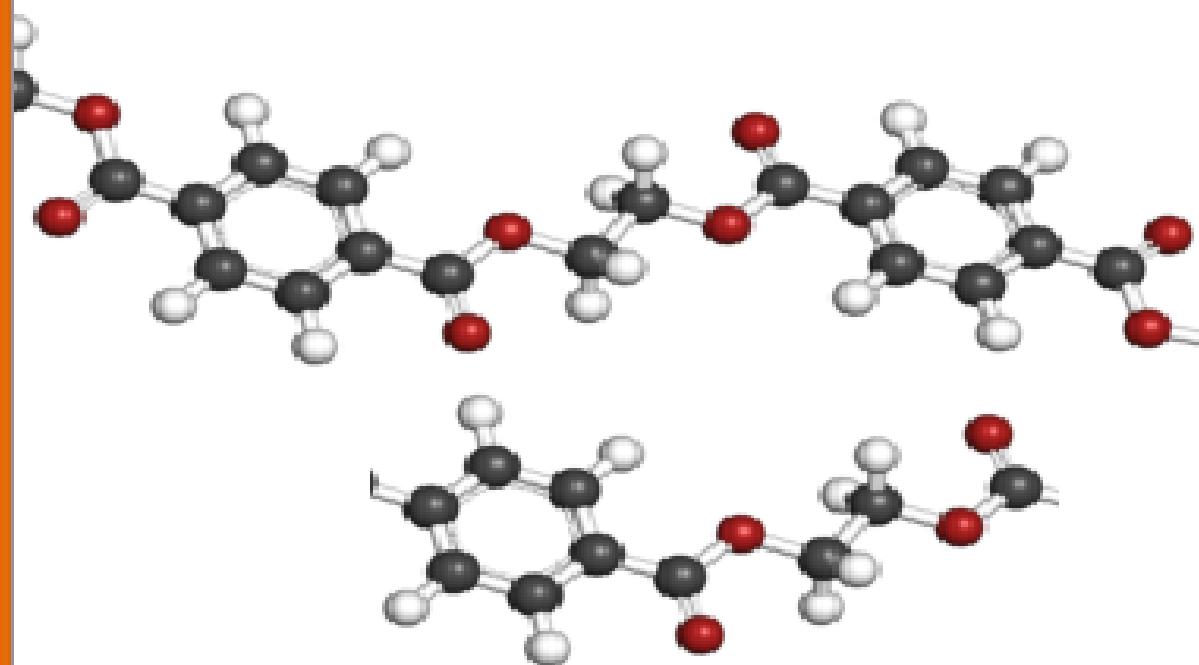




Lucia Helena Innocentini Mei
(Organizadora)

POLÍMEROS DE FONTES RENOVÁVEIS

síntese, e aplicações na saúde e no meio ambiente



Lucia Helena Innocentini Mei
(Organizadora)

**POLÍMEROS DE FONTES
RENOVÁVEIS**
síntese, e aplicações na saúde e no meio ambiente

Autores:

Bernardo Castro Dominguez
Cristina Pontes Vicente
Emanuelle D. Freitas
Farayde Matta Fakhouri
Filipe Vargas Ferreira
Ivanei F. Pinheiro
Ívi Martins De Carvalho
José Ignacio Velasco
Karine Cappuccio de Castro
Larissa Giorgetti Mendes
Liliane M.F. Lona
Lucia Helena Innocentini Mei
Maria Gabriela Nogueira Campos
Melissa G. A. Vieira
Meuris G. C. Silva
Monique de Alvarenga Pinto Cotrim
Raissa Antonelli
Rodrigo Lambert Oréfice
Roniérik Pioli Vieira
Tahmasb Hatami

Catalogação na Publicação (CIP)

Biblioteca da Área de Engenharia e Arquitetura - BAE - UNICAMP

P759 Polímeros de fontes renováveis: síntese e aplicações na saúde e no meio ambiente / Lucia Helena Innocentini Mei (Org.), et al – Campinas, SP: BCCL/UNICAMP, 2020.
Recurso digital; il. (252 p.)

Publicação digital (e-book) no formato PDF.

ISBN 978-65-87175-01-0

DOI: <https://doi.org/10.20396/ISBN9786587175010>

1. Polímeros. 2. Polímeros na medicina. 3. Polímeros - Aspectos ambientais. I. Lucia Helena Innocentini Mei, 1953- (org.). II. Título.

CDD: 620.192

Bibliotecária responsável: Rose Meire da Silva CRB-8/5974



Esta obra está licenciada com uma [Licença Creative Commons Atribuição – Não Comercial – Compartilha Igual 4.0 Internacional](#).



POLÍMEROS DE FONTES RENOVÁVEIS

síntese, e aplicações na saúde e no meio ambiente

APRESENTAÇÃO

O objetivo deste livro é levar ao público acadêmico e não acadêmico, o devido conhecimento sobre Biopolímeros e suas aplicações nas áreas da Saúde e Ambiental. Conceitos sobre polímeros biobased e biodegradáveis tem sido utilizados sem o conhecimento necessário para discernir sobre quando e porque utilizá-los. Na mesma linha, muito se fala em Biomassa mas pouco se divulga além das fronteiras acadêmicas, o potencial que ela oferece para se obter matérias-primas renováveis que serão utilizadas na produção de bens de commodities e de produtos de alta tecnologia para utilização nas áreas Médica, Farmacêutica, Biomédica, Odontológica, Biológicas, Engenharias (Materiais, Química, Alimentos, Ambiental, Civil, Agrícola, etc.). O campo é vasto e abordar sobre todos esses nichos exigiria uma Obra com inúmeros capítulos. Deste modo, no presente trabalho focamos alguns dos temas relacionados a Biopolímero, com ênfase nas definições corretas dos polímeros Biobased e Biodegradáveis, Métodos de síntese para obtenção de estruturas moleculares controladas, Nanotecnologia e saúde, Sistemas de Liberação de Fármacos e Modelagem, Polímeros avançados para aplicações Biomédicas, Celulose bacteriana e aplicações na saúde, Nanocristais de celulose como reforços em compósitos, Biopolímeros na área de embalagens e, por fim, Biopolímeros para tratamento e purificação de água.

"O preço do sucesso é o trabalho árduo, a dedicação ao trabalho em questão e a determinação de que, se vencermos ou perdermos, aplicamos o melhor de nós mesmos à tarefa em questão".

Vince Lombardi

Sumário

PREFÁCIO	09
CAPÍTULO 1	12
<i>Polímeros Biobased: Definição, Origem, Matérias-Primas e Aplicações</i>	
1.1 Introdução.....	12
1.1.1 Polímeros biobased.....	13
1.2 Biobased derivados de microrganismos por via fermentativa-poliésteres.....	14
1.2.1 Polihidroxialcanoatos – PHAs e derivados.....	14
1.2.2 Poli(ácido láctico) e derivados.....	17
1.2.3 Polibutileno succinato – PBS e derivados.....	19
1.3 Biobased polissacarídeos.....	21
1.3.1 Amido.....	21
1.3.2 Ácido Hialurônico – HA.....	23
1.3.3 Quitina e Quitosana.....	26
1.3.4 Alginato.....	28
1.4 Proteínas.....	30
1.4.1 Colágeno, Gelatina e Seda.....	30
1.5 Polímeros biobased derivados de terpenos e terpenoides.....	31
1.6 Mercado global dos bioplásticos biobased.....	32
1.7 Referências.....	34
CAPÍTULO 2	53
<i>Síntese de polímeros com estrutura controlada: a polimerização ATRP e suas variações</i>	
2.1 Introdução.....	53
2.2 A evolução das técnicas de polimerização controlada e o destaque à ATRP.....	53
2.3 Derivações da ATRP tradicional.....	57
2.3.1 Ativadores Regenerados por Transferência de Elétrons (ARGET-ATRP).....	58
2.3.2 ATRP eletroquimicamente mediada (eATRP).....	58
2.3.3 Iniciadores para Regeneração Contínua do Ativador (ICAR-ATRP).....	58
2.3.4 Ativador Suplementar e Agente Redutor (SARA-ATRP).....	59
2.3.5 Catalisadores fotoativados (foto-ATRP).....	59
2.3.6 Polimerização Radicalar por Transferência de Átomo Organocatalisada (O-ATRP).....	59
2.4 Arquiteturas macromoleculares proporcionadas pela ATRP.....	61
2.5 Modificação de polímeros “biobased” via ATRP e aplicações na área Médica.....	62

2.6 Considerações finais.....	63
2.7 Referências.....	64

CAPÍTULO 3.....67

Nanotecnologia na área da saúde: importância, vantagens e limitações

3.1 Definição de nanotecnologia.....	67
3.2 Nanotecnologia em dispositivos médicos, hospitalares e odontológicos.....	69
3.2.1 Instrumentação.....	69
3.2.2 Nanotecnologia em diagnóstico.....	72
3.2.3 Nanotecnologia em terapias.....	74
3.2.3.1 Nanoformulações poliméricas.....	74
3.2.3.2 Nanopartículas na liberação controlada de fármacos.....	76
3.3 Teranósticos.....	78
3.4 Limitações da nanotecnologia.....	80
3.5 Nanotoxicologia.....	80
3.6 Referências.....	81

CAPÍTULO 4.....87

Liberação Controlada de Fármaco: Perspectivas e Desafios Futuros

4.1 Histórico.....	87
4.2 Principais polímeros utilizados na liberação controlada.....	92
4.2.1 Principais dispositivos de liberação controlada.....	93
4.3 Hidrogéis.....	95
4.4 Micro e Nanopartículas.....	96
4.4.1 Micro e Nanocápsulas.....	96
4.5 Polímeros inteligentes.....	97
4.5.1 Micelas.....	98
4.6 Modelagem matemática de liberação controlada de sistemas in vitro.....	98
4.6.1 Sistema de reservatório com fonte de atividade não constante.....	99
4.6.2 Sistemas de reservatório com fonte de atividade constante.....	102
4.6.3 Sistema monolítico com solução monolítica.....	103
4.6.4 Sistema monolítico com dispersões monolíticas.....	106
4.7 Conclusão e perspectivas futuras.....	110
4.8 Referências.....	110

CAPÍTULO 5.....116

Polímeros para a área da Saúde

5.1 Projeto de polímeros avançados para aplicações na Saúde.....	116
--	-----

5.2 Polímeros em aplicações biomédicas.....	122
5.3 Polímeros avançados e novas estratégias na confecção de biomateriais.....	126
5.4 Biotêxteis e scaffolds.....	128
5.5 Referências.....	134

CAPÍTULO 6.....137

Celulose bacteriana e suas aplicações na área da saúde

6.1 Introdução.....	137
6.2 Celulose Bacteriana (BC).....	137
6.2.1 Curativos.....	139
6.3 Engenharia de tecidos (enxertos artificiais).....	148
6.4 Liberação de fármacos.....	153
6.5 Biossensores e diagnósticos.....	157
6.6 Conclusões.....	160
6.7 Referências.....	160

CAPÍTULO 7 167

Fundamentos e propriedades de polímeros biobased reforçados com nanocristais de celulose

7.1 Introdução.....	167
7.2 Polímeros biobased reforçados com Nanocristais de celulose CNCs).....	168
7.2.1 Nanocristais de Celulose (CNCs).....	168
7.2.2 Preparação dos Nanocompósitos	168
7.3 Propriedades dos nanocompósitos.....	170
7.4 Regra das misturas.....	171
7.5 Modelos.....	173
7.4.1 Modelos de Maxwell e Russell.....	173
7.4.2 Modelo de Halpin-Tsai.....	173
7.4.3 Modelo de percolação.....	174
7.5 Conclusão e perspectivas.....	176
7.6 Referências.....	177

CAPÍTULO 8.....183

Controle de Atmosfera e Novos Materiais de Embalagem para Alimentos

8.1 Introdução.....	183
8.2 Embalagens Ativas.....	184
8.3 Atmosfera modificada e controlada.....	187
8.3.1 Embalagens a vácuo.....	193

8.4 Embalagens inteligentes.....	195
8.5 Mercado.....	196
8.6 Referências.....	197
CAPÍTULO 9.....	206
<i>Uso de bioadsorventes poliméricos para remoção de metais de efluentes aquosos</i>	
9.1 Introdução.....	206
9.2 Tratamento de efluentes contendo metais.....	207
9.3 Bioadsorventes.....	209
9.3.1 Bioadsorventes poliméricos.....	211
9.4 Blenda de sericina e alginato.....	213
9.4.1 Aplicação da blenda de sericina e alginato para remoção de metais.....	215
9.4.1.1 Metais tóxicos.....	215
9.4.1.2 Metais nobres.....	216
9.4.1.3 Metais terras-raras.....	218
9.5 Considerações finais.....	219
9.6 Referências.....	220
Capítulo 10.....	227
<i>Biodegradação de plásticos</i>	
10.1 Introdução.....	227
10.2 Plásticos biodegradáveis.....	228
10.3 Biodegradação de plásticos.....	232
10.4 Como ocorre a biodegradação?.....	233
10.5 Teste de Degradação Ambiental.....	240
10.5.1 Normas-padrão para ensaios de biodegradabilidade de Materiais em diversos ambientes.....	240
10.5.2 Padrões usados para testar produtos biobased.....	241
10.5.3 Padrões usados para testar compostagem industrial e digestão anaeróbica.....	241
10.5.4 Padrão para Compostagem Caseira.....	242
10.5.5 Biodegradação em solo.....	242
10.5.6 Padrões utilizados para testar biodegradação de plásticos em ambientes de água fresca e tratamento de esgotos.....	243
10.5.7 Padrões utilizados para testar biodegradação de plásticos em ambientes Marinhos	245
10.5.8 Monitoramento da biodegradação por meio de técnicas analíticas.....	248
10.6 Referências.....	250
10.7 Apêndice.....	255
Capítulo 11.....	259

Principais testes biológicos in vitro para biopolímeros

11.1 Introdução.....	260
11.2 Principais ensaios in vitro e suas aplicações.....	261
11.2.1 Técnicas de proliferação celular.....	261
11.2.1.1 Teste do MTT.....	261
11.2.2 Técnica de proliferação celular pela sulfurodamina B.....	262
11.2.3 Análise da indução da morte celular por apoptose.....	262
11.2.3.1 Técnica de Túnel.....	262
11.2.3.2 Determinação da atividade de caspases.....	264
11.2.3.3 Citometria de fluxo para análise da proliferação celular.....	264
11.2.4 Principal teste para análise de carcinogênese.....	265
11.2.4.1 Análise de micronúcleos.....	265
11.2.5 Teste para análise de migração celular.....	265
11.2.5.1 Teste de cicatrização.....	265
11.3 Conclusões.....	266
11.4 Referências.....	267

PREFÁCIO

A conversão de biomassa em matéria prima para obtenção de novos produtos, que atendam ao apelo sustentável, tem se tornado objeto de atenção por pesquisadores no mundo todo. A denominada Química Verde tem ganhado folego com novas descobertas de moléculas que servem como material de partida para a produção de polímeros e biopolímeros de fontes renováveis, alguns com propriedades similares aos tradicionais obtidos do Petróleo como fonte fóssil. A obtenção de polímeros de origem animal ou vegetal, existentes na natureza, já é fato conhecido e suas aplicações, *in natura* ou após modificações químicas, abrangem um grande leque dentro da área ambiental e da saúde. Na área ambiental, eles têm sido cada vez mais procurados para substituir outros plásticos em aplicações que tem impacto direto no ambiente, como o acúmulo de plásticos sem o devido encaminhamento para um destino final correto, ou como agentes de limpeza de águas contaminadas. Conhecer as fontes naturais existentes na Biomassa brasileira, que fornecem matérias primas para a síntese dos polímeros biobased e /ou biodegradáveis, para as mais variadas aplicações, é de fundamental importância e incentiva a descoberta de outras novas fontes ainda inexploradas. A exploração da Biomassa brasileira tem fornecido um leque enorme de possibilidades de pesquisa e desenvolvimento de novos produtos, visando aplicações nobres, como na área Ambiental e Biomédica.

Neste livro participam vários cientistas e pesquisadores, incluindo químicos engenheiros químicos, engenheiros de alimentos e biólogos, que trabalham com polímeros biobased, biodegradáveis e biocompatíveis, envolvendo temas da atualidade. Cada um contribui com seus conhecimentos, fazendo um apanhado geral da literatura e utilizando uma linguagem acessível aos leitores, principalmente principiantes no tema geral.

São abordados temas como polímeros biobased, biodegradação, síntese controlada de polímeros, celulose bacteriana, nanocristais como agentes de reforço em matrizes poliméricas, nanotecnologia e saúde, polímeros avançados, liberação controlada de matrizes poliméricas e modelagem, biopolímeros em embalagens, principais ensaios

biológicos realizados *in vitro* utilizados para testes de biopolímeros, utilização de biopolímeros para tratamento de água.

A experiência dos pesquisadores que participam deste livro, cada um com sua própria visão é repassada com intuito de mostrar como os biopolímeros, biobased e/ou biodegradáveis, e biocompatíveis podem ser obtidos e empregados com êxito nos diversos setores da saúde e do meio ambiente. Ressaltamos que o assunto é inesgotável e novas matérias primas renováveis tem surgido da Biomassa, ampliando o leque de novos produtos à base de biopolímeros e de suas aplicações.

Ao conhecer mais sobre os biopolímeros e suas várias aplicações, o leitor poderá fazer parte deste universo, contribuindo com a disseminação correta dos temas e/ou com pesquisas que visem a saúde, o bem-estar social e a preservação ambiental. Ressalta-se que a multidisciplinariedade deste tema tem contribuído para a criação de grupos de cientistas de diversas formações, como engenheiros, biólogos, ambientalistas, químicos, médicos, biomédicos, farmacêuticos, dentre outros, impulsionando assim as pesquisas rumo a um futuro sustentável bastante promissor.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a ajuda financeira de vários órgãos governamentais de apoio à ciência, como FAPESP, CNPq, CAPES, bem como as suas Instituições de Pesquisa e seus Colegas dessas Instituições que lhes permitiram dedicar parte de seu tempo à escrita deste livro.

A organizadora deste livro agradece à Faculdade de Engenharia Química da Unicamp, e em particular a seu Departamento – DEMBIO – pela concessão de um período sabático para que pudesse se dedicar a elaboração desta Obra, e também os coautores que prontamente aceitaram este desafio.

Os Autores deste livro agradecem suas famílias por nos concederem tempo de nossa convivência familiar para escrever este livro.

Capítulo 1

Polímeros Biobased: Definição, Origem, Matérias-Primas e Aplicações

Lucia Helena Innocentini Mei

Departamento de Engenharia de Materiais e de Bioprocessos

Faculdade de Engenharia Química – UNICAMP

1. Introdução

De início, define-se Polímero como uma macromolécula produzida naturalmente, ou pelo Homem, a partir de pequenas moléculas denominadas de “monômeros”. A ligação química covalente de vários monômeros iguais, na maioria das vezes por meio de reações químicas conhecidas como Policondensação ou Poliadição, dará origem a macromoléculas com massa molar superior a 10^4 g/mol. Várias técnicas são utilizadas para a síntese de Polímeros e serão apresentadas em outro capítulo deste livro.

Nos últimos anos tem aumentado o número de pesquisas e o consequente desenvolvimento de polímeros biobased (ou de base biológica) em diversas áreas, incluindo-se as de Engenharia Biomédica, de Medicina e Farmácia, de Engenharia de Materiais, de Transporte e Logística, Agrícola, de Cosméticos, dentre outras. O principal interesse no desenvolvimento de “**Polímeros BIOBASED**” ou “de origem biológica” nasceu de sua característica ímpar de sofrer biodegradação, o que vem conquistando o público voltado a defender o ambiente e os resíduos nele gerados. A indústria de plásticos de commodities, por exemplo, vem mudando gradativamente e está cada vez mais preocupada em atender os usuários que defendem a produção que privilegia a sustentabilidade. Deste modo, as pesquisas estão voltadas ao desenvolvimento de produtos biobased com as mesmas características e

propriedades que seus similares de fontes não renováveis, já existentes no mercado. Alguns já estão sendo comercializados no mercado mundial e muitos outros estão em fase de pesquisa e desenvolvimento.

1.1 Polímeros biobased

São polímeros oriundos de fontes renováveis existentes na natureza, sendo alguns biodegradáveis e outros não biodegradáveis. Eles devem conter uma fração de seu conteúdo de carbono oriundo de materiais de fontes biológicas ou agrícolas, denominado carbono biobased, medido por procedimento regido pela Norma-padrão ASTM D-6866.

O mercado crescente dos Biobased se deve ao anseio e à necessidade do mercado em substituir os polímeros de fonte fóssil. O número de citações e Patentes sobre esse tipo de Polímeros tem aumentado significativamente desde a década de 1990, segundo fontes da literatura.¹ Isso se deve à preocupação cada vez maior pela redução da emissão de dióxido de carbono (CO_2) e pela redução de fontes fósseis. Adicionalmente, países que adotaram uma política ambiental rigorosa, como Estados Unidos e Comunidade Europeia, têm concentrado esforços e criado legislações voltadas ao uso de matéria-prima e desenvolvimento de produtos Biobased.

A primeira fase da exploração dos polímeros Biobased foi focada na sua similaridade com os polímeros convencionais existentes. A atenção foi voltada à obtenção de polímeros oriundos de produtos agrícolas como o milho, a batata, dentre outros produtos naturais da família dos carboidratos. Entretanto, com o aumento das pesquisas foi possível obter pelo conhecimento da Biotecnologia, monômeros e polímeros derivados de processos fermentativos utilizando microrganismos (bactérias) de diferentes fontes naturais. Microrganismos já conhecidos e dos quais falaremos mais tarde, quando alimentados com compostos naturais (denominados monômeros) são capazes de sintetizar macromoléculas poliméricas, como o caso da família de polímeros conhecida como Polihidroxialcanoatos – PHAs. Outros sintetizam monômeros que posteriormente serão transformados em polímeros pela ação do Homem, como o caso do ácido lático que dará origem ao Poli(ácido lático) – PLA e seus derivados. Portanto, os polímeros biobased podem ser agrupados em três classes:

- Polímeros diretamente extraídos da biomassa (animais e plantas) e usados como obtidos ou modificados para posterior utilização (celulose, amido, lignina, quitina, alginato, dentre outros).
- Polímeros totalmente sintetizados por microrganismos alimentados com substratos renováveis, como ácidos graxos e despojos orgânicos. Exemplos muito conhecidos desses polímeros são os da família dos poli(hidroxialcanoatos) – PHAs.
- Polímeros sintéticos como poli(ácido láctico) – PLA, poli(butileno succinato) – PBS, bio-poliolefinas, bio-poli(etileno tereftalato) – bio-PET, cujos monômeros vieram de fontes renováveis.²⁻⁴

Devido ao grande número de polímeros biobased existentes, serão abordados apenas alguns cujas aplicações estão voltadas com mais ênfase para a área médica, interessada no uso de novos biomateriais que apresentem biocompatibilidade, biodegradabilidade e facilidade de processamento. Entretanto, muitos são também utilizados em outras áreas importantes, incluindo as de Engenharia, Embalagens, Transporte, etc.

1.2 Biobased derivados de microrganismos por via fermentativa-poliésteres

Nesta classe, será dada ênfase aos polímeros mais pesquisados e já em comercialização por alguns países, principalmente europeus. Todos os três tipos aqui apresentados pertencem à família Poliéster.

1.2.1 Polihidroxialcanoatos – PHAs e derivados

Dentre os polímeros poliésteres Biobased derivados de microrganismos, o **Polihidroxibutirato – PHB** se destaca por ser o elemento mais simples da família dos Polihidroxialcanoatos – PHAs. Foi descoberto pelo pesquisador Maurice Lemoigne na década de 1920, quando trabalhava com a bactéria *Bacillus megaterium*. Atualmente já se conhece uma variedade de bactérias capazes de acumular PHB e outros poliésteres dessa família, no seu ambiente intracelular, como fonte de carbono e energia.⁵ As fontes de carbono, utilizadas pelas bactérias para se alimentar e se reproduzir, são variadas e incluem, por exemplo, óleos vegetais, restos orgânicos, celulose, etc., que vão dar origem a diferentes tipos de PHAs.

Devido à sua alta massa molar, o polímero não consegue atravessar a parede celular do microrganismo e, desse modo, se acumula em seu interior, exigindo a intervenção de engenheiros de processo para extraí-lo e 15eteroat-lo posteriormente para utilização em vários setores. O polímero assim produzido é, posteriormente, extraído com solvente, precipitado com álcool (p.ex., metanol) e purificado.⁶ Inicialmente eram utilizados como solvente a acetona ou o clorofórmio, porém o apelo da Química verde tem contribuído para o desenvolvimento e a utilização de solventes não clorados, como propileno carbonato (CP) ou misturas como acetona/etanol/propileno carbonato e metil etil cetona, conforme relatado na literatura.^{7,8} Por sua vez, os detritos gerados no processo são removidos por processo de separação sólido-líquido.

Com o avanço das pesquisas, vários monômeros que são utilizados por bactérias para produzir PHAs já foram identificados.⁹ Essa diversidade permite a obtenção de várias estruturas poliméricas com propriedades características e diferenciadas que permitem aplicações diferentes e específicas. Poli(3-hidroxibutirato) – Poli(3HB), por exemplo, tem propriedades térmicas e mecânicas similares a dois polímeros bem conhecidos no mercado, ou seja, polipropileno e poliestireno.¹⁰ Entretanto, sua utilização só é possível se forem feitos ajustes na sua composição final, uma vez que parâmetros importantes como janela de processamento estreita (faixa de temperatura estreita entre a sua fusão e a sua degradação), tendência para fluir, cristalização lenta e alta, limitam seu uso.¹¹

Um dos ajustes bem conhecidos na área de polímeros e que foi adaptado ao PHB, foi a inserção de um segundo monômero na sua cadeia (3-hidroxivalerato) para formar copolímeros em proporções variadas (de 5 a 20%), permitindo consolidar sua entrada no mercado mundial de plásticos biobased. Exemplos de alguns PHAs são: Poly(3-hydroxibutirato-co-3-hydroxivalerato) – Poly(3HB-co-3HV) ou PHBV, Poly(3-hydroxibutirato-co-4-hydroxivalerato) – Poly(3HB-co-4HV), Poly(3-hydroxyoctanoato-co-hydroxihexanoato) – Poly(3HO-co-3HH), Poly(3-hydroxibutirato-co-3-hydroxihexanoato) – Poly(3HB-co-3HH), etc. Devido à introdução de outro monômero, como no caso do poly(3HB-co-3HV), foi possível obter um derivado de PHB menos cristalino, menos rígido e frágil, com maior elasticidade e dureza, se comparado ao PHB, que ainda conservou sua característica de biodegradabilidade e permitiu sua extrusão e obtenção de filmes soprados. Com essas adequações nas composições dos monômeros e aditivos, é possível termos hoje PHAs que

apresentam temperaturas de transição vítreia (Tg) e temperaturas de fusão Isso que variam largamente de -40 a 5 °C e de 50 a 180 °C, respectivamente.¹² Os polihidroxialcanoatos – PHAs, seus copolímeros e blendas (misturas de polímeros) podem ser utilizados como materiais de implantes biomédicos e outras aplicações. Alguns tipos de PHAs e suas aplicações são citados por vários pesquisadores, na Tabela 1.¹⁴⁻³³

Importante a esta altura definir a palavra inglesa “*Scaffold*”, adotada correntemente em trabalhos científicos escritos na língua portuguesa. Scaffold pode ser definido como um material poroso sólido, designado para exercer as funções de (a) promover interações entre o biomaterial e células nele depositadas, bem como adesão celular e funcionar como matriz para depósito extracelular (em inglês ECMD), (b) permitir transporte de gases, nutrientes e fatores reguladores que permitem a sobrevivência das células, sua proliferação e diferenciação, (c) minimizar inflamações, (d) desintegrar numa taxa próxima à taxa de regeneração do tecido de interesse.¹³

Tabela 1: Aplicações de alguns polihidroxialcanoatos (PHAs) na área biomédica.

Tipos de PHA	Aplicações
Poli(3HB), poli(3HB-co-3HHX) blendas	Scaffolds (suportes), regeneração de pele e nervos, construção de esôfago artificial, tecidos moles, dispositivos de liberação lenta de drogas, etc. ¹⁴⁻¹⁸
mcl-PHA/scl-PHA	Engenharia de tecidos cardíacos, cosméticos, liberação lenta de drogas, etc. ¹⁹⁻²³
Poli(4HB), Poli(3HO)	Suporte de válvulas cardíacas, aditivo de alimentos. ^{18,24}
Poli(3HB-co-4HB), Poli(3HB-co-3HB)	Válvula cardíaca artificial, remendos de reparo do trato gastrointestinal, suturas, dispositivos de liberação controlada, etc. ²⁵⁻³⁰
Poli (HB), Mirel P103	Vasilhas de shampoo e cosméticos, containers de alimentos, copos e outras aplicações e mercado. ³¹⁻³³

(mcl-PHA = PHA de cadeia média; scl-PHA = PHA de cadeia curta)

É possível manipular a composição dos PHAs para obter propriedades desejadas como, por exemplo, biocompatibilidade e tempo de degradação de dispositivos de liberação controlada de medicamentos em ambientes desejados. As potenciais aplicações dos PHAs a serem exploradas permanecem à disposição dos pesquisadores que atuam nesta e em outras áreas.

1.2.2 *Poli(ácido lático) e derivados*

Outro poliéster biobased de grande importância e mais amplamente usado na atualidade é o **Poli(ácido lático)** e seus derivados. Trata-se de um poliéster alifático que já é conhecido desde 1845, porém só começou a aparecer no mercado no início da década de 1990. Seu monômero é o ácido lático ou ácido hidroxicarboxílico, que pode ser obtido pela fermentação bacteriana alimentada por fontes renováveis como amido ou outros polissacarídeos contendo açúcares, disponíveis em milho, beterraba, cana-de-açúcar, batatas e outras biomassas.^{34,35} Sua estrutura química permite que sejam obtidos dois tipos de isômeros, ou seja, L-ácido lático e D-ácido lático, que darão origem aos polímeros PLLA e PDLLA, respectivamente. A presença de iguais quantidades de L- e D-ácido lático leva ao meso-ácido lático ou PDLLA. Ressalta-se que a forma do L-ácido lático, obtida por via fermentativa, é a predominante. Embora PLA possa também ser obtido por síntese química, a fermentação microbiana tem suas vantagens, como a escolha da bactéria que produz somente um tipo de isômero que resultará num ácido lático puro e a maior quantidade de produto obtida. Também por essa via de produção de ácido lático, podem-se utilizar substratos renováveis, muitas vezes oriundos de resíduos agrícolas ou industriais, e temperaturas abaixo de 50 °C, levando à economia no consumo de energia.³⁶⁻³⁹ PLA nível comercial é constituído de um copolímero de PLLA com PDLLA.⁴⁰

A síntese química do PLA se dá por duas vias, ou seja, por reação de policondensação direta dos monômeros de ácido lático; e por reação de abertura de anel, formado pela reação de condensação entre duas moléculas de ácido lático (anel de dímero lactídeo). A primeira apresenta a dificuldade de retirada de água durante o crescimento das cadeias poliméricas. A segunda não apresenta esse inconveniente, pois ocorre a partir dos dímeros lactídeos e catalisador via reação de abertura do anel dimérico.⁴¹ Em outro capítulo deste livro serão

abordadas as reações de formação de polímeros com mais detalhes. Entretanto, é importante adiantar que as propriedades finais do Poli(ácido lático) produzido variarão em função da razão de D e L. Um exemplo é a temperatura de fusão do PLA, que aumentou de 125 para 178 °C quando aumentou a quantidade de monômero L no PLA de 80 até 100%, respectivamente.⁴²

Quando comparado a outros polímeros termoplásticos, o PLA tem uma temperatura de transição vítreia (T_g) alta, ao redor de 63 °C, e apresenta uma temperatura de fusão baixa, próxima de 170 °C. Além disso, sua cristalização é lenta e ocorre entre 80 e 140 °C, sendo obtida normalmente no estado amorfó em taxas de resfriamento altas; porém, se melhores propriedades mecânicas e resistência térmica são desejáveis, um “annealing” após um processo de injeção de uma peça é recomendado.⁴³ Quando no estado semicristalino, o PLA apresenta módulo de elasticidade (E) em torno de 3 a 4 x 10³ Mpa, força elástica entre 50 e 70 Mpa e elongação na ruptura variando de 2 a 10%.⁴⁴

Mudanças nas propriedades indesejadas do PLA, como fragilidade e instabilidade térmica, podem ser feitas para ampliar suas aplicações. Assim, o uso de plastificantes como glicerol, ésteres de ácidos graxos, citratos, ou formação de blendas (misturas) com outros polímeros como o poliéster da caprolactona ou 18eteroatomos18es18 (PCL), poli(óxido de etileno) – PEO, poli(etileno glicol) – PEG podem melhorar o desempenho do PLA. É possível aumentar a estabilidade térmica, mecânica e resistência à degradação hidrolítica de PLA introduzindo-se cargas inorgânicas como, por exemplo, Montmorillonite (MMT), sílica, e outras.⁴⁰⁻⁵⁴

O potencial do PLA em substituir polímeros já estabelecidos no mercado, como o poli(etileno tereftalato)-PET, o poliestireno-PS e o policarbonato-PC, tem sido bastante explorado para além da área médica, como as áreas de embalagens, eletrônica e automotiva⁵⁵. Na Tabela 2 que segue, notamos algumas aplicações de PLA, seus copolímeros e blendas:

Tabela 2: Algumas aplicações de Poli(ácido lático) – PLA e seus derivados.

Polímeros	Aplicações
PLGA/PGA	Substituição de válvula pulmonar ovina.
PLA/Quitosana	Carreadores de drogas/Dispositivos de liberação.

PLA/PLGA/Quitosana/PLA PLGA e copolímeros	Suturas degradáveis.
PLA/HA compósitos	Scaffolds (arcabouços) porosos para aplicações celulares.
PLA-CaP PLGA-CaP	Dispositivos de fixação de osso, placas, pinos, stents, parafusos, fios, aplicações ortopédicas. Recobrimento de implantes metálicos.
PDLLA	Uso em terapia genética baseada em células para tratamento de doenças vasculares, tecidos musculares, regeneração de osso e cartilagem, etc.
PLA/PLGA	
PLA e suas blendas	Filmes para embalagens, containers de commodities, celulares, tapetes, partes internas de automóveis, etc.
PLA	Aplicações têxteis.
PLLA	Cosmetologia: agente de volume, agente de correção macular, etc.

Adaptada de Babu *et al.* (2013).⁴²

Destaca-se que o PLA, considerado um dos principais derivados químicos da biomassa, tem um papel fundamental para o futuro das biorrefinarias. Sua produção já é considerada de baixo custo, apresenta alto rendimento e pode ser obtido o ano todo uma vez que os microrganismos podem ser alimentos por insumos renováveis e baratos, como o açúcar de cana, bastante abundante no Brasil.

1.2.3 Polibutileno succinato – PBS e derivados

Assim como PLA e seus derivados, outro poliéster que está sendo potencialmente explorado é o Polibutileno succinato – PBS, outro poliéster alifático semicristalino, semelhante ao PET em propriedades. Assim como PLA, o PBS pode ser produzido via derivados de petróleo ou por rota fermentativa para produzir polímero biobased. Além de

apresentar alto ponto de fusão, superior ao PLA, esse polímero apresenta propriedades térmicas e mecânicas que variam em função do seu grau de cristalinidade.⁵⁶ Sua cristalização e suas propriedades mecânicas têm muita semelhança com o polietileno, apresentando boa resistência ao impacto e à tração e moderadas dureza e rigidez. Sua Tg é detectável abaixo de zero grau (~32 °C) e sua Tm ocorre acima de 100 (~115 °C). Se comparado ao PLA, possui menor rigidez e módulo de elasticidade (E); entretanto, sua versatilidade para ser obtido com diferentes composições monoméricas torna viável a produção de PBS com propriedades adequadas a certas aplicações.^{57,58} Assim, copolímeros de PBS com monômeros do ácido adípico têm resultado num material (PBSA) menos cristalino e mais flexível, próprio para utilização em embalagens.^{59,60} Algumas aplicações desse polímero biobased estão resumidas na Tabela 3 que segue.

Tabela 3: Alguns Polibutileno succinato-PBS e misturas.

PBS	Aplicações
PBS/PLA	Materiais médicos, fibras, louças, filmes de embalagens. ^{57,58,61}
PBS e blendas	Sistemas de encapsulação de drogas. ⁶² Aplicações comerciais na área Agrícola, Pesca, Florestal, Construção, etc. ⁶³
PBS/Amido	Filmes de barreira. ⁶⁴
PBS e copolímeros	Aplicações industriais. ^{65,66}
PBS - ionômeros	Aplicações ortopédicas. ⁶⁷

Adaptada de Doug (2010).⁶⁸

A produção do ácido succínico, que faz parte do monômero do PBS junto com 1,4-butanodiol, é bastante atrativa se comparada aos processos químicos de obtenção deste polímero, uma vez que utiliza fontes renováveis e reduz o gasto de energia. Por esse motivo, várias companhias pelo mundo estão investindo nessa rota, como a Mitsubishi no Japão que se aliou à Ajinomoto na comercialização de PBS-biobased. Outras companhias incluem a

Myriant e Bioamber, Basf (Alemanha), DSM (Holanda), SK Chemicals (Coreia) Dupont de Nemours (EUA), etc.⁶⁹

A fonte renovável usada para obtenção de matéria-prima biobased é a glucose de fontes renováveis para originar ácido succínico, que posteriormente será reduzido quimicamente para a produção de butanodiol. A síntese do polímero seguirá via policondensação convencional. Opções de utilização de outros ácidos renováveis além do succínico são possíveis, tais como o ácido adípico e o sebácico.⁷⁰

1.3 Polissacarídeos Biobased

Polissacarídeos (Poliaçúcares) são compostos biobased formados por ligações glicosídicas de monossacarídeos (açúcares simples, como glucose). A forma como os monômeros se conectam pode originar diferentes moléculas; ou seja, podem-se obter cadeias lineares e/ou ramificadas. Exemplos de polissacarídeos são Amido, Quitina/Quitosana, Ácido hialurônico, Alginato, Dextransa e Pululana, dos quais falaremos a seguir. Entretanto, ressalta-se que não serão discutidos todos, uma vez que a ideia é definir e mostrar essa classe de biobased e algumas de suas aplicações importantes.^{71,72}

1.3.1 Amido

Este polímero biobased se constitui num carboidrato encontrado em abundância na natureza, resultante da fotossíntese de plantas e já bem conhecido na literatura. Apresenta-se na forma de grânulos discretos e pode ser extraído de várias fontes como batata, milho, trigo, mandioca, arroz, dentre outras, com potenciais fontes ainda não exploradas. Seus componentes polissacarídeos principais são a amilose [α -D(1-4 glucano)], de cadeia linear, e a amilopectina [$(\alpha$ -D(1-4 glucano), com ramificações α -D(1-6 glucano)], de cadeia ramificada e responsável pela sua cristalinidade. A variação nas proporções desses dois componentes dependerá da fonte de onde o amido for extraído.^{71,72}

Uma das comercializações mais importantes de amido na área de Polímeros (Plásticos) é sua versão plastificada, conhecida como amido termoplástico (TPS), permitindo que seja processado sozinho ou em combinação com outros polímeros de fontes renováveis ou fósseis.

Devido à variação de Tg do amido, na faixa de aproximadamente -50 °C a 110 °C, suas propriedades termomecânicas variam significativamente, podendo ser controladas em parte pelo uso de plastificantes.⁷³ A plastificação do amido é um processo que ocorre após sua gelatinização, ou seja, processo de destruição de sua estrutura granular que dá origem a uma matriz polimérica viscoelástica amorfa para obtenção do amido termoplástico (TPS). A plastificação é feita pela adição de substâncias (plastificantes) que se inserem entre as cadeias do polímero, impedindo sua reestruturação e a consequente formação de um polímero com maior cristalinidade e propriedades termomecânicas não desejáveis, para aplicações em engenharia. No caso do amido, compostos com alta afinidade com sua natureza hidrofílica e com baixas massas molares, como aminas e polióis, são utilizados para aumentar a mobilidade e conferir flexibilidade às suas cadeias, além de diminuir sua Tg e cristalinidade.^{74,75} Na Tabela 4 encontram-se resumidas algumas das muitas aplicações do amido, focando apenas três áreas: Alimentos, Agricultura e Médica.

Tabela 4: Algumas aplicações de amido.

Área	Aplicações
Alimentos	Indústria de bebidas e alimentos em geral, embalagens flexíveis e rígidas, filmes comestíveis, espumas expandidas, cutelaria descartável, bandejas, copos, aglutinante de compensados de madeira, rações animais, etc. ⁷⁶⁻⁷⁹
Agricultura	Cobertura de estufas e de plantas, dispositivos de liberação controlada de fertilizantes, tubetes para plantio de mudas, etc. ⁸⁰⁻⁸⁶
Medicina	Scaffolds para crescimento de tecido ósseo, dispositivos de liberação controlada de medicamentos, hidrogéis altamente hidrofílicos para fraldas descartáveis, células artificiais vermelhas do sangue, etc. ⁸⁷⁻⁹¹

Uma das aplicações mais recentes e bem-sucedidas de amido, na área de cicatrização de feridas, foi relatada por Waghmare *et al.* (2018).⁹² Esses pesquisadores eletrofiaram uma mistura (blend) de amido e poli(álcool vinílico) para utilização no crescimento de células fibroblásticas L929 de rato, que ocorreu sem aparecimento de efeitos tóxicos do material desenvolvido. Desse modo, abriu-se mais um campo novo para aplicação desse polímero biobased, biocompatível e biodegradável.

1.3.2 Ácido Hialurônico – HA

Este polissacarídeo polianiônico está presente no fluido corpóreo de todos os vertebrados superiores e no fluido 23eteroat, ajudando a manter a estrutura das células e a umidade da pele.^{93,94} Na pele, ele colabora com cerca de 50% do total de todo HA do corpo e, além do líquido 23eteroat, ele faz parte do humor vítreo, cordão umbilical, tendões, juntas, pleura, pericárdio, etc.⁹⁵⁻⁹⁹

Comercialmente, ele pode ser obtido de cordão umbilical, pele, crista de gallo ou mesmo por fermentação bacteriana. Ele tem papel de extrema importância em processos que ocorrem no organismo como 23eteroato, angiogênese e inflamação. A sua estrutura polissacarídica é linear, cujo monômero de origem é um dissacarídeo de N-acetyl D-glucosamina e ácido D-glucurônico, com alta massa molar, da ordem de 10^5 - 10^7 g/mol, que lhe confere alta viscosidade e poder de lubrificação. Assim, este polímero biobased é indicado para conferir elasticidade à pele e também para conferir resiliência às compressões da cartilagem, sendo aplicado na forma de injeções intra-articulares no tratamento da osteoartrite precoce de joelhos.^{100,101} Como todo polímero, sua massa molar pode influenciar suas propriedades reológicas, seu tempo de meia-vida e suas funções biológicas. Exemplo disso são as propriedades anti-inflamatória e de mucoaderência que só ocorrem quando o ácido Hialurônico (HA) possui altas massas molares. Uma desvantagem de HA é sua alta solubilidade em água que limita sua aplicação em engenharia de tecidos, a menos que modificações na cadeia do polímero sejam feitas, tais como reticulações, grafitizações, introdução de novos grupamentos químicos (tióis, metacrilatos, etc.), para modificar seu grau de hidrofilicidade.¹⁰²

Como polieletrólico, as propriedades reológicas do HA em solução sofrem grande influência do pH, da temperatura e da força iônica da solução. Quando tais parâmetros

aumentam, sua alta viscosidade diminui significativamente como sinal do enfraquecimento das interações entre cadeias.¹⁰³ Particularmente, o ácido hialurônico é muito sensível ao pH em virtude das forças de atração e de repulsão entre as cadeias, que variam com este parâmetro.¹⁰⁴ Em ambiente muito alcalino ($\text{pH} > 11$) ou muito ácido ($\text{pH} < 4$), ocorre a degradação do HA por hidrólise; assim, tanto o caráter eletrolítico quanto as diferentes estruturas que o poli(ácido hialurônico) assume, em diferentes valores de pH, respondem pelo seu comportamento reológico.^{103,105,106-110}

O perfil pseudoplástico exibido pelo HA se deve à quebra de ligações de hidrogênio intermoleculares e às interações apolares em taxas de cisalhamento crescentes. Quando as taxas aumentam, as cadeias do polímero se alinham na linha de fluxo e, assim, diminui a viscosidade do sistema; com isso, a manipulação da solução é facilitada para certas aplicações, como eletrofiação, por exemplo. No entanto, o sistema é restaurado quando a taxa de cisalhamento é diminuída ou cessada, devido ao comportamento tixotrópico desse polímero.¹¹¹

O crescente interesse em HA, por farmacêuticos, médicos, indústria alimentícia e de cosméticos, entre outras, foi estimado pelo mercado global em 2016 em aproximadamente US\$ 7 bilhões, com estimativa para crescer o dobro em 2025.¹¹² Isso se deve à suas características anti-inflamatória, cicatrizante de feridas e imunossupressora, aliadas à sua biocompatibilidade, biodegradabilidade, mucoadesividade, viscoelasticidade, lubricidade, dentre outras características atraentes. Com isso, o interesse na produção desse produto biobased tem crescido exponencialmente.¹¹¹ Entretanto, a otimização dos processos de obtenção de HA, que satisfaça os requisitos de alta qualidade e pureza, baixo custo e grande oferta, tem sido um desafio.^{113,114} A produção atual de ácido hialurônico é baseada em fermentação microbiana, biocompatível com o corpo humano devido à forte semelhança estrutural entre as diferentes espécies.^{113,115} Inicialmente produzido com as linhagens A e C de *Streptococcus*, outras bactérias foram testadas, dando origem a produtos comerciais já disponíveis no mercado global, abrindo campo para exploração de outros microrganismos produtores de ácido hialurônico e mesmo para a utilização de enzimas que permitem obter um produto com massa molar bem definida.¹¹⁶⁻¹¹⁸ Na Tabela 5 encontram-se algumas das principais aplicações de ácido hialurônico-HA.

Tabela 5: Algumas das principais aplicações de Ácido Hialurônico (HA) e benefícios.

Áreas de Aplicação	Exemplos de tratamentos e Drogas associados ao HÁ	Benefícios
Sistemas de liberação de drogas.	<p><u>Pró-drogas:</u> Exedina¹¹⁹; hidrocortisona, prednisona, prednisolona, dexametasona¹²⁰; P40¹²¹; curcumina¹²²; liposomas¹²³; Doxorubicina¹²⁴; docetaxe¹²⁵; tratamento de feridas e queimaduras¹²⁶, etc.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - O maior benefício: ausência de toxicidade quando comparado a muitos sistemas convencionais de administração de drogas.
Sistemas de liberação de drogas.	<p><u>Drogas encapsuladas em Nanopartículas/doença:</u> Dexametasona/Asma¹²⁷; valerato de betametasona/dermatite¹²⁸; Vitamina E/feridas¹²⁹; outras/osteoartrite¹³⁰ e câncer¹³¹⁻¹³³, etc.</p>	
Oncologia	<p><u>Drogas encapsuladas em Nanopartículas/para tratar:</u> Ofloxacina¹³⁴ e salbutamol sulfate¹³⁵/doença pulmonar; suplementação óssea¹³⁶, etc.</p> <p><u>Hidrogéis:</u> Liberação tópica de anti-inflamatórios¹³⁷, Antibacterianos¹³⁸, anticorpos e proteínas¹³⁹. Potencial para aplicações intraoculares¹³⁹, intratímpano¹³⁷, intra-articular¹³⁸ e liberação cutânea¹⁴⁰.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Resultados promissores segundo muitas pesquisas e em fase de

	<p><u>encapsuladas:</u></p> <p>HA-Policaprolactona/naringenina^{132,133};</p> <p>HA-Quitosana/5-fluoracil¹³³;</p> <p>Conjugados de HA-paclitaxel.¹⁴¹⁻¹⁴³</p>	<p>otimização para lançar no mercado.^{133,141,142}</p>
Oftalmologia	Soluções consistindo de HA ou derivados como HA-etil éster de cisteína ¹⁴³ e HA reticulado com ureia. ¹⁴⁴	<ul style="list-style-type: none"> - Proteção e lubrificação dos tecidos dos olhos, substituição de fluido vítreo, auxiliar em intervenções oculares cirúrgicas¹⁴⁶, tratamento da secura ocular.^{145,147,148}
Urologia	HA puro ou conjugado com Sulfato de Condroitina ou alfabloqueadores. ^{149,150}	<ul style="list-style-type: none"> - Terapia intravesical: a droga é administrada diretamente na bexiga, através de um cateter. - Tratamento de recorrências e sintomas devido a cistite bacteriana, proteção da mucosa da bexiga.^{149,150}
Rinologia e Pneumologia	Spray nasal de solução salina hipertônica e nebulizador com solução viscosa de HA. ¹⁵¹	<ul style="list-style-type: none"> - Tratamento de inflamações Nasais e de doenças do pulmão, Rinite alérgica, asma, fibrose cística, etc.¹⁵¹⁻¹⁵⁶
Ortopedia-Arthrologia	Injeções intra-articulações de HA de alta massa molar e seus derivados para suplementação de material viscoso já existentes e comercializados no mercado. ¹⁶⁰⁻¹⁶²	<ul style="list-style-type: none"> - Absorção de impacto mecânico e protetor antifricção de juntas ósseas.^{98,157,158} - Restauração de fluido sinovial.¹⁶⁰ - Evita a degradação da cartilagem.^{159,162,163} - Tratamento de artrite reumatoide e osteoartrite, reduzindo as dores e efeitos adversos.¹⁵⁹

1.3.3 Quitina e Quitosana

Segundo a literatura, a Quitina e seu derivado Quitosana são os polissacarídeos aminados mais abundantes e valiosos polímeros biobased extraídos de cascas de camarões e

caranguejos. Entretanto, a produção de Quitina também é possível por hidrólise enzimática, usando Quitina sintase, ou por fermentação; tais processos, porém, não são economicamente viáveis em escala industrial.^{164,165} O polissacarídeo Quitina e seu derivado Quitosana são bastante explorados na literatura científica, em virtude da sua ampla faixa de utilização que deve ser ainda mais investigada.

Em sua maioria, os polissacarídeos encontrados na natureza são neutros ou ácidos; porém, Quitina e Quitosana são altamente básicos. O interesse comercial sobre esses biobased está no seu alto teor de Nitrogênio, entre 5 a 8%, que torna a Quitina, por exemplo, um agente quelante extremamente útil. Entretanto, o caráter hidrofóbico da Quitina exige que esta seja desacetilada para se obter a Quitosana, seu derivado policationico solúvel em meio aquoso ácido. Como outros polímeros iônicos, as propriedades de Quitosana são influenciadas pelo pH, bem como de sua massa molar e, neste caso, de seu grau de desacetilação.

Importantes propriedades antifúngicas e antimicrobianas exibidas por Quitosana inibem a proliferação de muitos tipos de leveduras, bactérias e fungos. Isso se deve à capacidade desse 27eteroatomos, quando em solução, de se ligar à superfície negativa das células dos microrganismos impedindo-os de assimilar Ca⁺² e, assim, enfraquecendo suas membranas de sustentação.¹⁶⁶ Como antimicrobiano, Quitosana tem efeito inibitório sobre muitas espécies como: *Candida albicans*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus pyogenes*. Esse papel é extremamente importante quando se trata de utilização de Quitosana para curativos e bandagens, pois muitos materiais podem causar toxicidade e atrasar a cicatrização da ferida ou mesmo desencadear uma resistência bacteriana. Portanto, o uso de Quitosana nessas situações dispensa o uso de agentes antibacterianos e a troca das ataduras ou mesmo de implantes.¹⁶⁷ Além dessa função importante, muitas características apresentadas pela Quitosana, como biodegradabilidade, absorção de água, permeabilidade ao oxigênio, coagulação sanguínea e indutor de Citocina, potencializam o uso desse 27eteroatomos como material para obtenção de *scaffolds* ou “arcabouços”.^{168,169} Muitas outras aplicações são relatadas sobre o uso de Quitosana e/ou derivados, como ingrediente em formulações de shampoo, enxaguantes, agentes de coloração de cabelo, itens de cuidados com a pele, etc., podendo competir com o ácido hialurônico em suas aplicações, a preços mais baixos.¹⁷⁰ Dentre as várias drogas que podem ser carreadas por matrizes de Quitosana, podem-se citar

algumas como Insulina, Doxorubicina, 28eteroatomo-HCl, Ácido ascórbico, 5-fluoracil, Paclitaxel, Diclofenaco sódico entre outras.¹⁷¹⁻¹⁷⁷

1.3.4 Alginato

Este membro da família dos polissacarídeos é bastante interessante e muito utilizado em aplicações biomédicas devido a vários aspectos como biocompatibilidade, baixa toxicidade e custo relativamente baixo.¹⁷⁸ Sua estrutura revela um copolímero formado por unidades de ácido Manurônico, que formam os denominados blocos M na cadeia, e de ácido Glucurônico, que formam blocos G. Dependendo do processo de produção do Alginato, o conteúdo M e G varia, bem como seu tamanho (massa molar) e sua sequência nas cadeias, afetando as propriedades físicas do polímero e dos hidrogéis dele obtidos.

Diferentes derivados de Alginato, com variadas estruturas, propriedades e funções, podem ser obtidos por modificações químicas.^{179,180} Adicionalmente, o Alginato apresenta a propriedade de formar hidrogéis na presença de cátions que complexam e reticulam as cadeias por meio dos grupamentos carboxilatos presentes nos monômeros G. Portanto, o grau de reticulação entre as cadeias do Alginato será função do teor de monômeros de ácido Gulurônico. Os hidrogéis assim obtidos são de grande aplicação na área biomédica, como a de transplante de células e liberação controlada de medicamentos, desde que cuidados sejam tomados para não serem utilizados produtos contaminados com impurezas oriundas da extração do polímero das fontes naturais.¹⁸¹⁻¹⁸⁴ A estrutura tridimensional dos hidrogéis de Alginato são altamente porosas e favorecem o intumescimento das suas cadeias devido à presença de grupamentos hidrofílicos. Deste modo, o gel resultante pode acomodar por mais tempo um fármaco em seu interior e retardar a sua liberação, mantendo o sistema de liberação controlada da droga por mais tempo.¹⁸⁴⁻¹⁸⁶ A propriedade mucoadesiva do Alginato destaca esse polímero biobased em importantes aplicações no corpo humano, em diversos locais de tratamento, tais como bucal, nasal, ocular, gastrointestinal e vaginal.¹⁸⁷⁻¹⁹⁸ O contato altamente favorecido entre Alginato e mucina (proteínas presentes no muco que cobre a superfície dos tecidos epiteliais) permite uma adesão mais prolongada de dispositivos de liberação controlada carreadores de fármacos, no tratamento de distúrbios gastrointestinais, com destaque para dispositivos carreadores de drogas instáveis ou que são sensíveis ao pH alcalino.^{199,200} Na Tabela 6, mostramos alguns exemplos de polissacarídeos e aplicações médicas comerciais.

Tabela 6: Exemplos de aplicação de alguns polissacarídeos biobased, principalmente de origem Microbiana, focando a área médica.

Polissacarídeo	Fonte	Aplicação
Ácido Hialurônico	<i>Streptococcus sequisimilis/zooepidemicus; Bacillus subtilis</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Feridas crônicas de difícil cicatrização. - Tratamento da osteoartrite: injeção intra-articular. - Cirurgia oftalmica: substituição ou reposição do humor vítreo.
Quitina e Quitosana	Carapaças de crustáceos, exoesqueletos de insetos e outros artrópodes	<u>Em engenharia de tecidos:</u> <ul style="list-style-type: none"> - Eletrofiação de scaffolds. - Esponjas indutoras de formação óssea e cartilagens. - Partículas indutoras de tecidos de cartilagem e osteocondral. - Injetáveis para entrega de células para recomposição de cartilagem.
Alginato	<i>Azotobacter vinelandii;</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Agente desintegrante em comprimidos; espessante, estabilizador em suspensões e emulsões farmacêuticas; impressões dentárias; protetor de estômago/antiácido (antirrefluxo); microesferas para entrega de drogas; fibras em curativo hemostático de feridas e ataduras.
Dextrana	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Potencial uso para dispositivos imunogênicos carreadores de drogas e proteínas, de baixo custo. - Expansor de volume do plasma

		sanguíneo.
Pululana fúngica	<i>Aureobasidium pullulans</i>	- Granulação e revestimento de comprimidos, aglutinante e formador de filme impermeável ao oxigênio, cápsulas orais e produtos para cuidado de feridas.

Adaptada de Park *et al.* (2017)²⁰¹; Moscovici (2015).²⁰²

Além dos polissacarídeos já citados em texto ou em tabelas, existem outros também importantes e com aplicações em vários setores, inclusive no de alimentos, que não serão abordados aqui.

1.4 Proteínas

1.4.1 Colágeno, Gelatina e Seda

O Colágeno constitui a principal proteína dos tecidos conjuntivos de animais e a mais abundante nos mamíferos, correspondendo a cerca de 30% da concentração total das proteínas no corpo.²⁰¹⁻²⁰³ Em virtude de sua reconhecida biocompatibilidade, biodegradabilidade, baixa antigenicidade, capacidade de reticulação, alta resistência mecânica, absorção de água, e potencial para degradação, o Colágeno faz parte da lista de biomateriais indicados para utilização como dispositivo para liberação controlada e também na engenharia de tecidos.²⁰⁴ As várias estruturas que o Colágeno pode adquirir abrem muitas possibilidades de aplicação, tais como pele, osso e tendão (colágeno tipo I), cartilagem (colágeno tipo II), vasos sanguíneos (colágeno tipo III).²⁰⁵ Quando reticulado, o colágeno forma redes tridimensionais que podem ser utilizadas para Scaffolds (arcabouços), que podem ser degradados enzimaticamente no corpo ao longo do tempo de acordo com a taxa de reticulação de suas cadeias.²⁰⁶

Quando parcialmente hidrolisado, o colágeno dá origem à gelatina cujas propriedades dependem da fonte de origem, da idade do animal e do tipo deste colágeno. Na área farmacêutica e médica, a gelatina é utilizada como agente gelificante reversível em

virtude da sua biodegradabilidade e biocompatibilidade em ambientes fisiológicos. Também a gelatina pode ser utilizada com Scaffolds quando reticulada para melhorar suas propriedades mecânicas, utilizando agentes reticulantes conhecidos, como a carbodiimida e o glutaraldeído.^{207,208}

Outro polímero biobased muito conhecido é a seda, extraída do casulo do bicho-das-seda (*Bombyx mori*). Essas proteínas podem ser adequadamente processadas para a obtenção de géis, nanofibras, filmes, membranas, etc. para utilização como scaffolds, membranas de barreira, dispositivos de liberação controlada de drogas, etc.^{209,210}

1.5 Polímeros biobased derivados de terpenos e terpenoides

Terpenos são substâncias orgânicas naturais, abundantes e os principais componentes de resinas que compõem muitas plantas, em especial as coníferas. Na natureza, essas substâncias são usadas para defender as plantas contra herbívoros, como fungos, bactérias e protozoários. Várias derivações químicas dessas substâncias podem resultar em diversos produtos denominados Terpenoides que, junto com os terpenos, podem ser utilizados em produtos farmacêuticos, cosméticos, óleos essenciais, etc. A possibilidade de produzir polímeros a partir dos terpenos e terpenoides abre uma gama de possibilidades, permitindo obter polímeros biobased com aplicações potenciais a serem exploradas. Já existem trabalhos relatados na literatura científica sobre a obtenção de politerpenos biobased com alta Tg e excelentes propriedades amorfas.²¹¹

Dentre os terpenos, os pinenos são importantes e vastamente conhecidos. Os polipinenos derivados são polímeros alicíclicos constituídos de β -pineno ou α -felandreno, são amorfos, com alta Tg (> 130 °C) e apresentam excelente transparência.^{212,213} Os polipinenos de alta massa molar são preparados por polimerização catiônica, usando um ácido de Lewis no processo de polimerização dos monômeros. Porém, a polimerização em escala industrial requer baixas temperaturas (-70 °C), o que torna o processo inviável. No entanto, a polimerização via radical de pinenos previamente modificados tem se mostrado uma alternativa à polimerização tipo catiônica. Pesquisa mostra que o α -pineno pode ser modificado para produzir a pinocarvona com um grupamento reativo exo-metileno, posteriormente envolvido na polimerização.²¹⁴

Um terpeno cílico bem conhecido é o Limoneno, o qual exala odor de frutas cítricas como o limão, cujo D-isômero é muito comum na natureza. Esse terpeno é largamente utilizado no setor de cosméticos e na indústria alimentícia. Seu valor agregado para produção de polímeros biobased via polimerização radicalar tem sido investigado.²¹⁵ A copolimerização do limoneno e outros monômeros foi estudada por alguns pesquisadores, os quais mostraram ser possível obter vários produtos, incluindo alguns especiais com altas Tgs (> 150 °C).²¹⁶⁻²¹⁸ Por sua vez, estudo com Mirceno e seu copolímero com dibutil-itaconato mostrou que é possível também obter produtos com baixa Tg, que podem ser aplicados como elastômeros biobased.²¹⁹ Alguns processos de polimerização de terpenos e suas Tg estão destacados na Tabela 7.

Tabela 7: Processos de Polimerização e Propriedades Térmicas de Politerpenos.

Monômero	Tipo de polimerização	Tg (°C)
α-pineno	Radical livre	162
β-pineno	Catiônica	132 90 130
Óxido de Limoneno	Transcarbonação	95 114
Óxido de Limoneno + Anidrido Ftálico	ROP, Esterificação	82
Mirceno/Estireno	Emulsão	-61
Derivado: Mirceno(3-metileno ciclopenteno)	Catiônica	11

Adaptada de Nakajima (2017).²¹¹

1.6 Mercado global dos bioplásticos biobased

Um panorama breve e simples do aumento da capacidade de produção desses polímeros, baseado em sua importância crescente no mercado mundial, pode ser visto na figura 1 abaixo:

PANORAMA DA PRODUÇÃO GLOBAL DE POLÍMEROS BIO-BASED
ENTRE 2013 - 2020

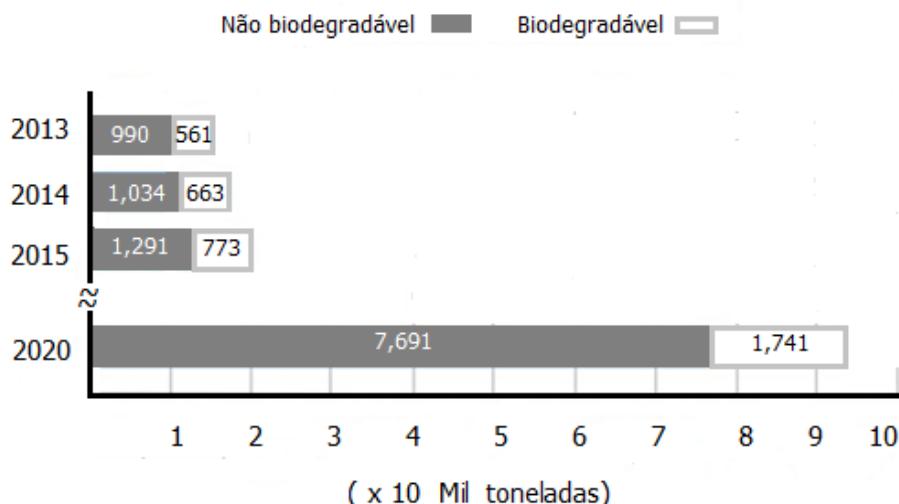


Figura 1: Produção global de polímeros biobased entre 2013 e 2020 (Adaptada de ²²⁰).

É notória a expansão dos plásticos biobased no mercado, devido à crescente cobrança das sociedades cujas diretrizes para a sustentabilidade estão bem avançadas, como no caso de vários países europeus. Essa expansão está bem documentada na mídia recente, onde consta que a produção global de plásticos biobased saltaria de aproximadamente 2 milhões para aproximadamente 2,6 milhões de toneladas até 2023. O poli(etileno tereftalato) – PET biobased deverá responder por mais de 70% da produção dos plásticos biobased não biodegradáveis, enquanto o poli(ácido lático) – PLA, biodegradável, continuará liderando essa classe de biobased no ranking de projeção para 2021 (Institute for Bioplastics and Biocomposites IfBB (2017)).²²¹ Dentre os segmentos do mercado onde estes polímeros são utilizados, os de bens de consumo e de construção terão leve alta em relação aos demais que deverão permanecer praticamente nos mesmos níveis atuais, segundo o Nova-Institut (2018).²²²

Ressalta-se que os dados estatísticos sobre esse tema são bem variados e o leitor poderá encontrar diferentes valores para a previsão de produção futura de biobased no mundo.

Uma das preocupações de quem não pertence a esse ramo do mercado paira sobre o uso da terra para plantio das fontes renováveis. Segundo dados do IfBB (2017), o uso da terra correspondente à economia que gira em torno dos bioplásticos é estimado em aproximadamente 15 milhões de hectares, o que equivale a 0,3% da área agricultável global

ou ~1% da terra arável. Ainda que a tendência de crescimento do mercado de bioplásticos esteja bem clara e consolidada, a necessidade de terras agrícolas ainda permanecerá em um nível bem baixo. Estimativas mostram que o uso de terra agriculturável global, para manter a economia dos bioplásticos em franca expansão, deverá ser da ordem de 0,04% (0,1% da terra arável).²²¹

1.7 Referências

1. CHEN, G.Q. & PATEL, M.K. “Plastics derived from biological sources: present and future: a technical and environmental review”. *Chem. Rev.*, vol. 112, 2012, pp. 2082-2099.
2. LACKNER, M. “Bioplastics”. *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*, 2015, pp. 1-41.
3. VROMAN, I. & TIGHZERT, L. “Biodegradable Polymers”. *Materials*, vol. 2, 2009, pp. 307-344.
4. MOHANTY, A.K.; MISRA, M. & HINRICHSEN, G. “Biofibres, biodegradable polymers and biocomposites: An overview”. *Macromol. Mater. Eng.*, vol. 276-277, 2000, pp. 1-24.
5. DOI, Y. *Microbial Polyesters*, VCH Publishers, New York, USA, 1990, 156 pp.
6. KATHIRASER, Y. *et al.* “Chemical Characterization of 34etero-chain length polyhydroxyalkanoates (PHAs) recovered by enzymatic treatment and ultrafiltration”. *J. Chem. Tech. Biotech.*, vol. 82, 2007, pp. 847-855.
7. FEI, T. *Et al.* “Effective Recovery of Poly-β-Hydroxybutyrate (PHB) Biopolymer from Cupriavidus necator Using a Novel and Environmentally Friendly Solvent System”. *Biotechnology Progress*, vol. 32, 2016, pp. 678-685.
8. JIANG, G. *et al.* “Carbon sources for polyhydroxyalkanoates and an integrated biorefinery”. *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 17, 2016, p. 1157.
9. STEINBUCHEL, A. & VALENTIN, H.E. “Diversity of bacterial polyhydroxyalkanoic acids”. *FEMS Microbiol. Lett.* Vol. 128, 1995, pp. 219-228.
10. SAVENKOVA, L. *et al.* “Mechanical properties and biodegradation characteristics of PHB-based films”. *Process Biochem.*, vol. 35, 2000, pp. 537-579.
11. REIS, K.C. *et al.* “Characterization of polyhydroxybuty-hydroxyvalerate (PHB-HV) maize starch blend films”. *J. Food Eng.*, vol. 89, 2008, pp. 361-369.

12. McHALICHER, C.W. & SRIENC, F. “Investigating the structure-property relationship of bacterial PHA block copolymers”. *J. Biotechnology*, vol. 132, 2007, pp. 296-302.
13. LANGER, R. & TIRRELL, D.A. “Designing materials for biology and medicine”. *Nature*, vol. 428(6982), 2004, pp. 487-492.
14. YANG, Y. *et al.* “Study on chitosan and PHBHHx used as nerve regeneration conduit material”. *J. Biomedical Eng.*, vol. 19, 2002, pp. 25-29.
15. CHEN, G.Q. & QIONG, W. “The application of polyhydroxyalkanoates as tissue engineering materials”. *Biomaterials*, vol. 26, 2005, pp. 6565-6578.
16. BAYRAM, C. *et al.* “Preparation and characterization of triamcinolone acetonide-loaded poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) (PHBHx) microspheres”. *J. Bioactive and Compatible Polymer*, vol. 23, 2008, pp. 334-347.
17. YING, T.H. *et al.* “Scaffolds from electrospun polyhydroxyalkanoate copolymers: fabrication, characterization, bio absorption and tissue response”. *Biomaterials*, vol. 29, 2008, pp. 1307-1317.
18. CLARINVAL, A.M. & HALLEUX, J. “Classification of biodegradable polymers. Part 1”. In: SMITH, R., Ed. *Biodegradable polymers for industrial applications*, 1. Ed., Boca Raton, CRC Press, Florida, USA, 2005, p. 552.
19. SODIAN, R. *et al.* “Early *in vivo* experience with tissue engineered trileaflet heart valves”. *Circulation*, vol. 102, 2000, pp. 22-29.
20. WANG, Z. *et al.* “Novel transdermal drug delivery system with polyhydroxyalkanoate and starburst polyamidoamine dendrimer”. *J. Biosci. Bioeng.*, vol. 95, 2003, pp. 541-543.
21. DE ROO, G. *Et al.* “Production of chiral R-3-hydroxyalkanoic acids and R-3-hydroxyalkanoic acid methylesters via hydrolytic degradation of polyhydroxyalkanoate synthesized by pseudomonas”. *Biotechnol. Bioeng.*, vol. 77, 2002, pp. 717-722.
22. ZHAO, K. *et al.* “Production of D-(-)-3-hydroxyalkanoic acid by recombinant Escherichia coli”. *FEMS Microbiol. Lett.*, vol. 218, 2003, pp. 59-64.
23. RUTH, K. *et al.* “Efficient production of L-3-hydroxycarboxylic acids by biotechnological conversion of polyhydroxyalkanoates and their purification. *Biomacromolecules*, vol. 8, 2007, pp. 279-286.
24. VALAPPIL, S.P. *et al.* “Biomedical applications of polyhydroxyalkanoates, an overview of animal testing and *in vivo* responses”. *Expert Rev. Med. Devices*, vol. 3, 2006, pp. 853-868.

25. TURESIN, F.; GURSEL, I. & HASIRCI, V. "Biodegradable polyhydroxyalkanoate implants for osteomyelitis therapy: *in vitro* antibiotic release". *J. Biomater. Sci. Polym.*, vol. 12, 2001, pp. 195-207.
26. WILLIAMS, S.F. *et al.* "PHA applications: addressing the price performance Issue: I. Tissue engineering". *Int. J. Biol. Macromolecules*, vol. 25, 1999, pp. 111-121.
27. CHEN, Q.Z. *et al.* "Biomaterials in cardiac tissue engineering: ten years of research survey". *Materials Sci. Eng.: Reports*, vol. 59, 2008, pp. 1-37.
28. FREIER, T. *Et al.* "In vitro and in vivo degradation studies for development of a biodegradable patch based on poly(3-hydroxybutyrate)". *Biomaterials*, vol. 23, 2002, pp. 2649-2657.
29. KUNZE, C.; EDGAR, B.H. & ANDROSCH, R. "In vitro and in vivo studies on blends of isotactic and atactic poly(3-hydroxybutyrate) for development of a dura substitute material". *Biomaterials*, vol. 27, 2006, pp. 192-201.
30. VOLOVA, T. *et al.* "Results of biomedical investigations of PHB and PHB/PHV fibers". *Biochem. Eng. J.*, vol. 16, 2003, pp. 125-133.
31. PHILIP, S.; KESHAVARZ, T. & ROY, I. "Polyhydroxyalkanoates: biodegradable polymers with a range of applications". *J. Chemical Tech. Biotech.*, vol. 82, 2007, pp. 233-247.
32. AMASS, W.; AMASS, A. & TIGHE, B. "A 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". *Polymer International*, vol. 47, 1998, pp. 89-144.
33. WALLE, G.A.M. *et al.* "Properties, modifications and applications of biopolymers". *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.*, vol. 71, 2001, pp. 264-291.
34. TASKILA, S. & OJAMO, H. "The Current Status and Future Expectations in Industrial Production of Lactic Acid by Lactic Acid Bacteria". In: KONGO, M., Ed. *Lactic Acid Bacteria – R and D – for Food, health and Livestock Purposes*. Oulu, Finland, InTech, 2013, pp. 615-632.
35. SUBRAMANIAN, M.R.; TALLURI, S. & CHRISTOPHER, L.P. "Production of lactic acid using a new homofermentative Enterococcus faecalis isolate". *Microb. Technol.*, vol. 8, 2015, pp. 221-229.

