

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MARIANA DE OLIVEIRA JAGHER

SÍNTESE DE PARTÍCULAS COMPÓSITAS FORMADAS A PARTIR DE  
TEMPLATES DE SÍLICA E MACROMOLÉCULAS E SUA APLICAÇÃO EM  
EMULSÕES ÓLEO/ÁGUA

CURITIBA

2018

MARIANA DE OLIVEIRA JAGHER

SÍNTESE DE PARTÍCULAS COMPÓSITAS FORMADAS A PARTIR DE  
*TEMPLATES* DE SÍLICA E MACROMOLÉCULAS E SUA APLICAÇÃO EM  
EMULSÕES ÓLEO/ÁGUA

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Química, Setor de Ciências exatas, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup> Izabel Cristina Riegel Vidotti

CURITIBA

2018

Catálogo na Fonte: Sistema de Bibliotecas, UFPR  
Biblioteca de Ciência e Tecnologia

---

J24s Jagher, Mariana de Oliveira  
Síntese de partículas compósitas formadas a partir de *templates* de sílica e macromoléculas e sua aplicação em emulsões óleo/água [Recurso eletrônico] / Mariana de Oliveira Jagher – Curitiba, 2018.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências, Programa de Pós-graduação em Química, 2018.

Orientadora: Izabel Cristina Riegel Vidotti

1. Nanopartículas. 2. Sílica. 3. Biopolímeros). I. Universidade Federal do Paraná. II. Vidotti, Izabel Cristina Riegel. III. Título.

CDD: 546.683

---

Bibliotecária: Roseny Rivelini Morciani CRB-9/1585

TERMO DE APROVAÇÃO

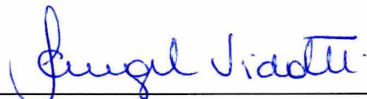
**SÍNTESE DE PARTÍCULAS COMPÓSITAS FORMADAS A PARTIR DE  
TEMPLATES DE SÍLICA E MACROMOLÉCULAS E SUA APLICAÇÃO  
EM EMULSÕES ÓLEO/ÁGUA**

por

**MARIANA DE OLIVEIRA JAGHER**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de  
Mestre no Programa de Pós-Graduação em Química,  
pela Comissão Examinadora composta por:

Orientador:



Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Izabel Cristina Riegel Vidotti Miyata  
Dep. de Química – UFPR



Prof. Dr. Ismael Casagrande Bellettini  
Dep. de Química – UFSC



Prof. Dr. Rilton Alves de Freitas  
Dep. de Química – UFPR

Curitiba, 27 de julho de 2018.

Dedico ao meu querido pai Ismael por sempre acreditar em mim e nos meus sonhos e ao meu amado esposo por todo apoio durante esta trajetória.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus pelo dom da vida.

Agradeço ao meu pai Ismael de Oliveira Neto que me criou e educou, nunca poupou esforços para contribuir na minha formação e realizações profissionais e pessoais, sempre acreditando no meu potencial.

Agradeço ao meu esposo Eduardo Jagher por toda a paciência necessária neste percurso, pelo valioso suporte, paciência, carinho, compreensão, abraços, o colo e por sonhar meus sonhos comigo.

Agradeço a toda minha família por todo carinho e torcida ao longo dos anos.

Agradeço em especial a Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Izabel Cristina Riegel-Vidotti pela orientação e contribuições, pela confiança, por ser esta profissional ímpar, por todos os ensinamentos científico e da vida, pelo tempo dispensado ao longo destes 7 anos, o meu muito obrigada pela sutileza ao “puxar minha orelha” e por todas palavras de otimismo e motivação.

Ao professor doutor Rilton A. de Freitas por todas contribuições e sugestões ao longo do projeto e por aceitar mais uma vez avaliar este trabalho.

Ao professor doutor Ronilson V. Barbosa pelas contribuições trazidas em meu exame de Qualificação.

Ao professor doutor Ismael Bellettini por avaliar este trabalho.

Ao Bruno Campo da Silva por todas contribuições, discussões, ideias, equipamentos fabricados e ensinamento lá no início durante a minha iniciação científica.

Agradeço à Francielle Schmitz pelas conversas, a acolhida e pela ajuda com as medidas de DLS realizadas na FURB.

Aos meus amigos que estão sempre torcendo por mim, em especial a Ana Luiza Lorenzen, Caroline Ezequiel de Paula, Helen Bassani, Rafael Jörg Bieberbach de Presbiteris, e Mariana Santos, pela amizade, apoio, conversas e verdades.

Aos Grupos GPMin e GCC que estão sempre prontos a ajudar no que for preciso, pelos momentos de descontração, apoio científico e emocional. Em especial à Adriana, Alex, Ana Beatriz, Ana Caroline, Ana Letícia, Bruna, Gabriela, Joana, José, Lucas, Luzia, Mary, Naiane, Renata Lima, Sheila, Thaís e Yane.

Ao grupo BIOPOL, em especial à Joslaine Jacumazo pela amizade, e por estar sempre disposta a me ajudar de diversas formas.

Ao Sihing Rodrigo Giovanella e a Sije Jamila Ithaia por toda ajuda, compreensão, conversas, momentos e ensinamentos, contribuindo significativamente em todo o processo de amadurecimento e fortalecimento pessoal.

À Profa. Dra. Jaísa Fernandes, coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Química.

Ao Centro de Microscopia Eletrônica (CME) e ao Departamento de Química.

Aos órgãos de fomento, CNPq e CAPES pelo apoio financeiro.

A todos que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

*“Algumas pessoas passam por sua vida, outros a acompanham até que não lhes seja mais possível, outro estão mais perto do que parecem.”*  
*(A menina que roubava livros, 2005)*

*“O que a mente do homem possa conceber e acreditar, ela pode realizar” (Napoleon Hill, 1937 )*



## RESUMO

O crescente interesse pelo emprego de biopolímeros no setor alimentício, cosméticos e farmacêutico, devido à biocompatibilidade e baixa toxicidade, vem impulsionando o preparo de novas partículas compósitas. A baixa dispersão de tamanho é um fator fundamental, conforme a aplicação desejada. Este trabalho visou sintetizar partículas compósitas com tamanho controlado e avaliar seu desempenho na estabilização de emulsões. Preparou-se nanopartículas de sílica (NP) que foram sintetizadas pelo método de Stöber, que consiste na hidrólise de precursores de silicatos. Alguns parâmetros como a concentração e a velocidade de adição do precursor Tetraetoxisilano (TEOS) foram variados para obter NP com tamanho controlado e baixa dispersão de tamanho. Foram analisadas distintas razões H<sub>2</sub>O/ TEOS e sua influência na morfologia das NP. Estas NP foram utilizadas como *templates* para o preparo de partículas compósitas empregando quitosana e alginato como material de revestimento, montadas por *Layer-by-Layer* (LbL). As partículas compósitas foram caracterizadas e aplicadas na estabilização de emulsões óleo/água. Foram encontradas as condições de síntese adequadas para o preparo de NP de tamanho desejado, ou seja, foi alcançado um bom controle de tamanho das partículas preparadas. Quanto maior a concentração de TEOS empregada maior o tamanho das NP, resultando em uma relação linear. Já, ao variar a razão H<sub>2</sub>O/ TEOS, observou-se a influência significativa na porosidades das NP. O recobrimento por LbL foi constatado por alteração no potencial zeta e no tamanho das NP, determinado por DLS. As NP recobertas quando aplicadas em emulsões óleo/água apresentaram propriedades e habilidades distintas que refletiram diretamente na estabilidade das emulsões. As NP recobertas com quitosana atuaram como agente floculante das emulsões, enquanto que a associação das NP catiônicas e aniônicas resultaram na maior estabilização das emulsões e possibilitou a posterior redispersão das mesmas.

Palavras-chave: Nanopartículas de Sílica 1. Controle de tamanho 2. Partículas compósitas 3. Biopolímeros 4. Emulsão de Pickering 5.

## ABSTRACT

The growing interest in the use of biopolymers in the food, cosmetics and pharmaceutical industries, due to the biocompatibility and low toxicity, has been driving the preparation of new composite particles. The low dispersion of size is a fundamental parameter, according to the desired application. This work aimed to synthesize composite particles with controlled size and evaluate their performance in the stabilization of emulsions. Silica (NP) nanoparticles were prepared and synthesized by the Stöber method, which consists of the hydrolysis of silicate precursors. Some parameters such as concentration and rate of precursor addition the precursor being Tetraethyl orthosilicate (TEOS), were varied to obtain NP with controlled size and low size dispersion. Different H<sub>2</sub>O / TEOS ratios and the influence on NP morphology were analyzed. These NP were used as templates for the preparation of composite particles using chitosan and alginate as coating materials, assembled by Layer-by-Layer (LbL). The composite particles were characterized and applied in the stabilization of oil / water emulsions. The best synthesis conditions suitable for the preparation of NP of desired size were found, that is, a good size control of the prepared particles was achieved. The higher the TEOS concentration the larger the NP size, resulting in a linear relationship. Also, by varying the H<sub>2</sub>O / TEOS ratio, it was observed a significant influence on NP morphology. The LbL coating was confirmed by alteration in zeta potential and size of NP, determined by DLS. The coated NP, when applied in oil / water emulsions had different properties and abilities that reflected directly in the stability of the emulsions. The NP coated with chitosan acted as a flocculating agent of the emulsions, whereas the association of the cationic and anionic NP resulted in the greater stabilization of the emulsions and allowed the subsequent redispersion of the emulsions.

Keywords: Silica Nanoparticles 1. Size Control 2. Composite Particles 3. Biopolymers  
4. Pickering Emulsion

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA ESTRUTURA DO TETRAETOXISILANO (TEOS).....	24
FIGURA 2 - ESTRUTURA GERAL DA QUITOSANA (FONTE: ZARGAR; ASGHARI; DASHTI, 2015).....	26
FIGURA 3 - REPRESENTAÇÃO DA MICROESTRUTURA DE BLOCO DO ALGINATO, CONSTITUÍDOS POR ÁCIDO MANURÔNICO (M) E ÁCIDO GULURÔNICO (G) (FONTE: TAM <i>et. al.</i> 2011).....	27
FIGURA 4 - ILUSTRAÇÃO DA FORMAÇÃO DE CÁPSULAS POLIMÉRICAS POR LBL, EM (I) O TEMPLATE QUE EM SEGUIDA É RECOBERTO COM POLIELETRÓLITO CARREGADO (II), SEGUIDO DA LAVAGEM (III) E (IV) ADSORÇÃO CONSECUTIVA DE POLIELETRÓLITOS CARREGADOS DE FORMA OPOSTA (BECKER; JOHNSTON; CARUSO, 2010).....	28
FIGURA 5 - ESQUEMA REPRESENTATIVO DOS PRINCIPAIS PROCESSOS DE DESESTABILIZAÇÃO DE EMULSÕES (BASEADO EM FRANZOL; REZENDE, 2015).....	29
FIGURA 6 - ESQUEMA REPRESENTATIVO DOS DIFERENTES ÂNGULOS DE CONTATO DA PARTÍCULA DE PICKERING NA INTERFACE ÓLEO-ÁGUA, ÂNGULO $\theta=90$ , $\theta<90$ E $\theta > 90$ (ADAPTADO AVEYARD; BINKS; CLINT, 2003).....	32
FIGURA 7 - FLUXOGRAMA DA PURIFICAÇÃO DA QUITOSANA QUE CONSISTE EM SOLUBILIZAÇÃO DA QUITOSANA EM ÁCIDO ACÉTICO, PRECIPITAÇÃO PELA ADIÇÃO DE HIDRÓXIDO DE SÓDIO SEGUIDO DE QUATRO CICLOS DE LAVAGEM COM ETANOL/ÁGUA COMEÇANDO COM A RAZÃO 30/70 E AUMENTANDO ATÉ 100/0. *O PROCEDIMENTO INICIAL ATÉ OBTER O PRECIPITADO FOI REPETIDO POR 3 VEZES.....	34
FIGURA 8 - ILUSTRAÇÃO DO PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL PARA O PREPARO DAS PARTÍCULAS DE SÍLICA E MÉTODO DE LAVAGEM. ....	36
FIGURA 9 - LEGENDA DE COMO FORAM NOMEADAS AS PARTÍCULAS DE SÍLICA DE ACORDO COM O SEU MÉTODO DE PREPARO.....	37

FIGURA 10 - PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL PARA RECOBRIMENTO DAS NANOPARTÍCULAS DE SÍLICA POR LbL ADAPTADO DE LEAL (2018).....	39
FIGURA 11 - ILUSTRAÇÃO DEMONSTRATIVA DO RECOBRIMENTO DAS NP COM POLÍMEROS DEVIDO A ADSORÇÃO DE POLIELETRÓLITO DE CARGA POSITIVA SOBRE A PARTÍCULA DE SÍLICA POR LBL. 1) PARTÍCULA DE SÍLICA COM CARGA NEGATIVA, 2) POLIELETRÓLITO DE CARGA POSITIVA, 3) PRIMEIRA CAMADA DE POLÍMERO ADSORVIDA, 4) POLIELETRÓLITO DE CARGA NEGATIVA, 5) FORMAÇÃO DA SEGUNDA CAMADA DEVIDO ADSORÇÃO DA SEGUNDA CAMADA DE POLIELETRÓLITO DE CARGA NEGATIVA.....	40
FIGURA 12 - A) FOTO DO EQUIPAMENTO POTENCIAL ZETA, B) COPO DE MEDIDA COM VOLUME DE 10 ML E EM C) FOTO DO PISTÃO DE 0,4 $\mu$ M.....	41
FIGURA 13 - FLUXOGRAMA DA CONJUGAÇÃO DA QUITOSANA COM ISOTIOCIANATO DE FLUORESCÉINA (FITC) ADAPTADO DO PROCEDIMENTO DE WEN <i>ET AL</i> (2011).....	43
FIGURA 14 - MARCAÇÃO DO ALGINATO DE SÓDIO COM CORANTE FLUORESCENTE ISOTIOCIANATO DE RODAMINA (RITC) SEGUNDO METODOLOGIA ADAPTADA DE MLADENOSKA <i>et. al.</i> 2007.....	44
FIGURA 15 . ANÁLISES TERMOGRAVIMÉTRICA (TG) E DERIVADA DTG PARA AS AMOSTRAS DE ALGINATO DE SÓDIO.....	46
FIGURA 16 - ESPECTRO DE FTIR TRANSMITÂNCIA PARA O ALGINATO DE SÓDIO.....	47
FIGURA 17 - ESPECTRO DE ATR PARA O ALGINATO DE SÓDIO MARCADO COM RITC.....	48
FIGURA 18 - ANÁLISES TERMOGRAVIMÉTRICA (TG) E DERIVADA DTG PARA AS AMOSTRAS DE QUITOSANA BRUTA (QB) E QUITOSANA APÓS PURIFICAÇÃO (QP2).....	49
FIGURA 19 - ESPECTRO DE FTIR PARA A QUITOSANA BRUTA (QB) E A QUITOSANA PURIFICADA (QP2).....	50

FIGURA 20 - ESPECTRO DE FTIR PARA A QUITOSANA PURIFICADA (QP2) E PARA A QUITOSANA MARCADA (QP-FITC).....	51
FIGURA 21 - MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) - PARA AS SÍNTESES DE SÍLICA T5B, T5D, T5E, T5F E T5G REALIZADAS COM DIFERENTES VELOCIDADES DE ADIÇÃO (B= 0,34; D= 0,7; E= 2,78; F= 4,42; G= 7 mL min <sup>-1</sup> ) FEITAS COM O MÉTODO DE ADIÇÃO COM BOMBA DE SERINGA. (BARRA DE ESCALA = 1µm)53	
FIGURA 22 - RELAÇÃO DO TAMANHO MEDIDO POR MET DAS PARTÍCULAS DE T5B, T5D, T5E, T5F E T5G PREPARADAS COM O MÉTODO DE ADIÇÃO DE BOMBA DE SERINGA, EM FUNÇÃO DA RAZÃO DE TEOS/MINUTO ADICIONADO.....	54
FIGURA 23 - RELAÇÃO ENTRE O TAMANHO DAS NP E O TEMPO DE REAÇÃO CONTADOS APÓS A ADIÇÃO DO PRECURSOR TEOS E IMAGENS DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO (MET) PARA OS TEMPOS INICIAIS T1, T3, T4, T8, T12, T36 E T50.....	56
FIGURA 24 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO PROCESSO DE CRESCIMENTO DE NANOPARTÍCULAS DE SÍLICA EMPREGANDO TEOS COMO PRECURSOR, ONDE INICIALMENTE OCORRE A HIDRÓLISE DO TEOS, SEGUIDA DA FORMAÇÃO DOS MONÔMEROS REATIVOS, ESTES POR CONSEQUÊNCIA SE CONDENSAM FORMANDO OS NÚCLEOS, SEGUIDA DA COMPETIÇÃO ENTRE ADIÇÃO DE MONÔMEROS REATIVOS AS SUBPARTÍCULAS PRESENTE NO MEIO OU FORMAÇÃO DE NOVOS NÚCLEOS, CONFORME A REAÇÃO SE PROCESSA A TENDÊNCIA É A CONTINUAÇÃO CONDENSAÇÃO FORMADO PLACAS DE MATERIAL.....	57
FIGURA 25 - GRÁFICO RELACIONANDO O DIÂMETRO DAS NANOPARTÍCULAS EM FUNÇÃO DA QUANTIDADE DE PRECURSOR ADICIONADO PARA T1D, T5D, T7D E T8D COM $Y=29,82x+199,1$ E $R^2=0,979$ .....	58
FIGURA 26 - MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO (MET) - PARA AMOSTRAS EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE TEOS PREPARADAS PELO MÉTODO DE ADIÇÃO COM BOMBA DE SERINGA.....	59

FIGURA 27 - MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO (MET) E MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) PARA A ROTA T1D COM MENOR QUANTIDADE DE TEOS.....	59
FIGURA 28 - COMPARAÇÃO DAS IMAGENS DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO (MET) PARA AS ROTAS ONDE VARIOU-SE A QUANTIDADE DE ÁGUA, A) CORRESPONDE A ROTA PADRÃO T5D COM 0,133 MOL DE ÁGUA, B) EMPREGOU-SE 0,265 MOL DE ÁGUA E RAZÃO 58,0 % E EM C) FOI UTILIZADO 0,355 MOL DE ÁGUA (RAZÃO 77,8 %).....	61
FIGURA 29 - MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA MEV E MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO PARA A AMOSTRA T5G2 E T5G1.....	62
FIGURA 30 - MEDIDAS DE POTENCIAL ZETA PARA OS TEMPLATES DE SÍLICA RECOBERTO POR LbL EMPREGANDO COMO POLIELETRÓLITO QUITOSANA (Q) E ALGINATO (A): A) T5D RECOBERTA COM QUITOSANA BRUTA (QB) E B)T5D-P1, C)T8D, D)T1D RECOBERTAS COM QUITOSANA PURIFICADA.....	64
FIGURA 31 - MEDIDAS DE POTENCIAL ZETA PARA AS NP DE SÍLICA RECOBERTO POR LbL EMPREGANDO COMO POLIELETRÓLITO QUITOSANA PURIFICADA E MODIFICADA COM FITC (QP-FITC) E ALGINATO MARCADO COM RITC (A-RITC).....	65
FIGURA 32 - IMAGENS CAPTURADAS POR CLSM (AUMENTO 60 X) DAS NP DE SÍLICA T7D APÓS RECOBRIMENTO POR LbL COM QP-FITC, A) IMAGEM COMBINADA E B) FLUORESCÊNCIA OBSERVADA EM VERDE.....	67
FIGURA 33 - IMAGENS CAPTURADAS POR CLSM (AUMENTO 60 X) DAS NP DE SÍLICA T7D APÓS RECOBRIMENTO POR LbL COM QP-FITC SEGUIDA DA SEGUNDA ADIÇÃO COM A-RITC, A) FLUORESCÊNCIA OBSERVADA EM VERDE, COMPRIMENTO DE ONDA EMISSÃO 525 nm E B) FLUORESCÊNCIA OBSERVADA EM VERMELHO COM COMPRIMENTO DE ONDA EMISSÃO 595 nm...	68
FIGURA 34 - IMAGENS NA LUZ BRANCA E NA LUZ ULTRAVIOLETA DO ACOMPANHAMENTO DAS EMULSÕES DE ÓLEO DE LINHAÇA EM ÁGUA EM FUNÇÃO DO TEMPO EM REPOUSO E A	

