] W. Ngeontae, W. Aeungmaitrepirom, T. Tuntulani, Chemically modified silica gel with minothioamidoanthraquinone for solid phase extraction and preconcentration of Pb(II), Cu(II), Ni(II), Co(II) and Cd(II), *Talanta*, **2007**, 71, 1075-1082.
- [6] E. F. C. Alcântara, E. A. Faria, D. V. Rodrigues, S. M. Evangelista, E. de Oliveira, L. F. Zara, D. Rabelo, A. G. S. Prado, Modification of silica gel by attachment of 2-mercaptobenzimidazole for use in removing Hg(II) from aqueous media: A thermodynamic approach, *J. Colloid Interface Sci.*, **2007**, 311, 1-7.
- [7] J. Zhou, W. Wu, D. Caruntu, M. H. Yu, A. Martin, J. F. Chen, C. J. O'Conno, W. L. Zhou, Synthesis of Porous Magnetic Hollow Silica Nanospheres for Nanomedicine Application, *J. Phys. Chem. C*, **2007**, 111(47), 17473-17477.
- [8] G. Fan, J. Huang, Z. Li, T. Li, G. Li, Palladium complexes anchored on silica functionalized by 1,2-diaminocyclohexane: Preparation and catalytic application, *J. Mol. Catal.*, **2007**, 267, 34-40.
- [9] K. Eskandari, B. Karami, M. Farahi, V. Mouzari, Silica sodium carbonate catalyzed in water synthesis of novel benzylbarbiturocoumarin derivatives, *Tetrahedron Letters*, **2016**, 57, 487-491.

A utilização dessa nova sílica para produzir um novo sólido com grupos básicos de Lewis foi realizada com sucesso, assim como todas as etapas dessa síntese, e o novo sólido produzido apresentou uma atividade de adsorção considerável para a remoção de metais pesados.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Edital PROAPP 06/2014 do IF – Câmpus Aparecida de Goiânia.

- [10] C. R. T. Tarley, M. D. P. T. Sotomayor, L. T. Kubota, Polímeros Biomiméticos em Química Analítica. Parte 2: Aplicações de MIP ("Molecularly Imprinted Polymers") no Desenvolvimento de Sensores Químicos, *Quím. Nova*, **2005**, *28*, 1087-1101.
- [11] P. Gupta, V. Kumar, S. Paul, Silica Functionalized Sulfonic Acid Catalyzed One-Pot Synthesis of 4,5,8a-Triarylhexahydropyrimido[4,5-d]pyrimidine-2,7(1H,3H)-diones under Liquid Phase Catalysis, *J. Braz. Chem. Soc.*, **2010**, *21*, 349-354.
- [12] F. F. Sodre, E. Lenzi, Applicability of adsorption models to the study of copper behaviour in clayey soils, *Quim. Nova*, **2001**, *24*, 324-330.
- [13] M. R.M. P. A. Aguiar, C. Novaes, A. W. S. Guarino, Remoção de Metais Pesados de Efluentes Industriais por Aluminos-silicatos, *Quim. Nova*, **2002**, *25*, 1145-1154.
- [14] E. Deoliveira, A. G. S. Prado, Ethylenediamine attached to silica as an efficient, reusable nanocatalyst for the addition of nitromethane to cyclopentenone. *J. Chem. Catal. A.*, **2007**, *271*, 64-70.
- [15] E. C. Silva Filho, A. W. M. Fortes, L. S. Reis, M. R. M. C. Santos, L. S. Santos Junior, M. G. Fonseca, Sorption of lead on modified silica obtained from chrysotile: isotherms application, *Comunicata Scientiae*, **2010**, *1*, 15-21.
- [16] A. G. S. Prado, E. A. Faria, P. M. Padilha, Aplicação e modificação química da sílica gel obtida de areia, *Quim. Nova*, **2005**, *28*, 544-547.
- [17] S. P. B. Lima, R. P. Vasconcelos, O. A. Pariva, G. C. Cordeiro, M. R. Chaves, Production of silica gel from residual rice husk ash, *Quim. Nova*, **2011**, *34*, 71-79.
- [18] E. A. Faria, H. F. Ramalho, J. S. Marques, P. A. Z. Suarez, A. G. S. Prado, Tetramethylguanidine covalently bonded onto silica gel surface as an efficient and reusable catalyst for transesterification of vegetable oil *Applied Catal.*, **2008**, *338*, 72-78.
- [19] L. A. Rodrigues, M. L. C. P. da Silva, Estudo da adsorção de íons fosfato em matriz inorgânica *Cerâmica*, **2008**, *54*, 92-99.
- [20] P. H. F. Pereira, M. L. C. P. Silva, Estudo da adsorção de surfactante catiônico em uma matriz inorgânica preparada via óxido de nióbio, *Cerâmica*, **2009**, *55*, 312-317.
- [21] Rodrigues, L.A., Silva, M.L.C.P., Adsorção de íons fosfato em óxido de nióbio hidratado, *Quim. Nova*, **2009**, *32*, 1206-1211.
- [22] A. Hagfeldt, M. Gratzel, Light-Induced Redox Reactions in Nanocrystalline Systems, *Chem. Rev.*, **1995**, *95*, 49-68.
- [23] M. A. Fox, M. T. Dulay, Heterogeneous Photocatalysis And Its Environmental Applications a Fotocatálise Heterogênea e sua Aplicação Ambiental, *Chem. Rev.*, **1993**, *93*, 341-353.
- [24] M. R. Hoffmann, S. T. Martin, W. Choi, D. W. Bahnemann, Environmental Applications of Semiconductor Photocatalysis, *Chem. Rev.*, **1995**, *95*, 69-78.

[25] G. L. Dotto, M. L. G. Vieira, J. O. Gonçalves, L. A. A. Pinto, Remoção dos corantes azul brilhante, amarelo crepúsculo e amarelo tartrazina de soluções aquosas utilizando carvão ativado, terra ativada, terra diatomácea, quitina e quitosana: estudos de equilíbrio e termodinâmica, *Quim. Nova*, **2011**, *34*, 1193-1199.

Eclética Química Journal

Original research publication in all aspects of Chemistry
homepage: <http://revista.iq.unesp.br/ojs/index.php/eletica/>
ISSN 1678-4618

| Vol. 41 | 2016 |

Geometria de equilíbrio da molécula de Azadiracthin através de métodos semiempíricos e *Ab initio* em comparação com os dados experimentais fornecidos pela difração de raios X

Daniel A. B. de Oliveira¹, Yagly G. dos Santos Gomes¹

Resumo: A azadiractina é uma molécula com múltiplas aplicações biológicas no combate de pragas e no tratamento de doenças em humanos. Por essa razão, o estudo da geometria deste tipo de estrutura molecular é essencial para o entendimento dos processos bioquímicos nos quais ela está envolvida. O estudo de geometrias de equilíbrio é realizado com o auxílio de aproximações quânticas que conseguem determinar estruturas de menor estado energético. A importância desse tipo de trabalho é verificada quando há reprodutibilidade dos dados experimentais pelos cálculos quânticos. Nesse trabalho foram realizados cálculos de estrutura eletrônica com diferentes aproximações para tentar reproduzir os dados de difração de raios X. O método semiempírico PM6 foi aquele que mostrou maior reprodutibilidade dos dados experimentais. Esse resultado otimiza ainda a relação entre esforço computacional e reprodutibilidade de dados, pois o método semiempírico PM6 é sabidamente mais barato computacionalmente que aqueles ditos que foram usados neste trabalho.

Palavras-chave: Azadiractina, *Ab initio*, Semiempírico, PM6

Abstract: The azadiracthin is a molecule with many biological applications in the pest control and in the treatment of human diseases. For this reason the geometry study of this molecular structure is essential to understand the biochemical process which it is involved. The study of equilibrium geometries was performed with the aid of quantum mechanics approach that can determine the structures with the least energetic state. The importance of this kind of study is verified when there is experimental data reproducibility by quantum calculations. In this work it was performed calculations of electronic structure with different approaches in order to try reproducing the experimental data base in X ray. The PM6 semi-empirical method was that showed the highest reproducibility of the experimental data. This result optimized yet the relation between computational cost and the good data reproducibility, because it is known that the PM6 semi-empirical method has the computationally less cost that the *ab initio* approaches that were used in this study.