36. ABDEL-RAHMAN, M.A.; TASHIRO, Y. & SONOMOTO, K. "Recent advances in lactic acid production by microbial fermentation processes". *Biotechnology Advances*, vol. 31, 2013, pp. 877-902.
37. MARTINEZ, F.A.C. *et al.* "Lactic acid properties, applications and production: A review". *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 30, 2013, pp. 70-83.
38. PANESAR, P.S. *et al.* "Production of L(+) Lactic Acid using *Lactobacillus casei* from Whey". *Brazilian Archives of Biology and Technology*, vol. 53, 2010, pp. 219-226.
39. ARAYA-CLOUTIER, C.; ROJAS-GARBANZO, C. & VELAZQUES-CARILLO, C. "Effect of Initial Sugar Concentration on the Production of L(+) Lactic Acid by Simultaneous Enzymatic Hydrolysis and Fermentation of an Agro-Industrial Waste Product of Pineapple (*Ananas comosus*) Using *Lactobacillus casei* Subspecies *rhamnosus*". *Int. J. Biotechnol.*, vol. 506, 2012, pp. 91-100.
40. MARTIN, O. & AVÉROUS, L. "Poly(lactic acid): plasticization and properties of biodegradable multiphase systems". *Polymer (Guildf)*, vol. 42, 2001, pp. 6209-6219.
41. VINK, E.T.H. *et al.* "The eco-profiles for current and near-future NatureWorks polylactide (PLA) production". *Industrial Biotechnology*, vol. 3, 2007, pp. 58-81.
42. BABU, R.P.; O'CONNOR, K. & SEERAM, R. "Current progress on biobased polymers and their future trends". *Progr. Biomater.*, vol. 2, 2013, pp. 1-16.
43. SRITHEP, Y.; NEALEY, P. & TURNG, L.-S. "Effects of annealing time and temperature on the crystallinity and heat resistance behavior of injection-molded poly(lactic acid)". *Polym. Eng. Sci.*, vol. 53, 2013, pp. 580-588.
44. PEREGO, G. & CELLA, G.D. "Mechanical properties". In: AURAS R.; LIM L.T.; SELKE, S.E.M. & TSUJI, H., Eds. *Poly(Lactic Acid): Synthesis, Structures, Properties, Processing and Applications*, Wiley, New Jersey, USA, 2010, pp. 141-154.
45. BURGOS, N.; MARTINO, V.P. & JIMÉNEZ, A. "Characterization and ageing study of poly(lactic acid) films plasticized with oligomeric lactic acid". *Polym. Degrad. Stab.*, vol. 98, 2013, pp. 651-658.
46. LEBARBÉ, T. *et al.* "Fatty acid-based thermoplastic poly(ester-amide) as toughening and crystallization improver of poly(L-lactide)". *Eur. Polym. J.*, vol. 65, 2015, pp. 276-285.

47. LJUNGBERG, N. & WESSLÉN, B. "Tributyl citrate oligomers as plasticizers for poly(lactic acid): 38eteroa-mechanical film properties and aging". *Polymer (Guildf)*, vol. 44, 2003, pp. 7679-7688.
48. WANG, R. *et al.* "Morphology, mechanical properties, and durability of poly(lactic acid) plasticized with di(isononyl) cyclohexane-1,2-dicarboxylate. *Polym. Eng. Sci.*", vol. 49, 2009, pp. 2414-2420.
49. CHEE, W.K. *et al.* "Impact toughness and ductility enhancement of biodegradable poly(lactic acid)/poly(ϵ -caprolactone) blends via addition of glycidyl methacrylate". *Adv. Mater. Sci. Eng.*, vol. 2013, 2013, 8 p.
50. TODO, M. & TAKAYAMA, T. "Fracture Mechanisms of Biodegradable PLA and PLA/PCL Blends". In: PIGNATELLO, R., Ed. *Biomaterials – Physics and Chemistry, InTech*, 2011, pp. 375-394.
51. MOHAPATRA, A.K.; MOHANTY, S. & NAYAK, S.K. "Effect of PEG on PLA/PEG blend and its nanocomposites: a study of 38eteroa-mechanical and morphological characterization". *Polym. Compos.*, vol. 35, 2014, pp. 283-293.
52. WANG, J.; ZHAI, W. & ZHENG, W.-G. "Poly(ethylene glycol) grafted starch introducing a novel interphase in poly(lactic acid)/poly(ethylene glycol)/starch ternary composites". *J. Polym. Environ.*, vol. 20, 2012, pp. 528-539.
53. CHIENG, B.W. *et al.* "Poly(lactic acid)/poly(ethylene glycol) polymer nanocomposites: effects of graphene nanoplatelets". *Polymers (Basel)*, vol. 6, 2013, pp. 93-104.
54. LIU, M.; ZHANG, Y. & ZHOU, C. "Nanocomposites of halloysite and polylactide". *Appl. Clay Sci.*, vol. 75-76, 2013, pp. 52-59.
55. JAMSHIDIAN, M. *et al.* "Poly-lactic acid: production, applications, nanocomposites, and release studies". *Comprehensive Rev. Food Sci. Food Safety*, vol. 9, 2010, pp. 552-571.
56. JACQUEL, N. *et al.* "Synthesis and properties of poly(butylene succinate): efficiency of different transesterification catalysts". *J. Polym. Sci. Part A : Polym. Chem.*, vol. 49, 2011, pp. 5301-5312.
57. LIU, L. *Et al.* "Mechanical properties of poly(butylene succinate) (PBS) biocomposites reinforced with surface modified jute fibre". *Composites Part A: Appl. Sci. Manufacturing*, vol. 40, 2009a, p. 669-674.

58. LIU, L. *et al.* "Biodegradability of PBS composite reinforced with jute". *Polym. Degrad. Stab.*, vol. 94, 2009b, pp. 90-94.
59. MOCHIZUKI, M. *Properties and Application of Aliphatic Polyester Products. Biopolymer, Part 4, Polyesters*. New York, Wiley & Sons, River Street, Hoboken, 2005.
60. PUCHALSKI, M. *et al.* "Molecular and Supramolecular Changes in Polybutylene Succinate (PBS) and Polybutylene Succinate Adipate (PBSA) Copolymer during Degradation in Various Environmental Conditions". *Polymers*, vol. 10, 2018, pp. 1-12.
61. PIVSA-ART, W. *et al.* "Preparation of polymer blends between poly(L-lactic acid), poly(butylene succinate-co-adipate) and poly(butylene 39eteroa-co-terephthalate) for blown film industrial application". *Energy Procedia*, vol. 9, 2011, pp. 581-588.
62. BRUNNER, C.T. *et al.* "Performance of biodegradable microcapsules of poly(butylene succinate), poly(butylene succinate-co-adipate) and poly(butylene terephthalate-co-adipate) as drug encapsulation systems". *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 84, 2011, pp. 498-507.
63. LIN, N. *et al.* "Poly(butylene succinate)-based biocomposites filled with polysaccharide nanocrystals: Structure and properties". *Polymer Composites*, vol. 32, 2011, pp. 472-482.
64. ZENG, J.-B. *et al.* "Biobased blends of starch and poly(butylene succinate) with improved miscibility, mechanical properties, and reduced water absorption". *Carbohydr. Polym.*, vol. 83, 2011, pp. 762-768.
65. XU, J. & GUO, B.H. "Microbial Succinic Acid, Its Polymer Poly(butylene succinate), and Applications". In: CHEN, G.Q., Ed. *Plastics from Bacteria. Microbiology Monographs*, vol. 14, Springer, Berlin, 2010a, pp. 347-388.
66. XU, J. & GUO, B.H. "Poly(butylene succinate) and its copolymers: research, development and industrialization". *Biotechnol. J.*, vol. 5, 2010b, pp. 1149-1163.
67. LIM, J.S. & KIM, J.H. "New application of poly(butylene succinate) (PBS) based ionomer as biopolymer: a role of ion group for hydroxyapatite (Hap) crystal formation". *J. Mater. Sci.*, vol. 44, 2009, pp. 6398-6403.
68. DOUG, S. *Bioplastics: Technologies and global markets*. BCC Research Reports PLS050A, 2010, pp. 1-13. Disponível em:
<<https://www.bccresearch.com/market-research/plastics/bioplastics-technologies-markets-pls050a.html>>. Acessado em: 10/06/2019.

69. <<http://www.bccresearch.com/report/bioplastics-technologies-markets-pls050a.html>>. Acessado em: 12/05/2019.
70. BETCHTHOLD, I. *et al.* “Succinic acid: a new platform chemical from biobased polymers from renewable resources”. *Chemical Eng, Technol.*, vol. 31, 2008, pp. 647-654.
71. OTEY, F.H. & DOANE, W.M. “Chemicals from Starch”. In: WHISTLER, R.L.; BEMILLER, J.N. & PASCHALL, E.F., Eds. *Starch Chemistry and Technology*, 2. Ed. Academic Press, Orlando, FL, USA, 1984, p. 589.
72. ZOBEL, H.F. “Molecules to Granules: A Comprehensive Starch Review”. *Starch*, vol. 40, 1988, pp. 44-50.
73. JANE, J. “Starch properties, modifications and applications”. *J. Macromolecular Sci.*, vol. 32, 1995, pp. 751-757.
74. ZUO, Y. *et al.* “Thermoplastic starch prepared with Different plasticizers: Relation between degree of plasticization and properties”. *J. Wuhan University of Technology – Mater. Sci.*, vol. 30, 2015, pp. 423-428.
75. SOUZA, R.C.R. & Andrade, C.T. “Investigação dos Processos de Gelatinização e Extrusão de Amido de Milho”. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, vol. 10, 2000, pp. 24-30.
76. ZHAO, R.X.; TORLEY, P. & HALLEY, P.J. “Emerging biodegradable materials: Starch-and protein-based bio-nanocomposites”. *J. Mater. Sci.*, vol. 43, 2008, pp. 3058-3071.
77. THE, D.P. *et al.* “Biopolymer interactions affect the functional properties of edible films based on agar, cassava starch and arabinoxylan blends”. *Journal Of Food Engineering*, vol. 90, 2009, pp. 548-558.
78. FLORES, S. *et al.* “Antimicrobial performance of potassium sorbate supported in tapioca starch edible films”. *European Food Research Technology*, vol. 225, 2007, pp. 375-384.
79. SIRACUSA, V. *et al.* “Biodegradable polymers for food packaging: A review”. *Trends in Food Science and Technology*, vol. 19, 2008, pp. 634-643.
80. DILARA, P.A. & BRIASSOULIS, D. “Degradation and stabilization of low-density polyethylene films used as greenhouse covering materials”. *J. Agricultural Engineering Research*, vol. 76, 2000, pp. 309-321.
81. DAVE, A.M. *et al.* “A review on controlled release of nitrogen fertilizers through polymeric membrane devices”. *Polymer-Plastics Technology and Engineering*, vol. 38, 1999, pp. 675-711.

82. GUO, M. "Preparation and properties of a slow-release membrane-encapsulated urea fertilizer with superabsorbent and moisture preservation". *Industrial and Engineering Chemistry Research*, vol. 44, 2005, pp. 4206-4211.
83. KUMBAR, S. *et al.* "Encapsulation efficiency and release kinetics of solid and liquid pesticides through urea formaldehyde crosslinked starch, guar gum, and starch + guar gum matrices". *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 82, 2001, pp. 2863-2866.
84. MALINCONICO, M. *Et al.* "Blend of polyvinylalcohol and 41eteroatomos41e polycaprolactone. A study on the melt extrusion and post-cure of films suitable for protected cultivation". *J. Mater. Sci.*, vol. 37, 2002, pp. 4973-4978.
85. SCARASCIA-MUGNOZZA, G. *Et al.* "Mechanical properties decay and morphological 41eteroat of biodegradable films for agricultural mulching in real scale experiment". *Polymer Degradation and Stability*, vol. 91, 2006, pp. 2801-2808.
86. YEW, S.-P.; TANG, H.-Y. & SUDESH, K. "Photocatalytic activity and biodegradation of polyhydroxybutyrate films containing titanium dioxide". *Polymer Degradation and Stability*, vol. 91, 2006, pp. 1800-1807.
87. MARQUES, A.P.; REIS, R.L. & HUNT, J.A. "The biocompatibility of novel starch-based polymers and composites: In vitro studies". *Biomaterials*, vol. 2, 2002, pp. 1471-1478.
88. BALMAYOR, E.R. *et al.* "A novel enzymatically-mediated drug delivery carrier for bone tissue engineering applications: combining biodegradable starch-based microparticles and differentiation agentes". *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, vol. 19, 2008, pp. 1617-1623.
89. PEPPAS, N.A. *et al.* "Hydrogels in pharmaceutical formulations". *European J. Pharm. Biopharm.*, vol. 50, 2000, pp. 27-46.
90. MENDES, S.C. *et al.* "Biocompatibility testing of novel starch-based materials with potential application in orthopaedic surgery: A preliminary study". *Biomaterials*, vol. 22, 2001, pp. 2057-2064.
91. XU, R. *et al.* "A novel artificial red blood cell substitute: grafted starch-encapsulated 41eteroatom". *RSC Advances*, vol. 5, 2015, pp. 43845-43853.
92. WAGHMARE, V.S. *et al.* "Starch based nanofibrous scaffolds for wound healing applications". *Bioactive Materials*, vol. 3, 2018, pp. 255-266.

93. <<http://www.rroij.com/open-access/hyaluronic-acid-and-its-applications-.php?aid=53063>>. Acessado em: 19/05/2019.
94. ABATE, M. “Hyaluronic Acid and Platelet Rich Plasma in Hip Osteoarthritis: Work in Progress”. *Surgery Curr. Res.*, vol. 3, 2013, p. e110.
95. WEISSMANN, B. & MEYER, K. “The structure of hyalobiuronic acid and of hyaluronic acid from umbilical cord”. *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 76, 1954, pp. 1753-1757.
96. HAMERMAN, D. & SCHUSTER, H. “Hyaluronate in normal human synovial fluid”. *J. Clin. Invest.*, vol. 37, 1958, pp. 57-64.
97. LAURENT, T.C. & FRASER, J.R. “Hyaluronan”. *FASEB J.*, vol. 6, 1992, pp. 2397-2404.
98. JUHLIN, L. “Hyaluronan in skin”. *J. Intern. Med.*, vol. 242, 1997, pp. 61-66.
99. SCHIRALDI, C.; LA GATTA, A. & DE ROSA, M. “Biotechnological Production and Application of Hyaluronan”. In: ELNASHAR, M., Ed. *Biopolymers*, IntechOpen, 2010, London, UK.
100. SAGGINI, R. *et al.* “Viscosupplementation with Hyaluronic Acid or Polynucleotides: Results and Hypothesis for Condro-synchronization”. *J. Clin. Trials*, vol. 4(6), 2014, p. 198.
101. <<https://www.intechopen.com/books/biopolymers/biotechnological-production-characterization-and-application-of-hyaluronan>>. Acessado em: 20/05/2019.
102. KOGAN, G. *et al.* “Hyaluronic acid: a natural biopolymer with a broad range of biomedical and industrial applications”. *Biotechnol. Lett.*, vol. 29, 2007, pp. 17-25.
103. RWEI, S.P. *et al.* “Viscoelasticity and wearability of hyaluronate solutions”. *Biochem. Eng. J.*, vol. 40, 2008, pp. 211-217.
104. LAPCÍK JR., L. *Et al.* “Hyaluronan: Preparation, Structure, Properties, and Applications”. *Chem. Rev.*, vol. 98, 1998, pp. 2663-2684.
105. MALEKI, A.; KJONIKSEN, A.-L. & NYSTROM, B. “Effect of pH on the behavior of hyaluronic acid in dilute and semidilute aqueous solutions”. *Macromol. Symp.*, vol. 274, 2008, pp. 131-140.
106. GHOSH, S. *et al.* “Conformational contraction and hydrolysis of hyaluronate in sodium hydroxide solutions”. *Macromolecules*, vol. 26, 1993, pp. 4685-4693.
107. MORRIS, E.R.; Rees, D.A. & Welsh, E.J. “Conformation and dynamic interactions in hyaluronate solutions”. *J. Mol. Biol.*, vol. 138, 1980, pp. 83-400.

108. PISÁRCIK, M.; BAKOS, D. & CEPPAN, M. “Non-Newtonian properties of hyaluronic acid aqueous solution”. *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 97, 1995, pp. 197-202.
109. GURA, E.; HÜCKEL, M. & MÜLLER, P.J. “Specific degradation of hyaluronic acid and its rheological properties”. *Polym. Degrad. Stab.*, vol. 59, 1998, pp. 297-302.
110. SCOTT, J.E. & HEATLEY, F. “Hyaluronan forms specific stable tertiary structures in aqueous solution: A ¹³C NMR study”. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 96, 1999, pp. 4850-4855.
111. FALLACARA, A. *et al.* “Hyaluronic Acid in the Third Millennium”. *Polymers*, vol. 10, 2018, pp. 1-36.
112. GRAN VIEW RESEARCH 2019. *Hyaluronic Acid Market Size Worth USD 15.4 Billion by 2025*. Disponível em: <<https://www.grandviewresearch.com/press-release/global-hyaluronic-acid-market>>. Acessado em: 08/03/2018.
113. KNOPF-MARQUES, H. *et al.* “Hyaluronic Acid and Its Derivatives in Coating and Delivery Systems: Applications in Tissue Engineering, Regenerative Medicine and Immunomodulation”. *Adv. Health. Mater.*, vol. 5, 2016, pp. 2841-2855.
114. DE OLIVEIRA, J.D. *et al.* “Genetic basis for hyper production of hyaluronic acid in natural and engineered microorganisms”. *Microb. Cell. Fact.*, vol. 15, 2016, p. 119.
115. BOERIU, C.G. *et al.* “2013 Production methods for hyaluronan”. *Int. J. Carbohydr. Chem.*, vol. 2013, 2013, pp. 1- 14.
116. ADAMIA, S. *Et al.* “Aberrant splicing, hyaluronan synthases and intracellular hyaluronan as drivers of oncogenesis and potential drug targets”. *Curr. Cancer Drug Targets*, vol. 13, 2013, pp. 347-361.
117. LIU, L. *et al.* “Microbial production of hyaluronic acid: Current state, challenges, and perspectives. *Microb. Cell Fact.*, vol. 10, 2011, p. 99.
118. DE ANGELIS, P.L. “Monodisperse hyaluronan polymers: Synthesis and potential applications”. *Curr. Pharm. Biotechnol.*, vol. 9, 2008, pp. 246.
119. KONG, J.H. *et al.* “Long acting hyaluronate—Exendin 4 conjugate for the treatment of type 2 diabetes”. *Biomaterials*, vol. 31, 2010, pp. 4121-4128.
120. DELLA VALLE, F. & Romeo, A. “Esters of Hyaluronic Acid”. U.S. Patent 4,851,521, 25 July 1989. Disponível em: <<https://patents.google.com/patent/US4851521A/en>>. Acessado em: 20/05/2019.

121. MANGANO, K. *et al.* “Evaluation of hyaluronic acid-P40 conjugated cream in a mouse model of dermatitis induced by oxazolone”. *Exp. Ther. Med.*, vol. 14, 2017, pp. 2439-2444.
122. MANJU, S. & SREENIVASAN, K. “Conjugation of curcumin onto hyaluronic acid enhances its aqueous solubility and stability”. *J. Colloid. Interface Sci.*, vol. 359, 2011, pp. 318-325.
123. LEITE, N.T. *et al.* “Hyaluronic acid-conjugated lipoplexes for targeted delivery of siRNA in a murine metastatic lung cancer model”. *Int. J. Pharm.*, vol. 514, 2016, pp. 103-111.
124. HAYWARD, S.L.; WILSON; C.L. & KIDAMBI, S. “Hyaluronic acid-conjugated liposome nanoparticles for targeted delivery to CD44 overexpressing glioblastoma cells”. *Oncotarget*, vol. 7, 2016, pp. 34158-34171.
125. NGUYEN, V.D. *et al.* “Nanohybrid magnetic liposome functionalized with hyaluronic acid for enhanced cellular uptake and near-infrared-triggered drug release”. *Colloids Surf. B. Biointerfaces*, vol. 154, 2017, pp. 104-114.
126. YERUSHALMI, N.; ARAD, A. & MARGALIT, R. “Molecular and cellular studies of hyaluronic acid-modified liposomes as bioadhesive carriers for topical drug delivery in wound healing”. *Arch. Biochem. Biophys.*, vol. 313, 1994, pp. 267-273.
127. KIM, H. *et al.* “Bioimaging and pulmonary applications of self-assembled Flt1 peptide-hyaluronic acid conjugate nanoparticles”. *Biomaterials*, vol. 34, 2013, pp. 8478-8490.
128. PANDEY, M. *et al.* “Hyaluronic acid-modified betamethasone encapsulated polymeric nanoparticles: Fabrication, 44eteroatomos44es44, in vitro release kinetics, and dermal targeting”. *Drug. Deliv. Transl. Res.*, vol. 9, 2019, pp. 520-533.
129. PEREIRA, G.G. *et al.* “Hyaluronate nanoparticles included in polymer films for the prolonged release of vitamin E for the management of skin wounds”. *Eur. J. Pharm. Sci.*, vol. 83, 2016, pp. 203-211.
130. MAUDENS, P. “Self-assembled thermoresponsive nanostructures of hyaluronic acid conjugates for osteoarthritis therapy”. *Nanoscale*, vol. 10, 2018, pp. 1845-1854.
131. WANG, T. *et al.* (2017) “Hyaluronic acid-coated chitosan nanoparticles induce ROS-mediated tumor cell apoptosis and enhance antitumor efficiency by targeted drug delivery via CD44”. *J. Nanobiotechnol.*, vol. 15, 2017, pp. 1-12.

132. CHO, H.-J. *et al.* “Self-assembled nanoparticles based on hyaluronic acid-ceramide (HA-CE) and Pluronic® for tumor-targeted delivery of docetaxel”. *Biomaterials*, vol. 32, 2011, pp. 7181-7190.
133. PARASHAR, P. *et al.* “Hyaluronic acid decorated naringenin nanoparticles: Appraisal of chemopreventive and curative potential for lung 45etero”. *Pharmaceutics*, vol. 10, 2018, 33p.
134. HWANG, S.M. *et al.* “Delivery of ofloxacin to the lung and alveolar macrophages via hyaluronan microspheres for the treatment of tuberculosis”. *J. Control. Release*, vol. 129, 2008, pp. 100-106.
135. LI, Y. *et al.* “Inhaled hyaluronic acid microparticles extended pulmonary retention and suppressed systemic exposure of a short-acting bronchodilator”. *Carbohydr. Polym.*, vol. 172, 2017, pp. 197-204.
136. FATNASSI, M. *et al.* “Optimization of spray-dried hyaluronic acid microspheres to formulate drug-loaded bone substitute materials”. *Powder Technol.*, vol. 255, 2014, pp. 44-51.
137. EL KECHAI, N. *et al.* “Hyaluronic acid liposomal gel sustains delivery of a corticoid to the inner ear”. *J. Control. Release*, vol. 226, 2016, pp. 248-257.
138. LUO, Y.; KIRKER, K.R. & PRESTWICH, G.D. “Cross-linked hyaluronic acid hydrogel films: New biomaterials for drug delivery”. *J. Control. Release*, vol. 69, 2000, pp. 169-184.
139. EGBU, R. *et al.* “Antibody loaded collapsible hyaluronic acid hydrogels for intraocular delivery”. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, vol. 124, 2018, pp. 95-103.
140. PIRARD, D. *Et al.* “Three percent diclofenac in 2.5% hyaluronan gel in the treatment of actinic 45eterato: A meta-analysis of the recent studies”. *Arch. Dermatol. Res.*, vol. 297, 2005, pp. 185-189.
141. MATTHAIOLAMPAKIS, G. *et al.* “Hyaluronic acid targeting of CD44 for cancer therapy: From receptor biology to nanomedicine”. *J. Drug Target*, vol. 23, 2015, pp. 605-618.
142. MERO, A. & CAMPISI, M. “Hyaluronic acid bioconjugates for the delivery of bioactive molecules”. *Polymers*, vol. 6, 2014, pp. 346-369.
143. CHEN, Y. *et al.* “Conjugation of paclitaxel to C-6 hexanediamine-modified hyaluronic acid for targeted drug delivery to enhance antitumor efficacy”. *Carbohydr. Polym.*, vol. 181, 2018, pp. 150-158.

144. LAFFLEUR, F. & DACHS, S. "Development of novel mucoadhesive hyaluronic acid derivate as lubricant for the treatment of dry eye syndrome". *Ther. Deliv.*, vol. 6, 2015, pp. 1211-1219.
145. FALLACARA, A. *et al.* "Novel Artificial Tears Containing Cross-Linked Hyaluronic Acid: An In Vitro Re-Epithelialization Study". *Molecules*, vol. 22(12), 2017, pp. 2104(1-13).
146. NEUMAYER, T.; PRINZ, A. & FINDL, O. "Effect of a new cohesive ophthalmic viscosurgical device on corneal protection and intraocular pressure in small-incision cataract surgery". *J. Cataract. Refract. Surg.*, vol. 34, 2008, pp. 1362-1366.
147. VANDERMEER, G.; CHAMY, Y. & PISELLA, P.J. "Comparison of objective optical quality measured by double-pass aberrometry in patients with moderate dry eye: Normal saline vs. artificial tears: A pilot study". *J. Fr. Ophtalmol.*, vol. 41, 2018, pp. e51-e57.
148. CARRACEDO, G. *et al.* "Comparison Between Viscous Teardrops and Saline Solution to Fill Orthokeratology Contact Lenses Before Overnight Wear". *Eye & Contact Lens*, vol. 44, 2018, pp. S307-S311.
149. GODDARD, J.C. & JANSSEN, D.A.W. "Intravesical hyaluronic acid and chondroitin sulfate for recurrent urinary tract infections: Systematic review and meta-analysis". *Int. Urogynecol. J.*, vol. 29, 2018, pp. 933-942.
150. ZABKOWSKI, T.; JURKIEWICZ, B. & SARACYN, M. "Treatment of recurrent bacterial cystitis by intravesical instillations of hyaluronic acid". *Urol. J.*, vol. 12, 2015, pp. 2192-2195.
151. GELARDI, M.; IANNUZZI, L. & QUARANTA, N. "Intranasal sodium hyaluronate on the nasal cytology of patients with allergic and nonallergic rhinitis". *Int. Forum Allergy Rhinol.*, vol. 3, 2013, pp. 807-813.
152. GARANTZIOTIS, S. *et al.* "The role of hyaluronan in the pathobiology and treatment of respiratory disease". *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.*, vol. 310, 2016, pp. L785-L795.
153. FURNARI, M.L. *et al.* "Nebulized hypertonic saline containing hyaluronic acid improves tolerability in patients with cystic fibrosis and lung disease compared with nebulized hypertonic saline alone: A prospective, randomized, double-blind, controlled study". *Ther. Adv. Respir. Dis.*, vol. 6, 2012, pp. 315-322.
154. GAVINA, M. *et al.* "Nebulized hyaluronan ameliorates lung inflammation in cystic fibrosis mice". *Pediatr. Pulmonol.*, vol. 48, 2013, pp. 761-771.

155. PETRIGNI, G. & ALLEGRA, L. "Aerosolised hyaluronic acid prevents exercise-induced bronchoconstriction, suggesting novel hypotheses on the correction of matrix defects in asthma". *Pulm. Pharmacol. Ther.*, vol. 19, 2006, pp. 166-171.
156. TURINO, G.M. *et al*. "The Therapeutic Potential of Hyaluronan in COPD". *Chest*, vol. 153, 2018, pp. 792-798.
157. SCHIRALDI, C.; LA GATTA, A. & DE ROSA, M. "Biotechnological Production and Application of Hyaluronan". In: ELNASHAR, M., Ed. *Biopolymers*. IntechOpen: London, UK, 2010, pp. 1-28. Disponível em:
<https://www.intechopen.com/books/biopolymers/biotechnological-production-characterization-and-application-of-hyaluronan>. Acessado em: 20/05/2019.
158. TAMER, T.M. "Hyaluronan and synovial joint: Function, distribution and healing". *Interdiscip. Toxicol.*, vol. 6, 2013, pp. 111-125.
159. BOWMAN, S. *et al*. "Recent advances in hyaluronic acid based therapy for osteoarthritis". *Clin. Transl. Med.*, vol. 7, 2018, pp. 1-11.
160. BROWN, T.J.; LAURENT, U.BG. & FRASER, J.R.E. "Turnover of hyaluronan in synovial joints: Elimination of labelled hyaluronan from the knee joint of the rabbit". *Exp. Physiol.*, vol. 76, 1991, pp. 125-134.
161. SUN, S.F. *et al*. "Comparison of single intra-articular injection of novel hyaluronan (HYA-JOINT Plus) with synvisc-one for knee osteoarthritis: A randomized, controlled, double-blind trial of efficacy and safety". *J. Bone Joint Surg. Am.*, vol. 99, 2017, pp. 462-471.
162. GHOSH, P. & GUIDOLIN, D. "Potential mechanism of action of intra-articular hyaluronan therapy in osteoarthritis: Are the effects molecular weight dependent?". *Semin. Arthritis Rheum.*, vol. 32, 2002, pp. 10-37.
163. GREENBERG, D.D. *et al*. "Biochemical effects of two different hyaluronic acid products in a co-culture model of osteoarthritis". *Osteoarthr. Cartil.*, vol. 14, 2006, pp. 814-822.
164. IMAI, T. *et al*. "The directionality of chitin biosynthesis: A revisit". *The Biochemical Journal*, vol. 374, 2003, pp. 755-760.
165. WIN, N.N. & STEVENS, W.F. "Shrimp chitin as substrate for fungal chitin deacetylase". *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 57, 2001, p. 334-341.

166. MORI, T. *et al.* "Mechanism of macrophage activation by chitin derivatives". *Journal of Veterinary Medical Science*, vol. 67, 2005, pp. 51-56.
167. UENO, H.; MORI, T. & FUJINAGA, T. "2001 Topical formulations and wound healing applications of chitosan". *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 52, 2001, pp. 105-115.
168. TOMIHATA, K. & IKADA, Y. "In vitro and in vivo degradation of films of chitin and its deacetylated derivatives". *Biomaterials*, vol. 18, 1997, pp. 567-575.
169. XU, Y. *et al.* "Design and fabrication of porous chitosan scaffolds with tunable structures and mechanical properties". *Carbohydrate Polymers*, vol. 177, 2017, pp. 210-216.
170. BANSAL, V. *et al.* "Applications of Chitosan and Chitosan derivatives for drug delivery". *Adva. Biol. Res.*, vol. 5, 2011, pp. 28-37.
171. TOZAKI, H. *et al.* "Chitosan capsules for colon-specific drug delivery: Improvement of insulin absorption from the rat colon". *J. Pharmaceutical Sci.*, vol. 86, 1997, pp. 1016-1021.
172. CHENGUANG, L. *et al.* "Preparations, characterizations and applications of chitosan-based nanoparticles". *J. Ocean University of China* (English Edition), vol. 6, 2007, pp. 237-243.
173. KOIZUMI, T.; RITTHIDEJ, G.C. & PHAECHAMUD, T. "Mechanistic modeling of drug release from chitosan coated tablets". *J. Controlled Release*, vol. 70, 2001, pp. 277-284.
174. JANG, K. & LEE, H.G. "Stability of Chitosan Nanoparticles for l-Ascorbic Acid during Heat Treatment in Aqueous Solution". *J. Agric. Food Chem.*, vol. 56, 2008, pp. 1936-1941.
175. OHYA, Y. *et al.* "Release 48erato of 5-fluorouracil from chitosan-gel microspheres immobilizing 5-fluorouracil derivative coated with polysaccharides and their cell specific recognition". *J. Microencapsulation*, vol. 10, 1993, pp. 1-9.
176. DHANIKULA, A.B. & PANCHAGNULA, R. "Development and Characterization of Biodegradable Chitosan Films for Local Delivery of Paclitaxel". *The AAPS J.*, vol. 6, 2004, pp. 88-99.
177. KUMBAR, S.G.; KULKARNI, A.R. & AMINABHAVI M. "Crosslinked chitosan microspheres for encapsulation of diclofenac sodium: effect of crosslinking agent". *J. Microencapsul.*, vol. 19, 2002, pp. 173-180.
178. SUN, J. & TAN, H. "Alginate-based biomaterials for regenerative medicine applications". *Materials* (Basel), vol. 6, 2013, pp. 1285-1309.

179. DOUGLAS, K.L. & TABRIZIAN, M. "Effect of experimental parameters on the formation of alginate-chitosan nanoparticles and evaluation of their potential 49eteroatomo as DNA carrier". *J. Biomat. Sci. Polym. E*, vol. 16, 2005, pp. 43-56.
180. TAMPIERI, A. *Et al.* "HA/Alginate hybrid composites prepared through bio-inspired nucleation". *Acta Biomaterials*, vol. 1, 2005, pp. 343-351.
181. EISELT, P. *et al.* "Porous carriers for biomedical applications based on alginate hydrogels". *Biomaterials*, vol. 21, 2000, pp. 1921-1927.
182. KUO, C.K. & MA, P.X. "Ionically crosslinked alginate hydrogels as scaffolds for tissue engineering: Part 1. Structure, gelation rate and mechanical properties". *Biomaterials*, vol. 22, 2001, pp. 511-521.
183. LEE, J. & LEE, K.Y. "Local and sustained vascular endothelial growth factor delivery for angiogenesis using na injectable system". *Pharm. Res.*, vol. 26, 2009, pp. 1739-1744.
184. LEE, K.Y. & MOONEY, D.J. "Alginate: properties and biomedical applications". *Prog. Polym. Sci.*, vol. 37, 2012, pp. 106-126.
185. TØNNESEN, H.H. & KARLSEN, J. "Alginate in drug delivery systems". *Drug Development and Industrial Pharmacy*, vol. 28, 2002, pp. 621-630.
186. CHING, A.L. *et al.* "Modifying matrix micro-environmental pH to achieve sustained drug release from highly laminating alginate matrices". *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 33, 2008, pp. 361-370.
187. LAFFEUR, F. "Mucoadhesive polymers for buccal drug delivery". *Drug Development and Industrial Pharmacy*, vol. 40, 2014, pp. 591-598.
188. JULIANO, C. *et al.* "Mucoadhesive alginate matrices containing sodium carboxymethyl starch for buccal delivery: in vitro and in vivo studies". *J. Drug Delivery Sci. Technol.*, vol. 1, 2004, pp. 159-163.
189. MARTÍN, M.J. *et al.* "Development of alginate microspheres as nystatin carriers for oral mucosa drug delivery". *Carbohydrate Polymers*, vol. 117, 2015, pp. 140-149.
190. HAQUE, S. *et al.* "Development and evaluation of brain targeted intranasal alginate nanoparticles for treatment of depression". *Journal of Psychiatric Research*, vol. 48, 2014, pp. 1-12.

191. GARMISE, R. J.; STAATS H. F. & HICKEY A. J. "Novel dry powder preparations of whole inactivated influenza virus for nasal vaccination". *AAPS Pharm. Sci. Tech.*, vol. 8, 2007, pp. 2-10.
192. COSTA, J.R. *et al.* "Potential chitosan-coated alginate nanoparticles for ocular delivery of daptomycin". *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, vol. 34, 2015, pp. 1255-1262.
193. KLEINUBING, A.J. "Liberação controlada da oxitetraciclina aprisionada em matriz de alginato/quitosana recoberta com Eudragit® em leito fluidizado". Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Universidade Estadual de Campinas, 2013.
194. DIÓS, P. *et al.* "Preformulation studies and optimization of sodium alginate based floating drug delivery system for eradication of Helicobacter pylori". *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, vol. 96, 2015, pp. 196-206.
195. ADEBISI, A.O.; LAITY, P.R. & CONWAY, B.R. "Formulation and evaluation of floating mucoadhesive alginate beads for targeting Helicobacter pylori". *J. Pharm. Pharmacol.*, vol. 67, 2015, pp. 511-524.
196. SZEKALSKA, M. *et al.* "Influence of sodium alginate on hypoglycemic activity of metformin hydrochloride in the microspheres obtained by the spray drying". *International J. Polym. Sci.*, vol. 2016, 2016, pp. 1-12.
197. KLEINUBING, S. A. *et al.* "Gastro-resistant controlled release of OTC encapsulated in alginate/chitosan matrix coated with acryl-EZE® MP in fluidized bed". *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 131, 2014, pp. 1-9.
198. MARTÍN-VILLENA, M.J. *et al.* "Novel microparticulate systems for the vaginal delivery of nystatin: development and characterization". *Carbohydrate Polymers*, vol. 94, 2013, pp. 1-11.
199. PRINDERRE, P.; SAUZET, C. & FUXEN, C. "Advances in gastro retentive drug-delivery systems". *Expert Opinion on Drug Delivery*, vol. 8, 2011, pp. 1189-1203.
200. KHARIA, A.A. & SINGHAI, A.K. "Screening of most effective variables for development of gastroretentive mucoadhesive nanoparticles by Taguchi design". *ISRN Nanomaterials*, vol. 2013, 2013, pp. 1-8.
201. PARK, S.-B. *et al.* "Biopolymer-based functional composites for medical applications". *Prog. Polym. Sci.*, vol. 68, 2017, pp. 77-105.

202. MOSCOVICI, M. "Present and future medical applications of microbial exopolysaccharides". *Frontiers in Microbiology*, vol. 6, 2015, p. 1012.
203. RIESLE, J. *et al.* "Collagen in tissue-engineered cartilage: Types, structure, and crosslinks". *J. Cell Biochem.*, vol. 71, 1998, pp. 313-327.
204. LEE, C.H.; SINGLA S. & LEE, Y. "Biomedical applications of collagen". *Int. J. Pharmaceut*, vol. 221, 2001, pp. 1-22.
205. PINS, G.D. *et al.* "Sel-assembly of collagen fibers: influence of fibrillary arrangement and decorin on mechanical properties". *Biophys. J.*, vol. 73, 1997, pp. 2164-2172.
206. CHAJRA, H. *et al.* "Collagen-based biomaterials and cartilage engineering. Application to osteochondral defects". *Biomed. Mater. Eng.*, vol. 18, 2008, pp.S33-S45.
207. LEE, Y.H. *et al.* "Modified titanium surfasse with 51eteroa nanogold composite increases osteoblast cell biocompatibility". *Appl. Surf. Sci.*, vol. 256, 2010, pp. 588 2-5887.
208. KUIJPERS, A.J. *et al.* "Cross-linking and characterization of 51eteroa matrices for biomedical applications. *J. Biomat. Sci. Polym. E*, vol. 11, 2000, pp. 225-243.
209. UEBERSAX, L. *et al.* "Biocompatibility and osteoconduction of macroporous silk fibroin implants in cortical defects in sheep". *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, vol. 85, 2013, pp. 107-118.
210. CHLAPANIDAS, T. *Et al.* "Regenerated silk fibroin scaffolds and infrapatellar adipose stromal vascular fraction as feeder-layer: a new product for cartilage advanced therapy". *Tissue Eng. Part A*, vol. 17, 2011, pp. 1725-1733.
211. NAKAJIMA, H.; DIJKSTRA, P. & LOOS, K. "The Recent Developments in Biobased Polymers toward General and Engineering Applications: Polymers that Are Upgraded from Biodegradable Polymers, Analogous to Petroleum-Derived Polymers, and Newly Developed Polymers". *Polymers*, vol. 9, 2017, p. 523.
212. SATOH, K.; SUGIYAMA, H. & KAMIGAITO, M. "Biomass-derived heat-resistant alicyclic hydrocarbon polymers: Poly(terpenes) and their hydrogenated derivatives". *Green Chem.*, vol. 8, 2006, pp. 878-882.
213. LI, A.-Y. "Cationic copolymerization of 1,3-pentadiene with α -pinene". *J. Polym. Eng.*, vol. 34, 2014, pp. 583-589.

214. MIYAJI, H.; SATOH, K. & KAMIGAITO, M. “Biobased Polyketones by Selective Ring-Opening Radical Polymerization of α -Pinene-Derived Pinocarvone”. *Angew Chem. Int.*, vol. 55, 2016, pp. 1372-1376.
215. SINGH, A. & KAMAL, M. “Synthesis and Characterization of Polylimonene: Polymer of an Optically Active Terpene”. *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 125, 2012, pp. 1456-1459.
216. SHARMA, S. & SRIVASTAVA, A. “Radical co-polymerization of limonene with N-vinyl pyrrolidone: Synthesis and characterization”. *Des. Monomer. Polym.*, vol. 9, 2006, pp. 503-516.
217. MARTÍN, C. & KLEIJ, A.W. “Terpolymers Derived from Limonene Oxide and Carbon Dioxide: Access to Cross-Linked Polycarbonates with Improved Thermal Properties”. *Macromolecules*, vol. 49, 2016, pp. 6285-6295.
218. BYRNE, C. *et al.* “Alternating Copolymerization of Limonene Oxide and Carbon Dioxide”. *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 126, 2004, pp. 11404-11405.
219. SARKAR, P. & BHOWMICK, A.K. “Green Approach toward Sustainable Polymer: Synthesis and Characterization of Poly(myrcene-co-dibutyl itaconate)”. *ACS Sustain. Chem. Eng.*, vol. 4, 2016, pp. 2129-2141.
220. <sustainablepackaging.org/2020-bioplastics-market-forecast>. Acessado em: 06/05/2019.
221. <https://www.ifbb-hannover.de/files/IfBB/downloads/faltblaetter_broschueren/Biopolymers-Facts-Statistics-2018.pdf>. Acessado em 10/07/2019.
222. <<http://news.biobased.eu/nova-institute-announces-new-market-study-on-bioplastics-with-latest-data-for-2018/>>. Acessado em: 12/07/2019.
223. ČALIJA, B. *et al.* “Functionality of chitosan-halloysite nanocomposite films for sustained delivery of antibiotics: The effect of chitosan molar mass”. *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 136, 2019, pp. 1-12.
224. OJOGBO, E.; WARD, V. & MEKONNEN, T.H. “Functionalized starch microparticles for contact-active antimicrobial polymer surfaces”. *Carbohydrate Polymers*, vol. 229, 2020, pp. 1-9.
225. ALAVI, M. & NOKHODCHI, A. “An overview on antimicrobial and wound healing properties of ZnO nanobiofilms, hydrogels, and bionanocomposites based on cellulose, chitosan, and alginate Polymers”. *Carbohydrate Polymers*, vol. 227, 2020, pp. 1-6.

CAPÍTULO 2

Síntese de polímeros com estrutura controlada: a polimerização ATRP e suas variações

Roniérik Pioli Vieira

Departamento de Engenharia de Materiais e de Bioprocessos
Faculdade de Engenharia Química – UNICAMP

2.1 Introdução:

Para se obter polímeros, sejam eles originários de fontes fósseis ou renováveis, é imprescindível que se conheça sobre sua síntese, as técnicas utilizadas para a síntese e como controlar a distribuição de massa molar para que se obtenha produtos com propriedades físico-químicas, mecânicas, térmica e morfológicas desejadas. Portanto, neste capítulo veremos como proceder para se obter polímeros com uma distribuição de massa molar mais estreita, que garantirá propriedades superiores aos materiais assim obtidos e um bom desempenho na área da Saúde.

2.2 A evolução das técnicas de polimerização controlada e o destaque à ATRP

Com o surgimento das polimerizações radicalares controladas (CRPs), em meados de 1990, foi possível a síntese de polímeros com estreita distribuição de massas molares em um meio reacional mais robusto do que os tradicionalmente empregados até então (polimerização iônica ou de coordenação). Em geral, as técnicas empregadas no controle da estrutura molecular de polímeros consistem em um mecanismo de ativação e desativação reversível das cadeias em propagação, de modo a suprimir reações de terminação e transferências de cadeia.

A polimerização radicalar mediada por nitróxidos (NMP) foi a primeira CRP a ser desenvolvida, seguida da polimerização radicalar por transferência de átomo (ATRP), que expandiu a faixa de monômeros polimerizáveis radicalmente e permitiu a preparação de

copolímeros em bloco por via radicalar. A polimerização por transferência de cadeia reversível via adição-fragmentação (RAFT), posteriormente desenvolvida, viabilizou a preparação de copolímeros com arquitetura complexa.

Através de uma análise da evolução das publicações sobre CRPs ao longo dos últimos 20 anos (Figura 1), verifica-se que a polimerização radicalar por transferência de átomo (ATRP) se consolidou como a principal e mais poderosa técnica de polimerização controlada.¹ A maior quantidade de publicações sobre a ATRP ocorreu em virtude de algumas particularidades inerentes a essa técnica, por exemplo, ela pode ser conduzida em massa, solução ou em uma variedade de meios heterogêneos, incluindo miniemulsão, emulsão, suspensão e dispersão. Além disso, ela contempla a maior parte de monômeros, catalisadores e iniciadores comerciais, sendo conduzida experimentalmente de maneira bem simples em temperaturas brandas (em geral $< 100^{\circ}\text{C}$).²

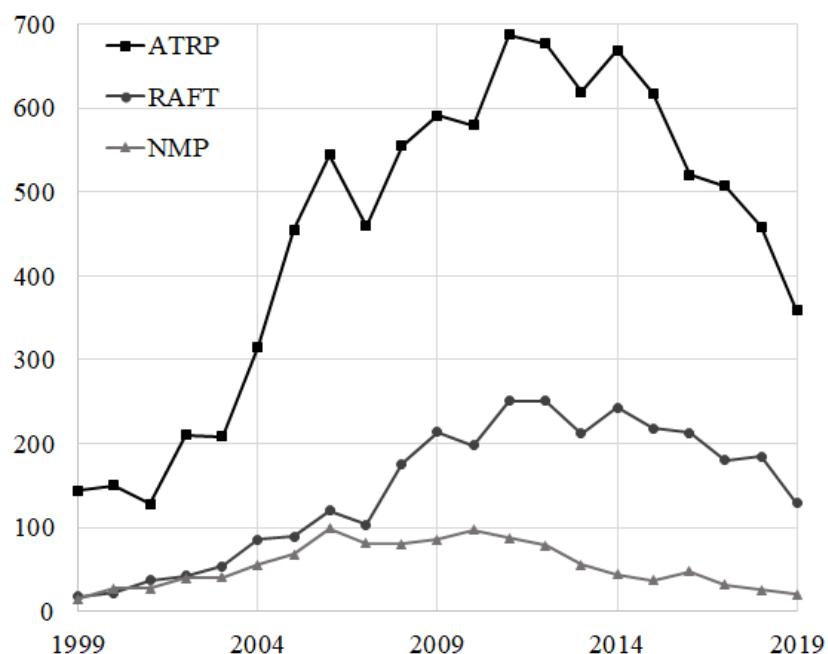


Figura 1: Evolução das publicações indexadas no SCOPUS utilizando rotas controladas.

A Figura 2 ilustra o mecanismo geral do processo ATRP. O perfeito controle do equilíbrio entre as espécies dormentes (1) e a propagação de radicais ativos (3) faz com que a concentração destes permaneça baixa durante a polimerização, minimizando a taxa de terminação bimolecular (k_t) para alcançar o crescimento controlado da cadeia polimérica.³

De acordo com Matyjaszewski (2018), no mecanismo ilustrado na Figura 2, existe um rápido equilíbrio dinâmico entre radicais (3) e (macro) haletos de alquila dormentes (1).

Esse processo emprega um catalisador (2) para ativar o (macro) halecto de alquila dormente (1) a polímero “vivo” (3). Os polímeros “vivos” propagam-se e podem sofrer transferência de cadeia ou terminação, tornando-se polímeros “mortos” durante essa propagação. Entretanto, tipicamente após uma única ou poucas adições de monômeros, os polímeros “vivos” são desativados de volta para polímeros “dormentes”. Em virtude desse rápido equilíbrio, praticamente não há tempo hábil para terminações e transferências de cadeia. A principal consequência disso é uma evolução linear da massa molar em função da conversão de monômero, garantindo uma estreita distribuição de massas molares.⁴

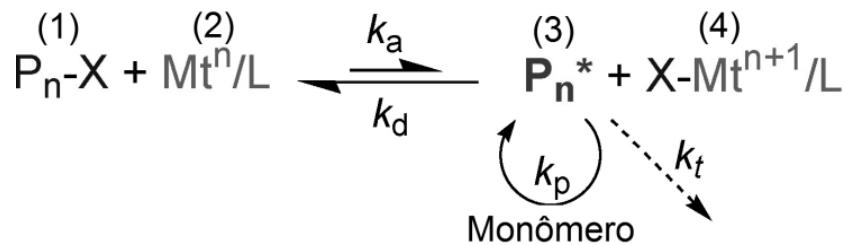


Figura 2: Mecanismo reacional genérico de um processo ATRP normal (adaptado).¹

A ATRP baseou-se historicamente em catalisadores de metal de transição (2) (por exemplo, CuBr, CuCl e FeBr₂) para mediar esse equilíbrio e polimerizar monômeros com funcionalidade diversificada, viabilizando a síntese de macromoléculas com massas molares controladas, baixa dispersidade (\mathcal{D}), composição química definida e arquitetura complexa.⁵ Dessa forma, a ATRP permitiu a produção de uma ampla gama de polímeros com funcionalidades personalizadas para aplicações de alto valor. Por exemplo, os polímeros sintetizados foram utilizados para revestimentos, adesivos, aplicações ambientais e na área médica.⁶⁻⁸

A Figura 3 apresenta, de maneira simplificada, o procedimento de síntese via ATRP em *vials*. Nessa figura são identificados os principais reagentes do processo tradicional. A Tabela 1 destaca os principais iniciadores, catalisadores e ligantes utilizados em síntese via ATRP. Em virtude desses destaques associados à ATRP, principalmente na síntese de polímeros a partir de monômeros renováveis, este capítulo dará ênfase a essa rota de

polimerização controlada, apresentando suas variações e potencialidades na engenharia macromolecular.

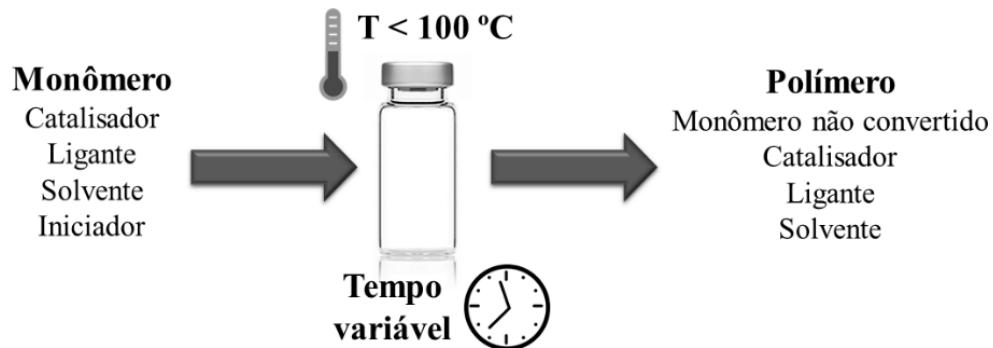


Figura 3: Esquema simplificado da síntese de polímeros via ATRP com a identificação de reagentes e produtos do processo.

Tabela 1: Principais iniciadores, ligantes e catalisadores utilizados em ATRP.

Iniciadores	Catalisadores	Ligantes
$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \\ \\ \text{Br}-\text{C}(=\text{O})-\text{O}-\text{CH}_3 \end{array}$ 2-bromopropionato de etila	CuBr	$\begin{array}{c} \text{N} \\ \\ \text{C}_6\text{H}_4-\text{C}_6\text{H}_4-\text{N} \end{array}$ Bipiridina
$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \\ \\ \text{Br}-\text{C}(\text{CH}_3)-\text{C}(=\text{O})-\text{O}-\text{CH}_3 \end{array}$ 2-bromo isobutirato de etila	CuCl	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{H}_3\text{C}-\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}-\text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$ $\text{N},\text{N},\text{N}',\text{N}',\text{N}''-$ Pentametildietilenotriamina
$\begin{array}{c} \text{Br} \\ \\ \text{C}_6\text{H}_5-\text{CH}_2-\text{CH}_2 \end{array}$ 2-bromo etil benzeno	FeCl ₂	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{H}_3\text{C}-\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}-\text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$ $\text{1},\text{1},\text{4},\text{7},\text{10},\text{10}-$ hexametiltrienotetramina

 2-bromopropionato de metila	FeBr_2	 Tris(2-dimetilaminoetil) amina
 2,2,2-tribromoetanol	RuBr_3	 Tris[(2-piridil) metil] amina

2.3 Derivações da ATRP tradicional

O grande inconveniente da ATRP tradicional reside no fato de que o catalisador de metal de transição disperso no polímero impede as suas aplicações biomédicas e eletrônicas.⁹ Várias pesquisas foram desenvolvidas com o objetivo de reduzir drasticamente a quantidade de catalisador através de sua regeneração. Por exemplo, a adição de agentes redutores químicos para regeneração de ativadores por transferência eletrônica (ARGET-ATRP), ATRP mediada eletroquimicamente (eATRP), além da utilização de metais zerovalentes como ativadores suplementares e agentes redutores (SARA-ATRP).¹⁰⁻¹² Além disso, alguns dos trabalhos mais recentes exploraram a regeneração do catalisador usando redução fotoquímica (foto-ATRP).¹³

Apesar dos avanços significativos na redução da concentração de catalisador e nos processos de purificação, a recente técnica O-ATRP (polimerização radicalar por transferência de átomo organocatalisada) tornou-se uma alternativa para contornar a necessidade de remoção de metal e consequente redução do custo do processo global.³ Os autores deste trabalho mostraram que a síntese de polímeros usando catalisadores orgânicos ativados por luz visível (PCs) apresenta a mesma precisão da ATRP tradicional. Além disso, a utilização de catalisadores orgânicos reduz as preocupações de toxicidade e interferências com sistemas eletrônicos, eliminando a grande limitação da ATRP. Os avanços atuais na utilização desses catalisadores alternativos pode ser a explicação para a

redução do número de publicações sobre ATRP tradicional a partir de 2014 (Figura 1). Os itens a seguir descrevem brevemente as variações da ATRP tradicional.

2.3.1 Ativadores Regenerados por Transferência de Elétrons (ARGET-ATRP)

Nesta variação da ATRP, as espécies de catalisador oxidado ($X-M^{n+1}/L$) acumuladas no sistema devido à terminação irreversível dos radicais são regeneradas com o uso de agentes redutores, geralmente glucose e ácido ascórbico, para restaurar o catalisador ativo (M^n/L) necessário à produção de polímeros “vivos”.^{2,10}

Adicionalmente, a ARGET-ATRP pode ser iniciada com o catalisador em seu estado oxidado ($X-M^{n+1}/L$). Uma vez que o $X-M^{n+1}/L$ pode ser reduzido *in situ*, produzindo o catalisador no estado ativo (M^n/L). É claro que esse método ATRP e, consequentemente, as propriedades do polímero produzido, são grandemente influenciados pela concentração do agente redutor e pela taxa de redução das espécies de catalisadores estáveis.⁴

2.3.2 ATRP eletroquimicamente mediada (eATRP)

No mecanismo do processo eATRP, uma corrente catódica é aplicada para gerar (regenerar) o complexo catalítico M^n/L . Além disso, uma corrente anódica opcional é usada para reverter o estado do catalisador ativo para o complexo $X-M^{n+1}/L$ para terminar a reação de polimerização. Após a redução, o complexo M^n/L é disperso por agitação vigorosa no meio de polimerização.¹⁴

2.3.3 Iniciadores para Regeneração Contínua do Ativador (ICAR-ATRP)

Ao polimerizar monômeros que não são submetidos a iniciação térmica, a utilização de uma quantidade muito pequena de iniciador pode desencadear uma iniciação térmica lenta para a regeneração contínua do ativador. Na ICAR-ATRP, o complexo desativador ($X-M^{n+1}/L$) é gradual e continuamente reduzido ao estado ativo (M^n/L) por radicais (I^*) formados em uma reação de decomposição térmica lenta de um iniciador (I_2), por exemplo, AIBN.¹⁵

Vale ressaltar que a ICAR ATRP tem uma limitação significativa na produção de copolímeros em bloco, uma vez que os radicais livres (I^*) utilizados para regeneração de

ativadores na polimerização também podem gerar cadeias poliméricas capazes de alterar as propriedades do copolímero desejado.¹⁰

2.3.4 Ativador Suplementar e Agente Redutor (SARA-ATRP)

Na técnica SARA-ATRP, um metal zerovalente (M^0), como Cu^0 , Zn^0 , Mg^0 e Fe^0 , é usado para introduzir reações lentas em adição ao equilíbrio entre os complexos M^n/L e $X-M^{n+1}/L$.^{15,16} Nessas reações introduzidas no sistema, a ativação suplementar de haletos de alquila por M^0 , e a redução de $X-M^{n+1}/L$ para M^n/L permite controlar a taxa de polimerização com a regulação da área superficial de M^0 .¹⁷

2.3.5 Catalisadores fotoativados (foto-ATRP)

Na foto-ATRP, a regeneração do ativador M^n/L ocorre pela redução fotoquímica dos complexos $X-M^{n+1}/L$ por uma amina alifática, geralmente introduzida na forma de excesso de ligante. A taxa de polimerização nesse processo, como em todos os métodos de ATRP descritos nesta seção, depende da taxa de geração de radicais que, neste caso, pode ser ajustada controlando a intensidade da luz, o comprimento de onda da irradiação e a relação entre metal e ligante.⁷ Paralelamente, uma nova abordagem sem o uso de catalisador metálico foi relatada, a O-ATRP, em que a reação é mediada por um photocatalisador orgânico.^{3,18}

2.3.6 Polimerização Radicalar por Transferência de Átomo Organocatalisada (O-ATRP)

Embora a técnica O-ATRP ainda esteja bem recente, diversas contribuições significativas já estão disponíveis, servindo de base para a ampliação do conhecimento na área. Por exemplo, recente trabalho de Theriot (2017) fornece uma compreensão do mecanismo reacional do processo, discute as várias classes de catalisadores, bem como as características únicas de cada uma e princípios de design obtidos a partir do desempenho desses catalisadores.¹⁹

A primeira publicação sobre o tema utilizou 10-fenil-fenotiazina (Ph-PTZ) como photocatalisador (PC) para mediar o equilíbrio ATRP.³ Posteriormente, outros compostos, tais como hidrocarbonetos policíclicos aromáticos e carbazolas foram testados com sucesso

em atividade catalítica sob luz visível.¹⁹⁻²¹ Além disso, destacam-se, também, compostos disponíveis a um baixo custo, como a benzofenona.²²

A Figura 4 representa o mecanismo do processo O-ATRP. Nessa figura, encontram-se representadas as três formas possíveis do catalisador orgânico durante a polimerização: o estado fundamental (PC), o estado catalítico (PC^{*}) e o estado oxidado (PC⁺). Essas diferentes formas de catalisadores estão em equilíbrio competitivo: o catalisador no estado fundamental (PC) é ativado através do efeito de fotoexcitação; o catalisador no estado excitado (PC^{*}) transforma-se em cátion (PC⁺) ou retorna para o estado fundamental (PC) através de decaimento do catalisador; o catalisador catiônico radical (PC⁺) também pode ser convertido para o estado fundamental (PC), se reduzido por espécies radicalares. A circulação das diferentes formas de catalisadores desempenha um papel crítico na mediação de sistemas O-ATRP.

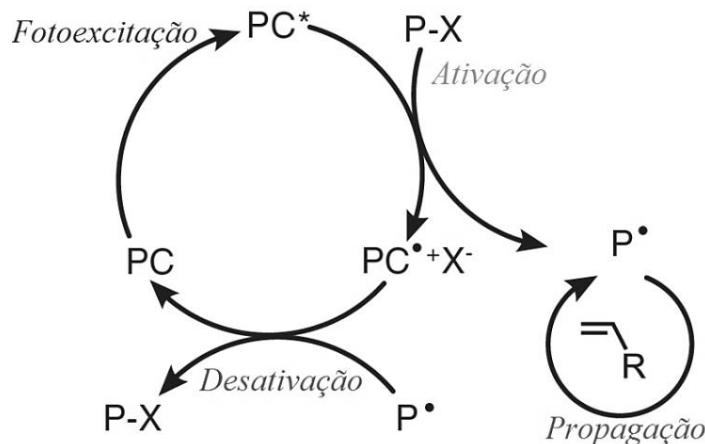


Figura 4: Mecanismo reacional genérico de um processo O-ATRP (Adaptada de Theriot *et al.* (2017)).

Na O-ATRP pela rota oxidativa, o catalisador sofre fotoexcitação para um estado excitado, que pode ser executada com uma variedade de comprimentos de onda de luz. No entanto, a fotoexcitação utilizando luz UV pode levar a reações colaterais que complicam a síntese de polímeros. Sendo assim, é preferível que um PC absorva no visível, possuindo um comprimento de onda de absorbância máxima na região visível. O PC deve possuir uma

vida útil longa do estado excitado e estar reduzido no estado oxidado para efetuar a reação de transferência de elétrons necessária para a ativação do polímero.¹⁹

2.4 Arquiteturas macromoleculares proporcionadas pela ATRP

A ATRP e suas variações possibilitam a síntese de vários copolímeros com qualquer arquitetura macromolecular complexa desejada. Isso inclui polímeros com diversas topologias, variando desde cadeias lineares com dimensões controladas com precisão (dispersidades próximas de 1,0) a várias estruturas ramificadas formadas a partir da copolimerização de (macro) monômeros, viabilizando enxertos em polímeros multifuncionais.⁹

A ATRP também foi utilizada para controlar com precisão a composição da cadeia e preparar copolímeros segmentados (blocos), bem como sistemas periódicos e gradientes. A Figura 5 ilustra alguns exemplos de arquiteturas poliméricas comumente sintetizadas por ATRP. É importante ressaltar que a produção de algumas dessas estruturas mais complexas não é possível de se obter em métodos convencionais de polimerização por radicais livres.²³

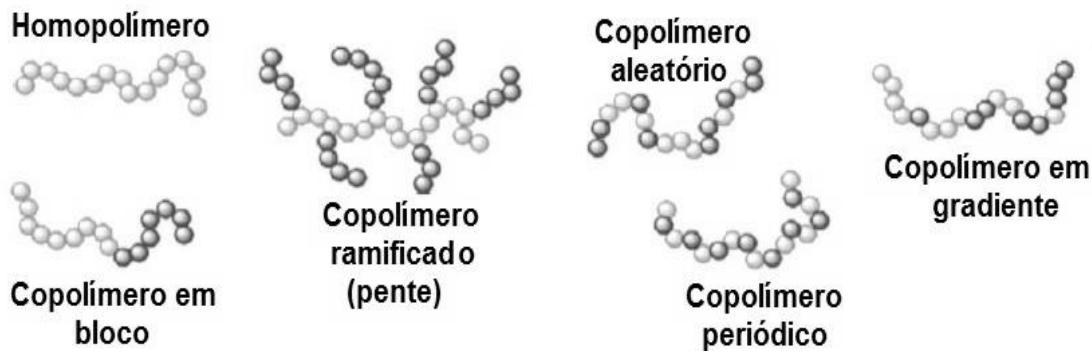


Figura 5: Exemplos de copolímeros com diferentes composições, sintetizados via ATRP e variações (adaptado).²

Os polímeros em forma de pente são copolímeros de enxerto compreendendo uma estrutura linear de polímero com várias cadeias laterais ao longo do seu comprimento, o que lhes confere propriedades notáveis de automontagem.¹ Copolímeros de enxerto produzidos via ATRP são geralmente preparados por três métodos diferentes: enxerto de unidades de iniciação ao longo da cadeia do polímero; a partir da cadeia lateral polimérica,

que é sintetizada primeiro e depois usada como (macro) monômero; e através da síntese das cadeias laterais e do polímero principal separadamente e, posteriormente, acopladas.⁴

2.5 Modificação de polímeros “biobased” via ATRP e aplicações na área médica

Sem dúvidas, uma das aplicações de grande destaque da ATRP está na modificação de polímeros “biobased” como, por exemplo, a produção de copolímeros “pente” ou “enxertados” (Figura 5). Os polímeros enxertados produzidos por ATRP viabilizam o fácil ajuste de seus componentes estruturais, como grupos suspensos, que influenciam diretamente uma série de propriedades.²³

Nanocristais de celulose (CNC) foram convertidos em nanomateriais responsivos ao CO₂, por meio do enxerto de poli(dimetilaminoetil metacrilato) (PDMAEMA) e poli(dietilaminoetil metacrilato) (PDEAEMA) em sua superfície. Primeiro, foi realizada a funcionalização da CNC com grupos de iniciadores ATRP, seguida de polimerização. A carga superficial da CNC modificada por enxerto pode ser comutada reversivelmente por protonação/desprotonação dos grupos amina terciária simplesmente por aspersão com CO₂ e N₂, respectivamente.²⁴

A polimerização O-ATRP foi utilizada na fabricação de copolímeros à base de celulose enxertados. Etil celulose foi modificada com éster 2-bromo-2-fenilacetato, que é um iniciador de ATRP. O enxerto de etil metacrilato foi conduzido com eficiência pela radiação UV, resultando em um bom controle sobre a massa molar do material sintetizado.²⁵

Outra classe de copolímeros sustentáveis e renováveis à base de celulose e rosina (recurso natural renovável obtido da exsudação de vários tipos de pinheiros, resíduos de madeira e celulose) foi preparada por meio do enxerto de cadeias poliméricas derivadas de rosina em etil celulose via ATRP. Os copolímeros obtidos apresentaram uma temperatura de transição vítreia ajustável e maior estabilidade térmica do que a etil celulose pura. Além de boa possibilidade de produção de filmes com alta hidrofobicidade, indicando sua aplicação como revestimento e filmes com proteção a UV.^{26,27}

Além dos materiais em formato de “pente”, a ATRP possibilita a produção de polímeros em formato de “estrela” (Figura 6), que são caracterizados por possuírem estruturas macromoleculares complexas com pelo menos três braços macromoleculares

(cadeias poliméricas) irradiando a partir do núcleo central, que pode ser um átomo, molécula pequena, macromolécula ramificada ou nanopartícula.²³

Nos últimos anos, polímeros em estrela têm sido cada vez mais aplicados no campo biomédico devido a sua flexibilidade adequada e estrutura densa. Nesse sentido, há muitos relatos de controle da topologia da cadeia polimérica via ATRP para preparar polímeros em estrela ramificados para aplicações de liberação de genes e drogas.²⁸⁻³⁰

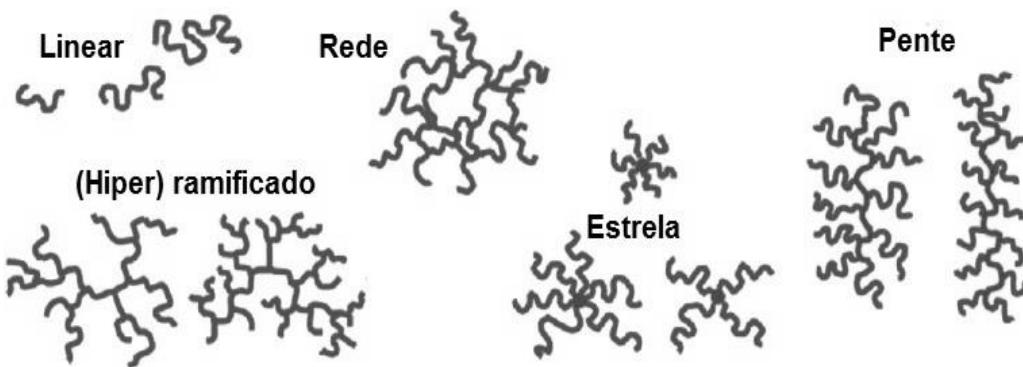


Figura 6: Exemplos de polímeros com diferentes topologias sintetizados via ATRP e variações (adaptado).²

Os polímeros em rede e “hiper” ramificados, representados na Figura 6, também são muito úteis para a encapsulação de agentes bioativos. Esses materiais não se dissolvem em água a temperatura e pH fisiológicos, apresentam poros intramoleculares, grupos funcionais abundantes, alta solubilidade e viscosidade reduzida. Portanto, têm sido usados para uma variedade de funções nos campos médico, farmacêutico e afins.^{4,31,32}

2.6 Considerações finais

O surgimento das técnicas de polimerização controlada possibilitou grandes avanços no desenvolvimento de materiais com diferentes composições, topologias e funcionalidades. Dentre as técnicas disponíveis, a ATRP é a que apresenta maior destaque, pois permite a engenharia de materiais poliméricos obter propriedades macroscópicas personalizadas, com um controle fino de parâmetros-chave para o design de materiais.

O conhecimento adquirido sobre o mecanismo de reação permitiu a criação de novas técnicas derivadas da forma tradicional da ATRP; e os desafios relacionados à

contaminação de polímeros devido ao uso de catalisadores à base de cobre foram superados pela redução drástica do metal na polimerização, através de sua regeneração no sistema e do uso de catalisadores alternativos.

Ressalta-se que a recente técnica que não emprega metais (O-ATRP) pode ser o caminho ainda inexplorado para viabilizar a ampliação de aplicações na área médica e eletrônica, uma vez que as reações podem ser conduzidas a baixas temperaturas e não há necessidade de purificação do produto. No entanto, sua extensão a um escopo maior de monômeros é indispensável, bem como a capacidade de produzir polímeros de massas molares superiores com arquiteturas poliméricas avançadas.

2.6 Referências

- ¹ MATYJASZEWSKI, K. “Advanced Materials by Atom Transfer Radical Polymerization”. *Adv. Mater.*, vol. 30, 2018, pp. 1-22.
- ² MATYJASZEWSKI, K. “Atom Transfer Radical Polymerization (ATRP): Current Status and Future Perspectives”. *Macromolecules*, vol. 45, 2012, pp. 4015-4039.
- ³ THERIOT, J.C. *et al.* “Organocatalyzed atom transfer radical polymerization driven by visible light”. *Science*, vol. 352, 2016, pp. 1-11.
- ⁴ RIBELLI, T.G., LORANDI, F.; FANTIN, M. & MATYJASZEWSKI, K. “Atom Transfer Radical Polymerization: Billion Times More Active Catalysts and New Initiation Systems”. *Macromol. Rapid Commun.*, vol. 40, 2019, pp. 1-44.
- ⁵ GUO, J.K. & LUO, Z.H. “How the catalyst circulates and works in organocatalyzed atom transfer radical polymerization”. *AICHE J.*, vol. 64, 2018, pp. 2581-2591.
- ⁶ BRAUNECKER, W.A. & MATYJASZEWSKI, K. “Controlled/living radical polymerization: Features, developments, and perspectives”. *Prog. Polym. Sci.*, vol. 32, 2007, pp. 93-146.
- ⁷ WANG, G.X.; LU, M. & ZHOU, M.J. “Photo-induced metal-free ATRP of MMA with 2,7-bi-(N-penothiazinyl)fluorenone as photocatalyst”. *J. Macromol. Sci. Part A Pure Appl. Chem.*, vol. 55, 2018, pp. 85-89.
- ⁸ LAMPING, S.; OTREMBA, T. & RAVOO, B. J. “Carbohydrate-Responsive Surface Adhesion based on the Dynamic Covalent Chemistry of Phenylboronic Acid- and Catechol-Containing Polymer Brushes”. *Angew. Chemie - Int. Ed.*, vol. 57, 2018, pp. 2474-2478.

- ⁹ KRYS, P. & MATYJASZEWSKI, K. "Kinetics of Atom Transfer Radical Polymerization". *Eur. Polym. J.*, vol. 89, 2018, pp. 482-523.
- ¹⁰ MATYJASZEWSKI, K. *et al.*, "Diminishing catalyst concentration in atom transfer radical polymerization with reducing agents". *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 103, 2006, pp. 15309-15314.
- ¹¹ MAGENAU, A.J.D. *et al.* "Electrochemically Mediated Atom Transfer Radical Polymerization". *Science*, vol. 332, 2011, pp. 81-84.
- ¹² ABREU, C. *et al.* "Inorganic sulfites: efficient reducing agents and supplemental activators for atom transfer radical polymerization". *ACS Macro Lett.*, vol. 1, 2012, pp. 1308-1311.
- ¹³ PAN, X. *et al.* "Photoinduced Atom Transfer Radical Polymerization with ppm-Level Cu Catalyst by Visible Light in Aqueous Media". *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 137, 2015, pp. 15430-15433.
- ¹⁴ MAGENAU, A.J.D. *et al.* "Investigation of Electrochemically Mediated Atom Transfer Radical Polymerization". *Macromolecules*, vol. 46, 2013, pp. 4346-4353.
- ¹⁵ PAN, X. *et al.* "Externally controlled atom transfer radical polymerization". *Chem. Soc. Rev.*, vol. 47, 2018, pp. 5457-5490.
- ¹⁶ ZHOU, Y.N. & LUO, Z.H. "Copper(0)-mediated reversible-deactivation radical polymerization: Kinetics Insight and Experimental Study". *Macromolecules*, vol. 47, 2014, pp. 6218-6229.
- ¹⁷ AUGUSTINE, K.F. *et al.* "Activation of alkyl halides at the Cu 0 surface in SARA ATRP: An assessment of reaction order and surface mechanisms". *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.*, vol. 55, 2017, pp. 3048-3057.
- ¹⁸ MIYAKE, G.M. & THERIOT, J.C. "Perylene as an Organic Photocatalyst for the Radical Polymerization of Functionalized Vinyl Monomers through Oxidative Quenching with Alkyl Bromides and Visible Light". *Macromolecules*, vol. 47, 2014, pp. 8255-8261.
- ¹⁹ THERIOT, J.C. *et al.* "Organocatalyzed Atom Transfer Radical Polymerization: Perspectives on Catalyst Design and Performance". *Macromol. Rapid Commun.*, vol. 38, 2017, pp. 1-9.
- ²⁰ LIM, C.H. *et al.* "Intramolecular charge transfer and ion pairing in N, N-diaryl dihydrophenazine photoredox catalysts for efficient organocatalyzed atom transfer radical

polymerization”. *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 139, 2017, pp. 348-355.

²¹ RAMSEY, B.L. *et al.* “Photoinduced Organocatalyzed Atom Transfer Radical Polymerization Using Continuous Flow”. *Macromolecules*, vol. 50, 2017, pp. 2668-2674.

²² ALLUSHI, A. *et al.* “Conventional Type II photoinitiators as activators for photoinduced metal-free atom transfer radical polymerization”. *Polym. Chem.*, vol. 8, 2017, pp. 1972-1977.