TEMPERATURA AMBIENTE. ONDE BRANCO) ÁGUA E ÓLEO DE LINHAÇA), T8D) NP SEM RECOBRIR, T8D-Q/A- REVESTIDA COM QUITOSANA (QP) E ALGINATO (AG), T8D-Q) REVESTIDA COM QP T5D-Q-A REVESTIDA COM QP E AG, T5D-Q REVESTIDA COM QP T1D-Q/A REVESTIDA COM QP E AG T1D-Q REVESTIDA COM QP... 70

FIGURA 35 - ACOMPANHAMENTO DAS EMULSÕES DE ÓLEO DE LINHAÇA EM ÁGUA EM FUNÇÃO DO TEMPO EM REPOUSO E A TEMPERATURA AMBIENTE. ONDE A ESQUERDA ENCONTRA SE O BRANCO: ÁGUA E ÓLEO DE LINHAÇA, EQM: NP TD7 REVESTIDAS COM QP-FITC, EQM/AM: REVESTIDA COM QP-FITC COMO PRIMEIRA CAMADA E A-RITC NA SEGUNDA CAMADA, E EQM@EQAM: QUE CONSISTE NA COMBINAÇÃO DAS NP REVESTIDAS COM QP-FITC E AS NP REVESTIDA COM A-RITC NA SEGUNDA CAMADA..... 73

FIGURA 36 - IMAGENS CAPTURADAS POR CLSM (AUMENTO 60 X) DAS EMULSÕES DE ÓLEO DE LINHAÇA EM ÁGUA DA ESQUERDA PARA DIREITA DETECÇÃO PARA FITC, RITC, E CAMPO CLARO, BRANCO) ÁGUA E ÓLEO DE LINHAÇA, EQM) EMULSÃO COM NP REVESTIDAS COM QP-FITC, EQM/AM) EMULSÃO CONTENDO AS NP REVESTIDA COM QP-FITC COMO PRIMEIRA CAMADA E A-RITC NA SEGUNDA CAMADA NO TEMPO DE 1 HORA E NO TEMPO DE 100 HORAS, E EQM@EQM/AM QUE CONSISTE NA COMBINAÇÃO DAS NP REVESTIDAS COM QP-FITC E AS NP REVESTIDA COM QP-FITC E A-RITC NO TEMPO DE 1 HORA E NO TEMPO DE 100 HORAS..... 75

FIGURA 37 - MICROGRAFIA DAS EMULSÕES DE ÓLEO DE LINHAÇA EM ÁGUA, IMAGEM DA FASE RICA EM SOLVENTE (F.AQU), FASE SUPERIOR (F.ORG) E DO ÓLEO APÓS O SOLVENTE SECAR. BRANCO) EMULSÃO SEM NP, EQM) EMULSÃO COM NP REVESTIDAS QP-FITC, EQM/AM) EMULSÃO CONTENDO NP REVESTIDA COM QP-FITC COMO PRIMEIRA CAMADA E A-RITC COMO SEGUNDA CAMADA, E EQM@EQ/AM QUE CONSISTE NA EMULSÃO QUE CONTEM 50% DE NP REVESTIDAS COM QP-FITC

COM 50% DAS NP REVESTIDA COM A-RITC COMO ULTIMA CAMADA..... 76

FIGURA 38 - ACOMPANHAMENTO DAS EMULSÕES DE ÓLEO DE LINHAÇA EM ÁGUA APÓS REDISPERSÃO DAS EMULSÕES EM FUNÇÃO DO TEMPO EM REPOUSO E A TEMPERATURA AMBIENTE. ONDE À ESQUERDA É APRESENTADO O BRANCO: ÁGUA E ÓLEO DE LINHAÇA, EQM: NP REVESTIDAS COM QP-FITC, EQM/AM: REVESTIDA COM QP-FITC COMO PRIMEIRA CAMADA E A-RITC COMO SEGUNDA CAMADA, EQM@EQ/AM: QUE CONSISTE NA COMBINAÇÃO DE 50% DAS NP REVESTIDAS COM QP-FITC COM 50% DAS NP REVESTIDA COM QP-FITC E A-RITC..... 78

FIGURA 39 - MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO MET E MEV PARA A ASSOCIAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS SQ-SA..... 88



## LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 - REAGENTES UTILIZADOS NO TRABALHO.....	33
QUADRO 2 - SIGLAS UTILIZADAS PARA DENOTAR CADA ROTA E OS PARÂMETROS DE SUAS PREPARAÇÕES.....	38

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - CONCENTRAÇÕES DE TEOS UTILIZADOS NO PREPARO DAS SOLUÇÃO A.....	35
TABELA 2 - VELOCIDADES DE ADIÇÃO (VAZÕES) UTILIZADAS PARA A ADIÇÃO DA SOLUÇÃO A SOBRE A SOLUÇÃO B .....	37
TABELA 3 - DIÂMETRO DE FERET MÉDIO PARA TODAS AS ALÍQUOTAS INVESTIGADAS PARA O ESTUDO DA NUCLEAÇÃO E CRESCIMENTO DAS NP DE SÍLICA.....	56
TABELA 4 - QUANTIDADE DE MATÉRIA E RAZÃO (ÁGUA/TEOS) UTILIZADA NAS VARIAÇÕES NA SÍNTESE DAS NP DE SÍLICA PARA ESTUDO DA INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DE ÁGUA NA SÍNTESE....	60
TABELA 5 - TAMANHO MÉDIO DAS NPS ANTES E APÓS O PROCEDIMENTO DE LbL MEDIDAS POR DLS E MET.....	66
TABELA 6 - CONCENTRAÇÃO OBTIDA PELA ANÁLISE DE TEOR DE SÓLIDOS PARA AS NP T1D, T5D E T8D ANTES E APÓS O RECOBRIMENTO POR LbL.....	68

## LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

AG	- Alginato de sódio
A-RITC	- Alginato de sódio marcado com Rodamina B
CLSM	- Microscopia de fluorescência confocal a laser
DLS	- Espalhamento de Luz dinâmico - Dynamic light scattering
dTG	- Termogravimetria derivada
EQM	- Emulsão contendo NP revestidas com quitosana modificada com Isotiocianato de fluoresceína
EQM- EQ/AM	- Emulsão contendo combinação de NP revestidas com quitosana modificada com FITC e as NP revestida com quitosana modificada com FITC e alginato modificado com RITC.
EQM/AM	- Emulsão contendo NP revestidas com quitosana modificada com FITC como primeira camada e alginato modificado com RITC como segunda camada
FITC	- Isotiocianato de fluoresceína
FTIR	- Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier
LbL	- Layer-by-Layer
MET	- Microscopia eletrônica de transmissão
MEV	- Microscopia eletrônica de varredura
NP	- Nanopartículas de sílica
QB	- Quitosana bruta
QP	- Quitosana purificada
QP-FITC	Quitosana purificada e modificada com FITC
RITC	- Isotiocianato de Rodamina B
SQ-SA	- NP catiônica (SQ) e NP aniônica (SA) associadas
TEOS	- Tetraetoxsilano
TG	- Termogravimetria

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>20</b>
1.1 JUSTIFICATIVA.....	20
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>22</b>
2.1 OBJETIVO GERAL.....	22
2.1.2 Objetivos específicos.....	22
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>23</b>
3.1 PARTÍCULAS DE SÍLICA.....	23
3.2 QUITOSANA.....	25
3.3 ALGINATO DE SÓDIO.....	26
3.4 RECOBRIMENTO DAS NANOPARTÍCULAS DE SÍLICA POR <i>LAYER-BY-LAYER</i> (LBL).....	27
3.5 EMULSÕES.....	28
3.5.1 Estabilidade de Emulsões.....	29
3.5.1.1 Flocculação.....	30
3.5.1.2 Cremeação e Sedimentação.....	30
3.5.1.3 Maturação de Ostwald.....	30
3.5.1.4 Coalescência.....	31
3.5.2 Emulsões de Pickering.....	31
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>33</b>
4.1 REAGENTES E SOLVENTES.....	33
4.2 PURIFICAÇÃO QUITOSANA.....	33
4.3 ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR).....	34
4.4 ANÁLISE TÉRMICA - TERMOGRAVIMETRIA.....	35
4.5 PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE SÍLICA PELO MÉTODO DE STÖBER.....	35
4.6 ESTUDO DO TEMPO DE CRESCIMENTO DAS NANOPARTÍCULAS DE SÍLICA.....	39
4.7 RECOBRIMENTO DAS NANOPARTÍCULAS DE SÍLICA POR LbL.....	39
4.8 POTENCIAL ZETA.....	40
4.9 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA.....	41
4.10 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO.....	41

4.11 ESPALHAMENTO DE LUZ DINÂMICO - <i>DYNAMIC LIGHT SCATTERING</i> (DLS)	41
4.12 ANÁLISE DO TEOR DE SÓLIDOS	42
4.13 MARCAÇÃO DA QUITOSANA COM ISOTIOCIANATO DE FLUORESCEÍNA (FITC)	42
4.14 MARCAÇÃO DO ALGINATO COM RODAMINA B - RITC	43
4.15 PREPARO DAS EMULSÕES	44
4.16 MICROSCOPIA CONFOCAL POR FLUORESCÊNCIA	45
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>46</b>
5.1 CARACTERIZAÇÃO DOS POLÍMEROS	46
5.1.1 Alginato de Sódio	46
5.1.1.1 Alginato de Sódio Marcado	47
5.1.2 Quitosana	48
5.1.2.1 Quitosana Marcada com FITC	50
5.2 SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE SÍLICA PELO MÉTODO DE STÖBER	52
5.2.1 Estudo da velocidade de adição e do método de lavagem	52
5.2.3 Estudo do crescimento das nanopartículas de sílica - NP	55
5.2.4 Estudo da Variação da Concentração de TEOS	58
5.2.5 Alteração da concentração de água	60
5.2.6 Influência do método de adição única controlada pela bomba de seringa e adição instantânea - Rota T5G	62
5.4 TAMANHO DAS NP DE SÍLICA	66
5.5 ESTUDO DAS PARTÍCULAS COMPÓSITAS POR MICROSCOPIA CONFOCAL À LASER (CLSM)	66
5.6 TEOR DE SÓLIDOS	68
5.7 APLICAÇÃO DAS NP EM EMULSÕES ÓLEO/ ÁGUA	69
5.7.1 estabilidade das emulsões - Parte I	69
5.7.2 Morfologia das Emulsões - Parte II	72
	74
<b>6 CONCLUSÕES</b>	<b>80</b>
<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>81</b>
<b>APÊNDICE 1 – ASSOCIAÇÃO NP CATIÔNICAS E ANIÔNICAS</b>	<b>88</b>

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 JUSTIFICATIVA

O interesse por novas tecnologias e processos na produção de nanopartículas e nanocarreadores vem crescendo devido suas inúmeras possibilidades de aplicações, como no âmbito farmacêutico, cosmético, desenvolvimento de sensores e setor agrícola (BAE *et. al.* 2009; FALCÓN; CHEVALIER; BOLZINGER, 2013; BATISTA; AOKI, 2014; GITE *et. al.* 2015; OU *et. al.* 2015; PAULO; SANTOS, 2017; SUNDARAMURTHY; SUNDRAMOORTHY, 2018). No setor farmacêutico a encapsulação de fármacos tais como antibióticos, vacinas, enzimas, anticarcinogênicos entre outros permite a entrega/liberação do medicamento de forma mais eficiente, viabilizando o uso de quantidades menores e reduzindo os efeitos colaterais (PAULO; SANTOS, 2017). Contudo, grande parte destas aplicações necessitam que os nanocarreadores tenham um bom controle de tamanho. Entretanto, poucos métodos de produção de nanocarreadores conseguem garantir este controle de tamanho tão requisitado. O emprego de sílica como *template* para construir nanopartículas é interessante por permitir a obtenção de nanomateriais de sílica com porosidade e tamanhos distintos conforme variações no procedimento experimental tais como temperatura e proporção de reagentes (STÖBER; FINK; BOHN, 1968; HOOD *et. al.* 2017), e devido à sua biocompatibilidade, estabilidade química, térmica e capacidade de resistir a altas forças de cisalhamento (HOOD *et. al.*, 2017).

Já o emprego de biopolímeros para a formação de nanopartículas é interessante devido à biocompatibilidade e baixa toxicidade dos mesmos, visto que existe um seguimento muito forte e com múltiplas aplicações no setor de alimentos, cosméticos e fármacos, além de permitir o ajuste de propriedades de superfícies das partículas de sílica. Além disso, o caráter de polieletrólito de muitos biopolímeros permite a interação eficiente com superfícies e moléculas por interação eletrostática.

A combinação de partículas de sílica e biopolímeros produz partículas compósitas que encontram muitas possibilidades interessantes de aplicação, tais como em emulsões, conhecidas como emulsões de Pickering (CHEVALIER; BOLZINGER, 2013). Portanto, este trabalho propõe o desenvolvimento de

nanopartículas compósitas de sílica revestidas com polieletrólitos de origem natural, alterando a carga superficial das cápsulas aplicadas na estabilização/desestabilização de emulsões óleo/água.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver nanopartículas de sílica compósitas com alto controle de tamanho e baixa dispersão de tamanho, empregando partículas de sílica como *template* e polímeros naturais como material de revestimento, montados por *Layer-by-Layer* (LbL), e estudar as suas propriedades físico-químicas em emulsões de Pickering.

#### 2.1.2 Objetivos específicos

- Produzir nanopartículas de sílica com tamanho controlado, utilizando o método de Stöber, e otimização do método para o controle do tamanho das partículas de sílica;
- Caracterizar as nanopartículas de sílica quanto ao tamanho, carga superficial, e morfologia;
- Preparar nanopartículas com carga de superfície positiva ou negativa, empregando como *template* nanopartículas de sílica e utilizando o método de deposição dos polímeros quitosana e alginato por LbL;
- Caracterizar as nanopartículas revestidas (morfologia, tamanho, carga superficial);
- Aplicação em emulsões óleo/água das nanopartículas de sílica revestidas;
- Caracterização das emulsões por microscopia confocal de fluorescência a laser.



### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 PARTÍCULAS DE SÍLICA

Partículas de sílicas constituídas de dióxido de silício, apresentam propriedades interessantes como a capacidade de resistir a altas temperaturas e altas forças de cisalhamento (HOOD *et. al.*, 2017), e a possibilidade de alterações morfológicas ao serem variados alguns fatores durante a síntese. Por esses motivos essas partículas têm sido muito utilizadas em novas pesquisas para diversas aplicações (TARN *et. al.*, 2013; ZHOU *et. al.*, 2018).

Dentre os métodos de preparo de partículas de sílica destacam-se os métodos de emulsão, miniemulsão inversa, precipitação em miniemulsão, microemulsão, (HOOD *et. al.*, 2017; LIU *et al.*, 2017) coprecipitação, policondensação, sílica precipitada (neutralização), síntese biomimética e o método de Stöber (HYDE *et al.*, 2016).

O método de Stöber foi desenvolvido em 1968 e consiste em um processo sol-gel, ou seja, reações de polimerização inorgânica realizadas em temperaturas brandas. O termo sol pode ser definido como uma dispersão de partículas coloidais estável em um líquido (HIRATSUKA; SANTILLI; PULCINELLI,1995), e o termo gel pode ser visto como um sistema formado pela estrutura rígida de partículas coloidais ou partículas poliméricas que imobiliza a fase líquida nos seus interstícios (HIRATSUKA; SANTILLI; PULCINELLI,1995).

O mecanismo que ocorre no método de Stöber consiste inicialmente na hidrólise de precursores silicatos, podendo ser por meio de catálise ácida ou básica, segundo reação de substituição nucleofílica bimolecular (SN<sub>2</sub>) (BRINKER, 1988). O Tetraetoxsilano TEOS (Figura 1) é um dos precursores silicatos mais comumente empregados (FERREIRA, 2011; GAO; RIGOUT; OWENS, 2016; STÖBER; FINK; BOHN, 1968).

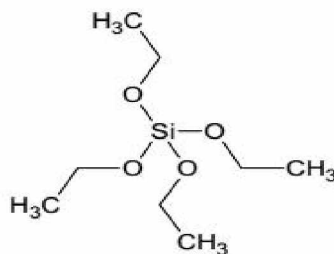
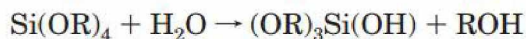


FIGURA 1 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA ESTRUTURA DO TETRAETOXISILANO (TEOS)

Abaixo é apresentada a reação referente à hidrólise de um silano do tipo  $(OR)_4Si$  catalisada por amônia em meio hidroalcoólico para a síntese de nanopartículas de sílica (NOZAWA *et al.*, 2005; STÖBER; FINK; BOHN, 1968).



Os mecanismos passo a passo envolvidos nos processos são considerados complexos, e muitos trabalhos vêm sendo relatados com o objetivo de elucidar as etapas destes mecanismos. Para LaMer (1952) a nucleação ocorre apenas quando se ultrapassa o limite de solubilidade das espécies envolvidas, ou seja, quando trabalha-se acima de um valor crítico (VAN BLAADEREN, VAN GEEST, AND VRIJ, 1992). Matouskas e Gulari (1991) propuseram um modelo baseado neste modelo de LaMer denominado de Adição de Monômeros, que consiste em, após a nucleação inicial, o crescimento das NP se processam pela adição de monômeros hidrolisados ou também denominado de reativos (BRINKER; SCHERER, 1990; VAN BLAADEREN, VAN GEEST, AND VRIJ, 1992; HIRATSUKA, SANTILLI, PULCINELLI, 1995).