Keywords: Azadiracthin, *Ab initio*, Semi-Empirical, PM6

¹ Fundação Universidade Federal do Tocantins. Campus Universitário Araguaína. Rua Paraguaia S/N 77838-824 - Araguaína, TO
E-mail: danielchem@uft.edu.br

INTRODUÇÃO

O uso de plantas com aplicabilidade medicinal tem crescido nos dias atuais. Dentre aquelas com potencial medicamentoso e repelente se destaca o Neem, que é uma árvore de origem asiática e que hoje se encontra difundida em países de clima tropical. O seu óleo apresenta ação repelente contra o mosquito *Aedes Aegypti* com duração de vários minutos a depender das condições físico-químicas. O uso combinado do óleo com outros repelentes e inseticidas conhecidos no mercado pode melhorar a sua atividade biológica¹. É sabido na literatura que o óleo de Neem apresenta propriedades antifúngicas², e que parte dos seus compostos bioativos está sendo estudados como potenciais fármacos para o tratamento e prevenção do câncer². Aplicações antimaláricas têm sido descritas na literatura recente³.

A extração do Neem usando um solvente polar como a água permite a obtenção de quantidades de moléculas bioativas suficiente para o controle de pragas⁴. Ensaio biológicos demonstraram que as moléculas bioativas presentes no extrato de Neem, como a azadiractina, nibina e 6-desacetilnibina inibem a atividade da enzima 20-monooxigenase, que está relacionada à ecdise em insetos⁵. Estudos mostram ainda a aplicabilidade do óleo de Neem no combate ao vírus da Dengue tipo 2⁶.

A separação de cada composto com potencial biológico do óleo de Neem foi realizada utilizando a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência. Destas moléculas a mais representativa é a Azadiractina. No extrato obtido do fruto desta árvore encontram-se oito tipos de azadiractina A,B,C,D,E,F,G e I⁷. A azadiractina A possui ampla aplicação na inibição do crescimento de insetos, bem como pode ser usada como inseticida natural tendo a vantagem de ser uma molécula biodegradável. Na literatura consta ainda que esta molécula pode ter propriedades inflamatórias, antifúngicas bem como pode ser utilizada no tratamento de neoplasias⁸.

Devido a sua ampla utilidade em diferentes tipos de doenças em humanos e animais, Ley e colaboradores propuseram uma síntese completa

dessa molécula, que perdurou 22 anos na universidade de Cambridge⁹. A demora na síntese desta molécula foi resultado da presença de 16 carbonos assimétricos na estrutura da molécula, que pode apresentar conformações de equilíbrio complexas.

Estudos conformacionais são de fundamental importância para a construção e aplicação de possíveis inibidores, pois a inibição de biomoléculas se dá pela complementariedade estrutural do inibidor com o sítio catalítico do alvo enzimático¹⁰. Tendo em vista a relação estrutura e atividade da molécula azadiractina, Baldone e colaboradores realizaram uma análise quantitativa multidimensional a fim de determinar geometrias de equilíbrio, que ajudariam no entendimento do comportamento da molécula de azadiractina. Nesse trabalho foram computados ângulos diedros e distância entre átomos das estruturas de equilíbrio usando o método AM1¹¹.

Estudos teóricos recentes¹⁵ utilizando a distribuição de Boltzman com o método Monte Carlo para a procura de geometrias de equilíbrio associados com cálculos de estrutura eletrônica com funcionais híbridos, foram comparados com aqueles provenientes de dados experimentais¹³, refinando desse modo os resultados de Baldone e colaboradores¹¹. Esses estudos mostram o interesse crescente em elucidar a geometria da molécula azadiractina com mais acurácia em relação aos dados experimentais. Entretanto, como são métodos mais refinados demandam maior custo e tempo computacional.

No que tange ao estudo de geometrias de equilíbrio deve-se otimizar a relação esforço computacional com a reprodutibilidade de dados experimentais, como aqueles provenientes de técnicas espectroscópicas. Em busca da relação entre esforço computacional e qualidade dos métodos de cálculo de estrutura eletrônica, foram obtidas estruturas de equilíbrio utilizando aproximações semiempíricas (PM6, AM1, PM3, PM3/MM) e aquelas provenientes de cálculos estritamente quânticos com funcionais de densidade e o método Hartree-Fock, e pós Hartree-Fock MP2. Nossos resultados de distância de ligação entre átomos de carbono e oxigênio, utilizando o método semiempírico PM6, mostram que o método

reproduz de maneira satisfatória os dados experimentais de difração de raios X, embora não sejam observadas a mesma correlação em relação aos ângulos diedros. Estes resultados poderão ser utilizados em futuros estudos de *docking* molecular e SAR (Relação Estrutura e Atividade) com alvos enzimáticos específicos⁵.

PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

A estrutura da molécula de azadiractina foi desenhada no programa HYPERCHEM¹³. Em uma etapa posterior, a estrutura molecular foi otimizada utilizando os seguintes cálculos de estrutura eletrônica: semiempíricos, (PM6, AM1, PM3, PM3/MM), Teoria do Funcional de Densidade (B3LYP/STO-3G, B3LYP/6-31g) e *ab initio* (HF/STO-3G, HF/6-31G, MP2/6-31G). Estes cálculos foram realizados no programa Gaussian 2009¹⁴. Os dados resultantes dos cálculos de estrutura eletrônica foram correlacionados com os dados experimentais de difração de raios X da literatura¹². As distâncias de ligação obtidas com cálculos de estrutura eletrônica foram correlacionadas com aquelas obtidas experimentalmente com a técnica de difração de raios X. Os ângulos diedros obtidos teoricamente também foram correlacionados com os dados experimentais. Para efeito comparativo com os dados do experimento, os átomos foram numerados conforme a Figura 1¹². A escolha da numeração objetivou seguir o *modus operandi* do artigo que contém os dados experimentais¹². O coeficiente de correlação *r* foi utilizado como medida de acurácia dos métodos testados. A confirmação dos mínimos energéticos obtidos foi feita pelo cálculo das frequências.

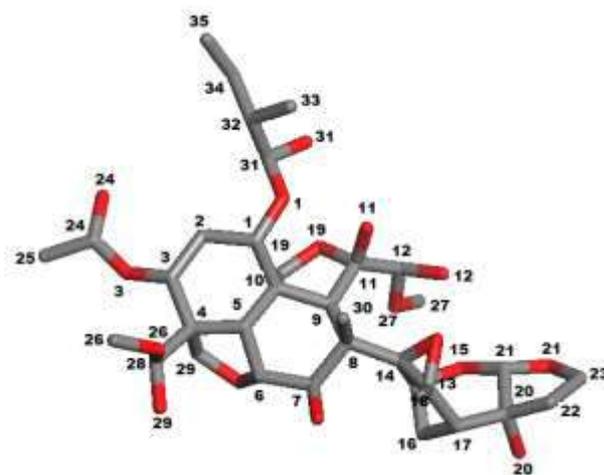


Figura 1. Molécula de azadiractina com os átomos numerados para computação das distâncias e ângulos diedros.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Comparação com os dados experimentais

Os resultados inerentes às otimizações com diferentes métodos são mostrados na Tabela 1, que diz respeito às distâncias de ligação.

O método semiempírico PM6 apresentou maior correlação com os dados experimentais com um coeficiente de correlação *r* igual 0,91 conforme Tabela 1. Os métodos semiempíricos AM1, PM3 e PM3/MM apresentaram coeficientes de correlação bem próximos com uma ligeira vantagem para o método AM1, que apresentou *r*=0,84 enquanto os demais apresentaram um valor de *r*=0,82. Os métodos *ab initio* Hartree-Fock e MP2 exibiram baixa reprodutibilidade dos dados com coeficientes de correlação variando entre 0,80 para o método HF com a função de base STO-3G e *r*=0,67 para o método HF combinado com o funcional 6-31G e o método pós Hartree-Fock MP2 combinado com funcional 6-31G. O funcional B3LYP apresentou melhor correlação com os dados experimentais quando foi utilizado o funcional STO-3G com correlação igual a **0,70**. Uma ligeira piora no coeficiente de correlação (*r*=0,67) é observada com o uso da função de base 6-31G para o funcional B3LYP. Esses resultados demonstram a vantagem do uso do método semiempírico PM6 na descrição da estrutura da molécula de azadiractina. A vantagem então está no baixo custo computacional do método PM6 aliada com a boa reprodutibilidade das distâncias de ligação.