²³ RODRIGUES, P.R. & VIEIRA, R.P. “Advances in atom-transfer radical polymerization for drug delivery applications”. *Eur. Polym. J.*, vol. 115, 2019, pp. 45-58.

²⁴ ARREDONDO, J. *et al.* “Synthesis of CO₂-responsive cellulose nanocrystals by surface-initiated Cu(0)-mediated polymerisation”. *Green Chem.*, vol. 19, 2019, pp. 4141-4152.

²⁵ LU, C. *et al.* “Metal-free ATRP ‘grafting from’ technique for renewable cellulose graft copolymers”. *Green Chem.*, vol. 21, 2019, pp. 2759-2770.

²⁶ YU, J. *et al.* “Integration of renewable cellulose and rosin towards sustainable copolymers by ‘grafting from’ ATRP”. *Green Chem.*, vol. 16, 2014, pp. 1854-1864.

²⁷ LIU, Y. *et al.* “Sustainable thermoplastic elastomers derived from renewable cellulose, rosin and fatty acids”. *Polym. Chem.*, vol. 5, 2014, p. 3170.

²⁸ XIU, K.M. *et al.* “Multiarm cationic star polymers by atom transfer radical polymerization from β-cyclodextrin cores: Influence of arm number and length on gene delivery”. *Acta Biomater.*, vol. 9, 2013, pp. 4726-4733.

²⁹ ZHOU, Z. *et al.* “Synthesis of temperature/pH dual-sensitive supramolecular micelles from β-cyclodextrin-poly(N-isopropylacrylamide) star polymer for drug delivery”. *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, vol. 172, 2018, pp. 136-142.

³⁰ GAO, Y.E. *et al.* “Irinotecan delivery by unimolecular micelles composed of reduction-responsive star-like polymeric prodrug with high drug loading for enhanced cancer therapy”. *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, vol. 170, 2018, pp. 488-496.

³¹ BAJPAI, A.K. *et al.* “Responsive polymers in controlled drug delivery”. *Prog. Polym. Sci.*, vol. 33, 2008, pp. 1088-1118.

³² PEELER, D.J.; SELLERS, D.L. & PUN, S.H. “PH-Sensitive Polymers as Dynamic Mediators of Barriers to Nucleic Acid Delivery”. *Bioconjug. Chem.*, vol. 30, 2019, pp. 350-365.

Capítulo 3

Nanotecnologia na área da saúde: importância, vantagens e limitações

Maria Gabriela Nogueira Campos

Área de Ciência e Engenharia de Materiais
Universidade Federal de Alfenas – Unifal/MG

3.1 Definição de nanotecnologia

De acordo com a Comissão Europeia, Nanotecnologia é o termo dado às áreas da ciência e engenharia onde o fenômeno que ocorre em dimensões de escala nanométrica é utilizado para desenvolver, caracterizar, produzir e aplicar materiais, estruturas, dispositivos e sistemas.^[1] A Iniciativa Nacional de Nanotecnologia dos Estados Unidos, em seu plano estratégico de dezembro de 2007, definiu Nanotecnologia como o entendimento e controle da matéria em dimensões entre aproximadamente 1 e 100 nm, onde um único fenômeno permite novas aplicações. Em dimensões entre 1 e 100 nm (escala nanométrica), diferentes propriedades físicas, químicas e biológicas podem ser observadas em comparação ao mesmo material em sua forma convencional e/ou aos seus átomos e moléculas.^[2] A Figura 1 apresenta uma ilustração da razão entre a área superficial e o volume, conforme se reduz o tamanho do material.

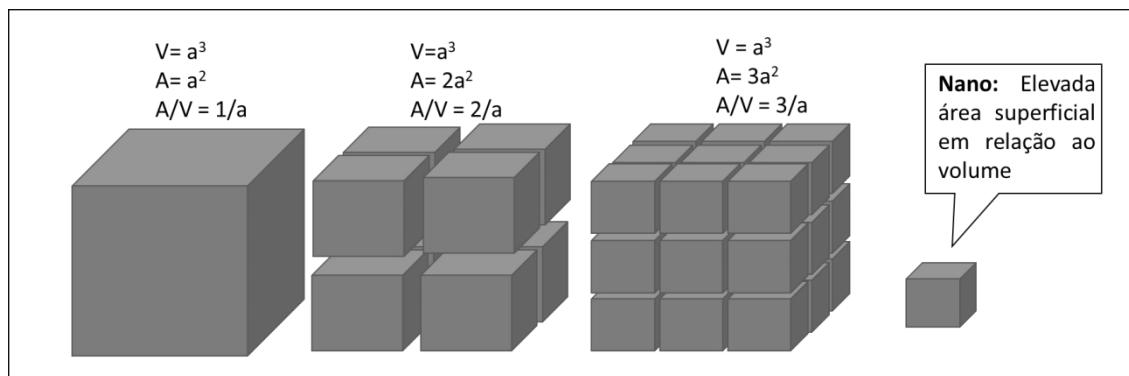


Figura 1: Relação entre área superficial e volume em função da redução do tamanho (Elaboração da autora).

Tais propriedades podem tornar os nanomateriais interessantes para aplicação em diversas áreas, incluindo a área da saúde. Como os nanomateriais têm dimensões semelhantes a proteínas, DNA e RNA, as interações dos nanomateriais com o corpo humano podem ser bastante diferentes dos materiais convencionais, justamente devido ao fenômeno único que ocorre com alguns materiais na escala nanométrica. Além disso, a nanotecnologia pode ser usada para mimetizar estruturas biológicas, favorecendo o uso de nanomateriais na confecção de implantes e outros biomateriais.

As aplicações da nanotecnologia na área da saúde são tão amplas que uma nova área de estudo foi criada, a Nanomedicina. A Fundação Europeia de Ciências definiu, em 2004, nanomedicina como “a ciência e a tecnologia de diagnóstico, tratamento e prevenção de doenças e lesões traumáticas, alívio da dor e preservação e melhoria da saúde humana, usando ferramentas moleculares e conhecimento molecular do corpo humano”, enquanto o Instituto Nacional de Saúde dos Estados Unidos a definiu, em 2006, como “um ramo da nanotecnologia que se refere a intervenções médicas altamente específicas em escala molecular para curar doenças ou reparar tecidos danificados, como ossos, músculos ou nervos”.^[3] A nanomedicina ainda pode ser dividida em subáreas como: ferramentas analíticas; nanoimagem; nanomateriais e nanodispositivos; novos sistemas terapêuticos e de administração de medicamentos; e questões clínicas, regulatórias e toxicológicas. Na Figura 2 observa-se áreas de aplicação da nanotecnologia.

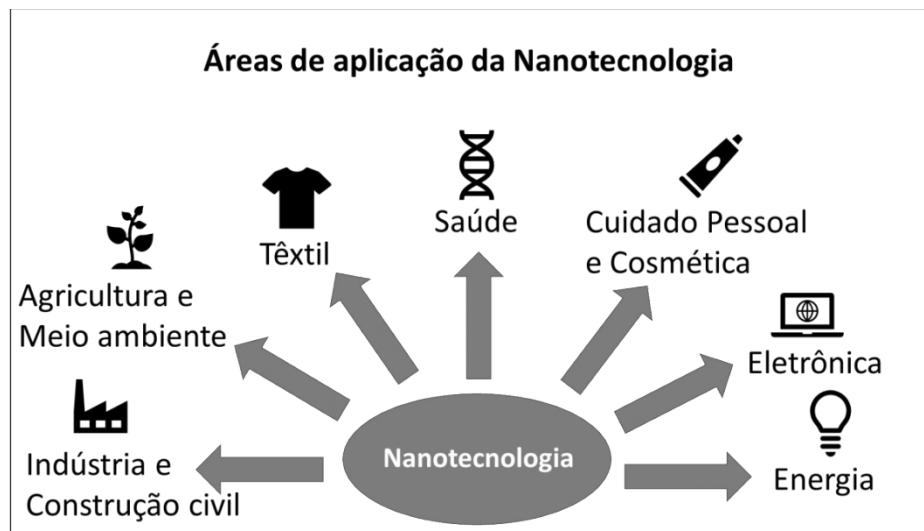


Figura 2: Áreas de aplicação da nanotecnologia (Elaboração da autora).

Algumas aplicações da nanotecnologia na área da saúde estão listadas na Tabela 1 e serão discutidas ao longo deste capítulo.

Tabela 1: Aplicação da nanotecnologia na área da saúde: instrumentação, diagnóstico e terapia.

Instrumentação	Diagnóstico	Terapia
Diversos equipamentos médicos como sondas, câmeras, implantes foram desenvolvidos ou aprimorados com o uso da nanotecnologia e dos nanomateriais, permitiram um avanço relevante nesta área.	Novos protocolos para diagnóstico foram criados ou aprimorados com o uso da nanotecnologia, permitindo um aumento na sensibilidade dos ensaios devido as características dos nanomateriais utilizados.	A nanotecnologia contribuiu para o desenvolvimento de novos tratamentos, drogas e dispositivos para ação e liberação mais eficiente de fármacos, que são entregues em órgãos-alvo.

3.2 Nanotecnologia em dispositivos médicos, hospitalares e odontológicos

3.2.1 Instrumentação

O advento da nanotecnologia permitiu o aprimoramento e a criação de uma nova geração de equipamentos médicos de menores dimensões (devido ao desenvolvimento de nanobaterias e componentes eletrônicos mais compactos), com maior custo-benefício, mais eficientes e rápidos, além de apresentarem interface mais intuitiva com o operador. Além disso, essa nova geração de equipamentos é capaz de fornecer dados mais completos e confiáveis utilizando a mesma ou até menores quantidades de amostra.^[4] Tais equipamentos incluem – mas não se restringem a – aparelhos de ultrassom, ressonância, tomografia, ventiladores pulmonares, etc., além dos insumos cirúrgicos, como cateteres, sondas e drenos. De acordo com o Instituto Nacional da Propriedade Industrial – INPI

(2017), o número de pedidos de patente de nanotecnologia aplicada à área de equipamentos médicos, hospitalares e odontológicos entre os anos de 2008 e 2015 somente no Brasil foi de 115 pedidos, enquanto 2.191 pedidos foram depositados em todo o mundo. Nesse mesmo período, ainda foram depositados mundialmente 1.843 pedidos na área de próteses e órteses (91 no Brasil).^[5]

As próteses e órteses, também conhecidas por implantes, são uma importante categoria de dispositivos médicos que foi beneficiada com a nanotecnologia. Nessa categoria incluem-se os implantes odontológicos (próteses dentárias, coroas, pontes, dentes artificiais), ortopédicos (placas, pinos, parafusos, cabeça femoral, prótese de joelho), cardíacos (válvulas cardíacas, marca-passos, *stents*) e neurológicos (chips, marca-passos cerebrais, eletrodos de estimulação cerebral), entre outros. Além disso, os implantes temporários e/ou materiais utilizados para preenchimento temporário de tecidos para auxiliar na sua regeneração, tais como cimentos ósseos e recobrimentos de ferida, também se enquadram nessa categoria.

Nanomateriais podem ser utilizados para a confecção e/ou recobrimento de próteses (temporárias e definitivas) com o intuito de melhorar as propriedades físicas, químicas e mecânicas, proporcionar uma interface mais compatível com o tecido receptor, melhorar a integração com os tecidos adjacentes, além de reduzir os riscos de trombose e/ou rejeição. Além disso, o recobrimento com nanomateriais pode acrescentar interessantes propriedades ao implante, tal como atividade antimicrobiana (incorporação de nanopartículas de prata e cobre, por exemplo).

As telas ou malhas cirúrgicas são dispositivos (endopróteses) geralmente produzidos à base de polímeros, tal como o polipropileno (PP) e usadas em cirurgias de reparo de hérnia inguinal, com o intuito de criar uma reação fibrótica ao redor da tela, fortalecendo assim as estruturas do tecido abdominal. Entretanto, devido ao risco de infecção associado a cirurgia e a outros fatores de risco, pode haver rejeição da tela no período pós-cirúrgico. Zhukovskii *et al.* (2018) estudaram o recobrimento de malhas cirúrgicas à base de PP e fluoreto de polivinilideno (PVDF) com nanopartículas de prata pelo método de deposição, visando introduzir atividade antibacteriana às malhas, reduzindo assim os riscos de infecção.^[6] Guerra *et al.* (2016 e 2018) também estudaram a incorporação de nanopartículas

de prata em fibras de polietileno tereftalato (PET) para aplicação na confecção de material têxtil com propriedades antimicrobianas, como por exemplo, roupa de cama para leitos hospitalares, meias, etc.^[7,8] Segala *et al.* (2015) investigaram a atividade antimicrobiana de membranas nanoestruturadas de acetato de celulose (CA) e misturas de quitosana/polioxido de etileno preparadas por eletrofiação incorporadas com nanopartículas de prata para aplicação na confecção de dispositivos médicos.^[9]

Outra grande aplicação dos nanomateriais na área da saúde está relacionada ao recobrimento de próteses metálicas. As válvulas cardíacas, assim como a grande maioria das próteses metálicas, são geralmente produzidas à base de titânio, que é um metal durável e resistente. Porém, os pacientes implantados geralmente fazem uso de medicamentos anticoagulantes devido ao constante contato da válvula com o sangue, que pode causar a formação de trombos. Assim, o recobrimento de próteses metálicas com polímeros como a poli(caprolactona) (PCL), que é biocompatível, bioabsorvível e de baixos peso molecular e densidade, pode reduzir a trombogenicidade dessas próteses. Ferreira *et al.* (2017) estudaram o recobrimento de discos de titânio, para aplicação em válvulas cardíacas, com nanopartículas de dióxido de titânio incorporadas, para acrescentar atividade antimicrobiana ao recobrimento e favorecer a adesão do recobrimento polimérico ao substrato metálico.^[10] Os autores relataram um aumento da resistência à corrosão em condições fisiológicas nos discos de titânio recobertos com o polímero.

A quitosana é outro polímero biocompatível, bioabsorvível e biodegradável, derivada do 71eteroatomos quitina, apresenta ampla aplicação na área biomédica em virtude de suas interessantes propriedades. A quitosana vem sendo bastante utilizada na produção de implantes temporários, tais como substitutos de pele^[11-13], reparadores de cartilagem^[14,15] e cimentos ósseos^[16,17], além do recobrimento de implantes metálicos. Ela também é capaz de formar nanoestruturas como nanopartículas^[18-20] e nanofibras^[9,21], e pode ser associada a outros polímeros como o alginato^[21], poliácido láctico (PLA)^[19,20] e o colágeno^[22,23] para confecção de suportes celulares para regeneração de tecidos. Diversos dispositivos à base de nanofibras de colágeno (ou gelatina) e celulose estão sendo estudados para reparação tecidual.^[23,24] Uma nova classe de dispositivos em três dimensões com arquiteturas hierárquicas obtidas a partir das nanofibras é a grande promessa na área de

engenharia de tecidos e a base para a produção de órgãos complexos de tecidos tridimensionais *in vitro* e para a regeneração de tecidos *in vivo*.^[25]

3.2.2 Nanotecnologia em diagnóstico

A nanotecnologia revolucionou a área de diagnóstico e a nanomedicina trouxe grandes inovações e esperança para o tratamento de doenças que, atualmente, podem ser diagnosticadas em estágio inicial ou anterior à sua instalação. Grande parte desse avanço deu-se a partir da descoberta dos pontos quânticos, descritos pela primeira vez em 1981.^[26]

Os pontos quânticos são nanocristais fluorescentes semicondutores com diâmetro na faixa de 2 a 12 nm. Devido aos efeitos de confinamento, os pontos quânticos apresentam atributos óticos únicos, responsáveis pela sua ampla aplicação em testes de diagnóstico utilizando a propriedade de fluorescência.^[27] Os pontos quânticos são mais fotoestáveis em comparação com os corantes orgânicos, sendo muito utilizados na área de bioimagem. Entretanto, devido ao caráter hidrofóbico dos pontos quânticos, é necessária a funcionalização – ou recobrimento – dos mesmos para posterior reação de conjugação com compostos biológicos. Geralmente, a funcionalização é feita com polímeros que possuem grupos funcionais, tais como hidroxilas e carbonilas. O polietileno glicol (PEG) é um dos polímeros mais utilizados na funcionalização de pontos quânticos, em virtude de sua biocompatibilidade e hidrofilicidade^[28]. A quitosana (polímero biocompatível natural) e o ácido fólico também podem ser usados para funcionalizar pontos quânticos.^[29] Uma vez funcionalizados, os pontos quânticos podem ser dispersos em meio aquoso e conjugados com anticorpos, DNA e/ou outras moléculas de interesse, capazes de se ligar com marcadores específicos para o diagnóstico de doenças.^[30-33] Os polímeros nanoestruturados também vêm sendo bastante empregados na imobilização de agentes biológicos em biossensores. Tais polímeros são produzidos com a morfologia e propriedades ideais para conjugação, em nível molecular, com o composto biológico, de forma a manter sua funcionalidade. A Figura 3 ilustra o mecanismo básico de funcionamento dos biossensores.

A ligação do componente biológico com o analito específico é detectada através da ativação do ponto quântico, que pode ser medida por alterações em suas propriedades óticas, como fluorescência, por exemplo.

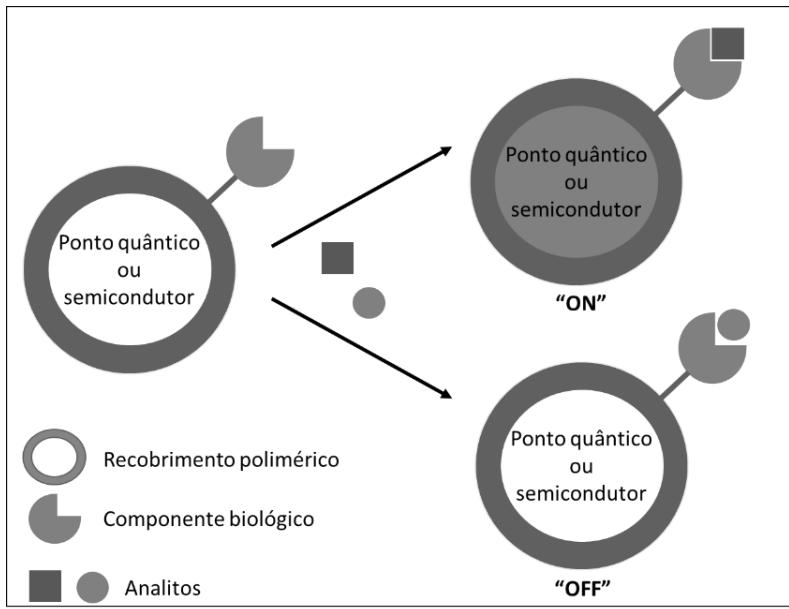


Figura 3: Mecanismo básico de funcionamento de biosensores (Elaboração da autora).

Maxwel *et al.* (2015) desenvolveram um sensor ativável à base de pontos quânticos e quitosana.^[29] O biosensor ativável (“OFF”/“ON”) foi recoberto com dopamina, que atua como um inibidor de fluorescência (estado “OFF”) e fármaco-modelo. A interação da dopamina com a glutatona intercelular ativa o biosensor e restaura a fluorescência dos pontos quânticos, que ficam no estado “ON”.^[29]

Embora os pontos quânticos sejam bastante versáteis e amplamente estudados pela comunidade científica, ainda não é possível o seu uso em exames intracorporais, devido à toxicidade desses materiais, que são geralmente produzidos a partir de cádmio e outros metais. Por outro lado, diversos testes de diagnóstico disponíveis comercialmente utilizam plataforma desenvolvida a partir dos pontos quânticos.

O encapsulamento – ou encapsulação – é outro método de produção de biosensores com utilização em polímeros nanoestruturados. Neste caso, o agente biológico é protegido por uma membrana polimérica permeável apenas à substância que se pretende detectar. A Figura 4 apresenta uma ilustração de um sensor encapsulado, onde o componente biológico (gravata) é envolto com uma membrana polimérica semipermeável (cinza) e é colocado no meio com analitos (quadrados, círculos e losangos). Como a membrana é seletiva, apenas os analitos de interesse (losangos) são capazes de penetrar na cápsula e

ligar-se ao componente biológico, ativando assim o biosensor e alterando suas propriedades óticas, o que permite a detecção da reação.

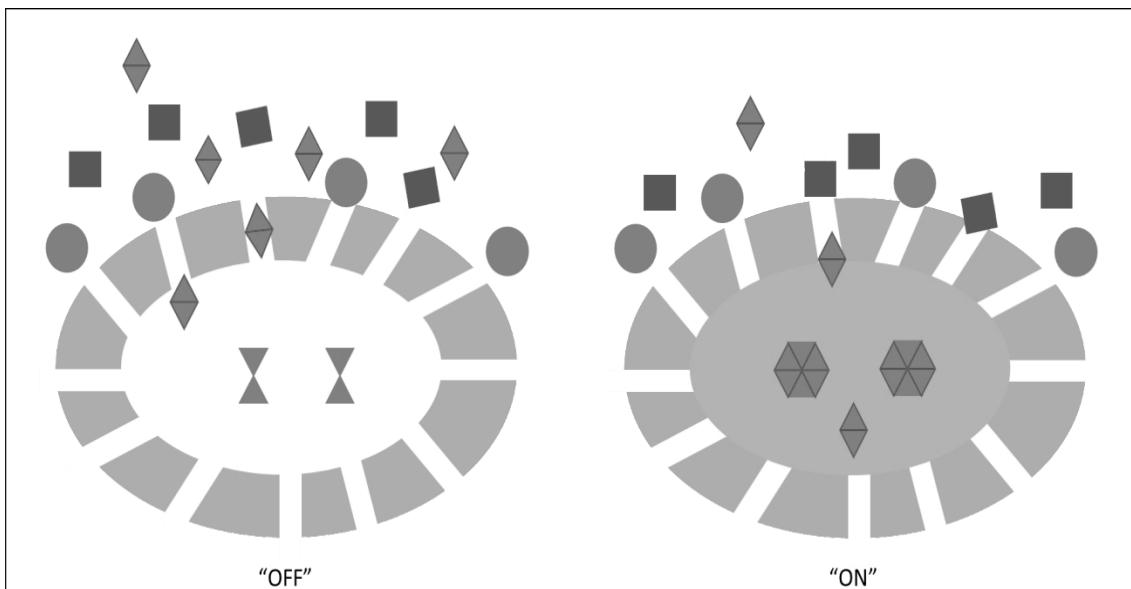


Figura 4: Sensor encapsulado com membrana polimérica semipermeável (Elaboração da autora).

Myung *et al.* (2011) utilizaram grafeno para encapsular um nanobiossensor usado na detecção de câncer de mama.^[34] Atualmente, marcadores salivares para detecção de câncer de mama estão sendo identificados e a nanotecnologia está sendo usada para desenvolver sensores de baixo custo, alta seletividade e rápida detecção, tornando o diagnóstico do câncer mais acessível.^[35] Assim, a nanotecnologia tem contribuído para a miniaturização dos biosensores e o aumento de sensibilidade, permitindo uma redução no tamanho/volume e tipo de amostra coletada para análise.

3.2.3 Nanotecnologia em terapias

3.2.3.1 Nanoformulações poliméricas

As nanoformulações poliméricas, também conhecidas como nanofármacos, são geralmente utilizadas para liberação controlada do princípio ativo, aumento do tempo de circulação do fármaco, liberação em tecido-alvo (aumento da eficácia) e melhoria da biocompatibilidade. Assim, princípios ativos podem ser incorporados em sistemas poliméricos biodegradáveis para controlar a liberação, enquanto conjugados de polímero-

fármaco podem ser usados para aumentar o tempo de circulação e a biocompatibilidade do nanofármaco.

O primeiro nanofármaco aprovado em 1995 para uso clínico foi o Doxil[®], à base de hidrocloreto de doxorrubicina.^[36] Esse medicamento, utilizado em quimioterapia para tratamento de câncer, possui um revestimento lipossômico que evita a destruição da doxorrubicina pelo organismo; com isso, aumenta o seu tempo de retenção e as chances de ser liberado prolongadamente no local-alvo (tumor). Os lipossomos são vesículas esféricas formadas por camadas concêntricas de fosfolipídios (cabeça hidrofílica e cauda hidrofóbica) que possuem permeabilidade seletiva semelhante às membranas das células. A estrutura dos lipossomos permite a encapsulação de fármacos, bem como sua circulação na corrente sanguínea e captação celular, promovendo assim a liberação controlada em alvo específico. Diversos outros nanofármacos estão disponíveis na forma lipossômica, com vantagens de apresentar menor toxicidade, maior biodisponibilidade e eficácia, em comparação às suas formulações-padrão.^[37]

A peguilação também é bastante utilizada na produção de nanofármacos devido a suas características de aumentar o tempo de circulação (minimizando as interações com as proteínas séricas) e a biocompatibilidade.^[28] Vários medicamentos (ligados covalentemente com polietilenoglicol – PEG), encontram-se disponíveis comercialmente. O Plegridy (PEG interferon beta-1^a, Biogen) foi aprovado em 2014 para o tratamento de formas recorrentes de esclerose múltipla. A peguilação do interferon gama beta-1^a melhorou a meia-vida e a exposição ao medicamento, comparado apenas ao interferon. Por causa de uma meia-vida mais longa, o Plegridy pode ser administrado uma vez a cada duas a quatro semanas, em comparação com outros tratamentos de esclerose múltipla que frequentemente precisam ser administrados diariamente. Outro fármaco, o Adynovate (fator anti-hemofílico [recombinante], Baxalta U.S., Inc.) foi aprovado em 2015 como profilaxia hemorrágica e tratamento de hemorragia aguda na hemofilia A. Esse medicamento pode ser administrado menos frequentemente (em comparação com formulações não granuladas de fator VIII) devido a uma meia-vida aumentada por causa da peguilação da nanoformulação. Dois anos depois (2017), o Rebinyn (fator de coagulação IX [recombinante], glicopegulado, Novo Nordisk) foi aprovado para tratamento sob demanda e controle de episódios hemorrágicos e tratamento perioperatório do sangramento, em pacientes com hemofilia B. Nesse

medicamento, a glicopeguilação aumenta a meia-vida circulante do fator IX recombinante, que permite dosagem intravenosa menos frequente e menor frequência de sangramento.^[37]

Além dos lipossomos e da peguilação, outros processos e dispositivos estão disponíveis para a nanoformulação, incluindo as nanopartículas, micelas, nanocrystalis, dendrímeros, entre outros.

3.2.3.2 Nanopartículas na liberação controlada de fármacos

As nanopartículas são os principais veículos para carregamento e transporte de fármacos e podem ser produzidas a partir de materiais orgânicos e inorgânicos. No caso dos materiais orgânicos, as nanopartículas poliméricas representam um grande percentual dos produtos disponíveis comercialmente, devido à alta flexibilidade dos polímeros em termos de propriedades físicas e químicas, além da baixa toxicidade e da biocompatibilidade de alguns materiais poliméricos. Tendo em vista a grande capacidade de uso das nanopartículas poliméricas para liberação controlada de fármacos, medicamentos utilizados para o tratamento de doenças como câncer, diabetes, doenças cardiovasculares, entre outras, têm sido conjugados com elas para o incremento do tempo de circulação e o aumento da eficácia.^[19,37-48]

A síntese das nanopartículas poliméricas pode ocorrer a partir de polímeros naturais ou *biobased*, sintéticos e semissintéticos, em diversos tamanhos (que variam de 10 nm a 100 nm) e em grande quantidade. Além disso, as nanopartículas podem ser obtidas a partir de um único polímero ou por combinação de polímeros com diferentes propriedades. Castro *et al.* (2019) preparam nanopartículas, do tipo núcleo casca, utilizando dois polímeros biodegradáveis, isto é, o poliácido láctico (PLA, núcleo) e a quitosana (casca) para liberação controlada de gentamicina (antibiótico). Os autores relatam o efeito da liberação controlada e prolongada da gentamicina e seu efeito antimicrobiano em colônias de *Staphylococcus aureus*.¹⁹

O PLA também pode ser associado a outros polímeros, como o poliácido-glicólico (PAG) para a produção de copolímeros. O poliácido láctico-co-ácido glicólico (PLGA) é o copolímero do PLA e PGA. Diferentes proporções relativas entre os polímeros podem ser usadas para controlar a biodegradação e as propriedades mecânicas do copolímero. Tais

propriedades irão influenciar o perfil de liberação do fármaco no organismo. Já existem medicamentos à base de PLGA aprovados para uso em humanos. O Zilretta (Tabela 2), suspensão injetável para liberação prolongada de acetonida de triancinolona (Flexion Therapeutics), é um exemplo de medicamento aprovado (2017) para uso no tratamento da osteoartrite. Nesse medicamento, cristais de acetonida de triancinolona são incorporados em uma matriz de copolímero PLGA. Assim, nanocanais são formados na superfície da matriz polimérica que limitam a liberação de triancinolona acetonida, prolongando o tempo de liberação do medicamento.^[37]

A Tabela 2 apresenta alguns exemplos de nanopartículas poliméricas com uso aprovado no tratamento de diversas doenças e inclui as indicações e benefícios do uso da nanotecnologia no mecanismo de ação de tais medicamentos.

Tabela 2: Nanoformulações poliméricas disponíveis comercialmente: nome comercial, indicação e benefícios do uso da nanotecnologia (Adaptada de “Progress in Nanomedicine: Approved and Investigational Nanodrugs, 2017”).^[37]

Nome comercial	Indicação	Benefícios da Nanotecnologia
Adagen (Leadiant Biociências)	SCID – Doença imune combinada severa	Maior tempo de circulação, imunogenicidade reduzida.
Adynovate (Shire)	Hemofilia	Maior estabilidade proteica, meia-vida mais longa.
Cimzia (UCB)	Doença de Crohn, artrite reumatoide, artrite psoriática	Maior tempo de circulação, maior estabilidade <i>in vivo</i> .
Copaxona (Teva)	Esclerose múltipla	Excreção controlada.
Eligard (Tolmar)	Câncer de próstata	Maior tempo de circulação, liberação controlada.
Krystexxa (Horizon)	Gota crônica	Maior estabilidade proteica.

Macugen (Bausch & Lomb)	Degeneração macular neovascular relacionada à idade	Maior estabilidade do aptâmero.
Mircera (Vifor)	Anemia associada à doença crônica renal	Maior estabilidade do aptâmero.
Neulasta (Amgen)	Neutropenia induzida por quimioterapia	Maior estabilidade proteica.
Oncaspar (Baxalta U.S.)	leucemia linfoblástica aguda	Maior estabilidade proteica
Pegasys (Genentech)	Hepatite B, hepatite C	Maior estabilidade proteica.
PegIntron (Merck)	Hepatite C	Maior estabilidade proteica.
Plegridy (Biogen)	Esclerose múltipla	Maior estabilidade proteica.
Rebinyn (Novo Nordisk)	Hemofilia B	Meia-vida mais longa, maiores níveis de medicamento entre infusões.
Renvela (Genzyme); e Renagel (Genzyme)	Doença renal crônica	Maior tempo de circulação.
Somavert (Pfizer)	Acromegalia	Maior estabilidade proteica.
Zilretta (Flexion Therapeutics)	Osteoartrite, dor no joelho	Liberação prolongada.

3.2.3.3 Teranósticos

Teragnose é uma junção de diagnose e terapia que é a base dos dispositivos teranósticos (ou teragnósticos) multifuncionais personalizados, que atuam tanto no diagnóstico da doença como no seu tratamento. O projeto de dispositivos teranósticos deve envolver os conhecimentos necessários para a produção de biossensores e dispositivos para reconhecimento do alvo, carregamento e liberação controlada do fármaco em um local-alvo

do tratamento. A Figura 5 ilustra os elementos necessários em um dispositivo teranóstico. Ácido fólico, anticorpos, marcadores celulares, biomoléculas entre outros podem ser usados para facilitar a identificação do tecido/célula-alvo, que é detectada pelo componente sensorial do dispositivo (componente diagnóstico). Depois de identificado o alvo, o fármaco previamente carregado no dispositivo deve ser liberado controladamente (componente terapêutico do dispositivo).

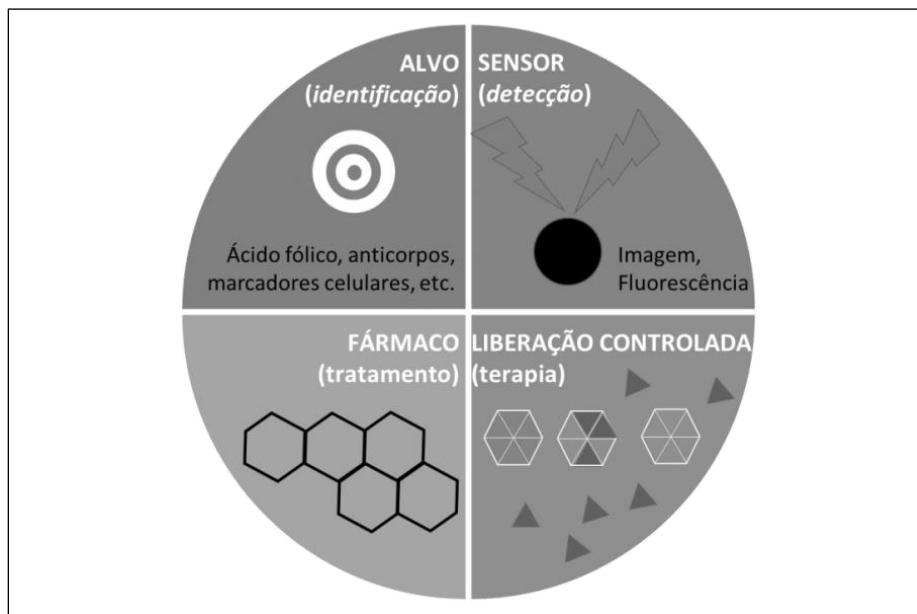


Figura 5: Esquema de um dispositivo teranóstico (Elaboração da autora).

O desenvolvimento de dispositivos teranósticos para diagnóstico e tratamento de câncer deve: i) conter biomarcador/biosensor para rastrear e marcar o alvo a ser tratado (tumor); ii) fazer o contraste da imagem para localização do tumor; iii) iniciar a terapia com droga antitumoral previamente carregada no dispositivo; e, finalmente, iv) liberar controladamente a droga no alvo.^[49] Huang *et al.* (2017) desenvolveram um novo sistema nanoteranístico baseado em pontos quânticos revestidos com polímero, carregado com o fármaco antitumoral Paclitaxel e ácido lipoico (alta afinidade com receptores tumorais).^[50] Os autores mostraram, *in vitro*, que o dispositivo é capaz de diagnosticar e tratar o câncer.

3.4 Limitações da nanotecnologia

A seleção de polímeros para produção de nanomateriais para aplicação na área biomédica deve levar em consideração sua composição e propriedades físico-químicas. Diferentes polímeros vão apresentar características específicas, tais como: afinidade química, tamanho de partícula, superfície química e carga superficial, e devem ser escolhidos adequadamente para a aplicação em sistemas biológicos. Devido à grande relação superfície/volume, os nanomateriais são excelentes transportadores de fármacos e outras biomoléculas e podem melhorar a capacidade de entrega e a biodisponibilidade do fármaco no local de destino (alvo). Além disso, a seleção das reações químicas apropriadas para a bioconjugação entre o nanomaterial e o fármaco também é importante para garantir o carregamento eficiente, a estabilidade do sistema transportador-fármaco, e a ativação/reconhecimento pelos receptores celulares.

Outros fatores, como toxicologia e eficácia da terapia, também são avaliados nos testes clínicos de potências nanomateriais para aplicação biomédica. Embora vários nanofármacos tenham sido testados clinicamente, muitos não foram capazes de demonstrar melhora significativa na eficácia e redução na toxicidade, em comparação com os respectivos medicamentos-padrão, e, portanto, não tiveram sucesso no registro para uso. Os estudos de toxicologia, no âmbito dos nanomateriais (nanotoxicologia), devem considerar além das interações com o organismo, os mecanismos de captação, circulação, acúmulo (caso ocorra) e excreção dos nanomateriais pelas vias metabólicas.

3.5 Nanotoxicologia

A nanotoxicologia é uma subárea da toxicologia que estuda as interações (específicas e secundárias) dos nanomateriais com os seres vivos (sistema biológico) e o meio ambiente. Os efeitos toxicológicos de nanomateriais em diferentes sistemas biológicos, tais como células, tecidos e órgãos, estão relacionados com as propriedades físico-químicas e morfológicas dos nanomateriais.^[51] Tais propriedades podem influenciar as interações com o nanomaterial e causar diferentes respostas, em relação ao material convencional (escala maior que a nano). Para minimizar o impacto dos nanomateriais na

saúde e no meio ambiente, a etapa prévia à sua concepção deve levar em consideração as rotas de injeção, captação, circulação e excreção. Em geral, os nanomateriais são projetados para ter períodos de circulação prolongados, a fim de aumentar o efeito do fármaco e sua acumulação no local-alvo. Entretanto, devido a esse longo período de circulação, as interações não específicas ou secundárias e a adsorção por proteínas séricas, que promovem a opsonização, devem ser minimizadas. Uma alternativa bastante utilizada para isso é a incorporação de PEG à superfície dos nanomateriais, tornando-os menos vulneráveis a esse tipo de interações.

A toxicidade e a acumulação dos nanomateriais em tecidos que não sejam alvo também devem ser consideradas no estudo da nanotoxicologia. Embora, em sua maioria, os biopolímeros sejam inertes ou biocompatíveis, as reações metabólicas podem produzir, indiretamente, metabólicos tóxicos e não absorvíveis. Assim, o uso de polímeros biodegradáveis e bioabsorvíveis, que podem ser totalmente metabolizados e excretados pelo organismo, deve ser preferencial nas aplicações biomédicas, com o intuito de minimizar as reações adversas.

3.6 Referências

1. *Scientific Committee on Emerging and Newly-Identified Health Risks (SCENIHR) The Appropriateness of the Risk Assessment Methodology in Accordance with the Technical Guidance Documents for New and Existing Substances for Assessing the Risks of Nanomaterials (European Commission, Brussels, 2007)*, p. 79.
2. KREYLING, W.G.; SEMMLER-BEHNKE, M. & CHAUDHRY, Q. "A complementary definition of nanomaterial". *Nano Today*, 2010, vol. 5(3), pp. 165-168.
3. WEBSTER, T.J. "Nanomedicine: what's in a definition?". *International Journal of Nanomedicine*, 2006, vol. 1(2), pp. 115-116.
4. SAHOO, S.K. *Nanotechnology in Health Care*, 2012, pp. 1-331.
5. VILLA VERDE, F.R.; SANTOS, P.R. & VON DER WEID, I. *Nanotecnologia aplicada a equipamentos e suprimentos médicos, hospitalares e odontológicos (EMHO)*. Rio de Janeiro: Instituto Nacional da Propriedade Industrial – INPI,

Diretoria de Patentes –DIRPA, Coordenação-Geral de Estudos, Projetos e Disseminação de Informação Tecnológica – CEPIT, Divisão de Estudos e Projetos – DIESP, 2017.

6. ZHUKOVSKII, V.A. *et al.* "Preparation and Study of Polymer Implants with a Silver Nanocoating". *Fibre Chemistry*, 2018, vol. 50(4), pp. 264-269.
7. GUERRA, M.A.; SWERTS, J.P.; Funcia, M.A. & CAMPOS, M.G.N. "Antimicrobial Activity of PET-Silver Nanocomposite Filaments". *Materials Science Forum*, vol. 930, 2018, p. 6.
8. GUERRA, M.A.; MARIANO, N.A.; RAMOS, A.S. & CAMPOS, M.G.N. "Processing of Pet-Silver Nanocomposite Filaments". *Materials Science Forum*, vol. 869, 2016, p. 6.
9. SEGALA, K. *et al.* "Silver nanoparticles incorporated into nanostructured biopolymer membranes produced by electrospinning: a study of antimicrobial activity". *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 51(4), 2015, pp. 911-921.
10. FERREIRA, C.C. *et al.* "Improvement of Titanium Corrosion Resistance by Coating with Poly-Caprolactone and Poly-Caprolactone/Titanium Dioxide: Potential Application in Heart Valves". *Materials Research-Ibero-American Journal of Materials*, vol. 20, 2017, pp. 126-133.
11. CAMPOS, M. *et al.* "Antibacterial activity of chitosan solutions for wound dressing". *Macromolecular Symposia*, vol. 245, 2006, pp. 515-518.
12. CAMPOS, M.G.N. *et al.* "Effects of neutralization process on preparation and characterization of chitosan membranes for wound dressing". *Macromolecular Symposia*, vol. 229, 2005, pp. 253-257.
13. CAMPOS, M.G.N.; MEI, L.H.I. & SANTOS, A.R. "Sorbitol-Plasticized and Neutralized Chitosan Membranes as Skin Substitutes". *Materials Research-Ibero-American Journal of Materials*, vol. 18(4), 2015, pp. 781-790.
14. FILGUEIRA, F.G.F. *et al.* "Platelet-rich plasma, bone marrow and chitosan in minimally invasive plate osteosynthesis of canine tibia fractures - a randomized study". *Veterinarni Medicina*, vol. 64(7), 2019, pp. 309-316.

15. MARTINS, E.A.N. *et al.* "Evaluation of Chitosan-Glycerol Phosphate in Experimental Osteochondral Joint Defects in Horses". *Molecular and Genetic Medicine*, 2015, p. 8.
16. VAN DE GRAAF, G.M.M. *et al.* "Morphological and mechanical characterization of chitosan-calcium phosphate composites for potential application as bone-graft substitutes". *Research on Biomedical Engineering*, vol. 31(4), 2015, p. 9.
17. CASTRO, K.C. *et al.* "Chitosan and collagen composite for potential application as bone substitute". *Research on Biomedical Engineering*, vol. 35(1), 2019, p. 6.
18. BASUMALLICK, S. *et al.* "Hydrothermally treated chitosan spontaneously forms water-soluble spherical particles stable at a wide pH range". *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, vol. 65(15), 2016, pp. 751-758.
19. CASTRO, K.C. *et al.* "Successful Encapsulation of Hydrophilic Drug in Poly (Lactic Acid)/Chitosan Core/ Shell Nanoparticles". *International Journal of Nanotechnology & Nanomedicine*, vol. 4(1), 2019a, p. 8.
20. CASTRO, K.C. *et al.* "Charge tunable chitosan/PLA microspheres for potential biomedical application". *Materials Research Express*, vol. 6(12), 2019b.
21. NISTA, S.V.G.; BETTINI, J. & MEI, L.H.I. "Coaxial nanofibers of chitosan-alginate-PEO polycomplex obtained by electrospinning". *Carbohydrate Polymers*, vol. 127, 2015, pp. 222-228.
22. ZOU, L. *et al.* "Biomimetic mineralization on natural and synthetic polymers to prepare hybrid scaffolds for bone tissue engineering". *Colloids and Surfaces B-Biointerfaces*, vol. 178, 2019, pp. 222-229.
23. ZHAO, F. *et al.* "Preparation and histological evaluation of biomimetic three-dimensional hydroxyapatite/chitosan-gelatin network composite scaffolds". *Biomaterials*, vol. 23(152002), p. 3227-3234.
24. RIEGER, K.A.; BIRCH, N.P. & SCHIFFMAN, J.D. "Designing electrospun nanofiber mats to promote wound healing - a review". *Journal of Materials Chemistry B*, vol. 1(36), 2013, pp. 4531-4541.

25. CHEN, S.X. *et al.* "Three-Dimensional Objects Consisting of Hierarchically Assembled Nanofibers with Controlled Alignments for Regenerative Medicine". *Nano Letters*, vol. 19(3), 2019, p. 2059-2065.
26. EKIMOV, A.I. & ONUSHCHENKO, A.A. Quantum Size Effect in 3-Dimensional Microscopic Semiconductor Crystals. *Jetp Letters*, vol. 34(6), 1981, pp. 345-349.
27. SAPSFORD, K.E. *et al.* "Biosensing with luminescent semiconductor quantum dots". *Sensors*, vol. 6(8), 2006, pp. 925-953.
28. SCHIPPER, M.L. *et al.* "Particle Size, Surface Coating, and PEGylation Influence the Biodistribution of Quantum Dots in Living Mice". *Small*, vol. 5(1), 2009, pp. 126-134.
29. MAXWELL, T. *et al.* "Non-Cytotoxic Quantum Dot-Chitosan Nanogel Biosensing Probe for Potential Cancer Targeting Agent". *Nanomaterials*, vol. 5(4), 2015, pp. 2359-2379.
30. PARK, Y. *et al.* "Colorectal Cancer Diagnosis Using Enzyme-Sensitive Ratiometric Fluorescence Dye and Antibody-Quantum Dot Conjugates for Multiplexed Detection". *Advanced Functional Materials*, vol. 28(4), 2018.
31. TIWARI, D.K. *et al.* "Synthesis and Characterization of Anti-HER2 Antibody Conjugated CdSe/CdZnS Quantum Dots for Fluorescence Imaging of Breast Cancer Cells". *Sensors*, vol. 9(11), 2009, pp. 9332-9354.
32. RAKOVICH, T.Y. *et al.* "Highly Sensitive Single Domain Antibody-Quantum Dot Conjugates for Detection of HER2 Biomarker in Lung and Breast Cancer Cells". *ACS Nano*, vol. 8(6), 2014, pp. 5682-5695.
33. LIU, J.L. *et al.* "Conjugation of biotin-coated luminescent quantum dots with single domain antibody-rhizavidin fusions". *Biotechnology reports* (Amsterdam, Netherlands), vol. 10, 2016, pp. 56-65.
34. MYUNG, S. *et al.* "Graphene-Encapsulated Nanoparticle-Based Biosensor for the Selective Detection of Cancer Biomarkers". *Advanced Materials*, vol. 23(19), 2011, pp. 2221-2225.
35. NEMEIR, I.A. *et al.* "The Advent of Salivary Breast Cancer Biomarker Detection Using Affinity Sensors". *Sensors*, vol. 19(10), 2019.

36. CANCINO, J.; Marangoni, V.S. & Zucolotto V. "Nanotechnology in Medicine: Concepts and Concerns". *Quimica Nova*, vol. 37(3), 2014, pp. 521-526.
37. VENTOLA, C.L. "Progress in Nanomedicine: Approved and Investigational Nanodrugs". *P&T*, vol. 42(12), 2017, pp. 742-755.
38. DEEPIKA, D. *et al.* "Drug Delivery of Frovatriptan Succinate-Loaded Polymeric Nanoparticles for Brain Targeting". *Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 108(2), 2019, pp. 851-859.
39. ERDAGI, S.I. & YILDIZ, U. "Diosgenin-conjugated PCL-MPEG polymeric nanoparticles for the co-delivery of anticancer drugs: design, optimization, in vitro drug release and evaluation of anticancer activity". *New Journal of Chemistry*, vol. 43(17), 2019, pp. 6622-6635.
40. FORTUNI, B. *et al.* "Polymeric Engineering of Nanoparticles for Highly Efficient Multifunctional Drug Delivery Systems". *Scientific Reports*, vol. 9, 2019.
41. MAGZOUB, M.M. "pH Sensitive Peptide Functionalized High Stability Polymeric Nanoparticles for Mitochondria Targeted Cancer Drug Delivery". *Biophysical Journal*, 116(3), 2019, pp. 465A-465A.
42. PANDA, J. *et al.* "Engineered polymeric iron oxide nanoparticles as potential drug carrier for targeted delivery of docetaxel to breast cancer cells". *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, vol. 485, 2019, pp. 165-173.
43. PANG, L. *et al.* "Surface Modification of Polymeric Nanoparticles with M2pep Peptide for Drug Delivery to Tumor-Associated Macrophages". *Pharmaceutical Research*, vol. 36(4), 2019.
44. REJINOLD, N.S. *et al.* "Curcumin-loaded biocompatible thermoresponsive polymeric nanoparticles for cancer drug delivery" [J. *Colloid Interface Sci.*, 2011, vol. 360, pp. 39-51]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2019, vol. 553, pp. 864-865.
45. SHAHZADI, A. *et al.* "Acid susceptible polymeric stealthy nanoparticles for improved anticancer drug delivery". *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, oct. 2019.
46. SMITH, A.M. *et al.* "Bioconjugated quantum dots for in vivo molecular and cellular imaging". *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 60(11), 2008, pp. 1226-1240.

47. VINOZHINI, K. *et al.* "Dual Role of Lanthanum Oxide Nanoparticles Functionalized Co-Polymeric Micelle for Extended Anti-Cancer Drug Delivery". *Chemistryselect*, vol. 4(18), 2019, pp. 5206-5213.
48. XU, L. *et al.* "Polymeric nanoparticles responsive to intracellular ROS for anticancer drug delivery". *Colloids and Surfaces B-Biointerfaces*, vol. 181, 2019, pp. 252-260.
49. FAN, Z. *et al.* "Theranostic nanomedicine for cancer detection and treatment". *Journal of Food and Drug Analysis*, vol. 22(1), 2014, pp. 3-17.
50. HUANG, H.K. *et al.* "A Novel Cancer Nanotheranostics System Based on Quantum Dots Encapsulated by a Polymer-Prodrug with Controlled Release Behaviour". *Australian Journal of Chemistry*, vol. 70(12), 2017, pp. 1302-1311.
51. DURÁN, N. *et al.* "Nanotoxicologia de nanopartículas de prata: toxicidade em animais e humanos". *Química Nova*, vol. 42(2), 2019, p. 8.

Capítulo 4

Liberação Controlada de Fármaco: Perspectivas e Desafios

Futuros Tahmasb Hatami, Karine Cappuccio de Castro &

Larissa Giorgetti Mendes

Departamento de Engenharia de Materiais e de Bioprocessos

Faculdade de Engenharia Química – UNICAMP

4.1 Histórico

Os sistemas de liberação de medicamentos partem do princípio de que a administração dos fármacos ocorra no organismo dentro dos limites superiores e inferiores desejados, evitando excesso ou falta do medicamento no organismo do paciente. Depois do fármaco, considerado o componente mais importante em qualquer sistema de liberação, todos os outros ingredientes de uma formulação, coletivamente conhecidos como excipientes, são usados para tornar esse medicamento mais eficaz.^[1]

Os sistemas de liberação controlada são, muitas vezes, desenvolvidos para gerenciamento do ciclo de vida de um medicamento, prolongando sua ação ao longo do tempo, com a mesma eficácia até o fim do tratamento da doença. Assim, essa tecnologia também se torna importante para melhorar a eficiência dos medicamentos.^[1]

A maior parte do entendimento sobre os mecanismos de liberação de drogas, especialmente nas formas de dosagem orais e transdérmicas, foi adquirida durante a primeira fase de desenvolvimento desses sistemas, entre 1950 e 1980. Nesse período foram identificados quatro mecanismos de liberação, que possibilitaram o desenvolvimento de inúmeras formulações. Os mecanismos mais utilizados foram os sistemas de dissolução e difusão. Formulações baseadas em osmose ganharam uma popularidade transitória, e o mecanismo de troca iônica se distinguiu dos outros, mas só foi útil quando combinado com o mecanismo controlado por difusão.^[2]

Antes de 1950, todos os medicamentos eram transformados em formulações de comprimidos ou cápsulas que liberavam o medicamento imediatamente após o contato com

a água de ingestão, sem o devido controle da cinética de liberação. Em 1952, o laboratório Smith-Klein & French introduziu a primeira formulação capaz de controlar a cinética de liberação e obter a eficácia do medicamento ao longo de 12 horas.^[3] Essa tecnologia inovadora para a época, e conhecida como Spansule, permitiu o controle da cinética de liberação do medicamento a uma taxa predeterminada.

Em 1964, o médico Judah Folkman, em Harvard, circulava sangue de coelho dentro de uma borracha de silicone e descobriu que se ele expusesse o tubo a gases anestésicos do lado de fora, os coelhos adormeceriam.^[4] Ele propôs que segmentos curtos e selados de tais tubos, contendo um medicamento, pudessem ser implantados e, se o silicone não tivesse qualquer tipo de modificação de suas dimensões e composição, o implante se tornaria um dispositivo de administração de medicamentos com taxa constante de liberação. Ele também mostrou à época que a taxa de liberação diminuía à medida que a espessura da tubulação aumentava, sendo esta a primeira sugestão de um implante de liberação controlada *in vivo*.^[5]

Após essa descoberta, Alejandro Zaffaroni, bioquímico e empresário, fundou a *Alza Corporation* e, com Folkman e outros pesquisadores, desenvolveu os primeiros dispositivos de liberação controlada. Um deles, denominado Ocusert®, liberava um princípio ativo antiglaucoma diretamente no olho, enquanto o outro, o Progestasert®, liberava contraceptivo na cavidade uterina; nesses dispositivos foi usado o poli(etileno-co-acetato de vinila) (PEVA) como membrana de controle de liberação. A empresa também desenvolveu um adesivo de pele com liberação controlada e, em 1971, Zaffaroni recebeu uma das primeiras patentes do adesivo denominada “Bandagem para administração de medicamentos”,^[6] que dispunha de uma membrana que fazia o controle da cinética de liberação. Os materiais mais usados nessas membranas de controle de taxa de liberação eram o PEVA ou polipropileno poroso (PP).

Embora esse dispositivo não tenha atingido o estado clínico, seu estudo teve grande importância, já que foi o primeiro exemplo de liberação bem-sucedida de uma matriz polimérica hidrofóbica e não degradável de um medicamento biomolecular, como uma proteína, e na forma ativa. Em meados da década de 1970, Folkman e Bob Langer, este último professor assistente de engenharia química no MIT, publicaram um artigo mostrando que os medicamentos proteicos poderiam ser gradualmente liberados de forma

ativa a partir de matrizes poliméricas hidrofóbicas macroscópicas, como o PEVA.^[7] Esse trabalho estimulou muitas pessoas a pensarem outras maneiras de administrar esses medicamentos, como carregar e liberar medicamentos a partir de matrizes poliméricas biodegradáveis.

Paralelamente a esses acontecimentos, também na década de 1970, pesquisadores do Southern Research Institute (“Southern”), em colaboração com pesquisadores da Universidade do Alabama em Birmingham (UAB), estavam desenvolvendo e testando clinicamente micropartículas de poli(ácido lático-co-ácido glicólico) (PLGA) carregadas para administração de drogas contraceptivas.^[8]

O grande sucesso da tecnologia de sistemas de liberação de primeira geração baseou-se principalmente nos sistemas de administração de medicamentos por via oral e transdérmica. Nessas formulações, o ajuste da cinética de liberação *in vitro* tem um efeito direto na farmacocinética *in vivo*. Para esses sistemas, as relações entre a cinética de liberação *in vitro* e a biodisponibilidade *in vivo* são razoavelmente bem entendidas. Uma vez estabelecida a correlação *in vitro-in vivo* de uma formulação, outras formulações usando diferentes mecanismos podem ser facilmente produzidas com a expectativa de que os novos sistemas sejam tão eficazes quanto a formulação de referência.^[9,10]

Diferentemente das formulações de primeira geração, as tecnologias de segunda geração, de 1980 a 2010, tiveram menos sucesso, conforme medido pelo número de produtos clínicos produzidos, e uma das razões para isso é que essas tecnologias lidam com formulações mais difíceis. Várias delas, para serem administradas por via oral, foram desenvolvidas para resultar em liberação de ordem zero; porém, vários sistemas de dissolução *in vitro* não mantiveram a concentração constante do medicamento *in vivo*, principalmente devido às variações nas propriedades de absorção do medicamento ao longo do tempo no trato gastrointestinal. Importante salientar que a absorção do medicamento é controlada não só pela barreira biológica, mas também pela cinética de liberação a partir de formulações orais.^[11] Ainda durante o período que a segunda geração durou, também foram introduzidas formulações de liberação controlada de drogas peptídicas/proteicas após a implantação no corpo.^[11]

A liberação de fármaco a partir de uma formulação depende não apenas das suas propriedades, mas também do ambiente biológico em que o sistema é introduzido. Superar

barreiras biológicas muitas vezes dificulta a previsão da cinética de liberação de medicamentos *in vivo* e, portanto, a sua biodisponibilidade.^[13]

Durante o início dos anos 1980, a Southern desenvolveu uma micropartícula de PLGA com um princípio ativo para o tratamento de câncer de próstata. Esse produto, chamado Decapeptyl® LP, lançado na Europa em 1986, foi o primeiro depósito de micropartículas degradáveis clinicamente aprovado.^[8]

No início dos anos 1990, Wayne Gombotz e outros pesquisadores desenvolveram o processo Prolease® para fabricar micropartículas de PLGA de tamanho uniforme e carregadas com drogas. Um pulverizador ultrassônico e um banho de nitrogênio líquido e etanol congelado foram utilizados para congelar as partículas de tamanho uniforme e remover o solvente.^[14]

No final dos anos 1980 e início dos anos 1990, outros sistemas de liberação controlada, agora em escala manométrica, foram desenvolvidos micelas e lipossomas poliméricos. Três pesquisadores japoneses (Kazunori Kataoka, Teruo Okano e Masayuki Yokoyama) sintetizaram copolímeros em bloco tipo A-B, constituído de poli(etileno glicol)-Adriamicina e de poli(ácido aspártico).^[15] Esses copolímeros em bloco formaram espontaneamente micelas poliméricas, cujos núcleos de poli(ácido aspártico) poderiam ser carregados com pequenos fármacos hidrofóbicos, como a doxorrubicina. Por sua vez, os grupos OH terminais do bloco formado por PEG poderiam ser conjugados com ligantes específicos de células para liberação direcionada.^[16]

Nos anos 1990, Vladimir Torchilin desenvolveu muitas formulações lipossômicas, sendo algumas para aplicações de diagnóstico por imagem e outras para administração de medicamentos, onde drogas hidrofílicas podiam ser carregadas no núcleo aquoso do lipossoma ou drogas hidrofóbicas na carcaça de bicamada lipídica.^[17]

Durante esse período da segunda geração, muitas tecnologias de administração de medicamentos por liberação controlada foram desenvolvidas, sendo que a última década desse período foi amplamente focada no estudo de formulações de nanopartículas. Polímeros e hidrogéis inteligentes foram desenvolvidos para produzir sistemas de entrega acionados por mudanças em fatores ambientais, como pH, temperatura ou níveis de glicose. Micropartículas biodegradáveis e implantes sólidos foram utilizados para fornecer peptídeos e proteínas ao longo de períodos mensais.^[11]

Na década de 90, diferentes formas de sistemas de liberação controlada à base de polímeros se tornou o alvo de inúmeros estudos, paralelamente aos estudos de estruturas em escala nanométrica.^[18-20] Esse aumento significativo em estudos baseados em materiais em escala nano se deu simplesmente pelo fato de apresentarem propriedades diferentes daquelas apresentadas pelas micro/macropartículas, devido à sua aumentada superfície de contato.^[11]

Desde a virada do novo século, os tópicos de pesquisa se concentraram na nanotecnologia. Processos de fabricação de nanofibras já vinham sendo estudados desde o final dos anos 1990,^[21] e se firmaram ao longo dos anos 2000 com inúmeros trabalhos desenvolvidos. A técnica de eletrofiação, por exemplo, vem sendo estudada desde então e aprimorada para produção de materiais poliméricos, em nanoscala, para aplicação na liberação controlada, seja em curativos ou implantes.^[22,23]

Apesar da introdução de vários polímeros biodegradáveis e de uma melhor compreensão das formulações das nanopartículas ao longo da primeira década do século XXI, a liberação de medicamentos a longo prazo, independentemente do tipo utilizado, foi limitada, em virtude das barreiras biológicas, o que dificulta a biodisponibilidade do princípio ativo. Para que este campo tenha avanços significativos na melhoria da qualidade de vida dos pacientes, as tecnologias de liberação de medicamentos devem ser aperfeiçoadas.^[11]

Portanto, existem ainda muitos desafios a serem enfrentados para tornar os sistemas de liberação controlada mais eficientes. À medida que a tecnologia avança e nosso conhecimento de biologia aumenta, também aumenta nossa capacidade de projetar em nanoscala esses sistemas que, além de serem estáveis no soro fisiológico, podem ser absorvidos eficientemente no interior de células específicas. Com essa capacidade aumentada de controlar a eficiência e a especificidade do processo de liberação, juntamente com a capacidade aumentada de projetar medicamentos biomoleculares potentes e com efeitos colaterais mínimos, esses sistemas se aproximam cada vez mais dos sistemas biológicos.^[24]

Os atuais sistemas de administração de medicamentos, por mais inteligentes que tenham sido construídos, não são capazes de lidar com os desafios impostos pelo ambiente biológico que é imprevisível e não é bem compreendido. Para as formulações de primeira

geração, o controle das propriedades físico-químicas, como a solubilidade em água e a permeabilidade celular, foi suficiente para estabelecer a correlação *in vitro-in vivo*, mas tecnologias de liberação de medicamentos de terceira geração (a partir de 2010) terão que avançar muito além das tecnologias de segunda geração para superar as barreiras físico-químicas e biológicas, superando os obstáculos associados aos sistemas atuais de administração.^[2]

4.2 Principais polímeros utilizados na liberação controlada

Existe uma infinidade de polímeros (Tabela 1) que podem ser utilizados na liberação controlada de fármaco/princípio ativo, que contribuem com a efetividade do sistema proposto. É importante que o material seja biocompatível, biodegradável, apresente baixa imunogenicidade e atividade antibacteriana.^[25-27] Os biopolímeros estão entre os principais sistemas estudados, por apresentarem todas as características já mencionadas. Esses polímeros naturais são categorizados em proteínas, como a albumina e o colágeno; e em polissacarídeos, como a quitosana e a celulose.^[27-30] Os polímeros sintéticos biodegradáveis são outra classe de polímeros amplamente explorada, pois são capazes de modificar superfícies e fornecer propriedades importantes que os polímeros naturais não são capazes, como, por exemplo, melhores propriedades mecânicas e térmicas. Os poliésteres são a classe de polímeros sintéticos biodegradáveis com maior aplicabilidade nessa área, principalmente os sistemas constituídos por poli(ácido lático), poli(ácido glicólico) e poli(ϵ -caprolactona).^[31,32]

Tabela 1: Principais polímeros utilizados na liberação controlada de princípio ativo.

Polímeros	Aplicação Terapêutica	Referências
Naturais		
Quitosana	Sistemas transdérmicos de administração de princípio ativo.	[33]
Colágeno	Hidrogel de colágeno tipo I para a liberação controlada de pleiotrofina.	[34]

Albumina	Cápsulas multicamadas de albumina de soro bovino e ácido tânico para encapsulamento de THCP e aplicação por via intravenosa.	[35]
Ácido Hialurônico	Dispositivo de administração transdérmica de lidocaína, baseado em ácido hialurônico e quitosana.	[35]
Sintéticos		
Poli(ácido láctico)	Nanopartículas baseadas em poli(ácido láctico) e quitosana para administração de gentamicina no tratamento de mastite.	[36]
Poli(ácido glicólico)	Nanopartículas de poli(ácido láctico-co-glicólico) incorporadas ao tamoxifeno para avaliar o potencial de clivagem de DNA e a citotoxicidade usando células de ascite do linfoma de Dalton e células de câncer de mama.	[37]
Poli(ϵ -caprolactona)	Nanocarreadores de poli- ϵ -caprolactona integrado com nanopartículas magnéticas e “nanorods” de ouro para uma entrega controlada de medicamentos acionada por campo magnético.	[38]
Poliuretanas	Dispositivos de impressão 3D com nanopartículas elásticas de poliuretano sintético biodegradável, hialuronano e o bioativo TGF β 3, que são capazes de induzir a diferenciação condrogênica das células-tronco mesenquimais e produzir matriz para reparo da cartilagem.	[39]

4.2.1 Principais dispositivos de liberação controlada

O uso de polímeros tem se tornado cada vez mais importante na área de terapia biomédica. Em muitos sistemas propostos, uma cadeia polimérica linear ou ramificada se comporta como o bioativo (um princípio ativo polimérico) ou, mais comumente, como um veículo inerte com um princípio ativo ligado covalentemente a ela. Como exemplo, temos o

caso de conjugados polímero-princípio ativo, conjugados polímero-proteína, micelas poliméricas, nanopartículas poliméricas e poliplexos multicomponentes.^[40] A conjugação do princípio ativo com o polímero melhora as propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas dos produtos biofarmacêuticos, tais como meia-vida plasmática aumentada (que melhora a aceitação do paciente porque são necessárias doses menos frequentes), proteção do princípio ativo contra enzimas proteolíticas, redução na imunogenicidade, estabilidade aprimorada de proteínas, solubilidade aprimorada de medicamentos de baixa massa molar e potencial para entrega direcionada.^[25,40]

Os sistemas de administração de princípios ativos foram projetados para controlar a liberação, usando diferentes estratégias dos mais variados materiais poliméricos, como ilustrado na Figura 1.

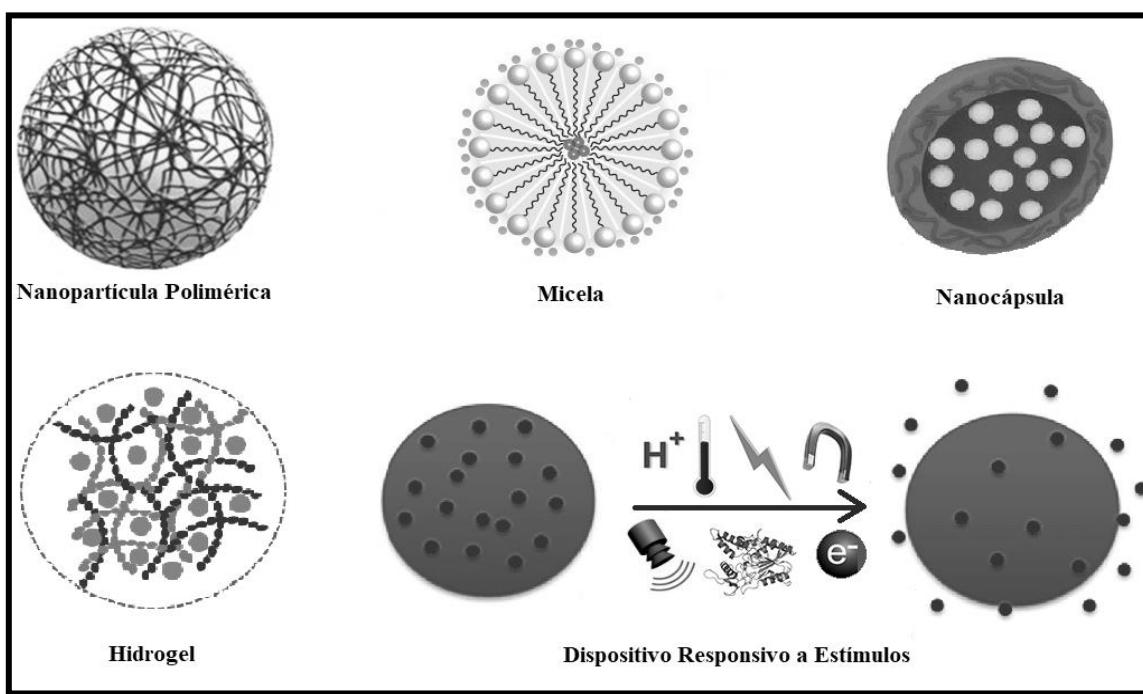


Figura 1: Tipos de sistemas de liberação controlada de medicamento.

Por exemplo, em um sistema baseado em matriz, o princípio ativo se difunde através de uma rede tortuosa de poros interconectados. Em um reservatório, o princípio ativo passa através de uma membrana semipermeável. No sistema degradável, o princípio ativo é liberado quando os poros são criados à medida que o material se degrada. Da

mesma forma que em um sistema erodível, o princípio ativo é liberado à medida que o material se dissolve na superfície. As bombas osmóticas liberam princípio ativo através de um ou mais poros pequenos em uma membrana impermeável em resposta a gradientes osmóticos. Finalmente, os sistemas à base de hidrogel liberam o princípio ativo através de uma rede restrita, cujo tamanho de malha depende da hidratação e da arquitetura do polímero.^[26,41] Na maioria das vezes, os sistemas de liberação controlada operam através de uma combinação de dois ou mais desses mecanismos. Uma ilustração do que ocorre em muitos sistemas de liberação pode ser observado na Figura 2.

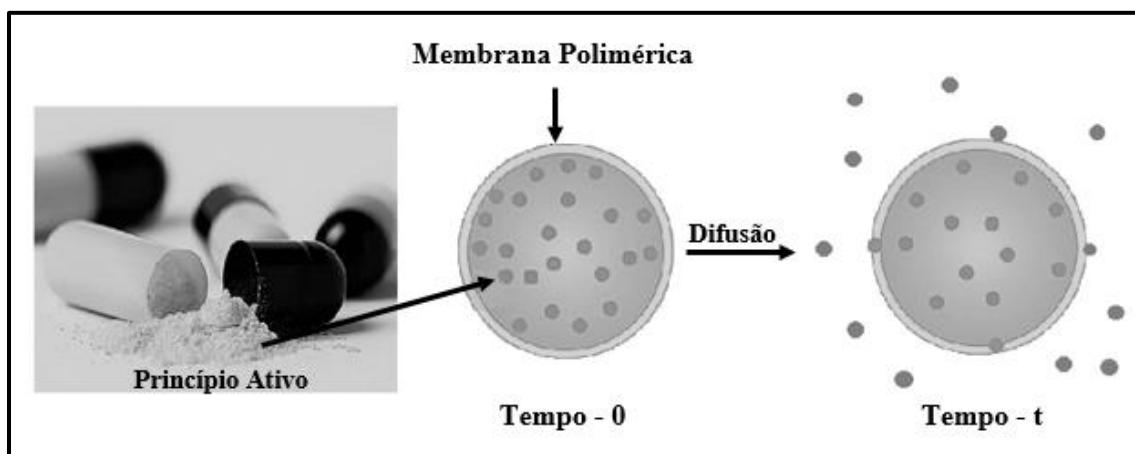


Figura 2: Modelo esquemático da liberação por difusão de um princípio ativo através de uma membrana polimérica.

Como foi discutido no parágrafo anterior, os mecanismos utilizados para liberação de um princípio ativo dependem muito de como foi projetado o sistema de transporte e a forma como o medicamento está incorporado ou encapsulado. Existem diversas maneiras de se transportar um princípio ativo através de um sistema polimérico. Esta seção tem o objetivo de discutir os principais transportadores abordados na literatura atual.

4.3 Hidrogéis

Os hidrogéis são formados pela ligação entre monômeros de cadeias poliméricas distintas, reticuladas covalentemente para originar redes tridimensionais. As ligações covalentes entre as cadeias afetam as propriedades dos polímeros e, portanto, os tornam

convenientes para uso como transportadores de princípios ativos na forma de micro ou nanopartículas.^[26,41] Esses sistemas são termodinamicamente compatíveis com a água, o que lhes permite inchar em meios aquosos; assim, podem ser utilizados de diferentes maneiras para aplicações orais, retais, oculares, epidérmicas e subcutâneas. O principal sucesso do desenvolvimento de hidrogéis é a gelificação *in situ*. Os hidrogéis podem ser preparados pela introdução de ligações primárias covalentes não reversíveis, entre as cadeias, por meio de interações secundárias reversíveis, por meio de reações químicas não reversíveis ou também por radiação, principalmente UV que é muito comum.^[30]

4.4 Micro e nanopartículas

Nas formulações com nanopartículas e micropartículas, o princípio ativo está preso ou incorporado ao polímero, cuja função é transportar e proteger o princípio ativo e permitir sua liberação controlada. Esses sistemas são definidos como partículas coloidais sólidas, constituídas por substâncias macromoleculares que variam em tamanho de 10 a 1.000 nm.^[42,43] No entanto, partículas >200 nm não são muito pesquisadas e a nanomedicina geralmente se refere a dispositivos <200 nm.^[43,44] Tipicamente, o princípio ativo de interesse é dissolvido, aprisionado, adsorvido, anexado e/ou encapsulado em/ou sobre uma nanomatriz.