Outro mecanismo também bem descrito na literatura consiste no modelo de Agregação Controlada proposto por Zukoski *et al* (1991), onde o processo de nucleação ocorre continuamente e o crescimento é proveniente da agregação das subpartículas umas com as outras. Harris e Van Blaaderen (1992) discutiram que na verdade existe a contribuição dos dois modelos, de Adição de Monômeros e de Agregação Controlada (VAN BLAADEREN, VAN GEEST, AND VRIJ, 1992). Já Nozawa *et al* (2005) propuseram um modelo que relaciona o crescimento de

partículas de sílica com a taxa de adição de TEOS, e afirma que o crescimento é limitado pelo coeficiente de difusão dos monômeros.

Existem vários parâmetros que influenciam no tamanho de nanopartículas de sílica, Bogush e Zukoski (1991) apontaram cinco, sendo eles, concentração do precursor, concentração de amônia, concentração de água, efeito do álcool e temperatura de reação. A modulação do tamanho das NP com a concentração de precursor é algo interessante, empregando essas NP de sílica como *template* para preparar NP compósitas com um bom controle da distribuição e faixa de tamanho.

A variação de parâmetros tais como a proporção ou razão água/precursor podem resultar em partículas com distintas propriedades de superfície, como a obtenção de NP com diferentes porosidades. Além disso, as NP de sílica apresentam carga superficial negativa, tendo sido amplamente estudadas e consideradas um material interessante para ser empregado como carreadores de diversos compostos tais como fármacos, anticorrosivo, essências entre outros ou atuarem como partículas de Pickering em emulsões (VAZQUEZ et al., 2017).

Empregando a metodologia proposta por Stöber, utilizando a catálise básica somada às considerações feitas por Nozawa onde realiza-se a adição controlada dos reagentes, esperava-se obter nanopartículas de sílica esféricas com baixa dispersão de tamanho (ASSAR; MESSADDEQ; RIBEIRO, 2002; NOZAWA et al., 2005; STÖBER; FINK; BOHN, 1968; BOGUSH; ZUKOSKI. 1991).

### 3.2 QUITOSANA

A quitosana é um polissacarídeo obtido da desacetilação da quitina, encontrada nos exoesqueletos de insetos, crustáceos e alguns fungos. É, portanto, um produto derivado de um polímero natural abundante, biodegradável atóxico e biocompatível. A quitosana é formada por unidades de  $\beta$ -N-acetil-D-glucosamina e  $\beta$ -D-glucosamina unidas por ligações glicosídicas (1 $\rightarrow$ 4). Na Figura 2 é apresentado a representação da estrutura química para a quitosana (ZARGAR; ASGHARI; DASHTI, 2015).

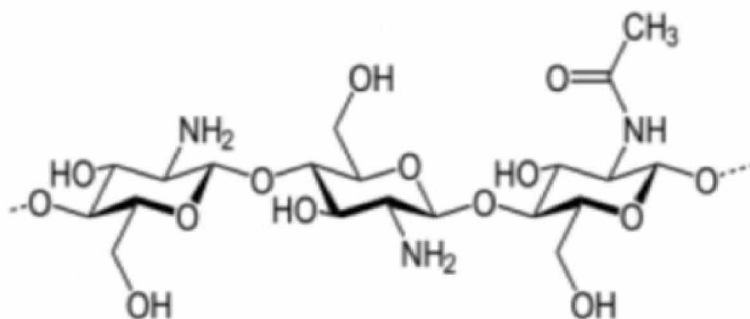


FIGURA 2 - ESTRUTURA GERAL DA QUITOSANA (FONTE: ZARGAR; ASGHARI; DASHTI, 2015)

Por apresentar grupamentos amino, em pH abaixo do seu pKa ( $pK_a = 6,3$ ) apresenta carga superficial positiva, atuando como um polieletrólito catiônico (DAMIAN, C. *et al*, 2005). É insolúvel em água, mas é solubilizada em soluções diluídas orgânicas ácidas com pH inferior a 6 pois ocorre a protonação dos grupos amino (DAMIAN, C. *et al*, 2005; AZEVEDO *et al.*, 2007; CARRASQUE; MORAES; DA SILVA, 2009; LIMA, S, R, G; SANTANA, D, 2009).

A quitosana é um material com alto potencial de aplicação em diversos setores pois apresenta propriedades antimicrobianas, estimulantes do sistema imune e promove a inibição de células tumorais. (AZEVEDO *et al.*, 2007; KEAN; THANOU, 2010).

### 3.3 ALGINATO DE SÓDIO

O alginato de sódio (AG) é um biopolímero extraído de algas marinhas ou bactérias. É um copolímero linear, composto por unidades do ácido β-D-manurônico e α-L-gulurônico. Na Figura 3 está representado uma sugestão de blocos que compõem a microestrutura de um segmento de cadeia de um alginato, mostrando duas unidades de ácido gulurônico (G) em sequência e ligadas a duas unidades de ácido manurônico (M). A proporção M/G, o grau de polimerização e sua estrutura sequencial dos blocos tendem a variar bastante (TAM *et al*, 2011; FANI, 2013).

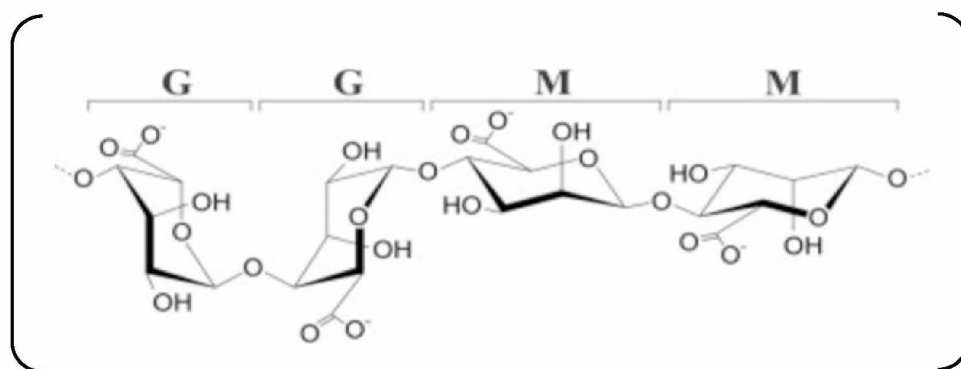


FIGURA 3 - REPRESENTAÇÃO DA MICROESTRUTURA DE BLOCO DO ALGINATO, CONSTITUÍDOS POR ÁCIDO MANURÔNICO (M) E ÁCIDO GULURÔNICO (G) (FONTE: TAM *et al.* 2011).

O alginato também apresenta características importantes tais como biodegradabilidade, biocompatibilidade, baixa toxicidade, ação gelificante e espessante, sendo amplamente utilizado na indústria de alimentos, cosmética, farmacêutica, têxtil e de papel (CARRASQUE; MORAES; DA SILVA, 2009; FANI, 2013; LIMA *et al.*, 2007).

### 3.4 RECOBRIMENTO DAS NANOPARTÍCULAS DE SÍLICA POR *LAYER-BY-LAYER* (LbL)

A técnica de deposição camada por camada ou *Layer-by-Layer* (LbL), consiste em um método já amplamente empregado que data do ano de 1960 (CHANDRAWATI, 2011). O método resume-se na interação de moléculas com carga superficial oposta, formando assim filmes finos que podem ser organizados em múltiplas camadas.

Polímeros com grupos funcionais passíveis de serem ionizados são ótimos candidatos a serem empregados para recobrir superfícies carregadas formando cápsulas, ou carreadores (CHANDRAWATI *et al.*, 2009; DECHER; HONG; SCHMITT, 1992; JOHNSTON *et al.*, 2006).

A adsorção ocorre devido à força de atração eletrostática proveniente da interação entre polieletrólitos carregados e a superfície do substrato, sendo possível ocorrer a inversão da carga superficial e, por consequência, permitindo a adsorção de mais camadas. A formação gradual das cápsulas permite por exemplo a incorporação de materiais em compartimentos diferentes, resultando em múltiplas funcionalidades, sendo uma das grandes vantagens da técnica LbL, promovendo grande inovação no que tange à ciência de novos materiais

(CHANDRAWATI, 2011; HOSTA-RIGAU *et al.*, 2011; JOHNSTON *et al.*, 2006; MORA-HUERTAS; FESSI; ELAISSARI, 2010). Na Figura 4 é apresentado um esquema genérico para o preparo de cápsulas por LbL.

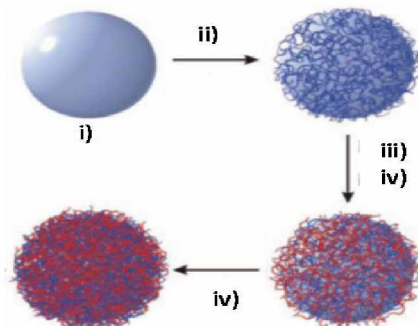


FIGURA 4 - ILUSTRAÇÃO DA FORMAÇÃO DE CÁPSULAS POLIMÉRICAS POR LBL, EM (I) O TEMPLATE QUE EM SEGUIDA É RECOBERTO COM POLIELETRÓLITO CARREGADO (II), SEGUIDO DA LAVAGEM (III) E (IV) ADSORÇÃO CONSECUTIVA DE POLIELETRÓLITOS CARREGADOS DE FORMA OPOSTA (BECKER; JOHNSTON; CARUSO, 2010)

Inicialmente, o material empregado como *template* (i) é recoberto por polímero de carga oposta à do núcleo (ii), sendo adsorvido sobre o *template*, em seguida, é realizada a lavagem para retirada do excesso de polímero (iii) e um segundo polímero de carga oposta ao primeiro polímero (iv), é adsorvido novamente. O processo é repetido até que a quantidade de camadas desejada seja atingida (iv).

### 3.5 EMULSÕES

Por definição emulsões são sistemas heterogêneos constituídos por, ao menos, dois líquidos imiscíveis entre si, formando a fase dispersa ou interna e a fase contínua. Estão inseridas no dia a dia, como em alimentos, cosméticos, no setor de tintas e na indústria e extração/refino do petróleo. As emulsões são classificadas quanto ao tamanho das gotículas dispersas (macro/micro/mini/nanoemulsão) e quanto a natureza das fases dispersas e contínua (SCHIFINO, J.2013; SHAW, J.D. 2002).

A estabilidade de uma emulsão pode ser entendida como a capacidade de permanecer homogênea por um dado tempo. Para aumentar a estabilidade de emulsões podem ser empregados tensoativos que tendem a migrar para a interface água/óleo reduzindo a tensão interfacial. Alguns estudos vêm sendo

realizados com o propósito de facilitar os processos de desestabilização de emulsões, como no caso da área petrolífera ou na indústria de mineração que necessitam empregar algum material ou promover um processo para promover a desestabilização. Por todos esses fatores, o estudo de sistemas que atuem estabilizando ou desestabilizando emulsões encontram grande potencial de aplicação (YUAN; TONG; WU, 2011).

### 3.5.1 Estabilidade de Emulsões

Os principais mecanismos que contribuem para a desestabilização das emulsões são devido a forças atrativas entre as gotículas, movimento browniano, diferenças de densidade entre a fase contínua e dispersa e ou maturação de Ostwald, apresentados esquematicamente na Figura 5 (SCHIFINO, J.2013; SHAW, J.D 2002; FRANZOL; REZENDE, 2015).

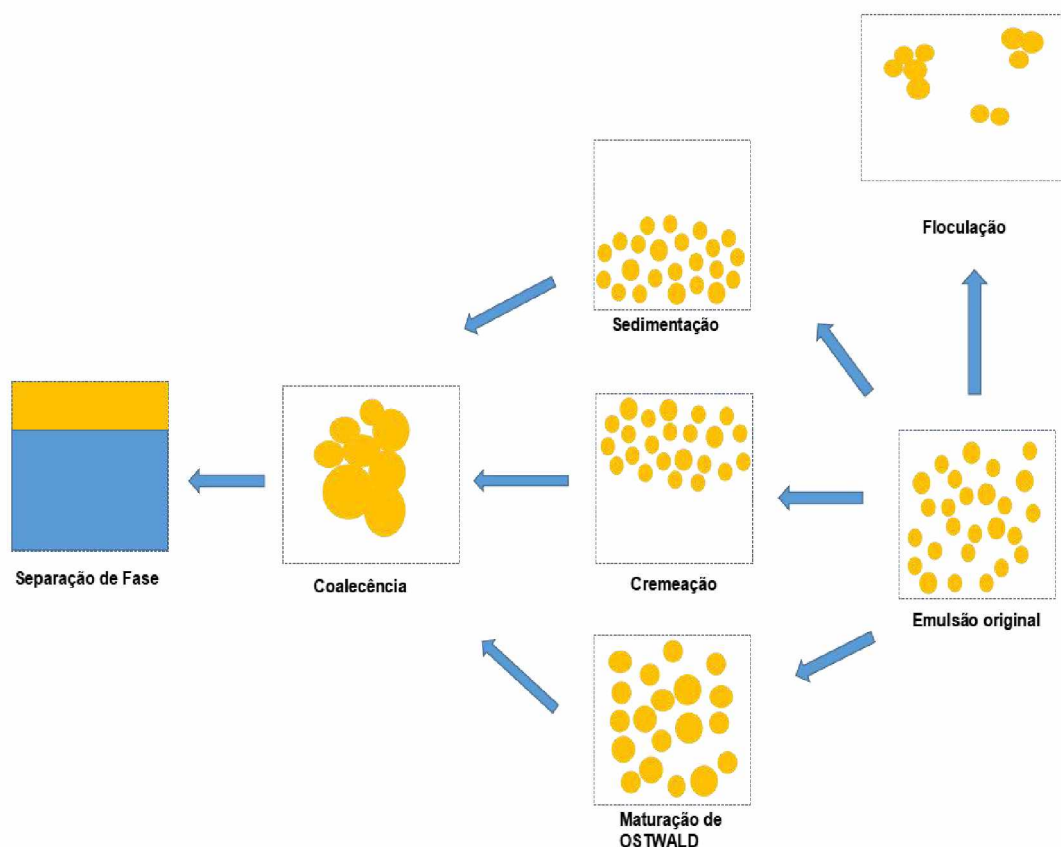


FIGURA 5 - ESQUEMA REPRESENTATIVO DOS PRINCIPAIS PROCESSOS DE DESESTABILIZAÇÃO DE EMULSÕES (BASEADO EM FRANZOL; REZENDE, 2015)

### 3.5.1.1 Floculação

No processo de floculação, ocorre a agregação das gotículas, preservando o seu tamanho das gotículas, a força motriz pode ser a gravidade, ou mesmo o movimento browniano, provocando o choque entre as gotículas. Um mecanismo utilizado para melhorar a estabilidade de emulsões é o emprego de emulsificantes carregados, formando uma dupla camada elétrica na superfície das gotículas e impedindo a aproximação por interações eletrostáticas ou forças atrativas de van der Waals, outro fator que pode contribuir para evitar a floculação é impedimento estérico associado ao emprego de macromoléculas na interface óleo/água (TADROS, 2013).

### 3.5.1.2 Cremeação e Sedimentação

A cremeação e a sedimentação devem-se a diferenças de densidade das fases dispersa e contínua. Cremeação é quando a fase contínua é mais densa que a fase dispersa, e sedimentação quando a fase dispersa é mais densa. Estes processos contribuem para que outros mecanismos de desestabilização atuem no sistema, pois a concentração das gotículas na fase inferior ou superior resultam em uma distância menor entre as gotículas facilitando o contato entre elas (TADROS, 2013).

### 3.5.1.3 Maturação de Ostwald

O mecanismo de desestabilização denominado de Envelhecimento por Ostwald Ripening ou maturação de Ostwald consiste no aumento do tamanho das gotículas dispersa. Este comportamento é observado devido à co-solubilidade entre a fase dispersante e a fase dispersa bem como a difusão da fase dispersa no meio. O potencial químico e a pressão interna de gotículas menores são mais elevadas do que de gotículas maiores, ao ocorrer a difusão para gotículas maiores (menor pressão) ocorre a minimização da energia do sistema, descrito pela equação de Young-Laplace:

$$\Delta p = \frac{2\gamma}{r} \quad (1)$$



Onde  $\gamma$  é a tensão interfacial e  $\Delta p$  a variação de pressão na interface líquido-líquido que é inversamente proporcional ao raio  $r$  da gotícula (SADTLER; IMBERT; DELLACHERIE, 2002; FRANZOL; REZENDE, 2015).

#### 3.51.4 Coalescência

A coalescência é o mecanismo que ocorre quando gotículas se aproximam de tal forma perdendo a sua integridade, unindo-se, resultando em número menor de gotículas, com raio maior e volume final proporcional à soma das gotículas. Esse mecanismo resulta na diminuição da energia superficial devido à menor área interfacial (TADROS, 2013; FRANZOL; REZENDE, 2015).

#### 3.5.2 Emulsões de Pickering

Uma classe que merece destaque entre as emulsões são as emulsões de Pickering. O preparo de emulsões empregando partículas sólidas foram estudadas por Ramsden e Pickering em 1903 e 1907, respectivamente, desde então estudos empregando partículas sólidas vêm demonstrando a capacidade de atuarem como estabilizantes e vêm despontando com vantagem em relação aos tensoativos mais usuais, pois estudos apontam estabilidade superior, baixa toxicidade, potencial de aplicação na indústria alimentícia, cosmética, farmacêutica e como biocatalisadores (WU; MA, 2016).

Estudos indicam que o tamanho das NP tem influência direta na estabilidade das emulsões de Pickering, o tamanho das partículas deve ser muito menor do que o tamanho das gotículas da emulsão para proporcionar uma estabilização eficiente (WU; MA, 2016). O comportamento termodinâmico de partículas de Pickering com a interface podem ser descritos em termos de energia de desorção das partículas da interface, onde R representa o raio (WU; MA, 2016).

$$\Delta G = \pi R^2 \gamma_{oA} (1 \pm |\cos \theta_{oA}|)^2 \quad (2)$$

Onde  $\Delta G$  é a energia de desorção,  $R$  é o raio da partícula,  $\gamma_{oa}$  é a tensão interfacial entre o óleo e a água e  $\theta$  é o ângulo de contato entre a partícula e a interface.

Logo uma estabilização eficiente é dependente do ângulo de contato da partícula na interface, como pode-se observar na Figura 6.