Tabela 1. Distâncias de ligação calculadas teoricamente

O...O Distância Angstroms	PM6	AM1	PM3	P3MM	HF- STO3 G	B3LYP (sto-3G)	MP2 6- 31g	HF- 6- 31G	B3L YP- 6- 31G	EXP ¹³
21 -15	2,25	2,21	2,16	2,16	2,32	2,4	2,29	2,29	2,33	2,27
21-13	4,49	4,45	4,47	4,47	4,51	4,5	4,23	4,12	4,2	5,39
15-13	3,15	3,13	3,17	3,17	3,16	2,84	2,62	2,62	2,69	3,62
13-19	6,09	5,78	6	6	5,87	5,52	5,11	5,07	5,19	5,9
13- 6	5,82	5,78	6,01	6,01	6,1	6,07	6	5,98	6,05	5,08
19- 6	5,67	4,55	4,6	4,6	4,48	4,38	4,44	4,41	4,43	5,76
7- 6	2,51	2,51	2,53	2,53	2,35	3,72	3,53	3,54	3,58	2,96
11- 12	2,5	2,55	2,6	2,6	2,58	2,62	2,59	2,6	2,64	2,65
r	0,91	0,84	0,82	0,82	0,80	0,70	0,68	0,67	0,67	

No que se refere aos ângulos diedros, não há boa concordância para nenhum dos métodos de cálculo de estrutura eletrônica utilizados, conforme pode ser visualizado na Tabela 2. Alguns ângulos particulares são reproduzidos pelos métodos quânticos, outros mostram demasiada discordância com os métodos experimentais. Para o diedro associado aos átomos C18-C13-C14-C15 verifica-se uma boa concordância do funcional B3LYP com a função de base 6-31G com os dados experimentais. Para o funcional B3LYP o diedro calculado é de 153,18° enquanto no experimento é de 157,95°. Outro ângulo diedro que apresenta boa correlação com os dados experimentais é aquele associado aos átomos C13-C14-C15-C16. O método MP2 (29,9° apresenta melhor correlação com os dados experimentais 29,77°), seguido dos métodos HF (28,4°) com a função de base 6-31G e o método semiempírico AM1 e o funcional de densidade B3LYP com a função de base 6-31G. Para ambos o diedro obtido foi de 28,2°. Neste

ponto não é observada correlação entre o método de cálculo de estrutura eletrônica e a qualidade dos resultados quando comparados aos dados experimentais, havendo como já citado ligeiras concordâncias e muitas discordâncias com os métodos experimentais de difração de raios X. Em vista dos resultados há uma evidente vantagem do método semiempírico PM6 concernente à reprodução de dados de distâncias de ligação para a molécula de azadiractina. Porém, a reprodutibilidade dos dados de ângulos diedros para a molécula Azadiractina não pode ser confiada a uma otimização com cálculos de estrutura eletrônica. Esse problema se dá pelos elevados graus de liberdade conformacional existente na molécula de Azadiractina, o que pode levar como consequência a uma complexa superfície de potencial energético com diversos mínimos energéticos que é demasiada complexa para ser explorada.

Tabela 2. Ângulos diedros obtidos por diversos métodos de cálculo de estrutura eletrônica comparados com os dados provenientes da difração de raios X

Ângulo Diedro	PM6	AM1	PM3	P3MM	HF- STO3G	B3LYP (STO- 3G)	MP2 6-31g	HF-6- 31G	B3LYP- 6-31G	EXP. ¹³
O6-C6-C7-O7	-127,3	-127,9	-121,8	-121,8	-125,4	-36,9	-123,3	-125,7	125,2	59,2
C7-C8-C14- C13	-80,2	-82,9	-96,6	-96,6	-83,6	-69,6	-88	-85,3	-84,6	- 110,52
C7-C8-C14- C15	66,9	63	46	46	62	74,4	57,8	62,5	60,9	89,3
C13-C14-C15- C16	25,3	28,2	31	31	28,8	24,6	29,9	28,4	28,2	29,77
O13-C14-C15- O15	-30,4	-28,3	-27,5	-27,5	-29,6	-33,7	-26,3	-25,5	-25,6	-147,8
O13-C13-C17- C16	-90,9	-88,2	-89,4	-89,4	-89,5	-93,7	-90,2	-91,3	-91,8	39,39
C13-C17-C20- C22	175,9	176,7	179	179	171,3	169,3	174	174	173,6	- 177,48
C4-C5-C6-O6	45,7	44,5	42,6	42,6	47,3	50,6	47,9	46,3	48,1	39,74
C10-C9-C11- O19	-32,8	-28,8	-30,5	-30,5	-32,1	-34,1	-30	-31,4	-32,5	14,96
O7-C7-C8- C30	-48,4	-43,9	-51	-51	-47,8	-39,7	-50,6	-49,8	-50,4	- 173,11
O20-C20-C22- C23	-114,7	-116,5	-177	-177	-121,9	-125,5	-114,1	-113,1	112,9	- 108,37
C18-C13-C14- C15	-149,5	-151,8	-149,7	-149,7	-151,1	-143,8	-154,8	-154,7	153,8	157,95
O7-C7-C8-C9	-168,5	-164,6	-170	-170	-169,1	-159,9	-171	-170,1	170,9	62,6
O11-C11-C12- O12	-14,6	-11,2	-2,9	-2,9	-12	-17	-14,1	-17,8	-13,7	-24,71

CONCLUSÕES

Os resultados de cálculos de estrutura eletrônica demonstraram que há uma vantagem no uso do método semiempírico PM6 para a reprodução de distâncias de ligação na molécula de azadiractina. A

vantagem se dá pela boa correlação com os dados experimentais de difração de raios X e pelas características do método que possui menor custo computacional quando comparado aos cálculos *ab initio* e de funcional de densidade. Dessa forma o uso do método semiempírico é altamente recomendável

para o tratamento desse tipo de problema. O mesmo não ocorre com a reprodução dos ângulos diedros. Há concordâncias de alguns métodos com alguns ângulos pontuais e discordância na maior parte dos resultados.

Esse problema pode ser decorrente da complexa superfície energética da molécula de azadiractina.

REFERÊNCIAS

- [1] Y. Mukesh, P. Savitri, R. Kaushik, N. P. Singh, Studies on repellent activity of seed oils alone and in combination on mosquito, *Aedes aegypti*, *Journal of Environmental Biology.*, **2014**, *35*, 917-922.
- [2] F. Hao, S. Kumar, N. Yadav, D. Chandra, Neem components as potential agents for cancer prevention and treatment, *Biochimica et Biophysica Acta-Reviews on Cancer.*, **2014**, *1846*, 247-257.
- [3] E. Innocent, A. Hassanali, W. N. W. Kisinza, P. P. P. Mutalemwa, S. Magesa, E. Kayombo, *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine.*, **2014**, *10:56*, 1-11.
- [4] T. R. Govindachari, G. Gopalakrishnan, G. Suresh, Triterpenoidal constituents of an aqueous extract from neem kernels, *Fitoterapia*, **1999**, *70*, 558-560.
- [5] M. J. Mitchell, S. L. Smith, S. Johnson, E. D. Morgan, Effects of the neem tree compounds azadirachtin, salannin, nimbin, and 6-desacetylnimbin on ecdysone 20-monooxygenase activity, *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, **1997**, *35*, 199-209.
- [6] M. M. Parida, C. Upadhyay, G. Pandya, A. M. Jana, Inhibitory potential of neem (*Azadirachta indica* Juss) leaves on Dengue virus type-2 replication. *J. Ethnopharmacol.*, **2002**, *79*, 273-278.
- [7] S. V. Ley, A. A. Denholm, A. Wood, *The chemistry of azadirachtin*, *Natural Product Reports.*, **1993**, *10*, 109-109.
- [8] F. Ricci, V. Berardi, G. Risuleo, Differential Cytotoxicity of MEX: a Component of Neem Oil Whose Action Is Exerted at the Cell Membrane Level, *Molecules.*, **2009**, *14*, 122-132.
- [9] S. V. Ley, A. Abad-Somovilla, J. C. Anderson, C. Ayats, R. Banteli, E. Beckmann, A. Boyer, M. G. Brasca, A. Brice, H. D. Broughton, B. J. Burke, E. Cleator, D. Craig, A. A. Denholm, R. M. Denton, T. Durand-Reville, L. B. Goob, M. Gobel, B. L. Gray, R. B. Grossmann, C. E. Gutteridge, N. Hahn, S. L. Harding, L. Jennens, P. J. Lovell, P. J. Loveell, H. J. Lovell, M. L. De La Puente, H. C. Kolb, W.-J. Koot, C. F. McCusker, A. Mattes, A. R. Pape, A. Pinto, D. Santafianos, J. S. Scott, S. C. Smith, A. Q. Somers, C. D. Spilling, F. Stelzer, P. L. Toogood, R. M. Turner, G. E. Veitch, A. Wood, C. Zumbunn, *Chemical European Journal*, **2008**, *14*, 10683-10704.
- [10] S. Kortagere, M. D. Krasowski, S. Ekins, The importance of discerning shape in molecular pharmacology, *Trends in Pharmacological Sciences*, **2009**, *30*, 138-147.