Os recursos em nanoscala podem ser utilizados para melhorar a permeabilidade celular, aumentar a administração terapêutica, reduzir quantidades e frequência de dosagem, e também melhorar a eficácia dos agentes usados na nanomedicina.^[45,46] Além disso, a nanotecnologia fornece a capacidade de multimodalidade, liberação controlada e entrega direcionada.^[45]

4.4.1 Micro e nanocápsulas

As nanocápsulas e microcápsulas são formadas por um invólucro externo que encapsula um princípio ativo. Esse tipo de formulação é comumente utilizado para transportar um princípio ativo, como proteínas, que são rapidamente degradadas nos fluidos corporais. Assim, o princípio ativo encapsulado na partícula é liberado por degradação do revestimento polimérico.^[26,47]

A carga física do medicamento pode ser incorporada enquanto as partículas (ou veículos poliméricos) são produzidas, ou incubando uma solução concentrada de princípio ativo com o veículo polimérico pré-formado. A estratégia de incorporação ideal para aprisionamento eficiente deve ser selecionada com base nas características físico-químicas do par transportador-princípio ativo. Assim, a eficiência do aprisionamento depende da solubilidade do princípio ativo na matriz polimérica, que por sua vez está relacionada à composição e à massa molar do polímero, às interações princípio ativo-polímero e à presença de grupos funcionais.^[26,48] Importante destacar que a incorporação de princípios ativos deve estar limitada a temperaturas abaixo de sua degradação.^[26,48]

De forma geral, os polímeros hidrofílicos são os mais utilizados para esse tipo de formulação, e uma infinidade de métodos de síntese para incorporar o princípio ativo durante a produção do veículo transportador podem ser utilizados, tais como a separação de fases, a evaporação de solventes e a secagem por pulverização.^[26,49]

4.5 Polímeros inteligentes

Os polímeros inteligentes têm se destacado nos últimos anos, pois suas propriedades podem ser adaptadas para atender aos requisitos exigidos para a administração de princípios ativos.^[26,50]

Muitas variáveis diferentes foram adotadas para estimular a resposta desses sistemas, como, por exemplo, temperatura, pH, luz, enzimas e campo magnético, que são estímulos responsivos eficientes e que têm sido amplamente utilizados pela comunidade biomédica. Os sistemas de liberação baseados em materiais responsivos a estímulos físicos ou químicos, para liberação controlada e prolongada de princípio ativo, oferecem a promessa de novos tratamentos para doenças crônicas que requerem injeções diárias ou doses precisas de medicamentos.^[26,40]

O grande desafio é preparar essas estruturas para que elas sejam funcionais; para isso, as porções químicas que fornecem as propriedades individuais desejadas devem ser montadas simultaneamente na superfície e dentro da estrutura da mesma partícula, de forma que essas porções atuem de maneira coordenada para fornecer a combinação desejada, com propriedades úteis e eficiência.^[26,51-53]

4.5.1 Micelas

Apesar dos progressos nas pesquisas sobre entrega de medicamentos no alvo desejado, os sistemas de liberação de drogas hidrofóbicas continuam desafiando os estudiosos dessa área. Sistemas micelares têm se mostrado uma das alternativas promissoras no transporte de fármacos hidrofóbicos (especialmente fármacos anticâncer) e, portanto, têm sido bastante explorados. Além disso, sistemas de micelas carregando princípios ativos são facilmente direcionados e captados pelas células-alvo devido às suas características nanométricas.^[26,54]

Estudos com surfactantes de baixa massa molar já foram utilizados, porém eles revelaram a necessidade de uma alta concentração desses surfactantes (concentração micelar crítica – CMC) para formar as micelas, o que causa certa instabilidade desses sistemas. Estudos para aprimorar esses resultados apontaram o uso de micelas poliméricas, as quais têm mostrado vantagens devido à maior estabilidade, capacidade de adaptação, maior capacidade de carga e não toxicidade, resultando num melhor efeito terapêutico.^[30]

O uso desses sistemas como dispositivos responsivos a estímulos tem despertado o interesse dos pesquisadores nos últimos anos, isso porque o mecanismo de direcionamento de drogas pode ser ativado pela ligação de ligantes específicos (anticorpos, açúcares, etc.) às extremidades expostas à água da parte hidrofílica das micelas poliméricas, e por isso é interessante utilizar no processo de síntese um polímero solúvel em água, que sofra separação de fases com a água, desencadeada por mudanças de pH ou temperatura. Além disso, esses sistemas inteligentes, quando comparados com os sistemas convencionais, podem agregar alta capacidade de carga de medicamentos e capacidade de resposta a estímulos responsivos ao pH intracelular e à temperatura corporal, potencializando seu uso na liberação controlada.^[55]

4.6 Modelagem matemática de liberação controlada de sistemas *in vitro*

A modelagem matemática dos sistemas de liberação de medicamento é uma etapa de grande importância, tendo em vista que medir experimentalmente os impactos de todos os parâmetros envolvidos no processo é algo difícil e demorado. Um modelo é muito útil na administração de medicamentos, não apenas para minimizar o número necessário de

experimentos para análise de sensibilidade, mas também para otimizar o processo para atingir a taxa de liberação desejada. Para esse fim, dois tipos de modelos podem ser encontrados na literatura: modelos empíricos e modelos baseados em transferência de massa. Embora os modelos empíricos possuam as vantagens da simplicidade, eles geralmente não são adequados para aumentar a escala. Modelos baseados em transferência de massa resultam em uma ou várias equações diferenciais que podem ser resolvidas numericamente ou analiticamente. Esse modelo baseado em transferência de massa deve ser validado primeiro com poucos dados experimentais e, em seguida, pode ser usado para geração de dados em outras condições operacionais. Dependendo do sistema de administração de medicamentos em consideração, vários modelos baseados em transferência de massa podem ser empregados para prever o mecanismo de liberação de medicamentos. As próximas seções têm como objetivo apresentar quatro modelos bem conhecidos de administração de medicamentos.

4.6.1 Sistema de reservatório com fonte de atividade não constante

Esse sistema de administração de medicamentos consiste num dispositivo tipo reservatório, com a concentração inicial do medicamento abaixo da sua solubilidade, que é cercado por uma membrana de barreira controladora da taxa de liberação (Figura 3).

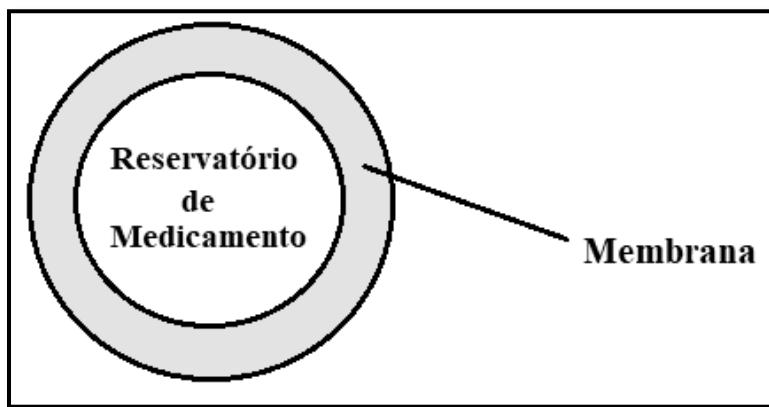


Figura 3: Sistema de reservatório com fonte de atividade constante ou não constante.

As premissas para modelagem matemática são: (i) o tamanho das partículas do medicamento deve ser muito menor que a espessura da membrana de barreira; (ii) o medicamento deve ser um componente único; (iii) não deve haver gradiente de

concentração dentro do reservatório do medicamento; (iv) o mecanismo de transferência de massa do medicamento dentro da membrana deve ser exclusivamente por difusão; (v) o mecanismo de transferência de massa do medicamento fora da membrana deve ser muito rápido; (vi) a concentração do medicamento dentro da solução externa deve ser muito próxima de zero (condições perfeitas de dissipação); (vii) o coeficiente de difusão do medicamento dentro da membrana deve ser constante; (viii) a espessura da membrana deve ser constante (L); (ix) a membrana não incha ou dissolve; e (x) a porosidade da membrana deve ser constante, independentemente do tempo^[55]. Nesse caso, a geometria do sistema (película fina, cilindro ou esfera) não afeta a cinética de liberação do medicamento resultante. Ao considerar todo o dispositivo como um sistema, a lei de conservação de massa para medicamentos é:

$$-D_{AB}A \frac{\partial c}{\partial r} \times \Delta t = m|_{t+\Delta t} - m|_t \quad (1)$$

onde, $m|_t$ e $m|_{t+\Delta t}$ são, respectivamente, a quantidade cumulativa de medicamento liberado no tempo t e $t+\Delta t$ (kmol), c é a concentração do medicamento na membrana (kmol/m^3), A é a área total de transferência de massa (m^2), D_{AB} é o coeficiente de difusão do fármaco na membrana (m^2/s) e r é a distância na direção da transferência de massa (m). Como a espessura da membrana é muito fina, o gradiente de concentração dentro da membrana é:

$$\frac{\partial c}{\partial r} = \frac{0 - c}{L} = -\frac{c}{L} \quad (2)$$

onde L é a espessura da membrana (m) e c é a concentração do fármaco na membrana que está em contato com o reservatório (kmol/m^3). A concentração c pode estar relacionada à concentração do fármaco no reservatório ISSO, da seguinte forma:

$$c = K \times C \quad (3)$$

onde K é o coeficiente de partição da droga entre a membrana e o reservatório. Combinando as Eqs. (1) a (3), temos:

$$D_{AB}A \frac{K}{L} C = \frac{m|_{t+\Delta t} - m|_t}{\Delta t} \quad (4)$$

A concentração do fármaco no reservatório é calculada por:

$$C = \frac{M_0 - m}{V} \quad (5)$$

onde M_0 é a quantidade inicial de medicamento dentro do reservatório (kmol) e V é o volume do reservatório (m^3). Ao aproximar Δt de zero, o lado direito da Eq. (4) e rearranjando o resultado, tem-se:^[55,56]

$$\frac{dm}{M_0 - m} = \frac{D_{AB}AK}{LV} dt \quad (6)$$

Para a condição inicial:

$$t = 0 \Rightarrow m = 0 \quad (7)$$

A resolução da Eq. (6), com a condição inicial acima, fornece:

$$\ln\left(\frac{M_0 - m}{M_0}\right) = -\frac{D_{AB}AK}{LV} t \quad (8)$$

ou

$$\frac{m}{M_0} = 1 - \exp\left(-\frac{D_{AB}AK}{LV} t\right) \quad (9)$$

Essa equação mostra que o fármaco liberado no sistema do reservatório, com fonte de atividade não constante, muda exponencialmente com o tempo.

4.6.2 Sistemas de reservatório com fonte de atividade constante

Nesse caso, o sistema de droga é um dispositivo de reservatório que consiste em um depósito de droga com sua concentração inicial acima da solubilidade da droga no dispositivo, que é cercado por uma membrana de barreira controladora da taxa de liberação (Figura 1). Nesta situação, as moléculas liberadas são substituídas pela dissolução do medicamento, resultando em concentrações saturadas do medicamento na superfície interna da membrana. As principais premissas para modelagem matemática são as mesmas consideradas para “Sistema de reservatório com fonte de atividade não constante”. A geometria do sistema (película fina, cilindro ou esfera) não afeta a cinética de liberação do medicamento resultante. Ao considerar todo o dispositivo como um sistema, a lei de conservação de massa para o medicamento resulta na mesma Eq. (4), exceto que o termo C deve ser substituído pela concentração saturada (C_s):^[55,56]

$$D_{AB}A \frac{K}{L} C_s = \frac{m|_{t+\Delta t} - m|_t}{\Delta t} \quad (10)$$

Ao aproximar Δt de zero, o lado direito da equação acima resulta em:

$$\frac{dm}{dt} = \frac{D_{AB}AKC_s}{L} \quad (11)$$

Para a condição inicial, tem-se:

$$t = 0 \Rightarrow m = 0 \quad (12)$$

A resolução da Eq. (11), com a condição inicial acima, fornece:

$$m = \frac{D_{AB}AKC_s}{L} t \quad (13)$$

Essa equação mostra que a liberação do fármaco no sistema de reservatório com fonte de atividade constante é linear com o tempo. É evidente que a equação acima é válida até que a concentração do medicamento no reservatório se mantenha acima da solubilidade do

medicamento. Seu tempo de validação (t_{sat}) pode ser determinado, substituindo o m na equação acima pelo termo $(C_0 - C_s)V$.

$$(C_0 - C_s)V = \frac{D_{AB}AKC_s}{L}t_{sat} \quad (14)$$

Assim, tem-se:

$$t_{sat} = \frac{(C_0 - C_s)VL}{D_{AB}AKC_s} \quad (15)$$

Para tempo superior a t_{sat} , prevalece o “sistema de reservatório com fonte de atividade não constante”.

4.6.3 Sistema monolítico com solução monolítica

Em um sistema monolítico com solução monolítica, as moléculas dissolvidas do fármaco coexistem com o material transportador, não existe separação local entre um reservatório do fármaco e a membrana, e a concentração inicial do medicamento está abaixo da sua solubilidade (Figura 4). As principais suposições para modelagem matemática são: (i) o tamanho das partículas do medicamento deve ser muito menor que a espessura do filme; (ii) o medicamento deve ser um componente único; (iii) o mecanismo de transferência de massa do medicamento dentro da membrana deve ocorrer exclusivamente por difusão; (iv) o mecanismo de transferência de massa do medicamento fora da membrana deve ocorrer muito rapidamente e a concentração do medicamento dentro da solução externa deve ser próxima de zero (condições perfeitas de dissipação); (v) o coeficiente de difusão do medicamento dentro da matriz transportadora deve ser constante; (vi) o transportador não deve inchar ou dissolver e a sua porosidade deve ser a mesma, independentemente do tempo^[55]. A geometria do sistema (película fina, cilindro ou esfera) afeta a cinética de liberação do medicamento resultante. Aqui, o sistema de filme fino é modelado matematicamente. O filme sólido fino ocupa o espaço entre $z = -L/2$ e $z = +L/2$ (Figura 4) com a concentração inicial do medicamento c_0 .

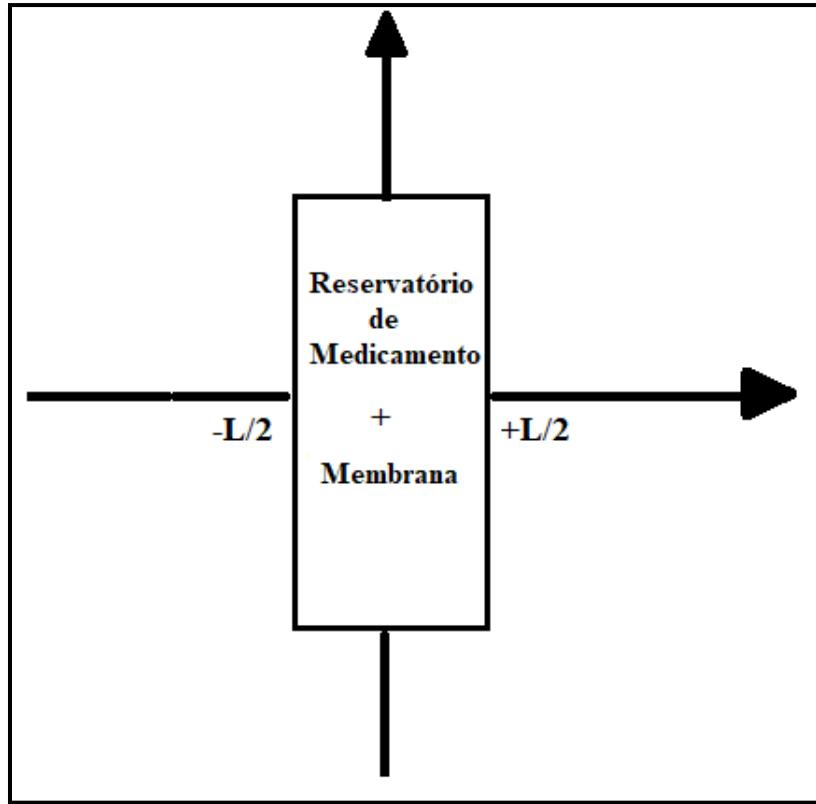


Figura 4: Sistema monolítico com solução monolítica.

Ao considerar todo o filme como um sistema, a lei de conservação de massa para o medicamento é:

$$\left(D_{AB}A \frac{\partial c}{\partial z} \Big|_{z=-\frac{L}{2}} - D_{AB}A \frac{\partial c}{\partial z} \Big|_{z=\frac{L}{2}} \right) \times \Delta t = m|_{t+\Delta t} - m|_t \quad (16)$$

Devido à simetria, o gradiente de concentração nos dois lados do filme é igual. Então:

$$-2D_{AB}A \frac{\partial c}{\partial z} \Big|_{z=\frac{L}{2}} = \frac{m|_{t+\Delta t} - m|_t}{\Delta t} \quad (17)$$

ou

$$\frac{dm}{dt} = -2D_{AB}A \frac{\partial c}{\partial z} \Big|_{z=\frac{L}{2}} \quad (18)$$

onde z é a distância na direção da transferência de massa. De acordo com essa equação, a taxa de liberação do medicamento é proporcional ao gradiente da sua concentração, que pode ser determinado pela lei de conservação de massa dentro do filme fino:

$$\left(-D_{AB}A \frac{\partial c}{\partial z} \Big|_z - D_{AB}A \frac{\partial c}{\partial z} \Big|_{z+\Delta z} \right) \times \Delta t = (c|_{t+\Delta t} - c|_t) \times A \times \Delta z \quad (19)$$

Dividindo os dois lados da equação acima por $A\Delta z\Delta t$, resulta em:

$$\frac{D_{AB} \frac{\partial c}{\partial z} \Big|_{z+\Delta z} - D_{AB} \frac{\partial c}{\partial z} \Big|_z}{\Delta z} = \frac{c|_{t+\Delta t} - c|_t}{\Delta t} \quad (20)$$

Ao aproximar Δt e Δz de zero, os lados direito e esquerdo da equação acima resultam na expressão abaixo:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D_{AB} \frac{\partial^2 c}{\partial z^2} \quad (21)$$

Considerando as condições iniciais e de contorno:

$$t = 0 \Rightarrow c = c_0 = \frac{M_0}{AL}$$

$$z = -\frac{L}{2} \Rightarrow c = 0 \quad (22)$$

$$z = \frac{L}{2} \Rightarrow c = 0$$

onde M_0 é a quantidade inicial de medicamento no sistema monolítico (kmol), a Eq. (21) pode ser resolvida pelo método de separação de variáveis da seguinte forma:

$$\frac{c}{c_0} = 4 \sum_{n=0}^{\infty} \frac{(-1)^n}{(2n+1)\pi} \cos\left(\frac{(2n+1)\pi z}{L}\right) \exp\left(-\frac{(2n+1)^2\pi^2 D_{AB}}{L^2} t\right) \quad (23)$$

Aqui, n é uma variável fictícia e L é a espessura do filme (m). Portanto, a derivada de c em relação a z em que $z = L/2$ resulta em:

$$\frac{\partial c}{\partial z} \Big|_{z=\frac{L}{2}} = -\frac{4M_0}{AL} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{L} \exp\left(-\frac{(2n+1)^2\pi^2 D_{AB}}{L^2} t\right) \quad (24)$$

Substituindo a Eq. (24) na Eq. (18):

$$\frac{dm}{dt} = \frac{8D_{AB}M_0}{L^2} \sum_{n=0}^{\infty} \exp\left(-\frac{(2n+1)^2\pi^2 D_{AB}}{L^2} t\right) \quad (25)$$

Adotando para a condição inicial:

$$t = 0 \Rightarrow m = 0 \quad (26)$$

E integrando em relação a t , temos:

$$\frac{m}{M_0} = \frac{8}{\pi^2} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{(2n+1)^2} \left(1 - \exp\left(-\frac{(2n+1)^2\pi^2 D_{AB}}{L^2} t\right) \right) \quad (27)$$

ou

$$\frac{m}{M_0} = 1 - \frac{8}{\pi^2} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{(2n+1)^2} \exp\left(-\frac{(2n+1)^2\pi^2 D_{AB}}{L^2} t\right) \quad (28)$$

4.6.4 Sistema monolítico com dispersões monolíticas

Em um sistema monolítico com dispersões monolíticas, as moléculas dissolvidas do fármaco coexistem com o material transportador, ou seja, não existe separação local entre o

reservatório do fármaco e a membrana, e a concentração inicial do medicamento está acima da sua solubilidade. As principais premissas para modelagem matemática são: (i) o tamanho das partículas do medicamento deve ser muito menor que a espessura do filme; (ii) o medicamento deve ser um componente único; (iii) o mecanismo de transferência de massa do medicamento dentro da membrana deve ocorrer exclusivamente por difusão; (iv) o mecanismo de transferência de massa do medicamento fora da membrana deve ocorrer muito rapidamente e a concentração do medicamento dentro da solução externa deve ser próxima de zero (condições perfeitas de dissipação); (v) o coeficiente de difusão do medicamento dentro da matriz transportadora deve ser constante; (vi) o transportador não incha ou dissolve; e (vii) sua porosidade não varia com o tempo. Neste caso, a geometria do sistema (película fina, cilindro ou esfera) afeta a cinética de liberação do medicamento resultante. Aqui, o sistema de filme fino é modelado matematicamente.

Antes da modelagem matemática, um perfil de concentração desse sistema é representado na Figura 5.^[57,58] A linha sólida nesta figura é o perfil de concentração na direção da transferência de massa no tempo t , enquanto a linha tracejada é o perfil de concentração no tempo $t+\Delta t$. A concentração C_0 é a concentração inicial, enquanto C_s é a concentração saturada. No momento t , a concentração do fármaco é zero na interface entre o material transportador e a solução; aumenta linearmente com o aumento da distância até atingir C_s na distância z da interface; na distância z ela aumenta repentinamente de C_s para C_0 e depois é constante em C_0 para as distâncias maiores da interface. De fato, não ocorre dissolução do medicamento até que a concentração da droga do ambiente caia abaixo de C_s . No tempo $t+\Delta t$, a mudança repentina do perfil de concentração muda em Δz para o lado esquerdo, como mostra a figura. A área sombreada mostra o material transportador com medicamento exaurido até o tempo t , e a área pontilhada mostra o material transportador com medicamento exaurido desde o tempo t até $t+\Delta t$.

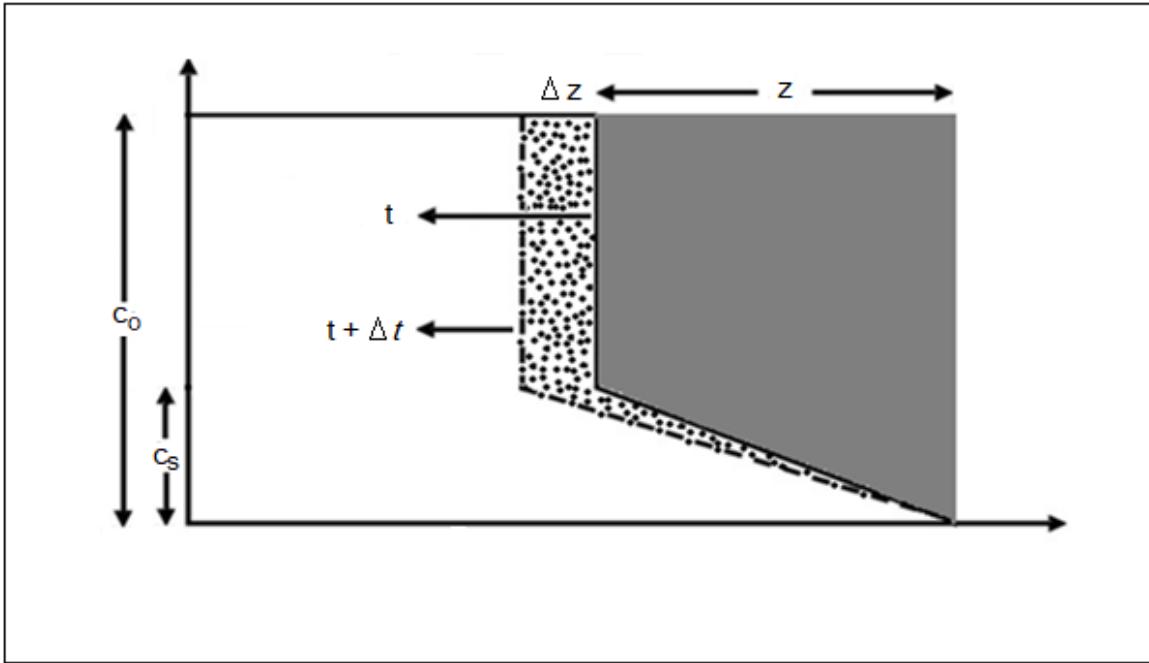


Figura 5: Perfil de concentração do sistema monolítico com dispersões monolíticas.

Com base no diagrama acima, a quantidade cumulativa de medicamento liberado até o tempo t (kmol) é teoricamente a quantidade do medicamento exaurido da área sombreada:

$$m = Azc_0 - \frac{1}{2}Azc_s = \left(c_0 - \frac{1}{2}c_s\right)Az \quad (29)$$

onde A é a área da superfície do filme exposta ao meio de liberação. A liberação do fármaco no tempo t a $t+\Delta t$ é igual ao fármaco exaurido do material transportador durante esse período (a área pontilhada na Figura 5):

$$D_{AB}A \left. \frac{\partial c}{\partial z} \right|_{z=0} \times \Delta t = (c_0 - c_s) \times A \times \Delta z + \frac{1}{2}c_s \times A \times \Delta z \quad (30)$$

onde o gradiente de concentração do medicamento, baseado na Figura 5, é calculado por:

$$\left. \frac{\partial c}{\partial z} \right|_{z=0} = \frac{c_s - 0}{z} = \frac{c_s}{z} \quad (31)$$

Combinando as Eqs. (30) e (31):

$$\frac{D_{AB}c_s}{z} = \left(c_0 - \frac{1}{2}c_s \right) \frac{dz}{dt} \quad (32)$$

ou

$$z dz = \frac{2D_{AB}c_s}{(2c_0 - c_s)} dt \quad (33)$$

A condição inicial é:

$$t = 0 \Rightarrow z = 0 \quad (34)$$

Integrando a Eq. (33), temos:

$$z = \sqrt{\frac{4D_{AB}c_s}{(2c_0 - c_s)} t} \quad (35)$$

Inserindo o termo z da Eq. (35) na Eq. (29), temos:^[55,57,58]

$$m = \left(c_0 - \frac{1}{2}c_s \right) A \sqrt{\frac{4D_{AB}c_s}{(2c_0 - c_s)} t} = A \sqrt{D_{AB}c_s(2c_0 - c_s)t} \quad (36)$$

Essa equação mostra que a droga liberada no sistema monolítico com dispersões monolíticas é proporcional à raiz quadrada do tempo.

4.7 Conclusão e perspectivas futuras

O desenvolvimento de estratégias capazes de melhorar o controle da liberação de medicamentos pode aumentar drasticamente a segurança e os resultados no paciente. Antes do desenvolvimento de novas estratégias de liberação controlada, é importante considerar as propriedades do princípio ativo, o local ideal de sua liberação e a taxa desejada de sua liberação, para alcançar o resultado pretendido. Este capítulo discutiu brevemente a ampla variedade de sistemas de entrega de medicamento e os principais polímeros que podem ser utilizados para os sistemas de liberação, bem como os principais modelos matemáticos que regem a liberação controlada.

Apesar dos avanços no setor biotecnológico, ainda é difícil projetar materiais que alcancem satisfatoriamente células-alvo no corpo. O próximo passo é entender melhor como os materiais interagem com o corpo e como as diferenças na expressão gênica específica da célula e na fisiologia da doença podem ser exploradas, para melhorar o direcionamento do princípio ativo. Apesar desses desafios, várias décadas de pesquisas científicas já demonstraram que a interseção de química, nanotecnologia, materiais e medicina é promissora e que novos avanços nos sistemas de liberação terão um efeito significativo na saúde humana.

4.8 Referências

1. DAVAR, N. & GHOSH, S. “Oral Controlled Release-Based Products for Life Cycle Management”. In: WEN, H. & PARK, K., Eds. *Oral Controlled Release Formulation Design and Drug Delivery: Theory to Practice*, John Wiley & Sons, Inc., Somerset, NJ, EUA, 2010, pp. 305-320.
2. YUN, Y.H.; LEE, B.K. & PARK, K. “Controlled Drug Delivery: Historical perspective for the next generation”. *J. Control. Release*, vol. 219, 2015, pp. 2-7.
3. LEE, P.I. & LI, J.-X. “Evolution of oral controlled release dosage forms”. In: WEN, H. & PARK, K., Eds. *Oral Controlled Release Formulation Design and Drug Delivery: Theory to Practice*, John Wiley & Sons, Inc., Somerset, NJ, EUA, 2010, pp. 21-31.

4. FOLKMAN, J.; LONG, D. & ROSENBAUM, R. "Silicone Rubber: A New Diffusion Property Useful for General Anesthesia". *Am. Assoc. Adv. Sci.*, vol. 154, 1966, pp. 148-149.
5. FOLKMAN, J. & LONG, D.M. "The use of silicone rubber as a carrier for prolonged drug therapy". *J. Surg. Res.*, vol. 4, 1964, pp. 139-142.
6. ZAFFARONI, A. "Bandage for administering drugs". Depositante: Alza Corporation. 3598123. Depósito: 01 abr. 1969. Concessão: 10 ago. 1971.
7. LANGER, R. & FOLKMAN, J. "Polymers for the sustained release of proteins and other macromolecules". *Nature*, vol. 263, 1976, pp. 797-800.
8. KENT, J. *et al.* "Microencapsulation of water soluble active polypeptides". *Biotechnology Advances*, vol. 5, 1987, pp. 374.
9. GUO, S. & DI PIETRO, L.A. "Critical review in oral biology & medicine: Factors affecting wound healing". *J. Dent. Res.*, vol. 89, 2010, pp. 219-229.
10. LU, Y.; KIM, S. & PARK, K. "In vitro-in vivo correlation: Perspectives on model development". *Int. J. Pharm.*, vol. 418, 2011, pp. 142-148.
11. PARK, K. "Controlled drug delivery systems: Past forward and future back". *J. Control. Release*, vol. 190, 2014, pp. 3-8.
12. AGRAWAL, H.; THACKER, N. & MISRA, A. "Parenteral Delivery of Peptides and Proteins". In *Challenges in Delivery of Therapeutic Genomics and Proteomics*, 2011, pp. 531-622, Elsevier Inc., Cambridge, MA, EUA.
13. SUN, L. *et al.* "Formulation and in vitro/in vivo Correlation of a Drug-in-Adhesive Transdermal Patch Containing Azasetron". *J. Pharm. Sci.*, vol. 101(12), 2012, pp. 4540-4548.
14. GOMBOTZ, W. *et al.* "Very low temperature casting of controlled release microspheres". Depositante: Enzytech, Inc. 5019400. Depósito: 01/5/1989. Concessão: 28/5/1991.
15. MASAYUKI, Y. *et al.* "Polymer micelles as novel drug carrier: Adriamycin-conjugated poly(ethylene glycol)-poly(aspartic acid) block copolymer". *J. Control. Release*, vol. 11, 1990, pp. 269-278.
16. KWON, G. *et al.* "Enhanced tumor accumulation and prolonged circulation times of micelle-forming poly (ethylene oxide-aspartate) block copolymer-adriamycin conjugates". *J. Control. Release*, vol. 29, 1994, pp. 17-23.

17. TRUBETSKOY, V.S. & TORCHILIN, V.P. "Use of polyoxyethylene-lipid conjugates as long-circulating carriers for delivery of therapeutic and diagnostic agents". *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 16, 1995, pp. 311-320.
18. BORCHARD, G. *et al.* "The potential of mucoadhesive polymers in enhancing intestinal peptide drug absorption. III: Effects of chitosan-glutamate and carbomer on epithelial tight junctions in vitro". *J. Control. Release*, vol. 39, 1996, pp. 131-138.
19. WESTESEN, K.; BUNJES, H. & KOCH, M.H.J. "Physicochemical characterization of lipid nanoparticles and evaluation of their drug loading capacity and sustained release potential". *J. Control. Release*, vol. 48, 1997, pp. 223-236.
20. GOVENDER, T. *et al.* "PLGA nanoparticles prepared by nanoprecipitation: Drug loading and release studies of a water soluble drug". *J. Control. Release*, vol. 57, 1999, pp. 171-185.
21. RENEKER, D.H. & CHUN, I. "Nanometre diameter fibres of polymer, produced by electrospinning". *Nanotechnology*, vol. 7, 1996, pp. 216-223.
22. STITZEL, J.D. *et al.* "Electrospraying and electrospinning of polymers for biomedical applications. Poly(lactic-co-glycolic acid) and poly(ethylene-co-vinylacetate)". *Int. SAMPE Tech. Conf.*, vol. 32, 2000, pp. 205-211.
23. KENAWY, E.R. *et al.* "Release of tetracycline hydrochloride from electrospun poly(ethylene-co-vinylacetate), poly(lactic acid), and a blend". *J. Control. Release*, vol. 81, 2002, pp. 57-64.
24. HOFFMAN, A.S. "The origins and evolution of 'controlled' drug delivery systems". *J. Control. Release*, vol. 132, 2008, pp. 153-163.
25. DUNCAN, R. "The dawning era of polymer therapeutics". *Nat. Rev. Drug Discov.*, vol. 2, 2003, pp. 347-360.
26. VILAR, G.; TULLA-PUCHE, J. & ALBERICIO, F. "Polymers and Drug Delivery Systems". *Curr. Drug Deliv.*, vol. 9, 2012, pp. 367-394.
27. JACOB, J. *et al.* "Biopolymer based nanomaterials in drug delivery systems: A review". *Mater. Today Chem.*, vol. 9, 2018, pp. 43-55.
28. SIONKOWSKA, A. "Current research on the blends of natural and synthetic polymers as new biomaterials: Review". *Prog. Polym. Sci.*, vol. 36, 2011, pp. 1254-1276.

29. PILLAI, O. & PANCHAGNULA, R. “Polymers in Drug Delivery”. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, vol. 5, 2001, pp. 447-451.
30. SENAPATI, S. *et al.* “Controlled drug delivery vehicles for cancer treatment and their performance”. *Signal Transduct. Target. Ther.*, vol. 3, 2018, pp. 1-19.
31. KWON, G.S. & FURGESON, D.Y. “Biodegradable polymers for drug delivery systems”. In: JENKINS, M., Ed. *Biomedical Polymers*, Woodhead Publishing Limited, Sawston, Cambridge, UK, 2007, pp. 83-110.
32. HARRISON, K. “Introduction to polymeric drug delivery systems”. In: JENKINS, M., Ed. *Biomedical Polymers*, Woodhead Publishing Limited, Sawston, Cambridge, UK, 2007, pp. 33-56.
33. NAIR, S.S. “Chitosan-based transdermal drug delivery systems to overcome skin barrier functions”. *J. Drug Deliv. Ther.*, vol. 9, 2019, pp. 266-270.
34. COPES, F. *et al.* “Heparin-modified collagen gels for controlled release of pleiotrophin: Potential for vascular applications”. *Front. Bioeng. Biotechnol.*, vol. 7, 2019, pp. 1-12.
35. ANIRUDHAN, T.S.; NAIR, S.S. & NAIR, A.S. “Fabrication of a bioadhesive transdermal device from chitosan and hyaluronic acid for the controlled release of lidocaine”. *Carbohydr. Polym.*, vol. 152, 2016, pp. 687-698.
36. CASTRO, K.C. *et al.* “Successful Encapsulation of Hydrophilic Drug in Poly (Lactic Acid)/Chitosan Core/Shell Nanoparticles”. *Int. J. Nanotechnol. Nanomedicine*, vol. 4, 2019, pp. 1-8.
37. PANDEY, S.K. *et al.* “Controlled release of drug and better bioavailability using poly(lactic acid-co-glycolic acid) nanoparticles”. *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 89, 2016, pp. 99-110.
38. YANG, Z. *et al.* “Photothermal Heating-Induced Localized Structural Disruption in a Poly- ϵ -caprolactone Nanocarrier System for Controlled Drug Delivery”. *ACS Appl. Bio Mater.*, vol. 2, 2019, pp. 464-469.
39. HUNG, K. C. *et al.* “Water-based polyurethane 3D printed scaffolds with controlled release function for customized cartilage tissue engineering”. *Biomaterials*, vol. 83, 2016, pp. 156-168.
40. LIECHTY, W.B. *et al.* “Polymers for drug delivery systems”. *Annu. Rev. Chem. Biomol. Eng.*, vol. 1, 2010, pp. 149-173.

41. TIBBITT, M.W.; DAHLMAN, J.E. & LANGER, R. “Emerging Frontiers in Drug Delivery”. *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 138, 2016, pp. 704-717.
42. BISWAS, A.K. *et al.* “Nanotechnology based approaches in cancer therapeutics”. *Adv. Nat. Sci. Nanosci. Nanotechnol.*, vol. 5, 2014, pp. 1-11.
43. RIZVI, S.A.A. & SALEH, A.M. “Applications of nanoparticle systems in drug delivery technology”. *Saudi Pharm. J.*, vol. 26, 2018, pp. 64-70.
44. ZHANG, J. & MARKSALTZMAN, W. “Engineering biodegradable nanoparticles for drug and gene delivery”. *Chem. Eng. Prog.*, vol. 109, 2013, pp. 25-30.
45. BANIK, B.L.; FATTAH, P. & BROWN, J.L. “Polymeric nanoparticles: The future of nanomedicine”. *Wiley Interdiscip. Rev. Nanomedicine Nanobiotechnology*, vol. 8, 2016, pp. 271-299.
46. KOBAYASHI, H.; WATANABE, R. & CHOYKE, P.L. “Improving conventional enhanced permeability and retention (EPR) effects; What is the appropriate target?”. *Theranostics*, vol. 4, 2014, pp. 81-89.
47. SANJAY, S.T. *et al.* “Recent advances of controlled drug delivery using microfluidic platforms”. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 128, 2018, pp. 3-28.
48. GOVENDER, T. *et al.* “Defining the drug incorporation properties of PLA-PEG nanoparticles”. *Int. J. Pharm.*, vol. 199, 2000, pp. 95-110.
49. SÁEZ, V.; HERNÁEZ, E. & ANGULO, L.S. “Mecanismos de liberación de fármacos desde materiales poliméricos”. *Rev. Iberoam. Polímeros*, vol. 5, 2004, pp. 55-70.
50. FLEIGE, E.; QUADIR, M.A. & HAAG, R. “Stimuli-responsive polymeric nanocarriers for the controlled transport of active compounds: Concepts and applications”. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 64, 2012, pp. 866-884.
51. BLUM, A.P. *et al.* “Stimuli-responsive nanomaterials for biomedical applications”. *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 137, 2015, pp. 2140-2154.
52. KARIMIA, M. *Et al.* “Smart micro/nanoparticles in stimulus-responsive drug/gene delivery systems”. *Chem. Soc. Rev.*, vol. 45, 2016, pp. 1457-1501.
53. JACKSON, A.W. & FULTON, D.A. “Making polymeric nanoparticles stimuli-responsive with dynamic covalent bonds”. *Polym. Chem.*, vol. 4, 2013, pp. 31-45.
54. LIU, Y. *et al.* “Nanotechnology-based antimicrobials and delivery systems for

- biofilm-infection control”. *Chem. Soc. Rev.*, vol. 48, 2019, pp. 428-446.
55. AHMAD, Z. *et al.* “Polymeric micelles as drug delivery vehicles”. *RSC Adv.*, vol. 4, 2014, pp. 17028-17038.
 56. SIEPMANN, J. & SIEPMANN, F. “Mathematical modeling of drug delivery”. *Int. J. Pharm.*, vol. 364, 2008, pp. 328-343.
 57. CHIEN, Y.W. “Controlled release of biologically active agents”. *J. Pharm. Sci.*, vol. 77, 1988, pp. 371.
 58. HIGUCHI, T. “Physical chemical analysis of percutaneous absorption process from creams and ointments”. *J. Soc. Cosmet. Chem.*, vol. 11, 1961a, pp. 85-97.
 59. HIGUCHI, T. “Rate of release of medicaments from ointment bases containing drugs in suspension”. *J. Pharm. Sci.*, vol. 50, 1961b, pp. 874-875.

Capítulo 5

Polímeros para a área da Saúde

Rodrigo Lambert Oréfice & Monique de Alvarenga Pinto Cotrim

Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais

Universidade Federal de Minas Gerais

5. Introdução

5.1 Projeto de polímeros avançados para aplicações na Saúde

Com o passar do tempo, tecidos e órgãos do corpo tendem a apresentar progressiva redução de suas propriedades e eficiência. A esse fato, somam-se também as possibilidades de ocorrência de doenças e acidentes que tornam as falhas no funcionamento de órgãos e tecidos mais plausíveis de ocorrerem em situações de envelhecimento médio mais estendido da população. Tais falhas são normalmente corrigidas a partir de procedimentos que envolvem reparação ou substituição das áreas afetadas por implantes autólogos, transplantes e biomateriais. Implantes autólogos, nos quais partes do corpo do mesmo indivíduo servem como sítio doador, se mostram praticamente restritos à correção de falhas pequenas, devido à reduzida disponibilidade de áreas doadoras. Já os transplantes, apesar de avanços significativos nos últimos anos, ainda carecem de disponibilidade irrestrita. Biomateriais poliméricos são polímeros usados em aplicações biomédicas em contato com partes do corpo ou fluidos corpóreos. Eles se destacam por apresentarem grande disponibilidade e ainda por poderem ter seus comportamentos e propriedades alterados através de procedimentos de fabricação.^[1-3]

Biomateriais poliméricos vêm sendo usados há séculos nas mais diversas situações clínicas ligadas a perdas ou falhas de tecidos e órgãos^[4,5]. É perceptível que uma primeira geração desses biomateriais poliméricos, que é usada até hoje, se baseava no uso desses

biomateriais com uma finalidade quase que limitada à de preencher espaço inicialmente ocupado por órgãos e tecidos que apresentaram falha. Nesses casos, a presença do polímero permitiria a recuperação da forma e estética da área afetada com a possível consequente restauração das características mecânicas iniciais. Polímeros como o polietileno de alta densidade (PEAD), o polipropileno (PP), poli(metacrilato de metila) (PMMA), o poli(tereftalato de etileno) (PET), entre outros, foram e são utilizados com essa finalidade. Para esses tipos de biomateriais, além de alguma similaridade em termos de propriedades mecânicas com relação ao tecido anfítrião, uma chamada inerticidade (ou bioinerticidade) era alvo importante. Tal inerticidade era frequentemente associada a uma ausência de resposta do corpo em relação à presença do biomaterial, a qual era relacionada com a chamada biocompatibilidade. No entanto, esse conceito de biocompatibilidade passou a ser reestruturado quando se percebeu que ^[6,7]:

- Há sempre alguma resposta do corpo à presença de biomateriais, mesmo essa sendo mínima, representada pelo estabelecimento de uma fina cápsula fibrosa rica em colágeno ao redor do biomaterial;
- Reduzidas respostas do corpo à presença de biomateriais são frequentemente relacionadas com baixas interações biomaterial-tecidos, as quais são responsáveis por falhas nas interfaces e perda do implante;
- Os biomateriais mais comuns, como os citados anteriormente, são não específicos, ou seja, eles não são capazes de atuar de forma similar a órgãos e tecidos (secreção de substâncias, crescimento, multiplicação, defesa do organismo, etc.). Em procedimentos de recuperação de tecidos e órgãos vítimas de falhas, a necessidade de restabelecimento das funções biológicas desses tecidos e órgãos força a introdução do conceito de biomateriais funcionais ou ativos (bioativos), os quais atuariam de forma integrada, não passiva e específica junto ao corpo, visando à recuperação plena das funções primordiais das áreas afetadas;
- Em situações de longo prazo (caso cada vez mais plausível, tendo em vista o envelhecimento médio acentuado da população), a presença de um biomaterial no corpo sempre representará foco de preocupação por eventualmente liberar produtos

tóxicos de degradação, poder ser local de proliferação mais exacerbada de bactérias e tumores, entre outros.

A partir dessas constatações, o conceito de biocompatibilidade foi ampliado no sentido de envolver a possibilidade de atuação de biomateriais como apoio ou mesmo indutor de processos biológicos que permitiriam o restabelecimento pleno das áreas do corpo afetadas. Além disso, definiu-se que uma eventual rotulação de um material como biocompatível deveria passar por uma análise mais estendida e rigorosa de uma série de fenômenos: fenômenos físico-químicos iniciais de interface (adsorção de biomoléculas); resposta dos tecidos e meio corpóreo à presença do material; alterações nos materiais como resultado da ação do ambiente corpóreo sobre esses materiais; reação de alguma outra parte do organismo à presença do material (alergias, infecções, tumores, etc.). Essa nova geração de implantes seria, então, projetada para:

- Promover estabilidade interfacial entre tecidos e implantes e, dessa forma, restringir micromovimentos que são normalmente suficientes para estender o processo inflamatório;
- Apresentar compatibilidade biomecânica visando evitar a redução dos níveis de carregamento mecânico impostos aos tecidos em detrimento dos biomateriais de mais elevados módulos de elasticidade;
- Favorecer a regeneração de tecidos e órgãos a partir da reprodução e reconstrução das matrizes extracelulares e definição de ambientes tissulares efetivos em promover diferenciação e colonização da região com células específicas;
- Ser progressivamente substituído por tecidos saudáveis, como forma de minimizar eventuais impactos negativos da presença dos materiais em longo prazo no corpo.

Questões envolvendo a adsorção de macromoléculas biológicas (proteínas, sistema de complemento, etc.) são identificadas como críticas no estabelecimento de interações biomateriais-tecidos.^[8] A superfície do biomaterial define a densidade e o modo de adsorção de proteínas. A interação entre células e proteínas adsorvidas define a possibilidade de fixação da célula. Célula fixada tem potencial capacidade de proliferar e

regenerar o tecido anfítrio. Células apresentam específicos receptores localizados nas membranas para interagir e se ligar com proteínas, o que é denominado de biorreconhecimento.^[1-4,9] Apenas as proteínas adsorvidas que apresentem sítios ativos disponíveis, aspectos conformacionais não alterados e densidade de população adequada poderão ser biorreconhecidas. Caso a superfície de um biomaterial não seja biorreconhecida pelas células, haverá imediatamente a sinalização para o desenvolvimento de um processo inflamatório que será resolvido pela formação de uma cápsula fibrosa que isolará o biomaterial do corpo. Caso ocorra o biorreconhecimento, haverá a possibilidade de colonização da superfície por células que poderão proliferar e estimular a regeneração dos tecidos, fixação de implantes e provocar menor grau de inflamação.

Sabe-se que proteínas adesivas presentes no plasma ou na matriz extracelular (fibronectina, vitronectina, etc.) são reconhecidas por receptores nas membranas celulares chamados de integrinas, por apresentarem sequências de aminoácidos específicas (como a sequência RGDS – arginina-glicina-aspartato-serina). Tais receptores estão ligados a microfilamentos intracelulares, formados por actina, miosina, etc. (citoesqueleto), responsáveis pela adesão celular. As integrinas ainda são ligadas a enzimas RhoA capazes de transmitir informações que governam a atividade celular. Múltiplas interações entre integrinas e superfície de biomateriais (contendo, por exemplo, proteínas adesivas adsorvidas) provocam alterações na morfologia celular, achatando as células e carregando mecanicamente o citoesqueleto. Tal estimulação do citoesqueleto leva a uma ativação de metabolismo intracelular que pode resultar em proliferação. Esse aspecto tem sido explorado no sentido de estimular respostas celulares específicas através da geração de topografias especialmente projetadas para favorecer compressão do citoesqueleto.

Proteínas adsorvidas que mantenham sua estabilidade e especificidade podem gerar superfícies de biomateriais que mimetizam a matriz extracelular (ECM). A matriz extracelular tem uma série de funções importantes a partir da interação com células, já que atua na divisão, na adesão e na mobilidade celular. E ainda favorece a migração, a diferenciação e a apoptose, além de servir como reservatório de biomoléculas ativas (como citocinas e fatores de crescimento).

Forças são geradas por células aderidas que deslizam sobre a superfície dos biomateriais. Actina intracelular está ligada aos receptores nas membranas destinados à adesão celular e servem para transmitir as forças observadas. As tensões produzidas pelas interações células-matriz induzem reorganização do citoesqueleto e contração celular. Assim sendo, o nível de adesão entre células e superfícies de biomateriais é também afetado pelas características mecânicas dos biomateriais, como o módulo de elasticidade. Diferentes módulos de elasticidade podem evocar respostas celulares distintas, como diferenciação de células-tronco e expressão de proteínas. Mais recentemente, biomateriais poliméricos (como hidrogéis) têm sido projetados e preparados para apresentarem específicos módulos de elasticidade visando à promoção de processos celulares de interesse.

Além de processos adesivos, a adsorção de moléculas sinalizadoras ou marcadores na superfície de biomateriais (opsonização) desempenha papel importante na modulação das respostas inflamatórias e imunológicas. Moléculas marcadoras, que incluem imunoglobulinas e fragmentos ligados à ativação do complemento, revelam os biomateriais para um futuro ataque de células fagocitárias (macrófagos). Um fracasso na atividade fagocitária (em geral devido ao tamanho mais estendido dos biomateriais em relação às células) serve como estímulo para a liberação de componentes tóxicos e reativos intracelulares que podem atacar os biomateriais, acelerando processos de degradação.

Tendo em vista a importância de aspectos superficiais em biomateriais, muitas estratégias estão sendo propostas, testadas e usadas relacionadas com alterações na superfície de biomateriais, em especial, em biomateriais poliméricos, visando estabelecer específicas interações e comportamentos quando em contato com ambiente corpóreo, típicos das matrizes extracelulares. Assim, enquanto no passado em muitas aplicações biomédicas, polímeros que já eram usados em outras aplicações eram testados, percebe-se que uma visão mais moderna do assunto define a necessidade de uma percepção sobre os desdobramentos do uso de cada polímero em relação ao comportamento pretendido do biomaterial. Estabelece-se, então, o conceito de projeto de biomateriais poliméricos, ou seja, cada aplicação que exija um comportamento bioativo diferente forçará a preparação de

um específico biomaterial polimérico para 121etero-la. As seguintes estratégias podem ser listadas, as quais objetivam reproduzir, em biomateriais poliméricos, aspectos associadas às matrizes extracelulares:

- Preparação de biomateriais a partir de polímeros naturais extraídos de matrizes extracelulares. Exemplos: colágeno, ácido hialurônico, quitina/quitosana, sulfato de condroitina, fibronectina. Vantagem: grande similaridade com matrizes extracelulares naturais. Desvantagens: baixa estabilidade, propriedades mecânicas pobres e risco de imunogenicidade. Além disso, procedimentos de preparação podem alterar a estrutura dos polímeros naturais, levando à redução da bioatividade;
- Aplicação de polímeros naturais extraídos de matrizes extracelulares na forma de recobrimentos ou enxertia na superfície de polímeros comuns. Nesse caso, pode-se usufruir das propriedades mecânicas do substrato. Por outro lado, há preocupação quanto à estabilidade do recobrimento;
- Enxertia de peptídeos contendo as sequências de aminoácidos de interesse (por exemplo, a sequência RGD). A possibilidade de inserção de grupos pré-selecionados favorece um maior controle sobre a estrutura do biomaterial e seus potenciais impactos e comportamentos;
- Preparação de biomateriais com características morfológicas similares às das matrizes extracelulares. Nesse caso, nanofibras poliméricas baseadas em polímeros como poli(ácido lático) e seus copolímeros, 121eteroatomos121es121, poli(álcool vinílico), entre outros, são produzidas via métodos como a eletrofiação para reproduzir a estrutura de alta área 121eteroatomo das matrizes extracelulares.

Também são bastante estudadas algumas iniciativas para alterar as características das superfícies de biomateriais poliméricos ou a capacidade desses de liberar moléculas ativas com o intuito de controlar a adsorção de proteínas e, consequentemente, a opsonização, para guiar os processos inflamatórios e imunológicos. Algumas dessas iniciativas podem ser citadas como a seguir:

- Alterações superficiais de polímeros, como recobrimentos ou enxertia de moléculas para tornar as superfícies mais hidrofílicas e com capacidade anti-incrustante (*antifouling*), ou seja, de restringir adsorção. O mais importante exemplo

envolve o uso do poli(etileno glicol) e similares que dificulta a aproximação de moléculas à superfície de biomateriais, resultando em limitação de adsorção.

- Liberação de fármacos anti-inflamatórios ou que favoreçam a recuperação tissular (como fatores de crescimento) encapsulados em biomateriais. Além de cumprir suas funções específicas, esses biomateriais liberariam fármacos que permitiriam controle do processo inflamatório.
- Incorporação em biomateriais de mecanismos similares usados por vírus para ludibriar a resposta imunológica: liberação ou imobilização em superfícies de citocinas anti-inflamatórias oriundas de vírus ou receptores (típicos de vírus) capazes de capturar moléculas mediadoras usadas pelo corpo nos processos inflamatórios.
- Mimetização de estratégias usadas por bactérias para ludibriar o sistema imunológico: deposição de recobrimentos com características similares a moléculas sintetizadas por bactérias, as quais permitam a captura de citocinas liberadas durante o processo inflamatório e mesmo sua desativação (desativação de moléculas marcadoras como os fragmentos do sistema de complemento).

5.2 Polímeros em aplicações biomédicas

Há séculos e mais pronunciadamente há algumas décadas, polímeros vêm sendo usados em uma série de aplicações biomédicas na maioria das vezes com o objetivo de preencher espaço em situações nas quais falhas em tecidos naturais resultaram na necessidade de substituições ou reparos. Implantes de silicone (poli(dimetil siloxano)) e lentes intraoculares (hidrogéis) são exemplos de aplicações biomédicas de polímeros que envolvem milhões de procedimentos a cada ano. Além dessas aplicações muito populares, há também um número muito grande de outras que envolvem situações clínicas menos frequentes, mas com grande impacto. Para exemplificar essa variedade e extensão de aplicações biomédicas envolvendo polímeros, a Tabela 1^[2] lista alguns polímeros usados em aplicações que abrangem apenas a área oftalmológica. A lista extensa de situações clínicas e de polímeros envolvidos permite perceber a variedade de situações onde biomateriais poliméricos são necessários, além daquelas mais conhecidas.

Tabela 1: Alguns polímeros e outros materiais usados em aplicações biomédicas na área oftalmológica.

Situações clínicas	Dispositivos	Biomateriais usados
Ptose (queda da pálpebra)	Fios, tubos e faixas percutâneas	Silicone, poliamidas (nylon, supramid), poli(tetrafluoroetileno) (PTFE, teflon), poli(tereftalato de etileno) (dacron) e implante autólogo ou transplante.
Retração palpebral	Placas, lâminas finas, tubo	Enxerto autólogo ou transplante de cartilagem ou dura-máter, tubo de silicone, placa de teflon, silicone ou polietileno poroso.
Perda de tecido mole palpebral e periorbitário (em volta da órbita)	Esponja, placas, grânulos, hidrogel	Silicone, polietileno poroso, poli(ácido láctico), poliimida, poli(álcool vinílico), poli(metacrilato de metila), poliacrilamida, colágeno.
Substituição de vias lacrimais	Plugs, tubos e stents	Plugs: silicone e celulose. Tubos: Vidro Pyrex, silicone, teflon; Stents: malha de aço, poliuretano, silicone.
Fratura da órbita ocular	Fios, gel, placas, folhas, lâminas e parafusos	Fixação óssea: poliamidas (supramid), titânio, poli(ácido láctico) e seus copolímeros com ácido glicólico, 123eteroatomos123es123. Reposição óssea: silicone, PTFE, hidroxiapatita, polietileno, poli(ácido láctico) e seus copolímeros com ácido glicólico, 123eteroatomos123es123.

Preenchimento de cavidade anoftálmicas (substituição do globo ocular)	Esferas	Polietileno poroso, poli(metacrilato de metila), PTFE, silicone.
Lentes intraoculares e de contato	Lâminas, hidrogéis e hastas	Lentes: poli(metacrilato de metila), silicone, poli(dimetil fenil siloxano), hidrogéis baseados na família de monômeros acrílicos: metacrilato de hidroxietila, ácido metacrílico, metacriloxipropiltrimetoxissilano, acrilato de etila, trietileno glicol dimetacrilato. Hastas: polipropileno. Poliimida, poli(fluoreto de viniledeno), poli(metacrilato de metila).
Implantes para glaucoma (pressão interna elevada no globo ocular)	Válvulas	Silicone, polipropileno, PTFE.
Implantes para liberação controlada de fármacos	Bastões, agulhas	Poli(álcool vinílico), copolímero de etileno e acetato de vinila (EVA), poli(ácido láctico) e seus copolímeros com ácido glicólico, 124eteroatomos124es124.

Como comentado anteriormente, polímeros que inicialmente foram desenvolvidos para aplicações não biomédicas vêm sendo usados nas últimas décadas em aplicações biomédicas. O grau de sucesso desses polímeros nas aplicações biomédicas é elevado se considerado o cenário de curto prazo (até 10-15 anos). Num cenário de médio e longo prazo (> 15 anos), o grau de sucesso é substancialmente reduzido, tendo em vista problemas associados à falta de fixação adequada que leva a micromovimentos, possibilidades de degradação dos polímeros incluindo desgaste, incompatibilidade biomecânica que causa perda de propriedades dos tecidos vizinhos, entre outros. Tais polímeros que visam a

aplicações que garantem estabilidade (ou seja, permanência dos implantes/materiais) podem ser listados como a seguir:

- Polietileno: suturas, cateteres, membranas, próteses ortopédicas e maxilofaciais
- Polipropileno: seringas, membranas, tubos, vasos artificiais, suturas, etc.
- Poli(tetrafluoroetileno) (Teflon): vasos artificiais, clips e suturas e recobrimentos.
- Poli(álcool vinílico): produção de hidrogéis e membranas para a liberação controlada de fármacos e imunoisolamento de células.
- Poliamida (Nylon): suturas, tecidos, e membranas.
- Poli(cloreto de vinila) (PVC): recobrimentos, embalagens, tubos, etc.
- Poli(tereftalato de etileno) (PET, Dacron): suturas, tecidos, vasos artificiais, válvulas, etc.
- Poliuretano: próteses, vasos artificiais, cateteres e coração artificial.
- Poli(éter éter cetona) (PEEK): próteses ortopédicas e como matriz na fabricação de compósitos.
- Polissulfona: membranas e próteses.
- Poli(metacrilato de metila) (PMMA): confecção de próteses odontológicas, lentes intraoculares e cimento para fixação de dispositivos ortopédicos.
- Hidrogéis (polímeros reticulados com grande afinidade com água que expandem em ambiente aquoso) – poli(metacrilato de hidroxietila), poli(ácido acrílico), poli(etileno glicol), poli(isopropil acrilamida), etc.: fabricação de hidrogéis para lentes de contato, liberação controlada de fármacos, pele artificial e membranas.
- Poli(dimetil siloxano) (PDMS, silicone): implantes para cirurgia plástica, ortopedia, embalagens.

Já há também uma série de aplicações biomédicas temporárias que faz uso de polímeros biodegradáveis^[10], como:

- Poli(ácido glicólico), poli(ácido láctico) e seus copolímeros: suturas biodegradáveis, matriz para liberação controlada de fármacos, implantes ortopédicos biodegradáveis, suporte para o crescimento de tecidos.
- Poli(hidroxibutirato): matriz para liberação controlada de fármacos.

- Poli(caprolactona) e polidioxanona: suturas, matriz para liberação controlada de fármacos.
- Poli(ortho éster): matriz para liberação controlada de fármacos.

Vale mencionar também que polímeros naturais são frequentemente usados em aplicações biomédicas^[11], como:

- Alginato: matriz para imobilização de células e enzimas e para liberação controlada de fármacos.
- Sulfato de condroitina: hidrogéis para liberação de fármacos.
- Quitosana: matriz para liberação controlada de fármacos.
- Ácido hialurônico: lubrificante e agente de preenchimento.
- Colágeno: suturas, tecidos, matriz para liberação controlada de fármacos.
- Dextran: expansor de plasma e veículo de fármacos.
- Heparina: agente antitrombogênico usado em cirurgias e tratamentos terapêuticos.

5.3 Polímeros avançados e novas estratégias na confecção de biomateriais

Tendo em vista a premissa de que aplicações biomédicas passam a exigir que biomateriais participem ativamente dos processos de recuperação das regiões tissulares afetadas por falhas, doenças, etc. (mais do que preencher espaço e reparar estética e mecanicamente partes do corpo), uma gama de características desejáveis para esses polímeros pode ser elencada:

- Esses polímeros devem permanecer temporariamente nas regiões afetadas ou em contato com tecidos apenas o suficiente para permitir o crescimento adequado dos tecidos. As velocidades de biodegradação devem ser comparáveis às velocidades de recuperação dos tecidos. Além disso, os produtos de biodegradação devem ser não tóxicos e metabolizáveis pelo organismo.
- Esses polímeros devem possuir características e estruturas superficiais que garantam interação adequada com macromoléculas biológicas de tal forma a evitar adsorção dessas moléculas (como no caso de aplicações cardiovasculares que exigem comportamento não trombogênico) ou de favorecer adsorção específica (nos casos

onde a diferenciação de células-tronco ou a fixação de células se mostram necessárias). Eventualmente, as superfícies dos polímeros em contato com o meio corpóreo devem ser similares à matriz extracelular.

- Esse polímeros devem apresentar interação com células no sentido de guiar o comportamento celular (adesão, colonização, diferenciação, expressão de receptores e mediadores, síntese da matriz extracelular, etc.) visando a: controle do processo inflamatório, resposta imunológica e regeneração tissular.
- Eles devem interagir adequadamente com outros procedimentos terapêuticos, por exemplo, o combate a infecções e tumores, através da liberação de fármacos e favorecimento a técnicas de diagnóstico.^[12]
- Eles devem ser responsivos, ou seja, capazes de naturalmente responder a estímulos do próprio corpo (como a presença de determinadas moléculas, pH, temperatura, etc.) via liberação de fármacos, biodegradação, mudança de propriedades mecânicas e comportamento (hidrofóbico/hidrofílico) ou de apresentar atuação motivada por estímulo externo (aplicação de campo magnético, luz, aquecimento, ultrassom, etc.).

Segundo esse escopo, várias estratégias têm sido trabalhadas no sentido de gerar polímeros porosos que maximizem a interação com células, viabilizando colonização e organização celular. Biomateriais poliméricos porosos podem ainda encapsular células e outros componentes ativos durante os procedimentos de fabricação para levar à confecção de dispositivos adequados para crescimento tissular. A seguir, são listadas algumas dessas estratégias.^[13]:

- Incorporação de partículas lixiviáveis: partículas de sacrifício (saís, polímeros solúveis, etc.) são incorporadas em polímeros durante o processamento dos dispositivos. A extração dos componentes solúveis gera vazios que podem ser ocupados por tecidos durante processos de recuperação tissular.
- Separação de fase induzida por temperatura: poros são gerados a partir de uma separação de fase. Em geral, uma das fases ricas em solvente é eliminada via secagem ou liofilização.

- Eletrofiação ou fiação de solução por sopro: solução contendo polímero é ejetada através de orifícios. As gotas formadas são estiradas através da aplicação de campo elétrico (eletrofiação) ou através de sopro, gerando nanofibras com tamanhos de poros na ordem de nanômetros.
- Sinterização ou colagem induzida por laser: fibras poliméricas são coladas umas às outras através de aquecimento localizado garantido pela aplicação de laser.
- Impressão 3D: técnicas de impressão 3D, como as que envolvem deposição de fundido e fotopolimerização, podem gerar sistemas poliméricos porosos com alta definição e formas adequadas às aplicações.

Outro campo em franco desenvolvimento envolvendo biomateriais poliméricos é aquele que atua com os chamados polímeros inteligentes que respondem a estímulos. Dentre esses, muito tem sido realizado com base em polímeros da família do poli(isopropil acrilamida) que apresentam comportamento termossensível (mudam de comportamento diante de variações de temperatura) e também em polímeros contendo nanopartículas capazes de conferir comportamento ótico ou magnético diferenciados. Deve-se também realçar a combinação entre polímeros e fármacos na forma de híbridos, nos quais fármacos são acoplados em polímeros visando incrementar a atuação dos fármacos em locais definidos, como em ambientes intracelulares (terapia gênica, por exemplo).^[14] Vários desses polímeros são confeccionados na forma de partículas (via processos de emulsificação ou spray) para favorecer a administração desses sistemas no corpo e viabilizar a fagocitose.

5.4 Biotêxteis e scaffolds

Há vários séculos, materiais têxteis têm sido usados como dispositivos e *scaffolds* nos cuidados com a saúde. Entretanto, nos últimos 50 anos, com o avanço no desenvolvimento de fibras artificiais, tal aplicação tem sido ampliada. Esse tipo de material oferece um conjunto de características atrativas, como possibilidade de produção de estruturas em duas e três dimensões, boas propriedades mecânicas (extensibilidade, flexibilidade, resistência à tração), permeabilidade, variedade na seção transversal, comprimento da fibra, entre outras.^[15-16] Atualmente, de acordo com King, Gupta & Guidoin^[17] os têxteis relacionados

ao setor biomédico podem ser divididos em duas categorias: têxteis médicos e biotêxteis. O primeiro termo comprehende uma vasta gama de produtos, desde curativos a vestuário hospitalar. Já o termo Biotêxtil, derivado da noção convencionada de biomateriais, é definido como uma estrutura baseada em fibras têxteis, projetada para ser aplicada dentro do corpo humano, em contato com tecidos biológicos e/ou fluido corporal circulatório, como o sangue^[17]. Essa categoria de material pode servir ao propósito de dispositivo diagnóstico, substituto para órgãos e tecidos danificados, *scaffolds* (suporte) para engenharia de tecidos. Dessa forma, podem ser empregados em órgãos artificiais, *stent*, telas, membranas, *scaffolds*, sutura, entre outros. Desde o final da década de 1950, conduítes vasculares baseados em têxteis de poli(tereftalato de etileno) (PET), como Dacron, são empregados em reparos cardíacos.^[18]

Recentemente Wang *et al.*^[19] propuseram sistema de vedação para *stent* cardíaco baseado em têxtil plano, constituído por multifilamentos de poliéster, dispostos em dois tipos de armação, sendo elas tafetá e sarja. Após o processo de tecelagem, os biotêxteis foram moldados por compressão. A armação sarja proporcionou melhores propriedades mecânicas, sendo adaptável a diferentes diâmetros e dobrável sem comprometimento da estrutura, o que sugere sua possível aplicação via cateter (menos invasivo) e que ofereceria flexibilidade em situações emergenciais, por ser adaptável a anatomias complexas e específicas de cada paciente.^[19]

Outro exemplo de biotêxtil são as membranas de PTFE empregadas em cirurgias abdominais. Townsend *et al.*^[20] investigaram a capacidade de uma membrana de poliéster revestida com hidrogel PVA:PVP de impedir a formação de adesão peritoneal. O objetivo era verificar se o material proposto seria tão eficiente quanto a tela de PTFE convencional, aprovada pela FDA. Os pesquisadores observaram que, com aplicação de ambos os materiais, não houve formação de adesão. Entretanto, destacaram que o material com hidrogel apresentou-se intacto após o intervalo investigado, enquanto o dispositivo comercial demonstrou certa descoloração e aparente adesão à parede muscular adjacente^[20]. A estrutura primária de um biotêxtil é constituída por fibras. Fibras têxteis possuem estrutura em duas fases: uma cristalina, responsável pelas propriedades mecânicas e estabilidade térmica; e outra amorfa, relacionada a características como flexibilidade,

alongamento e elasticidade. Convencionalmente, são consideradas apropriadas para a produção têxtil, fibras com cristalinidade entre 30-70%, pois nessa faixa tendem a apresentar um balanço adequado de propriedades.^[17]

Uma fibra para ser considerada como têxtil necessita satisfazer alguns requisitos, entre eles: possuir razão entre comprimento e espessura de pelo menos 100; possuir resistência a tração, maleabilidade e flexibilidade adequadas aos processos de produção têxtil; possuir coesão, ou seja, ser capaz de se manter unida a outras fibras após fiada; possuir uniformidade. Em relação à coesão, o perfil longitudinal da fibra e o formato da seção transversal são dois parâmetros importantes. Polímeros naturais, sintéticos e regenerados, assim como metais e derivados de carbono, podem ser empregados na produção dessas fibras.^[21,16]

Chen *et al.*^[22] optaram pelo emprego de polímero sintético baseado em poliuretano carbonado de grau médico como revestimento para *stent* de nitrol, como alternativa para contornar obstruções causadas por câncer broncotraqueal. O têxtil não tecido foi produzido por *spray*, o que resultou em elevada porosidade e flexibilidade. O revestimento contribuiu significativamente para maior força radial de resistência, o que seria fundamental para aplicação proposta, tendo em vista que tal aspecto poderia impedir a migração do *stent* induzida por tosse.^[22]

De acordo com a literatura, os principais métodos empregados no processo de fiação de fibras artificiais são fiação úmida (*wet-spinning*), fiação a seco (*dry-spinning*), fiação do fundido (*melt-spinning*), e, para produção de nanofibras, eletrofiação (*electrospinning*).^[23,24]

A fiação úmida baseia-se na solubilização de polímero em solvente, e a passagem da solução polimérica resultante por um banho de coagulação, através de orifícios com o diâmetro desejado. O fluxo da solução polimérica pode ser controlado com utilização de uma seringa, ou aplicação de pressão.^[24] A maior viscosidade da solução polimérica é desejável, pois inibe a transformação da mesma em gota ao entrar em contato com o líquido.^[25] No banho ocorre a difusão do solvente para o meio, e a difusão de um não solvente, como água ou ácido, para o filamento, o que promove a precipitação do polímero. A superfície externa consolida mais rápido, formando a *skin* ou a casca. Essa casca torna

mais difícil a transferência de massa do solvente no interior do filamento. Com a difusão do solvente do interior da fibra para o meio, ocorre a redução do volume do polímero no interior, o que faz com que a “*skin*” enrugue. Dessa forma, a seção transversal da fibra, geralmente, é convoluta. Quanto mais rápida se dá a coagulação, menos homogênea é a seção transversal do filamento. A manipulação de parâmetros como polímero empregado, massa molar e concentração, temperatura do banho, razão casca-núcleo e graus de orientação do filamento permite o desenvolvimento de fibras com propriedades físico-mecânicas distintas. Após a fiação, os filamentos são lavados, secos, lubrificados e enrolados^[17].

Fernandes *et al.*^[26] produziram fibras de PLA e vidro bioativo empregando essa técnica. Foram obtidas mantas circulares através de compressão por molde, com tamanho de poro em torno de 100 micrômetros e distribuição aleatória. De acordo com os autores, tal distribuição e tamanho de poros permitiu maior proliferação celular, sendo essa fundamental para aplicação como *scaffold*^[26].

Embora semelhante ao método anterior, a fiação a seco consiste em forçar uma solução polimérica através de orifícios em uma câmara com ar quente; devido à elevada temperatura, ocorre evaporação do solvente e com isso a consolidação do polímero como fibra. Tal processo possui custo elevado e menor produtividade, pois a evaporação do solvente não é instantânea. Além disso, pode ser necessário processo subsequente para remover solvente remanescente^[25,23]. A fiação do fundido consiste no aquecimento do polímero até que este esteja com viscosidade adequada, seguido da fiação por orifícios, e solidificação da fibra. Embora seja um processo economicamente interessante, nem todo polímero pode ser processado dessa forma, tendo em vista que alguns não fundem quando aquecidos e outros para serem fundidos demandam temperaturas muito elevadas, causando alterações na fibra. Esse processo de fiação permite a obtenção de filamentos parcialmente orientados. Temperatura e viscosidade do polímero são parâmetros importantes, pois influenciam a uniformidade do filamento resultante. Após a fiação, os filamentos são lubrificados e outros acabamentos são aplicados com objetivo, por exemplo, de reduzir a eletricidade estática^[25,23].

Tal método foi empregado por Li *et al.*^[27] na produção de filamentos de PDO (fio de polidioxanona) aplicados em malharia por trama, na fabricação de *stent* intestinal biodegradável. Os filamentos foram estirados (*drawing*) visando obter estrutura mais reforçada. Comparados aos dispositivos comercializados atualmente, os *stents* desenvolvidos apresentaram desempenho superior em relação às forças radiais^[27].

Já a técnica de eletrofiação emprega campo eletrostático para fiação. Uma determinada corrente é aplicada em uma agulha conectada a um reservatório contendo solução polimérica. Se a corrente elétrica é suficiente para ultrapassar a tensão superficial da solução, ocorre a formação de um cone de Taylor, e um jato polimérico, eletricamente carregado, é acelerado em direção a um coletor, posicionado a certa distância. O coletor pode ser aterrado ou carregado com carga oposta à aplicada na agulha. A solidificação da fibra se dá pelo estiramento do jato polimérico e pela evaporação do solvente. Nessa técnica vários parâmetros devem ser considerados, como distância da agulha ao coletor, velocidade de ejeção, diâmetro da agulha, concentração e viscosidade da solução^[17,28,29]. Tal estratégia de processamento apresenta algumas vantagens para produção de biomateriais, entre elas, a pouca quantidade de material necessária e a obtenção de estruturas 132eteroatomos com elevada porosidade^[28].

Essa técnica foi empregada na fabricação de *scaffold* tubular baseado em blenda de fibroína de seda (*Bombyx mori*) e colágeno (SF/Col), direcionado à aplicação vascular. Melhores resultados foram obtidos empregando água como solvente em vez de ácido acético; e o aumento da concentração SF/Col refletiu em nanofibras com diâmetros maiores. As mantas produzidas foram tratadas com metanol com o propósito de reduzir a solubilidade em água, através da indução da mudança de conformação da proteína para folhas β ^[29].

Uma variação do processo de eletrofiação, denominada eletrofiação úmida, foi empregada por Smit *et al.*^[30] na produção de nanofibras orientadas de PVDF (Fluoreto de polivinilideno), PVA e PAN (Poliacrilonitrila)^[30]. Nessa técnica, o jato polimérico é acelerado em um banho de coagulação, no qual há uma placa metálica aterrada imersa; a fibra formada na superfície do solvente, sofre estiramento no líquido ao ser puxada por uma bobina e, por fim, é enrolada em um cilindro localizado fora do banho^[31,32]. Khil *et al.*^[33] empregaram essa estratégia no processamento de fibras de PCL para confecção de biotêxtil por tecelagem plana^[33].

Como mencionado anteriormente, após os processos de fiação, as fibras podem ser estiradas para que as cadeias poliméricas sejam alinhadas na direção longitudinal em relação à fibra, permitindo maior grau de empacotamento, com estabelecimento de ligações intermoleculares mais coesas, o que resulta em maior módulo de elasticidade, resistência à tração e recuperação elástica. A maior orientação molecular, além de contribuir para melhores propriedades mecânicas, aumenta a vida útil do material. Polímeros não estirados apresentam menor tempo de prateleira devido à degradação mais acelerada. O processo de *drawing* consiste no enrolamento do fio em torno de dois cilindros giratórios com velocidades distintas. O alongamento é calculado a partir da razão entre essas duas velocidades^[25,23].