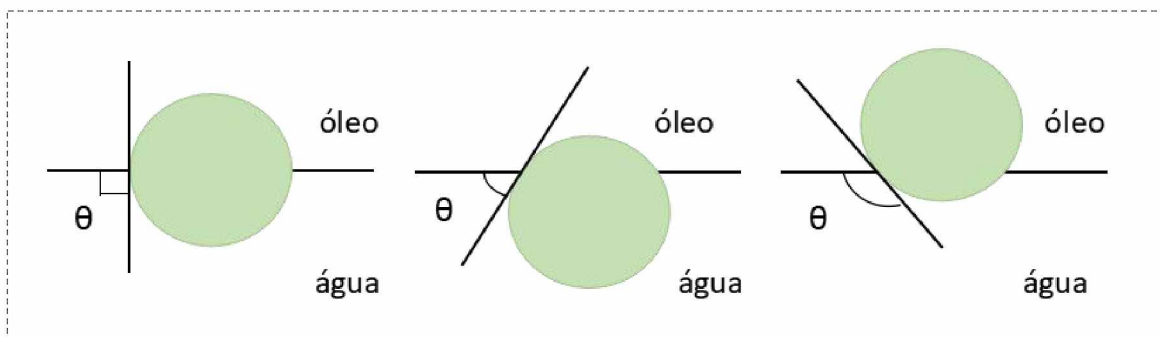


FIGURA 6 - ESQUEMA REPRESENTATIVO DOS DIFERENTES ÂNGULOS DE CONTATO DA PARTÍCULA DE PICKERING NA INTERFACE ÓLEO-ÁGUA, ÂNGULO  $\theta=90^\circ$ ,  $\theta<90^\circ$  E  $\theta > 90^\circ$  (ADAPTADO AVEYARD; BINKS; CLINT, 2003)

Quando o ângulo  $\theta$  é igual a  $90^\circ$  não ocorre interação preferencial com nenhuma das fases, já quando o ângulo é maior que  $90^\circ$  as partículas assumem um caráter hidrofóbico, interagindo preferencialmente com a fase óleo, e, por consequência, quando o ângulo  $\theta$  é menor que  $90^\circ$  as partículas assumem um caráter mais hidrofílico, ou seja, apresentam maior afinidade com a fase aquosa.

A relação do tamanho das NP com a estabilidade das emulsões depende da energia de desorção, ou seja, quanto mais fácil desorverem as NP da interface, menos estável torna-se o sistema, conforme pode-se deduzir pela equação 2. Contudo, parâmetros como a cinética de adsorção e a facilidade de empacotamento podem contribuir para que ocorram casos que não dependam diretamente do tamanho das NP (LEVINE, BOWEN e PARTRIDGE, 1989; WU; MA, 2016).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 REAGENTES E SOLVENTES

Os reagentes utilizados neste trabalho estão descritos no quadro 1.

QUADRO 1 - REAGENTES UTILIZADOS NO TRABALHO.

Reagente	Marca	Pureza (%)
Tetraetoxisilano (TEOS)	Sigma - Aldrich	98
Hidróxido de amônio	Synth	27
Etanol	BIOTEC	99 (grau P.A)
Ácido fluorídrico	Synth	40
Acetato de sódio tri-hidratado	MERCK	99,5
Ácido acético	Neon	99
Óleo Mineral	FARMAX	
Óleo de Linhaça	Sigma - Aldrich	
Isotiocianato de Fluoresceína	Fulka	90
Isotiocianato de Rodamina B	Sigma - Aldrich	95

As biomoléculas empregadas para realizar o recobrimento por LbL foram alginato de sódio (referência W201502, lote MKBT7870 - Sigma-Aldrich) foi utilizado sem qualquer processo de purificação prévia e quitosana (referência C3646, lote SLBC2867V - Sigma-Aldrich) com grau de desacetilação de 75%. A massa molar média da quitosana foi determinada previamente no laboratório de pesquisa (SANTOS. L, R, L - tese doutorado, em andamento) onde a massa molar viscosimétrica ( $M_V$ ) foi de  $1,07 \times 10^5 \text{ g mol}^{-1}$ .

O alginato de sódio foi caracterizado previamente por Jacumasso *et al* (2017) por cromatografia de exclusão por tamanho e a determinação da massa molar ponderal média ( $M_w$ ) para o AG foi de  $3,27 \times 10^4 \text{ g mol}^{-1}$ .

### 4.2 PURIFICAÇÃO QUITOSANA

O fluxograma da purificação da quitosana está apresentado na Figura 7.

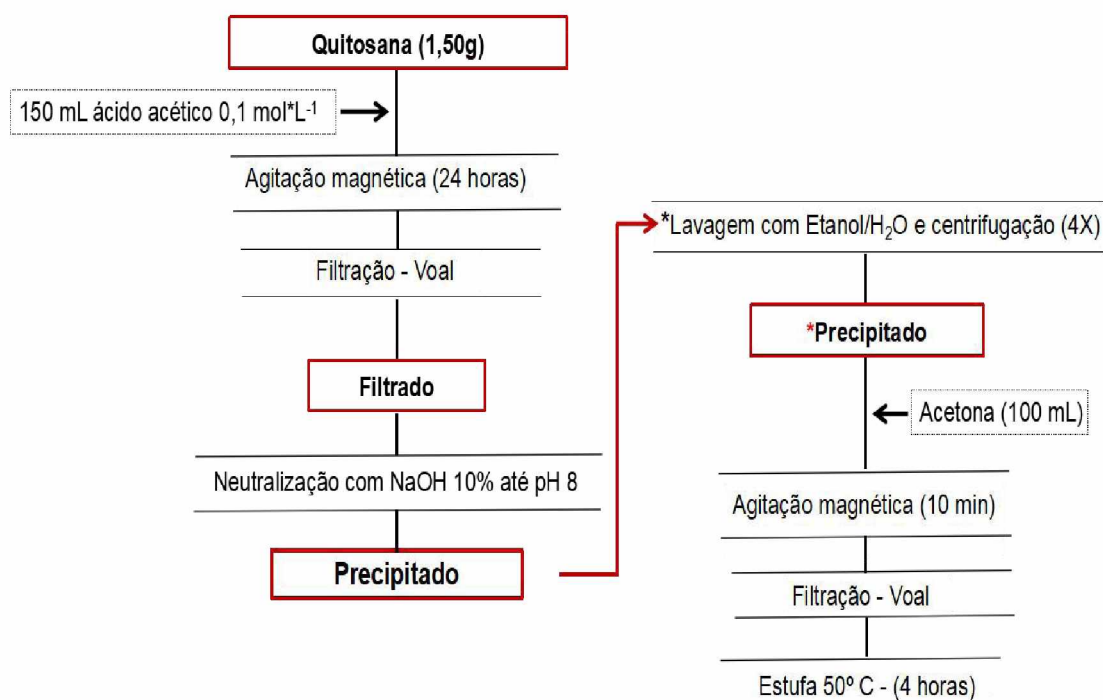


FIGURA 7 - FLUXOGRAMA DA PURIFICAÇÃO DA QUITOSANA QUE CONSISTE EM SOLUBILIZAÇÃO DA QUITOSANA EM ÁCIDO ACÉTICO, PRECIPITAÇÃO PELA ADIÇÃO DE HIDRÓXIDO DE SÓDIO SEGUIDO DE QUATRO CICLOS DE LAVAGEM COM ETANOL/ÁGUA COMEÇANDO COM A RAZÃO 30/70 E AUMENTANDO ATÉ 100/0. \*O PROCEDIMENTO INICIAL ATÉ OBTER O PRECIPITADO FOI REPETIDO POR 3 VEZES

A quitosana foi submetida ao processo de purificação adaptado de (SIGNINI; CAMPANA, 2001; TAN *et al.*, 1998), onde inicialmente promoveu-se a solubilização da quitosana em ácido acético  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , para remoção de material particulado filtrou-se com voal, ao material filtrado adicionou-se hidróxido de sódio até pH 8,0, formando precipitado no fundo. Este material precipitado foi submetido a lavagem com etanol/água realizado em quatro ciclos, começando com a razão 30/70 e aumentando até 100/0 seguida de centrifugação, este procedimento foi repetido por 3 vezes.

Ao material precipitado após a última centrifugação adicionou-se 100 mL de acetona e foi mantido sob agitação por 10 minutos, retirou-se o excesso de acetona, após foi seco em estufa a  $50^{\circ}\text{C}$  durante duas horas.

#### 4.3 ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

Para fins de caracterização dos polímeros de interesse e dos óleos foram realizadas análises de espectroscopia na região do infravermelho. As amostras

foram homogeneizadas com brometo de potássio e prensadas com auxílio de uma prensa manual para formação de pastilhas. Os espectros foram obtidos com 32 *scans*, no espectrofotômetro BOMEN Modelo MB100 na região de 4000  $\text{cm}^{-1}$  a 400  $\text{cm}^{-1}$ , com resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ , no modo transmitância.

#### 4.4 ANÁLISE TÉRMICA - TERMOGRAVIMETRIA

Foram feitas análises para avaliar a perda de massa dos polímeros de interesse onde aproximadamente 5 mg de amostra foram utilizados, todas as análises foram realizadas no equipamento NETZSCH STA 449F3 sob atmosfera de  $\text{N}_2$  com razão de aquecimento de  $10^\circ\text{C min}^{-1}$ , e temperatura inicial de  $20^\circ\text{C}$  e temperatura final de  $900^\circ\text{C}$ .

#### 4.5 PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE SÍLICA PELO MÉTODO DE STÖBER

As nanopartículas de sílica foram preparadas pelo método de Stöber com as adaptações propostas por Nozawa (2005), para todas as sínteses utilizou-se um banho ultratermostático (CIEN TEC - 281-9), na temperatura de  $20^\circ\text{C}$  durante 24 horas.

Inicialmente foram preparadas duas soluções, *A* e *B*. A solução *A* foi preparada pela adição de TEOS em etanol, sendo a concentração de TEOS variável (Tabela 1) e foram nomeadas por números em ordem crescente de 1 a 9.

TABELA 1 - CONCENTRAÇÕES DE TEOS UTILIZADOS NO PREPARO DAS SOLUÇÃO A

Número de concentrações	Concentrações de TEOS ( $\text{mmol mL}^{-1}$ )
1	0,180
2	0,192
3	0,385
4	0,513
5	0,641
6	0,652
7	0,834
8	1,08
9	1,28

A solução *B* foi preparada pela mistura de 9,5 mL de hidróxido de amônio (0,238 mol), 12 mL de água ultrapura (18,2 MΩ.cm) e 50,0 mL de etanol (0,856 mol).

Foram mantidos constantes as quantidades em volume de solução *A* e *B* adicionadas para realizar as sínteses das nanopartículas de sílica, o volume adicionado de solução *A* foi fixado em 7,0 mL e o volume da solução *B* foi fixado em 14,3 mL.

Na Figura 8 está apresentada a ilustração referente ao método de preparo das partículas de sílica.

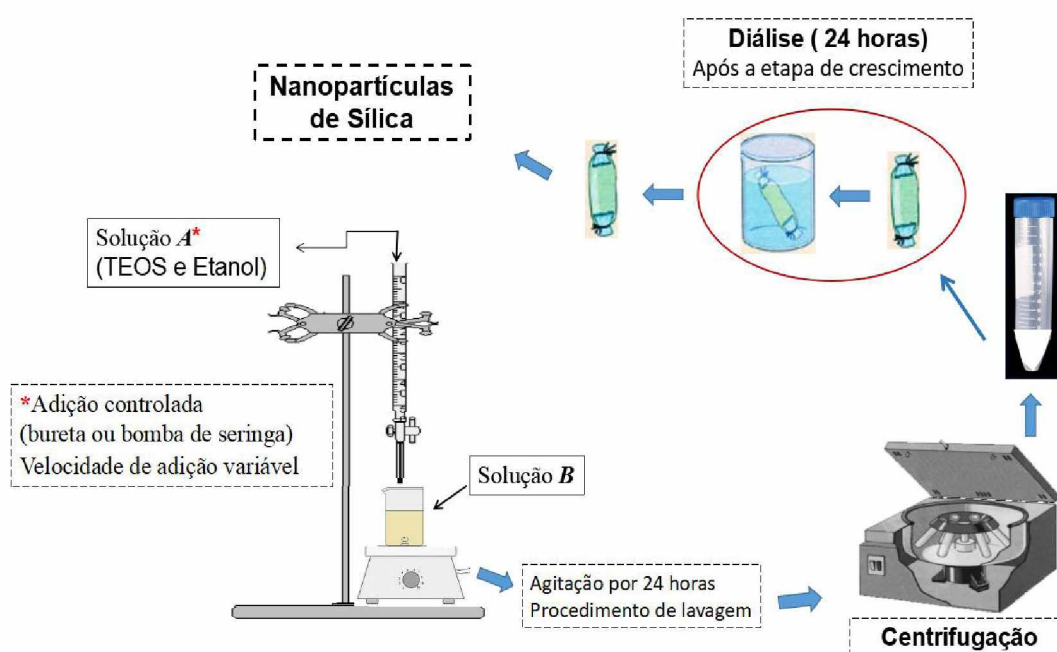


FIGURA 8 - ILUSTRAÇÃO DO PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL PARA O PREPARO DAS PARTÍCULAS DE SÍLICA E MÉTODO DE LAVAGEM.

Foram realizadas as adições da solução *A*, conforme Tabela 2, por dois métodos: utilizando uma bureta de 25,0 mL e empregando uma bomba de seringa, que permite o controle da vazão de forma mais precisa. A velocidade de adição (vazão volumétrica) depende da escala da seringa que é informada na calibração da bomba de seringa. Utilizou-se uma seringa de 10 mL para todas as adições com escala de 46 mm.

Investigou-se o melhor modo de lavagens das NP de forma a garantir o fim da reação, para isso foram realizadas lavagens com etanol e água por

centrifugação e/ou diálise. As diálises foram realizadas contra água ultrapura por 24 horas e utilizou se membrana de 2000 Da.

Foram feitas variações a fim de otimizar o método de formação de nanopartículas e compreender quais fatores interferem na morfologia das mesmas. Na Tabela 2 são apresentadas as velocidades de adições empregadas e identificadas por letras de A a G.

TABELA 2 - VELOCIDADES DE ADIÇÃO (VAZÕES) UTILIZADAS PARA A ADIÇÃO DA SOLUÇÃO **A** SOBRE A SOLUÇÃO **B**

<b>Vazão (mL min<sup>-1</sup>)</b>	0,25	0,34	0,50	0,70	2,78	4,52	7,0
<b>Letra</b>	A	B	C	D	E	F	G

As NP foram nomeadas de acordo com a concentração de TEOS e a velocidade de adição empregada, como ilustrado na Figura 9 abaixo.

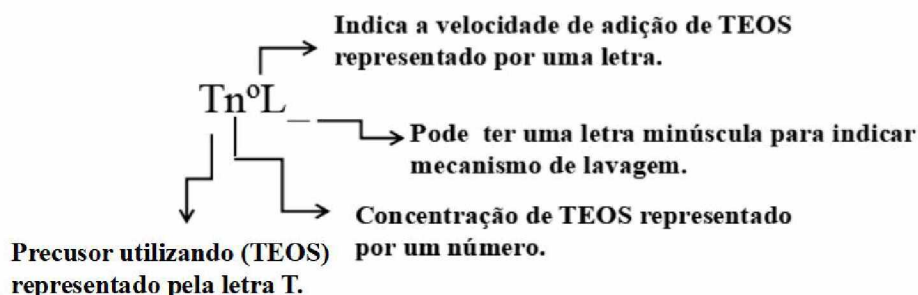


FIGURA 9 - LEGENDA DE COMO FORAM NOMEADAS AS PARTÍCULAS DE SÍLICA DE ACORDO COM O SEU MÉTODO DE PREPARO

QUADRO 2 - SIGLAS UTILIZADAS PARA DENOTAR CADA ROTA E OS PARÂMETROS DE SUAS PREPARAÇÕES

Nome*	Velocidade de adição (mL min <sup>-1</sup> )	Concentração de TEOS (Sol <b>A</b> ) (mol mL <sup>-1</sup> )	Número de mols de TEOS	Método de adição
T5A(c)	0,25	$6,41 \times 10^{-4}$	$4,49 \times 10^{-3}$	Bureta
T5A(d)	0,25	$6,41 \times 10^{-4}$	$4,49 \times 10^{-3}$	Bureta
T5A(p)	0,25	$6,41 \times 10^{-4}$	$4,49 \times 10^{-3}$	Bureta
T5A(g)	0,25	$6,41 \times 10^{-4}$	$4,49 \times 10^{-3}$	Bureta
T5C(c)	0,5	$6,41 \times 10^{-4}$	$4,49 \times 10^{-3}$	Bureta
T5C(d)	0,5	$6,41 \times 10^{-4}$	$4,49 \times 10^{-3}$	Bureta
T5G(p)	7 (ad única)	$6,41 \times 10^{-4}$	$4,49 \times 10^{-3}$	Bureta
T5G(g)	7 (ad única)	$6,41 \times 10^{-4}$	$4,49 \times 10^{-3}$	Bureta
T2C	0,5	$1,92 \times 10^{-4}$	$1,34 \times 10^{-3}$	Bureta
T3C	0,5	$3,85 \times 10^{-4}$	$2,70 \times 10^{-3}$	Bureta
T4C	0,5	$5,13 \times 10^{-4}$	$3,59 \times 10^{-3}$	Bureta
T5C	0,5	$6,41 \times 10^{-4}$	$4,49 \times 10^{-3}$	Bureta
T5B	0,34	$6,41 \times 10^{-4}$	$4,49 \times 10^{-3}$	Bomba de adição
T5E	2,78	$6,52 \times 10^{-4}$	$4,56 \times 10^{-3}$	Bomba de adição
T5F	4,52	$6,52 \times 10^{-4}$	$4,56 \times 10^{-3}$	Bomba de adição
T5D	0,7	$6,52 \times 10^{-4}$	$4,56 \times 10^{-3}$	Bomba de adição
T5GI	7 (ad única)	$6,52 \times 10^{-4}$	$4,56 \times 10^{-3}$	Manualmente
T5GII	7,15	$6,52 \times 10^{-4}$	$4,66 \times 10^{-3}$	Bomba de adição
T5D	0,7	$6,52 \times 10^{-4}$	$4,56 \times 10^{-3}$	Bomba de adição
T1D	0,7	$1,80 \times 10^{-4}$	$1,26 \times 10^{-3}$	Bomba de adição
T7D	0,7		$6,73 \times 10^{-3}$	Bomba de adição
T8D	0,7	$12,80 \times 10^{-4}$	$8,96 \times 10^{-3}$	Bomba de adição

\* As letras minúsculas se referem ao processo de lavagem: centrifugadas (c), dialisada (d), ou a frações separadas por centrifugação onde (g) fração grande e (p) fração pequena.



#### 4.6 ESTUDO DO TEMPO DE CRESCIMENTO DAS NANOPARTÍCULAS DE SÍLICA

As NP utilizadas nesse estudo foram preparadas com velocidade de adição da solução A igual a  $0,70 \text{ mL min}^{-1}$ , com o auxílio da bomba de seringa e concentração de TEOS de  $6,51 \times 10^{-4} \text{ mL min}^{-1}$ .

Foram retiradas alíquotas de 2,00 mL, nos tempos de 1, 3, 4, 8, 12, 24, 36 e 50 horas após a adição da solução A. As alíquotas foram imediatamente centrifugadas, retornando o sobrenadante para o meio reacional. Avaliou-se o tempo de crescimento por meio de técnicas microscópicas.

#### 4.7 RECOBRIMENTO DAS NANOPARTÍCULAS DE SÍLICA POR LbL

O procedimento de LbL foi adaptado do método desenvolvido por Leal *et al*, (2018).

Inicialmente tomou-se uma alíquota das NP dispersas em água, realizou-se uma centrifugação para concentrar a amostra, o sobrenadante foi descartado e as NP foram secas em estufa a  $100 \text{ }^\circ\text{C}$ , posteriormente pesou-se a massa obtida, o procedimento experimental é apresentado na Figura 10.