- [11] H. A. Baldoni, R. D. Enriz, I. G. Csizmadia, Quantitative multidimensional conformational analysis of azadirachtin *Journal Molecular Structure.*, **1999**, *463*, 251-270.
- [12] V. Kabaleswaram, S. S. Rajan, T. R. Govindachari, G. Gopalakrishnam, Crystal and molecular structure of Azadirachtin-A, *Current Science*, **1994**, *66*, 362-364.
- [13] HyperChem(TM) Professional 7.51, Hypercube, Inc., 1115 NW 4th Street, Gainesville, Florida 32601, USA.
- [14] M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, X. Li, M. Caricato, A. Marenich, J. Bloino, B. G. Janesko, R. Gomperts, B. Mennucci, H. P. Hratchian, J. V. Ortiz, A. F. Izmaylov, J. L. Sonnenberg, D. Williams-Young, F. Ding, F. Lipparini, F. Egidi, J. Goings, B. Peng, A. Petrone, T. Henderson, D. Ranasinghe, V. G. Zakrzewski, J. Gao, N. Rega, G. Zheng, W. Liang, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, K. Throssell, J. A. Montgomery, Jr., J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J. J. Heyd, E. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, T. Keith, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, J. M. Millam, M. Klene, C. Adamo, R. Cammi, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, O. Farkas, J. B. Foresman, and D. J. Fox, **Gaussian Program**, Inc., Wallingford CT, 2016.
- [15] E. A. S. de Castro, D. A. B. de Oliveira, S. A. S. Farias, R. Gargano, J. B. L. Martins, Structure and electronic properties of azadirachtin, *Journal of Molecular Modeling*, **2014**, *20*:2084, 1-7.

Eclética Química Journal

Original research publication in all aspects of Chemistry
homepage: <http://revista.iq.unesp.br/ojs/index.php/ecletica/>
ISSN 1678-4618

| Vol. 41 | 2016 |

Tratamento de efluente de indústria de processamento de batata por processo foto-Fenton heterogêneo utilizando ferrita de pilhas descartadas

Hellen L. de Castro e Silva, Flávio S. Silva, Rossano Gimenes, Márcia M. Kondo, Milady R. A. da Silva¹

Resumo: Este trabalho trata da degradação do efluente de uma indústria de processamento de batatas da região de Itajubá (MG), que é um polo de batata processada. A escolha desse efluente baseia-se no fato de empresas da região estarem em busca de um destino final mais adequado para esse tipo de rejeito. Apesar de não tóxico, se este tipo de efluente não for tratado corretamente, pode contribuir para o desaparecimento de nascentes, aparecimento de odor desagradável nos rios e danos à fauna e à flora local. O presente estudo possui como finalidade avaliar se a ferrita de pilha é eficaz no tratamento de efluente de indústria de processamento de batatas. Dessa forma, utilizaram-se diferentes catalisadores: $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ e Ferrita, diferentes concentrações H_2O_2 (15 e 30 mmol L^{-1}) com presença e ausência de radiação solar em diferentes tempos de tratamentos do efluente de batata com valor de pH ajustado em 2,5. Obteve-se uma eficiência de aproximadamente 32% de mineralização dos compostos orgânicos do efluente durante os primeiros dez minutos, evidenciando a eficácia da ferrita como catalisador do processo, além de mudanças significativas na cor do efluente (deixando-o transparente) e eliminação do cheiro fétido. Além disso, as ferritas puderam ser recuperadas ao final do processo pela aplicação de um campo magnético, evitando dessa forma, a liberação de catalisador no efluente e permitindo o seu reuso.

Palavras-chave: Processos Oxidativos Avançados. Processo foto-Fenton heterogêneo. Efluente de processamento de batatas. Ferrita. Tratamento de efluente.

Abstract: This work deals with the degradation of effluent of a potato processing industry from Itajubá (MG) region, which is a processed potato pole. The choice of this effluent is based on the fact that companies in the region are in search of a final destination more suitable for this type of waste which causes damage to fauna and flora. Although not toxic, if this type of effluent is not treated correctly it can contribute to the disappearance of springs, the appearance of unpleasant odors in the rivers and damage to the local fauna and flora. The present study has the purpose to evaluate if the battery ferrite is effective in the treatment of effluent of the potato processing industry. Therefore, different catalysts were used: $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ and Ferrite, different H_2O_2 (15 and 30 mmol L^{-1}) concentrations with and without solar radiation in different treatment times of the potato effluent with pH value adjusted in 2.5. Approximately 32% of mineralization of the effluent organic compounds were reached during the first ten minutes, demonstrating the effectiveness of ferrite as a catalyst in the process, as well as significant changes in the effluent color and elimination of the odor. In addition, the ferrites could be recovered at the end of the process by applying a magnetic field, thus avoiding the release of catalyst in the effluent and allowing its reuse.

Keywords: Advanced Oxidative Processes. Heterogeneous photo-Fenton processes. Potatoes processing effluent. Ferrite. Effluent Treatment.

¹ Instituto de Física e Química, Universidade Federal de Itajubá, Minas Gerais.
Autora correspondente: milady@unifei.edu.br

INTRODUÇÃO

No Brasil, no ano de 2016, foi estimada a produção de 3 milhões de toneladas de batatas, sendo o estado de Minas Gerais o maior produtor¹. Além disso, o estado de Minas Gerais é também o maior produtor de batata processada no Brasil e o número de empresas dedicadas a esse setor cresce cada vez mais².

O processamento da batata gera muito resíduo, pois aproximadamente 1/3 da produção incluindo casca e polpa são descartados³. Assim, o principal componente do efluente gerado é o amido.

O efluente contendo amido possui elevada demanda bioquímica de oxigênio (DBO) e não pode ser descartado sem tratamento adequado em recursos hídricos. Os grânulos de amido são insolúveis em

água fria e dilatam-se por absorção de água em até 25%. Sob certas condições, eles podem criar uma suspensão coloidal. Essas características tornam difícil o tratamento desses resíduos⁴. Apesar de não tóxico, o não tratamento ou o tratamento inadequado desse tipo de efluente pode causar problemas como o desaparecimento de nascentes, aparecimento de odor desagradável nos rios em época de seca e, conseqüentemente, danos à fauna e à flora local.

Por outro lado, o processamento de batata (Figura 1) usa grandes quantidades de água, como exemplo, em seu processo de lavagem. Dessa forma, existe uma demanda para diminuição e/ou reuso da água nas indústrias de batata⁵.