Tal método pode ser realizado com ou sem aquecimento, ou logo após a fiação do filamento, como na fiação do fundido e fiação úmida. Gaidukovs *et al.*^[34] aplicaram o método em fibras têxteis baseadas em âmbar/poliamida com intuito de evitar relaxação da matriz polimérica. Qu *et al.*^[35] adotaram abordagem similar em fibras de quitosana/PVA produzidas por fiação úmida, empregando NaOH (6%) como solução de coagulação. As fibras foram alongadas (20%) em água, e em seguida imersas em etanol. O desempenho mecânico das amostras não foi discutido em relação ao *drawing*, mas apenas considerando a proporção quitosana:PVA presente na blenda. O método a quente é empregado no processamento de fibras como aramida e nylon (sutura), materiais que exigem melhores propriedades mecânicas^[17].

Os filamentos resultantes podem ser lisos, considerados mais compactos e com maior módulo de elasticidade, empregados quando há necessidade de maior estabilidade dimensional; ou beneficiados de forma a se tornarem texturizados, sendo torcidos, enrolados ou entrelaçados, com maior volume aparente e menor módulo de elasticidade. Os filamentos podem ser empregados dessa forma, por exemplo, em tecido-não tecido, ou seguirem para ser transformados em fios através do processo de fiação têxtil.

5.5 Referências

1. RATNER, B.D.; HOFFMAN, A.S. & SCHOEN, F.J. *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*. Elsevier Science, Saint Louis, 2014.
2. ORÉFICE, R.; PEREIRA, M. & MANSUR, H. *Biomateriais: Fundamentos e Aplicações*. Ed. Cultura Médica, 2012.
3. TEMENOFF, J.S. & MIKOS, A.G. *Biomaterials: The Intersection of Biology and Materials Science*. Pearson Prentice Hall bioengineering; Pearson/Prentice Hall, Upper Saddle River, N.J, 2008.
4. PARK, J.B. & LAKES, R.S. *Biomaterials: An Introduction*, 3rd ed. Springer, New York, 2007.
5. HENCH, L.L. “The Future of Bioactive Ceramics”. *J Mater Sci: Mater Med*, vol. 26, 2015, pp. 26-86.
6. WILLIAMS, D.F. “On the Nature of Biomaterials”. *Biomaterials*, vol. 30, 2009, pp. 5897-5909.
7. KLOPFLEISCH, R. & JUNG, F. “The Pathology of the Foreign Body Reaction against Biomaterials: Foreign Body Reaction to Biomaterials”. *J. Biomed. Mater. Res.*, vol. 105, 2017, pp. 927-940.
8. WEI, Q. *et al.* “Protein Interactions with Polymer Coatings and Biomaterials”. *Angew. Chem. Int. Ed.*, vol. 53, 2014, pp. 8004-8031.
9. ZHANG, H. *Et al.* “Design and Applications of Cell-Selective Surfaces and Interfaces”. *Biomacromolecules*, vol. 19, 2018, pp. 1746-1763.
10. PAPPALARDO, D.; MATHISEN, T. & FINNE-WISTRAND, A. “Biocompatibility of Resorbable Polymers: A Historical Perspective and Framework for the Future”. *Biomacromolecules*, vol. 20, 2019, pp. 1465-1477.
11. PARK, S.-B. *et al.* “Biopolymer-Based Functional Composites for Medical Applications”. *Progress in Polymer Science*, vol. 68, 2017, pp. 77-105.
12. VILLANOVA, J.C.O.; ORÉFICE, R.L. & CUNHA, A.S. “Aplicações Farmacêuticas de Polímeros”. *Polímeros*, vol. 20, 2010, pp. 51-64.

13. LIU, Z. *et al.* "Looking into the Future: Toward Advanced 3D Biomaterials for Stem-Cell-Based Regenerative Medicine". *Adv. Mater.*, vol. 30, 2018, 1705388.
14. KIM, D. *et al.* "Synthesis and Biomedical Applications of Multifunctional Nanoparticles". *Adv. Mater.*, vol. 30, 2018, 1802309.
15. BARTELS, V.T. *Handbook of Medical Textiles*. Ed. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, 2011.
16. MAZIZ, A. *et al.* "Knitting and weaving artificial muscles". *Sci. Adv.*, vol. 3, 2017, e1600327.
17. KING, M.W.; GUPTA, B.S. & GUIDOIN, R. *Textiles as medical implants*. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, 2013.
18. YAMAGUCHI, S. & ASAKURA, T. "Nonanastomotic rupture of thoracic aortic Dacron graft treated by endovascular stent graft placement". *Gen. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, vol. 61, 2013, pp. 414-416.
19. WANG, F. *et al.* "Flared textile cuff to be apposed on the proximal sealing zone in fenestrated stent-grafts". *Textile Res. J.*, vol. 84, 2014, pp. 279-289.
20. TOWNSEND, K.L. *et al.* "A Novel Hydrogel-Coated Polyester Mesh Prevents Postsurgical Adhesions in a Rat Model". *J. Surgical Res.*, vol. 167, 2011, pp. 117-124.
21. RIBEIRO, L. *Introdução à Tecnologia Textil*. Ed. CETIQT/SENAI, 1984.
22. CHEN, W. *Et al.* "Selection and fabrication of a non-woven polycarbonate urethane cover for a tissue engineered airway stent". *Int. J. Pharmaceutics*, vol. 514, 2016, pp. 255-262.
23. ZHANG, D. *Advances in filament yarn spinning of textiles and polymers*. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, 2014.
24. TAMAYOL, A. *et al.* "Fiber-based tissue engineering: Progress, challenges, and opportunities". *Biotechnology Adv.*, vol. 31, 2013, pp. 669-687.
25. LORD, P.T. *Handbook of yarn production*. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, 2003.

26. FERNANDES, J.S.; REIS, R.L. & PIRES, R.A. “Wet spun poly-L-(lactic acid)-borosilicate bioactive glass scaffolds for guided bone regeneration”. *Mat. Sci. Eng. C.*, vol. 71, 2017, pp. 252-259.
27. LI, G. *Et al.* “Study of heat-setting treatment for biomedical polydioxanone stents”. *J. Ind. Textiles*, vol. 46, 2016, pp. 75-87.
28. STEPHENS, J.S. *et al.* “Effects of Electrospinning and Solution Casting Protocols on the Secondary Structure of a Genetically Engineered Dragline Spider Silk Analogue Investigated via Fourier Transform Raman Spectroscopy”. *Biomacromolecules*, vol. 6, 2005, pp. 1405-1413.
29. ZHOU, J. *et al.* “Electrospinning of silk fibroin and collagen for vascular tissue engineering”. *International J. Biological Macromolecules*, vol. 47, 2010, pp. 514-519.
30. SMIT, E.; BUTTNER, U. & SANDERSON, R.D. “Continuous Yarns from electrospun fibers”. *Polymer*, vol. 46, 2005, pp. 2419-2423.
31. WEI, L. & QIN, X. “Nanofiber bundles and nanofiber yarn device and their mechanical properties: A review”. *Textile Res. J.*, vol. 86, 2016, pp. 1-14.
32. O’CONNOR, R.A. & MCGUINNESS, G.B. “Electrospun 136eteroato bundles and yarns for tissue engineering applications: A review”. *J. Eng. In Medicine*, vol. 230, 2016, pp. 987-998.
33. KHIL, M. *et al.* “Novel Fabricated Matrix Via Electrospinning for Tissue Engineering”. *J. Biomed. Mat. Res. Part B: Applied Biomaterials*, vol. 72B, 2005, pp. 117-124.
34. GAIDUKOV, S. *et al.* “Application of amber filler for production of novel polyamide composite fiber”. *Textile Research J.*, vol. 86, 2016, pp. 2127-2139.
35. QU, L.J. *et al.* “Antimicrobial Fibers Based on Chitosan and Polyvinyl-alcohol”. *Fibers and Polymers*, vol. 15, 2014, pp. 1357-1363.

Capítulo 6

Celulose bacteriana e suas aplicações na área da saúde

Bernardo Castro Domingues & Ívi Martins De Carvalho

Department of Chemical Engineering
Centre for Advanced Separations Engineering (CASE)

6.1 Introdução

O desenvolvimento de materiais de base biológica recebeu considerável atenção devido a seus atributos ambientais e não tóxicos e sua capacidade de agregar valor aos produtos agrícolas.¹ A celulose, em particular, pode ser produzida a partir de uma abordagem “de cima para baixo” (*top-down*) ou “de baixo para cima” (*bottom-up*), agregando valor ao conceito de sustentabilidade e renovabilidade.² Este capítulo analisa o desenvolvimento mais recente da abordagem “de baixo para cima”, em que a celulose é produzida bioseinteticamente usando bactérias, também conhecida como celulose bacteriana (BC). Além disso, sendo a BC um produto natural produzido com alta pureza, este capítulo analisará sua aplicação aos cuidados médicos e às tecnologias biomédicas.

6.2 Celulose Bacteriana (BC)

A celulose bacteriana (BC) consiste em microfibrilas de celulose com comprimentos diversos, organizadas aleatoriamente para formar um filme semelhante a gelatina. Bactérias gram-negativas como *Acetobacter*, *Agrobacterium*, *Achromobacter*, *Aerobacter*, *Alcaligenes*, *Azobacter*, *Gluconacetobacter*, *Rhizobium*, *Sarcina*, *Salmonella* e *Pseudomonas* produzem BC de maneira extracelular.³ A BC é formada quando a celulose é polimerizada, a partir de glicose ativada, e extrudada através da parede celular bacteriana, formando fitas de celulose de ~1000 cadeias de poliglucanos.⁴ A BC possui uma estrutura química de cadeias lineares de β-1,4-glucana, semelhantes à celulose derivada de plantas. A

formação contínua em fita gera a estrutura tridimensional das fibras mantidas juntas por ligações de hidrogênio, gerando uma estrutura com um grau de cristalinidade de 60 a 80% e um alto módulo de Young (15 a 30 GPa).⁵ Propriedades como alta pureza, alta cristalinidade, resistência mecânica, biodegradabilidade, biocompatibilidade, capacidade de retenção de água e estabilidade química foram exploradas em diferentes campos. A BC foi descoberta em 1886 por A.J. Brown; no entanto, como mostra a Figura 1, sua popularidade cresceu significativamente nas últimas duas décadas e recentemente entrou na área da saúde.⁶ De fato, devido a essas propriedades, a BC pode ser aplicada diretamente nas áreas, enquanto a celulose vegetal requer tratamento adicional.

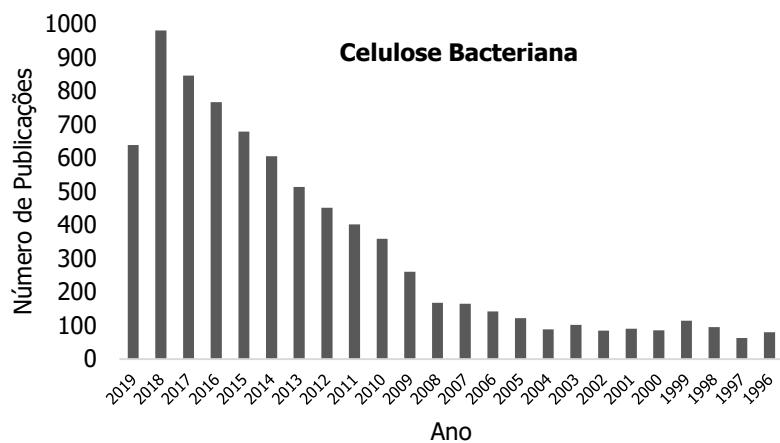


Figura 1. Publicações anuais relacionadas à celulose bacteriana (via Web of Science, busca por “bacterial cellulose”, set./2019) (Elaboração dos autores).

Os materiais com capacidade de aumentar a adesão celular, a migração da proliferação e a diferenciação para aumentar as taxas de epitelização são considerados essenciais para as inovações na área da saúde, em particular na medicina regenerativa.⁷ As propriedades da superfície dos materiais (por exemplo, molhabilidade, topografia, carga superficial e natureza hidrofóbica/ hidrofílica) são elementos-chave para alcançar as características acima mencionadas. A BC é um material de destaque que apresenta a maioria dessas características, possibilitando aplicações em saúde *in vitro* e *in vivo*. A aplicação da BC mostrou avanços significativos em várias áreas relacionadas à saúde; os mais relevantes são mostrados na Figura 2. Em 2018, entre todas as publicações científicas relacionadas à BC e

à saúde, 38% se concentraram em curativos, 31% em engenharia de tecidos, 25% em medicamentos e 6% em biosensores.

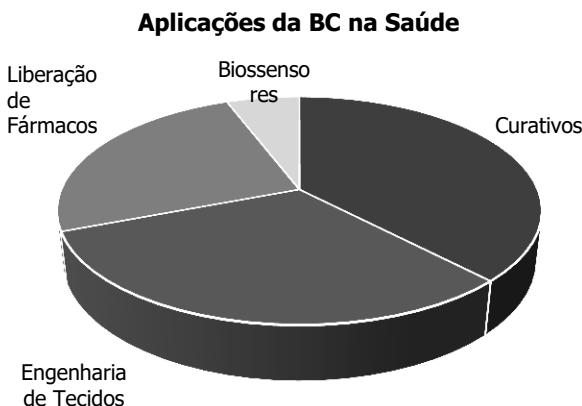


Figura 2. Distribuição das aplicações relacionadas à saúde da celulose bacteriana (BC) em 2018 (via Web of Science, busca por “bacterial cellulose”, set./2019) (Elaboração dos autores).

6.2.1 Curativos

A popularidade da BC como um material potencial usado para curativos aumentou 10 vezes entre 2012 e 2018. Essa atratividade deve-se às muitas características da BC que podem ser exploradas para proteger feridas e desenvolver curativos para ferimentos por queimaduras, regeneração de tecidos e substitutos da pele. A BC possui importantes propriedades intrínsecas que podem ser exploradas para o desenvolvimento de curativos e, ainda mais, sua versatilidade química permite modificações em sua estrutura para aprimorar suas propriedades e adicionar propriedades personalizadas para diferentes aplicações biomédicas.⁸ Existem várias propriedades intrínsecas da BC relevantes para a aplicação como curativos; no entanto, as seguintes são consideradas os elementos mais importantes:

Capacidade de retenção/ liberação de água da BC. Curativo para feridas requerem propriedades de retenção de água para manter a hidratação necessária para impedir a fixação do curativo na ferida, aumentar as taxas de cicatrização e proteger a ferida de infecções. Embora a retenção de água seja uma propriedade importante nos curativos, a capacidade de eliminar os exsudatos é um critério importante que precisa ser considerado. Consequentemente, a pesquisa se concentrou em encontrar o equilíbrio ideal entre hidratação e adsorção. A estrutura da BC permite que a água seja mantida por meio de ligações de hidrogênio contidas nas cadeias de glucana que formam as fibras da BC, conforme mostrado na Figura 3. A capacidade de retenção de água (*water holding capacity* -WHC), bem como taxas de liberação de água *water release rates* - WRR) e taxa de transmissão de vapor (*water vapour transmission rate* - WVTR) são parâmetros críticos para o tratamento de feridas que dependem das características físico-químicas e estruturais da BC, como área de superfície, morfologia e volume de poros.⁹ Wang *et al.* mostraram que arranjos mais densos de fibrilas reduziram o volume de poros e uma área superficial reduzida, o que resultou em menores valores de WHC.¹⁰ As fibras mais densas também mostram uma WRR reduzida à medida que o efeito da ligação de hidrogênio se torna mais visível, impedindo a evaporação da água.¹¹

Alterações nessas propriedades intrínsecas podem ser modificadas por modificações na fermentação da celulose BC ou por modificações pós-sintéticas. Em um estudo, a BC foi preparada usando um método de formação de espuma assistido por surfactante azodicarbonamida (AC)-NaOH para aumentar a estrutura porosa.¹² A área de superfície aumentou de 57 m²/g para 169 m²/g, a porosidade de 28,3% para 90,8% e a adsorção de água de 997% para 7611%. Além disso, materiais como o gel de aloe vera demonstraram aumentar o WHC quando adicionado à BC. Saibuatong *et al.* relataram maior WHC (150%) e permeabilidade ao vapor de água em géis BC/aloe vera.¹³

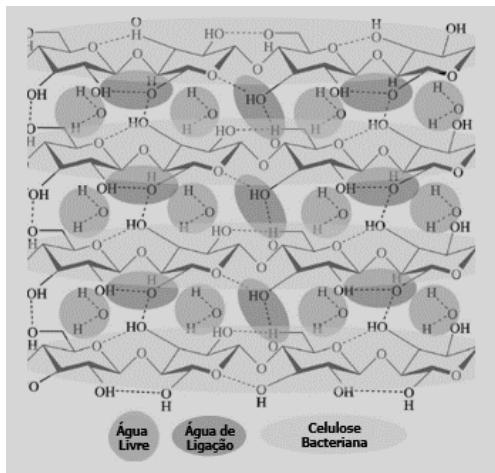


Figura 3. Estrutura molecular da água dentro de BC (Portela *et al.*⁸)

Biocompatibilidade. A biocompatibilidade dos materiais para curativos é considerada o fator mais importante, pois o material é exposto a ambientes citotóxicos que podem exacerbar a cicatrização. A celulose é um polímero linear de glicose com degradação limitada em tecidos humanos e animais. Embora a celulose possa ser extraída das plantas; essas fontes contêm compostos biogênicos (por exemplo, lignina, pectina, arabinan) que induzem respostas inflamatórias insignificantes, mas mensuráveis.¹⁴ A BC, por outro lado, é celulose completamente pura, tornando-a o material biocompatível perfeito para aplicações biomédicas. Helenius *et al.* avaliaram *in vivo* a biocompatibilidade da BC implantando-a por via subcutânea em ratos e avaliando seus aspectos como inflamação crônica, respostas de corpos estranhos, crescimento celular e angiogênese.¹⁵ Foi relatado que a BC não produziu cápsulas fibróticas, integradas no tecido hospedeiro, e não produziu reações inflamatórias crônicas.

A BC tem propriedades intrínsecas fantásticas relevantes para curativos. Essas propriedades podem ser, não apenas aprimoradas, mas também, novas propriedades podem ser adicionadas para atingir diversas funcionalidades. O desenvolvimento de materiais avançados de BC depende da fabricação de materiais compósitos.¹⁶ Um compósito de BC combina materiais distintos com a BC para aprimorar as propriedades intrínsecas da celulose. Os pesquisadores se concentraram no desenvolvimento de materiais compostos para melhorar as seguintes propriedades da BC:

Propriedades mecânicas. As propriedades mecânicas da BC precisam atender às demandas de carga de substituição de tecidos danificados ou doentes. Como consequência, vários estudos têm sido focados nessa área. Por exemplo, Castro *et al.* cultivaram BC em poli(álcool vinílico) (PVA) solúvel em água para produzir vários nanocompósitos.¹⁷ Os compósitos de BC e PVA foram reticulados através de ciclos de congelamento e descongelamento para gerar uma estrutura porosa dentro da matriz PVA que mostrou um módulo elástico aprimorado de 510% e resistência à ruptura de 104% quando carregado com BC a 30%. A Figura 4 mostra o desempenho de tensão/ deformação de todos os compósitos de PVA/ BC testados neste trabalho, representando claramente um desempenho aprimorado quando ambos os materiais são combinados. Da mesma forma, Qiao *et al.* usaram BC e um sol coloidal de PVA para formar hidrogéis compostos.¹⁸ O módulo dos hidrogéis BC/ PVA compósitos foi superior ao PVA puro (~97%); no entanto, quando a relação BC / PVA foi superior a 1/20, o módulo diminuiu. De fato, os hidrogéis exigiam uma composição ideal para maximizar o desempenho. Em outro estudo, Awadhiya *et al.* Reforçou agarose, um polímero biodegradável que pode ser usado em aplicações de curativos, com BC.¹⁹ Ao adicionar 20% BC, a resistência à tração aumentou 140% e aumentou de 25,1 MPa para 60,2 MPa. Foong *et al.* visando aumentar as propriedades mecânicas da BC seca, revestiu os filmes de BC seco com poli (ácido lático) (PLA).²⁰ Verificou-se que o PLA reduz o índice de ruptura inibindo a propagação de rachaduras.

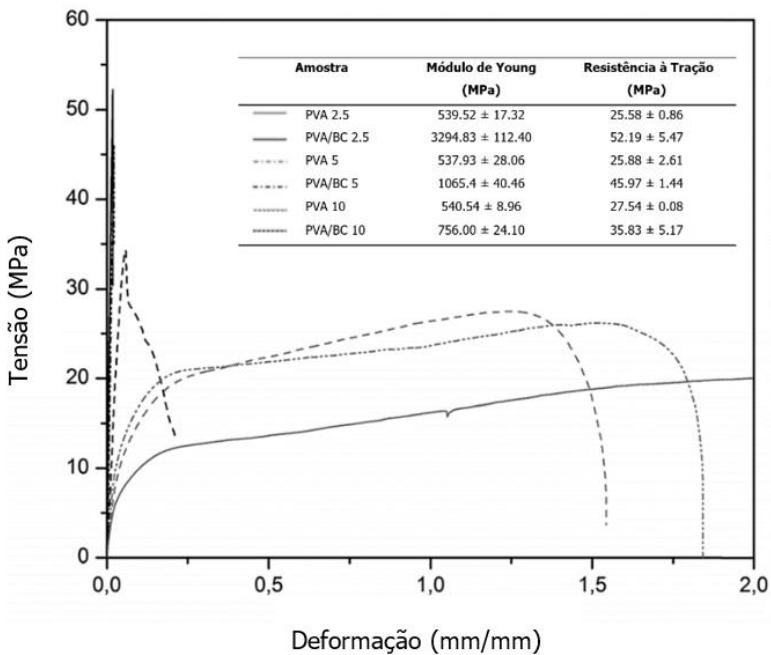


Figura 4. Curvas de tensão-deformação para compósitos PVA/BC. (Castro *et al.*¹⁷)

Atividade antibacteriana. As bactérias infectarão inventivamente as feridas, a menos que sejam tomadas medidas de proteção. Os curativos à base de celulose oferecem proteção limitada devido à presença de exsudatos que comprometem a integridade do material do curativo. A adição de uma propriedade antibacteriana ao curativo pode inibir a proliferação de bactérias e danos ao tecido. A literatura mostrou o desenvolvimento de curativos com propriedades antibacterianas, utilizando antibióticos, nanopartículas e materiais antibacterianos naturais. Por um lado, o uso de antibióticos contidos nos poros da matriz BC representa um método simples, porém eficaz, para o desenvolvimento de curativos antibacterianos. Por exemplo, Lazarini *et al* preparou discos antibacterianos de BC submergindo os discos puros em uma solução antibacteriana de ceftriaxona.²¹ Constatou-se que a alta densidade de fibras foi responsável por manter e sustentar a liberação de ceftriaxona. Em outro estudo, Mohite *et al.* avaliaram a BC como curativo antimicrobiano para condições agudas, adicionando cloreto de benzalcônio (um composto de amônio quaternário, que é usado há muitos anos como antisséptico e desinfetante).²² Eles produziram BC com alta pureza e alta cristalinidade (81%). O tamanho médio das partículas foi de 1,44 µm, com porosidade de 182% e capacidade de absorção e retenção de

água de 400%. A atividade antimicrobiana do disco de BC carregado com cloreto de benzalcônio foi testada contra *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* pelo método de difusão em disco. A BC com maior concentração de cloreto de benzalcônio (8%) exibiu propriedades antimicrobianas contra os dois tipos de micróbios. Uma liberação constante e duradoura do agente antimicrobiano (em pelo menos 24 h) foi alcançada pela BC produzida, proporcionando assim uma liberação sustentada do composto antimicrobiano. A Tabela 1 mostra uma lista de antibióticos e outros componentes antibacterianos que foram incorporados à BC.

Tabela 1. Lista de antibióticos incorporados à BC. Os Autores

API incorporado	Propósito	Referência
Ácido Fusídico	Antibiótico	³⁰
Tetraciclina	Antibiótico	³¹
Amoxicilina	Antibiótico	³²
Eritromicina	Antibiótico	³³
Cloreto de benzalcônio	Antimicrobiano	Merck KGaA
Ceftriaxona	Antibiótico	²¹
Dicloridrato de octenidina	Antimicrobiano	³⁴
Povidona-iodo (PVPI)	Antimicrobiano	²⁴
Polihexanida (PHMB)	Antimicrobiano	²⁴
Cloreto de benzalcônio	Antimicrobiano	³⁵
Lacase	Antimicrobiano	³⁶
Lisozima	Antimicrobiano	²³
ϵ -poli-L-Lisina	Antimicrobiano	³⁷
Berberina	Antimicrobiano	³⁸
Compostos de amônio quaternário	Antimicrobiano	³⁹
Gentamicina	Antimicrobiano	⁴⁰

Além de utilizar pequenas moléculas para fins antibacterianos, as macromoléculas foram introduzidas na BC. Por exemplo, Oshima *et al.*²³ estudaram a adsorção de proteínas na BC fosforilada, que possuía maior superfície específica do que a celulose vegetal. Verificou-se que proteínas como hemoglobina, mioglobina, albumina e lisozima são adsorvidas na BC por meio de interações eletrostáticas a pHs inferiores aos seus pontos isoelétricos. Além disso, a capacidade de adsorção da proteína aumentou à medida que o grau de fosforilação aumentou. Em outro estudo, Wiegand *et al.*²⁴ funcionalizaram BC com os anti-sépticos povidona-iodo (PI) e poli-hexanida (PHMB). Eles descobriram que a concentração da solução de carregamento e a estrutura da rede BC são os principais parâmetros que determinam o comportamento de carregamento e liberação.

Por outro lado, nanopartículas metálicas feitas de prata,²⁵ ouro²⁶ e ZnO²⁷ demonstraram serem eficazes como agentes antibacterianos, pois inibem a energia metabólica da bactéria e dissipam a membrana da bactéria. Volova *et al.*²⁵ produziram nanopartículas de BC/Ag em condições hidrotérmicas. Os filmes de BC foram colocados com AgNO₃ e aquecidos a 90°C. Os compósitos BC/Ag foram avaliados contra membranas de BC carregadas com antibióticos (amicacina e ceftriaxona). Verificou-se que todos os compostos apresentavam propriedades antibacterianas contra *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* e *S. aureus*. Finalmente, o uso de materiais naturais com propriedades antibacterianas foi integrado na BC. Zmejkoski *et al.*²⁸ desenvolveram um hidrogel composto de BC e polímero desidrogenativo de álcool coniferílico (DHP) para gerar efeitos bactericidas em bactérias isoladas clinicamente, incluindo *P. aeruginosa*, *S. aureus* e *Serratia sp*. Em outro estudo, Savitskaya *et al.*²⁹ utilizou a quitosana como agente antibacteriano. Verificou-se que a quitosana carregada positivamente interage com bactérias, aumentando a permeabilidade da membrana, o que inibe o crescimento celular e suprime a produção de mRNA bacteriano.

Taxa de reepitelização aprimorada. A cicatrização de feridas ou reepitelização é o processo no qual novas células substituem o tecido desvitalizado e restauram suas características naturais. A taxa de cicatrização é favorecida em ambientes úmidos, pois permite o acúmulo de fatores de crescimento e o aumento da matriz extracelular; no entanto, exsudatos e bactérias precisam ser considerados. Os hidrogéis de BC demonstraram ser eficazes na manutenção de um ambiente de hidratação ideal para a cura enquanto absorvem exsudatos.

Em um estudo, Mohamad *et al.* sintetizou um hidrogel de BC/ ácido acrílico para aumentar o número de poros de tamanho grande e, portanto, a capacidade de dilatação do hidrogel.⁴¹ Isto permitiu maior retenção de água, o que resultou em epitelização *in vivo* aprimorada e proliferação acelerada de fibroblastos. Outros estudos sugerem que a epitelização pode ser melhorada através de um mecanismo diferente. Por exemplo, Khalid *et al.*⁴² demonstraram que os materiais compostos de BC/ TiO₂ melhoraram a cicatrização no tecido de camundongos com queimaduras e explicaram que esse era o resultado de uma função aprimorada de fibroblastos.

Devido às excelentes propriedades dos produtos para curativos à base de BC, vários produtos foram comercializados. Os primeiros produtos à base de BC para curativos foram oferecidos em 1989 pela Biofill e, desde então, outras empresas comercializaram uma variedade de produtos, como mostrado na Tabela 2.

Tabela 2. Curativos comerciais baseados em BC. Portela *et al.*⁸

Compania	Tipo de curativo	Nome do produto
Biofill	Curativo de BC	Biofill®, BioProcess®, Nefill®, Dermafill®
Activa Healthcare, L&R Company	Biguanida de poliexametileno (PHMB) suplementada com BC	Suprasorb X+ PHMB
Vuelo Pharma	Usado para úlceras, queimaduras e lacerações	Membracel
Xylos Corporation	Usado para feridas de úlcera venosa	xCell
Axcelon Biopolymers Corp.	Curativo antimicrobiano	Nanoderm and Nanoderm Ag
Innovatec	Usado para linfáticos, lesões de tegumento, peeling facial, dermólise infeciosa, abrasão de	Nanoskin

	tatuagens e úlceras crônicas.	
Bowil Biotech	Curativo de BC	Celmat
S2Medical AB	Curativo de BC	EpiProtect®
Biofill	Implantes dentários, material de enxerto	Gengiflex®
Bennett Health	Curativo de BC	Bionext®
Viskase	Substituto da pele	Membracell®

Em um estudo clínico, realizado por Aboelnaga *et al.*, verificou-se que o curativo microbiano de celulose comercial EpiProtect®, permitiu que feridas de queimaduras curassem em 28 dias (Figura 5).¹⁶



Figura 5. Progressão da cura devido ao curativo. Antes (esquerda), meio (aplicação de BC) e ferida cicatrizada (direita). Aboelnaga *et al.*¹⁶

Devido ao aumento da atividade de pesquisa nessa área e à demanda de curativos com propriedades aprimoradas, espera-se que o número de produtos comerciais de curativos aumente nos próximos anos.

6.3 Engenharia de tecidos (enxertos artificiais)

Como mostrado anteriormente, os curativos ajudam a substituir e curar porções de tecidos danificados. A engenharia de tecidos envolve o uso de *scaffolds* para influenciar o

crescimento e substituir porções de tecidos inteiros, como ossos, cartilagens, vasos sanguíneos e outros. Os *scaffolds* fabricados a partir de biomateriais naturais, como a BC, possuem estruturas químicas que podem imitar o tecido nativo, tendo assim a capacidade de não serem detectados pelo organismo. Por exemplo, *Courtenay et al.* usaram BC para fazer *scaffolds* para tecidos, avaliando diferentes modificações químicas e fixação celular.⁴³ Como a BC é um material hidrofílico com baixa adsorção inespecífica de proteínas (e é por isso que as células de mamíferos não são facilmente adsorvidas às superfícies da celulose) esses *scaffolds* exigiam a adição de ligantes à matriz, para facilitar a ligação celular às suas superfícies. Portanto, a BC foi quimicamente modificada com cloreto de glicidiltrimetilamônio para introduzir carga positiva e por oxidação com hipoclorito de sódio na presença de brometo de sódio e radical 1-oxil de 2,2,6,6-tetrametilpiridina para carga negativa. A enxertia de uma porção carregada positivamente na superfície da BC (celulose catiônica) aumentou a fixação celular em 70% em comparação à BC não modificada, enquanto os filmes de BC oxidados com carga negativa (celulose aniônica) mostraram baixos níveis de fixação celular comparáveis aos observados para os não modificados celulose. Apenas um nível mínimo de derivatização da superfície catiônica (cerca de 3% de substituição) foi necessário para aumentar a ligação celular e não foram necessárias proteínas mediadoras. A técnica de modificação química aplicada foi desenvolvida para a indústria de tingimento de tecidos e pode ser realizada imediatamente após a fabricação do *scaffold*, o que proporciona maior vida útil e simplifica o processo no ponto de uso (cultura de tecidos), facilitando o *scale-up* e potencialmente reduzindo os custos. O módulo de Young de 2 MPa medido para esses filmes catiônicos de BC sugere potencial para aplicação em *scaffolds* para tecidos moles ou ossos que não suportam peso (como a fíbula ou o crânio). As seções a seguir revisam as aplicações mais recentes da BC para diferentes tecidos.

Ossos e cartilagem. Pacientes com falta de osso e lesão óssea devido a trauma ou doença necessitam de transplante ósseo, que apresenta grande risco de rejeição. Os materiais utilizados como *scaffolds* podem ser utilizados como substitutos artificiais da membrana da dura-máter. Como consequência, o uso de *scaffolds* biocompatíveis para regenerar estruturas tridimensionais tem sido explorado no tecido ósseo. A engenharia de tecidos ósseos ajuda a anexar, proliferar e orientar a nova formação óssea e a BC é uma excelente

candidata para tais objetivos. Existem vários estudos na literatura que investigaram o uso de BC no crescimento de ossos e cartilagens. Em um estudo, Svensson *et al.* avaliaram BC pura e modificada em um *scaffold* para anexar os condróцитos (célula que secreta a matriz da cartilagem).⁴⁴ A BC pura permitiu a proliferação celular em níveis de 50% do substrato nativo e alto nível de crescimento de condróцитos. A BC apoiou o crescimento celular, mantendo a forma diferenciada dos condróцитos. É importante notar que o módulo de Young da BC se assemelha ao da cartilagem articular. Em outro estudo, Zaborowska *et al.* visam modificar a porosidade dos *scaffolds* de BC.⁴⁵ A porosidade de um *scaffold* na engenharia de tecidos é importante pois permite determinar características essenciais para a boa regeneração do tecido como a migração celular e o transporte de nutrientes para as células. Neste trabalho, microesferas de parafina de 300-500 µm foram introduzidas no processo de fermentação e removidas posteriormente para deixar uma estrutura mais porosa. Este procedimento gerou grandes poros interconectados de 100 µm. Embora a porosidade do material tenha aumentado, essas fibras de BC modificadas mostraram um módulo semelhante aos hidrogéis de BC não modificados. Este artigo menciona que os microporos gerados pelas microesferas aumentaram a área de superfície para fixação celular, resultando em maiores concentrações celulares nos poros.

Outros pesquisadores se concentraram no desenvolvimento de compósitos BC/hidroxiapatita (HAp), uma vez que o HAp forma a maioria dos minerais ósseos. Wan *et al.* relataram pela primeira vez o desenvolvimento de compósitos BC/Hap.⁴⁶ Neste trabalho, as fibras BC foram fosforiladas e modificadas em CaCl₂ para subsequentemente serem embebidas em fluido corporal simulado para cristalizar a HAp. Essas HAp foram encontradas parcialmente substituídas por carbonato, lembrando ossos naturais. A maior desvantagem foi a fraca resistência mecânica com resistência à tração e um módulo de Young de $2,53 \pm 1,15$ MPa, conforme relatado por Ahn, *et al.*⁴⁷ Por outro lado, estima-se que o módulo de Young de osso esponjoso humano esteja entre 0,1 e 2 GPa. Para aprimorar as propriedades mecânicas dos compósitos BC/HAp, Ran *et al.* tentou reforçá-lo usando o princípio do hidrogel reforçado com fibra.⁴⁸ Gelatina foi usada para formar um *scaffold* BC-GEL/HAp, aumentando o módulo de Young para 177 MPa. O uso de hidrogéis ajudou a aumentar as propriedades mecânicas dos *scaffolds* de BC; no entanto, foi relatado que a rigidez dos hidrogéis direciona a diferenciação das células. Para evitar isso, Gutierrez-

Hernandez *et al.* buscaram reforçar BC incorporando nanotubos de carbono com paredes multiplas (MWNTs).⁴⁹ Eles indicaram que os *scaffolds* BC-MWNTs apresentaram propriedades mecânicas aprimoradas e favoreceram a viabilidade, adesão e proliferação de osteoblastos.

Aplicações oftálmicas. Os compostos de BC foram estudados como *scaffolds* para o desenvolvimento de tecido oftálmico artificial (por exemplo, córneas), promovendo a ligação e o crescimento de epitélio pigmentar da retina (EPR) e queratinócitos.³ Estudos têm focado em adaptar as propriedades da BC para sua implementação na terapêutica ocular. Células estromais da córnea humana foram cultivadas e proliferaram em BC pela primeira vez em 2009 por Jia *et al.*, tornando-se o primeiro relato sobre aplicação de BC para fins oftalmológicos.⁵⁰ Mais tarde, na tentativa de melhorar as propriedades do poli(álcool vinílico) (PVA), Wan *et al.* caracterizou as propriedades de compósitos BC/ PVA para avaliar sua viabilidade como uma nova substituição artificial da córnea.⁵¹ O PVA é um polímero com transparência à luz e permeabilidade nutricional; no entanto, mostrou baixa biocompatibilidade devido à baixa afinidade celular. Os compósitos de BC/ PVA apresentaram boa transmitância de luz (> 90%), boa retenção de água (67% em peso) e propriedades mecânicas apropriadas (módulo de Young de 63 MPa). Em 2015, Gonçalves *et al.* avaliaram o desempenho da BC como substrato para cultura de células do epitélio pigmentar da retina (EPR).⁵² A superfície dos filmes de BC foi tratada via acetilação ou adsorção (quitosana ou carboximetil celulose), para aumentar sua hidrofilicidade e, portanto, adesão e proliferação celular. A acetilação de BC mostrou-se um excelente método para aumentar a adesão celular inicial, exibindo uma superfície coberta por uma monocamada celular.

Poucos estudos *in vivo* foram relatados nessa área; Sepúlveda *et al.* testaram o desempenho de compósitos BC/ policaprolactona (PCL) como substituto de tecido na córnea de coelhos, como mostra a Figura 6.⁵³ As úlceras superficiais da córnea foram cobertas por filmes de BC e compósitos BC/ PCL e avaliadas por 45 dias *in vivo*. Alguma resposta inflamatória foi detectada; no entanto, fibroplasia, células gigantes, desorganização do colágeno foram observadas, apresentando desempenho insatisfatório. Certamente, o uso da BC requer

desenvolvimentos adicionais, mas grandes progressos foram alcançados nos últimos 10 anos.

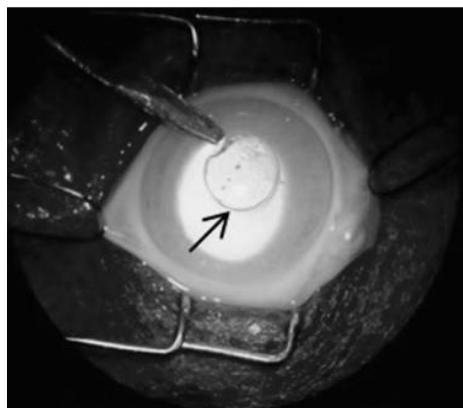


Figura 6. Implantação cirúrgica de BC / PCL na córnea de coelhos. Sepúlveda *et al.*⁵³

Vasos sanguíneos. A rede de celulose produzida por bactérias pode ser moldada em diferentes formas geométricas (por exemplo, cilindros ou microvasos). Essa moldabilidade *in situ* da BC foi demonstrada por Klemm *et al.* que fabricou microvasos de BC cultivando celulose em moldes de vidro.⁵⁴ A Figura 7a) mostra a formação de BC sob uma cultura estática usando D-glicose (dextrose) como fonte de carbono. Esses microvasos foram comercializadas como tubos BASYC® e têm um diâmetro interno de 1 mm e um comprimento de 5 mm. Atualmente, os tubos BASYC® têm diâmetros, espessura de parede e comprimento diferentes, conforme mostrado na Figura 7b). Mais tarde, Putra *et al.* utilizou um processo de moldagem semelhante por meio de tubos de silicone.⁵⁵ Esses vasos são excelentes candidatos à reposição de vasos sanguíneos. De fato, Schumann *et al.* implantou este material em um defeito artificial das artérias carótidas de ratos (animais com baixa pressão) por 1 ano e em porcos (animais com alta pressão) por 3 meses.⁵⁶ Foi demonstrado que a BC foi incorporada na formação de neointima (tecido cicatricial em estruturas tubulares) e fibroblastos ativos em ratos. A implementação dos tubos BASYC® em porcos não revelou sinais macroscópicos ou microscópicos de inflamação e a presença de cápsula fibrótica ou células gigantes não foram detectadas.

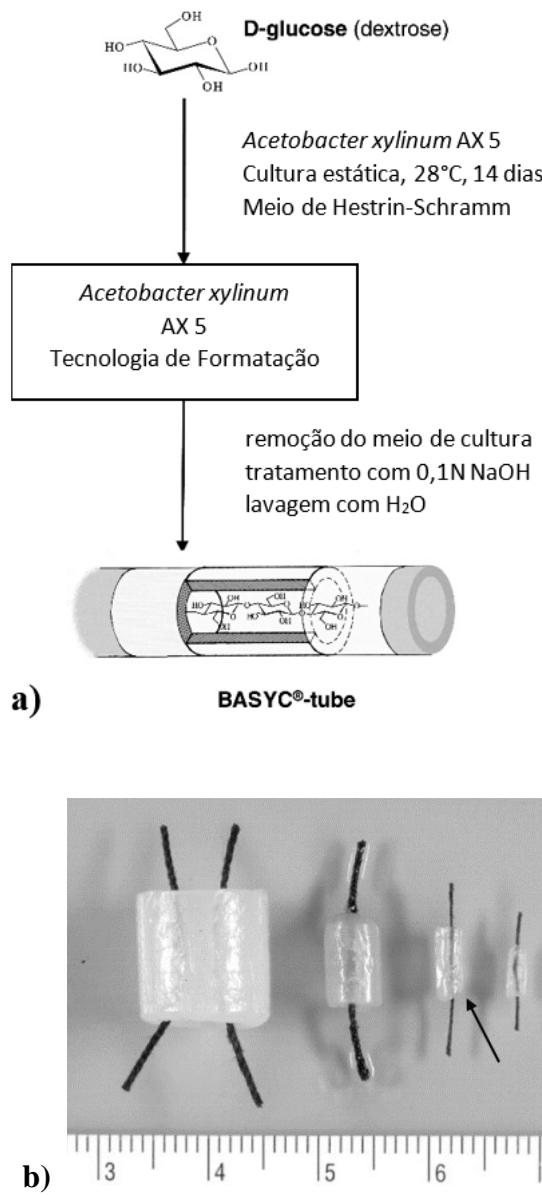


Figura 7 a) Formação do tubo BASYC® e b) Tamanhos diferentes de tubos BASYC®.
(Klemm *et al.*⁵⁴)

6.4 Liberação de Fármacos

Sistemas transdérmicos de liberação de fármacos. A administração de medicamentos utiliza materiais para desenvolver novas abordagens, formulações e sistemas para incorporar efetivamente um ingrediente farmacêutico ativo (*active pharmaceutical ingredient - APIs*)

no corpo. Devido às suas propriedades físico-químicas, a BC é um biopolímero versátil com a capacidade de carregar e liberar APIs efetivamente. A implementação de BC para curativos pode ser orientada para sistemas de administração transdérmica de fármacos. De fato, como mostrado na Tabela 1, vários medicamentos antibacterianos foram carregados na BC para melhorar a cicatrização de feridas e prevenir infecções. No entanto, outros sistemas de administração transdérmica de fármacos foram desenvolvidos aproveitando a BC. Portela *et al.* compilaram uma lista não apenas de pequenas moléculas, mas também de macromoléculas, células, peptídeos e proteínas e agentes antimicrobianos catiônicos.⁸ Os sistemas transdérmicos de administração de fármacos com ingredientes anti-inflamatórios seguiram os curativos antibacterianos. Por exemplo, Silva *et al.* carregaram membranas de BC com sal de diclofenaco de sódio através de um método de imersão, essas membranas foram tratadas com glicerol para obter um material flexível.⁵⁷ A liberação do medicamento mostrada pelas membranas de BC teve o mesmo desempenho que os adesivos anti-inflamatórios comerciais. Em outro estudo, Trovatti *et al.* desenvolveram membranas de BC usando ibuprofeno que exibiram permeação três vezes maior que em gel ou outra solução polimérica.⁵⁸ A pesquisa transdérmica de administração de fármacos também se concentrou na modificação da superfície das membranas de BC. Por exemplo, um estudo de Stoica-Guzun *et al.* utilizou radiação ionizante para modificar a superfície da BC e alterar a liberação do medicamento pela tetraciclina.⁵⁹ As membranas irradiadas de BC mostraram uma difusão reduzida do fármaco em comparação com as membranas não irradiadas. A irradiação também pareceu ter um efeito negativo na taxa constante de adsorção. No entanto, um aumento na dose de radiação não afetou ainda mais a taxa constante de difusão e/ou adsorção.

Excipientes farmacêuticos. Excipientes farmacêuticos são substâncias usadas, em combinação com APIs, para aprimorar os recursos de processabilidade, estabilidade e administração de medicamentos de uma formulação. A celulose, na forma de celulose microcristalina específica (MCC), tem sido considerada um excelente excipiente para o desenvolvimento de comprimidos. Certamente, a celulose pode ser obtida a partir de uma variedade de recursos, mas eles requerem tratamentos adicionais. Consequentemente, devido à sua pureza, a BC tem sido estudada como fonte de celulose para o

desenvolvimento de excipientes farmacêuticos. Kulkarni *et al.* estudaram comparativamente as características de BC produzidas por *Acetobacter versus* MCC comercial (Avicel 101, AV 101).⁶⁰ Verificou-se que a capacidade de absorção de umidade era menor na BC do que no AV 101. A BC mostrou uma alta densidade aparente, melhores propriedades de fluxo e resistência à tração do que o excipiente comercial.

A BC foi tratada e modificada para aprimorar suas propriedades nativas como excipiente. Em um estudo, BC foi seca por pulverização, a fim de melhorar sua morfologia, fluidez, estabilidade e capacidade de retenção de água.⁶¹ BC bruta foi tratada com ácido fosfórico e posteriormente purificada antes da secagem por pulverização. Este tratamento resultou em partículas granulares com maior esfericidade e, em geral, com propriedades aprimoradas. Além disso, a modificação estrutural *in situ* da BC foi tentada por Huang *et al.* adicionando hidroxipropilmetil celulose (HPMC) à cultura de fermentação para modificar a BC.⁶² A adição de alguns polímeros no meio de cultura altera a cristalização e montagem das fibrilas de celulose durante a biossíntese. A incorporação de HPMC na BC resultou em um material (HBC) com índice de cristalinidade reduzido, mas com maior razão de reidratação e maior absorção de pequenas moléculas. Certamente, esses estudos demonstraram a versatilidade da BC como excipiente. Além de a BC ser usada como excipiente em formulações farmacêuticas, ela tem sido estudada como revestimento de película para comprimidos, a fim de melhorar a liberação de APIs por fármacos. Amin *et al.* dispersou BC e revestiu comprimidos de paracetamol por spray para gerar uma liberação constante do medicamento e, assim, aumentar sua eficiência.⁶³ Este estudo mostrou que a BC tinha a capacidade de formar filmes com propriedades macias de alta qualidade, dobráveis, flexíveis e uniformes, semelhantes aos revestimentos de comprimidos comerciais. A liberação do medicamento nos comprimidos revestidos com BC levou ~200 min. para liberação máxima quando a BC tinha uma espessura de 200 µm; em contraste, os comprimidos não revestidos levaram 100 minutos.

Hidrogéis e aerogéis. Vendo os excipientes como parte ativa na administração de medicamentos, Amin *et al.* investigaram o uso de BC na síntese de hidrogéis para sistemas de liberação de fármacos com resposta térmica e pH.⁶⁴ Os hidrogéis são materiais adsorventes compostos por polímeros hidrofílicos ligados por reticulação química ou física,

de maneira que possam absorver e reter grandes volumes de água em sua rede tridimensional sem dissolução. Neste trabalho, BC foi preparada a partir de *nata de coco* (uma iguaria filipina a base de BC) para ser purificada, liofilizada, moída e caracterizada. Eles combinaram BC com ácido acrílico (AA) para fabricar hidrogéis pela exposição à irradiação acelerada por feixe de elétrons; pela adição de AA o hidrogel, que já possui resposta térmica, também se torna sensível ao pH. Essas características permitem que os hidrogéis desempenhem papéis importantes nos sistemas de liberação sustentada, liberação controlada, liberação direcionada e proteção de administração de medicamentos. O hidrogel apresentou baixa taxa de intumescimento em pH 2, aumentando com o aumento do pH, principalmente devido à ionização do AA em valores mais altos de pH, até atingir um pico em pH 7. Esse comportamento responsivo ao pH resultou em uma menor taxa de liberação de drogas *in vitro* em fluido gástrico simulado comparado ao fluido intestinal simulado. As aplicações podem incluir a entrega de anticorpos, antibióticos, enzimas, hormônios e contraceptivos que atuam através de uma variedade de rotas, incluindo vias orais, subcutâneas e intramusculares.

Continuando este estudo, Amin *et al.* estudaram o uso de BC no desenvolvimento de hidrogéis de BC responsivos a estímulos.⁶⁵ Neste trabalho, eles relataram o desenvolvimento de um hidrogel BC-g-poli (ácido acrílico-co-acrilamida) sintetizado por copolimerização de enxerto assistida por irradiação por microondas. Os hidrogéis foram sensíveis ao pH, exibindo um aumento de volume em pH 7 e diminuindo seu comportamento de aumento de volume sob meio ácido. Foi postulado que esse comportamento poderia ser benéfico para a entrega de medicamentos a doenças do cólon. Em outro estudo, Shi *et al.* desenvolveram hidrogéis de BC com propriedades de intumescimento responsivas a estímulos elétricos.⁶⁶ A BC foi combinada com alginato de sódio (SA) para formar membranas híbridas contendo ibuprofeno como um composto modelo de administração de drogas. Enquanto as membranas intumesceram 8 vezes quando o pH mudou de 1,5 para 11,8; eles apresentaram um aumento da taxa de intumescimento para 14 vezes quando sujeitos a uma alteração do campo elétrico de 0 a 0,5 V. A Figura 8a) mostra a taxa de intumescimento dos hidrogéis em diferentes tensões em função do tempo. É perceptível o aumento da razão de intumescimento com taxas mais altas de campo

elétrico. A Figura 8b) mostra as proporções máximas de intumescimento observadas durante os 150 minutos de teste.

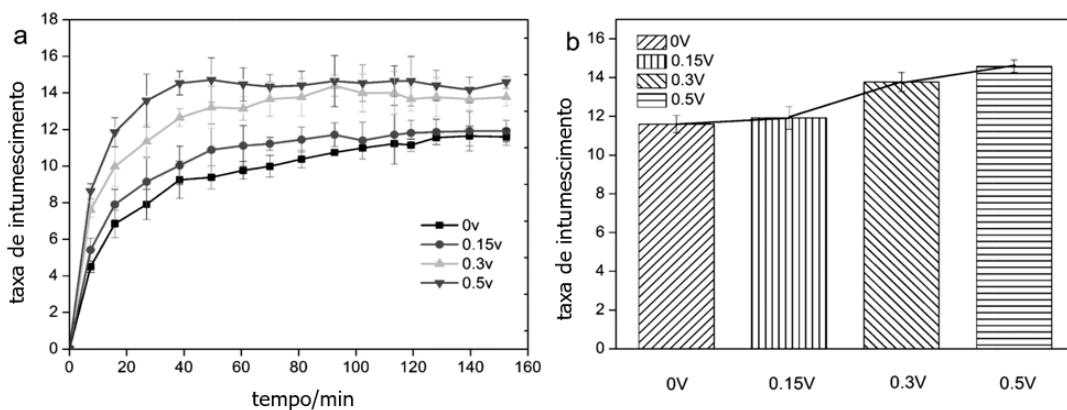


Figura 8. Desempenho de intumescimento da BC e alginato de sódio (SA) na presença de um campo elétrico. (Shi *et al.*⁶⁶)

Estudos *in vivo* de hidrogéis de BC foram também descritos na literatura. Cacicedo *et al.* estudaram o desempenho de um hidrogel de BC com nanopartículas lipídicas carregadas com doxorrubicina para o desenvolvimento de um implante de liberação local de fármacos para terapia do câncer.⁶⁷ O hidrogel foi analisado através de um modelo de câncer de mama ortotópico em camundongo. O hidrogel reduziu o crescimento do tumor, a incidência de metástases e a toxicidade local dos medicamentos; assim, demonstrando que os hidrogéis de BC podem ser implantados para tratamento local de tumores. Além disso, o uso de BC também foi explorado para a liberação de candidatos terapêuticos proteicos. Em um estudo, Müller *et al.* investigou pela primeira vez a BC como sistema de administração de fármacos usando albumina sérica e luciferase como modelo.⁶⁸ Foi demonstrado que o carregamento e a liberação das proteínas tinham o mesmo mecanismo dos pequenos hidrogéis convencionais. Tanto a integridade quanto a bioatividade das proteínas foram mantidas durante o processo de carregamento e liberação. De fato, os hidrogéis de desenvolvimento do BC têm um grande potencial para o desenvolvimento de sistemas versáteis de administração de medicamentos.

6.5 Biossensores e Diagnósticos

O desenvolvimento de biossensores requer materiais que facilitem a imobilização de enzimas e possuam boa capacidade de transferência de elétrons, biocompatibilidade, estabilidade, acessibilidade para o analito e grande área superficial. O BC é um material que possui alguns desses requisitos e, portanto, é considerado para o desenvolvimento de materiais compósitos que possam atingir todas as características mencionadas acima. Por exemplo, Wang *et al.* desenvolveram um sensor de glicose usando nanopartículas de ouro e nanofibras BC.⁶⁹ A glicose oxidase (GOx) e a peroxidase de rábano silvestre (*horseradish peroxidase* -HRP) foram imobilizadas no material compósito. O dispositivo foi capaz de detectar glicose a uma concentração de 2,3 µM. Posteriormente, o mesmo grupo revestiu as fibras BC com nanopartículas de ouro usando poli(etilenoimina) (PEI) como agente redutor e ligante.⁷⁰ Além disso, adicionando halogenetos, a espessura da casca dos nanocompósitos de ouro-BC foi ajustada. O biossensor foi capaz de detectar H₂O₂ até um limite de detecção de 1 µM. Da mesma forma, uma célula de biocombustível de enzima Glucose/O₂ (EBFC) foi desenvolvida por Lv *et al.* usando bioanodo à base de glicose-oxidase e um biocatodo à base de lacase com nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNTs) e eletrodo de BC modificado com nanopartículas de ouro como substrato, mostrado na Figura 9.⁷¹ No início, a BC foi dispersa em MWCNTs para gerar um material compósito condutor. A incorporação de nanopartículas de ouro foi auxiliada por uma solução de NaCl e poli (etilenoimina).

Os compósitos apresentaram-se mecanicamente robustos com MWCNTs e partículas de ouro bem dispersos. O dispositivo forneceu uma densidade de potência de 345 µWcm⁻³, exibindo uma faixa dinâmica linear de 0 a 50 mM e um baixo limite de detecção de 2,9 µM para concentrações de glicose em meios biológicos. O ânodo promoveu geração constante de corrente, enquanto o cátodo mostrou estabilidade ao ar livre. Certamente, este é um exemplo de como as propriedades dos materiais compostos de BC podem ser aproveitados para desenvolver dispositivos sensores superiores.

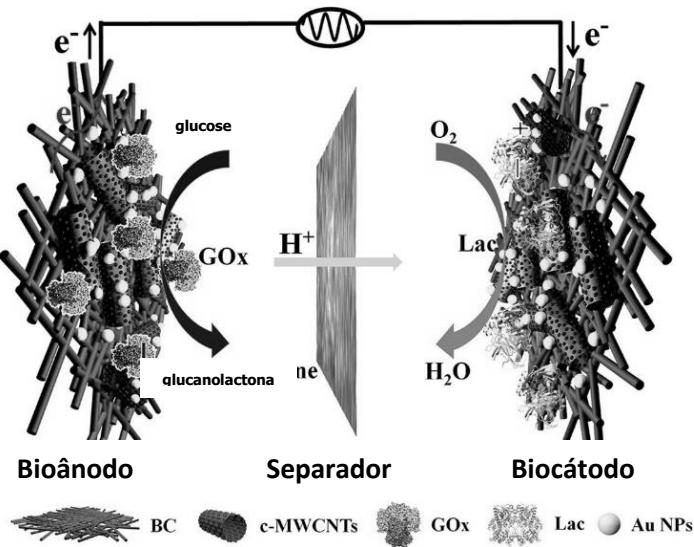


Figura 9. Esquema da Célula Combustível (Glucose/O₂) BioFuel Cell (EBFC) desenvolvida por Lv *et al.*⁷¹

Além de sensores que utilizam nanopartículas de ouro, outros compósitos BC foram desenvolvidos para fins de detecção. Com o objetivo de desenvolver um método fácil para a preparação de sistemas de detecção por vareta de nível ótica totalmente biocompatíveis e baseados em biomassa para fluidos de feridas, a imobilização covalente de Pontos de Carbono (PCs ou *carbon dots*, CD) em BC oxidativamente modificada foi investigada por Quraishi *et al.*⁷² Este estudo investigou a preparação de nanopapel de BC contendo CD fotoluminescentes imobilizados covalentemente, obtidos a partir da termólise de materiais naturais, como glicerol, ácido cítrico ou suco de limão para possíveis aplicações de biosensibilidade. O sensor mostrou boa fotoluminescência e propriedades mecânicas. Em outro estudo, Pirich *et al.* utilizaram a BC combinada com materiais piezoelétricos para desenvolver sensores capazes de detectar dengue.⁷³ Os sensores piezoelétricos revestidos com BC foram sintetizados para melhorar a ligação da imunoglobulina monoclonal G (IgGNS1) e favorecer a especificidade em relação à proteína não estrutural 1 (NS1) da dengue. Esse sensor foi capaz de detectar NS1 no soro em concentrações de antígeno semelhantes às observadas no sangue durante a fase aguda da dengue.

O uso da BC para desenvolver sensores está crescendo em popularidade, especialmente aqueles sensores integrados em curativos. Derikvand *et al.* descrevem o desenvolvimento de placas BC conjugadas com 5(6)-carboxyfluorescein-tetraethylene glycol-azide (FTA)

via *click chemistry*, que uma vez clivadas por esterases emitem uma fluorescência específica que é facilmente detectável por iluminadores de bancada.¹⁰ Este trabalho demonstrou a detecção de FTA livre de celulose ligado à superfície usando um iluminador de bancada comum. Da mesma forma, Leppiniemi *et al.* desenvolveram hidrogéis impressos em 3D que poderiam ser desenvolvidos para monitorar as feridas dos pacientes do hospital.⁷⁴ O hidrogel foi formado com nanocelulose e alginato sob uma composição adequada para impressão 3D. A proteína avidina foi acoplada às nanofibrilas de BC para funcionalização. Cálcio iônico foi usado para reticular o hidrogel e melhorar o desempenho do sensor. Para demonstrar o potencial da funcionalização usando avidina, proteínas fluorescentes foram anexadas e monitoradas por microscopia confocal. Esse material de nanocelulose-alginato funcionalizado com avidina pode ser visto como uma plataforma genérica para a imobilização de componentes bioativos.

6.6 Conclusões

A celulose bacteriana (BC) é um biomaterial versátil, com excelentes propriedades para aplicações em saúde. A alta pureza da BC não apenas aumenta sua confiabilidade para aplicações biomédicas; mas também facilita sua produção, uma vez que não é necessária mais purificação. O acoplamento das propriedades intrínsecas da BC a outros materiais nos permite projetar materiais sob medida com as propriedades físico-químicas específicas necessárias em diferentes aplicações. Esses recursos geraram um grande número de compósitos de BC na literatura científica e em dispositivos comercialmente disponíveis. Certamente, este capítulo se concentrou principalmente em curativos, engenharia de tecidos, administração de medicamentos e biossensores; no entanto, espera-se que o uso de BC em diferentes áreas biomédicas prolifere significativamente nos próximos anos.

6.7 Referências

- ¹ SHI, Q. & LAI, X. “Identifying the underpin of green and low carbon technology innovation research: a literature review from 1994–2010”. *Technol. Forecast. Soc. Change*, vol. 80, 2013, pp. 839-864.
- ² UMMARTYOTIN, S. & MANUSPIYA, H. “A critical review on cellulose: From fundamental to an approach on sensor technology”. *Renew. Sust. Energ. Rev.*, vol. 41, 2015, pp. 402-412.
- ³ PICHETH, G.F. *et al.* “Bacterial cellulose in biomedical applications: A review”, *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 104, 2017, pp. 97-106.
- ⁴ BODIN, A. *et al.* *Comprehensive Biomaterials*. “Bacterial cellulose as biomaterial”, Elsevier, Oxford, 2011, pp. 405-410
- ⁵ SULAEVA, I. *et al.* “Bacterial cellulose as a material for wound treatment: Properties and modifications. A review”. *Biotech. Adv.*, vol 33, 2015, pp. 1547-1571.
- ⁶ BROWN, A.J. “XLIII. — On an acetic ferment which forms cellulose”. *J. Chem. Soc, Trans.* vol. 49, 1886, pp. 432-439.
- ⁷ LUCCHESI C. *et al.* “Increased response of Vero cells to PHBV matrices treated by plasma”. *J. Mater. Sci.: Mater. Med.*, vol. 19, 2008, pp. 635-643.
- ⁸ PORTELA R. *et al.* “Bacterial cellulose: a versatile biopolymer for wound dressing applications”. *Microbial Biotechnology*, vol. 12, 2019, pp. 586–610.
- ⁹ UL-ISLAM, M.; KHAN, T. & PARK, J.K. “Water holding and release properties of bacterial cellulose obtained by in situ and ex situ modification”. *Carbohydr. Polym.*, vol. 88, 2012, pp. 596–603.
- ¹⁰ WANG, J. *et al.* “Immobilization of gelatin on bacterial cellulose nanofibers surface via crosslinking technique”. *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 32, 2012, pp. 536–541.
- ¹¹ GELIN, K. *et al.* “Characterization of water in bacterial cellulose using dielectric spectroscopy and electron microscopy”. *Polymer*, vol. 48, 2007, pp. 7623–7631.
- ¹² YIN, N. *et al.* “Porous bacterial cellulose prepared by a facile surfactant-assisted foaming method in azodicarbonamide-NaOH aqueous solution”. *Mater. Lett.*, vol. 81, 2012, pp. 131–134.

- ¹³ SAIBUATONG, O.A. & M. PHISALAPHONG “Novo aloe vera—bacterial cellulose composite film from biosynthesis”. *Carbohydr. Polym.*, vol. 79, 2010, pp. 455–460.
- ¹⁴ SALMEN L. & OLSSON A.M. “Interaction between hemicelluloses, lignin and cellulose: Structure-property relationships”. *J. Pulp. Pap. Sci.*, vol. 24, 1998, pp. 99–103.
- ¹⁵ HELENIUS, G. *et al.* “*In vivo* biocompatibility of bacterial cellulose”. *J. Biomed. Mat. Res.*, vol. 76A, 2006, pp. 431-438.
- ¹⁶ ABOELNAGA, A. *et al.* “Microbial cellulose dressing compared with silver sulphadiazine for the treatment of partial thickness burns: A prospective, randomised, clinical trial”. *Burns.*, vol. 44, 2018, pp. 1982–1988.
- ¹⁷ CASTRO, C. *et al.* “Highly percolated poly(vinyl alcohol) and bacterial nanocellulose synthesized in situ by physical-crosslinking: exploiting polymer synergies for biomedical nanocomposites”. *RSC Adv.*, vol. 5, 2015, pp. 90742-90749.
- ¹⁸ QIAO, K. *et al.* “Hydrophilic nanofiber of bacterial cellulose guided the changes in the micro-structure and mechanical properties of nf-BC/PVA composites hydrogels”. *Composites Sci. Techn.*, vol. 118, 2015, pp. 47-54.
- ¹⁹ AWADHIYA, A. *et al.* “Synthesis and characterization of agarose–bacterial cellulose biodegradable composites”, *Polym. Bull.*, vol. 74, 2017, pp. 2887-2903.
- ²⁰ FOONG, C.Y. *et al.* “Influence of Poly(lactic acid) Layer on the Physical and Antibacterial Properties of Dry Bacterial Cellulose Sheet for Potential Acute Wound Healing Materials”. *Fibers Polym.*, vol. 19, 2018, pp. 263–271.
- ²¹ LAZARINI, S.C. *et al.* “Characterization of bilayer bacterial cellulose membranes with different fiber densities: a promising system for controlled release of the antibiotic ceftriaxone”. *Cellulose*, vol. 23, 2016, pp. 737-748.
- ²² MOHITE, B.V.; SURYAWANSHI, R.K. & PATIL, S.V. “Study on the drug loading and release potential of bacterial cellulose”. *Cellulose Chem. Technol.*, vol. 50, 2016, pp. 219–223.
- ²³ OSHIMA, T. *et al.* “Phosphorylated bacterial cellulose for adsorption of proteins”. *Carbohydr. Polym.*, vol. 83, 2011, pp.953–958.
- ²⁴ WIEGAND, C. *et al.* “Antimicrobial functionalization of bacterial nanocellulose by loading with polihexanide and povidone-iodine”. *J. Mat. Sci.: Mat. Med.*, vol. 26, 2015, pp. 245.

- ²⁵ VOLOVA, T.G.. *et al.* “Antibacterial properties of films of cellulose composites with silver nanoparticles and antibiotics”. *Polym. Test.*, vol. 65, 2018, pp. 54–68.
- ²⁶ LI, Y. *et al.* “Composites of bacterial cellulose and small molecule-decorated gold nanoparticles for treating Gram-Negative bacteria-infected wounds”. *Small*, vol. 13, 2017, p. 10.
- ²⁷ JANPATCH, N.; SAITO, N. & RUJIRAVANIT, R. “Fabrication of bacterial cellulose-ZnO composite via solution plasma process for antibacterial applications”. *Carbohydr Polym.*, vol. 148, 2016, pp. 335–344.
- ²⁸ ZMEJKOSKI, D. *et al.* “Bacterial cellulose-lignin composite hydrogel as a promising agent in chronic wound healing”. *Int. J. Biolo. Macromol.*, vol. 118, 2018, pp. 494-503.
- ²⁹ SAVITSKAYA, I.S. *et al.* “Physicochemical and antibacterial properties of composite films based on bacterial cellulose and chitosan for wound dressing materials”. *Eurasian Chem. Technol. J.*, vol. 19, 2017, pp. 255–264.
- ³⁰ LIYASKINA, E. *et al.* “Nanomaterials from bacterial cellulose for antimicrobial wound dressing”. *J. Phys. Conf. Ser.*, vol. 784, 2017, pp. 1-7.
- ³¹ SHAO, W. *et al.* “Controlled release and antibacterial activity of tetracycline hydrochloride-loaded bacterial cellulose composite membranes”. *Carbohydrate Polymers*, vol. 145, 2016, pp. 114–120.
- ³² YE, S. *et al.* “Flexible amoxicillin-grafted bacterial cellulose sponges for wound dressing: vitro and in vivo evaluation”. *ACS Appl. Mater. Interf.*, vol. 10, 2018, pp. 5862–5870.
- ³³ ZYWICKA, A. *et al.* “Modification of bacterial cellulose with quaternary ammonium compounds based on fatty acids and amino acids and the effect on antimicrobial activity”. *Biomacromolecules*, vol. 19, 2018, pp. 1528–1538.
- ³⁴ MORITZ, S. *et al.* “Active wound dressings based on bacterial nanocellulose as drug delivery system for octenidine”. *Int. J. Pharm.*, vol. 471, 2014, pp. 45–55.
- ³⁵ WEI, B.; YANG, G. & HONG, F. *et al.* “Preparation and evaluation of a kind of bacterial cellulose dry films with antibacterial properties”, *Carbohydrate Polymers*, vol. 84, 2011, pp. 533-538.

- ³⁶ SAMPAIO, L.M. *et al.* “Laccase immobilization on bacterial nanocellulose membranes: antimicrobial, kinetic and stability properties”. *Carbohydrate Polymers*, vol. 145, 2016, pp. 586–12.
- ³⁷ FÜRSATZ, M. *et al.* “Functionalization of bacterial cellulose wound dressings with the antimicrobial peptide epsilon-poly-L-Lysine”. *Biomed. Mater.*, vol. 13, 2018, 025014.
- ³⁸ HUANG, L. *et al.* “Nano-cellulose 3D-networks as controlled-release drug carriers”. *J. Mater. Chem. B.*, vol. 1, 2013, pp. 2976–2984.
- ³⁹ ZMEJKOSKI, D. *et al.* “Bacterial cellulose-lignin composite hydrogel as a promising agent in chronic wound healing”. *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 118, 2018, pp. 494–503.
- ⁴⁰ ROUABHIA, M. *et al.* “Production of biocompatible and antimicrobial bacterial cellulose polymers functionalized by RGDC grafting groups and gentamicin”. *ACS Appl. Mater. Interfaces.*, vol. 6, 2014, pp. 1439–1446.
- ⁴¹ YANG, X. *et al.* “Effects of PVA, agar contents, and irradiation doses on properties of PVA/ws-chitosan/glycerol hydrogels made by γ -irradiation followed by freeze-thawing”, *Radiation Physics and Chemistry*, vol. 77, 2008, pp. 954-960.
- ⁴² KHALID, A. *et al.* “Bacterial cellulose–TiO₂ nanocomposites promote healing and tissue regeneration in burn mice model”, *RSC Adv.*, vol. 7, 2017, pp. 47662-47668.
- ⁴³ COURTENAY, J.C. *et al.* “Surface modified cellulose scaffolds for tissue engineering”, *Cellulose*, vol. 24, 2017, pp. 253-267.
- ⁴⁴ SVENSSON, A. *et al.* “Bacterial cellulose as a potential scaffold for tissue engineering of cartilage”, *Biomaterials*, vol. 26, 2005, pp. 419–431.
- ⁴⁵ ZABOROWSKA, M. *et al.* “Microporous bacterial cellulose as a potential scaffold for bone regeneration”, *Acta Biomaterialia*, vol. 6, 2010, pp. 2540-2547.
- ⁴⁶ WAN, Y.Z. *et al.* “Synthesis and characterization of hydroxyapatite–bacterial cellulose nanocomposites”, *Composites Science and Technology*, vol. 66, 2006, pp. 1825–1832.
- ⁴⁷ AHN, S.J. *et al.* “Characterization of hydroxyapatite-coated bacterial cellulose scaffold for bone tissue engineering”, *Biotechnol. Bioprocess Eng.*, vol. 20, 2015, pp. 948-955.
- ⁴⁸ RAN, J. *et al.* “Constructing multi-component organic/inorganic composite bacterial cellulose-gelatin/hydroxyapatite double-network scaffold platform for stem cell-mediated bone tissue engineering”, *Mat Sci Eng C.*, vol. 78, 2017, pp. 130-140.

- ⁴⁹ GUTIÉRREZ-HERNÁNDEZ, J.M. *et al.* “In vitro evaluation of osteoblastic cells on bacterial cellulose modified with multi-walled carbon nanotubes as scaffold for bone regeneration”, *Mater. Sci. Eng. C.*, vol. 75, 2017, pp. 445-453.
- ⁵⁰ JIA, H. *et al.* “Potentiality of Bacterial Cellulose as the Scaffold of Tissue Engineering of Cornea”, 2nd International Conference on Biomedical Engineering and Informatics (2009), Tianjin, China.
- ⁵¹ WANG, J. *et al.* “Preparation and in vitro characterization of BC/PVA hydrogel composite for its potential use as artificial cornea biomaterial”, *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 30, 2010, pp. 214-218.
- ⁵² GONÇALVES, S. *et al.* “Bacterial cellulose as a support for the growth of retinal pigment epithelium”, *Biomacromolecules*, vol. 16, 2015, pp. 1341-1351.
- ⁵³ SEPÚLVEDA, R.V. *et al.* “Bacterial cellulose and bacterial cellulose/polycaprolactone composite as tissue substitutes in rabbits’ cornea”, *Pesq. Vet. Bras.*, vol. 36, 2016, pp. 986-992
- ⁵⁴ KLEMM, D. *et al.* “Bacterial synthesized cellulose— artificial blood vessels for microsurgery”, *Prog. Polym. Sci.*, vol. 26, 2001, pp. 1561-1603.
- ⁵⁵ PUTRA, A. *et al.* “Tubular bacterial cellulose gel with oriented fibrils on the curved surface”, *Polymer*, vol. 49, 2008, pp. 1885-1891.
- ⁵⁶ SCHUMANN, D.A. *et al.* “Artificial vascular implants from bacterial cellulose: preliminary results of small arterial substitutes”. *Cellulose*, vol. 16, 2009, pp. 877-885.
- ⁵⁷ SILVA, N.H. *et al.* “Bacterial cellulose membranes as transdermal delivery systems for diclofenac: in vitro dissolution and permeation studies”. *Carbohydr. Polym.*, vol. 106, 2014, pp. 264–269.
- ⁵⁸ TROVATTI, E. *et al.* “Bacterial cellulose membranes applied in topical and transdermal delivery of lidocaine hydrochloride and ibuprofen: in vitro diffusion studies”. *Int. J. Pharm.*, vol. 435, 2012, pp. 83–87.
- ⁵⁹ STOICA-GUZUN, A. *et al.* “Effect of electron beam irradiation on bacterial cellulose membranes used as transdermal drug delivery systems”, *Nucl. Instr. and Meth. in Phys. Res. B*, vol. 265, 2007, pp. 434–438.