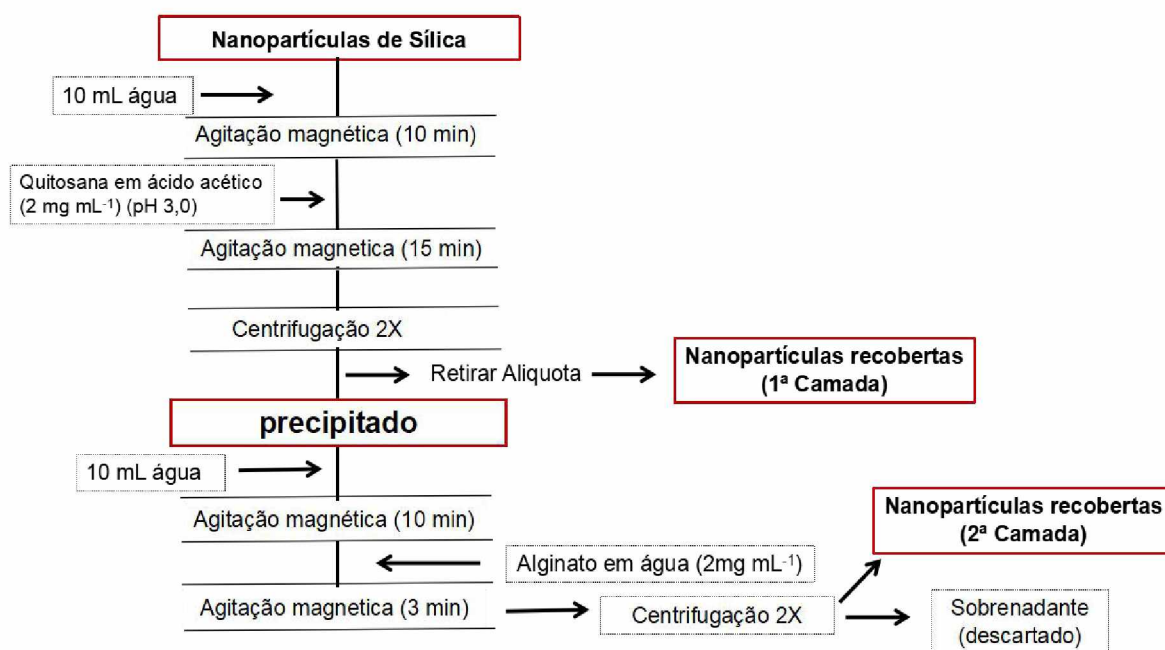


FIGURA 10 - PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL PARA RECOBRIMENTO DAS NANOPARTÍCULAS DE SÍLICA POR LbL ADAPTADO DE LEAL (2018)

Na Figura 11 é apresentada uma ilustração esquemática do recobrimento das NP com polímeros por LbL.

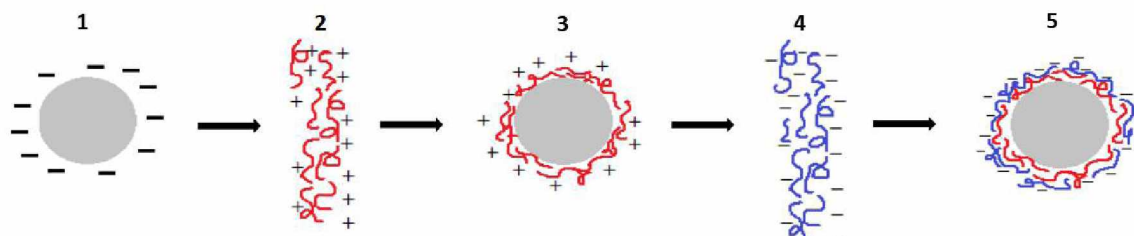


FIGURA 11 - ILUSTRAÇÃO DEMONSTRATIVA DO RECOBRIMENTO DAS NP COM POLÍMEROS DEVIDO A ADSORÇÃO DE POLIELETRÓLITO DE CARGA POSITIVA SOBRE A PARTÍCULA DE SÍLICA POR LBL. 1) PARTÍCULA DE SÍLICA COM CARGA NEGATIVA, 2) POLIELETRÓLITO DE CARGA POSITIVA, 3) PRIMEIRA CAMADA DE POLÍMERO ADSORVIDA, 4) POLIELETRÓLITO DE CARGA NEGATIVA, 5) FORMAÇÃO DA SEGUNDA CAMADA DEVIDO A ADSORÇÃO DA SEGUNDA CAMADA DE POLIELETRÓLITO DE CARGA NEGATIVA.

Na Figura 11 é mostrada a adsorção de polieletrólito sobre a superfície do template, a adsorção ocorre devido à força de atração eletrostática proveniente da interação entre eles, ocorrendo a inversão da carga superficial e permitindo a adsorção de mais camadas.

#### 4.8 POTENCIAL ZETA

Foram realizadas medidas de potencial de fluxo para a determinação do potencial zeta das NP no equipamento Stabino da *Particle Metrix GmbH corporation*. Na Figura 12 é apresentada a foto do equipamento, o copo de medida e o pistão de 0,4 $\mu$ m.



a)



b)



c)

FIGURA 12 - **A)** FOTO DO EQUIPAMENTO POTENCIAL ZETA, **B)** COPO DE MEDIDA COM VOLUME DE 10 ML E EM **C)** FOTO DO PISTÃO DE 0,4  $\mu\text{M}$ .

Para as medidas, o pistão utilizado foi o de 0,2  $\mu\text{m}$ , contudo foram feitas várias análises até a escolha das melhores condições. As nanopartículas foram diluídas em água respeitando a proporção de 0,3 mL de amostra para 11,0 mL de água ultrapura para todos as medidas realizadas.

O potencial zeta foi obtido indiretamente pela análise do potencial de fluxo usando a seguinte equação 3, conforme descrito no manual do equipamento (Particle Metrix, 2014).

$$SP = k \Delta v \zeta \quad (3)$$

Onde SP é o potencial de fluxo, k é uma constante do instrumento,  $\Delta v$  é a velocidade do fluido e  $\zeta$  o potencial zeta.

#### 4.9 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

As NP de sílica foram caracterizadas em relação à morfologia e tendência de agregação por microscopia eletrônica de varredura (MEV), em um equipamento modelo JEOL (JSM 6360-LV) operando em 10 kV (Centro de Microscopia Eletrônica - UFPR). As amostras foram previamente recobertas com ouro empregando-se a metalizadora modelo SCD 030 (Balzers - Union FL9496).

#### 4.10 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO

Foram realizadas análises do tamanho das NP por microscopia eletrônica de transmissão (MET) em equipamento JEOL (modelo JEM 1200EX-II) com tensão de aceleração de 80 kV. O software utilizado para análises das partículas foi o ImageJ. As amostras de MET foram preparadas sobre grades de cobre revestidas com Formvar, nas quais um volume aproximado de 10  $\mu\text{L}$  foi adicionado por *drop casting*.

#### 4.11 ESPALHAMENTO DE LUZ DINÂMICO - *DYNAMIC LIGHT SCATTERING* (DLS)

As medidas do tamanho das partículas foram realizadas no equipamento Zetasizer Nano Series, marca Malvern Instruments Limited, Nano ZS na Universidade Regional de Blumenau- FURB. Todas as medidas foram realizadas em triplicata, na temperatura de 25°C, utilizou-se água ultrapura como solvente para todas as medidas, todas as amostras foram diluídas, seguindo a razão de 100 µL de amostra para 3,0 mL de água.

Antes da realização do procedimento o equipamento foi ligado e aguardou-se 30 minutos para a estabilização do laser. Posteriormente, as cubetas foram preenchidas de maneira a evitar a formação de bolhas, tomou-se o cuidado de secar e limpar o lado externo antes de serem colocadas no porta-cubeta do equipamento.

#### 4.12 ANÁLISE DO TEOR DE SÓLIDOS

A análise do teor de sólidos das NP recobertas foi realizado em triplicata, pesou-se béqueres de 10 mL em seguida os béqueres permaneceram por duas horas na estufa à 100 °C, após este tempo armazenou-se em dessecador até resfriarem a temperatura ambiente, seguido da pesagem em balança analítica com precisão de cinco casas decimais. Após a pesagem inicial foi realizado a adição de alíquotas das dispersões de NP recobertas. Após as adições, os béqueres retornaram para a estufa a 100 °C por duas horas e o procedimento inicial foi repetido.

#### 4.13 MARCAÇÃO DA QUITOSANA COM ISOTIOCIANATO DE FLUORESCÉINA (FITC)

A quitosana purificada foi conjugada com isotiocianato de fluoresceína (FITC) segundo metodologia proposta por Wen *et al* (2011) com algumas adaptações conforme apresentado na Figura 13.

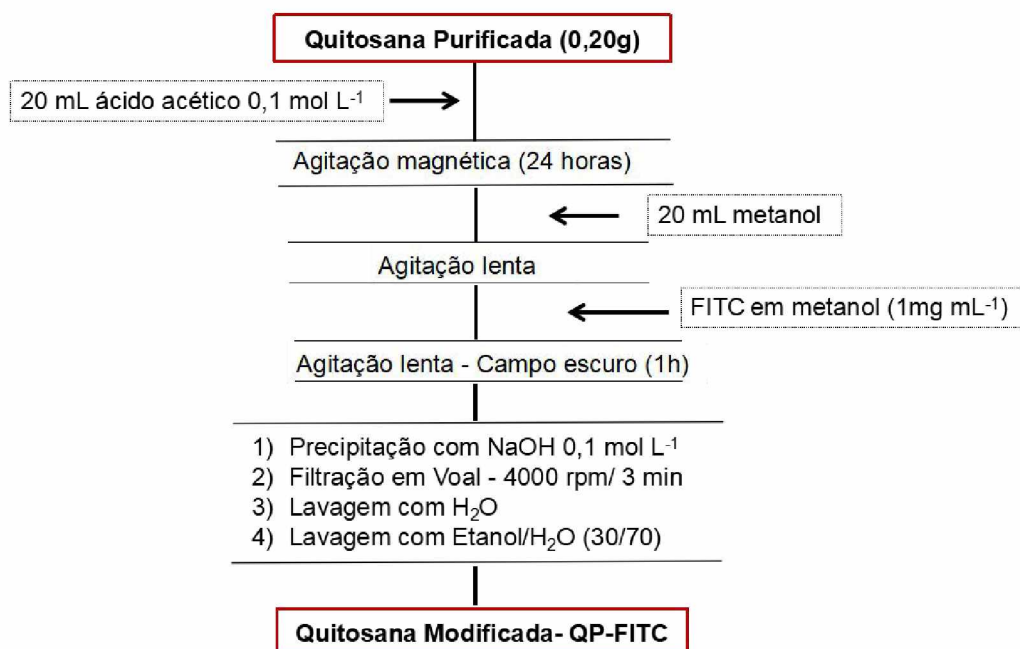


FIGURA 13 - FLUXOGRAMA DA CONJUGAÇÃO DA QUITOSANA COM ISOTIOCIANATO DE FLUORESCÉINA (FITC) ADAPTADO DO PROCEDIMENTO DE WEN *ET AL* (2011).

Após o tempo de contato do FITC com a quitosana purificada, foi realizado a precipitação da quitosana modificada QP-FITC com hidróxido de sódio 0,1 mol L<sup>-1</sup>. O FITC que não reagiu foi lavado exaustivamente com água ultrapura até o sobrenadante não apresentar coloração. Por fim realizou-se uma última etapa de lavagem utilizando etanol/H<sub>2</sub>O na proporção (30/70) em volume, seguida de filtração em tecido voal para remoção do excesso de água/etanol, a QP-FITC foi seca a 50 °C em estufa por 48 horas.

#### 4.14 MARCAÇÃO DO ALGINATO COM RODAMINA B - RITC

O alginato de sódio foi marcado com isotiocianato de rodamina (RITC) segundo metodologia adaptada de Mladenoska *et al* 2007, apresentado na Figura 14.

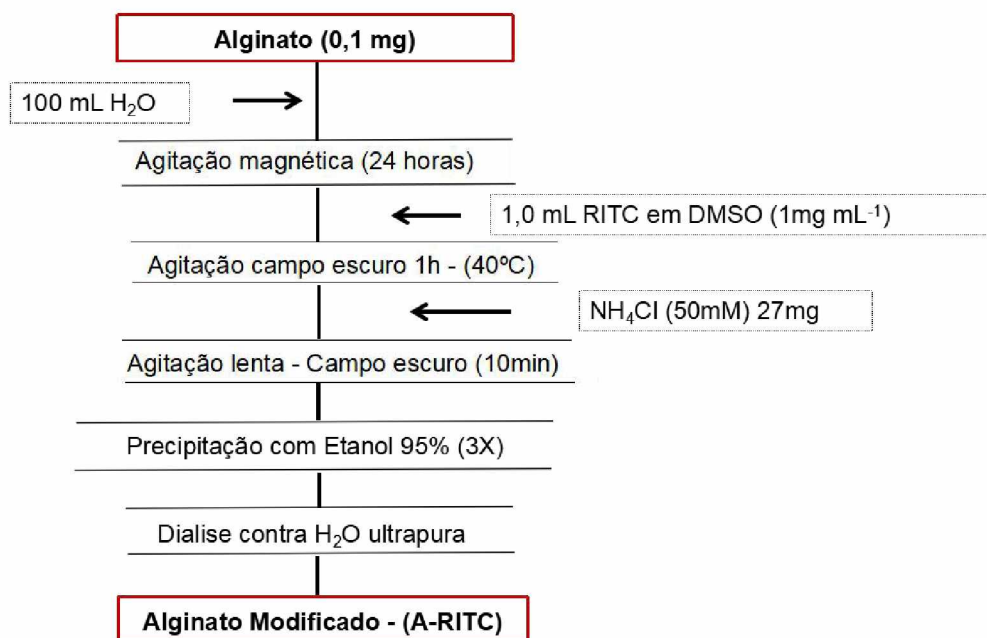


FIGURA 14 - MARCAÇÃO DO ALGINATO DE SÓDIO COM CORANTE FLUORESCENTE ISOTIOCIANATO DE RODAMINA (RITC) SEGUNDO METODOLOGIA ADAPTADA DE MLADENOSKA *et. al.* 2007.

Após o tempo de contato com o corante fluorescente foi adicionado cloreto de amônio para finalizar a reação, e posteriormente promoveu-se a precipitação com etanol 95% na proporção de 2/3 de etanol para 1/3 sobrenadante. Em seguida o AG precipitado foi dialisado em ambiente escuro contra água ultrapura por 12 horas, com trocas de água até não ser mais observado coloração na água.

Para realizar o LbL foi misturado ao AG marcado 50 % de AG não marcado.

#### 4.15 PREPARO DAS EMULSÕES

As emulsões foram preparadas de duas formas, a primeira foi feita com agitação em *vortex* modelo IKA LAB DANCER por 3 min, testou-se o óleo de linhaça, a concentração de óleo utilizada foi de 3 % em volume, adicionou-se 0,05 % em massa de nanopartículas e completou se o volume para 1,5 mL, por fim adicionou-se 20  $\mu$ L de solução de vermelho do Nilo em acetona.

Na segunda forma as emulsões foram preparadas utilizado um turrax (DREMEL 3000) por 5 minutos na velocidade 4000 rpm, as NP foram adicionadas posteriormente 0,05 % em massa de nanopartículas, empregou-se o vortex para homogeneizar e misturar as NP à emulsão, manteve-se o óleo de linhaça na

mesma concentração utilizada de 3 % em volume, o volume final da emulsão foi mantido em 1,5 mL.

O emprego de 0,05 % de NP foi escolhido visto que em testes preliminares para determinação da quantidade necessária de NP para aplicação de emulsões observou-se um acúmulo de NP no fundo das emulsões evidenciando um excesso de NP, que está de acordo com o trabalho de Frelichowska (2009).

#### 4.16 MICROSCOPIA CONFOCAL POR FLUORESCÊNCIA

As NP recobertas com QP-FITC e A-RITC após o procedimento de LbL bem como a avaliação da interação das NP nas emulsões foram analisadas por microscopia confocal de fluorescência.

As análises de Microscopia Confocal de Fluorescência foram realizadas no centro de tecnologias avançadas em fluorescência (CTAF), localizado no Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, foi utilizado um microscópio de fluorescência e confocal laser (MFCL) marca *Nikon*<sup>®</sup>, modelo *Ti*, com lente objetiva aumentos de 100 X, sob imersão.

Os comprimentos de onda de excitação/Emissão do laser foram 488 nm/525 nm (vermelho) e 561 nm/595 nm (verde). As imagens foram processadas no software NIS-Elements Viewer.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 CARACTERIZAÇÃO DOS POLÍMEROS

A fim de caracterizar os polímeros de interesse, a quitosana, quitosana purificada, e o alginato de sódio foram caracterizados por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e por Termogravimetria (TG).

#### 5.1.1 Alginato de Sódio

Na Figura 15 é apresentado as curvas de TG e dTG obtidas para o AG, onde é observada a perda de massa inicial próximo de 100 °C que é relativo a moléculas de água adsorvidas. Entre 245 - 645 °C, observa-se a perda acentuada de massa devido à degradação do polímero que consiste na desidratação dos anéis sacarídeos, formação de CO<sub>2</sub> (DAEMI; BARIKANI, 2012; ELDIN *et al.*, 2012). O percentual de resíduo a 900 °C foi de 24,9 %.

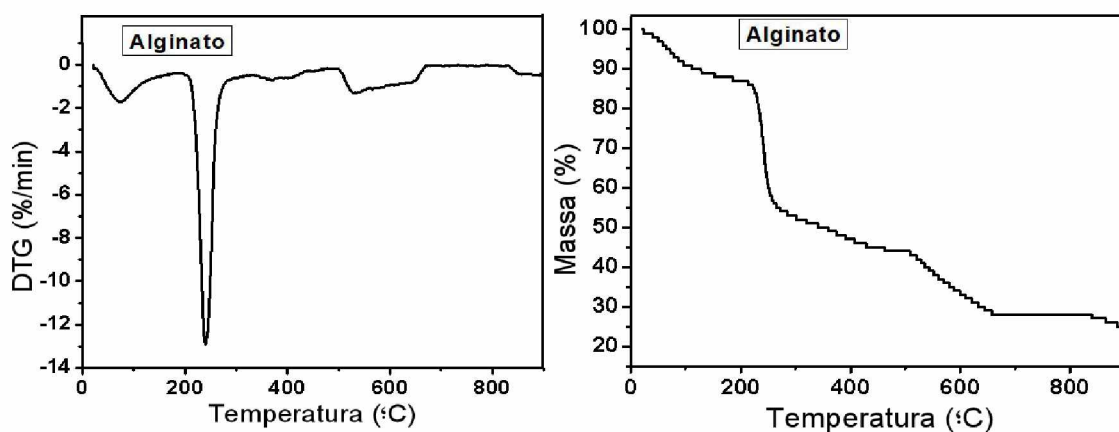


FIGURA 15. ANÁLISES TERMOGRAVIMÉTRICA (TG) E DERIVADA DTG PARA AS AMOSTRAS DE ALGINATO DE SÓDIO

Na Figura 16 é apresentado o espectro de FTIR para o alginato de sódio.