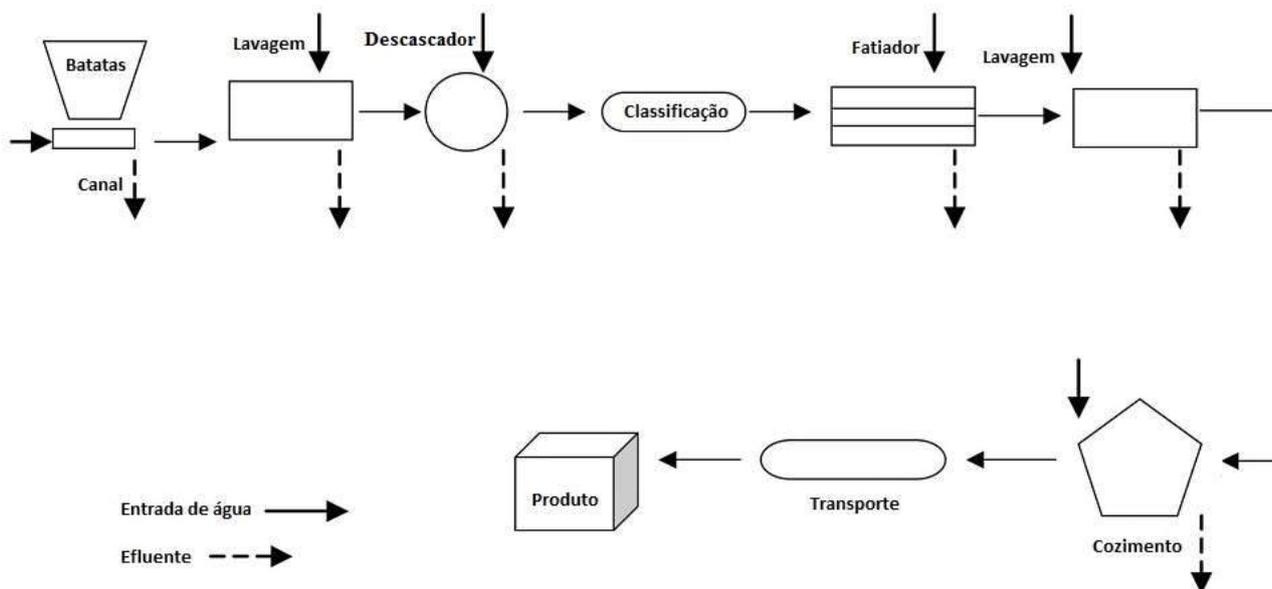


Figura 1. Etapas de processamento da batata⁵, que gera enormes quantidades de efluentes.

As grandes empresas têm aplicado diversos tipos de tratamento para esse efluente, como tratamento anaeróbico, sistema de gerenciamento de resíduos sólidos, utilização do resíduo sólido na agricultura como biomassa⁶. No entanto, as pequenas empresas praticamente não possuem tratamento e as que o possuem fazem o tratamento físico-químico, que não é eficiente para esse tipo de efluente.

Assim, há a necessidade de desenvolver novos métodos de tratamento para esse tipo de efluente, menos onerosos, mais eficazes, que diminuam os impactos gerados na natureza e que gerem a menor quantidade possível de subprodutos.

Os processos oxidativos avançados (POA) têm sido eficientes no tratamento de efluentes complexos⁷. O processo Fenton é um POA que utiliza a reação entre Fe^{3+} e H_2O_2 ($\text{pH} = 2,5 - 3,0$) para geração de radicais hidroxila ($\bullet\text{OH}$), que reagem de forma rápida e não seletiva com quase todos os compostos orgânicos transformando-os em compostos não tóxicos, como CO_2 , H_2O e ânions inorgânicos. Esse processo é melhorado com a aplicação de radiação, processo denominado de foto-Fenton^{8,9,10,11}.

Catalisadores sólidos têm sido utilizados em processos Fenton e foto-Fenton¹², sendo interessante o emprego de ferritas como catalisadores no processo

heterogêneo de Fenton, pois são óxidos ferromagnéticos podendo ser separados da solução através da utilização de um campo magnético externo, evitando a liberação do catalisador no efluente¹³. Ferritas de zinco-manganês sintetizadas a partir da reciclagem de pilhas descartadas têm sido empregadas como catalisadores no processo heterogêneo de Fenton¹⁴.

Poucos trabalhos são reportados na literatura que tratam efluentes de batata utilizando processo oxidativo avançado. Vlyssides e colaboradores¹⁵ hidrolisaram o efluente do processamento de batata através de reagentes de Fenton obtendo a produção de glicose e de outros compostos biodegradáveis.

Neste trabalho, avaliou-se o processo foto-Fenton heterogêneo utilizando como catalisador ferritas de pilhas para o tratamento de efluente de uma indústria de processamento de batata da região de Itajubá (MG).

METODOLOGIA

Materiais

Nos experimentos, foram utilizados: ácido cítrico (Synth), ácido bórico (Synth), ácido sulfúrico (Química Moderna); $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (Synth), hidróxido de sódio (Synth); etilenoglicol (Synth); e peróxido de hidrogênio 30% (Merck).

Síntese de ferritas Zn-Mn

A síntese da ferrita baseou-se no método citrato precursor, em que os íons metálicos foram complexados com um ácido carboxílico e esterificado com etilenoglicol. Posteriormente, a resina poliéster formada foi calcinada em forno (DIGIMEC – FHMP) com atmosfera oxidante (ar comprimido) na temperatura adequada^{13,14}.

Amostragem e armazenamento do efluente

A coleta do efluente na indústria de processamento de batatas foi realizada utilizando-se um galão de 20 L após a decantação do amido por precipitação por gravidade (sem prévio tratamento químico). A partir de uma análise preliminar, observou-se que sua cor era esverdeada, com forte odor fétido, contendo algumas partículas sólidas em

suspensão. Durante todo o período do trabalho, o efluente foi armazenado em câmara fria (4°C). As análises foram realizadas no Centro de Estudos em Qualidade Ambiental (CEQUAM-UNIFEI).

Caracterização físico-química do efluente

Dentre os parâmetros químicos de caracterização do efluente industrial foram analisados: demanda química de oxigênio (DQO), demanda bioquímica de oxigênio (DBO). Também foram avaliados os parâmetros: pH, sólidos totais, sólidos voláteis, sólidos fixos, carbono orgânico total (COT) e quantidade de nitrogênio na amostra. A determinação da DQO foi feita utilizando-se o método colorimétrico¹⁶. A DBO foi determinada pelo método da diluição e incubação a 20 °C por 5 dias¹⁷. A mineralização da matéria orgânica na solução durante a fotodegradação foi monitorada por determinações de COT em um analisador de carbono modelo Multi N/C 2100S (Analytik Jena). A determinação da quantidade de sólidos fixos, voláteis, totais e sedimentáveis também foi feita utilizando os métodos previsto no Standard Methods^{16,17}. A determinação da concentração de nitrogênio na amostra foi realizada pelo método de Kjeldahl^{18,19}.

Experimentos de degradação do efluente do processamento de batata

Os experimentos de degradação foram efetuados utilizando processo homogêneo, tendo nitrato férrico hidratado ($\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$) na concentração de 0,030% (m/v) como catalisador e também catalisador heterogêneo ferrita de pilha 0,10% (m/v). As concentrações de peróxido de hidrogênio utilizadas foram 15 e 30 mmol L⁻¹, respectivamente. Os experimentos foram realizados na ausência e presença de radiação solar durante 2 horas de reação, em que alíquotas da amostra foram analisadas em diferentes tempos. Essas concentrações foram baseadas em artigo da literatura³ que apresentava processos Fenton e foto-Fenton de efluentes contendo concentrações de DQO próximas à do efluente em questão.

Avaliação das variáveis na degradação do efluente

O método de planejamento experimental Fatorial Fracionário²⁰ foi utilizado para estudar o efeito das variáveis na degradação do efluente de batata. Examinaram-se 4 fatores em dois níveis. Diferentes catalisadores: $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (0,030% m/v) e Ferrita (0,10% m/v), diferentes concentrações de H_2O_2 (15 e 30 mmol L^{-1}), na presença/ausência de radiação solar em diferentes

tempos de tratamentos (10 e 120 minutos) em 250,00 mL de efluente de batata filtrado com valor de pH ajustado em 2,5 (com H_2SO_4 0,1 mol L^{-1}). A resposta estudada foi em termos de COT. A análise estatística foi efetuada no software Statistica 7[®]. A

Tabela 1. Variáveis (Tempo, Catalisador, H_2O_2 e Radiação Solar) em diferentes níveis para o estudo de degradação do efluente de batata

Variáveis	Níveis	
	-1	+1
Tempo (min)	10	120
Catalisador (m/v)	$\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 0,030%	Ferrita 0,10%
H_2O_2 (mmol L^{-1})	15	30 mmol L^{-1}
Radiação Solar	Ausente	Presente

Tabela 2. Planejamento experimental envolvendo os fatores: Tempo, Catalisador, H_2O_2 e Radiação Solar codificados nos níveis apresentados na Tabela 1

Experimento	Tempo	Catalisador	H_2O_2	Radiação Solar
1	+1	-1	-1	+1
2	-1	+1	+1	-1
3	-1	+1	-1	+1
4	-1	-1	+1	+1
5	+1	-1	+1	-1
6	+1	+1	-1	-1
7	+1	+1	+1	+1
8	-1	-1	-1	-1

A solução contendo a ferrita foi colocada em um frasco âmbar, mantida sob agitação mecânica (agitador Fisatom modelo 715) e incidência direta da radiação solar. Para efeito de comparação, as amostras para análise foram retiradas utilizando-se a mesma dose de energia²¹. Utilizou-se radiômetro (Modelo Solar Light PMA 2200) para medir as doses de energia (J cm^{-2}). Posteriormente, as amostras foram filtradas em membranas de 0,45 μm

(Química moderna), de forma a se eliminar a ferrita precipitada em solução. Os experimentos foram realizados no inverno, entre o horário de 10 a 14 horas.