- ⁶⁰ KULKARNI, P.K. *et al.* “Evaluation of bacterial cellulose produced from Acetobacter xylinum as pharmaceutical excipient”, *American J. Drug Disc. Dev.*, vol. 2, 2012, pp. 72-86.
- ⁶¹ AMIN, M.C.I.M. *et al.* “Purification, characterization and comparative studies of spray-dried bacterial cellulose microparticles”, *Carbohydrate Polymers*, vol. 99, 2014, pp. 180-189.
- ⁶² HUANG, H.C. *et al.* “Nano-biomaterials application: In situ modification of bacterial cellulose structure by adding HPMC during fermentation”, *Carbohydrate Polymers*, vol. 83, 2011, pp. 979-987.
- ⁶³ AMIN, M.C.I.M. *et al.* “Bacterial cellulose film coating as drug delivery system: physicochemical, thermal and drug release properties”. *Sains Malays*, vol. 41, 2012, pp. 561–568.
- ⁶⁴ AMIN, M.C.I.M. *et al.* “Synthesis and characterization of thermo- and pH-responsive bacterial cellulose/acrylic acid hydrogels for drug delivery”, *Carbohydrate Polymers*, vol. 88, 2012, pp. 465-473.
- ⁶⁵ AMIN, M.C.I.M. *et al.* “Stimuli-responsive bacterial cellulose-g-poly (acrylic acid-co-acrylamide) hydrogels for oral controlled release drug delivery”. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, vol. 40, 2014, pp. 1340–1349.
- ⁶⁶ SHI, X. *et al.* “pH- and electro-response characteristics of bacterial cellulose nanofiber/sodium alginate hybrid hydrogels for dual controlled drug delivery”, *RSC Adv.* vol. 4, 2014, pp. 47056-47065.
- ⁶⁷ CACICEDO, M.L. *et al.* “Bacterial cellulose hydrogel loaded with lipid nanoparticles for localized cancer treatment”, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 170, 2018, pp. 596-608.
- ⁶⁸ MÜLLER, A. *et al.* “The Biopolymer Bacterial Nanocellulose as Drug Delivery System: Investigation of Drug Loading and Release using the Model Protein Albumin”, *J. Pharma. Sci.*, vol. 102, 2013, pp. 579-592.
- ⁶⁹ WANG, W. *et al.* “Fabrication of bienzymatic glucose biosensor based on novel gold nanoparticles-bacteria cellulose nanofibers nanocomposite”. *Electroanalysis*, vol. 22, 2010, pp. 2543–2550

- ⁷⁰ ZHANG, T.J. *et al.* “Biotemplated synthesis of gold nanoparticle–bacteria cellulose nanofiber nanocomposites and their application in biosensing”, *Adv. Funct. Mater.*, vol. 20, 2010, pp. 1152-1160.
- ⁷¹ LV, P. *et al.* “A highly flexible self-powered biosensor for glucose detection by epitaxial deposition of gold nanoparticles on conductive bacterial cellulose”, *Chem. Eng. J.*, vol. 351, 2018, pp. 177-188.
- ⁷² QURAISHI, S.*et al.* “Preparation and Characterization of Bacterial Cellulose-Carbon Dot Hybrid Nanopaper for Potential Sensing Applications”, *Appl. Sci.*, vol. 9 , 2019, 107.
- ⁷³ PIRICH, C. L. *et al.* “Piezoelectric immunochip coated with thin films of bacterial cellulose nanocrystals for dengue detection”, *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 92, 2017, pp. 47-53.
- ⁷⁴ LEPPINIEMI, J. *et al.* “3D-printable bioactivated nanocellulose-alginate hydrogels”. *ACS Appl. Mater. Interf.*, vol. 9, 2017, pp. 21959–21970.

Capítulo 7

Fundamentos e propriedades de polímeros *biobased* reforçados com nanocristais de celulose

Filipe V. Ferreira, Ivanei F. Pinheiro & Liliane M.F. Lona

Departamento de Engenharia de Materiais e de Bioprocessos
Faculdade de Engenharia Química – UNICAMP

7.1 Introdução

O potencial da nanotecnologia é promissor e tem atraído cada vez mais investimentos de vários setores.¹ Especialistas têm considerado que este campo de pesquisa pode originar uma nova revolução industrial para o século XXI.² Neste contexto se concentram os nanocompósitos poliméricos, que começaram a ser estudados na década de 1950 e têm tido suas perspectivas de utilização ampliadas com a descoberta de novos nanomateriais.³⁻⁶

Nanocompósitos poliméricos são materiais híbridos em que a fase reforço (nanocarga; em escala manométrica) é adicionada na matriz polimérica.⁷ O objetivo dessa adição é melhorar as propriedades mecânicas, térmicas, reológicas, de biodegradabilidade e de barreira (ar/oxigênio) do polímero.⁸⁻¹¹ Diferentes nanocargas têm sido utilizadas como reforço, como nanotubo de carbono, grafeno e argilas.¹²⁻¹⁴ Atualmente, devido à crescente preocupação ambiental, os nanocristais de celulose (CNCs) têm ganhado grande atenção dos estudiosos deste campo de pesquisa.¹⁵

Os CNCs são nanopartículas obtidas a partir da desconstrução parcial da estrutura hierárquica da celulose. Essas nanocargas apresentam excelentes características como abundância na natureza, baixo custo de produção, alto módulo de Young, biodegradabilidade, além das características intrínsecas das nanocargas como grande área superficial e alta razão de aspecto.^{16,17} Em virtude dessas particularidades, os CNCs são excelentes candidatos para serem usados como reforço em polímeros *biobased*.

Neste capítulo, o uso dos CNCs como reforço para os polímeros *biobased* é abordado. Após uma breve introdução sobre os nanocristais e celulose, são discutidas importantes questões sobre o processo de preparação dos nanocompósitos, bem como as propriedades finais dos materiais. O capítulo finaliza com algumas conclusões e perspectivas futuras sobre o uso dessa nanocarga em polímeros *biobased*.

7.2 Polímeros *biobased* reforçados com nanocristais de celulose

7.2.1 Nanocristais de celulose (CNCs)

Celulose é o polímero mais abundante da Terra. O agrupamento de suas cadeias forma as microfibrilas de celulose, que apresentam regiões cristalinas e amorfas.^{18,19} O isolamento dessa região cristalina gera os nanocristais de celulose. Vários procedimentos têm sido reportados para isolar os CNCs de diferentes fontes de celulose, e o método de hidrólise ácida é o mais usado.^{20,21} Os nanocristais de celulose podem apresentar forma semelhante a uma agulha, forma de bastonete ou formato esférico com estrutura altamente cristalina, resistência à flexão de cerca de 10 Gpa, resistência à tração de até 7,5 Gpa, módulo de Young de aproximadamente 150 Gpa.^{16,17} Por possuírem essas propriedades surpreendentes, os CNCs têm sido amplamente usados como alternativas para os reforços sintéticos, como nanotubo de carbono e grafeno, devido às crescentes preocupações ambientais e exigências de desenvolvimento de materiais ecologicamente corretos.^{5,22} Neste contexto, os nanocristais oferecem vantagens associadas ao baixo custo de produção e, especialmente, abundância e biodegradabilidade.

7.2.2 Preparação dos nanocompósitos

Embora cada etapa do processamento de nanocompósitos à base de polímeros *biobased* e reforçados com nanocristais de celulose tenha seu próprio “gargalo”, a preocupação primordial em todas as etapas é manter a integridade dos CNCs, bem como controlar sua dispersão e interação com a matriz polimérica.¹⁵ Isso ocorre devido à possibilidade de degradação dos nanocristais (no caso de métodos envolvendo altas temperaturas) e pela dificuldade de obter boa dispersão e forte interação entre os CNCs e o polímero. A abundância de grupos OH na superfície dos CNCs favorece a formação de pontes de hidrogênio, dificultando a interação com a matriz polimérica, especialmente

quando polímeros de baixa polaridade ou não polares são usados.^{23,24} Essa combinação leva a agregações de nanocristais, o que afeta o desempenho final do material.²⁵ Neste contexto, melhoria da interface CNC/polímero através de protocolos típicos de modificação de superfície de CNCs e métodos de processamento de polímeros têm sido reportados, a fim de superar os desafios anteriormente citados. Para maiores informações sobre esses protocolos, o leitor é convidado a ler os trabalhos de Grishkewich *et al.* E Mariano *et al.* Que apresentam de forma detalhada os métodos de funcionalização de CNCs e de processamento de nanocompósitos poliméricos reformados com CNCs (funcionalizados ou não).^{26,27}

Casting, fusão e polimerização *in situ* são os principais métodos para preparar nanocompósitos à base de polímeros *biobased* e reforçados com nanocristais de celulose. Detalhes, vantagem e desvantagens de cada método já foram discutidos em outros trabalhos, por isso essas questões não serão discutidas em detalhes aqui.²³

Resumidamente, o *casting* é um método simples e rápido para preparar esses nanocompósitos. O método consiste em adicionar os CNCs no polímero previamente fundido por solventes, e em seguida o solvente é removido por evaporação.^{28,29} Devido ao tempo de evaporação, o método de *casting* permite que os CNCs se auto-organizem formando uma rede rígida 3D que não é observada nos outros métodos de preparação.³⁰ No entanto, neste método solventes tóxicos normalmente são usados. Uma vez que existe um apelo ambiental no uso de CNCs e de polímeros *biobased*, essa desvantagem no uso de solventes tóxicos deve ser levada em consideração na escolha do método de preparação dos nanocompósitos.

No método de fusão, os CNCs são adicionados no polímero fundido por aquecimento.¹⁹ Este método usa forças de cisalhamento para homogeneizar a carga na matriz polimérica.³¹ Uma produção em grande escala de nanocompósitos pode ser conseguida pelo método de fusão. No entanto, a alta viscosidade e a estrutura química de muitos polímeros podem afetar negativamente a dispersão e interação dos CNCs com a matriz polimérica.

Durante a polimerização *in situ*, os CNCs são adicionados ao monômero, e então o polímero é sintetizado.²³ Este método pode ser usado na produção de nanocompósitos em grande escala.³² No entanto, alguns fatores como pressão e temperatura podem afetar a integridade dos CNCs, ou mesmo diminuir o grau de polimerização do material.³³

Em todos os métodos de preparação aqui reportados, a modificação de superfície dos CNCs pode auxiliar na dispersão da fase reforço no polímero fundido ou no monômero, melhorando assim o desempenho final do material.²⁴

7.3 Propriedades dos nanocompósitos

A adição de CNCs na matriz polimérica afeta as propriedades globais do polímero. Especificamente, as propriedades térmicas, de biodegradabilidade, de barreira (ar/oxigênio) e a resistência mecânica do polímero podem melhorar, enquanto as propriedades antimicrobianas podem ser afetadas negativamente.²⁹ Vários autores mostraram um efeito de nucleação dos nanocristais em nanocompósitos poliméricos, levando ao aumento da cristalinidade do polímero.³¹ Outros autores reportaram que os CNCs melhoram a biodegradabilidade do material final em solo, bem como preenchem os espaços entre as cadeias da matriz polimérica, levando a um caminho mais tortuoso para a permeação de moléculas de água e gás, o que melhora as propriedades de barreira do polímero.^{25,34} A adição dos CNCs homogeneamente dispersos e com forte interação com o polímero também auxilia na dissipação das tensões externas aplicadas dos nanocompósitos, aumentando assim as propriedades mecânicas do material. Todas essas modificações nas propriedades finais do polímero podem ser ajustadas através da quantidade de nanocarga, do método de preparação dos nanocompoósitos e da modificação de superfície dos CNCs.^{25,35}

Dentre as propriedades mecânicas, o módulo de elasticidade também tem sido previsto teoricamente utilizando-se modelos mecânicos. Vários trabalhos se dedicaram ao desenvolvimento desses modelos teóricos capazes de descrever matematicamente o reforço trazido pela adição de cargas. Alguns desses modelos podem ser sofisticados, levando em conta grande número de variáveis. Citamos aqui os mais simples e utilizados, como Regra das misturas, modelos de Maxwell e Russell, Halpin-Tsai e de percolação.

7.4 Regra das misturas

Quando se trata de um compósito bifásico, existem duas expressões matemáticas que são usadas para prever o módulo de elasticidade em função das frações volumétricas dos constituintes. A regra das misturas é provavelmente a mais simples quando se trata do cálculo do valor teórico do módulo elástico de um compósito. As expressões desse modelo estimam que o módulo elástico do compósito deva estar entre um limite superior e um limite inferior conhecidos.³⁶ No limite superior (Equação 1), assume-se que matriz e reforço estão muito bem ligados e que o estresse aplicado é na direção do alinhamento dos reforços (dito em paralelo), com carga e matriz igualmente deformadas. A fração volumétrica e o módulo das fases presentes são utilizados para o cálculo do módulo de Young resultante. Devido às condições ideais assumidas, esse modelo tende a superestimar os valores de E_c .³⁶

$$E_c = (E_f \cdot X_f - E_m \cdot X_m) \quad (\text{Eq. 1}),$$

em que E_c é módulo do compósito formado pelas componentes, E_f e X_f são os módulos e a fração volumétrica da carga adicionada e E_m e X_m são o módulo e a fração volumétrica (valor entre 0 e 1) da matriz, respectivamente.

No limite inferior (Equação 2), o modelo em série é utilizado e o esforço é aplicado na direção contrária da orientação dos reforços.³⁷

$$E_c = \frac{E_m E_f}{V_f E_m + V_m E_f} \quad (\text{Eq. 2})$$

Em situações reais, os reforços curtos são menos capazes de carregar a carga imposta ao compósito. Essa perda de eficiência (n_l) foi incorporada aos modelos, resultando na Equação 3.³⁸

$$E_c = (n_l \cdot E_f - E_m) \cdot V_f + E_m \quad (\text{Eq. 3}),$$

em que n_l é fator de eficiência de comprimento, descrito em função da razão de aspecto (aqui chamada de L/d) do reforço; n_l e β são definidos pelas Equações 4 e 5, respectivamente.³⁹

$$n_l = 1 - \frac{\tanh(\beta \cdot L/d)}{\beta \cdot L/d} \quad (\text{Eq. 4})$$

$$\beta = \sqrt{\frac{-3E_m}{2 \cdot E_f \cdot \ln(V_f)}} \quad (\text{Eq. 5})$$

Sendo que $\tan\beta(x)$ é a tangente hiperbólica da constante β multiplicada pela razão de aspecto do reforço. Desta equação, tem-se que quanto maior a relação L/d (ou seja, quanto mais comprido for o reforço), maior será a eficiência do reforço. Adicionalmente, o alinhamento dos reforços pode ser considerado no modelo. Sabe-se que um efeito máximo é obtido quando os reforços presentes são contínuos ou alinhados. O desalinhamento dos reforços leva à redução da eficiência que os mesmos podem fornecer para a matriz. A Equação 6 considera essa perda de eficiência de orientação (n_o).⁴⁰

$$E_c = (n_o \cdot n_l \cdot E_f - E_m) \cdot V_f + E_m \quad (\text{Eq. 6}),$$

em que o valor de $n_o = 1$ para compósitos nos quais os reforços estão alinhados, $n_o = 3/8$ para reforços alinhados em um único plano e $n_o = 1/5$ para reforços orientados randomicamente.

Experimentalmente, diferentes autores encontraram valores de $n_o = 0,2$ durante o estudo de compósitos reforçados com cargas distribuídas de forma aleatória.⁴¹ Outros utilizaram valores de $n_o = 0,35$, obtido pela média dos valores de n_o calculados usando a Equação 7 para compósitos com 10 e 20% de reforço, a partir dos resultados experimentais de módulo elástico.⁴²

$$E_c = \frac{E_c - V_m \cdot E_m}{V_f \cdot E_f} \quad (\text{Eq. 7})$$

Fatores como formação de redes de percolação, baixa adesão entre matriz-carga e defeitos estruturais levam a valores experimentais distintos dos obtidos pela equação apresentada. Nestes casos, modelos mais complexos podem ser utilizados levando em conta outros fatores em seus cálculos.

7.5 Modelos

7.5.1 Maxwell e Russell

Os modelos de Maxwell e Russell (Equações 8 e 9, respectivamente) também são utilizados na previsão do módulo de elasticidade em função da composição dos compósitos.⁴³ O modelo de Maxwell apresenta melhor aplicação em compósitos com baixos teores de reforço. Já o modelo de Russell assume que a fase de reforço tem forma cúbica, com tamanhos similares e encontram-se dispersos na matriz.^{44,45}

$$E_c = E_m \frac{E_f + 2E_m + 2V_f(E_f - E_m)}{E_f + 2E_m - V_f(E_f - E_m)} \quad (\text{Eq. 8})$$

$$E_c = E_m \frac{\frac{V_f^2}{E_f} + \frac{E_m}{E_f}(1 - \frac{V_f^2}{E_f})}{\frac{V_f^2}{E_f} - V_f + \frac{E_m}{E_f}(1 + V_f - \frac{V_f^2}{E_f})} \quad (\text{Eq. 9})$$

7.5.2 Modelo de Halpin-Tsai

O módulo de um compósito também pode ser estimado pelas equações de Halpin e Tsai⁴⁶. Os autores deste modelo desenvolveram equações semiempíricas utilizadas na previsão de valores de módulo de elasticidade em compósitos.⁴⁷ Para compósitos nos quais os reforços estão alinhados, este modelo é dado pela Equação 10.^{46,48}

$$E_c = E_m \cdot \frac{(1+\xi n V_f)}{(1-n V_f)} \quad (\text{Eq. 10}),$$

$$\frac{E_f}{E_m} - 1$$

em que

$$\xi = 2 \cdot \frac{L}{d} \quad \text{e} \quad n = \frac{1}{\frac{E_f}{E_m} + 1}$$

Entretanto, o modelo de Halpin-Tsai também pode ser adaptado de modo a considerar a presença de reforços organizados aleatoriamente. Neste caso, o modelo passa a ser usado da seguinte maneira (Equação 11).⁴⁶

$$\frac{E_c}{E_m} = \frac{3}{8} \cdot \left(\frac{(1+\xi \cdot n_L \cdot V_f)}{(1-n_L \cdot V_f)} \right) + \frac{5}{2} \cdot \left(\frac{(1+2 \cdot n_T \cdot V_f)}{(1-n_T \cdot V_f)} \right) \quad (\text{Eq. 11}),$$

em que as novas variáveis são definidas como:

$$n_L = \frac{\frac{E_f}{E_m} - 1}{\frac{E_f}{E_m} + \xi} \quad \text{e} \quad n_T = \frac{\frac{E_f}{E_m} - 1}{\frac{E_f}{E_m} + 2}$$

Esse modelo é conhecido por se ajustar bem a dados experimentais de compósitos contendo baixas frações volumétricas de reforços, mas subestimar algumas propriedades quando a quantidade de carga presente é relativamente alta.^{49,50}

7.5.3 Modelo de percolação

Este mecanismo atualmente é muito utilizado para estimar propriedades de compósitos preparados pela adição de cargas a diferentes matrizes poliméricas. O modelo foi proposto em meados da década de 1990 e baseia-se na criação de uma rede de percolação entre as partículas.^{51,52} Ou seja, assume-se que, a partir de certa fração volumétrica de partícula (carga), há um ganho significativo na capacidade de reforço da mesma, uma vez que todas as partículas presentes passam a interagir de modo a formar uma rede contínua 3D. Esta rede possui um potencial de reforço maior do que as partículas individuais. Nesse sentido, este modelo se diferencia dos modelos anteriores que assumem

uma relação direta entre a quantidade de partículas rígidas e propriedade mecânica. A forma geral do modelo de percolação é dado pela Equação 12.⁵³

$$E_c = \Psi \cdot E_f \quad (\text{Eq. 12}),$$

em que, além dos módulos do compósito (E_c) e da fase de reforço (E_f), também é introduzido o parâmetro Ψ , que corresponde à fração volumétrica de percolação da fase rígida. Este parâmetro Ψ é definido para dois casos, mostrados a seguir.⁵⁴

$$\Psi = 0 \text{ para } v_r < v_{rc} \quad \text{e} \quad \Psi = v_r \cdot \left(\frac{N_r - v_{rc}}{1 - v_{rc}} \right)^{0.4} \quad \text{para } v_r > v_{rc}$$

Ou seja, se a fração volumétrica da fase rígida (v_r) presente no compósito for menor do que o volume mínimo para construção da rede de percolação (v_{rc}), o valor do módulo do compósito cai a zero ($v_r < v_{rc}$). Por outro lado, se o valor da fração volumétrica da fase rígida (v_r) for maior do que o valor mínimo necessário para construir a rede de percolação (v_{rc}), o módulo do compósito vai ser proporcional a Ψ ($v_r > v_{rc}$). Em que $b = 0,4$ para uma rede tridimensional de partículas.⁵⁵ Tal condição demonstra a limitação deste modelo para baixas frações volumétricas, nas quais o valor do módulo do compósito calculado para o modelo é igual a zero. Algumas versões mais recentes deste modelo têm como objetivo incluir termos capazes de prever o comportamento desses materiais antes da percolação.⁵⁶ Entretanto, tais modelos ainda não estão bem estabelecidos e apresentam limitações.

Acima da fração volumétrica de construção da rede de percolação, a versão clássica deste modelo é fiel às propriedades mecânicas alcançadas experimentalmente para compósitos baseados em nanopartículas de celulose (cilindros longos capazes de interagir entre si). O cálculo de v_{rc} é feito usando a Equação 12.²⁷

$$v_{rc} = \frac{0.7}{L/d} \quad (\text{Eq. 13})$$

Neste caso, nota-se novamente a importância da razão de aspecto das partículas. Nanopartículas mais longas precisam de menores frações volumétricas para formar a rede de percolação capaz de fornecer propriedades mecânicas otimizadas. Como discutido anteriormente, esta rede de percolação só é formada em nanocompósitos preparados pela

técnica de *casting/evaporation*, na qual as partículas têm tempo disponível para se auto-organizarem durante a evaporação do solvente. Materiais processados sob forças cisalhantes (extrusão, injeção, etc.) costumam não apresentar as características de uma rede de percolação, tendo seu potencial de reforço reduzido.^{57,58}

7.6 Conclusões e perspectivas

Os nanocristais de celulose podem ser usados como agente de reforço para polímeros *biobased* visando à preparação de nanocompósitos renováveis e sustentáveis com desempenho melhorado. Esse sucesso como reforço é devido à combinação única das propriedades dos nanocristais, como alta resistência e rigidez e biodegradabilidade. Os nanocompósitos preparados com polímeros *biobased* e reforçados com CNCs têm potencial para serem usados em diferentes aplicações. No entanto, a natureza hidrofílica e a baixa estabilidade térmica dos CNCs devem ser levadas em consideração durante a aplicação. O rápido avanço da pesquisa teórica e experimental sobre esses nanocompósitos poliméricos pode levar à preparação, em escala industrial, de novos polímeros *biobased* funcionais de alto desempenho e sustentáveis nos próximos anos.

Agradecimentos

Os autores agradecem à FAPESP (2016/09588-9), CAPES e CNPq pelo apoio financeiro. Os autores também agradecem ao Dr. Marcos Mariano pela valiosa colaboração na discussão e revisão do capítulo.

7.7 Referências

- 1 FERREIRA, F.V. *et al.* *Carbon-Based Nanofillers and Their Rubber Nanocomposites*, 1. ed., 2019, pp. 1-45.
- 2 PAUL, D.R. & ROBESON, L.M. "Polymer nanotechnology: Nanocomposites". *Polymer (Guildf.)*, vol. 49, 2008, pp. 3187-3204.
- 3 IJIMA, S. & ICHIHASHI, T. "Single-shell carbon nanotubes of 1-nm diameter". *Nature*, vol. 363, 1993, pp. 603-605.
- 4 GEIM, A. K. "Graphene: Status and Prospects". *Science*, vol. 324, 2009, pp. 1530-1534.
- 5 FERREIRA, F.V. *et al.* "Functionalization of Graphene and Applications". In: *Functionalizing Graphene and Carbon Nanotubes*. SpringerBriefs in Applied Sciences and Technology. Springer, Cham, Switzerland, 2016, pp. 1-29.
- 6 FERREIRA, F.V. *et al.* "Functionalization of Carbon Nanotube and Applications". In: *Functionalizing Graphene and Carbon Nanotubes*; SpringerBriefs in Applied Sciences and Technology; Springer: Cham, Switzerland, 2016, pp. 31-61.
- 7 FERREIRA, F.V. *et al.* "Dodecylamine functionalization of carbon nanotubes to improve dispersion, thermal and mechanical properties of polyethylene based nanocomposites". *Appl. Surf. Sci.*, vol. 410, 2017, pp. 267-277.
- 8 CIVIDANES, L.S. *et al.* "How Do CNT affect the branch and crosslink reactions in CNT-epoxy". *Mater. Res. Express*, vol. 4, 2017, p. 105101.
- 9 FRANCISCO, W. *et al.* "Functionalization of Multi-Walled Carbon Nanotube and Mechanical Property of Epoxy-Based Nanocomposite". *J. Aerosp. Technol. Manag.*, vol. 7, 2015, pp. 289-293.
- 10 MENEZES, B.R.C. *et al.* "Effects of octadecylamine functionalization of carbon nanotubes on dispersion, polarity, and mechanical properties of CNT/HDPE nanocomposites". *J. Mater. Sci.*, vol. 53, 2018, pp. 14311-14327.
- 11 FERREIRA, F.V. *et al.* "Correlation of surface treatment, dispersion and mechanical properties of HDPE/CNT nanocomposites ". *Appl. Surf. Sci.*, vol. 389, 2016, pp. 921-929.
- 12 FERREIRA, F.V. *et al.* "Influence of carbon nanotube concentration and sonication temperature on mechanical properties of HDPE/CNT nanocomposites". *Fullerenes, Nanotub. Carbon Nanostructures*, vol. 25, 2017, pp. 531-539.
- 13 FERREIRA, F.V. *et al.* "Functionalized graphene oxide as reinforcement in epoxy based nanocomposites". *Surf. Interfaces*, vol. 10, 2018, pp. 100-109.
- 14 BOTAN, R. *et al.* "Correlation between water absorption and mechanical properties

- of polyamide 6 filled with layered double hydroxides (LDH)". *Mater. Res. Express*, vol. 5, 2018, p. 65004.
- 15 FERREIRA, F. *et al.* "Polymer composites reinforced with natural fibers and nanocellulose in the automotive industry : a short review". *J. Compos. Sci.*, vol. 3, 2019, p. 51.
- 16 ZHANG, L.Q. *et al.* "Simultaneous Preparation and Dispersion of Regenerated Cellulose Nanoparticles Using a Facile Protocol of Dissolution–Gelation–Isolation–Melt Extrusion". *ACS Sustain. Chem. Eng.*, vol. 4, 2016, pp. 2470-2478.
- 17 TAN, C. *et al.* "Role of surface modification and mechanical orientation on property enhancement of cellulose nanocrystals/polymer nanocomposites". *Eur. Polym. J.*, vol. 62, 2015, pp. 186-197.
- 18 THAKUR, M.K. *et al.* "Synthesis and Applications of Biodegradable Soy Based Graft Copolymers: A Review". *ACS Sustain. Chem. Eng.*, vol. 4, 2016, pp. 1-17.
- 19 FERREIRA, F.V. *et al.* "Environmentally friendly polymer composites based on PBAT reinforced with natural fibers from the amazon forest". *Polym. Compos.*, vol. 40, 2019, pp. 3352- 3360.
- 20 FERREIRA, F.V. *et al.* "Isolation and surface modification of cellulose nanocrystals from sugarcane bagasse waste: From a micro- to a nano-scale view". *Appl. Surf. Sci.*, vol. 436, 2018, pp. 1113-1122.
- 21 AZIZI SAMIR, M.A.; ALLOIN, F. & DUFRESNE, A. "Review of recent research into cellulosic whiskers, their properties and their application in nanocomposite field". *Biomacromolecules*, vol. 6, 2005, pp. 612-626.
- 22 FERREIRA, F.V. *et al.* *Functionalizing Graphene and Carbon Nanotubes: A review*. Springer International Publishing, Cham, Switzerland, 1. ed., 2016.
- 23 FERREIRA, F.V. *et al.* "An overview on properties and applications of poly(butylene adipate-*co*-terephthalate)–PBAT based composites". *Polym. Eng. Sci.*, vol. 59, 2017, pp. E7-E15.
- 24 FERREIRA, F.V. *et al.* "LDPE-based composites reinforced with surface modified cellulose fibres: 3D morphological and morphometrical analyses to understand the improved mechanical performance". *Eur. Polym. J.*, vol. 117, 2019, pp. 105-113.
- 25 PINHEIRO, I.F. *et al.* "Mechanical, rheological and degradation properties of PBAT

- nanocomposites reinforced by functionalized cellulose nanocrystals". *Eur. Polym. J.*, vol. 97, 2017, pp. 356-365.
- 26 GRISHKEWICH, N. *et al.* "Recent advances in the application of cellulose nanocrystals". *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, vol. 29, 2017, pp. 32-45.
- 27 MARIANO, M.; EL KISSI, N. & DUFRESNE, A. "Cellulose nanocrystals and related nanocomposites: Review of some properties and challenges". *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.*, vol. 52, 2014, pp. 791-806.
- 28 FERREIRA, F.V. *et al.* "Silver nanoparticles coated with dodecanethiol used as fillers in non-cytotoxic and antifungal PBAT surface based on nanocomposites". *Mater. Sci. Eng. C.*, vol. 98, 2019, pp. 800-807.
- 29 FERREIRA, F.V. *et al.* "Cellulose nanocrystal-based poly(butylene adipate-co-terephthalate) nanocomposites covered with antimicrobial silver thin films". *Polym. Eng. Sci.*, vol. 59, 2019, E356-E365.
- 30 MARIANO, M.; EL KISSI, N. & DUFRESNE, A. "Structural reorganization of CNC in injection molded CNC/PBAT materials under thermal annealing". *Langmuir*, vol. 32, 2016, pp. 10093-10103.
- 31 PINHEIRO, I.F. *et al.* "Biodegradable PBAT-Based Nanocomposites Reinforced with Functionalized Cellulose Nanocrystals from Pseudobombax munguba: Rheological, Thermal, Mechanical and Biodegradability Properties ". *J. Polym. Environ.*, vol. 27, 2019, pp. 757-766.
- 32 MITTAL, G. *et al.* "A review on carbon nanotubes and graphene as fillers in reinforced polymer nanocomposites". *J. Ind. Eng. Chem.*, vol. 21, 2015, pp. 11-25.
- 33 COLEMAN, J.N. *et al.* "Small but strong: a review of the mechanical properties of carbon nanotube-polymer composites". *Carbon*, vol. 44, 2006, pp. 1624-1652.
- 34 FERREIRA, F.V. *et al.* "How do cellulose nanocrystals affect the overall properties of biodegradable polymer nanocomposites: A comprehensive review". *Eur. Polym. J.*, vol. 108, 2018, pp. 274-285.
- 35 FERREIRA, F.V. *et al.* "Functionalized cellulose nanocrystals as reinforcement in biodegradable polymer nanocomposites". *Polym. Compos.*, vol. 39, 2018, pp. E9-E29.

- 36 CALLISTER, W.D. *Materials Science and Engineering: An Introduction*. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, vol. 26, 1991.
- 37 NETO, F.L. & PARDINI, L.C. *Compósitos Estruturais*, Edgar Blucher, 1. ed., São Paulo, SP, 2006.
- 38 BANHEGYI, G. "Comparison of electrical mixture rules for composites". *Colloid Polym. Sci.*, vol. 264, 1986, pp. 1030-1050.
- 39 TORQUATO, S. "Modeling of physical properties of composite materials". *Int. J. Solids Struct.*, vol. 37, 2000, pp. 411-42.
- 40 CHENG, Y. *et al.* "Modeling and simulation for effective permittivity of two-phase disordered composites". *J. Appl. Phys.*, vol. 103, 2008, pp. 34111.
- 41 GUITIÉRREZ, M.C. "Biocompósitos de acetato de celulose e fibras curtas de Curauá". Tese (Doutorado em Química), Universidade Estadual de Campinas, 2011.
- 42 JOSHI, S. *et al.* "Are natural fiber composites environmentally superior to glass fiber reinforced composites? Compos A". *Compos. Part A Appl. Sci. Manuf.*, vol. 35, 2004, pp. 371-376.
- 43 PROGELHOF, R.C.; THRONE J.L. & RUETSCH, R.R. "Methods for predicting the thermal conductivity of composite systems: A review". *Polym. Eng. Sci.*, vol. 16, 1976, pp. 615-625.
- 44 TU, S.T. *et al.* "Numerical Simulation of Saturation Behavior of Physical Properties in Composites With Randomly Distributed Second-Phase". *J. Compos. Mater.*, vol. 39, 2005, pp. 617-631.
- 45 WALPOLE, L.J. "Elastic behaviour of composite materials: Theoretical foundations". *Adv. Appl. Mech.*, vol. 21, 1981, pp. 169-242.
- 46 AFFDL, J.C.H. & KARDOS, J.L. "The Halpin-Tsai equations: A review". *Polym. Eng. Sci.*, vol. 16, 1976, pp. 344-352.
- 47 THOSTENSON, E.T. & CHOU, T.-W. "On the elastic properties of carbon

nanotube-based composites: modelling and characterization". *J. Phys. D. Appl. Phys.*, vol. 36, 2003, pp. 573-582.

- 48 RAJU, B.; HIREMATH, S.R. & ROY MAHAPATRA, D. "A review of micromechanics based models for effective elastic properties of reinforced polymer matrix composites". *Compos. Struct.*, vol. 204, 2018, pp. 607-619.
- 49 MORTAZAVIAN, S. & FATEMI, A. "Effects of Fiber Orientation and Anisotropy on Tensile Strength and Elastic Modulus of Short Fiber Reinforced Polymer Composites". *Compos. Part B Eng.*, vol. 72, 2015, pp. 116-129.
- 50 HINE, P.J.; RUDOLF LUSTI, H. & GUSEV, A.A. "Numerical simulation of the effects of volume fraction, aspect ratio and fibre length distribution on the elastic and thermal properties of short fibre composites". *Compos. Sci. Technol.*, vol. 62, 2002, pp. 1445-1453.
- 51 FAVIER, V.; CHANZY, H. & CAVAILLE, J.Y. "Polymer Nanocomposites Reinforced by Cellulose Whiskers". *Macromolecules*, vol. 28, 1995, pp. 6365-6367.
- 52 FAVIER, V. *et al.* "Mechanical percolation in cellulose whisker nanocomposites". *Polym. Eng. Sci.*, vol. 37, 1997, pp. 1732-1739.
- 53 BERHAN, L. & SAstry A.M. "Modeling percolation in high-aspect-ratio fiber systems. I. Soft-core versus hard-core models". *Phys. Rev.*, vol. E 75, 2007, p. 41120.
- 54 BUNDE, A. & DIETERICH, W. "Percolation in Composites". *J. Electroceramics*, vol. 5, 2000, pp. 81-92.
- 55 STAUFFER, D. & AHARONY, A. *Introduction To Percolation Theory*. CRC Press, Taylor & Francis, Boca Raton, Flórida, EUA, 2. ed., 1994, pp. 192.
- 56 SAPKOTA, J. *et al.* "A refined model for the mechanical properties of polymer composites with nanorods having different length distributions". *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 134, 2017, pp. 1-6.

- 57 SAPKOTA, J. *et al.* "Influence of Processing Conditions on Properties of Poly (Vinyl acetate)/Cellulose Nanocrystal Nanocomposites". *Macromol. Mater. Eng.*, vol. 300, 2015, pp. 562-571.
- 58 ALLOIN, F. *et al.* "Poly(oxyethylene) and ramie whiskers based nanocomposites: Influence of processing: Extrusion and casting/evaporation". *Cellulose*, vol. 18, 2011, pp. 957-973.

Capítulo 8

Controle de Atmosfera e Novos Materiais de Embalagem para Alimentos

Farayde Matta Fakhouri & José Ignacio Velasco

Department of Materials Science and Engineering,
Universitat Politècnica de Catalunya, Spain

8.1 Introdução

A embalagem pode conter e conservar os alimentos, acondicionando-os e protegendo-os do ambiente exterior, além de informar os consumidores sobre suas características nutricionais; mesmo os produtos mais frescos e não embalados poderão necessitar de um recipiente ou embalagem para serem transportados. Sendo assim, a embalagem, além de suas funções básicas, mantém, preserva e viabiliza o transporte de produtos alimentícios. Ao longo da história, a embalagem teve grande importância para o desenvolvimento do comércio e das cidades^[1], e continua em constante evolução e aperfeiçoamento. As embalagens também podem ser elaboradas com novos materiais, considerados sustentáveis e ou/biodegradáveis, podendo interagir de forma ativa ou passiva com o alimento, visando prolongar sua vida útil.

As embalagens surgiram há milhares de anos, em virtude da necessidade de armazenamento e/ou transporte de alimentos e água durante viagens à procura de locais com maior riqueza de alimentos. Desde então, diversos materiais vêm sendo utilizados para atuar como embalagens, dentre eles folhas de plantas, estômago de animais, pedaços de bambu ou árvores e chifres de animais. Com o passar do tempo e o surgimento de novos processos industriais, a fabricação de embalagens acompanhou essa evolução, surgindo sacolas de tecido ou plástico, caixas de madeira, cerâmica, vidro, papel e alumínio.

Define-se embalagem como recipiente capaz de armazenar ou acondicionar produtos por determinado período de tempo, individualmente ou em grupos. Sua principal função está em proteger o produto do ambiente externo, garantindo assim um maior *shelf life*.

life. Além disso, deve ser capaz de facilitar a distribuição, a identificação e o consumo dos produtos.^[2,3]

As embalagens para alimentos classificam-se de acordo com a sua aplicação, podendo ser: primária, aquela que estará em contato direto com o alimento; secundária, aquela que estará em contato direto com a embalagem primária, capaz de facilitar o transporte do produto; e terciária, que é a embalagem de transporte.^[3]

Tradicionalmente, os materiais de embalagens constituem-se como barreiras inertes, sem interação com os alimentos. Nesse contexto, os polímeros utilizados para elaboração de embalagens são: Polietileno (PE), Polipropileno (PP), Poli(cloreto de vinila) ou PVC, Poliestireno (PS) e Poli(etileno tereftalato) ou PET. Atualmente, porém, com a tendência do consumidor a uma maior preocupação ambiental quanto ao descarte de materiais não biodegradáveis, provenientes de recursos não renováveis, alguns polímeros naturais e biodegradáveis também têm sido utilizados para elaboração de embalagens, entre eles: Poli(ácido lático) ou PLA, Polihidroxialcanoatos (PHAs), Amido, Celulose, Quitina, Quitosana, além de proteínas, como colágeno, proteína do soro do leite e proteína de soja. Além disso, hoje em dia as embalagens podem interagir, de maneira benéfica, com os alimentos e o consumidor, de forma inteligente, ativa ou atuando como modificadores de atmosfera.

Segundo Gontard,^[4] uma embalagem ativa, além de proteger o alimento, interage com o produto e, em alguns casos, responde realmente às alterações causadas no produto. Entre as aplicações de embalagens ativas podem ser considerados os sistemas de atmosfera modificada, absorvedores de O₂, sistemas enzimáticos, sistemas químicos, sistemas fotoquímicos, controle dos níveis de etileno, redução dos níveis de umidade, liberação de etanol, liberação de aditivos, incorporação de enzimas, sistemas monitoradores de temperatura, absorção de radiação, absorção de sabores e odores desagradáveis e preservação da cor.^[5]

8.2 Embalagens Ativas

Estudos com embalagens ativas se iniciaram na década de 1970, porém essa tecnologia ainda é pouco explorada pela indústria de alimentos e bebidas, visto que há uma

gama de possibilidades de aplicação desse sistema de embalagem. Este se define como embalagens capazes de prolongar o *shelf life* (tempo de prateleira), manter ou melhorar as características do alimento embalado. Para isso, esse sistema deve ser capaz de liberar ou absorver intencionalmente substâncias do alimento ou da atmosfera ao redor do produto. Atualmente, encontram-se no mercado diversos alimentos que utilizam esse tipo de embalagem (Tabela 1), porém muitos estudos ainda são necessários para ampliação de seu uso com outros alimentos.

Tabela 1. Exemplos de alimentos que utilizam sistemas de embalagens ativas.^[6]

Aplicação em produtos	Embalagem ativa
Produtos de panificação (pães e bolos)	Absorvedores de O ₂ ou emissores de CO ₂ ou de etanol
Alimentos preparados (sanduíches, pizzas, alimentos desidratados, carnes e peixes curados)	Absorvedores de O ₂ ou emissores de CO ₂
Café e produtos à base de leveduras	Absorvedores de CO ₂
Frutas e hortaliças	Absorvedores de etileno ou de umidade ou de odores
Carnes, frango, peixes	Absorvedores de umidade ou de odores

A utilização de absorvedores e/ou emissores é mais difundida na indústria de alimentos, porém os sistemas de embalagens ativas podem ser classificados em vários tipos, dependendo de suas características (Figura 1). Estudos sobre a interação das embalagens ativas com os diferentes produtos embalados são fundamentais para garantir a segurança do consumidor.

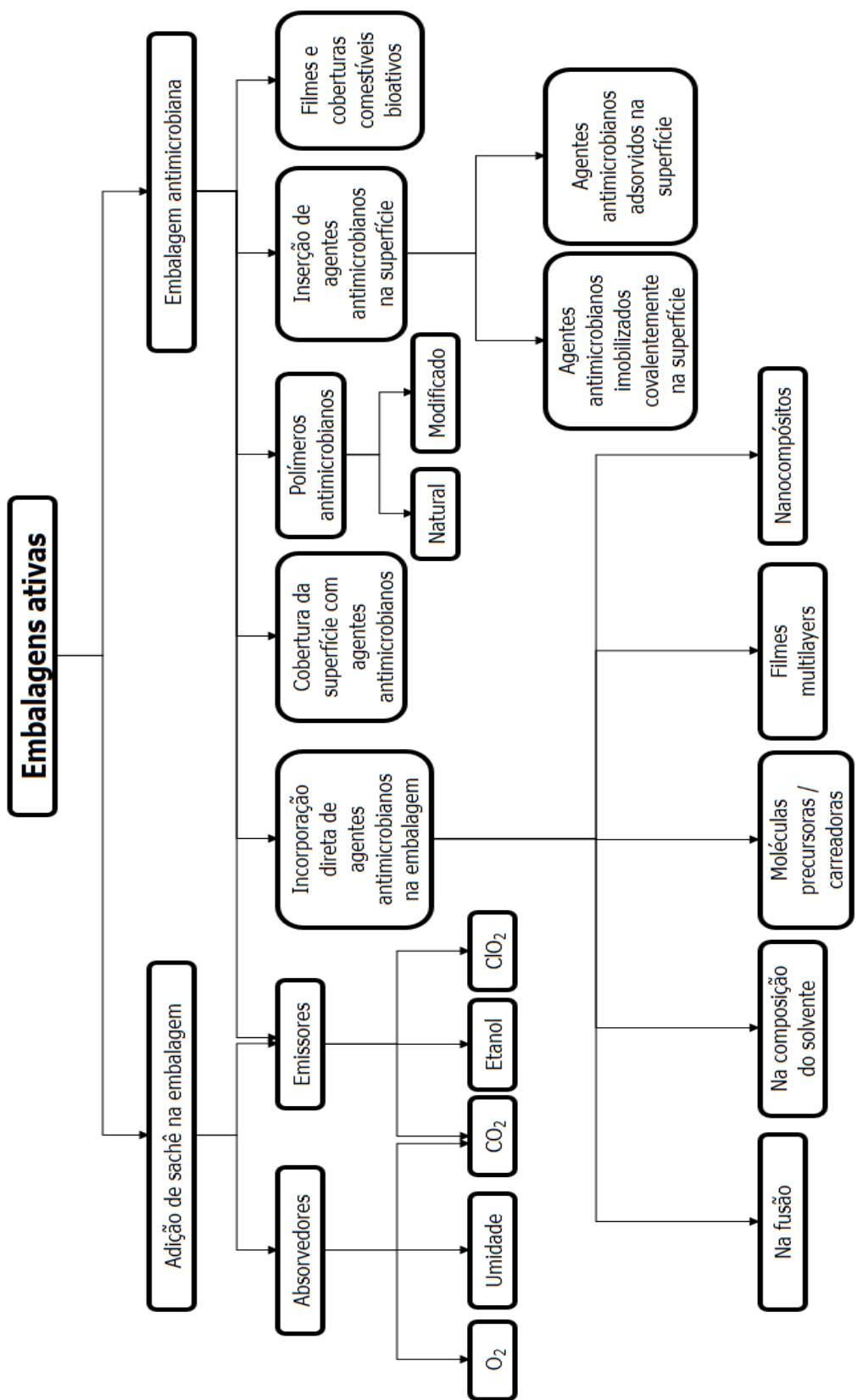


Figura 1: Classificação dos diferentes sistemas de embalagem ativa.^[7]

Pesquisadores como Hashemi *et al.*^[8] desenvolveram embalagens ativas à base de amido com extrato de avenca (*Adiantum capillus-veneris*) e aplicaram em Peras minimamente processadas. De acordo com eles, a adição do extrato garantiu uma característica antimicrobiana à embalagem (antibacteriano e antifúngico), o que contribuiu para o aumento do *shelf life* do produto. Outros como Eskandarinia *et al.*^[9] utilizaram extrato de própolis na composição das embalagens e verificaram aumento significativo na capacidade antimicrobiana das mesmas quando a concentração de extratos nas embalagens aumentou, indicando a capacidade desta em estender o *shelf life* dos produtos a serem embalados. Assim sendo, pode-se destacar a utilização de extratos ou produtos de origem natural para atuarem como agentes ativos nas embalagens plásticas, visando assim à substituição de compostos sintéticos por naturais nesses sistemas. Essas substituições podem contribuir para obtenção de embalagens mais sustentáveis, além de impactar a saúde dos consumidores. Dessa maneira, a adição de compostos naturais pode ser considerada uma área de estudo promissora para a indústria de alimentos.

8.3 Atmosfera modificada e controlada

Após a colheita, frutas e hortaliças frescas continuam seus processos metabólicos, consumindo oxigênio e gerando dióxido de carbono e vapor de água; assim sendo, o uso de atmosfera modificada pode ajudar a prolongar a vida de prateleira desses alimentos. Essa técnica consiste, segundo Meneses *et al.*,^[10] em embalar os produtos alimentícios com materiais que formam barreira à difusão de gases. O controle da atmosfera pode ser realizado de forma ativa ou passiva, objetivando diminuir a taxa de respiração e, assim, reduzir o crescimento microbiano, retardar a deterioração enzimática e aumentar a vida útil de um produto alimentício.

Muitos alimentos nutricionalmente ricos são também ricos em pigmentos naturais, como clorofitas, carotenoides e antocianinas, bem como pigmentos formados em reações enzimáticas e não enzimáticas. Segundo Marshall *et al.*,^[11] tais pigmentos naturais influenciam as mudanças de cor e o escurecimento em frutas e hortaliças. O escurecimento pode ocorrer em virtude da presença de enzimas, como as polifenoloxidases, que, segundo Simões,^[12] catalisam a oxidação de compostos fenólicos, produzindo pigmentos escuros em cortes ou superfícies danificadas de frutas e hortaliças. É importante esclarecer que o

escurecimento enzimático não ocorre em células intactas, pois, nestas, os compostos fenólicos estão separados da enzima e somente quando o tecido é danificado pelo corte, a enzima entra em contato com seu substrato e a formação de pigmentos escuros ocorre, favorecida pela exposição ao oxigênio.^[11]

O controle do escurecimento enzimático pode ser feito através de métodos químicos, físicos ou físico-químicos, que envolvem a redução da temperatura, a inativação térmica da enzima e, entre outros, o uso de atmosfera modificada e embalagens ativas. Oliveira *et al.*^[13] estudaram embalagens ativas para maçãs cortadas, a fim de avaliar o efeito do uso de embalagem ativa incorporada com cisteína e sulfitonas na inibição do escurecimento enzimático dessas maçãs. Para tanto, os autores elaboraram filmes à base de polímero celulósico, incorporados de sulfito e cisteína, depositados pela técnica de *casting* sobre um filme de Poli(cloreto de vinila) ou PVC. As maçãs foram envolvidas nesses filmes e os autores estudaram a mudança de cor ao longo do armazenamento, concluindo que os tratamentos utilizados com sulfito ou com cisteína foram eficientes em conservar as maçãs, inibindo o escurecimento enzimático em comparação ao lote controle.

Outro fator determinante na vida de prateleira de frutas e vegetais é a respiração. Embalagens modificadas tendem a fazer um controle da atmosfera gasosa que envolve o produto. Essa modificação pode ser efetuada de forma passiva, com a utilização de filmes poliméricos com barreira ao oxigênio, ou de forma ativa com o controle gasoso feito por modificação da atmosfera através da adição de gases no entorno do alimento.

Entre os filmes poliméricos convencionais utilizados para a modificação passiva da atmosfera, o polietileno de baixa densidade (PEBD) é muito utilizado, pois apresenta permeabilidade seletiva a gases emitidos durante a estocagem de alimentos, auxiliando, segundo Pinto *et al.*^[14] na minimização da transpiração de frutas e hortaliças. O PEBD já foi utilizado com bom desempenho na preservação de mamão papaia^[15], na preservação de goiabas^[16] e em bananas, por exemplo.^[17] Um polímero ativo (Xtend®) que possui permeabilidade seletiva ao O₂/CO₂ para acondicionamento de frutas cítricas^[18], goiabas^[19] e mangas também foi utilizado.^[20] Embalagens à base desse polímero estão sendo muito usadas atualmente para diferentes frutas e hortaliças, como cerejas, maçãs e espargos.

Pesquisadores, como Pinto *et al.*^[14], estudaram a utilização de PEBD e Xtend® para acondicionamento de mamão (*Carica papaya L.*) durante 32 dias, sob refrigeração (10 °C) e concluíram que a atmosfera modificada por filmes de PEBD e Xtend®-PP7 alterou a atividade metabólica do mamão cv. Golden, minimizando o amolecimento inicial e reduzindo a concentração de ácidos orgânicos durante todo o período estudado. Segundo os autores, o filme Xtend® apresentou menor difusividade ao O₂ do que o filme de PEBD.

Segundo Santos & Oliveira,^[21] a embalagem modificada pode ser aplicada a diferentes alimentos, como os alimentos minimamente processados, os vegetais frescos, as carnes, os peixes, além de produtos lácteos e de panificação. Segundo os mesmos autores, é possível prolongar o período de vida útil desses itens por várias semanas. No entanto, por causa da natureza perecível dos produtos frescos, o controle e a manutenção da temperatura de refrigeração são essenciais durante todo o processamento, passando pela distribuição, armazenamento e comercialização.

A substituição da atmosfera natural que rodeia o alimento por uma mistura de gases de composição conhecida pode ser otimizada para cada produto, conforme Philips^[22]. A mistura pode ser planejada em diferentes proporções, sendo que os gases mais utilizados são o dióxido de carbono (CO₂), o oxigênio (O₂) e o nitrogênio (N₂) para evitar que ocorra o colapso da embalagem, em razão da grande solubilidade do CO₂ nos alimentos com maior teor de umidade. A razão entre volume de gases utilizados e produto deve ser de 2:1 ou 3:1.

A técnica de atmosfera modificada é amplamente utilizada na embalagem de alimentos frescos ou minimamente processados, com o propósito de aumentar o *shelf life* destes produtos. Assim, ar presente junto do alimento é substituído por uma composição gasosa predeterminada.^[23]

Os primeiros estudos com a aplicação de atmosfera modificada em alimentos são datados da década de 1930.^[24] Ogilvy & Ayres^[25] verificaram que o aumento da concentração de CO₂ no armazenamento de porções de frango prolongava de maneira significativa seu *shelf life*. Com isso, os pesquisadores começaram a estudar cada vez mais essa técnica. No entanto, essa tecnologia chega ao mercado apenas na década de 1970, como embalagens para carnes frescas. Desde então, essa tecnologia vem sendo amplamente estudada para aplicação em outros produtos, como frutas, hortaliças, pescados e queijos.

A mistura de gases utilizados no processo sofre influência de alguns fatores, como temperatura de armazenamento, tipo de produto e materiais de embalagem.^[26] Os gases mais comuns para este sistema são o oxigênio (O_2), o dióxido de carbono (CO_2) e o nitrogênio (N_2), porém outros gases podem ser utilizados. Alguns alimentos apresentam uma composição gasosa conhecida para garantir sua integridade durante seu *shelf life*, conforme mostra a Tabela 2.

Tabela 2: Recomendação de composição gasosa para frutas e hortaliças minimamente processadas e armazenadas sob atmosfera modificada.^[27]

Produto	Temperatura (°C)	Atmosfera	
		O_2 (%)	CO_2 (%)
Abobrinha fatiada	5	0,25 – 1,0	-
Alface picada	0 – 5	1,0 – 3,0	5,0 – 10,0
Alho-poró fatiado	0 – 5	5,0	5,0
Batata descascada fatiada ou não	0 – 5	1,0 – 3,0	6,0 – 9,0
Brócolis	0 – 5	2,0 – 3,0	6,0 – 7,0
Caqui fatiado	0 – 5	2,0	12,0
Cebola fatiada ou picada	0 – 5	2,0 – 5,0	10,0 – 15,0
Cenoura cortada	0 – 5	2,0 – 5,0	15,0 – 20,0
Cogumelos fatiados	0 – 5	3,0	10,0
Espinafre lavado	0 – 5	0,8 – 3,0	8,0 – 10,0
Kiwi fatiado	0 – 5	2,0 – 4,0	5,0 – 10,0

Laranja fatiada	0 – 5	14,0 – 21,0	7,0 – 10,0
Maçã fatiada	0 – 5	<1,0	-
Melão em cubos	0 – 5	3,0 – 5,0	6,0 – 15,0
Morango fatiado	0 – 5	1,0 – 2,0	5,0 – 10,0
Pera fatiada	0 – 5	0,5	<10,0
Pêssego fatiado	0	1,0 – 2,0	5,0 – 12,0
Pimentão picado	0 – 5	3,0	5,0 – 10,0
Repolho cortado	0 – 5	5,0 – 7,5	15,0
Sementes de romã	0 – 5	-	15,0 – 20,0
Tomate fatiado	0 – 5	3,0	3,0

Com sua aplicação em diversos produtos frescos, esse método sofre grande variação em função dos produtos embalados, visto que cada um apresenta necessidades específicas de conservação e armazenamento. A embalagem em atmosfera modificada poderá causar redução da atividade respiratória, retardamento do amolecimento ou amadurecimento, retardamento do crescimento microbiano e redução de distúrbios fisiológicos dos produtos.^[28]

Atualmente, filmes e coberturas elaboradas com polímeros provenientes de fontes naturais vêm sendo utilizados no acondicionamento de diferentes gêneros alimentícios com o objetivo de aumentar a vida útil desses produtos; para tanto, os filmes e coberturas comestíveis devem funcionar como barreira ao vapor de água e ao oxigênio.

Coberturas comestíveis podem ser definidas como membranas semipermeáveis aplicadas em produtos alimentícios, compostas por uma macromolécula, um agente

plasticante, ajustador de pH (se necessário), solvente e aditivos (se necessário, como aditivos funcionais, agentes antimicrobianos, etc.), tendo efeito de uma atmosfera modificada de forma passiva. A cobertura comestível pode ser aplicada por imersão, aspersão ou por moldagem. Em frutas e hortaliças, a forma mais recomendada de cobertura é a técnica por imersão, onde o produto será imerso em uma solução filmogênica. Com o controle do tempo de imersão e a viscosidade da solução, é possível determinar a espessura da cobertura aplicada ao vegetal, sendo mais eficiente, uma vez que os vegetais não possuem uniformidade. Todo o processo deve ser feito de forma suave, em condições higiênicas, de forma a diminuir a transferência de gases e umidade, evitando a fermentação do fruto por anaerobiose e possível contaminação microbiana. Além da conservação da fruta, as coberturas comestíveis não produzem resíduos e não causam nenhum efeito prejudicial ao meio ambiente^[29], sendo assim consideradas uma tecnologia totalmente sustentável.

Diversos estudos vêm sendo desenvolvidos com a utilização de coberturas em frutos para aumentar o *shelf life*, tais como de tamarindo^[30], uvas^[31], acerola^[32], frutas vermelhas^[33], physalis^[34], manga^[35] e cerejas^[36], entre outras.

Alguns exemplos de polímeros mais comumente utilizados na elaboração de filmes e coberturas comestíveis são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3: Polímeros provenientes de fontes renováveis utilizados na elaboração de filmes e coberturas comestíveis.^[37]

Polímeros de fontes renováveis	Referências
Gelatina	[38, 39, 40, 41, 42]
Colágeno	[43, 44, 45, 46, 47]
Quitosana	[48, 49, 50, 51, 52]
Proteína do Soro do Leite	[53, 54, 55, 56, 57]
Proteína de Soja	[58, 59, 60, 61, 62]

Amido	[9, 63, 64, 65, 66]
Alginato	[67, 68, 69, 70, 71]
Isolado Proteico de Soja	[72, 59, 60, 61, 73]
Pectina	[74, 72, 75, 76, 77]

Mativityahu *et al.*^[78] estudaram três cultivares de romã armazenados sob atmosfera controlada (2 kPa de O₂ + 5 kPa de CO₂) a 7 °C e verificaram uma melhor performance nesta condição, em comparação às frutas não armazenadas em atmosfera controlada. Ademais, os autores perceberam comportamentos diferentes dos frutos em função do cultivar na condição não controlada; porém, em condições controladas foi possível obter maior uniformidade e qualidade do produto, independentemente do cultivar estudado.

O armazenamento em atmosfera controlada é capaz de manter as características físicas e químicas dos alimentos. De acordo com Pegoraro *et al.*^[79], kiwis mantidos em atmosfera controlada (3 kPa de O₂ + 5 kPa de CO₂), a 20 °C e com umidade relativa entre 75-80%, mantêm-se firmes por mais tempo, quando comparados àqueles que não foram armazenados em atmosfera controlada. Além disso, Ali *et al.*^[80] verificaram que lichias pré-tratadas com metionina e cisteína tiveram menor escurecimento, resultado associado à tecnologia de controle da atmosfera. Portanto, esse sistema de embalagem de alimentos apresenta grande potencial de aplicação na indústria de alimentos e deve ser mais explorado por pesquisadores.

8.3.1 Embalagens a vácuo

Segundo Guerra,^[81] a embalagem a vácuo pode ser considerada a primeira técnica utilizada comercialmente para proteger alimentos. Quando o vácuo é realizado de forma efetiva, o oxigênio presente no interior da embalagem é inferior a 1%. Segundo o mesmo autor, o material da embalagem adere ao alimento durante o processo; isso ocorre devido ao decréscimo da pressão interna em relação à pressão atmosférica.

Nesse tipo de embalagem, é muito importante a característica de barreira a gases e ao vapor de água do polímero, bem como a resistência do material, uma vez que será aplicado o vácuo. Segundo Mergen,^[82] para se obter uma barreira mais eficiente em relação à permeação de gases, podem-se utilizar filmes multicamadas. Isto é comum, uma vez que os materiais plásticos apresentam porosidade e espaços intermoleculares que podem permitir uma mínima permeação através dos filmes. Ainda que mínima, a porosidade será significante e responsável pelo *shelf life* do produto.

A composição das camadas de um filme de barreira varia de acordo com diferentes fatores, como máxima eficiência de barreira ao oxigênio e tipo de produto a ser embalado. Segundo Mergen,^[82] isso é alcançado usando-se a Poliamida 6,6 (Nylon), além de outros materiais também normalmente utilizados, como o EVOH (poli(etileno-co-álcool vinílico)), o PVDC (copolímero de cloreto de vinila e cloreto de vinilideno) e o PET (Poli (tereftalato de etileno)).

Segundo Iglesias *et al.*,^[83] a embalagem a vácuo apresenta diversas vantagens em relação a outros métodos de embalagem modificada:

- i) Método simples e econômico, pois não há utilização de gases;
- ii) A baixa concentração de oxigênio no interior da embalagem inibe o crescimento de microrganismos aeróbicos e as reações de oxidação, favorecendo a retenção de compostos voláteis responsáveis pelo aroma;
- iii) Impede queimaduras pelo frio, a formação de cristais de gelo e a desidratação da superfície do alimento devido à barreira de umidade que se forma entre este e a própria embalagem.

A embalagem a vácuo é muito utilizada para estocar café, legumes e cereais, entre outros, já prontos para consumo ou pré-cozidos. A desvantagem apontada por Iglesias *et al.*^[83] é que esse tipo de embalagem não deve ser recomendado para produtos de textura frágil e de formas irregulares, cuja apresentação visual é de grande importância para a comercialização do produto. Em alguns alimentos, após o período de armazenamento, também pode ser observado acúmulo de exsudado e em alguns casos, como da carne

vermelha, pode ocorrer alteração na cor do produto. Lembramos que para manter a coloração original, a carne vermelha necessita de certa quantidade de oxigênio que não é obtida durante o armazenamento a vácuo, causando uma alteração de cor que pode não agradar ao consumidor. Além disso, pode ocorrer a formação excessiva de rugas no material de embalagem, durante a aplicação de vácuo, dificultando a visualização do produto e tornando pouco agradável sua aparência ao consumidor. De acordo com Jeyasekaran *et al.*,^[84] produtos de pesca embalados a vácuo e refrigerados apresentam um *shelf life* de 8-15 dias, dependendo da espécie e das condições de armazenamento.

8.4 Embalagens inteligentes

Embalagens inteligentes consistem em sistemas de sensores, que tornam possível a comunicação com o consumidor por meio de informações relacionadas à qualidade e à segurança do produto, tais como condições do alimento acondicionado ou do ambiente externo à embalagem.^[85,86,87] Entre os sensores para alimentos, destacam-se os indicadores de temperatura. Um dos trabalhos nesta linha é o de Maciel *et al.*,^[85] que desenvolveram um novo material de embalagem com potencial de aplicação como indicador colorimétrico de temperatura. Esse indicador, obtido a partir de filmes de quitosana aplicados como revestimento em papel-cartão contendo clorofila, foi projetado para a faixa de 50 °C a 75 °C. O sistema alterou a cor irreversivelmente, de verde para amarelo, quando exposto nessa faixa de temperatura.

A manutenção da temperatura é de extrema importância para a indústria de alimentos e, entre outros atributos de qualidade, ajuda a manter a sua coloração natural, uma vez que alguns pigmentos naturais presentes no alimento são termossensíveis.

Outro sistema inteligente consiste no uso de um selo, conhecido como Bump Mark, encontrado no mercado internacional. Esse selo, quando colocado na embalagem, degrada na mesma velocidade que o alimento a ser protegido. Ou seja, quando o produto fica impróprio para consumo, a superfície do selo passa por uma alteração de textura, passando de liso a enrugado, alertando o consumidor.

Peras *Anjou* acondicionadas em embalagem inteligente (Fresh Anjou) possuem um indicador de cor; assim, a cor vermelha (quando a pera está crocante e dura) muda para laranja (quando a pera está firme com um sabor mais frutado) e finalmente para amarelo

(quando a pera está suculenta e macia). Com esse indicador de cor, o consumidor pode escolher o estágio de maturação em que quer consumir a fruta.

As embalagens inteligentes auxiliam os consumidores, que podem ter um consumo mais eficiente, diminuindo o desperdício de alimentos.

8.5 Mercado

Atualmente várias iniciativas públicas estão fomentando e reforçando a diminuição do uso de materiais plásticos convencionais em diferentes setores industriais. No Brasil, o Brasil Pack Trends 2020, publicado pelo ITAL (Instituto de Tecnologia de Alimentos) identificou cinco objetivos principais para a indústria de embalagens, sendo: i) conveniência e simplicidade, ii) estética e identificação, iii) qualidade e novas tecnologias, iv) sustentabilidade e ética e v) seguridade e regulamentação^[88].

Apesar das excelentes características dos plásticos provenientes de fontes fósseis, como baixo custo e propriedades físicas e de barreiras excelentes, apenas 10% de todo o plástico utilizado é reciclado, sendo 40% das embalagens plásticas produzidas destinadas a um único uso^[89], 80% são destinados a lixões, provocando contaminação ambiental, e os 10% que são incinerados contaminam o ar com a emissão de gás carbônico. Além desses dados alarmantes, uma vez que o plástico convencional leva cerca de 500 anos para ser degradado, 10% do plástico está sendo depositado nos oceanos, num total de 8 milhões de plásticos por ano (esses constituídos, em sua maior parte, por embalagens).

Como a vida moderna e o progresso estão também relacionados com a facilidade de consumo, os bens consumíveis vêm embalados, o que contribui para o aumento da utilização de plásticos convencionais. Políticas públicas incentivando a reciclagem, a reutilização dos plásticos convencionais e agora a utilização de biopolímeros têm sido mais frequentes no Brasil e no mundo.

A Comissão Europeia tem, entre outras medidas, o lançamento da “economia circular para os plásticos”, onde há incentivo de pesquisas e inovações referentes a esse tema tão preocupante e alarmante. Alguns países, como os da Grã-Bretanha e a França, estão com políticas públicas severas em relação ao tema do descarte de materiais não

biodegradáveis no meio ambiente. A França, por exemplo, tem por objetivo reciclar 100% de todos os plásticos utilizados até 2025.

A outra linha de incentivo é o uso de bioplásticos. Alguns materiais como o bio-PE e o bio-PET já estão sendo utilizados como substitutos do PE e PET convencionais. Em se tratando de biopolímeros procedentes de biomassa e biodegradáveis, o amido, o PLA e o PHA têm sido muito utilizados para tentar substituir os poliestirenos e polietilenos, com as mesmas tecnologias de produção de embalagens que os plásticos convencionais, como extrusão e termoconformação. Com isso, a estimativa é que o mercado dos bioplásticos cresça em um ritmo de 25% nos próximos anos.^[89]

Vários grupos de pesquisas nacionais e internacionais têm se dedicado a estudar a produção de materiais biodegradáveis, como os da Universidade Estadual de Campinas e da Universidade Politécnica da Catalunha, com estudos de embalagens à base de amido e outros biopolímeros; os da Embrapa, com a produção de filmes à base de frutas por casting contínuo; os da Universidade de Bath num estudo promissor sobre um polímero baseado em açúcar e dióxido de carbono; os da Universidade de Nebraska-Lincoln, com estudos avançados sobre queratina; e uma equipe de investigadores de Eurecat que está produzindo monômeros de ácido láctico para produzir PLA a partir de resíduos agroindustriais, num excelente exemplo de economia circular.

8.6 Referências

1. MESTRINER, F. *Design de embalagem curso básico*. Makron Books, São Paulo, 2002.
2. FELLOWS, P.J. *Tecnologia do processamento de alimentos: princípios e prática*. 2. Ed., Artmed, Porto Alegre, RS, 2006.
3. KOTLER, P. & KELLER, K.L. *Administração de marketing*. 14. Ed., Pearson Education do Brasil, São Paulo, SP, 2012.
4. GONTARD, N.; GUILBERT, S. & CUQ, J.L. “Edible wheat gluten films: influence of the main process variables on film properties using response surface methodology”. *J. Food Sci.*, vol. 57, 1992, pp. 190-199.

5. AZEREDO, H.M.C.; FARIA, J.A.F. & AZEREDO, A.M.C. “Embalagens ativas para alimentos”. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, vol. 20, 2000, pp. 337-341.
6. DAY, B.P.F. & POTTER, L. “Active packaging”. In: COLES, R. & KIRWAN, M., Eds. *Food and beverage packaging technology*, Wiley-Blackwell, New Delhi-India, 2011, pp. 251-262.
7. KARAN, L. *et al.* “Study of surface interactions between peptides, materials and bacteria setting up antimicrobial surfaces and active food packaging”. *J. Mater. Environ. Sci.*, vol. 4, 2013, pp. 798-821.
8. HASHEMI, S.M.B. *et al.* “Evaluation of a starch-based edible film as carrier of *Adiantum capillus-veneris* extract to improve the shelf life of fresh-cut pears”. *J. Food Saf.*, vol. 36, 2016, pp. 291-298.
9. ESKANDATINIA, A. *et al.* “Physicochemical, antimicrobial and cytotoxic characteristics of corn starch film containing propolis for wound dressing”. *J. Polym. Environ.*, vol. 26, 2018, pp. 3345-3351.
10. OSPINA-MENEZES, S.M. & CARTAGENA-VALENZUELA, J.R. “La atmosfera modificada: uma alternativa para la conservación de los alimentos”. *Rev. Lasall. Invest.*, vol. 5, 2008, pp. 112-123.
11. MARSHALL, M.R.; KIM, J. & WEI, C.I. *Enzymatic browning in fruits, vegetables and seafoods*, 2000.
12. SIMÕES, A.N. “Alterações químicas e atividade de enzimas em folhas de couve inteiras e minimamente processadas”. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal), Universidade Federal de Viçosa, 2004.
13. OLIVEIRA, T.M. *et al.* “Active packaging use to inhibit enzymatic browning of apples”. *Semina: Ciênc. Agrár.*, vol. 29, 2008, pp. 117-128.
14. PINTO, L.K.A. *et al.* “Influência da atmosfera modificada por filmes plásticos sobre a qualidade do mamão armazenado sob refrigeração”. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, vol. 26, 2006, pp. 744-748.
15. GONZÁLEZ-AGUILAR, G.A.; BUTA, J.A. & WANG, C.Y. “Methyl jasmonate and modified atmosphere packaging (MAP) reduce decay and maintain post-harvest quality of papaya ‘Sunrise’”. *Postharvest. Biol. Tec.*, vol. 28, 2003, pp. 361-370.

16. JACOMINO, A.P. *et al.* "Evaluation of plastic packages for Guava refrigerated preservation". *Packag. Technol. Sci.*, vol. 14, 2001, pp. 11-19.
17. JIANG, Y.; JOYCE, D.C. & MACNISH, A.J. "Extension of the shelf life of banana fruit by 1-methylcyclopropene in combination with polyethylene". *Postharvest. Biol. Tec.*, vol. 16, 1999, pp. 187-193.
18. PORAT, R. *et al.* "Reduction on postharvest rind disorders in citrus fruit by modified atmosphere packing". *Postharvest. Biol. Tec.*, vol. 33, 2004, pp. 35-43.
19. RODOV, V. *et al.* "Modified-atmosphere packaging improves keeping quality of Charentais-types melons". *HortScience*, vol. 37(6), 2002, pp. 950-953.
20. PESIS, E. *et al.* "Modified atmosphere and modified humidity packaging alleviates chilling injury symptoms in mango fruit". *Postharvest. Biol. Tec.*, vol. 19, 2000, pp. 93-101.
21. SANTOS, J.S. & OLIVEIRA, M.B.P.P. "Fresh, minimally foods packaged under modified atmosphere". *Braz. J. Food Technol.*, vol. 5, 2012, pp. 1-14.
22. PHILIPS, C.A. "Review: Modified atmosphere packaging and its effects on the microbiological quality and safety of produce". *Int. J. Food Sci. Tec.*, vol. 31, 1996, pp. 463-479.
23. HINTLIAN, C.B. & HOTCHKISS, J.H. "The safety of modified atmosphere packaging: a review". *Food Technol.*, vol. 40, 1986, pp. 70-76.
24. KILLEFER, D.H. "Carbon dioxide preservation of meat and fish". *Ind. Eng. Chem. Res.*, vol. 22, 1930, pp. 140-143.
25. OGILVY, W.S. & AYRES, J.C. "Post-mortem changes in meats II. The effect of atmospheres containing carbon dioxide in prolonging the storage of cut-up chicken". *Food Technol.*, vol. 5, 1951, pp. 97-102.
26. SANDHYA. "Modified atmosphere packaging of fresh produce: current status and future needs". *LWT – Food Sci. Technol.*, vol. 43(3), 2010, pp. 381-392.
27. GORNY, J.R. "A summary of CA and MA requirements and recommendations for fresh-cut (minimally processed) fruit and vegetables". In: GORNY, J.R., Ed. *Proceedings volume 5: Fresh-cut fruits and vegetables and MAP (7th annual controlled atmosphere research conference)*, Department of Pomology, University of California Davis, Davis, CA, 1997, pp. 30-66.

28. CALEB, J.O.; OPARA, L.U. & WITTHUHN, R.C. “Modified atmosphere packaging of pomegranate fruit and arils: a review”. *Food Bioprocess. Tech.*, vol. 5, 2012, pp. 15-30.
29. FARKAS, J. “Physical methods of food preservation”. In: DOYLE, M.B., Ed. *Food microbiology: fundamentals and frontiers*, ASM Press, Washington, DC, 2007, pp. 685-712.
30. ABAD, J. *et al.* “Study of the effect of the combination of two nonconventional treatments, gamma irradiation and the application of an edible coating, on the postharvest quality of tamarillo (*Solanum betaceum* Cav.) fruits”. *Food Control.*, 2016, pp. 1-5.
31. FAKHOURI, F.M. *et al.* “Edible films and coatings based on starch/gelatin: Film properties and effect of coatings on quality of refrigerated Red Crimson grapes”. *Postharvest. Biol. Tec.*, vol. 109, 2015, pp. 57-64.
32. FERREIRA, M.S.L. *et al.* “Edible films and coatings based on biodegradable residues applied to acerolas (*Malpighia punicifolia* L.)”. *J. Sci. Food Agric.*, vol. 96, 2016, pp. 1634-1642.
33. ISHAQ, S. *et al.* “Influences of edible coating on the quality and sensory attributes of *Elaeagnus umbellata* berry fruits”. *Asian. J. Chem.*, vol. 28, 2016, pp. 703-706.
34. LICODIEDOFF, S. *et al.* “Conservation of physalis by edible coating of 200eteroa and calcium chloride”. *Int. Food Res. J.*, vol. 23, 2016, pp. 1629-1634.
35. SALINAS-ROCA, B. *et al.* “Combined effect of pulsed light, edible coating and malic acid dipping to improve fresh-cut mango safety and quality”. *Food Control.*, vol. 66, 2016, pp. 190-197.
36. CARVALHO FILHO, C.D.; HONÓRIO, S.L. & GIL, J.M. “Qualidade pós-colheita de cerejas cv. Ambrunés utilizando coberturas comestíveis”. *Rev. Bras. Frutic.*, vol. 28, 2006, pp. 180-184.
37. SILVA, L.R. “Embalagens bioativas para alimentos a base de amido de diferentes variedades de arroz”. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal da Grande Dourados, 2019.