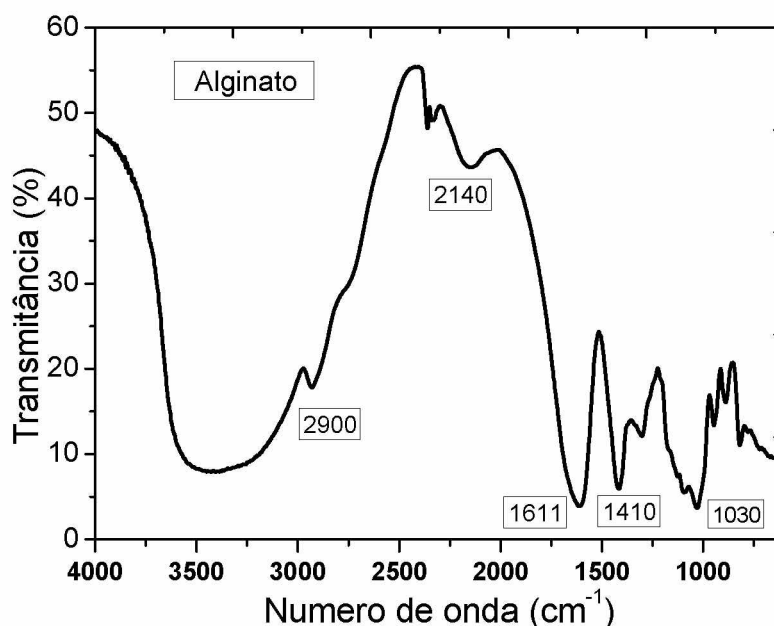


FIGURA 16 - ESPECTRO DE FTIR TRANSMITÂNCIA PARA O ALGINATO DE SÓDIO

A banda larga entre  $3600 - 3000 \text{ cm}^{-1}$  é relativa ao estiramento das ligações O-H, a banda na região  $2900 \text{ cm}^{-1}$  é característico de estiramento ligações C-H alifático, já banda observada em  $1611 \text{ cm}^{-1}$  é referente à vibração de estiramento assimétrico de grupos  $\text{COO}^-$  enquanto a banda em  $1410 \text{ cm}^{-1}$  é proveniente do estiramento simétrico também de grupos  $\text{COO}^-$ . A bandas em  $1030 \text{ cm}^{-1}$  podem ser atribuídas ao alongamento de ligações CO, sendo bem características para esse material e estes valores estão em conformidade com os resultados reportado na literatura (DAEMI; BARIKANI, 2012; ELDIN *et al.*, 2012).

#### 5.1.11 Alginato de Sódio Marcado

O alginato de Sódio após marcado com FITC foi caracterizado pela técnica de reflexão total atenuada (ATR) para análise de filmes e esta apresentado na Figura 17.

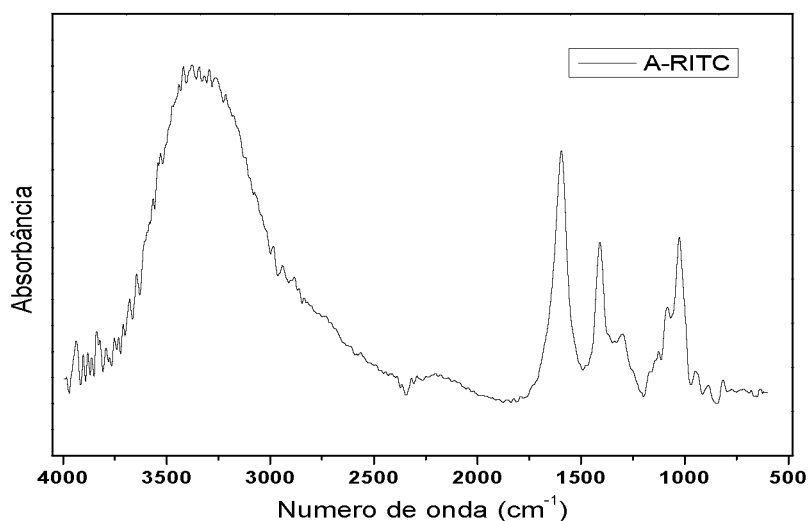


FIGURA 17 - ESPECTRO DE ATR PARA O ALGINATO DE SÓDIO MARCADO COM RITC

No espectro de ATR do filme de alginato modificado podemos observar as principais bandas atribuídas ao alginato de sódio como as bandas características na região abaixo de  $1650\text{ cm}^{-1}$  abordadas na Figura 16.

Observa-se (Figura 17) a presença de um ombro proveniente da sobreposição das bandas do AG em  $3600\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$  característica do estiramento das ligações O-H e em  $2900\text{ cm}^{-1}$  referente ao estiramento das ligações C-H em alifático, com as bandas do RITC-B, na região de  $3100\text{--}2800\text{ cm}^{-1}$ . Estas bandas são provenientes devido a vibração do grupo O-H de ácidos carboxílicos ( $3400\text{ cm}^{-1}$ ), estiramento da ligação C-H em aromáticos ( $3060\text{ cm}^{-1}$ ) e estiramento do grupo  $\text{CH}_3$  ( $2980\text{ cm}^{-1}$ ) (SpectraBase 2019 ; PAVIA *et al* 2010).

Na região a baixo de  $1700$  existe a sobreposição das bandas do alginato e do RITC-B referente a presença dos grupos carboxilatos, C-O, C=C, N-C do RITC. Já a banda do alginato em  $1611$  foi deslocado para  $1593\text{ cm}^{-1}$  devido a interação entre os dois compostos (SpectraBase 2019 ; PAVIA *et al* 2010).

### 5.1.2 Quitosana

Na Figura 18 é apresentado as curvas de perda de massa (TG) e dTG obtidas para a quitosana (Q) e a quitosana purificada (QP2).

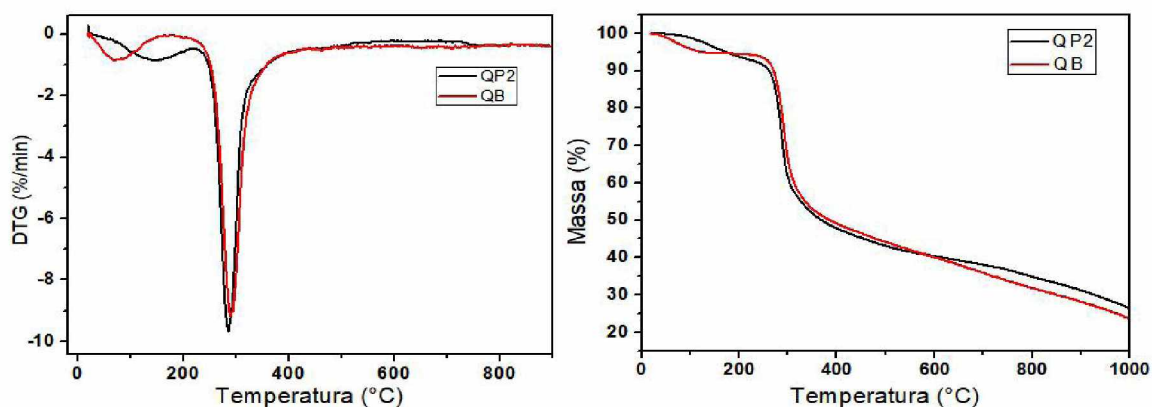


FIGURA 18 - ANÁLISES TERMOGRAVIMÉTRICA (TG) E DERIVADA DTG PARA AS AMOSTRAS DE QUITOSANA BRUTA (QB) E QUITOSANA APÓS PURIFICAÇÃO (QP2)

Pode ser observado na Figura 18 que para a QP2 o primeiro evento é observado por volta de 145°C que é relativo a perda de moléculas de água adsorvidas, já em 280°C observa-se uma perda acentuada devido à degradação da estrutura sacarídea do polímero (ZAWADZKI; KACZMAREK, 2010). Enquanto que para a quitosana bruta é observada a perda de massa inicial próximo de 70°C temperatura inferior que a QP, um segundo evento de perda de massa em aproximadamente 290°C que se deve a degradação da cadeia polimérica. Para QP2 o percentual de resíduo (26,6%) foi um pouco mais elevado que para QB (23,8%). Entretanto os perfis de perda de massa são bastante similares.

Observou-se que a purificação refletiu na solubilidade da quitosana e nas medidas de potencial zeta, para a QB o potencial foi de +139 mV, enquanto para QP2 o potencial zeta foi maior e igual a +160 mV e foi mais fácil de solubilizá-la em relação a QB, o que indica que o procedimento de purificação foi eficiente

Na Figura 19 é apresentado o espectro de FTIR para a quitosana bruta (QB) ou seja, antes do processo de purificação e após a purificação (QP2), onde pode-se observar bandas de absorção características para ambas as amostras.

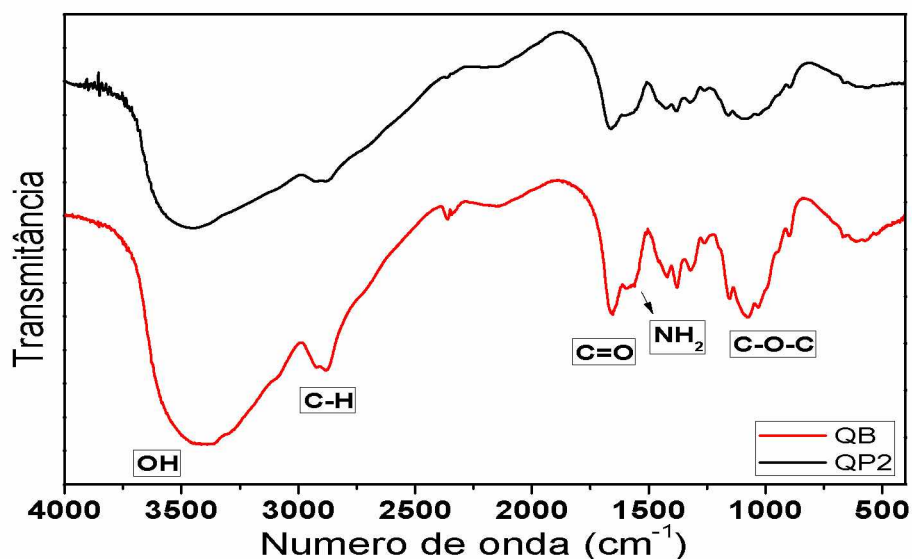


FIGURA 19 - ESPECTRO DE FTIR PARA A QUITOSANA BRUTA (QB) E A QUITOSANA PURIFICADA (QP2)

A banda bem intensa em  $3435\text{ cm}^{-1}$  corresponde a banda de estiramento axial de OH ligados á átomos de carbonos, já em  $2916\text{ cm}^{-1}$  a  $2873\text{ cm}^{-1}$ , menos evidente para a amostra purificada, observa-se a banda de alongamento C-H. Em  $1656\text{ cm}^{-1}$  é observado a banda relativa ao estiramento C=O em amidas que para a quitosana bruta sobressai em relação a quitosana purificada. Em  $1575\text{ cm}^{-1}$  é observado a banda devido a deformação angular no plano de grupo NH, também são observadas bandas na região de  $1415\text{ cm}^{-1}$  a  $1030\text{ cm}^{-1}$  que podem ser relacionadas à presença dos grupo C-N, deformação simétrica de  $\text{CH}_3$  e estiramento da ligação C-O-C (ZAWADZKI; KACZMAREK, 2010; CARNEIRO et al, 2013).

Observou-se que a purificação refletiu na solubilidade da quitosana e nas medidas de potencial zeta, para a QB o potencial foi de  $+139\text{ mV}$ , enquanto para QP2 o potencial zeta foi maior e igual a  $+160\text{ mV}$  e foi mais fácil de solubilizá-la em relação a QB, o que indica que o procedimento de purificação foi eficiente.

#### 5.1.2.1 Quitosana Marcada com FITC

Na Figura 20 é apresentado o espectro de FTIR para a quitosana purificada (QP2) e após a modificação com FITC (QP-FITC).

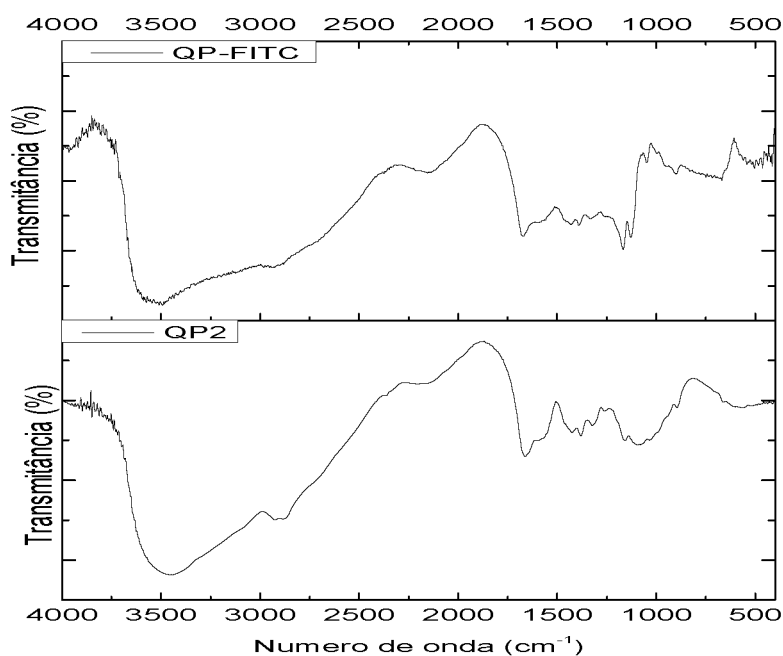


FIGURA 20 - ESPECTRO DE FTIR PARA A QUITOSANA PURIFICADA (QP2) E PARA A QUITOSANA MARCADA (QP-FITC)

O perfil para a quitosana purificada e a modificada são bem similares, sendo que não é observado a banda característica do isotiocianato ( $-N=C=S$ ) em  $2100-2150\text{ cm}^{-1}$  para a QP-FITC o que sugere que este grupamento está sendo utilizado para fazer a ligação entre o FITC e a quitosana, indo ao encontro do que já é reportado na literatura [(BASUMALLICK *et al.* 2016)]. Já na região de  $1200\text{ cm}^{-1}$  e  $1000\text{ cm}^{-1}$  é observado a presença de bandas mais finas e bem definidas para a QP-FITC do que para QP2 devido ao estiramento dos grupos (C-O) de ésteres e éteres do FITC (PAVIA *et al.* 2010)

## 5.2 SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE SÍLICA PELO MÉTODO DE STÖBER

### 5.2.1 Estudo da velocidade de adição e do método de lavagem

Realizou-se estudos para determinação do melhor método de lavagem das NP sintetizadas, pelos quais observou-se a importância de um bom controle para finalizar a reação e eliminação do catalisador hidróxido de amônio de modo a impedir a agregação e formação de “placas” de material contendo as NP. Observou-se que a centrifugação e lavagem seguida da diálise das NP mostrou ser o melhor modo de finalizar a reação e garantir repetitividade.

As adições de precursor TEOS (solução A) inicialmente foram realizadas com o auxílio de uma bureta, sendo que um dos parâmetros de estudo deste trabalho foi analisar se velocidades distintas de adição do precursor influenciaria na dispersão e tamanho final das nanopartículas, observou-se que não houve um controle preciso na adição, o que influenciou diretamente no resultado final e por consequência na dispersão e tamanho das NP. Por estes motivos a bureta foi substituída por uma bomba de seringa, onde a adição é programada previamente e adiciona-se em razões mL min<sup>-1</sup>.

### 5.2.2 Variação da Velocidade de adição - Método de Adição com Bomba de Seringa.

Pelo método de adição controlada, empregando-se a bomba de seringa, foram realizadas cinco sínteses nas quais variou-se a velocidade de adição, denominadas de: T5B, T5D, T5E, T5F e T5G apresentadas na Figura 21. Para todas as concentrações de TEOS na solução A foi mantida constante e igual a  $6,52 \times 10^{-4}$  mol mL<sup>-1</sup> e o volume final de solução A também foi mantida fixa em 7,0 mL.

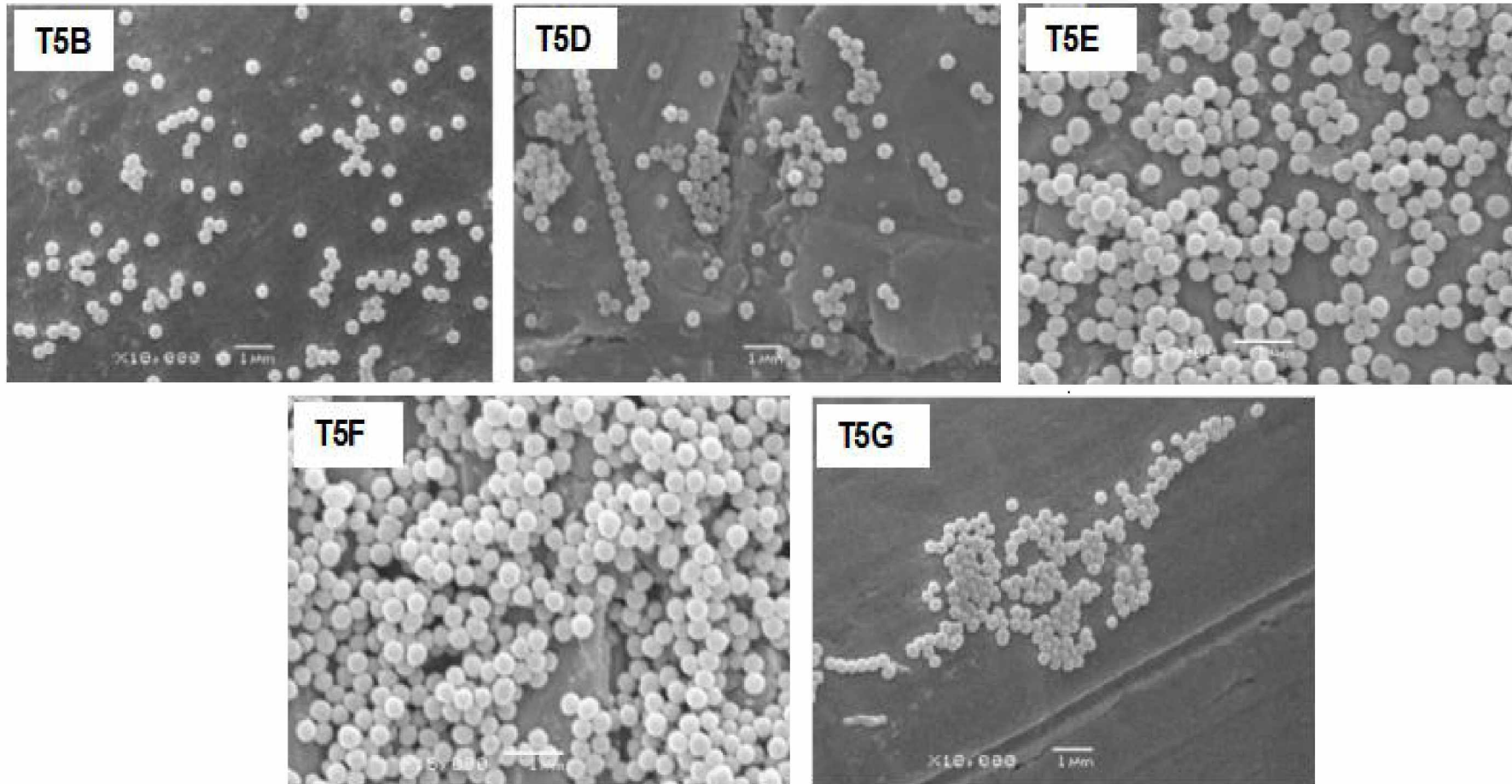


FIGURA 21 - MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) - PARA AS SÍNTESES DE SÍLICA T5B, T5D, T5E, T5F E T5G REALIZADAS COM DIFERENTES VELOCIDADES DE ADIÇÃO (B= 0,34; D= 0,7; E= 2,78; F= 4,42; G= 7 mL min<sup>-1</sup>) FEITAS COM O MÉTODO DE ADIÇÃO COM BOMBA DE SERINGA. (BARRA DE ESCALA = 1μm)

Foi possível verificar que para todas as rotas T5B, T5D, T5E, T5F e T5G apresentam morfologia esférica mostrando que o emprego da bomba de seringa realmente contribui para maior eficiência e repetitividade na síntese das NP.