A utilização do planejamento experimental fatorial em estudos que abrangem muitas variáveis, como é o caso do tratamento de efluentes de batata, é importante, pois torna possível o planejamento e a realização dos experimentos de maneira efetiva,

economizando tempo e recursos financeiros, obtendo-se resultados satisfatórios^{20,22}.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Caracterização físico-química do efluente de batata

O efluente de processamento de batata consiste em uma solução que possui amido sólido disperso. No tratamento que a empresa estava empregando, essa solução passava por uma canaleta onde o amido sólido se precipitava e a solução resultante era direcionada para um tanque onde anteriormente se fazia um tratamento físico-

químico e que na época da coleta estava desativado. A empresa estava buscando reaproveitar a parte sólida que fica na canaleta, utilizando-a na agricultura ou agropecuária. Neste trabalho, utilizou-se apenas a parte líquida do efluente e a coleta foi realizada na extremidade da canaleta. O líquido era esverdeado, tinha um odor fétido e ainda possuía sólidos dispersos. Devido a esse fato, a solução foi filtrada com papel de filtro comum (Prolab) antes das análises químicas e para os experimentos de degradação. A Tabela 3 apresenta os parâmetros físico-químicos analisados para a caracterização do efluente.

Tabela 3: Caracterização do efluente de indústria de processamento de batata

Parâmetros	RESULTADOS (mg L ⁻¹)			
DBO	729			
DQO	749			
COT	1080			
SÓLIDOS	FIXOS	VOLÁTEIS	TOTAIS	SEDIMENTÁVEIS
	101	1688	1795	1 mL h ⁻¹
NITROGÊNIO	96			
pH	6,5			

Os padrões de lançamento de efluentes líquidos, de forma direta ou indireta, nos cursos d'água do estado de Minas Gerais são estabelecidos pela Deliberação Normativa Copam nº 010/86²³. Dessa forma, considerando-se os lançamentos de efluentes de forma direta ou indireta nos corpos d'água, tem-se que os valores máximos para DBO e DQO são, respectivamente, de 60 mg L⁻¹ e de 90 mg L⁻¹, considerando-se os rios de classes 1 a 4²³. Como se pode observar na Tabela 3, os valores para o efluente em questão estão acima dos valores estabelecidos pela legislação.

Analisando-se o resultado obtido para nitrogênio (N), na Tabela 3, tem-se que, de acordo com a Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente (Conama)²⁴ a concentração de nitrogênio

obtida excede o valor estabelecido em relação às condições e padrões de lançamentos de efluentes, uma vez que a norma considera como concentração máxima 20 mg L⁻¹ de N. Como limites estabelecidos para o Estado de Minas Gerais²³ tem-se que o valor máximo de concentração de nitrogênio é de 5 mg L⁻¹, considerando-se os rios de classes 1 a 4. A concentração de nitrogênio obtida para o efluente foi de 96 mg L⁻¹. Portanto, o efluente em questão apresenta concentração de nitrogênio que supera muitas vezes o máximo valor estabelecido pela legislação.

No que se refere à concentração de sólidos fixos, a DN Copam nº 010/86²³ estabelece uma concentração máxima diária de 100 mg L⁻¹, bem como uma concentração média mensal de 60 mg L⁻¹ de sólidos suspensos, considerando-se os corpos

d'água de classes 1 a 4²³. Além disso, de acordo com a deliberação citada, bem como a Resolução Conama²⁴, tem-se que a velocidade de deposição das partículas no cone de Innhoff não deve ultrapassar o valor de 1 mL h⁻¹, para um teste de 1 hora. Portanto, o resultado obtido se enquadra no estabelecido pela Resolução Conama em relação à análise mencionada, sendo a única exceção em relação aos resultados obtidos para os outros parâmetros.

A biodegradabilidade do efluente pode ser estimada pela razão entre DBO e a DQO, que se aproxima de 1 para esse efluente. Sarria e colaboradores²² encontraram que, se a relação é maior que 0,33, o efluente é facilmente biodegradável. No entanto, devida à alta carga orgânica nesse efluente e alta DBO e DQO é

exigido tempo para ser degradado, grande área e o repentino aumento da DBO por qualquer motivo, seja aumento na produção em uma determinada semana, pode intumescer o lodo^{5,25}. E em geral as pequenas e médias empresas não possuem disponibilidade de área para o tempo de retenção necessário que pode chegar a até 52 dias⁵. Outro problema é que esses efluentes podem conter fenóis e altas concentrações de N que prejudicam a biodegradação⁵.

Resultados do tratamento do efluente do processamento de Batata

A Figura 2 apresenta a superfície de resposta obtida a partir dos experimentos realizados de acordo com a Tabela 2. A resposta utilizada foi em termos de COT.

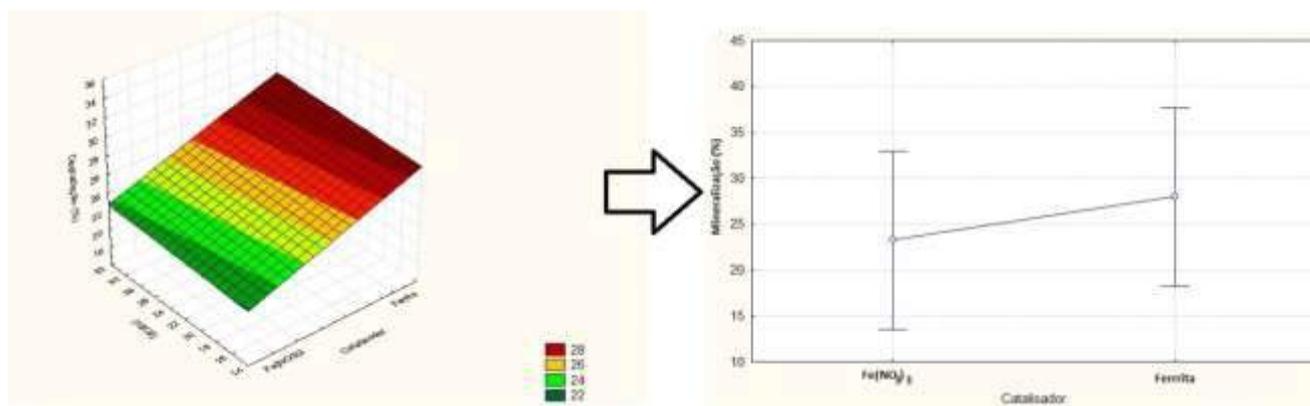


Figura 2. Superfície de resposta, onde x = tempo, y = catalisador e z = mineralização (%) utilizando os experimentos da Tabela 2.

Observa-se que o catalisador heterogêneo ferrita resultou em maior mineralização que o processo homogêneo usando Fe(NO₃)₃, principalmente no início da reação com mineralização de 32% nos primeiros 10 minutos sob radiação solar. Nestes experimentos empregou-se concentração relativa de Fe no catalisador heterogêneo equivalente a 556 mg de Fe/L de solução (baseado nos resultados publicados¹⁴ pelo grupo, considerando a análise elementar da ferrita por fluorescência de raios X), enquanto que, para os experimentos empregando nitrato férrico nonahidratado, a concentração relativa de Fe foi de 41,5 mg Fe/L. Há de considerar que as

concentrações empregadas de nitrato férrico e ferrita foram as que apresentaram melhor degradação (condição otimizada). Embora a concentração relativa de Fe na ferrita em solução seja consideravelmente maior que a de nitrato férrico (556 mg/L e 41,5 mg/L, respectivamente) os íons Fe³⁺ estão disponíveis na sua totalidade no nitrato férrico, considerando que a concentração utilizada está bem abaixo do limite de solubilidade deste sal, enquanto que na ferrita, os íons de ferro presentes (Fe²⁺ e Fe³⁺) estão associados a sua estrutura cristalina.