38. FAKHOURI, F.M. *et al.* “The effect of fatty acids on the physicochemical properties of edible films composed of gelatin and gluten proteins”. *LWT – Food Sci. Technol.*, vol. 87, 2018, pp. 293-300.
39. LE, T. *et al.* “Influence of various phenolic compounds on properties of gelatin film prepared from horse mackerel *Trachurus 201eteroato* scales”. *J. Food Sci.*, vol. 83, 2018, pp. 1888-1895.
40. LI, M. *et al.* “Controlled release system by active gelatin film incorporated with β -cyclodextrin-thymol inclusion complexes”. *Food Bioproc. Technol.*, vol. 11, 2018, pp. 1695-1702.
41. NILSUWAN, K.; BENJAKUL, S. & PRODPRAN, T. “Properties and antioxidative activity of fish gelatin-based film incorporated with epigallocatechin gallate”. *Food Hydrocoll.*, vol. 80, 2018, pp. 212-221.
42. NUNES, J.C. *et al.* “Influência da nanoemulsão de óleo essencial de limão em filmes à base de gelatina”. *Quim. Nova.*, vol. 41, 2018, pp. 1006-1010.
43. ELANGO, J. *et al.* “Effect of chemical and biological cross-linkers on mechanical and functional properties of shark catfish skin collagen films”. *Food Biosci.*, vol. 17, 2017, pp. 42-51.
44. GREFTE, S. *et al.* “Impaired primary mouse myotube formation on crosslinked type I collagen films enhanced by laminin and entactin”. *Acta Biomater.*, vol. 30, 2016, pp. 265-276.
45. LI, W. *et al.* “Preparation and properties of cellulose nanocrystals reinforced collagen composite films”. *J. Biomed. Mater. Res. A*, vol. 102A, 2014, pp. 1131-1139.
46. MORENO, S. *et al.* “Biocompatible collagen films as substrates for flexible implantable electronics”. *Adv. Elettron. Mater.*, vol. 1, 2015.
47. TANG, M. *et al.* “Collagen films with stabilized liquid crystalline phases and concerns on osteoblast behaviors”. *Mater. Sci. Eng. C.*, vol. 58, 2016, pp. 977-985.
48. CONZATTI, G. *et al.* “Surface functionalization of plasticized chitosan films through PNIPAM grafting via UV and plasma graft polymerization”. *Eur. Polym. J.*, vol. 105, 2018, pp. 434-441.

49. HOMEZ-JARA, A. *Et al.* "Characterization of chitosan edible films obtained with various polymer concentrations and drying temperatures". *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 113, 2018, pp. 1233-1240.
50. LÓPEZ-MATA, M.A. *et al.* "Mechanical, Barrier and Antioxidant Properties of Chitosan Films Incorporating Cinnamaldehyde". *J. Polym. Environ.*, vol. 26, 2018, pp. 452-461.
51. SOUZA, V.G.L. *et al.* "Antioxidant migration studies in chitosan films incorporated with plant extracts". *J. Renew. Mater.*, vol. 6, 2018, pp. 548-558.
52. REMEDIO, L.N. *et al.* "Characterization of active chitosan films as a vehicle of potassium sorbate or nisin antimicrobial agents". *Food Hydrocoll.*, vol. 87, 2019, pp. 830-838.
53. ANDRADE, C.S. *et al.* "Development and characterization of multilayer films based on polyhydroxyalkanoates and hydrocolloids". *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 134(6), 2016, p. 44458.
54. ANDRADE, C.S. *et al.* "Exploiting cheese whey as co-substrate for polyhydroxyalkanoates synthesis from *Burkholderia sacchari* and as raw material for the development of biofilms". *Waste. Biomass. Valori.*, vol. 9, 2017, pp. 1-8.
55. GALUS, S. & KADZINSKA, J. "Whey protein edible films modified with almond and walnut oils". *Food Hydrocoll.*, vol. 52, 2016, pp. 78-86.
56. PICCIRILLI, G.N. *et al.* "Effect of storage conditions on the physicochemical characteristics of edible films based on whey protein concentrate and liquid smoke". *Food Hydrocoll.*, vol. 87, 2019, pp. 221-228.
57. SILVA, K.S. *et al.* "Synergistic interactions of locust bean gum with whey proteins: Effect on physicochemical and microstructural properties of whey protein-based films". *Food Hydrocoll.*, vol. 54, 2016, pp. 179-188.
58. GALUS, S. "Functional properties of soy protein isolate edible films as affected by rapeseed oil concentration". *Food Hydrocoll.*, vol. 85, 2018, pp. 233-241.
59. GONZÁLEZ, A. *et al.* "Preparation and characterization of soy protein films reinforced with cellulose nanofibers obtained from soybean by-products". *Food Hydrocoll.*, vol. 89, 2019, pp. 758-764.

60. HAN, Y.; YU, M. & WANG, L. "Preparation and characterization of antioxidant soy protein isolate films incorporating licorice residue extract". *Food Hydrocoll.*, vol. 75, 2018, pp. 13-21.
61. KANG, H. *et al.* "Physico-chemical properties improvement of soy protein isolate films through caffeic acid incorporation and tri-functional aziridine hybridization". *Food Hydrocoll.*, vol. 61, 2016, pp. 923-932.
62. MARYAM-ADILAH, Z.A. & NUR-HANANI, Z.A. "Storage stability of soy protein isolate films incorporated with mango kernel extract at different temperature". *Food Hydrocoll.*, vol. 87, 2019, pp. 541-549.
63. FAKHOURI, F.M. *et al.* "Comparative study of processing methods for starch/gelatin films". *Carbohyd. Polym.*, vol. 95, 2013, p. 681.
64. GÓMES-LÚRIA, D.; VERNON-CARTER, E.J. & ALVAREZ-RAMIREZ, J. "Films from corn, wheat, and rice starch ghost phase fractions display overall superior performance than whole starch films". *Starch.*, vol. 69, 2017, pp. 1-11.
65. GUIMARÃES, I.C. *et al.* "Filme comestível à base de amido e micro/nanofibrilas de celulose de cenoura prolonga a vida útil de cenoura minimamente processada". *Bol. C. Pesq. Process. Aliment.*, vol. 34, 2016, pp. 85-110.
66. LUCHESE, C.L. *et al.* "Impact of the starch source on the physicochemical properties and biodegradability of different starch-based films". *J. Appl. Polym. Sci.*, 2018, pp. 1-11.
67. ACEVEDO-FANI, A. *Et al.* "Edible films from essential-oil-loaded nanoemulsions: physicochemical characterization and antimicrobial properties". *Food Hydrocoll.*, vol. 47, 2015, pp. 168-177.
68. MENDEZ-REYES, D.A.; CERÓN, J.P.Q. & HERRERA, H.A.V. "Sodium alginate in the development of edible films". *Rev. Venez. Cienc. Tecnol. Aliment.*, vol. 5, 2014, pp. 89-113.
69. MOREIRA, D. *et al.* "Bioactive packaging using antioxidant extracts for the prevention of microbial food-spoilage". *Food Funct.*, vol. 7, 2016, pp. 3273-3282.
70. OLIVEIRA FILHO, J.G. *et al.* "Active food packaging: Alginate films with cottonseed protein hydrolysates". *Food Hydrocoll.*, vol. 92, 2019, pp. 267-275.

71. SOUKOULIS, C. *et al.* “Probiotic edible films as a new strategy for developing functional bakery products: the case of pan bread”. *Food Hydrocoll.*, vol. 39, 2014, pp. 231-242.
72. FREITAS, D.G.C. *et al.* “Reducing of fat uptake in cassava product during deep-fat frying”. *J. Food Eng.*, vol. 94, 2009, pp. 390-394.
73. PAGLIONE, I.S. *et al.* “Optimization of the conditions for producing soy protein isolate films”. *Emir. J. Food Agr.*, vol. 31, 2019, pp. 297-303.
74. DA SILVA, D.C. *et al.* “Physical properties of films based on pectin and babassu coconut mesocarp”. *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 130, 2019, pp. 419-428.
75. SALAZAR, A.S.S. *et al.* “External factors and nanoparticles effect on water vapor permeability of pectin-based films”. *J. Food Eng.*, vol. 245, 2019, pp. 73-79.
76. SILVA, I.S.V. *et al.* “Edible coatings based on apple pectin, 204eteroato nanocrystals, and essential oil of lemongrass: Improving the quality and shelf life of strawberry (*Fragaria ananassa*)”. *J. Renew. Mater.*, vol. 7, 2019, pp. 73-87.
77. SUCHETA, N. *et al.* “Evaluation of structural integrity and functionality of commercial pectin based edible films incorporated with corn flour, beetroot, orange peel, muesli and rice flour”. *Food Hydrocoll.*, vol. 91, 2019, pp. 127-135.
78. MATITYAHU, I. *et al.* “Differential effects of regular and controlled atmosphere storage on the quality of three cultivars of pomegranate (*Punica granatum L.*)”. *Postharvest. Biol. Tec.*, vol. 115, 2016, pp. 132-141.
79. PEGORARO, C. *et al.* “Atmosfera controlada associada ao 1-metilciclopropeno na preservação da qualidade de kiwi ‘tewi’”. *Braz. J. Food Technol.*, vol. 19, 2016, p. e2014078.
80. ALI, S. *et al.* “Postharvest application of antibrowning chemicals modulates oxidative stress and delays pericarp browning of controlled atmosphere stored litchi fruit”. *J. Food Biochem.*, vol. 43, 2019, p. e12746.
81. GUERRA, L.M.V.H.S. “Efeitos da embalagem em ar, sob vácuo e em atmosfera modificada sobre a qualidade de filetes de peixe-porco *Balistes capriscus*”. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Universidade do Algarve, 2013.

82. MERGEN, I.Z. “Estudo da perda de vácuo em embalagens plásticas multicamadas para produtos cárneos curados cozidos”. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Universidade Federal de Santa Catarina, 2004.
83. IGLESIAS, E.G.; CABEZAS, L.G. & NUEV, J.L.F. “Tecnologias de Envasado en Atmósfera Protectora”. In: *Informe de Vigilancia Tecnológica, Dirección General de Universidades e Investigacion*, 2006, Madri.
84. JEYASEKARAN, G. *et al.* “Bacterial Quality of Vacuum Packed Tuna (*Euthynnus affinis*) Chunks Stored under Abused Refrigerated Temperatures”. *Asian. Fish. Sci.*, vol. 17, 2004, pp. 217 -227.
85. MACIEL, V.B.V.; FRANCO, T.T. & YOSHIDA, C.M.P. “Sistemas inteligentes de embalagens utilizando filmes de quitosana como indicador colorimétrico de temperatura”. *Polímeros.*, vol. 22, 2012, pp. 318-324.
86. HAN, J.H.; HO, C.H.L. & RODRIGUES, E.T. “Intelligent packaging”. In: HAN, J. H., Ed. *Innovations in food packaging*, Elsevier Science & Technology Books, Baltimore, 2005, pp. 138-155.
87. YAM, K.L.; TAKHISTOV, P.T. & MILTZ, J. “Intelligent Packaging: Concepts and Applications”. *J. Food Sci.*, vol. 70, 2005, pp. R1-R10.
88. ITAL. Instituto de Tecnologia de Alimentos: “Brazil Pack Trends 2020”, 2012.
89. EUROPEAN BIOPOLYMER SUMMIT, Especial Reciclaje, boletim 214, 2019.

Capítulo 9

Uso de bioadsorventes poliméricos para remoção de metais de efluentes aquosos

Raissa Antonelli, Emanuelle D. Freitas, Meuris G. C. Silva & Melissa G. A. Vieira

Departamento de Desenvolvimento de Processos e Produtos
Faculdade de Engenharia Química – UNICAMP

9.1 Introdução

A liberação excessiva de metais tóxicos nas águas residuárias representa uma séria ameaça ao ecossistema. Esses metais podem ser facilmente absorvidos pelos organismos vivos, contaminando a flora e a fauna aquática (AZOUAOU *et al.*, 2010; BARAKAT, 2010; DA SILVA *et al.*, 2016). Concentrações elevadas de metais podem acumular no corpo humano, uma vez que esses contaminantes entram na cadeia alimentar, podendo ocasionar distúrbios à saúde quando ingeridos em concentração acima da permitida (BABEL & KURNIAWAN, 2003). Dependendo do nível de contaminação, os metais tóxicos podem causar efeito deletério, câncer, danos ao cérebro, aos rins, aos ossos, dentre outros (MOHAN *et al.*, 2006; NITÃ *et al.*, 2007; DA SILVA *et al.*, 2016). Por esse motivo, é necessário remover esses metais das águas residuárias antes de serem lançadas no meio ambiente.

Efluentes contendo, além dos metais tóxicos, metais nobres e terras-raras são lançados em grandes volumes por indústrias de vários setores, como petroquímica, mineração (MOORE *et al.*, 2008), galvanoplastia, processamento de minerais e metais (ZAW *et al.*, 2007), fabricação de eletrônicos e reciclagem de lixo eletrônico (CUI & ZHANG, 2008). A recuperação desses íons metálicos a partir de fontes secundárias, como águas residuárias industriais, é interessante devido ao alto valor econômico e à grande demanda industrial, resultando diretamente em benefícios ambientais e econômicos (DAS, 2010; CAYUMIL *et al.*, 2016; SANTOS *et al.*, 2018). Portanto, é importante buscar

tecnologias de tratamento que permitam a remoção de metais tóxicos e, também, a recuperação eficiente de metais nobres e terras-raras.

Os métodos convencionais utilizados no tratamento de águas residuárias são, em geral, ineficazes na remoção/recuperação de metais em baixas concentrações. Em contrapartida, a adsorção é considerada uma tecnologia alternativa promissora, devido à elevada recuperação de metais nessas condições, simplicidade do processo e alta eficiência. O custo referente ao processo de adsorção depende principalmente do adsorvente utilizado e de sua capacidade de regeneração, sendo que os adsorventes à base de biomateriais (bioadsorventes) têm recebido atenção crescente em virtude de sua biodegradabilidade, abundância e baixo custo (AZOUAOU *et al.*, 2010; LI *et al.*, 2018). Neste capítulo serão abordadas informações relacionadas ao emprego de bioadsorventes, em especial material produzido como as blendas poliméricas de sericina e alginato, visando à remoção/recuperação de metais tóxicos, nobres e terras-raras de efluentes aquosos.

9.2 Tratamento de efluentes contendo metais

Os métodos convencionais utilizados na remoção e recuperação de íons metálicos em águas residuárias incluem, por exemplo, precipitação química, filtração por membrana, troca iônica, coagulação/flocação, eletrodiálise e extração por solvente.

O processo de precipitação química é uma operação unitária que visa à remoção de íons metálicos pela adição de agentes químicos. Os agentes precipitantes mais utilizados são hidróxido de sódio e óxido de cálcio para tratamento de efluentes (PETERS & SHEM, 1993). No entanto, esse processo não é efetivo para baixas concentrações de metais (1-100 mg/L), requer grande quantidade de produtos químicos para reduzir os metais a um nível aceitável para descarga, gera grandes quantidades de resíduos sólidos difíceis de tratar e, além disso, requer etapa subsequente de separação do sólido-líquido, elevando os custos do processo (BARAKAT, 2010).

No processo de filtração por membrana, uma pressão é aplicada para separar a água purificada do meio contaminado pela retenção dos poluentes em uma membrana semipermeável. Dependendo do tamanho da partícula do contaminante, alguns tipos de filtração por membrana podem ser empregados na remoção de metais de efluentes aquosos,

como ultrafiltração, nanofiltração e osmose reversa. As principais limitações do processo de filtração por membrana devem-se ao surgimento de incrustações capazes de provocar queda no fluxo ou proporcionar a passagem dos contaminantes pela membrana, ao manejo do concentrado e aos elevados custos de investimentos (FU & WANG, 2011; BENJAMIN & LAWLER, 2013).

A troca iônica consiste na troca de cátions ou ânions entre eletrólitos ou entre um eletrólito e um complexo orgânico, com a finalidade de recuperar quantidades pequenas de íons metálicos em efluentes. Esse método não é adequado para recuperar grandes volumes de solução e nem soluções metálicas concentradas. Além disso, não é um processo seletivo e possui alta sensibilidade ao pH do meio (MARINSKY & MARCUS, 1997; BARAKAT, 2010; HUBICKI & KOLODYŃSKA, 2012).

O processo de coagulação ocorre quando um coagulante é adicionado ao efluente para promover a aglomeração das partículas pela eliminação da repulsão eletrostática. A floculação, por sua vez, incentiva a formação e o crescimento dos flocos, por meio de mistura lenta e suave, até um tamanho que propicie sua deposição (BENJAMIN & LAWLER, 2013; LAKHERWAL, 2014). Uma das principais dificuldades desse processo é a geração de lodo inorgânico de difícil manuseio devido ao seu volume e elevado teor de umidade.

A eletrodiálise é um processo no qual os íons metálicos são transportados através de uma membrana semipermeável, utilizando um potencial elétrico como força motriz (COSTA *et al.*, 2002; FU & WANG, 2011). No entanto, este tratamento necessita da utilização de eletricidade gerando alto custo.

O processo de extração por solvente consiste na adição de um solvente capaz de extrair de forma seletiva as espécies de interesse. Apesar de o método apresentar baixo consumo de energia, possibilidade de emprego em sistema dinâmico e regeneração total do solvente, a extração por solvente gera produtos intermediários, sendo necessária uma etapa subsequente de separação, além de apresentar elevados custos operacionais e de equipamentos (MARINSKY & MARCUS, 1997; SÁNCHEZ-CAMARGO *et al.*, 2019).

Esses métodos convencionais podem ser utilizados no tratamento de efluentes contendo íons metálicos, no entanto, em sua maioria são ineficazes, economicamente pouco atrativos e podem demandar uma alta concentração de contaminantes. O processo de

adsorção, por sua vez, é bastante atrativo devido a sua simplicidade de operação, fácil recuperação e alta eficiência em soluções diluídas (POLLARD *et al.*, 1992; AZOUAOU *et al.*, 2010; PYRZYNSKA, 2019). A adsorção tem sido utilizada tanto para remoção como para recuperação de íons metálicos presentes em baixa concentração em solução. No caso de metais tóxicos, o objetivo é a remoção do composto do efluente e, para os metais nobres e terras-raras, tem-se como meta a sua recuperação considerando a vantagem dos elevados preços de mercado.

O material adsorvente mais comumente utilizado no processo de adsorção para remoção/recuperação de diversos contaminantes é o carvão ativado, contudo, este é um material de alto custo e difícil regeneração, podendo inviabilizar o processo de adsorção (DERBYSHIRE *et al.*, 2001; DE ANDRADE *et al.*, 2018). Assim, existe uma demanda crescente na busca por adsorventes alternativos que sejam de baixo custo e abundantes, principalmente se os adsorventes forem subprodutos ou resíduos de processos industriais (POLLARD *et al.*, 1992; AZOUAOU *et al.*, 2010). Um adsorvente ideal para essa finalidade deve ter elevada área superficial, alta capacidade de adsorção, estabilidade mecânica e ser facilmente regenerado.

9.3 Bioadsorventes

O termo bioadsorvente corresponde a um material biológico, como algas, vegetais, resíduos, microrganismos, dentre outros, com propriedades adsorptivas de substâncias orgânicas ou inorgânicas. O biomaterial interage com os íons metálicos devido a sítios ativos (grupos carboxila, amino, sulfato, hidroxila, entre outros) presentes na estrutura dos bioadsorventes (KRATOCHVIL & VOLESKY, 1998; PALMIERI; VOLESKY & GARCIA, 2002; DA COSTA *et al.*, 2019). Esses materiais são considerados promissores para substituição dos adsorventes convencionais utilizados nas indústrias, pois são de baixo custo, abundantes e, em alguns casos, podem ser resíduos industriais (ALMEIDA NETO; VIEIRA & SILVA, 2014; DA SILVA *et al.*, 2016).

A Tabela 1 apresenta os biomateriais mais utilizados nos processos de remoção ou recuperação de íons metálicos (APIRATIKUL & PAVASANT, 2008; WANG & CHEN, 2009; FU & WANG, 2011; DE FREITAS *et al.*, 2019).

Tabela 1: Biomateriais típicos mais comumente encontrados na literatura.

Biomassa	Bioadsorvente
Microbiana	Bactérias
	Fungos
	Leveduras
Alga	Algas marrons
	Algas vermelhas
	Algas verdes
	Macrófitas
Inativa	Cascas
	Serragem
	Lignina
	Alginato
	Quitosana
	Resíduos industriais
	Resíduos agrícolas

O processo de bioassorção em biomassa viva envolve adsorção à parede celular e a entrada no citoplasma. Os grupos ligantes, como por exemplo fosforil, carbonil, hidroxil, carboxil e sulfidril, presentes na parede celular da biomassa imobilizam e captam o íon metálico. Os fatores que afetam a captação desses íons incluem a natureza dos metais, a composição da parede celular e do meio em que estão inseridos (KRATOCHVIL & VOLESKY, 1998; SHAMIM, 2018).

As bactérias constituem os microrganismos mais abundantes e com maior diversidade no mundo. Em geral, a parede celular presente na morfologia das bactérias é responsável pela ligação com diferentes íons metálicos, devido aos grupos funcionais, como amina, sulfato, hidroxila, fosfato, carboxila, entre outros, presentes em sua superfície. Os fungos também apresentam parede celular que oferece boas propriedades de ligação com metais (KAPOOR & VIRARAGHAVAN, 1997; WANG & CHEN, 2009). A captação de metais por fungos é efetuada por dois processos, (i) bioacumulação (captação ativa), que ocorre apenas em células vivas e depende do metabolismo celular; e (ii) bioassorção

(captação passiva), ligação de íons metálicos na superfície da parede celular e que não depende do metabolismo celular (VOLESKY & HOLAN, 1995; VOLESKY, 2007; SHAMIM, 2018).

As algas marinhas são seres autotróficos e podem crescer sendo fonte de grande biomassa, mesmo com poucos nutrientes disponíveis. Elas são consideradas bons materiais bioadsorventes por sua abundância e alta capacidade de sorção. Os mecanismos de captação de metais pelas algas podem envolver (i) troca iônica, na qual íons presentes na alga (Ca^{2+} , Na^+ , Mg^{2+} , K^+) são deslocados por íons metálicos e (ii) complexação entre os grupos funcionais presentes na superfície das algas (grupos hidroxila, carboxila, amina, fosfato, sulfidrila, sulfato, imidazol) e os íons metálicos (WANG & CHEN, 2009; ABBAS *et al.*, 2014; SHAMIM, 2018).

A biomassa inativa também pode adsorver íons metálicos por meio de mecanismos físico-químicos, podendo ocorrer por meio de um mecanismo ou de uma combinação de diferentes mecanismos, como complexação, coordenação, troca iônica, quelação, microprecipitação, interação eletrostática, dentre outros. Os resíduos agrícolas e das indústrias de alimentos, na sua maioria biomassa inativa, são utilizados como materiais bioadsorventes. Esses resíduos apresentam material celulósico com grupos funcionais fenólicos e/ou carboxílicos, os quais são responsáveis pela ligação com os íons metálicos, o que favorece a remoção do metal presente no efluente contaminado (WANG & CHEN, 2009; SHAMIM, 2018).

9.3.1 Bioadsorventes poliméricos

Os bioadsorventes mais empregados para remoção de íons metálicos são aqueles pertencentes à classe dos polissacarídeos, como alginato de sódio e quitosana, os compostos polifenólicos, como taninos e catequinas, além de diferentes proteínas. A vantagem desses materiais é que, mesmo apresentando baixa capacidade de adsorção, podem ser submetidos a tratamentos químicos para melhorar sua propriedade adsorptiva, obtendo-se assim biopolímeros modificados, compósitos poliméricos híbridos ou ainda blendas poliméricas. Os biopolímeros são considerados materiais efetivos e de baixo custo para remoção de íons

metálicos no processo de tratamento de efluentes (VOLESKY & HOLAN, 1995; INOUE *et al.*, 2017; REDDY & RAO, 2016).

O mecanismo de bioadsorção envolvendo polímeros como bioadsorventes é função da presença de grupos funcionais ativos, como carboxilas, hidroxilas e aminas, por meio dos quais os íons metálicos se ligam de forma passiva, favorecendo o processo de remoção desses metais. Sendo assim, o desempenho de um bioadsorvente é diretamente influenciado por sua composição (CONCÓRDIO-REIS & FREITAS, 2019). Na Tabela 2 são apresentados alguns biopolímeros utilizados como adsorventes e seus respectivos grupos funcionais ativos, disponíveis para adsorção de íons metálicos (MUTHU *et al.*, 2017).

Tabela 2: Lista de biopolímeros utilizados para bioadsorção de metais e respectivos grupos funcionais.

Biopolímero	Grupo Funcional
Ácido Hialurônico	OH
Alginato	OH, COO-
Celulose	OH
Dextrano	OH
Goma gelana	OH
Goma xantana	OH
Pululano	OH
Quitosana	OH, COO-
Succinoglicano	OH

Nos últimos anos, tem-se destacado o uso de hidrogéis como adsorventes, os quais são caracterizados como estruturas tridimensionais porosas, compostas por polímeros naturais ou sintéticos, reticulados química ou fisicamente. Apresentam grupos funcionais hidrofílicos que facilitam a adsorção de íons metálicos e corantes. Comparados aos polímeros usados como adsorventes, os hidrogéis podem apresentar melhores propriedades mecânicas e resistência a agitações mais vigorosas, o que pode favorecer sua regeneração e reutilização. Além disso, os hidrogéis podem ser funcionalizados para atender a condições

específicas de compostos a serem adsorvidos (JANG *et al.*, 2008; CHOUDHARY *et al.*, 2018; SHALLA *et al.*, 2019).

Os hidrogéis podem ser classificados baseados em diferentes aspectos. Quanto à estrutura física, como microesferas, partículas, matrizes ou filmes. Quanto à natureza da reticulação, como géis químicos ou físicos, sendo que os hidrogéis químicos são permanentes e formados por redes de reticulação covalentes, enquanto os hidrogéis físicos são formados por interações reversíveis de forças secundárias, como ligações iônicas, ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas. Quanto à composição polimérica, são divididos em homopoliméricos, formados por uma única espécie de monômero; multipoliméricos, compostos por duas cadeias poliméricas diferentes reticuladas; ou copoliméricos, envolvendo dois ou mais tipos de monômeros, sendo pelo menos um deles hidrofílico, arranjados de forma aleatória, em blocos ou alternados (AHMED, 2015; REDDY & RAO, 2016).

As estruturas multipoliméricas podem ser obtidas em blocos, enxertos, em blendas ou em reticulados poliméricos interpenetrantes (IPN) (SPERLING, 1981), sendo os IPN definidos como blendas na forma de redes tridimensionais. A vantagem do uso de blendas poliméricas está na possibilidade de obter biomateriais com propriedades melhoradas ou que apresentem melhor processabilidade (UTRACKI *et al.*, 2014). Assim, é comum o uso de blendas obtidas a partir de biopolímeros para adsorção de íons metálicos. Ramasubramaniam *et al.* (2014), por exemplo, utilizaram blenda de quitosana e amido para remoção de íons Cd(II), enquanto Hema *et al.* (2011) avaliaram a adsorção de íons cobre (II) e níquel (II) em blenda de quitina/álcool polivinílico. Recentemente, uma blenda composta por sericina e alginato tem sido investigada como bioadsorvente na remoção de íons metálicos (LIMA *et al.*, 2015; DA SILVA *et al.*, 2016; SILVA *et al.*, 2017; SANTOS *et al.*, 2018; COSTA *et al.*, 2019). Este último será detalhado e alguns resultados do potencial de aplicação serão apresentados neste capítulo.

9.4 Blenda de sericina e alginato

A sericina é uma proteína globular macromolecular encontrada nos casulos do bicho-da-seda e, normalmente, descartada no processo de fiação da seda. Suas propriedades de resistência à oxidação, antibactericida, resistência à UV e facilidade de absorção e

liberação de umidade têm atraído a atenção de pesquisadores sobre essa proteína. Além disso, sua vantagem é que apresenta estrutura que permite a formação de blendas, copolímeros ou reticulados com outras substâncias, especialmente pela presença de fortes grupos polares laterais (MONDAL *et al.*, 2007).

Estudos já demonstraram o potencial da sericina pura para adsorção seletiva de corantes (CHEN *et al.*, 2012) e metais preciosos (CHEN *et al.*, 2011). Os autores recomendaram que o uso da sericina em blendas ou compósitos com outros polímeros poderia melhorar sua área específica e porosidade, aprimorando sua capacidade de adsorção de metais e sua seletividade. Dentre as diferentes substâncias empregadas em blendas com a sericina, visando à melhoria do processo de adsorção, podem-se citar os biomateriais quitosana (DU *et al.*, 2017), lignina (KWAK *et al.*, 2016) e alginato (DA SILVA *et al.*, 2016), com destaque para este último, que obteve um novo material com elevada afinidade por uma variedade de íons metálicos.

O alginato é um polissacarídeo encontrado na parede celular de algas marrons que vem sendo bastante empregado em aplicações como matriz para imobilização celular, incorporação de fármacos e na área alimentícia. A vantagem de seu uso se deve às propriedades de biocompatibilidade, não toxicidade e biodegradabilidade além de apresentar capacidade de gelificação na presença de íons divalentes, como o Ca²⁺, que atua como agente reticulante entre os grupos funcionais das cadeias de alginato (YANG *et al.*, 2011).

Recentemente, Da Silva *et al.* (2016) propuseram um método simples e ambientalmente favorável para produção de partículas adsorventes a partir da blenda produzida por sericina e alginato. Os autores realizaram a extração da sericina a partir de casulos do bicho-da-seda (*Bombyx mori*), utilizando técnica de alta pressão e alta temperatura (do inglês, HTHP – *High Temperature High Pressure*). A produção das partículas adsorventes se baseou na capacidade de gelificação iônica da blenda e foi realizada pelo gotejamento em solução de CaCl₂ (3%). Essas partículas apresentaram bons resultados para adsorção de íons metálicos tóxicos, nobres e terras-raras.

9.4.1 Aplicação da blenda de sericina e alginato para remoção de metais

Diversos trabalhos vêm sendo desenvolvidos com a utilização de blenda produzida por sericina e alginato e blenda modificada por agentes reticulantes para remoção ou recuperação de metais tóxicos (LIMA *et al.*, 2015; DA SILVA *et al.*, 2016), nobres (SILVA *et al.*, 2017; SANTOS *et al.*, 2018) e terras-raras (COSTA *et al.*, 2019), os quais têm apresentado resultados bastante promissores.

9.4.1.1 Metais tóxicos

Os metais tóxicos abrangem um grupo de metais e metaloides com densidade maior que 4.000 kg/m³. Apresentam natureza tóxica, podendo causar sérios problemas à saúde humana e de animais, mesmo em baixas concentrações. Além disso, são bioacumuladores e não biodegradáveis, o que torna importante sua remoção, especialmente de efluentes aquosos. As principais fontes geradoras de efluentes contaminados são provenientes dos processos industriais, do uso de fertilizantes, dos lodos de esgoto de estações de tratamento e do intemperismo de minerais do solo (GUPTA; KHAN & SANTRA, 2010; VARDHAN *et al.*, 2019).

A adsorção de metais tóxicos, como cádmio (II), cromo (III), cobre (II), zinco (II), chumbo (II) e níquel (II) foi avaliada nos trabalhos citados. Lima *et al.* (2015) avaliaram a afinidade desses íons pela blenda de sericina e alginato e Silva *et al.* (2017) investigaram essa afinidade desta blenda reticulada covalentemente pelo éter diglicídico de poli(etileno glicol) – PEG. Os resultados de porcentagem de remoção para esses estudos são apresentados na Figura 1, para cada um desses íons metálicos.

De acordo com Lima *et al.* (2015), em relação aos resultados obtidos para as blendas de sericina/alginato, a ordem de afinidade ($\text{Cd(II)} > \text{Cr(III)} > \text{Ni(II)} > \text{Zn(II)} > \text{Cu(II)} > \text{Pb(II)}$) pode ser, em parte, explicada pela teoria de ácidos e bases moles e duros. A blenda possui grupos amino e carboxílicos, considerados bases duras e, por isso, atrai fortemente o íon Cr(III), considerado um ácido duro. Os íons Ni(II), Zn(II), Cu(II) e Pb(II) são considerados ácidos intermediários, o que explica suas menores remoções. Em relação à elevada afinidade pelo Cd(II), um ácido mole, pode-se justificar a ordem de afinidade

pela elevada eletronegatividade e grande raio iônico, que favorecem a maior capacidade adsorptiva.

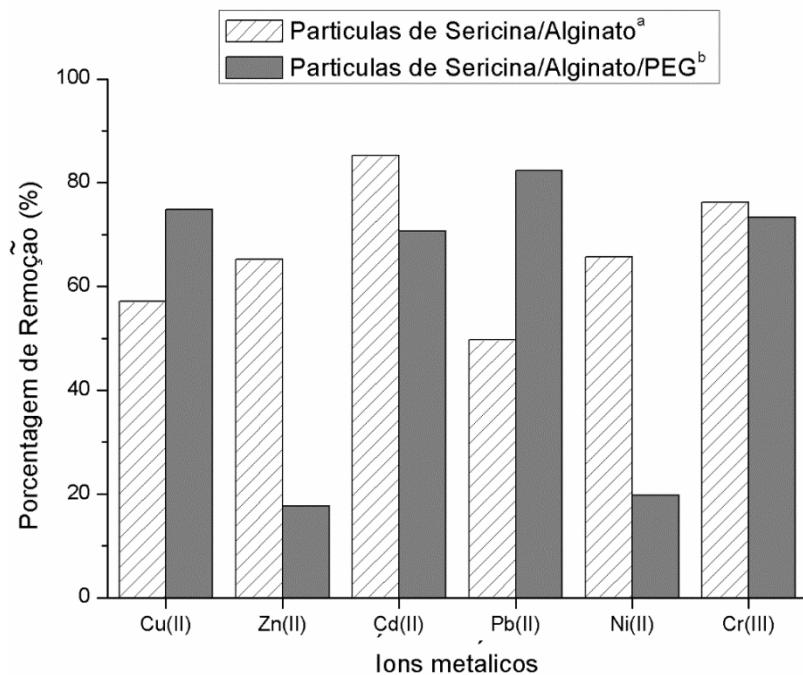


Figura 1: Remoção obtida para os metais Cd(II), Cr(III), Cu(II), Zn(II), Pb(II) e Ni(II), utilizando partículas de sericina/alginato e partículas de sericina/alginato/PEG.

Fonte:^a Lima *et al.* (2015); ^b Silva *et al.* (2017).

Para as blendas de sericina/alginato/PEG, a ordem de afinidade foi alterada ($\text{Pb(II)} > \text{Cu(II)} > \text{Cr(III)} > \text{Cd(II)} > \text{Ni(II)} > \text{Zn(II)}$), possivelmente pelas propriedades desses íons metálicos. O Pb(II) e o Cu(II) possuem elevada eletronegatividade (2,33 e 1,90, respectivamente), o que indica que apresentam maior atração pelos elétrons em uma ligação, favorecendo a adsorção. O Ni(II) e o Zn(II) apresentaram os resultados menos satisfatórios, o que pode ser explicado pelas menores constantes de hidrólise ($10^{-9,9}$ e 10^{-9} , respectivamente), o que indica que esses cátions são mais estáveis em solução, acarretando em sua menor adsorção (KINRAIDE & YERMIYAHU, 2007).

9.4.1.2 Metais nobres

Os metais nobres, como ouro (III), paládio (II), prata (I) e platina (IV) são conhecidos pelo seu elevado valor econômico e por serem amplamente utilizados como

catalisadores nas indústrias em virtude de suas propriedades físicas e químicas (RAMESH *et al.*, 2008; WON *et al.*, 2010). No entanto, esses metais apresentam disponibilidade limitada e sua extração pode gerar impactos ambientais (AYRES, 1997; CAYUMIL *et al.*, 2016). Assim, a recuperação de metais nobres das águas residuárias é atraente tanto pelo aspecto ambiental como do ponto de vista econômico.

As afinidades adsortivas dos metais nobres, no caso, ouro (III), paládio (II), platina (IV) e prata (I) pela blenda de sericina e alginato foram investigadas por Silva *et al.* (2017), enquanto a avaliação dessa afinidade pelas blendas modificadas com diferentes reticulantes foi realizada com proantocianidina – PA (SANTOS *et al.*, 2018), álcool polivinílico – PVA (SANTOS *et al.*, 2018) ou éter diglicídico de poli(etileno glicol) – PEG (SILVA *et al.*, 2017). Os resultados comparativos da remoção desses íons metálicos são apresentados na Figura 2.

A Figura 2 mostra que a ordem de afinidade metálica obtida foi Au(III) > Pd(II) > Pt(IV) > Ag(I). A adição de PA ou PVA à blenda de sericina/alginato não comprometeu a capacidade de adsorção nos casos do Au(III), Pd(II) e Pt(IV). Todavia, foi observada uma redução de aproximadamente 50% na porcentagem de remoção de Ag(I) nas blendas reticuladas com PA e PVA.

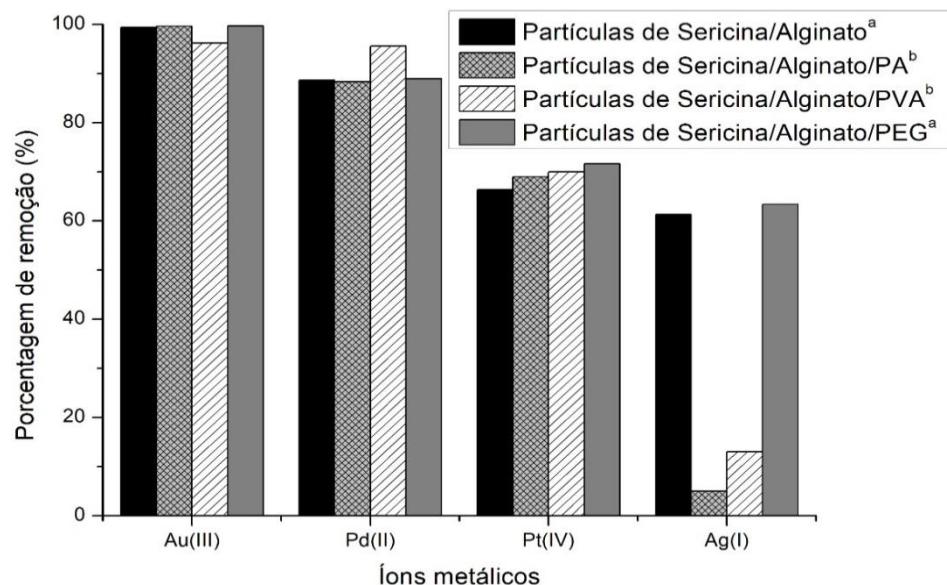


Figura 2: Remoção dos metais Au(III), Pd(II), Pt(IV) e Ag(I) pelas partículas de sericina/alginato, sericina/alginato/PA, sericina/alginato/PVA e sericina/alginato/PEG.

Fonte:^a Silva *et al.* (2017); ^bSantos *et al.* (2018).

De acordo com Santos *et al.* (2018), as cargas positivas dos grupos funcionais presentes nas blendas com PA e PVA atraem as cargas negativas dos íons metálicos Au(III), Pd(II) e Pt(IV) e repelem a carga positiva do íon Ag(I) pelo mecanismo eletrostático, o que explica a diferença nas porcentagens de remoção da prata pelas blendas reticuladas com PA e PVA. Santos *et al.* (2018) relataram ainda que a classificação de Pearson (1968) de íons rígidos, moles e limítrofes não é apropriada no caso das blendas com PA e PVA, devendo ser levada em consideração a afinidade dos íons metálicos. De acordo com Silva *et al.* (2017), as blendas reticuladas com PEG promovem alterações na estrutura das partículas que parecem favorecer a adsorção dos íons metálicos Pt(IV) e Ag(I) em relação às demais blendas, o que pode estar relacionado ao comportamento anfipático do PEG.

9.4.1.3 Metais terras-raras

Os metais terras-raras englobam um grupo de 17 elementos químicos, incluindo a série dos lantanídeos, desde o lantânio até o lutécio, além do escândio e do ítrio, os quais apresentam propriedades químicas e físicas bastante similares e incomuns, sendo de elevado interesse para aplicações nos setores de tecnologia, de energia, industrial, de defesa e militar. Os metais terras-raras são encontrados em mais de 200 tipos de minerais da crosta terrestre, porém, devido às suas similaridades, muitas vezes se encontram intercalados e difíceis de serem separados. Sendo assim, aplicar o processo de adsorção para remover e recuperar esses metais, a partir de efluentes aquosos, se torna uma opção economicamente viável (DA COSTA, 2019; VAN GOSEN *et al.*, 2017).

Costa *et al.* (2019) avaliaram a afinidade de diversos metais terras-raras (Lantânio – La(III), Cério – Ce(III), Neodímio – Nd(III), Disprósio – Dy(III), Itérbio – Yb(III) e Ítrio – Y(III)) sobre partículas produzidas a partir da blenda de sericina e alginato, reticuladas quimicamente pelo PEG ou pela proantocianidina (PA). Para soluções com concentração inicial de 1,0 mmol/L, os autores verificaram elevadas porcentagens de remoção (> 98%), independentemente do metal e da partícula empregada. Para soluções com concentração inicial de 3,0 mmol/L, observaram-se reduções na remoção, especialmente para as partículas com PA, conforme a Figura 3.

A elevada afinidade dos íons de metais terras-raras pode também ser explicada pela teoria de ácidos e bases moles e duros. Esses íons são considerados ácidos duros e, portanto, apresentam elevada afinidade pelos grupos amino e carboxila da blenda, considerados bases duras. A redução da porcentagem de remoção para as partículas com PA, conforme resultado apresentado na Figura 3, não é tão significativa, se comparada às remoções obtidas para metais tóxicos (Figura 1). Considerando-se a elevada concentração inicial de metais, pode-se inferir que foi atingida a saturação das partículas.

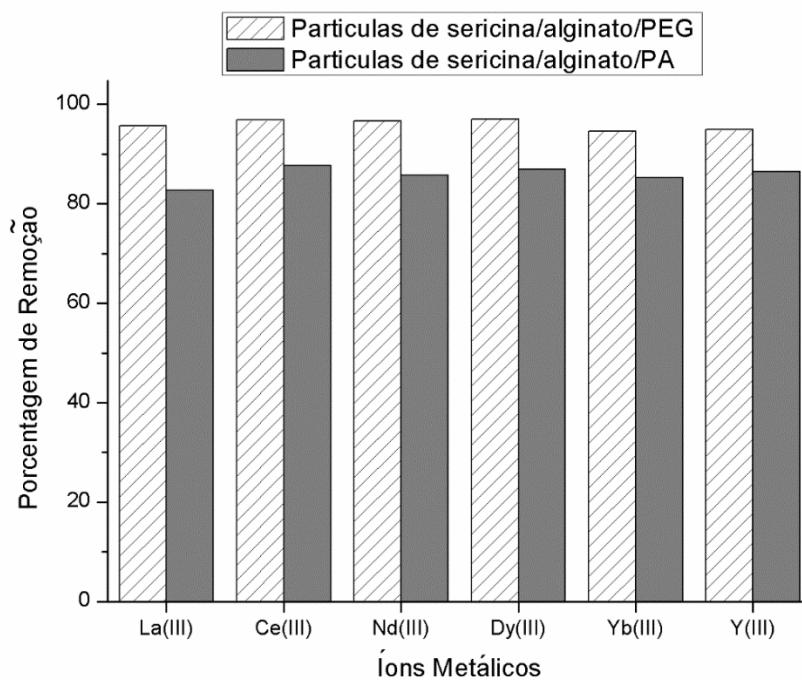


Figura 3: Remoção dos metais terras-raras La(III), Ce(III), Nd(III), Dy(III), Yb(III) e Y(III) por adsorção em partículas de sericina/alginate reticuladas com PEG ou PA.

Fonte: Costa *et al.* (2019).

9.5 Considerações finais

A utilização de bioadsorventes alternativos oriundos de resíduos industriais e agrícolas para tratamento de efluentes contendo íons metálicos tóxicos, nobres e terras-raras, a partir do reaproveitamento desses resíduos gerados como produtos de interesse comercial, tem se mostrado atrativa para a área ambiental e econômica. A blenda produzida

por sericina, uma proteína encontrada nos casulos do bicho-da-seda, e o alginato, um polissacarídeo encontrado na parede celular de algas marrons, vem apresentando resultados promissores para remoção/recuperação de metais tóxicos, nobres e terras-raras. O emprego desses biopolímeros tem apresentado alta capacidade de remoção e seletividade a vários tipos de metais. Em especial, eles apresentam boa eficiência em efluentes com baixas concentrações, condição em que os tratamentos convencionais são técnica ou economicamente inviáveis.

Agradecimentos

Os autores agradecem à empresa BRATAC pela doação dos casulos do bicho-da-seda, à CAPES, ao CNPq, pelas bolsas concedidas, e à FAPESP (Proc. 2017/18236-1) pelo suporte financeiro para a realização das pesquisas envolvendo a blenda produzida por sericina/alginato.

9.6 Referências

- ABBAS, S.H. *et al.* “Biosorption of heavy metals: A review”. *Journal of Chemical Science and Technology*, vol. 3, n. 4, 2014, pp. 74-102.
- AGRAWAL, A. & SAHU, K.K. “Kinetic and isotherm studies of cadmium adsorption on manganese nodule residue”. *Journal of Hazardous Materials B*, vol. 137, 2006, pp. 915-924.
- AHMED, E.M. “Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review”. *Journal of Advanced Research*, vol. 6, 2015, pp. 105-121.
- ALMEIDA NETO, A.F.; VIEIRA, M.G.A. & SILVA, M.G.C. “Modification of sodium bentonitic clay used in zinc ion adsorption”. *Materials Science Forum*, vol. 798, 2014, pp. 520-525.
- AN, B. *et al.* “Determining the selectivity of divalent metal cations for the carboxyl group of alginate hydrogel beads during competitive sorption”. *Journal of Hazardous Materials*, vol. 298, 2015, pp. 11-18.

APIRATIKUL, R. & PAVASANT, P. "Batch and column studies of biosorption of heavy metals by *Cauler paletillifera*". *Bioresource Technology*, vol. 99, 2008, pp. 2766-2777.

AYRES, R.U. "Metals recycling: Economic and environmental implications". *Resources, Conservation and Recycling*, vol. 21, n. 3, 1997, pp. 145-173.

AZOUAOU, N. *et al.* "Adsorption of cadmium from aqueous solution onto untreated coffee grounds: Equilibrium, kinetics and thermodynamics". *Journal of Hazardous Materials*, vol. 184, 2010, pp. 126-134.

BABEL, S. & KURNIAWAN, T.A. "Various treatment technologies to remove arsenic and mercury from contaminated groundwater: an overview". *Southeast Asian Water Environment*, vol. 24-25, 2003, pp. 433-440.

BARAKAT, M.A. "New trends in removing heavy metals from industrial wastewater". *Arabian Journal of Chemistry*, vol. 4, 2011, pp. 361-377.

BENJAMIN, M.M. & LAWLER, D.F. "Water quality engineering: physical/chemical treatment processes". John Wiley & Sons, 2013.

CAYUMIL, R. *et al.* "Concentration of precious metals during their recovery from electronic waste". *Waste Management*, vol. 57, 2016, pp. 121-130.

CHEN, X. *et al.* "Precious metal recovery by selective adsorption using biosorbents". *Journal of Hazardous Materials*, vol. 186, 2011, pp. 902-910.

CHEN, X. *et al.* "Assessment of sericin biosorbent for selective dye removal". *Chinese Journal of Chemical Engineering*, vol. 20, n. 3, 2012, pp. 426-432.

CHOUDHARY, B. *et al.* "Synthesis and biomedical applications of filled hydrogels". In: PAL, K. & BANERJEE I., Eds. *Polymeric Gels – Characterization, Properties and Biomedical Applications. Woodhead Publishing Series in Biomaterials*, 2018.

CONCÓRDIO-REIS, P. & FREITAS, F. "Environmental Applications: Biopolymer Sorbents for Heavy Metal Removal". In: MISHRA, M., Ed. *Encyclopedia of Polymer Applications*, CRC Press, 2019.

COSTA, R.F.D. *et al.* "Evaluation of the electrodialysis process for the treatment of metal finishing wastewater". *Journal of the Brazilian Chemical Society*, vol. 13(4), 2002, pp. 540-547.

COSTA, T.B.; SILVA, M.G.C. & VIEIRA, M.G.A. “Bioadsorção de íons terras-raras em partículas de blenda de sericina e alginato: avaliação da afinidade metálica”. *Anais do XXXIX Congresso Brasileiro de Sistemas Particulados – ENEMP*. Belém-PA, 2019

CUI, J. & ZHANG, L. “Metallurgical recovery of metals from electronic waste: a review”. *Journal of Hazardous Materials*, vol. 158, 2008, pp. 228-256.

DA COSTA, T.B. *et al.* “Recovery of rare-earth metals from aqueous solutions by bio/adsorption using non-conventional materials: a review with recent studies and promising approaches in column applications”. *Journal of Rare Earths*, 2019, in press. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1002072119301929>>.

DA SILVA, T.L. *et al.* “Biosorption study of copper and zinc by particles produced from silk sericin e alginate blend: evaluation of blend proportion and thermal cross-linking process in particles production”. *Journal of Cleaner Production*, vol. 137, 2016, pp. 1470-1478.

DAS, N. “Recovery of precious metals through biosorption—a review”. *Hydrometallurgy*, vol. 103, pp. 180-189.

DE ANDRADE, J.R. *et al.* “Bioadsorption of trivalent and hexavalent chromium from aqueous solutions by sericin-alginate particles produced from Bombyx mori cocoons”. *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 25, 2018, pp. 25967-25982.

DE FREITAS, G.R.; DA SILVA, M.G.C. & VIEIRA, M.G.A. “Biosorption technology for removal of toxic metals: a review of commercial biosorbents and patent”. *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 26, 2019, pp. 19097-19118.

DERBYSHIRE, F. *et al.* “Carbon Materials in Environmental Applications”. *Chemistry and Physics of Carbon*, vol. 27, 2001, pp. 1-66.

DU, J.R.; SU, X. & FENG, X. “Chitosan-sericin blend membranes for adsorption of bovine serum albumin”. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, vol. 95(5), 2017, pp. 954-960.

FU, F. & WANG, Q. “Removal of heavy metal ions from wastewaters: A review”. *Journal of Environmental Management*, vol. 92, 2011, pp. 407-418.

GODIYA, C.B. *et al.* “Carboxymethyl cellulose/polyacrylamide composite hydrogel for cascaded treatment/reuse of heavy metal ions in wastewater”. *Journal of Hazardous Materials*, vol. 364, 2019, pp. 28-38.

GUPTA, N.; KHAN, D.K. & SANTRA, S.C. "Determination of public health hazard potential of wastewater reuse in crop production". *World Review of Science, Technology and Sustainable Development*, vol. 7, 2010, pp. 328-340.

HEMA, S.; KUMARAN, T.M. & SUDHA, P.N. "Adsorption of Copper (II) and Nickel (II) Ions on Chitin/Polyvinyl Alcohol Binary Blend: Kinetics and Equilibrium Studies". *International Journal of Environmental Sciences*, vol. 2(2), 2011, pp. 624-637.

HUBICKI, Z. & KOŁODYŃSKA, D. "Selective removal of heavy metal ions from waters and waste: waters using ion exchange methods". Capítulo 8, 2012.

INOUE, K. *et al.* "Biosorbents for Removing Hazardous Metals and Metalloids". *Materials*, vol. 10(8), 2017, pp. 857.

JANG, S.H. *et al.* "Preparation and lead ion removal property of hydroxyapatite/polyacrylamide composite hydrogels". *Journal of Hazardous Materials*, vol. 159, 2008, pp. 294-299.

KAPOOR, A. & VIRARAGHAVAN, T. "Fungi as biosorbents". In: WASE, J. & FORSTER, C., Eds. *Biosorbents for metal ions*. London, UK, CRC Press, 1997, pp. 67-86.

KINRAIDE, T.B. & YERMIYAHU, U. "A scale of metal ion binding strengths correlating with ionic charge, Pauling electronegativity, toxicity, and other physiological effects". *Journal of Inorganic Biochemistry*, vol. 101, 2007, pp. 1201-1213.

KRATOCHVIL, D. & VOLESKY, B. "Advances in the biosorption of heavy metals". *Trends in Biotechnology*, vol. 16, 1998, pp. 291-300.

KWAK, H.W. *et al.* "Preparation of Silk Sericin/Lignin Blend Beads for the Removal of Hexavalent Chromium Ions". *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 17, 2016, pp. 1-18.

LAKHERWAL, D. "Adsorption of Heavy Metals: A Review". *International Journal of Environmental Research and Development*, vol. 4, 2014, pp. 41-48.

LI, X. *et al.* "Preparation and characterization of a novel polyethyleneimine cation modified persimmon tannin bioadsorbent for anionic dye adsorption". *Journal of Environmental Management*, vol. 217, 2018, pp. 305-314.

LIMA, J.O. *et al.* "Afinidade metálica e estudo cinético da adsorção de íons cádmio em partículas de sericina/alginato". *Anais do XXXVII Congresso Brasileiro de Sistemas Particulados – ENEMP*, São Carlos-SP, 2015.

MARINSKY, J.A. & MARCUS, Y. "Ion Exchange and Solvent Extraction Series". CRC Press, 1 ed., 1997.

MOHAN, D.; PITTMAN JR., C.U. & STEELE, P.H. "Single, binary and multi-component adsorption of copper and cadmium from aqueous solutions on kraft 224etero biosorbent". *Journal of Colloid and Interface Science*, vol. 297(2), 2006, pp. 489-504.

MONDAL, M.; TRIVEDY, K. & KUMAR, S.N. "The silk protein, sericin and fibroin in silkworm, *Bombyx mori* Linn: A review". *Caspian Journal of Environmental Sciences*, vol. 5(2), 2007, pp. 63-76.

MOORE, B.A.; DUNCAN, J.R. & BURGESS, J.E. "Fungal bioaccumulation of copper, nickel, gold and platinum". *Minerals Engineering*, vol. 22, 2008, pp. 55-60.

MUTHU, M. et al. "Exploiting Microbial Polysaccharides for Biosorption of Trace Elements in Aqueous Environments—Scope for Expansion via Nanomaterial Intervention". *Polymers*, vol. 9, 2017, pp. 721.

NITĂ, I. et al. "The adsorption of heavy metal ions on porous calcium alginate microparticles". *Analele Universitatii Bucuresti, Anul XVI* 1, 2007, pp. 59-67.

PALMIERI, M.C.; VOLESKY B. & GARCIA O. "Biosorption of lanthanum using *Sargassum fluitans* in batch system". *Hydrometallurgy*, vol. 67(31), 2002.

PEARSON, R.G. "Hard and soft acids and bases, HSAB. Part 1: fundamental principles". *Journal of Chemical Education*, vol. 45, 1968, pp. 581.

PETERS, R.W. & SHEM L. "Separation of heavy metals: removal from industrial wastewaters and contaminated soil". *Energy Systems Division*, 1993.

POLLARD, S.J.T. et al. "Low-cost adsorbents for waste and wastewater treatment, a review". *Science of the Total Environment*, vol. 116, 1992, pp. 31-52.

PYRZYNSKA, K. "Removal of cadmium from wastewaters with low-cost adsorbents". *Journal of Environmental Chemical Engineering*, vol. 7, 2019, pp. 2213-3437.

RAMASUBRAMANIAM, S. et al. "Removal of cadmium (II) ions from aqueous solution using chitosan/starch polymer blend". *Composite Interfaces*, vol. 21(2), 2014, pp. 95-109.

RAMESH, A. et al. "Adsorption of gold(III), platinum(IV) and palladium(II) onto glycine modified crosslinked chitosan resin". *Bioresource Technology*, vol. 99, 2008, pp. 3801-3809.

REDDY, N.S. & RAO, K.S.V.K. "Polymeric Hydrogels: Recent Advances in Toxic Metal Ion Removal and Anticancer Drug Delivery Applications". *Indian Journal of Advances in Chemical Science*, vol. 4(2), 2016, pp. 214-234.

SÁNCHEZ-CAMARGO, A.P. et al. "Hansen solubility parameters for selection of green extraction solvents". *Trends in Analytical Chemistry*, vol. 118, 2019, pp. 227-237.

SANTOS, N.T.G.; DA SILVA, M.G.C. & VIEIRA, M.G.A. "Development of novel sericin and alginate-based biosorbents for precious metal removal from wastewater". *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 26, 2018, pp. 28455-28469.

SHALLA, A.H. et al. "Recent review for removal of metal ions by hydrogels". *Separation Science and Technology*, vol. 54(1), 2019, pp. 89-100.

SHAMIN, S. *Biosorption of Heavy Metals*. Intech Open, Capítulo 2, 2018.

SICUPIRA, D. et al. "Palladium and platinum sorption using chitosan-based hydrogels". *Adsorption*, vol. 16, 2010, pp. 127-139.

SILVA, T.L. et al. "Metallic affinity of toxic and noble metals by particles produced from sericin, alginate and poly-(ethylene glycol)". *Chemical Engineering Transactions*, vol. 56, 2017, pp. 1903-1908.

SPERLING, L.H. *Interpenetrating Polymer Networks and Related Materials*. Plenum Press, Nova York.

UTRACKI, L.A.; MUKHOPADHYAY, P. & GUPTA, R.K. "Polymer Blends: Introduction". In: UTRACKI, L.A. & WILKIE, C.A., Eds. *Polymer Blends Handbook*. 2. Ed., Springer, 2014.

VAN GOSEN, B.S. et al. "Rare-earth elements". In: SCHULZ, K.J.; DEYOUNG, J.H.; JR., SEAL II, R.R. & BRADLEY, D.C, Eds. *Critical mineral resources of the United States – Economic and environmental geology and prospects for future supply*. U.S. Geological Survey Professional Paper 1802, 2017, pp. O1-O31.

VARDHAN, K.H.; KUMAR, P.S. & PANDA, R.C. "A review on heavy metal pollution, toxicity and remedial measures: Current trends and future perspectives". *Journal of Molecular Liquids*, vol. 290, 2019, p. 111197.

VOLESKY, B. "Biosorption and me". *Water research*, vol. 41, 2007, pp. 4017-4029.

VOLESKY B. & HOLAN Z. R. "Biosorption of Heavy Metals". *Biotechnol*, vol. 11, 1995, pp. 235-250.

WANG, J. & CHEN C. "Biosorbents for heavy metals removal and their future". *Biotechnology Advances*, vol. 27, 2009, pp. 195-226.

WON, S.W. *et al.* "Platinum recovery from ICP wastewater by a combined method of biosorption and incineration". *Bioresource Technology*, vol. 101, 2010, pp. 1135-1140.

YANG, J-S.; XIE, Y-J. & HE, W. "Research progress on chemical modification of alginate: A review". *Carbohydrate Polymers*, vol. 84, 2011, pp. 33-39.

ZAW, K. *et al.* "Nature, diversity of deposit types and metallogenetic relations of South China", *Ore Geology Reviews*, vol. 31, 2007, pp. 3-47.

Capítulo 10

Biodegradação de plásticos

Lucia Helena Innocentini Mei

Departamento de Engenharia de Materiais e de Bioprocessos
Faculdade de Engenharia Química – UNICAMP

10.1 Introdução

O desejo de diminuir a quantidade cada vez maior de lixo plástico no planeta incentivou pesquisadores a procurarem por novos materiais que desempenhassem as mesmas funções que os plásticos convencionais, mas que pudessem ser decompostos no ambiente sem deixar resíduos deletérios. Desse modo, os plásticos biodegradáveis surgiram e têm sido motivo de muitas pesquisas que procuram garantir as mesmas propriedades e as mesmas funções que os tradicionais. Entretanto, nem sempre é possível substituir simplesmente um material por outro em determinadas situações, o que sem dúvida garante sua coexistência. Assim, Poliolefinas continuarão no mercado como um dos plásticos mais utilizados em commodities, porém a falta de conhecimento popular vem tornando esses e outros plásticos os vilões dos dias atuais em relação ao acúmulo de lixo plástico no mundo. De fato, esse passivo tem sido acumulado em quantidades enormes no ambiente, por conta da falta de consciência ambiental dos cidadãos que vivem principalmente nas grandes metrópoles. Plásticos são descartados em qualquer lugar, principalmente os que servem como recipientes de alimentos, bebidas e embalagens, apesar do apelo das cooperativas de reciclagem. A importância da grande utilidade dos plásticos em várias áreas de sua atuação, como na saúde, no transporte, na agricultura, na área de utilidades domésticas, brinquedos, embalagens, etc., tem sido ameaçada pelo constante ataque dos ambientalistas que, com toda razão e propriedade, mostram na mídia o descaso de autoridades que não fazem valer regras mais eficientes de coleta e destinação de lixo plástico e de usuários sem a mínima noção do mal que estão causando ao planeta com o descarte desenfreado desse material. A pergunta que se faz, então, é: Existe uma solução para isso, sem deixar de utilizar material

plástico? É possível convivermos com tais materiais se uma política severa na área da educação for implantada de modo a garantir o conhecimento necessário às novas gerações sobre o bom uso e o descarte correto dos materiais que utilizamos. Por outro lado, a ciência avança no sentido de criar alternativas sustentáveis que possam também contribuir para minimizar a situação. Nesse sentido, os plásticos biobased e/ou biodegradáveis, já apresentados no Capítulo 1, surgiram e estão sendo paulatinamente incorporados no nosso dia a dia, principalmente nos países desenvolvidos. Mas os plásticos biodegradáveis, que recebem essa denominação por serem degradados no ambiente por microrganismos, também devem ser descartados em ambiente adequado, pois de outro modo também podem causar danos ambientais.

Neste ponto introduzimos o conceito de Bioplásticos, cujo termo descreve duas classes de materiais. Ou seja, os *biobased* já vistos no Capítulo 1, e os plásticos biodegradáveis/compostáveis que são projetados para ter um prazo de existência. Destaca-se que, infelizmente, existem muita desinformação e propagandas enganosas no mercado. Por isso, serão abordados neste capítulo os plásticos biodegradáveis e os processos e mecanismos de biodegradação que levam tais plásticos à total mineralização, com formação de biomassa que pode ser reaproveitada pelo homem.

10.2 Plásticos biodegradáveis

Pesquisas apontam que a produção mundial de plásticos de consumo no mundo ultrapassa os 250 milhões de toneladas por ano, destacando-se as poliolefinas (World Plastic Production 2015). Sua duração bastante prolongada, chegando a séculos em alguns casos, faz parte da concepção inicial desses materiais para as utilizações planejadas (como tubos, aeronaves, etc.). Entretanto, a preocupação de que esses materiais poderiam acumular no ambiente após seu tempo de vida útil estava latente. De fato, com o aumento da produção e a baixa dos custos, o consumo de plásticos cresceu enormemente e hoje se tornou uma preocupação global, pois já se sabe que alguns perduram por décadas na natureza, como o caso do Poli(etileno tereftalato) ou PET cuja expectativa de vida foi estimada entre 27 e 93 anos em ambiente aquático.^{1,2}

Diferentemente desses polímeros, os polímeros ditos biodegradáveis devem sofrer mineralização no ambiente para produzir CO₂ (dióxido de carbono), biomassa e água. À

medida que cresce a conscientização sobre a poluição que o plástico causa ao ser incorretamente descartado, mais pesquisas são feitas para desenvolver plásticos degradáveis, principalmente à base de poliésteres como o poli(ácido lático) (PLA), que tem a propriedade de ser também compostável. Desse modo, esses plásticos são produzidos atualmente na escala de toneladas, o que contribui para a queda nos preços, indo de aproximadamente 1.000 U\$/kg para alguns poucos dólares, nas duas últimas décadas, e caminhando para um preço similar ao do poliestireno.³ Junto com o PLA, que responde por 24% da produção industrial mundial de polímeros biodegradáveis, existem hoje blendas (misturas) deste e de outros polímeros biodegradáveis com amido (polissacarídeo totalmente biodegradável e biobased) em teores elevados (~40%), barateando custos do produto final. Além do PLA, podem-se citar outros exemplos bem conhecidos de blendas poliméricas biodegradáveis com amido, tais como as de poli(butileno succinato) – PBS; poli(butileno adipato tereftalato) – PBAT (ou mais popularmente conhecido com o nome de Ecoflex); e os polihidroxialcanoatos (PHAs), produzidos em escala industrial (Tabela 1).⁴

Tabela 1: Capacidade global de produção de bioplásticos em 2018.⁵

Biobased/não biodegradáveis	%
PE	9,5
PET	26,6
PA	11,6
PTT	9,2
Outros	0,9
	Total = 56,8
Biodegradáveis	%
PBAT	7,2
PBS	4,6

PLA	10,3
PHA	1,4
Blendas de amido	18,2
Outros	1,5
	Total = 43,2 %
Total Geral	~2,11 milhões toneladas (2018)
	Previsão de ~2,62 milhões toneladas (2023)

Adaptada de⁵ (www.european-bioplastics.org/.....).

Existem várias definições para plásticos biodegradáveis e biodegradabilidade, porém podemos começar com uma pergunta: o que significa **biodegradação**? Uma definição bem simples seria “a desintegração da matéria por microrganismos como bactérias, fungos ou outro processo biológico que a consome e transforma em componentes inertes ao meio ambiente” (vide Anexo 1). Segundo a IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry), polímeros biodegradáveis são definidos como “polímeros susceptíveis à degradação pela atividade biológica acompanhada de perda de sua massa”.⁶ Chama-se a atenção do leitor para a diferenciação que existe entre material biodegradável e material compostável, já que é muito comum encontrarmos pessoas que acreditam ser a mesma coisa. Dizer que um material é biodegradável é admitir que ele poderá ser naturalmente decomposto por microrganismos, enquanto dizer que um material é compostável significa que ele se desintegra em determinadas condições específicas de biodegradação realizada com a ajuda do homem. A compostagem pode ser caseira ou comercial e resulta num solo final saudável que pode ser reutilizado. Quanto ao termo Compostagem, este tem sido usado na informalidade para descrever a biodegradação de materiais utilizados para embalagens; no entanto, a definição formal para o termo Compostabilidade é usada para descrever o processo que leva à formação do Composto

(material resultante da Compostagem). A União Europeia disponibiliza quatro critérios para Compostabilidade de um material.⁷

- Biodegradabilidade, que significa que um material biodegradável deverá ser convertido, dentro de um período de 6 meses, em mais de 90% de CO₂ e água sob ação de microrganismos.
- Qualidade, ou seja, ausência de substâncias tóxicas e outras substâncias que inibem o processo de compostagem do material.
- Composição química em que voláteis, flúor e metais pesados, presentes no material, devem obedecer aos limites impostos.
- Desintegração, onde 90% da massa original do material se quebra e dá origem a partículas que passam por uma peneira de poros com diâmetro de 2 mm.

Quando um material orgânico é descartado, ele poderá ser degradado em ambiente “aeróbio”, ou seja, na presença de oxigênio; porém, sua degradação pode acontecer também em ambiente ausente de oxigênio ou “anaeróbio”. Quando microrganismos presentes no meio secretam surfactantes, denominados 231eteroatomos231es, o processo de biodegradação é acelerado.⁸ Os inúmeros microrganismos existentes na natureza se beneficiam do material orgânico, utilizando-o como nutriente. Assim, uma enorme quantidade de compostos orgânicos sofre biodegradação, tais como hidrocarbonetos, compostos clorados e mesmo substâncias farmacêuticas, por exemplo, podendo incluir alguma etapa abiótica (sem interferência de microrganismos) no processo.

Em sua maioria, os compostos químicos, incluindo pequenas e grandes moléculas, estão sujeitos a sofrer biodegradação, a qual pode ser rápida (ocorre em poucos minutos, dias ou meses) ou lenta (ocorre por anos ou séculos). Vários são os fatores que determinam se a velocidade de biodegradação vai ser lenta ou rápida.⁹ Tais fatores são luz, água e oxigênio em ambientes aeróbios, sendo que a temperatura ocupa um papel importante para as reações químicas que são aceleradas quando esta se eleva. Além disso, existem os fatores físico-químicos, que também interferem na biodegradação,¹⁰ tais como:

- A presença de grupamentos químicos que conferem maior caráter hidrofóbico ao material, lembrando que quanto mais hidrofílico o material for mais rápida sua biodegradação.
- Densidade e massa molar das cadeias poliméricas: quanto menores, maior a taxa de biodegradação.
- Porcentagem de regiões cristalinas e amorfas, lembrando que material amorfó se biodegrada mais rápido.
- Estrutura da cadeia do polímero, que pode ser linear ou ramificada.
- Ligações químicas lábeis (fácil de quebrar), tais como ésteres e amidas.
- Composição de misturas em nível molecular.
- Geometria da amostra (grão, pó, filme, fibra, etc.).
- Flexibilidade das cadeias do polímero (taxa de biodegradação de polímeros macios é bem maior que a dos polímeros rígidos).

Quanto à avaliação da biodegradabilidade de materiais, esta pode ser acompanhada por ensaios já bem estabelecidos por normas. Existem várias maneiras de medi-la, sendo a Respirometria um teste que pode ser usado por micróbios aeróbios (que trabalham em ambientes oxigenados). Esse ensaio será abordado com mais detalhes posteriormente. Em breves palavras, ele consiste de recipientes adequados por normas, onde são colocadas amostras em presença de solo contendo microrganismos, que vão digeri-las no ambiente aerado. Ao longo do tempo, é monitorada a evolução de CO₂ e/ou o consumo de oxigênio.¹¹

10.3 Biodegradação de plásticos

Ao se falar em biodegradação, deve-se levar em conta que ela pode ocorrer em ambientes aerados (biodegradação aeróbia) e ambientes não aerados (biodegradação anaeróbia). A importância da biodegradação anaeróbia está diretamente ligada à coleta de resíduos residenciais, principalmente oriundos de cozinhas, o que tem motivado a crescente importância da compostagem anaeróbia em alguns países da Europa. Além desses resíduos, o gerenciamento de lixos plásticos presentes em fundos de lagos, rios e oceanos deve ser levado em consideração.

Os plásticos sofrem biodegradação em diferentes velocidades que dependem de sua natureza química, dos componentes que fazem parte de sua formulação e do tempo estimado de seu uso e descarte. Por exemplo, plásticos destinados a embalagens estão sendo desenvolvidos para ter uma vida média curta, quando expostos ao ambiente adequado à sua biodegradação, em relação aos outros que são usados diariamente e por tempo prolongado, como caixas de transporte de bebidas, caixas de armazenamento de água, etc.¹² Por sua vez, plásticos desenvolvidos para ter uma vida média longa, como tubulações de PVC, por exemplo, sofrem degradação muito lenta (muitas décadas e até mesmo séculos).

Dentre os plásticos que biodegradam numa velocidade maior estão muitos da família dos poliésteres naturais e sintéticos, alifáticos e/ou aromáticos, por apresentarem a ligação éster bastante susceptível à degradação por enzimas presentes nos microrganismos que os degradam. Exemplos típicos dessa família incluem a Policaprolactona (PCL) sintética e o Poli(3-hidroxibutirato) biobased, além dos derivados de celulose bastante utilizados no mercado.¹³ Recentemente, no ano de 2016, foi encontrada uma bactéria denominada *Ideonella sakaiensis* com capacidade para promover a biodegradação do poli(etileno tereftalato) – PET, muito conhecido atualmente e utilizado para estocar refrigerantes, dentre outras bebidas.¹⁴

10.4 Como ocorre a biodegradação?

O processo de biodegradação ocorre em mais de uma etapa, ou seja:

- 1) Biodeterioração, com a formação de um biofilme que leva à degradação da superfície e fragmenta as cadeias poliméricas resultando em pequenas partículas.
- 2) Em seguida, a segunda etapa, que envolve a despolimerização, ocorre pela ação de enzimas secretadas pelos microrganismos que formam o biofilme na etapa 1, que atuam como catalisadores que quebram as cadeias em espécies menores, denominadas oligômeros, dímeros e monômeros com massa molar bem menor que das cadeias poliméricas.
- 3) Num passo seguinte, as moléculas de baixa massa molar geradas são assimiladas pelos microrganismos, no processo chamado bioassimilação, e posteriormente metabolizadas.¹⁵

4) A mineralização é a última etapa, cujos metabólitos oriundos da bioassimilação são transformados em CO₂, CH₄, H₂O e N₂ e liberados no meio ambiente¹⁶ (vide figura abaixo).