Na Figura 22 estão apresentados o tamanho e o desvio padrão das rotas (T5B, T5D, T5E, T5F e T5G), onde alterou-se as velocidades de adição do precursor. O número de eventos para as medidas do tamanho das NP foram de ao menos  $n=30$ .

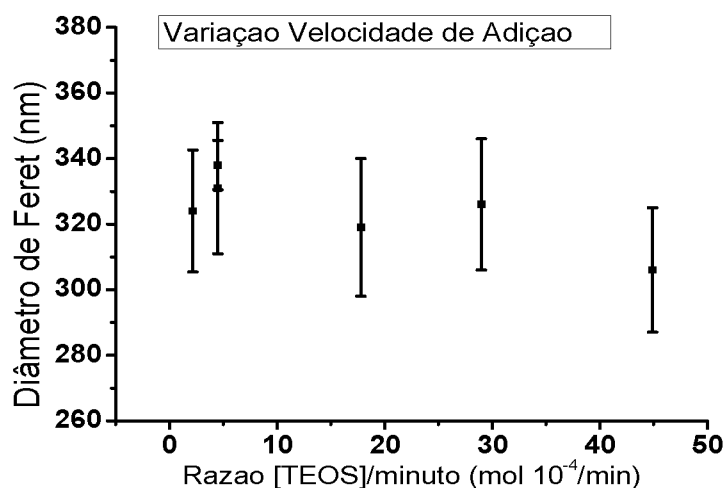


FIGURA 22 - RELAÇÃO DO TAMANHO MEDIDO POR MET DAS PARTÍCULAS DE T5B, T5D, T5E, T5F E T5G PREPARADAS COM O MÉTODO DE ADIÇÃO DE BOMBA DE SERINGA, EM FUNÇÃO DA RAZÃO DE TEOS/MINUTO ADICIONADO

Acreditava-se que ao variar a velocidade de adição do precursor poderiam ser obtidas NP de tamanhos distintos, apenas com a modulação da velocidade de adição, visto que a concentração de precursor seria limitada pela taxa de adição. Apesar da modulação de tamanho das NP de sílica pela velocidade de adição, Nozawa *et al* (2005) propôs um modelo que relaciona o crescimento de partículas de sílica com a taxa de adição de TEOS, e afirma que o crescimento é limitado pelo coeficiente de difusão dos monômeros.

Porém, na Figura 22, observou-se que com o aumento da velocidade de adição, não ocorreu diferença significativa no tamanho das nanopartículas, este comportamento pode estar relacionado com o fato das velocidades de adição empregadas serem relativamente próximas, no modelo proposto por Nozawa *et al*

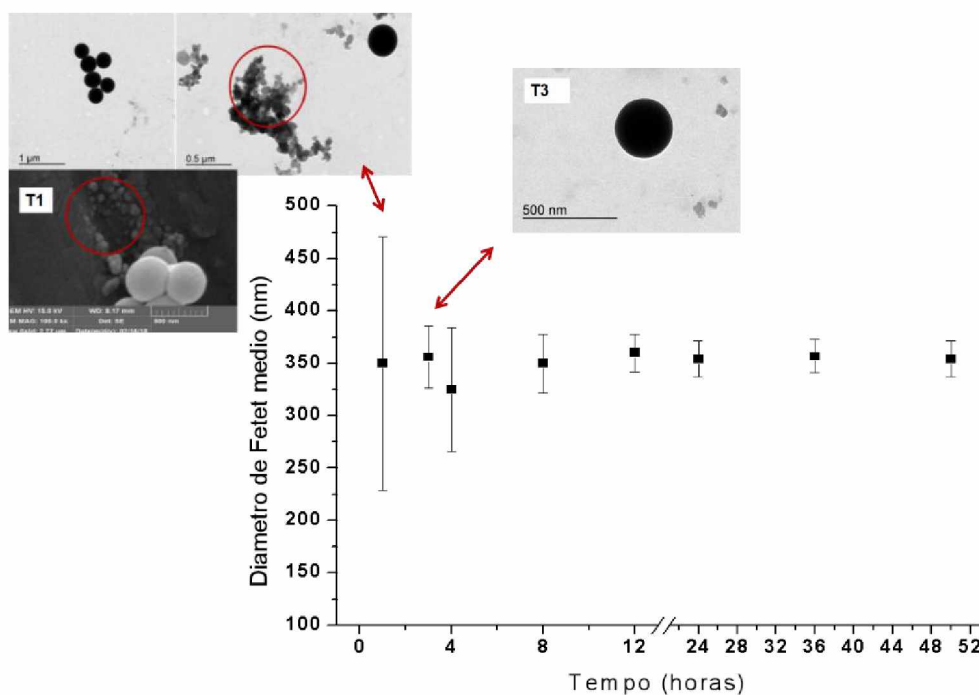


(2005) as variações nas velocidades de adição foram ao menos de três ordem de magnitude.

Outro fator que pode contribuir para não serem observadas diferenças significativas é o tempo de reação muito alto (24 horas) que provavelmente acaba por mascarar as diferenças iniciais de nucleação e crescimento, uma vez que a quantidade de matéria é a mesma. Esses resultados demonstraram a necessidade de compreender como é o comportamento de crescimento das NP em função do tempo de reação, e por isso foi feito o estudo do tempo de crescimento das NP.

### 5.2.3 Estudo do crescimento das nanopartículas de sílica - NP

Para acompanhar o tempo de crescimento das NP, alíquotas retiradas do meio reacional conforme o decorrer da reação foram denominadas de T1, T3, T4, T8, T12, T24, T36 e T50, onde o número indica o tempo de síntese em horas. Na Figura 23 e na Tabela 3 estão apresentados o perfil de crescimento das nanopartículas pelo método de Stöber nos respectivos tempos analisados.



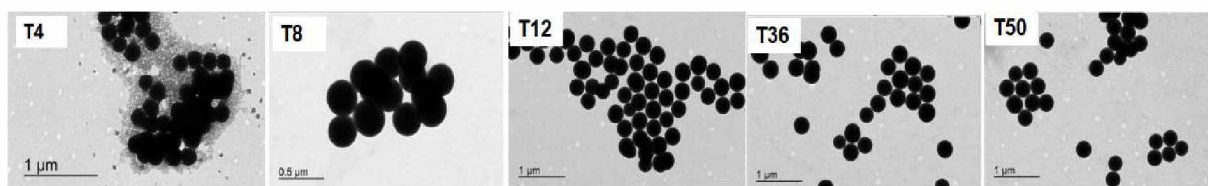


FIGURA 23 - RELAÇÃO ENTRE O TAMANHO DAS NP E O TEMPO DE REAÇÃO CONTADOS APÓS A ADIÇÃO DO PRECURSOR TEOS E IMAGENS DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO (MET) PARA OS TEMPOS INICIAIS T1, T3, T4, T8, T12, T36 E T50

TABELA 3 - DIÂMETRO DE FERET MÉDIO PARA TODAS AS ALÍQUOTAS INVESTIGADAS PARA O ESTUDO DA NUCLEAÇÃO E CRESCIMENTO DAS NP DE SÍLICA

Tempo (horas)	Diâmetro de Feret médio (nm)	Desvio Padrão ( $\pm$ nm)	Amostragem
1	350	121	41
3	356	29,5	28
4	325	59,0	61
8	350	28,0	30
12	360	17,8	55
24	354	17,0	44
36	357	15,6	50
50	354	17,0	59

Observar-se na Figura 23 o comportamento de crescimento para as NP de sílica a partir do tempo de 1 hora, onde já no primeiro tempo T1 o tamanho médio das NP é de 350 nm e próximo do tamanho final de reação T50. Contudo, esse valor apresenta desvio muito alto, devido à presença de partículas/esferas pequenas com aproximadamente 60 nm, estas partículas também foram encontradas nas imagens de MEV.

Para o tempo T3 e T4, foi observado material residual de sílica coloidal. O tamanho médio observado para T3 foi de 356 nm com desvio de 29,5 nm e para T4 o tamanho foi de 325 nm e desvio 59 nm. Já para os tempos de 8, 12, 24, 36 e 50 horas, não foi encontrada sílica coloidal ou qualquer tipo de material residual, o tamanho final das NP ficando por volta de 355nm.

Como pode ser observado na Tabela 2 o desvio tende a diminuir conforme aumenta o tempo de síntese, diminuindo significativamente a partir do tempo de 12 horas, o que justifica o emprego de tempos de síntese de ao menos 12 horas para o preparo das NP.

Sabe-se que existem dois mecanismos físicos para a formação das nanopartículas, um processo consiste no modelo de nucleação que ocorre devido à

adição de monômeros reativos e o outro mecanismo consiste no crescimento das partículas devido à agregação das subpartículas (HIRATSUKA, SANTILLI, PULCINELLI,1995; BRINKER; SCHERER,1990).

Na Figura 24 é apresentado uma representação esquemática do processo de crescimento das NP observado no estudo.

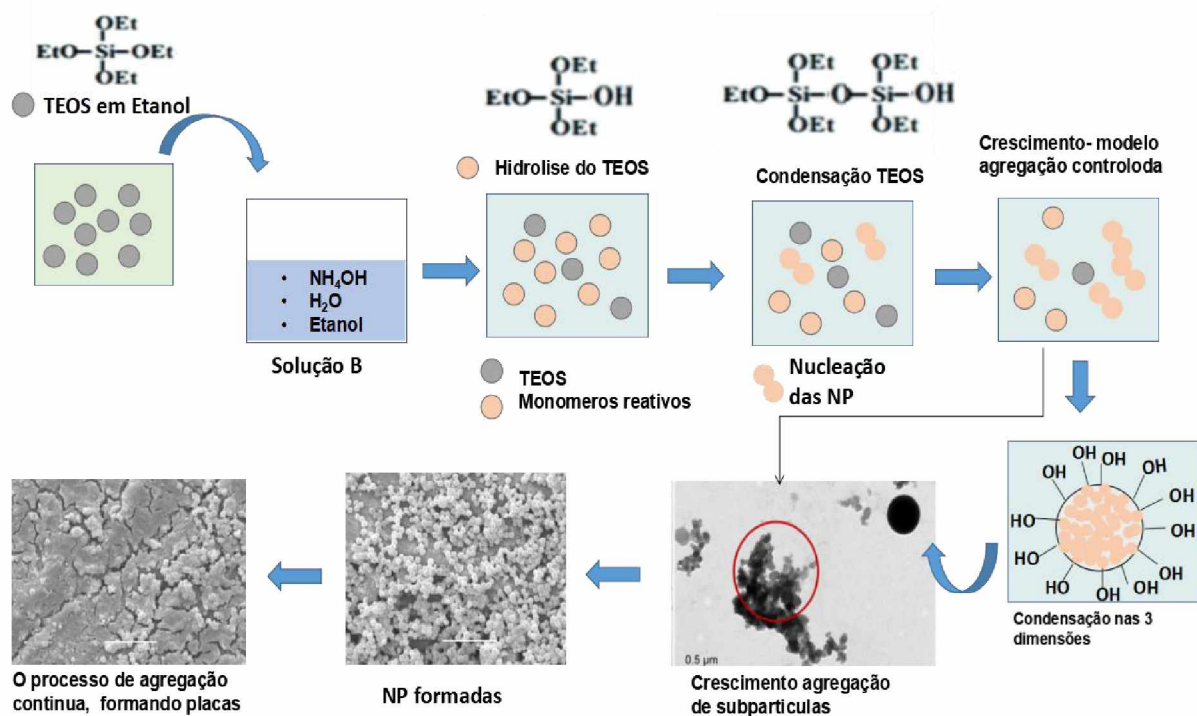


FIGURA 24 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO PROCESSO DE CRESCIMENTO DE NANOPARTÍCULAS DE SÍLICA EMPREGANDO TEOS COMO PRECURSOR, ONDE INICIALMENTE OCORRE A HIDRÓLISE DO TEOS, SEGUIDA DA FORMAÇÃO DOS MONÔMEROS REATIVOS, ESTES POR CONSEQUÊNCIA SE CONDENSAM FORMANDO OS NÚCLEOS, SEGUIDA DA COMPETIÇÃO ENTRE ADIÇÃO DE MONÔMEROS REATIVOS AS SUBPARTÍCULAS PRESENTE NO MEIO OU FORMAÇÃO DE NOVOS NÚCLEOS, CONFORME A REAÇÃO SE PROCESSA A TENDÊNCIA É A CONTINUAÇÃO CONDENSACÃO FORMADO PLACAS DE MATERIAL

Inicialmente ocorre a hidrólise do TEOS, seguida da formação dos monômeros reativos, estes por consequência se condensam formando os núcleos, seguida da competição entre adição de monômeros reativos às subpartículas presentes no meio ou formação de novos núcleos, conforme a reação se processa a tendência é a continuação da condensação, formando placas de material. Observando o comportamento descrito, acredita-se que inicialmente ocorre a nucleação dos monômeros seguida de uma competição entre o processo de nucleação e o crescimento das partículas provenientes da agregação das

subpartículas e, com o decorrer do tempo, o mecanismo de agregação é favorecido, como visto nas imagens.

#### 5.2.4 Estudo da Variação da Concentração de TEOS

Existem vários parâmetros que influenciam no tamanho de NP de sílica, dentre eles a concentração do precursor TEOS, e concentração de água (BOGUSH; ZUKOSKI. 1991). Neste projeto estudou-se a variação da concentração de TEOS no tamanho final das NP de sílica, o modo de adição (adição única ou controlada) e a concentração da água.

A velocidade de adição foi fixada em  $0,7 \text{ mL min}^{-1}$  e realizou-se a investigação do tamanho e da morfologia das NP de sílica ao variar as concentrações de TEOS (ver quadro 2). Na Figura 25 é apresentado o gráfico que relaciona o tamanho das NP em função da quantidade de matéria de TEOS.

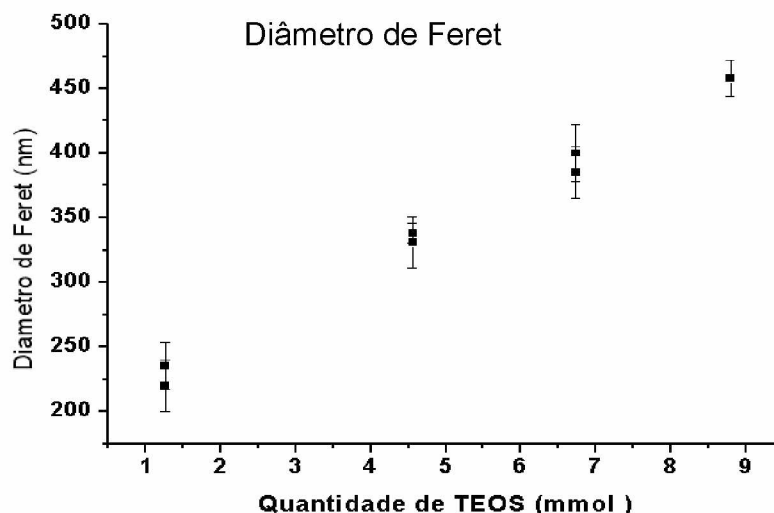


FIGURA 25 - GRÁFICO RELACIONANDO O DIÂMETRO DAS NANOPARTÍCULAS EM FUNÇÃO DA QUANTIDADE DE PRECURSOR ADICIONADO PARA T1D, T5D, T7D E T8D COM  $Y=29,82x+199,1$  E  $R^2=0,979$

Na Figura 25 observa-se um comportamento de crescimento linear do tamanho das NP em função da quantidade de TEOS adicionada. Este comportamento já era o esperado, uma vez que há maior quantidade de monômeros que inicialmente formam núcleos e, como acredita-se, o mecanismo predominante

de crescimento é o de agregação das subpartículas. As observações de Bogush e Zukoski (1991) corroboram com o perfil observado.

O tamanho variou de 220 a 458 nm, o desvio padrão em geral ficou na média de 20 nm, foram feitas em duplicatas para as três primeiras concentrações. Na Figura 26 é apresentada as imagens de microscopia eletrônica de transmissão (MET) para as quatro quantidades de TEOS investigadas (1,26; 4,56; 6,73 e 9,62 mmol)

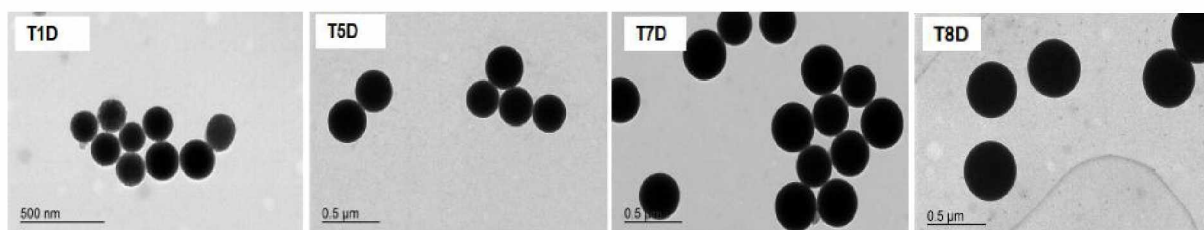


FIGURA 26 - MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO (MET) - PARA AMOSTRAS EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE TEOS PREPARADAS PELO MÉTODO DE ADIÇÃO COM BOMBA DE SERINGA

Observou-se (Figura 26) que as rotas T1D, T5D, T7D e T8D apresentam morfologia esférica, porém para T1D foram observadas algumas diferenças como é mostrado na Figura 27.