O emprego de ferrita ainda apresenta a vantagem de poder ser separada da solução por

meio de um campo magnético (ímã). Isso previne a necessidade de mais uma etapa química para remover o catalisador, como aumento do pH para remover os íons de ferro, o que gera lodo de hidróxido de ferro.

Prevendo uma aplicação, a ferrita poderá ser empregada em um reator, e estudos adicionais poderão revelar sua capacidade de reutilização para esse tipo de efluente e seu tratamento, sem a necessidade de armazenamento do efluente por um grande período.

A maior concentração de H_2O_2 (30 mmol L^{-1}) apresentou maior eficiência de degradação tendo em vista que mais radicais livres ($\cdot OH$) são produzidos, uma vez que essas espécies são essenciais para o processo de degradação da matéria orgânica¹⁰.

A Figura 3 apresenta o comportamento da degradação em função do tempo reacional e da presença da radiação solar.

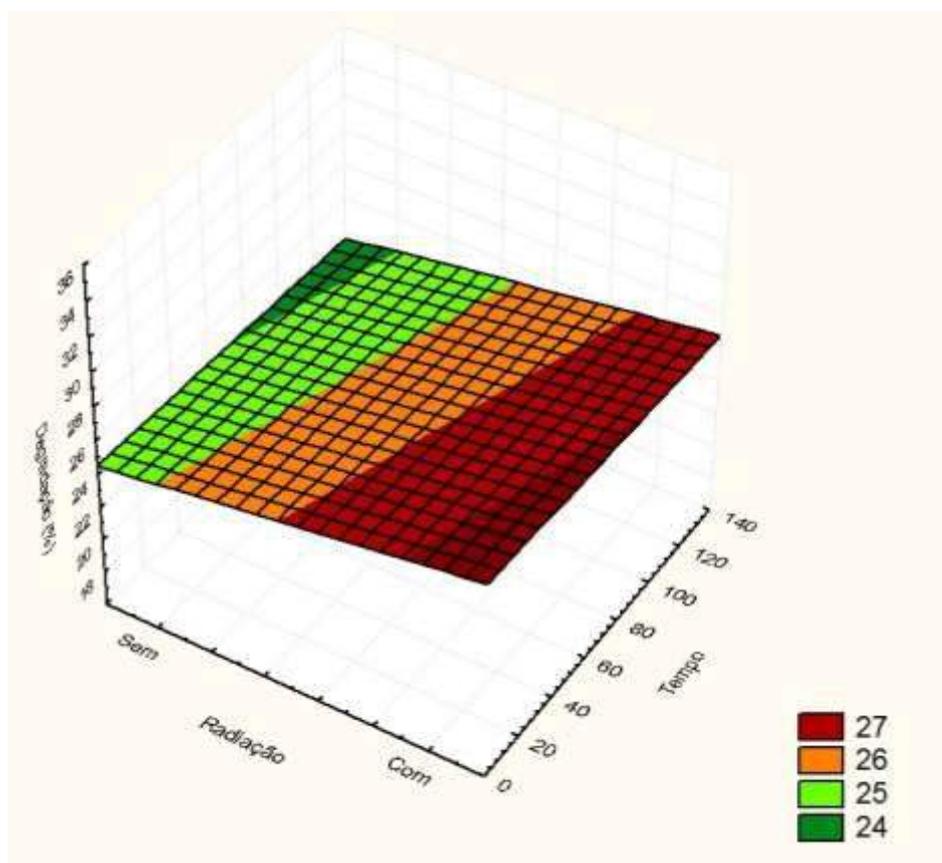


Figura 3. Tempo de reação e radiação solar na mineralização do efluente de batata.

Observa-se que, com a radiação solar, ocorre a ativação do catalisador principalmente no tempo inicial da reação, favorecendo a transição eletrônica da banda de valência para a de condução do catalisador ferrita, melhorando assim a mineralização (32%) do efluente.

O modelo matemático empírico, codificados e de 2ª ordem, encontrado com seus respectivos

Tabela 1

coeficientes estatísticos está apresentado na Equação 1, em que os valores são os de significância estatística (95% de confiança).

$$\text{Degradação (\%)} = 25,625 - 0,375.t + 2,375.c + 0,375.p + 1,125.r - 3,625.T.C + 0,375.t.p - 0,875.t.r \quad (\text{Equação 1})$$

Em que t- tempo, c- catalisador, r - radiação, p - peróxido (Tabela 1).

Na otimização experimental, as amostras consideradas foram filtradas em membrana de $0,45 \mu\text{m}$, cuja carga orgânica de COT inicial foi de 695

mg L⁻¹. As melhores condições obtidas foram: ferrita 0,10% (m/v), tempo: 10 minutos, [H₂O₂]: 30 mmol L⁻¹ e sob radiação solar. Os resultados da

remoção de COT nas condições otimizadas estão apresentados na Figura 4.

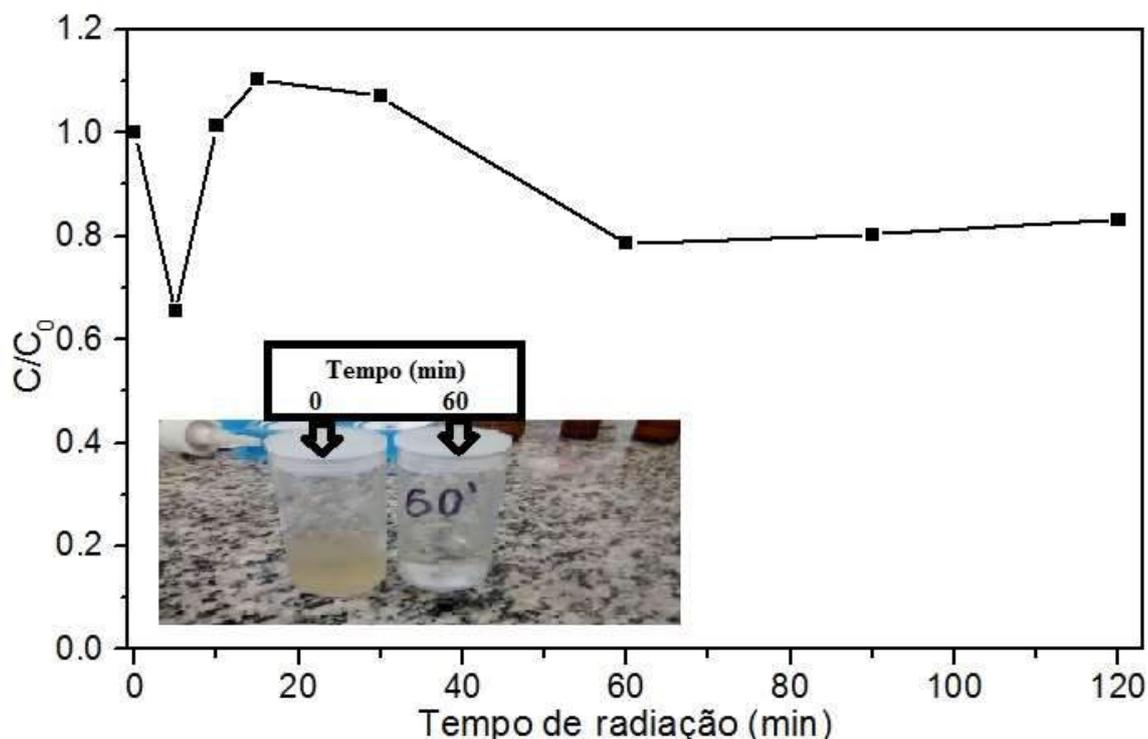


Figura 4: Remoção de COT ([COT₀] = 695 mg L⁻¹) no tratamento do efluente de batata utilizando o processo foto-Fenton heterogêneo solar (Σ de energia : 31 J cm⁻²); [Ferrita] = 0,10% m/v; [H₂O₂] = 30 mmol L⁻¹ em 250,00 mL de solução.