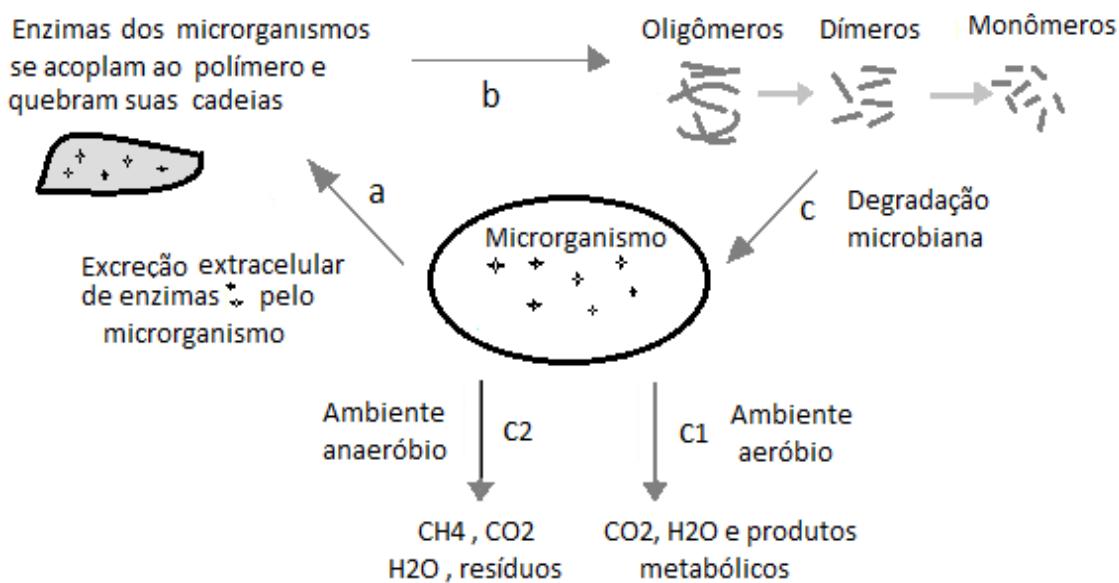


Figura 1: Mecanismo de biodegradação aeróbia e anaeróbia de um polímero por microrganismo genérico (Adaptada de Ahmed *et al.*, 2018).¹⁷

O processo de degradação dos polímeros geralmente sofre a influência de dois fatores, ou seja, abiótico e biótico. Enquanto o primeiro (abiótico) está relacionado com parâmetros como temperatura, stress mecânico e luz, o segundo (biótico) envolve microrganismos naturais como bactérias, fungos e algas.¹² No caso da degradação abiótica, sem influência de microrganismos, o polímero vai sofrendo transformações sob a influência de fatores ambientais como radiação/luz, calor, compostos químicos ao redor, quando exposto a eles, o que vai influenciar principalmente suas propriedades mecânicas. É fato que um polímero exposto à radiação UV torna-se frágil e quebradiço. Quando falamos de polímeros cujas cadeias possuem 234eteroatomos (átomos diferentes como C, N, O, p.ex.) como ésteres, amidas, uretanas, etc., estes estão susceptíveis à degradação hidrolítica.¹⁵ Tal degradação pode iniciar-se pela erosão da superfície do material ou no seu interior.

Segundo pesquisa realizada, o mecanismo de erosão na superfície ocorre quando a velocidade da hidrólise ultrapassa a velocidade de difusão da água no interior do material ou quando catalisadores, como enzimas, por ex., não conseguem se infiltrar no interior do

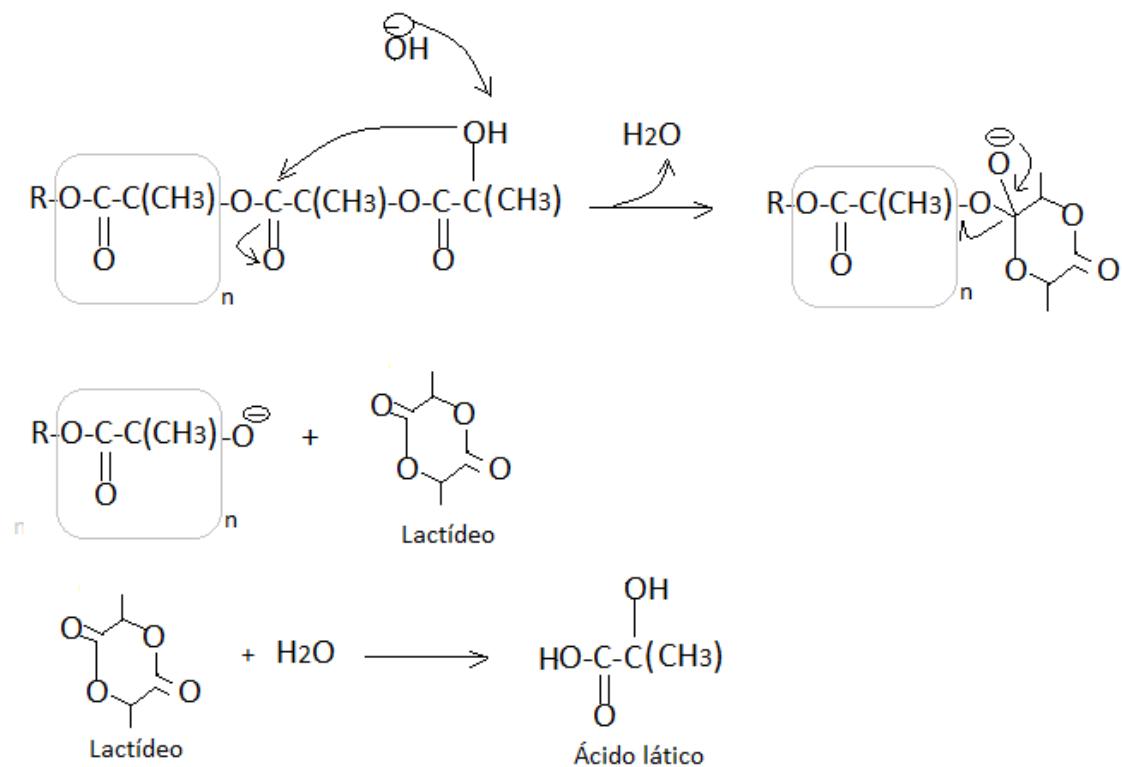
material.¹⁸ O processo de erosão superficial é o mecanismo preferido quando um polímero é hidrofóbico e semicristalino ou quando a taxa de hidrólise deste for bastante rápida. Por outro lado, o mecanismo de erosão interna predominará quando a velocidade de difusão da água ultrapassar a velocidade da reação de hidrólise. No entanto, é possível o intercâmbio de um mecanismo de erosão superficial para o de erosão no interior do material, em casos onde a espessura da amostra for abaixo de um valor crítico (L_{crit}).¹⁹ Um fator muito importante em relação à superfície é sua disponibilidade, ou seja, quanto maior a sua área disponível, mais irá promover a degradação.²⁰

Dentre os fatores externos, a temperatura influencia fortemente a velocidade de várias reações químicas, incluindo a hidrólise, e pode ser responsável indireta pela mudança de acidez ou basicidade do ambiente, medida pelo valor de pH. Por sua vez, o pH pode influenciar o mecanismo de hidrólise. Estudos mostraram que a hidrólise do Poli(ácido lático-co-glicólico) pode ser acelerada em ambos pH, ou seja, ácido e básico. Além disso, eles observaram que o tipo de mecanismo de degradação por hidrólise pode também mudar com a mudança de pH, de erosão superficial para erosão interna quando o pH vai de básico para ácido, levando a diferentes produtos da hidrólise; ou seja, di-lactídeo (ciclo de dois monômeros de ácido lático que se formou com a desidratação de duas unidades de ácido lático) em condições básicas e ácido lático em condições ácidas²¹ (vide Figura 2).

Pesquisadores relataram o grande efeito na velocidade da reação de degradação ácido-base catalisada, quando uma mudança no valor do pH de apenas uma unidade provocou um aumento dez vezes maior na velocidade de hidrólise.²² Também comentaram a dificuldade de avaliar a velocidade da reação quando o pH se torna neutro, e a possibilidade de aumentar a velocidade de reação de 10^8 a 10^{20} vezes em temperaturas moderadas.²³ A influência da massa molar das enzimas também é um fator a se considerar. As enzimas com massas molares acima de vários kDa não conseguem penetrar no interior do material, como já mencionado anteriormente, e portanto atuam na superfície.¹⁸ Já é fato conhecido que certas enzimas são mais específicas em sua ação como catalisadores, como as alfa-éster proteases; as beta-éster depolimerase, que atuam no poli(hidroxibutirato)(PHB), e as gama-ômega lipases.²⁴ No caso de PLA, por ex., lipases podem atuar sobre elas e também em outros polímeros biodegradáveis.^{24,25,26,27} Muitos microrganismos produzem essas enzimas,

capazes de biodegradar os polímeros susceptíveis à hidrólise enzimática, tais como na Tabela 2 (pag. 235).

a. Em meio básico:



b. Em meio ácido:

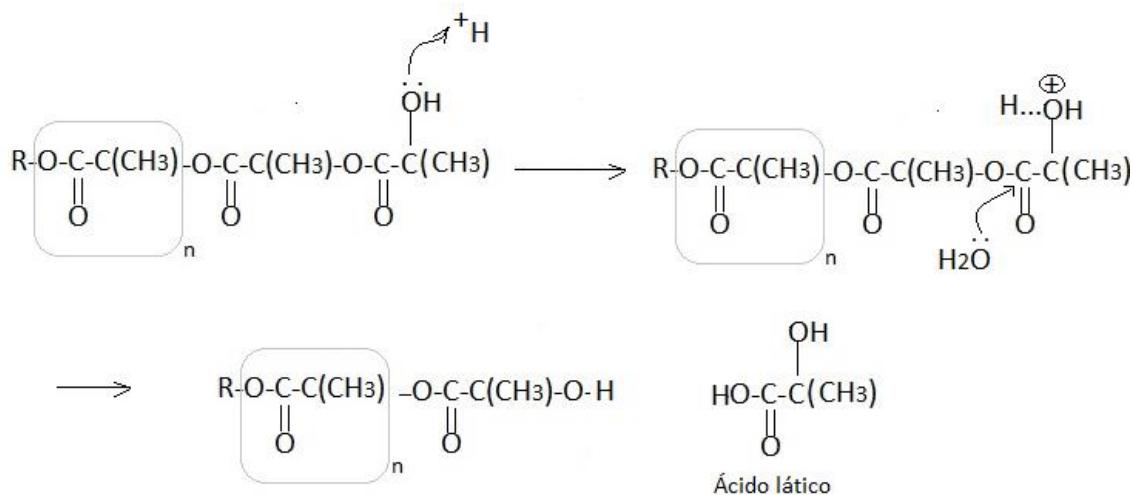


Figura 2: Degradção do poli(ácido láctico) em meio básico (a) e meio ácido (b) (Adaptada de Haider *et al.*, 2019)¹⁵.

Tabela 2: Alguns exemplos de microrganismos/enzimas produzidas que biodegradam alguns polímeros.

Microrganismo	Enzima	Polímero	Ref.
<i>Actinomadura sp.</i> T16-1 (bactéria do solo)	Protease	PLA	[a,b]
<i>Alcaligenes sp.</i> (bactéria do solo)	Lipase	PLA	[b,c]
<i>Penicillium oxalicum</i> (fungo do solo)	PCL depolimerase	PCL	[d,e]
<i>Aspergillus sp.</i> (fungo do solo)	Amilase	Amido (Blenda)	[f,g]
<i>A. faecalis</i> (bactéria do mar)	PHB depolimerase	PHB	[h,i]

Adaptada de Haider *et al.* (2019).¹⁵

As condições de biodegradação de alguns polímeros mais abundantes, com diferentes formas e com enzimas de diversos microrganismos, podem ser vistas na Tabela 3. A quebra das cadeias poliméricas pode ser avaliada pela diminuição da massa molar, que pode ser avaliada por cromatografia de exclusão de tamanho (GPC) ou pela detecção de monômeros gerados durante a degradação, como o ácido láctico oriundo da degradação do PLA, por exemplo.^{34,35} Essa queda na massa molar pode gerar produtos solúveis em água e indicar o nível de Mineralização atingida, total ou parcial, por meio da quantidade de CO₂ evoluído.³⁶ Porém, segundo a Norma CEN/TR 15351 de 2006 do Comitê Europeu de Normatização (CEN), a Mineralização de um material biodegradável deve gerar além de dióxido de carbono (CO₂), também água e biomassa durante a biodegradação. (PD CEN/TR

15351:2006, BSI³⁷ Isso garante, de fato, um desaparecimento completo do material, que não é garantido por uma simples avaliação da diminuição na massa molar.

Destaca-se que a temperatura é um parâmetro importante para a atividade enzimática, que pode ser máxima em valores mais elevados que o ambiente onde o material está exposto. Exemplo disso foi relatado por estudiosos que mostraram que a enzima Lipase PL, oriunda da bactéria *Alcaligenes sp.*, apresenta seu máximo de atividade numa reação a 50 °C.²⁵ Quando a temperatura reduz 20°C, a atividade enzimática é drasticamente reduzida na reação para um valor em torno de 60%. Na realidade, num ambiente natural e incontrolável fora do laboratório, a temperatura será abaixo da necessária para a enzima atingir sua atividade máxima e, assim, a velocidade de uma reação será menor que a aquela observada no laboratório.

Tabela 3: Exemplos de biopolímeros e sua degradação por enzimas presentes em microrganismos.

Polímero	Forma	Microrganismo	Atividade	Condições	Degradação
PLA	Filme (em emulsão)	<i>Actinomadura sp.</i> T16-1 (Bactérias actinomiceto do solo)	protease	Meio mineral, pH 6,9 e 50 °C por 96 h	Formação de produtos de degradação solúveis em água. Obs.: Ensaio de turbidez (diminuição de turbidez).
	Não informada	<i>Bacillus smithii</i> strain PL21 (bactérias de composto)	esterase/ protease	pH 5,5 e 60 °C por 4 dias	Mudança na Massa molar Ensaio de cromatografia de exclusão por tamanho (SEC)

	Filme (2W2 cm ²)	<i>Alcaligenes sp.</i> (Bactérias do solo)	lipase	pH 8,5 e 55 °C	desaparecimento do filme depois de 20 dias; ácido láctico detectado por cromatografia HPLC; Massa molar reduzida (SEC)
	Filme soprado (espessura 46 µm)	<i>Tritirachium album</i> ATCC 22563 (fungo do solo)	protease	30 °C por 5 dias	perda de peso do filme (76%), produção de ácido láctico (analisada com kit de bioanálise enzimática)
PHB	Filme (10x10 mm ² de área e 0,04-0,07 mm de espessura)	<i>A. faecalis</i> (bactéria da água do mar)	PHB depolimerase	pH 7,5 e 37°C, por 20 h	Perda de peso (68%)
	Grânulos	<i>Ralstonia pickettii</i> T1, cultivada	PHB depolimerase	pH 7,5 e 37 °C	Mudança na estrutura cristalina detectada por Microscopia de força atômica (AFM)
Blenda	Sacola	<i>Aspergillus sp.</i>	amilase	Solo	Perda de peso

de amido (15x15 cm)	plástica (15x15 cm)	(fungo do solo)		artificial, 28 °C, no escuro	37% após 90 dias
PCL	filme (0,1 mm espessura)	<i>Penicillium oxalicum</i> (fungo de solo)	PCL depolimerase	Meio de cultura, pH 6,8 e 28°C	Perda de peso completada após 10 dias

Adaptada de Haider *et al.*, 2019.¹⁵

Quando se trata de ambiente natural, é comum encontrar misturas complexas de microrganismos e enzimas que vivem em simbiose e que nem sempre degradam os polímeros descartados ao redor, por não possuírem a enzima específica para tal. Isso leva à reflexão sobre quanto um ensaio de biodegradação laboratorial de um polímero reproduz as condições ambientais a que ele estará sujeito após o descarte num determinado ambiente, incluindo o tipo de consórcio de microrganismo desse local.

10.5 Teste de degradação ambiental

É possível mimetizar no laboratório um ensaio de biodegradação que ocorre na natureza, através do uso de padrões já desenvolvidos por vários países, alguns internacionais e outros apenas nacionais.

10.5.1 Normas-padrão para ensaios de biodegradabilidade de materiais em diversos ambientes

Primeiramente iniciamos chamando a atenção para o papel da padronização, a qual traduz os esforços de setores industriais interessados em criar critérios e diretrizes para descrever produtos, serviços e processos. A intenção é de facilitar a competição e o crescimento industrial para vencer barreiras criadas por especificações pouco claras, com relação a parâmetros de referência, para requisitos de qualidade desejados para produtos. Essa atitude é responsável por minimizar os comportamentos fraudulentos que persistem no mercado competitivo. Embora a adesão ao uso de padrões e métodos não seja obrigatória, quem pratica tem mais respaldo para garantir que as especificações de produto para uma

determinada aplicação estão sendo seguidas à risca. Com isso pode-se garantir uma alta qualidade do produto, seja ele para uso na área agrícola, farmacêutica, ambiental, etc.

Três organizações internacionais criadoras de normas no mundo, bem conhecidas e respeitadas, são: ISO (Organização Internacional de Normalização), CEN (Comitê Europeu de Normalização) e ASTM (Sociedade Americana de Testes e Materiais). A harmonização dessas normas fica por conta do CEN para atender interesses comerciais comuns entre diferentes países. Já em níveis nacionais, existem outras organizações nacionais de padronização. Ressalta-se que para garantir que um produto está de acordo com uma norma, ele deve portar o selo ou etiqueta de certificação. No caso de se alegar a biodegradabilidade de um produto, as condições do ambiente onde ela ocorreu têm que ser especificadas.³⁸

10.5.2 Padrões usados para testar produtos biobased

O ensaio regido pela norma internacional ASTM D6866, para determinação do isótopo ¹⁴C do carbono, permite ao interessado avaliar o conteúdo de carbono que vem de fonte renovável (biológica). Lembra-se que normalmente o carbono de fonte fóssil é o isótopo ¹³C do carbono. Dependendo da composição de um material, ele poderá ter de 0% a 100% de base biológica. Um padrão da comunidade europeia similar também existe e foi publicado em 2017 com a sigla EN 16640. Para complementar essa norma, a norma europeia EN 16785-1 foi criada com o objetivo de determinar outros componentes de base biológica, utilizando a análise de radiocarbono e análise elementar, permitindo rastrear outros elementos de base biológica em um polímero pela análise química elementar. Em seguida, em 2018, surgiu a norma EN 16785-2, que se baseia na quantificação do conteúdo de componentes de base biológica renovável pelo método de balanço de material.³⁸

10.5.3 Padrões usados para testar compostagem industrial e digestão anaeróbica

Segundo a norma europeia EN 13432, que dita os requisitos para o estudo da biodegradação de embalagens biodegradáveis recuperáveis por compostagem e biodegradação, uma desintegração mínima de 90% do material testado deve ocorrer após 3 meses, enquanto 90% de biodegradação desse material, medida pela evolução de CO₂, deve

ocorrer em seis meses. Também os ensaios de ecotoxicidade e de teor de metais pesados devem ser realizados. Esse padrão é direcionado só para embalagens projetadas para serem encaminhadas a tratamento de compostagem industrial e de digestão anaeróbica, após vida útil. Porém, a norma EN 14995, que tem os mesmos requisitos de teste, é mais ampla e aplica-se não apenas a embalagens, mas a plásticos em geral. E esses mesmos requisitos ainda se aplicam para a norma ISO 18606 “Embalagem e meio ambiente – Reciclagem orgânica” e a norma ISO 17088 “Especificações para plásticos compostáveis”.³⁸

10.5.4 Padrão para compostagem caseira

Ainda não existe um padrão internacional para reger as condições específicas para a prática da compostagem doméstica de plásticos biodegradáveis. Porém, padrões nacionais foram e podem ser desenvolvidos por países, como no caso da Austrália e sua norma AS 5810 “Plásticos biodegradáveis – plásticos biodegradáveis adequados para compostagem doméstica”; da Bélgica, com sua instituição certificadora Vinçotte, que desenvolveu processo de certificação caseira lançando o selo “OK Composto” para certificar que um composto apresentou, à temperatura ambiente, degradação $\geq 90\%$ em 1 ano. Essa atitude foi adotada também pela França, a qual criou a norma NF T 51-800 “Plásticos – Especificações para plásticos adequados para compostagem doméstica”.³⁸

10.5.5 Biodegradação em solo

A certificação para: “Bioproductos – degradação no solo”, desenvolvida pela Belga TÜV ÁUSTRIA (antiga Vinçotte), está baseada nas normas europeias EN13432/EN14995, relativas à compostagem industrial de embalagens e de plásticos, respectivamente, as quais foram adaptadas para os ensaios de degradação no solo. Nesses ensaios, a biodegradação deve ser de, no mínimo, 90% em dois anos e à temperatura ambiente.³⁸ Normas-padrão específicas também existem, como o caso da EN 17033 publicada em 2018, que se refere a “Filmes tipo cobertura e biodegradáveis para utilização na agricultura e horticultura – Requerimentos e métodos de ensaios”, que especifica os requerimentos para filmes biodegradáveis não removíveis manufaturados com termoplásticos para serem aplicados

como cobertura. Segundo a norma, é requerida uma degradação do material de, no mínimo, 90%, num período de dois anos, devendo ocorrer preferencialmente a 25°C.³⁸

10.5.6 Padrões utilizados para testar biodegradação de plásticos em ambientes de água fresca e tratamento de esgotos

Atualmente existem dois padrões internacionais que estão ativos para se estudar a biodegradabilidade aeróbia de plásticos em águas residuais e lodo de esgoto (oxidação bioquímica dos compostos orgânicos e inorgânicos presentes nos esgotos, sob a ação de uma população microbiana). São eles o BS EN ISO 14851:2004 (Tabela 4)³⁹ e o BS EN ISO 14852:2004 (Tabela 4)⁴⁰. Tais padrões também estão incluídos na lista de certificações do Belgium Testing Institute Vinçotte que emite selos a produtos garantindo sua natureza, como por exemplo: “OK Biodegradável em água” (www.okcompost.be), com as siglas BS EN 14987:2006 (The British Standards Institution – BSI). Todos esses citados têm o mesmo requerimento necessário para atestar que um produto é biodegradável. Em resumo, o padrão BS EN 14987:2006 especifica métodos e critérios de teste que são utilizados para se assegurar que um plástico, no estado sólido, pode ser descartado, ou não, em sistemas de tratamento de águas residuais. Ainda neste item, podemos citar duas normas internacionais que regem os testes anaeróbios em lodos e águas residuais, ou seja, BS ISO 13975:2012 (Tabela 4)⁴¹ e BS EN ISO 14853:2016 (Tabela 4) ⁴². Uma tabela detalhada sobre esses quatro padrões citados segue abaixo:

Tabela 4: Importantes padrões atualmente ativos para testes aeróbios e anaeróbios de plásticos descartados em estações de tratamento de águas residuais e lodo ativado.³⁹⁻⁴³

Padrão: BS EN ISO / réplicas	Inóculo/Meio de Degradação	T (°C)	Tipo de medida (Ensaios em condições estáticas)	Duração máxima do ensaio meses)	Critério de validação
14851-	Lodo ativado, composto e/ou	20 – 25 (± 1)	BOD (demanda)	6	Valor obtido > 60%

2004/2. ³⁹	solo (ambiente aeróbio sintético).		biológica de oxigênio)		de degradação relativo ao material de referência. BOD do controle negativo não deve exceder o valor limite da norma.
14852- 2004/2. ⁴⁰	Lodo ativado, composto e/ou solo (ambiente aeróbio sintético)	20 – 25 (\pm 1)	Evolução de CO ₂	6	Valor obtido > 60% de degradação relativo ao material de referência. CO ₂ evoluído não deve exceder o limite superior da norma
13975- 2012/2. ⁴¹	Lodo ativado, fezes de gado ou outro dejetos orgânicos. (exposição anaeróbia direta ao inóculo)	35 (\pm 3) ou 55 (\pm 5)	Evolução de CO ₂ e CH ₄ . DIC (teor do carbono interno dissolvido)	3	Valor obtido > 70% de degradação relativo ao material de referência, dentro de 15 dias. Diferença entre duplicatas não superior a 20%.
14853- 2016/3. ⁴²	Lodo ativado digerido (lodo bruto com baixas frações de biodegradáveis, baixa geração de odores e baixa concentração de patógenos) ou preparado em laboratório.	35 (\pm 2)	Evolução de CO ₂ e CH ₄ . DIC (medida do carbono interno dissolvido)	3	Valor obtido > 70% de degradação relativo ao material de referência. O pH do meio deve permanecer entre 6 – 8

Adaptada de Harrison *et al.*⁴³

Quanto às amostras para testes, a maioria dos protocolos recomenda que elas sejam ensaiadas na forma de pó, mas aceitam que outras formas sejam ensaiadas, tais como filmes, peças e fragmentos. No que se refere às amostras de polímero, embora seja sempre recomendado por parte de determinados protocolos o uso de amostras puras (só o polímero a ser analisado), os padrões podem ser aplicados também para materiais poliméricos misturados (blendados com outros polímeros), para copolímeros e polímeros solúveis em água.

10.5.7 Padrões utilizados para testar biodegradação de plásticos em ambientes marinhos

Ambientes marinhos são variados, com uma imensa gama de *habitats*, e respondem por dois terços da superfície da Terra. Eles incluem não só os ecossistemas abertos e costeiros (como estuários e locais de marés), indo do raso ao mais profundo das águas. A preocupação com a biodegradação aeróbica de plásticos, ocupando as interfaces água do mar e sedimento marinho arenoso, renderam dois padrões internacionais ISO que estão ativos, ou seja, o ISO 18830: 2016/3 (Tabela 5)⁴⁴ e o ISO 19679: 2016/3 (Tabela 5)⁴⁵ mostrados na Tabela 5, os quais envolvem ensaios laboratoriais de biodegradação, seguindo a demanda de oxigênio ou a evolução de CO₂.

Tabela 5: Importantes padrões atualmente ativos para testes aeróbios e anaeróbios de plásticos descartados em ambientes marinhos.⁴⁴⁻⁴⁸

Padrões ou método de testes/réplicas [refs.]	Inóculo/Meio de Degradação	T (°C)	Tipo de medida (Ensaios em condições estáticas)	Duração máxima do ensaio (meses)	Critério de validação
iso 18830-2016/3. ⁴⁴	Sedimento ou Sedimento e água do mar	15 – 28 (± 2)	BOD (demanda biológica de oxigênio) ensaio	24	Valor obtido > 60% de degradação relativo ao material

	(água do mar sintética ou natural)		estático.		referência. BOD do controle negativo não deve exceder o valor limite da norma.
iso 19679-2016/3. ⁴⁵	Sedimento ou Sedimento e água do mar (água do mar sintética ou natural)	Água do mar sintética ou natural	Evolução de CO ₂ (ensaio estático)	24	Valor obtido > 60% de degradação relativo ao material de referência. CO ₂ evoluído não deve exceder o limite superior da norma.
ASTM D6691-09/ne. ⁴⁶	Linhagens pré-selecionadas (aeróbicas)ou Água do mar (sintética)	30 (\pm 1)	Evolução de CO ₂ (ensaio estático)	3	\geq 70% de degradação relativo ao material de referência.
ASTM D7473-12/3. ⁴⁷	Água do mar ou Combinação de água do mar e sedimento (exposição direta ao inóculo; aeróbica *)	Várias (dependerá das condições <i>in situ</i>)	Evidência visual da degradação; perda de massa seca	6	NE
ASTM D7991-15/3. ⁴⁸	Sedimento e água do mar	15 – 28	Evolução de CO ₂	24	\geq 60% de degradação relativo ao

	(exposição direta ao inóculo; aeróbica)	(± 2)	(ensaio estático)		material de referência.
--	---	-------	-------------------	--	-------------------------

NE: não especificado; * Processos anaeróbicos também podem ter papel na biodegradação.

O material para ensaio é colocado sobre a superfície do sedimento que está em contato direto com água do mar oxigenada (Adaptada de Harrison *et al.*, 2018).⁴³

Adicionalmente, dois métodos regionais ativos foram desenvolvidos e permitem seguir a biodegradabilidade de plásticos em ambiente marinho aeróbico: ASTM D6691-09/NE (ASTM International. 2009 ASTM D6691-09/NE) e ASTM D7473-12/3 (ASTM International. 2012 ASTM D7473-12/3) (Tabela 5). O primeiro, ASTM D6691-09 (Tabela 5)⁴⁶, segue a evolução de CO₂ em condições controladas; e o segundo, ASTM D7473-12/3 (Tabela 5)⁴⁷ se baseia em análise visual para a biodegradação e a porcentagem de perda de massa de plástico durante sua exposição à água do mar em um sistema de fluxo contínuo (Tabela 5)⁴⁸. Este último método de teste citado (ASTM D7473-12/3) não é considerado, por si só, suficiente para estabelecer a biodegradabilidade, sendo apenas validado para materiais que apresentam, no mínimo, 30% de biodegradabilidade no teste ASTM D6691-09. Foi também lançado um método ASTM D7991-15/3 (Tabela 5)⁴⁸ para seguir a biodegradação aeróbica de plásticos pela evolução de CO₂, em condições que simulam o seu enterro em ambiente com sedimentos arenosos (Tabela 5). Neste teste são utilizados água do mar e sedimentos coletados *in situ* e armazenados por até 5 semanas em laboratório.⁴³ Uma análise minuciosa mostra que os ensaios de biodegradação desenvolvidos para os ambientes marinhos são similares aos que são aplicados para esgotos e águas residuais. Os inóculos usados em testes podem ser oriundos de linhagens pré-selecionadas de microrganismos ou daquelas já existentes no ambiente de estudo, sendo exigido o contato direto das amostras com o inóculo, por alguns testes padronizados atualmente em curso (Tabela 5).

Importante salientar que para adaptar os resultados de testes de biodegradação enzimática desenvolvidos em laboratórios, para biodegradação em ambientes naturais, os microrganismos utilizados no laboratório devem estar presentes no ambiente onde eventualmente o plástico vai ser descartado. Isso implica que a origem de microrganismos é

um fator essencial para decidir se um ensaio de degradação enzimática pode ou não contribuir para a avaliação da biodegradabilidade de um determinado polímero em ambientes reais. Exemplo de pesquisa utilizando microrganismo do ambiente foi feita por um grupo de pesquisadores, os quais extraíram a bactéria *Bacillus smithii* cepa PL21 de um lixo em fermentação (composto) para estudar a biodegradação do PLA.⁴⁹ Outros pesquisadores estudaram a biodegradação de plásticos biodegradáveis em ambiente aeróbio, usando a norma ASTM D5247-92, testando microrganismos específicos do solo (*Streptomyces setonii* ATCC39115 e *Streptomyces viridosporus* ATCC39115) no meio de cultura.²⁴ Nesse ensaio, o polímero pesquisado era a única fonte de carbono para os microrganismos utilizarem.

De acordo com estudos em ambiente natural, os microrganismos nem sempre escolhem o polímero como sua fonte de carbono, já que outras fontes podem existir no local.²⁰ Além disso, os microrganismos que biodegradam o polímero podem estar em menor quantidade na população local complexa de microrganismos e, assim, eles têm que competir e garantir sua sobrevivência, o que vai assegurar que a biodegradação vai ocorrer. Daí a importância dos testes-padrão de biodegradação regidos por normas, como as da ASTM (American Society for Testing and Materials) ou da OCDE (Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico) que recomendam a utilização de ambientes simulados ou reais para que a avaliação da biodegradação seja a mais real possível.²⁴ Como exemplo, citamos o ensaio OCDE-306 em que uma solução preparada com nutrientes minerais e água do mar, coletada e armazenada em temperaturas moderadas, é utilizada como o meio de biodegradação (OECD, 1992) dentro de dois dias, preferencialmente. Nesse ensaio deve ser descrito o nível de poluição da água do mar coletada para o teste, bem como devem ser informados os nutrientes utilizados e a contagem das colônias heterotróficas microbianas existentes no meio. Com essas informações, o ensaio é realizado e a biodegradabilidade da amostra é seguida pela avaliação precisa da quantidade de carbono orgânico dissolvido no meio (DOC).

10.5.8 Monitoramento da biodegradação por meio de técnicas analíticas

Podem-se observar visualmente as alterações e geralmente o teste é qualitativo, fornecendo uma estimativa do processo de biodegradação no caso de materiais

biodegradáveis. Esse teste é de baixo custo e simples, mas não pode ser conclusivo, pois ele envolve erro humano. Assim, junto com o teste visual são realizadas medições de perda de massa, por exemplo, que se correlacionam muito bem com a evolução de CO₂.⁵⁰ No entanto, medidas de perda de massa são realizadas em intervalos específicos de tempo (processo não contínuo) e estão sujeitas a erros inerentes. Conforme já mencionado anteriormente, todo material que apresentar mais de 90% de perda de massa é aceito como completamente biodegradável. Destaca-se que as medidas de perda de massa são mais fáceis de seguir do que a evolução de gases, porém, bioplásticos à base de amido, por exemplo, absorvem muita umidade e isso influencia nas medidas de perda de massa. Nesses casos, as amostras para testes devem ser secas previamente, lembrando que o ambiente de teste deve ter uma umidade relativa de 60% segundo regem as normas.

É importante lembrar que à medida que um material degrada, ele se fragmenta e libera partículas ao redor do ambiente de teste, as quais podem migrar para os arredores, influenciando os valores de perda de massa.⁵¹ Nesses casos é importante tomar medidas para amenizar essas perdas, adotando o uso de pequenas bolsas feitas com tecido de nylon, para proteger as amostras e permitir ao mesmo tempo a migração de umidade e de células dos microrganismos que vão degradar as amostras.⁵⁰

Voltando às mudanças nas propriedades mecânicas (por exemplo, resistência à tração, módulo de elasticidade e alongamento na ruptura) dos materiais degradados/biodegradados, estas são alteradas e simples de medir, se compararmos com a evolução de gases, como CO₂. Geralmente as alterações que ocorrem são seguidas de redução na massa molar do material, por causa da oxidação enzimática ou hidrólise. Entretanto, chama-se atenção para o fato de que, no período que antecede a fragmentação do material por ação microbiológica, é comum a formação de fissuras e de irregularidades na superfície causadas por processos não biológicos (abióticos) que podem interferir significativamente nos resultados dos ensaios mecânicos. Neste caso destacam-se os bioplásticos à base de amido, que comumente se tornam quebradiços ao longo do tempo, devido à mudança de no seu grau de cristalinidade.⁵² Em geral, a exposição de determinados plásticos à radiação UV e ao calor pode afetar significativamente suas propriedades mecânicas, dando margem à dúvida de quanto a degradação desses plásticos

se deve à ação somente dos microrganismos. Ou seja, nesses casos deve-se atentar para a contribuição de vários eventos que ocorreram para a degradação dos plásticos.

A combinação de métodos de análise é uma prática comum e bem-vinda para validar e dar crédito ao veredito final sobre o comportamento dos materiais. Para assegurar que a biodegradação de um polímero ocorreu, podem-se complementar os ensaios acima descritos com outros que detectam mudanças na estrutura das cadeias, ao longo do processo de biodegradação. Nesse caso são comuns as medições de hidrólise de superfícies, bem como o uso de técnicas de cromatografia e espectrométricas. O uso de técnicas para estudar a morfologia de um material, como a microscopia óptica (MO) e a eletrônica de varredura (MEV), é uma prática adotada em pesquisas para se verificar a biodeterioração na superfície causada pela atividade microbiana, ou pela formação de um biofilme pelos microrganismos.^{53,54} Caso seja de interesse quantificar a população microbiana na superfície da amostra, a microscopia de fluorescência é bem recomendada.⁵⁵ Além das técnicas citadas, outras podem ser utilizadas e/ou adaptadas a cada situação. O importante para se obter uma resposta confiável e reproduzível é a adoção de práticas bem estabelecidas e baseadas em normas já consolidadas.

Encerrando este capítulo, esclarecemos aos iniciantes que a disponibilização de Normas Brasileiras e Internacionais, para realização de testes e desenvolvimento de métodos para qualquer material além dos poliméricos, só é possível mediante compra da cópia dos procedimentos.

10.6 Referências

1. EDGE, M. *et al.* “Aspects of poly(ethylene terephthalate) degradation for archival life and environmental degradation”. *Polym. Degrad. Stab.*, vol. 32, 1991, pp. 131-153.
2. ALLEN, N.S. *et al.* “Physicochemical aspects of the environmental degradation of poly(ethylene terephthalate)”. *Polym. Degrad. Stab.*, vol. 43, 1994, pp. 229-237.
3. SCHNEIDERMAN, D.K. & HILLMYER, M.A. “50th Anniversary Perspective: There is a Great Future in Sustainable Polymers”. *Macromolecules*, vol. 50, 2017, pp. 3733-3749.
4. Bioplastics market data 2017, European Bioplastics. Disponível em: <<https://www.european-bioplastics.org/market/>>. Acessado em: 20/07/2019.

5. <www.european-bioplastics.org/wp-content/uploads/2016/02/Report_Bioplastics-Market-Data_2018.pdf>.
6. MCNAUGHT, A.D. & WILKINSON, A. “IUPAC – *Compendium of Chemical Terminology*” (the “Gold Book”), 2. Ed., WileyBlackwell, Chichester, 1997.
7. <<https://www.european-bioplastics.org/bioplastics/standards/>>.
8. <<https://www.psssurvival.com/PS/Composting/Biodegradation-2017.pdf>>.
9. SIMS, G.K. & CUPPLES, A.M. “Factors controlling degradation of pesticides in soil”. *Pest Management Science*, vol. 55, 1999, pp. 598-601.
10. ALSHEHREI, F. “Biodegradation of Synthetic and Natural Plastic by Microorganisms”. *J. Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 5, 2017, pp. 8-19.
11. <<http://www.sciencelearn.org.nz/Contexts/Enviro-imprints/Looking-closer/Measuring-biodegradability>>. Acessado em 23/07/2019.
12. KYRIKOU, I. & BRIASSOULIS, D. « Biodegradation of Agricultural Plastic Films : A Critical Review ». *J. Polym. Environ.*, vol. 15, 2007, Springer, NY, revisado em 2015, pp. 125-150.
13. <<https://en.wikipedia.org/wiki/Biodegradation> 1/7/2017>.
14. YOSHIDA, S. *et al.* “A bacterium that degrades and assimilates poly(ethylene terephthalate)”. *Science*, vol. 351, 2016, pp. 1196-1199.
15. HAIDER, T.P. *et al.* “Plastics of the Future? The Impact of Biodegradable Polymers on the Environment and on Society”. *Angew. Chem. Int.*, vol. 58, 2019, pp. 50-62.
16. LUCAS, N. *et al.* “Polymer biodegradation: Mechanisms and estimation techniques – A review”. *Chemosphere*, vol. 73, 2008, pp. 429-442.
17. AHMED, T. *et al.* “Biodegradation of plastics: current scenario and future prospects for environmental safety”. *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 25, 2018, pp. 7287-7298.
18. LAYCOCK, B. “Lifetime prediction of biodegradable Polymers”. *Prog. Polym. Sci.*, vol. 71, 2017, pp. 144-189.
19. LYU, S. & UNTEREKER, D. “Degradability of Polymers for Implantable Biomedical Devices”. *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 10, 2009, pp. 4033-4065.
20. ANDRADY, A.L. “Assessment of Environmental Biodegradation of Synthetic Polymers”. *J. Macromol. Sci. Part C: Polym. Rev.*, vol. 34, 1994, pp. 25-76.

21. SHEN, J. & BURGESS, D.J. “Accelerated in-vitro release testing methods for extended-release parenteral dosage forms”. *J. Pharm. Pharmacol.*, vol. 64, 2012, pp. 986-996.
22. PIERRE, T.S. & CHIELLINI, E. “Review: Biodegradability of Synthetic Polymers Used for Medical and Pharmaceutical Applications: Part 1 – Principles of Hydrolysis Mechanisms”. *J. Bioact. Compat. Polym.*, vol. 1, 1986, pp. 467-497.
23. RITTIÉ, L. & PERBAL, B. “Enzymes used in molecular biology: a useful guide”. *J. Cell Commun. Signaling.*, vol. 2, 2008, pp. 25-45.
24. EUBELER, J.P.; BERNHARD, M. & KNEPPER, T.P. “Environmental Biodegradation of Synthetic Polymers . Part II. Biodegradation of Different Polymer Groups”. *TrAC Trends Anal. Chem.*, vol. 29, 2010, pp. 84-100.
25. HOSHINO, A. & ISON, Y. “Degradation of aliphatic polyester films by commercially available lipases with special reference to rapid and complete degradation of poly(L-lactide) film by lipase PL derived from *Alcaligenes sp*”. *Biodegradation*, vol. 13, 2002, pp. 141-147.
26. TOKIWA, Y. & CALABIA, B.P. “Biodegradability and biodegradation of poly(lactide)”. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 72, 2006, pp. 244-251.
27. QI, X.; REN, Y. & WANG, X. “New advances in the biodegradation of Poly(lactic acid)”. *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, vol. 117, 2017, pp. 215-223.
28. SUKKHUMN, S.; TOKUYAMA, S. & KITPREECHAVANICH, V. “Development of fermentation process for PLA-degrading enzyme production by a new thermophilic *Actinomadurasp T16-1*”. *Biotechnol. Bioprocess. Eng.*, vol. 14, 2009, p. 302.
29. LI, F. “Biodegradation of poly(ϵ -caprolactone) (PCL) by a new *Penicillium oxalicum* strain DSYD05-1”. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 28, 2012, pp. 2929-2935.
30. KUMAR, S. & MAITI, P. “Controlled biodegradation of polymers using nanoparticles and its application”. *RSC Adv.*, vol. 6, 2016, pp. 67449-67480.
31. ACCINELLI, C. *et al.* “Deterioration of bioplastic carrier bags in the environment and assessment of a new recycling alternative”. *Chemosphere*, vol. 89, 2012, pp. 136-143.
32. EMADIAN, S.M.; ONAY, T.T. & DEMIREL, B. “Biodegradation of bioplastics in natural environments”. *Waste Manage*, vol. 59, 2017, pp. 526-536.

33. DOI, Y. *et al.* “Biodegradation of microbial copolymers: poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) and poly(3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate)”. *Macromolecules*, vol. 23, 1990, pp. 26-31.
34. DEGUCHI, T.; KAKEZAWA, M. & NISHIDA, T. “Nylon biodegradation by lignin-degrading fungi”. *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 63, 1997, pp. 329-331.
35. JARERAT, A. & TOKIWA, Y. “Degradation of Poly(L-lactide) by a Fungus”. *Macromol. Biosci.*, vol. 1, 2001, pp. 136-140.
36. LEE, S.-H. & KIM, M.N. “Isolation of bacteria degrading poly(butylene succinate-co-butylene adipate) and their *lip A* gene”. *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, vol. 64, 2010, pp. 184-190.
37. British Standards Institution, 2006, p. 23. Disponível em:
<https://www.bsigroup.com/Documents/about-bsi/financial-performance/2014/The-British-Standards-Institution-Annual-report-and-financial-statements.pdf>.
38. https://docs.european-bioplastics.org/publications/fs/EUBP_FS_Standards.pdf.
39. The British Standards Institution (BSI). 2004 BS EN ISO 14851:2004.
40. The British Standards Institution (BSI). 2004 BS EN ISO 14852:2004.
41. The British Standards Institution (BSI). 2012 BS ISO 13975:2012.
42. The British Standards Institution (BSI). 2016 BS EN ISO 14853:2016.
43. HARRISON, J.P. *et al.* “Biodegradability standards for carrier bags and plastic films in aquatic environments: a critical review”. *R. Soc. Open Sci.*, vol. 5, 2018, pp. 1-18.
44. The British Standards Institution (BSI). 2016 BS ISO 18830: 2016 .
45. The British Standards Institution (BSI). 2016 BS ISO 19679:2016.
46. ASTM International. 2009 ASTM D6691-09.
47. ASTM International. 2012 ASTM D7473-12.
48. ASTM International. 2015 ASTM D7991-15.
49. SAKAI, K. *et al.* “Isolation of a thermophilic poly-L-lactide degrading bacterium from compost and its enzymatic characterization”. *J. Biosci.*, vol. 92, 2001, pp. 298-300.
50. SONG, J.H. *et al.* “Biodegradable and compostable alternatives to conventional plastics”. *Phil. Trans. R. Soc.*, vol. B 364, 2009, pp. 2127-2139.
51. LAMBERT, S. & WAGNER, M. “Environmental performance of biobased and biodegradable plastics: the road ahead”. *Chem. Soc. Rev.*, vol. 46, 2017, pp. 6855-6871.

52. PARKER, R. & RING, S.G. “Aspects of the physical chemistry of starch”. *J. Cereal. Sci.*, vol. 34, 2001, pp. 1-17.
53. FONTANELLA, S. *et al.* “Comparison of the biodegradability of various polyethylene films containing pro-oxidant additives”. *Polym. Degrad. Stab.*, vol. 95, 2010, pp. 1011-1021.
54. KOUTNY, M.; LEMAIRE, J. & DELORT, A.-M. “Biodegradation of polyethylene films with prooxidant additives”. *Chemosphere*, vol. 64, 2006, pp. 1243-1252.
55. BONHOMME, S. *et al.* “Environmental biodegradation of polyethylene”. *Polym. Degrad. Stab.*, vol. 81, 2003, pp. 441-452.
56. <<https://www.merriam-webster.com/dictionary/biopolymer>>. Acessado em 09/10/2019.
57. NIAOUNAKIS, M. “Definitions of Terms and Types of Biopolymers”. In: *Biopolymers: Applications and Trends*. Elsevier The Boulevard, Langford Lane, Kidlington, Oxford, UK, 2015, pp. 1-90.
58. <<https://www.merriam-webster.com/dictionary/biopolymer>>.
59. <<https://www.sciencedirect.com/book/9780323353991/biopolymers-applications-and-trends#book-description>>.

10.7 APÊNDICE I⁵⁶⁻⁵⁹

Definições de termos mais comuns na área de polímeros biodegradáveis, que podem variar de acordo com a referência consultada.

DEFINIÇÕES

Biodegradação: degradação causada pela atividade biológica, principalmente por ação enzimática (ISO/CD 16929).

Fase de biodegradação: o tempo em dias desde o final da fase de latência até o ensaio atingir cerca de 90% do nível máximo de biodegradação (ISO/DIS 17556).

Degradação: um processo irreversível que leva a uma alteração significativa da estrutura de um material, tipicamente caracterizada por uma perda de propriedades (por exemplo, integridade, peso molecular, estrutura ou resistência mecânica) e/ou fragmentação. A degradação é afetada pelas condições ambientais e prossegue por um período de tempo compreendendo uma ou mais etapas (ASTM D-6400.99).

Desintegração: formação de fragmentos muito pequenos resultantes de mecanismos de degradação (ASTM D-6400.99).

Fase de atraso: tempo, medido em dias, desde o início de um teste até a adaptação e / ou seleção dos microrganismos degradantes e o grau de aumento da biodegradação de um composto químico ou matéria orgânica para cerca de 10% do nível máximo da biodegradação (ISO/DIS 17556)

Nível máximo de biodegradação: a biodegradação máxima em porcentagem que um composto químico ou matéria orgânica atinge em um teste, acima do qual não ocorre mais biodegradação (ISO/DIS 17556).

Biodegradação primária (1): a alteração na estrutura química de uma substância, provocada pela ação biológica, resultando na perda de uma propriedade específica dessa substância (EPA OPPTS 835.3110).

Biodegradação primária (2): transformação mínima que altera as características físicas de um composto, deixando a molécula praticamente intacta. A biodegradação parcial não é necessariamente uma propriedade desejável, uma vez que os metabólitos intermediários formados podem ser mais tóxicos que o substrato original. Portanto, a mineralização é o objetivo preferido (EPA OPPTS 835.3110).

Quantidade teórica de dióxido de carbono evoluído: a quantidade máxima teórica de dióxido de carbono que evolui após a oxidação completa de um composto químico calculado a partir da fórmula molecular; expresso em mg de dióxido de carbono evoluído por mg ou g de composto de teste (ISO/DIS 17556).

Demandâ teórica de oxigênio: a quantidade máxima teórica de oxigênio necessária para oxidar um composto químico completamente calculado a partir da fórmula molecular; expresso em mg de oxigênio necessário por mg ou g de composto de teste (ISO/DIS 17556).

A biodegradação final (aeróbica): é o nível de degradação alcançado quando o composto de teste é totalmente utilizado por microrganismos, resultando na produção de dióxido de carbono, água, sais minerais e novos constituintes celulares microbianos (biomassa) (EPA OPPTS 835.3110).

Biodegradação final (biodegradação completa): clivagem molecular suficientemente extensa para remover as propriedades biológicas, toxicológicas, químicas e físicas associadas ao uso do produto original, formando eventualmente dióxido de carbono e água (EPA OPPTS 835.3110).

Biodegradação final: degradação obtida quando um material é totalmente utilizado por microrganismos, resultando na produção de dióxido de carbono (e possivelmente metano no caso de biodegradação anaeróbica), água, compostos inorgânicos e novos constituintes celulares microbianos (biomassa ou secreções ou ambos) (ASTM D-6046.02).

Biomassa: toda matéria orgânica, de origem vegetal ou animal, utilizada na produção de energia, alimentos e de matérias-primas para obtenção de produtos sustentáveis.

Material biodegradável (1): material com capacidade comprovada de decomposição no ambiente mais comum em que o material é descartado dentro de 3 anos por meio de processos biológicos naturais em solo carbonoso não tóxico, água, dióxido de carbono ou metano. A biodegradação é medida de acordo com os padrões definidos pela ASTM (American Society for Testing and Materials).

Material biodegradável (2): material para o qual o processo de biodegradação é suficiente para mineralizar a matéria orgânica em dióxido de carbono ou metano, respectivamente, água e biomassa (ISO/CD16929).

Plástico biodegradável (1): um plástico degradável no qual a degradação resulta da ação de microrganismos que ocorrem naturalmente, como bactérias, fungos e algas (ASTM D-6400.99), (ASTM D-2096.01).

Plástico biodegradável (2): plástico que pode quebrar completamente por micróbios, dentro de um tempo razoável, em condições específicas.

Biopolímero (1): substância polimérica (como proteína ou polissacarídeo) formada em sistemas biológicos.

Plásticos biobased: são plásticos formados, no mínimo, por matéria parcialmente biológica.

Material compostável: material biodegradável em condições de compostagem (ISO/CD 16929).

Plástico compostável (1): um plástico que sofre degradação por processos biológicos durante a compostagem para produzir CO₂, água, compostos inorgânicos e biomassa a uma taxa consistente com outros materiais compostáveis conhecidos e não deixa resíduos visíveis, distinguíveis ou tóxicos (ASTM D-6400.99),(ASTM D-2096.04).

Plástico compostável (2): plástico capaz de sofrer decomposição biológica em um local de compostagem como parte de um programa disponível, de modo que o material não seja visualmente distingível e se decomponha em dióxido de carbono, água, compostos inorgânicos e biomassa, a uma taxa consistente com materiais compostáveis conhecidos (ASTM D-6002).

Plástico degradável (1): um plástico projetado para sofrer uma mudança significativa em sua estrutura química em condições ambientais específicas, resultando na perda de algumas propriedades que podem variar conforme medidas pelos métodos de teste-padrão apropriados a ele (ASTM D-6400.99).

Plástico degradável (2): um plástico projetado para sofrer uma mudança significativa na estrutura química em condições ambientais específicas, resultando na perda de algumas propriedades que podem variar conforme medidas pelos métodos de teste-padrão apropriados ao plástico e à aplicação em um período de tempo que determina sua classificação (ASTM D-2096.01).

Degradável: um material é denominado degradável em relação a condições ambientais específicas se sofrer degradação em uma extensão específica dentro de um determinado período de tempo medido por métodos de teste-padrão específicos (ASTM D-6400.99).

Plástico hidroliticamente degradável: um plástico degradável no qual a degradação resulta da hidrólise (ASTM D-2096.03).

Inerentemente biodegradável: é uma classificação de produtos químicos para a qual existem evidências inequívocas de biodegradação (primária ou final) em um teste-padrão de biodegradabilidade. Requer estimativas do “pior caso possível” de concentrações ambientais prováveis e, portanto, podem ser necessários mais testes de simulação (EPA OPPTS 835.3110).

Não biodegradável: remoção biótica insignificante de material (em comparação com material inherentemente biodegradável), sob condições de teste-padrão (EPA OPPTS 835.3110).

Plástico oxidativamente degradável: um plástico degradável no qual a degradação resulta da oxidação (ASTM D-2096.03).

Prontamente biodegradável (1): é uma classificação arbitrária de produtos químicos que passaram em certos testes de triagem especificados para a biodegradabilidade final; esses testes são tão rigorosos que se supõe que tais compostos se biodegradam rápida e completamente em ambientes aquáticos, em condições aeróbias (EPA OPPTS 835.3110).

Facilmente biodegradável: mineralização rápida e completa (EPA OPPTS 835.3110).

Plástico fotodegradável: um plástico degradável no qual a degradação resulta da ação da radiação UV natural da luz do dia (ASTM D-2096.02).

Parcialmente biodegradável: misturas de polímeros não biodegradáveis com material biodegradável (geralmente amido). A biodegradação desses materiais é limitada à parte acessível pelos microrganismos do composto biodegradável.

Capítulo 11

Principais testes biológicos *in vitro* para biopolímeros

Cristina Pontes Vicente

Departamento de Biologia Estrutural e Funcional
Instituto de Biologia – UNICAMP

11.1 Introdução

A criação, o aprimoramento e a determinação das qualidades biológicas de qualquer composto a ser utilizado em humanos e animais é de suma importância para que se determinem a segurança e a regulação da utilização destes. A criação de novos produtos biotecnológicos que venham a substituir ou se tornar alternativas viáveis ao uso de polímeros não biodegradáveis tem sido encorajada em todo o mundo. O impacto ambiental de produtos não biodegradáveis como, por exemplo, o Policloreto de vinila (PVC), Politereftalato de etileno (PET), Polipropileno (PP), tem sido muito discutido atualmente e tentativas de buscar alternativas que sejam biodegradáveis, provenientes de fontes renováveis tem sido de grande interesse mundial^[1]. Para a determinação da segurança de utilização destes materiais em humanos e animais diversos testes biológicos são necessários, antes que sejam aprovados para uso. A utilização de testes *in vitro* para a aprovação do uso desses compostos vem ao encontro da teoria dos 3 R, reduzir, reutilizar e reciclar^[2], onde priorizamos os testes *in vitro*, minimizando a utilização de animais, os custos, a reproduzibilidade e a velocidade de realização destes. A utilização de técnicas que permitam determinar a toxidez, a carcinogênese e a mutagênese desses compostos e que diminuam ou evitem a utilização de testes em animais tem sido aceita pelas agências regulatórias, como a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)^[3] e a Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD)^[4] que oferece diferentes diretrizes para testes *in vitro* aceitos para desenvolvimento de novos produtos a serem utilizados em humanos e animais^[5]. Vários desses testes já estão discriminados e estão descritos em literatura como eficazes para a determinação da biossegurança dos compostos. Dentre eles, podemos destacar: Mutagenicidade/genotoxicidade; Toxicidade

subaguda e subcrônica; Carcinogenicidade; Toxicidade do desenvolvimento e reprodutiva (teratogenicidade)^[6].

11.2 Principais ensaios *in vitro* e suas aplicações

11.2.1 Técnicas de proliferação celular

11.2.1.1 Teste do MTT

Uma das principais técnicas empregadas na determinação da proliferação celular utilizando-se culturas de células é a técnica colorimétrica pelo MTT (3-[4,5 - Dimethylthiazol-2-yl] 2,5-diphenyl tetrazolium bromide, thiazolil blue). Esse ensaio mede a atividade mitocondrial das células em cultura, e também sua atividade metabólica. O MTT é um substrato amarelado utilizado na concentração 0,5 mg/mL diluído em 100 µL de meio de cultura e incubado de 1-3 horas em estufa de CO₂ a 37 °C. O MTT degradado pela atividade da enzima oxireductase NAD(P)H-dependente mitocondrial forma um cristal de formazan púrpura que precipita em cultura e que pode ser ressuspenso em 100 µL de isopropanol ácido (álcool isopropílico e ácido clorídrico), após 10 minutos sob agitação branda. A determinação da proliferação celular é calculada pela absorbância obtida no material que é medida a 595 nm em leitor de Elisa. Os valores obtidos são correspondentes ao número de células metabolicamente ativas na cultura. Para se quantificar essas células é necessário realizar paralelamente uma cultura celular com número de células conhecido que será utilizada como curva-padrão para a proliferação celular^[7].

Nesses protocolos as células são, em geral, semeadas em placas de 96 wells (em torno 1.000 células/poço) aproximadamente em 0,2 ml de meio de cultura e podem ser incubadas com os polímeros nas concentrações desejadas por pelo menos 24 horas antes da realização da análise; uma curva de proliferação utilizando pelo menos 3 tempos é o ideal (12, 24 e 48 horas de incubação na presença do polímero). O uso dessa técnica pode ter limitações de acordo com o estado fisiológico das células, a variação da atividade de redutases dos diferentes tipos celulares. Essa técnica tem sido muito utilizada para testes da ação de mitógenos, fatores de crescimento e estudos de citotoxicidade^[8,9].

11.2.2 Técnica de proliferação celular pela sulfurodamina B

Um outro teste de proliferação celular que pode ser em cultura de células é o teste utilizando o corante sulfurodamina B (SRB). A SRB marca as proteínas totais, incluindo em sua análise as células vivas e mortas e não proliferativas. Diferentemente do MTT que é capaz apenas de analisar as células vivas e metabolicamente ativas, esta técnica analisa células totais independentemente de seu estado metabólico. Sua marcação está relacionada com a marcação de proteínas totais na monocamada celular. Neste caso, as células são incubadas em placas de cultura de 96 poços com diferentes concentrações das moléculas a serem analisadas em diferentes tempos. Após os diferentes tempos, as células são fixadas em ácido tricloroacético 50% (TCA), por 1 h a 4 °C, em seguida é adicionado o corante sulfurodamina B (0,4%), por 30 min a 4 °C, as células são lavadas 4x com ácido acético glacial para remover o excesso do corante e o mesmo solubilizado com 150 µl de trizma base 10 uM; a leitura espectrofotométrica da absorbância é realizada em 540 nm em um leitor de microplacas. Por ser um método rápido e por utilizar células fixadas, permite uma maior flexibilidade em sua execução e, por não necessitar de um substrato especial, é um método mais econômico. No entanto, com esse método não é possível distinguir os diferentes estados metabólicos em que a cultura celular se apresenta após os diferentes tratamentos^[10].

11.2.3 Análise da indução da morte celular por apoptose

11.2.3.1 Técnica de Túnel

A apoptose é um tipo de morte celular relacionado com a ativação de enzimas chamadas de caspases, onde a principal caspase inicializadora é a caspase 3. Assim, é ativado um conjunto de enzimas e esse processo leva a degradação dos componentes celulares, como DNA, lipídios e proteínas, ao encolhimento celular e retirada das células por macrófagos, sem resultar na inicialização de um processo inflamatório provocado pela perda celular. Nesse processo ocorre a degradação internucleossômica do DNA gerando fragmentos de tamanhos característicos que podem ser analisados por eletroforese^[11]. O nome túnel está relacionado com TdT-mediated dUTP Nick End Labeling, onde a enzima deoxinucleotidil transferase (TdT), catalisa, sem necessidade de uma cadeia de molde, a

polimerização de desoxiribonucleotídeos nas regiões 3' do DNA. A quebra da cadeia de DNA, induzida pelo processo de apoptose, pode dar origem a fragmentos de cadeia dupla ou de cadeia simples chamados de Nicks; ambos os tipos de quebra podem ser detectados pela marcação das zonas hidroxilo-terminais 3' recorrendo a nucleotídeos modificados que podem ser marcados por exemplo com biotina ou com fluoróforos que permitirão a identificação desta marcação. Para análise da atividade de biopolímeros na apoptose, as células são expostas ou não ao biopolímero, fixadas e permeabilizadas, e subsequentemente incubadas numa mistura contendo a enzima TdT e os dUTP modificados. As análises podem ser feitas de acordo com kits de diferentes fabricantes e realizadas a partir de DNA obtido da cultura de células, como observado na Figura 1, ou podem ser observadas diretamente na cultura por microscopia de fluorescência, onde as células tratadas são expostas a enzimas TdT e posteriormente ao dUTP neste caso marcado com fluoresceína, e os núcleos contracorados com DAPI (4',6'-Diamidino-2'-phenilindol dihidrocloreto) em azul ou com iodeto de propídio em vermelho, que são intercalantes de DNA e marcam fluorescentemente os núcleos celulares.^[12,13]

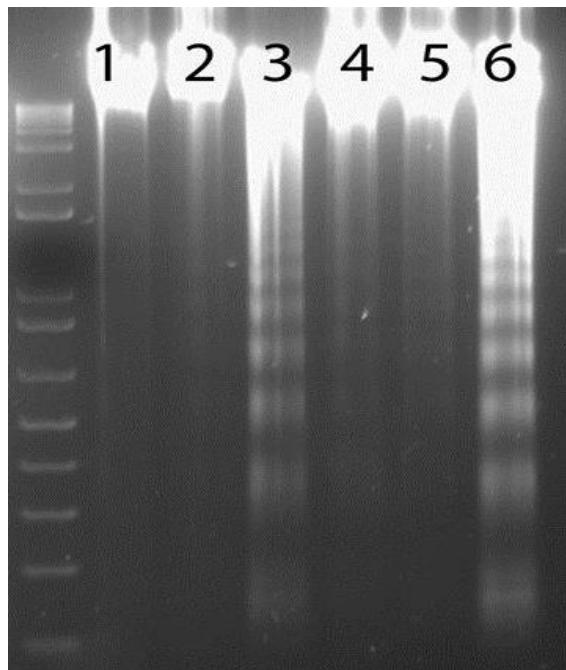


Figura 1: Eletroforese em gel de agarose utilizando o kit Apoptosis DNA Ladder Assay Kit (ab66090), mostrando nas bandas 3 e 6 a degradação característica de células em apoptose: <https://www.abcam.com/tunel-assay-kit-fitc-ab66108.html> [12]

11.2.3.2 Determinação da atividade de caspases

Como dito anteriormente, as caspases são as principais enzimas relacionadas à apoptose celular. A determinação da atividade dessas enzimas pode ser um interessante método para a definição de via de ação de sinalização de morte de uma molécula química sobre uma linhagem celular. A principal caspase testada pelos kits é a caspase 3, chamada de caspase inicializadora, que, quando ativada, inicia o processo de apoptose em diferentes tipos celulares. Para a determinação da atividade dessa enzima existem kits de diferentes fabricantes que podem ser utilizados, cujo princípio é a determinação da capacidade hidrolítica da enzima extraída de tecidos ou células sobre um substrato cromogênico, principalmente o acetil-Asp-Glu-Val-Asp p-nitroanilida (Ac-DEVD-pNA), liberando p-nitroaniline (pNA) amarela. A quantidade de produto formado pode ser medida em leitor de Elisa a 405 nm. A principal vantagem dessa técnica é a utilização de pequena quantidade de extrato celular para a avaliação de qual mecanismo celular pode estar envolvido na atividade das substâncias a serem testadas^[14].

11.2.3.3 Citometria de fluxo para análise da proliferação celular

Outra técnica importante é a citometria de fluxo. Pode ser utilizada neste caso para a avaliação do ciclo celular e também morte celular por necrose ou apoptose. As células pré-cultivadas na presença das diferentes substâncias podem ser colocadas em suspensão (por tripsinização, para a retirada da placa de cultura) e coradas com DAPI. Esse fluoróforo é um intercalante de DNA, que marca os núcleos de azul e ao serem analisadas por citometria é possível ver quantas células estão em cada fase do ciclo celular. G1, S, G2 permitindo assim inferir não só o papel das drogas no processo de divisão celular ou se ocorrer produção anormal de conteúdo de DNA nas células^[14]. A citometria pode ainda determinar o número de células vivas e/ou mortas após os diferentes tempos utilizando marcadores nucleares como o iodeto de propídio, que é incapaz de penetrar em células vivas, marcando portanto células necróticas associado aos anticorpos contra anexina V, que reconhece o fosfolipídio fosfatidil-serina na face externa de membranas de células em apoptose, a associação dos 2 marcadores permite distinguir células necróticas e apoptóticas por citometria de fluxo e também por imunocitoquímica^[15]. Existem kits de diversos fabricantes que utilizam a combinação desses 2 marcadores, facilitando o procedimento e

permitindo auxiliar na elucidação da via de morte celular associada a uma droga testada *in vitro* ou *in vivo*.

11.2.4 Principal teste para análise de carcinogênese

11.2.4.1 Análise de micronúcleos

Um teste muito utilizado para a determinação da mutagenicidade e carcinogênese é o teste de micronúcleos. Esse teste tem sido utilizado como uma análise do dano ao DNA, detectando a mutagênese celular. Os micronúcleos são formados por fragmentos cromossômicos ou cromatídeos acêntricos não incorporados ao núcleo durante a divisão celular. A presença de micronúcleos pode ser considerada como um indicativo de aberrações cromossômicas e a quantificação destes pode detectar danos provocados pela exposição das células a agentes mutagênicos e/ou carcinogênicos^[15]. É um teste rápido que pode ser utilizado *in vitro* e *in vivo*. Os micronúcleos podem ser observados durante toda a interfase e são de fácil reconhecimento. Este teste, no entanto, depende que haja pelo menos uma divisão celular e não detecta a atividade de substâncias que não induzam a perda cromossômica^[16,17,18]. Para a sua realização, as células podem ser colocadas em cultura e expostas a diferentes concentrações das substâncias a serem testadas por pelo menos 24 horas, quando são fixadas com metanol 100% e coradas com corante Giensa 5%, para a quantificação do número de micronúcleos; pelo menos 1.000 células são contadas por poço e a identificação pode ser feita segundo Fenech *et al.* (2003)^[19].

11.2.5 Teste para análise de migração celular

11.2.5.1 Teste de cicatrização

O ensaio de cicatrização envolve uma lesão da monocamada celular com uma ponteira, sendo uma forma de mimetizar uma ferida *in vitro* e analisar a taxa de migração celular para o fechamento desta. Uma vez que a camada é rompida, ocorre a perda da interação célula-célula que resulta em um aumento na concentração de fatores de crescimento e citocinas, iniciando migração e proliferação das células.

As células podem ser cultivadas em placas de cultura de diferentes tamanhos formando uma monocamada confluente. Uma lesão linear é feita ao longo do diâmetro da placa com a ponta de uma ponteira de 200 μ L em todos os grupos. Os poços são lavados com PBS (Tampão fosfato, pH 7.2) para retirar as células que se soltaram após a lesão. Em seguida, os grupos contendo os diferentes biopolímeros dissolvidos ou em contato com os diferentes materiais são tratados por diferentes tempos, em geral 12, 24 e 48 horas. Finalizado o tratamento, todas as placas são fotografadas pelo menos a cada 30 minutos por 24 horas e é medida a distância entre as bordas da lesão (vide Figura 2).

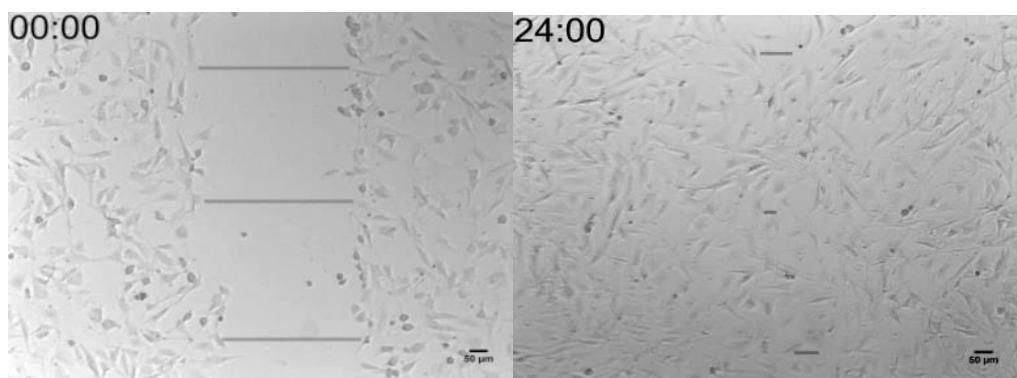


Figura 2: Teste de cicatrização utilizando células em cultura. a) Observar a lesão inicial realizada na monocamada celular ao início do experimento. b) Observar migração celular na região danificada da monocamada celular.

A velocidade de cicatrização pode ser medida por análise das imagens obtidas em diferentes tempos, determinando-se assim a velocidade de migração e cicatrização das monocamadas na presença dos diferentes compostos^[20, 21, 22].

11.3 Conclusões

Os testes *in vitro* para análise de toxidez, carcinogênese, proliferação celular e cicatrização produzem respostas rápidas e reproduzíveis utilizando pequenas concentrações das moléculas a serem analisadas. Esses testes podem ser utilizados em fases iniciais de estudos de segurança e determinação do IC50 (a metade da dose máxima para inibir uma função biológica) para as moléculas a serem testadas. A escolha do melhor teste e das

linhagens celulares a serem utilizadas nele deve ser feito de acordo com as características químicas das moléculas e dos tecidos e órgãos-alvo que se espera estejam relacionados com os compostos. Muitos desses testes são aprovados pela ANVISA e podem ser utilizados como uma etapa prévia para a liberação do uso dos biopolímeros para uso em animais e humanos.

11.4 Referências

1. BRITO, G.F.; AGRAWAL, P.; ARAÚJO, E.M. & MÉLO, T.J.A. “Biopolímeros, polímeros biodegradáveis e polímeros verdes”. *Revista Eletrônica de Materiais e Processos*, vol. 6, 2011, pp. 127-139.
2. RUSSELL, W.M.S. & BURCH, R.L. *The Principles of Humane Experimental Technique*, Methuen, London, 1959.
3. <<http://portal.anvisa.gov.br/>>. Acessado em: 24/09/2019.
- 4.<<https://www.oecd.org/>>. Acessado em: 25/09/2019.
5.
<http://www.oecd.org/env/ehs/testing/OECD_Draft_GIVIMP_in_Human_Safety_Assessment.pdf>. Acessado em: 25/09/2019.
6. Guia para Avaliação de Segurança de Produtos Cosméticos, 2. ed., 2012, Brasília, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, ANVISA.
7. MOSMANN, T. “Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays”. *Journal of Immunological Methods*, vol. 65(1-2), 1983, pp. 55-63.
8. KIM, Y.E. & KIM, Y.J. “Effect of biopolymers on the characteristics and cytocompatibility of biocomposite nanofibrous scaffolds”. *Polymer Journal*, vol. 45, 2013, pp. 845-853.

9. Lim, C.K. & Halin, A.S. *Biomedical grade chitosan in wound management and its biocompatibility in vitro*. Chapter 2, 2010, pp. 21-36. DOI: 10.5772/10256.
(<https://www.intechopen.com/books/biopolymers/biomedical-grade-chitosan-in-wound-management-and-its-biocompatibility-in-vitro>). Acessado em: 28/09/2019.
10. VICHAI, V. & KIRTIKARA, K. “Sulforhodamine B colorimetric assay for cytotoxicity screening”. *Nature Protocols.*, vol. 1, 2006, pp. 1112-1116.
11. MELLO, M.L.S & CASTILHO, R.F. “Morte Celular”. In: CARVALHO, H.F. & PIMENTEL, S.M.R., Eds. *A Célula*, 4. ed., Editora Manole, Barueri, São Paulo, 2019, pp. 571-581.
12. MERCADO S.A. & SLATER, N.K.H. “The functional and structural effects of an amphipathic pH responsive biopolymer: a comprehensive study in osteosarcoma cells”. *European Polymer Journal*, vol. 74, 2016, pp. 158-167.
13. <<https://www.abcam.com/tunel-assay-kit-fitc-ab66108.html>>. Acessado em: 30/09/2019.
14. KUMAR, P.; SENTHAMILSELVI, S.; GOVINDARAJUA, M. & SANKAR, R. “Unraveling the caspase-mediated mechanism for phloroglucinol-encapsulated starch biopolymer against the breast cancer cell line MDA-MB-231”. *RSC Advances*, vol. 4, 2014, pp. 46157-46163.
15. MOKTAN, S.; RYPPA, C.; KRATZ, F. & RAUCHER, D. “A thermally responsive biopolymer conjugated to an acid-sensitive derivative of paclitaxel stabilizes microtubules, arrests cell cycle, and induces apoptosis”. *Investigational New Drugs*, vol. 30(1), 2012, pp. 236-248.
16. AGOSTINI, J.M.S. “O teste do micronúcleo: seu uso no Homem”. *Bioterma*s, vol. 6(2), 1993, pp. 1-19.
17. HULKA, B.S.; WILCOSKY, T.C. & GRIFFITH, J.D., Eds. Chapter 7: “Micronuclei”. *Biological markers in epidemiology*. Oxford Univ. Press, New York, 1990, pp. 125-146.

18. HEDDLE, J.A.; HITE, M.; KIRKHART, B.; MAVOUMIN, K.; MACGREGOR, J.T.; NEWELL, G.W. & SALAMONE, M.F. "The induction of micronuclei as a measure of genotoxicity. A report of the US Environmental Protection Agency Gene-Tox Program". *Mutation Research*, vol. 123, 1983, pp. 61-118.
19. FENECH, M.; CHANG, W.P.; KIRSCH-VOLDERS, M.; HOLLAND, N.; BONASSI, S. & ZEIGER, E. "HUMN project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures". *Mutation Research*, 2003, vol. 534, pp. 65-75.
20. BENINCASA, J.C.; FREITAS FILHO, L.H.; CARNEIRO, G.D.; SIELSKI, M.S.; GIORGIO, S.; WERNECK, C.C. & VICENTE, C.P. "Hyperbaric oxygen affects endothelial progenitor cells proliferation *in vitro*". *Cell Biol Int.*, vol. 43, 2019, pp. 136-146.
21. BELLINI, M.Z.; CALIARI-OLIVEIRA, C.; MIZUKAMI, A.; SWIECH, K.; COVAS, D.T.; DONADI, E.A.; OLIVA-NETO, P. & MORAES A.M. "Combining xanthan and chitosan membranes to multipotent mesenchymal stromal cells as bioactive dressings for dermo-epidermal wounds". *J Biomater Appl.*, vol. 29(8), 2015, pp. 1155-1166.