A Figura 4 mostra que após 120 minutos de radiação solar houve mineralização de 22% da matéria orgânica da solução, o que significa uma remoção de 153 mg L⁻¹ de carbono. Esse é um valor de remoção apreciável para um pequeno período, visto também que durante o processo há dissolução de material particulado, verificado pelo aumento na concentração de carbono após 10 minutos de exposição à radiação e a carga orgânica só tende a se estabilizar após 1h de exposição. Observou-se experimentalmente que também houve eliminação do odor fétido e da cor esverdeada do efluente após 1 h de tratamento conforme imagem da Figura 4.

Analisando a literatura⁵, verifica-se que o pré-tratamento e/ou tratamento primário remove em média 25% da matéria orgânica prioritariamente ao tratamento biológico. No entanto, muitas etapas e/ou adição de produtos químicos são necessários. Nesse contexto, o processo foto-Fenton heterogêneo poderia ser utilizado como pré-tratamento,

considerando que remove matéria orgânica com menor número de etapas, adição de produtos químicos e geração de subprodutos que os métodos físicos e químicos atualmente empregados. Além disso, é conhecida a capacidade do método Fenton em aumentar a biodegradabilidade desse tipo de efluente¹⁵.

CONCLUSÕES

Este trabalho apresentou o desenvolvimento de uma tecnologia para o pré-tratamento de um efluente de uma indústria de processamento de batatas. Foram realizadas análises prévias acerca da caracterização do efluente e observou-se que os parâmetros analisados estão acima dos limites estabelecidos pela legislação vigente no Brasil.

O uso de ferritas de pilhas descartadas como catalisador da fotodegradação do efluente da indústria de batata teve uma eficiência de 32% de

mineralização da solução durante os 10 minutos iniciais. Esses resultados são bastante interessantes para o uso desse processo como pré-tratamento aos tratamentos convencionais. O uso das ferritas como catalisador permite sua recuperação ao final do processo com aplicação de um campo magnético, sem que haja descarte de íons de ferro para o ambiente. Essa solução também é bastante atraente

para uma futura aplicação *in situ*, visando o desenvolvimento de reatores e o tratamento contínuo do efluente. Com esses resultados, conclui-se que a ferrita de pilhas descartadas pode ser aplicada no processo foto-Fenton solar para o tratamento de efluentes de indústria de processamento de batata.

REFERÊNCIAS

- [1] Associação Brasileira da Batata, Batata Brasil: Área, Produção e produtividade disponível em: <http://www.abbabatatabrasileira.com.br/site/wp-content/uploads/2016/12/%C3%81REA-PRODU%C3%87%C3%83O-E-PRODUTIVIDADE.pdf>. acesso em 28 de set.(2017).
- [2] Batata/Cepea: Produção de batata para processamento aumenta no Br. Disponível em: <https://www.cepea.esalq.usp.br/br/diarias-de-mercado/batata-cepea-producao-de-batata-para-processamento-aumenta-no-br.aspx>. Acesso em: 28 de set (2017).
- [3] A. A. da Silva, G. A. F. Albino, A biodigestão de resíduos agrossilvopastoris no processo de transformação de energia. *Ver. Cient.FEPI*, **2015**, 8(2), 1-3.
- [4] L.E. Mitch, Starch: Chemistry and Technology – Potato Starch: Production and Uses. Academic Press, New York, 1984.
- [5] Y. T. Hung, H. LoHoward, A. Awad, H. Salman, Potato Wastewater Treatment, Taylor & Francis Group, LLC, 2006, ch6.
- [6] Bem Brasil pensando globalmente, disponível em: <https://www.bembrasil.ind.br/imprensa/bem-brasil-pensando-globalmente/> acesso em 27 de set. (2017)
- [7] F. Tisa, A. A. A. Raman, W. M. A. W. Daud, Applicability of fluidized bed reactor in recalcitrant compound degradation through advanced oxidation processes: a review, *J. Environ. Manage*, **2014**, 146, 260-275.
- [8] Y. Deng, R. Zhao, Advanced oxidation processes (AOPs) in wastewater treatment, *Current Pollution Reports*, **2015**, 1(3), 167-176.
- [9] J. J. Pignatello, E. Oliveros, A. MacKay, Advanced oxidation processes for organic contaminant destruction based on the Fenton reaction and related chemistry, *Crit Rev Environ Sci Technol.*, **2006**, 36 (1), 1-84.
- [10] R. F. P. Nogueira, A. G. Trovó, M. R. A. D. Silva, Villa, R. D., Oliveira, M. C. D., Fundamentos e aplicações ambientais dos processos Fenton e foto-Fenton, *Quím. Nova*, **2007**, 30, 400-408.
- [11] S. Giannakis, M. I. P. López, D. Spuhler, J. A. S. Pérez, P. F. Ibáñez, C. Pulgarin, Solar disinfection is an augmentable, in situ-generated photo-Fenton reaction—part 1: a review of the mechanisms and the fundamental aspects of the process, *Appl. Catal., B.*, **2016**, 199, 199-223.

-
- [12] A. Mirzaei, Z. Chen, F. Haghghat, L. Yerushalmi, Removal of pharmaceuticals from water by homo/heterogenous Fenton-type processes—A review, *Chemosphere*, **2017**, *174*, 665-688.
- [13] R. Gimenes, M. A. Zaghete, L. A. Perazolli, M. R. da Silva, D. A. W. Soares, C. A. da Silveira, M. R. Baldissera, M. R. A. da Silva, Structural and magnetic characterization of $Mn_xZn_{1-x}Fe_2O_4$ ($x=0.2$; 0.35 ; 0.65 ; 0.8 ; 1.0) ferrites obtained by the citrate precursor method, *Ceram Int*, **2012**, *38*, 741-746.
- [14] M. R. Baldissera, M. R. A. Silva, C. A. Silveira, R. M. Lima, S. A. Maia, M. R. Silva, D. A. W. Soares, R. Gimenes, Síntese e caracterização de ferritas de Zn e Mn provenientes de pilhas inutilizadas, *Cerâmica*, **2014**, *60*, 52-56.
- [15] A. Vlyssides, E. M. Barampouti, S. Mai, E. Stamatoglou, K. Rigaki, Hydrolysis of starch using Fenton's reagents as a key for waste integrated management in a potato processing industry, *Chem. Eng. Trans.*, **2009**, *1*, 165-169.
- [16] Method 5220. American Public Health Association; American Water Works Association; Water Environment Federation. Standard methods for the examination of water and wastewater, Washington, 21th ed., 2005.
- [17] Method 5210. American Public Health Association; American Water Works Association; Water Environment Federation. Standard methods for the examination of water and wastewater, Washington, 21th ed., 2005.
- [18] Method 4500-c. American Public Health Association; American Water Works Association; Water Environment Federation. Standard methods for the examination of water and wastewater, Washington, 21th ed., 2005.
- [19] T. Yasuhara, K. Nokihara, High-throughput analysis of total nitrogen content that replaces the classic Kjeldahl method, *J. Agric. Food Chem.*, **2001**, *49*, 4581-4583.
- [20] W. T. Carvalho, J. M. Soares, M. Caliari, F. A. Silva, K. O. Ribeiro, Physicochemical and functional characteristics of residual pulp of potato, *Food Sci. Technol.*, **2016**, *36* (4), 570-576.
- [21] W. C. Paterlini; R. F. P. Nogueira, Multivariate analysis of photo-Fenton degradation of the herbicides tebuthiuron, diuron and 2,4-D, *Chemosphere*, **2005**, *58* (8), 1107-1116.
- [22] V. Sarria, M. Deront, P. Péringer, C. Pulgarin, Degradation of a biorecalcitrant dye precursor present in industrial wastewaters by a new integrated iron (III) photoassisted–biological treatment, *Appl. Catal., B.*, **2003**, *40* (3), 231-246.
- [23] BRASIL. Secretaria do Estado do Meio Ambiente e Desenvolvimento Sustentável. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes para o estado de Minas Gerais, e dá outras providências. Deliberação Normativa Conjunta nº 01, de 5 de maio de 2008. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/processos/EFABF603/DeliberaNormativaConjuntaCOPAM-CERHno01-2008.pdf>>. Acesso em: 25 jul. 2016.
- [24] CONAMA, Resolução. "430/2011." Dispõe sobre condições e padrões de lançamento de efluentes (2011). Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646>. Acesso em: 15 fev. 2016.

[25] H. J. Porwal, A. V. Mane, S. G. Velhal, Biodegradation of dairy effluent by using microbial isolates obtained from activated sludge. *Water Res. Environ. Ind.*, **2015**, 9, 1-15.