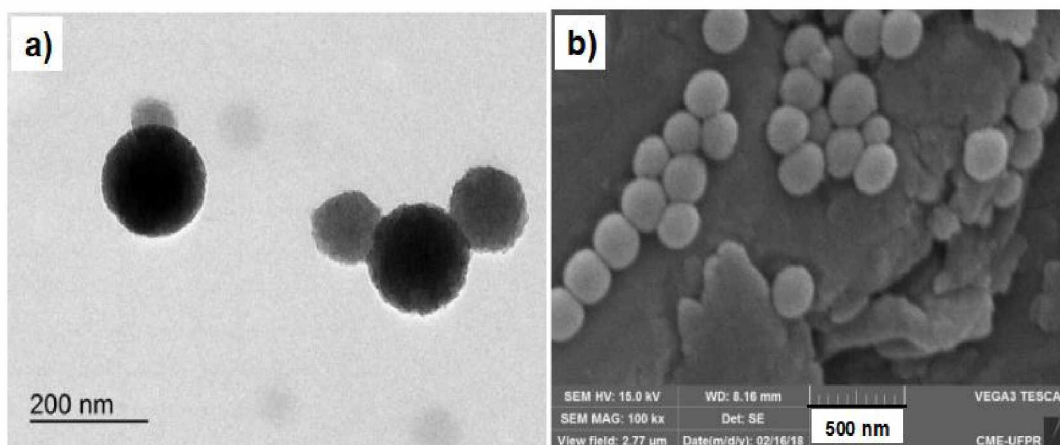


FIGURA 27 - MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO (MET) E MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) PARA A ROTA T1D COM MENOR QUANTIDADE DE TEOS

Este comportamento pode ser explicado pela quantidade limitada de precursor empregada, sendo que a razão  $H_2O/TEOS$  aumenta, influenciando na velocidade de hidrólise do TEOS e por este motivo acredita-se que esta rota apresenta maior porosidade em relação as outras descritas.

### 5.2.5 ALTERAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE ÁGUA

Realizou-se variações na quantidade de água empregada na síntese das NP de sílica, conforme apresentada na Tabela abaixo.

TABELA 4 - QUANTIDADE DE MATÉRIA E RAZÃO (ÁGUA/TEOS) UTILIZADA NAS VARIAÇÕES NA SÍNTESE DAS NP DE SÍLICA PARA ESTUDO DA INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DE ÁGUA NA SÍNTESE

Amostra	Número de mols de água adicionado (mol)	Número de mols de TEOS (mol)	Número de mols de Amônia (mol)	Razão (Água/TEOS)
T5D	0,133	$4,56 \times 10^{-3}$	0,0498	29,3
P1	0,265	$4,56 \times 10^{-3}$	0,0498	58,0
P2	0,355	$4,56 \times 10^{-3}$	0,0498	77,8

Na Figura 28 pode ser observada a influência da concentração de água na morfologia/superfície das NP, onde em A tem-se a amostra controle com menor razão (Água/TEOS), em B com razão 58 e C com razão 77,8.

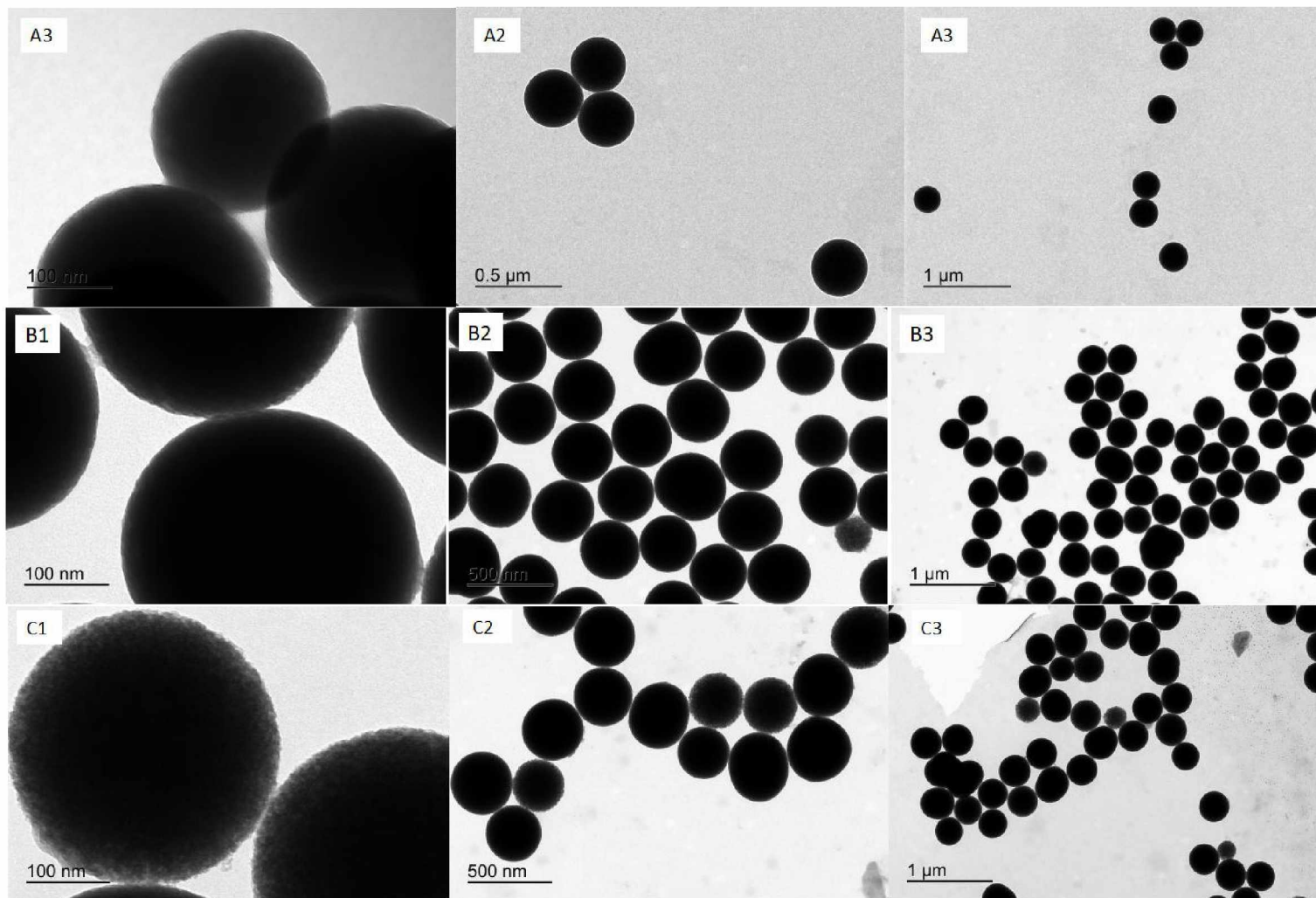


FIGURA 28 - COMPARAÇÃO DAS IMAGENS DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO (MET) PARA AS ROTAS ONDE VARIOU-SE A QUANTIDADE DE ÁGUA, A) CORRESPONDE A ROTA PADRÃO T5D COM 0,133 MOL DE ÁGUA, B) EMPREGOU-SE 0,265 MOL DE ÁGUA E RAZÃO 58,0 % E EM C) FOI UTILIZADO 0,355 MOL DE ÁGUA (RAZÃO 77,8 %)

Observou-se na Figura 28 as diferenças na superfície das NP conforme adicionou-se mais água no meio reacional, sendo possível inferir que as NP são mais porosas conforme adiciona-se mais água, ou seja conforme aumenta a razão (Água/TEOS), visto que a concentração de TEOS foi mantido constante. Este comportamento pode ser atribuído ao fato de uma maior concentração de água permitir uma reação de hidrólise do TEOS mais rápida contribuindo para o aumento da porosidade (WANG *et al.*, 2010)

5.2.6 Influência do método de adição única controlada pela bomba de seringa e adição instantânea - Rota T5G.

A rota T5G1 foi preparada com a adição de todo o volume da solução A (7,0 mL) adicionado completamente em um minuto que foi adicionado com o auxílio da bomba de seringa, já na rota denominada T5G2, todo o conteúdo foi adicionado no mesmo instante e manualmente. Na Figura 29 são apresentadas as imagens de MEV e MET para essas duas condições.

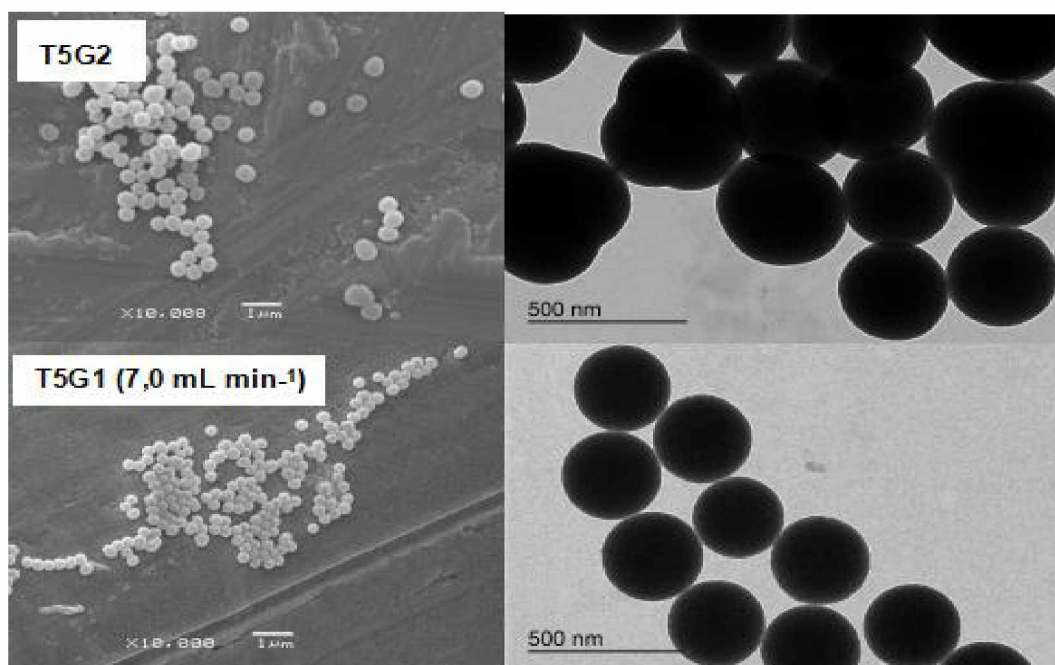


FIGURA 29 - MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA MEV E MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO PARA A AMOSTRA T5G2 E T5G1

A morfologia das NP para T5G1 são esféricas e apresentam tamanho com média de  $306 \pm 19$  nm, já ao se adicionar todo o conteúdo em uma única adição



instantânea T5G2 observa-se que as NP tendem a se unir umas com as outras e apresentam tamanho médio de  $403 \pm 27$  nm.

Como um dos objetivos do trabalho é obter cápsulas com um bom controle de tamanho a partir dos *templates* de sílica a metodologia de adição única controlada pela bomba de seringa permitiu um melhor controle do tamanho das nanopartículas em relação a adição de todo o conteúdo instantaneamente.

### 5.3 RECOBRIMENTO DAS NANOPARTÍCULAS DE SÍLICA POR LbL

Com a proposta de obter NP com carga superficial positiva (catiônica) e negativa (aniônica), as NP das rotas T1D, T5D, T7D, T8D foram recobertas com quitosana e alginato. Para isso, preparou-se dispersões de quitosana na concentração de  $2,0 \text{ mg mL}^{-1}$  em ácido acético (2% m/v), e solução de alginato ( $2,0 \text{ mg mL}^{-1}$ ), realizou-se o procedimento experimental que foi detalhado na seção Materiais e Métodos.

Foram realizadas medidas do potencial zeta após as adições dos polieletrólitos, com pH em torno de 5,9. Na Figura 30 são apresentados os valores de potencial zeta para T5D, T1D, T8D.

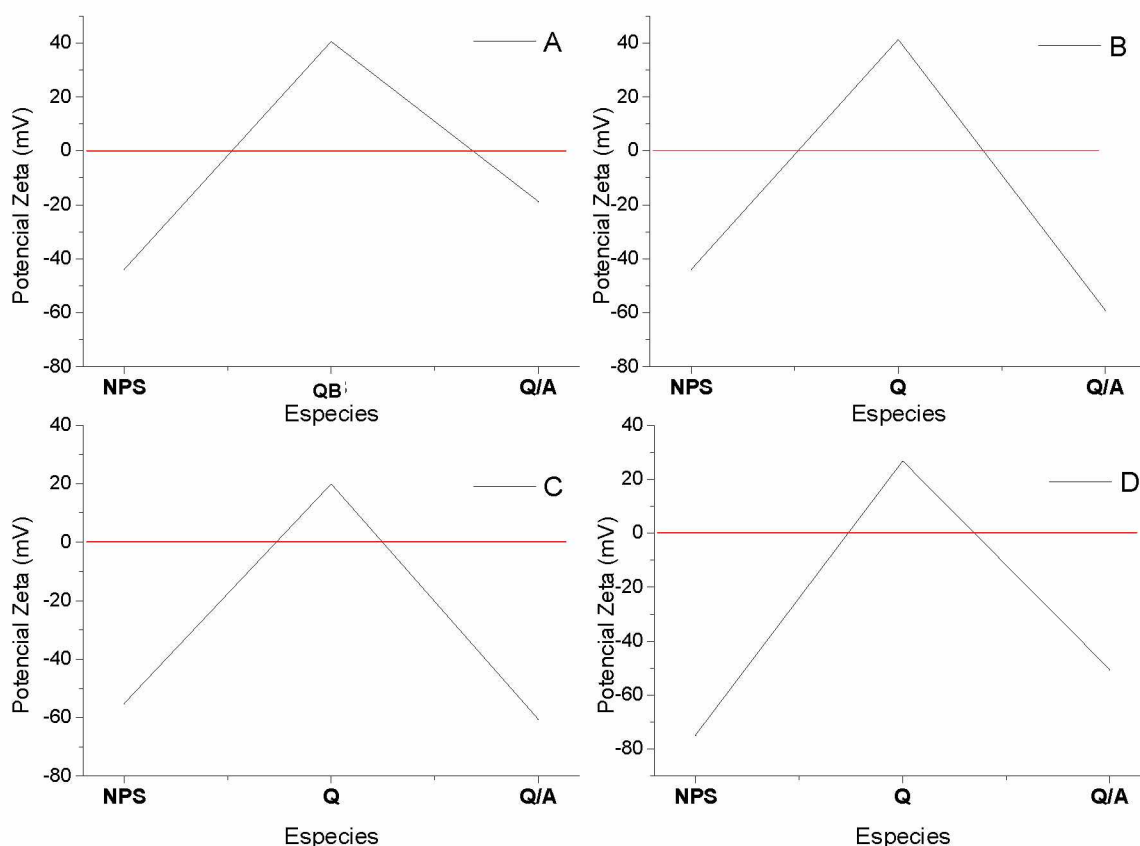


FIGURA 30 - MEDIDAS DE POTENCIAL ZETA PARA OS TEMPLATES DE SÍLICA RECOBERTO POR LbL EMPREGANDO COMO POLIELETRÓLITO QUITOSANA (Q) E ALGINATO (A): A) T5D RECOBERTA COM QUITOSANA BRUTA (QB) E B) T5D-P1, C) T8D, D) T1D RECOBERTAS COM QUITOSANA PURIFICADA

Na Figura 30 podemos observar que as NP antes de serem recobertas pelos polieletrólitos apresentam potencial carga superficial negativa, intrínseco da sílica,

devido os grupos OH presentes na sua estrutura. No gráfico A é apresentado o potencial zeta para amostra T5D que foi recoberta com quitosana bruta (sem purificação prévia) para recobrir, a primeira camada foi denominada de QB, segunda camada Q/A. Já em B, C e D (T5D, T8D, T1D) respectivamente empregou-se a quitosana purificada (QP). Foi observado que também houve a alteração/inversão no potencial zeta, indicando que o recobrimento foi eficiente para todas as adições testadas.

Para recobrir as NP com a quitosana previamente purificada e modificada com FITC foi duplicado o tempo de contato das NP com a QP-FITC para garantir a adsorção da quitosana nas NP por LbL, mesmo assim foi necessária uma segunda adição de QP-FITC para promover o recobrimento, visto que ocorre a ligação covalente do grupo isotiocianato com os grupos aminos primários da quitosana, resultando em menor quantidade de grupos aminos protonados passíveis de interagir eletrostaticamente com as NP de sílica.

Na Figura 31 são apresentados os valores de potencial zeta para as NP recobertas com QP-FITC e A-RITC.

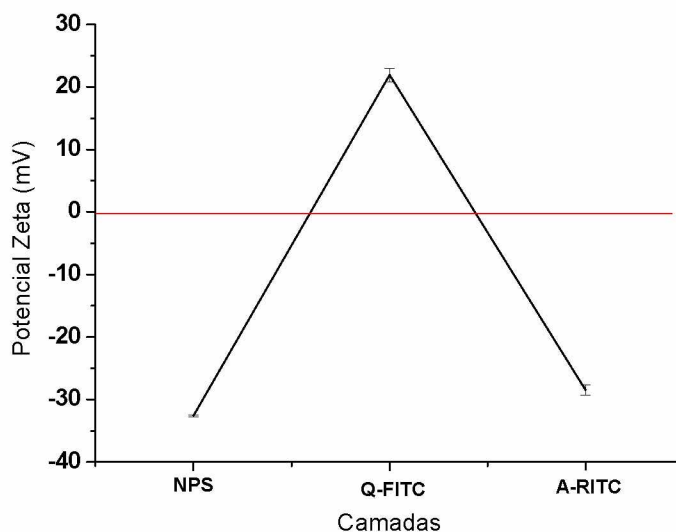


FIGURA 31 - MEDIDAS DE POTENCIAL ZETA PARA AS NP DE SÍLICA RECOBERTO POR LbL EMPREGANDO COMO POLIELETRÓLITO QUITOSANA PURIFICADA E MODIFICADA COM FITC (QP-FITC) E ALGINATO MARCADO COM RITC (A-RITC)

Observou-se que o recobrimento por LbL empregando como polieletrólito QP-FITC e A-RITC foram efetivos, e o potencial zeta inverteu de -35 mV para +20 mV.

#### 5.4 TAMANHO DAS NP DE SÍLICA

Determinou-se o tamanho das NP de sílica antes e após o recobrimento das NP, utilizou-se dois métodos para determinação do tamanho das NP o Espalhamento de Luz dinâmico - Dynamic light scattering (DLS) e as medidas realizadas empregando as imagens de MET.

Na TABELA 5 são apresentadas as medidas de tamanho médio para T1D, T5D e T8D antes e após o recobrimento por LbL

TABELA 5 - TAMANHO MÉDIO DAS NPS ANTES E APÓS O PROCEDIMENTO DE LbL MEDIDAS POR DLS E MET

	Tamanho (nm)	Desvio padrão (nm)	MET- Tamanho (nm)
T8D	478	4,8	458 ± 14
T8D-Q	667	2,9	
T8D-Q/A	501	7,4	
T5D	306	1,01	331 ± 20
T5D-Q	535	22,6	
T5D-Q-A	408	2,8	
T1D	224	0,0	235 ± 18
T1D-Q	362	33,9	
T1D-Q/A	339	10,8	

Constatou-se que os diâmetros das NPS antes de recobrir ficaram próximos dos valores medidos utilizando as imagens de MET. Ao adicionar a primeira camada, observou-se o aumento do tamanho das nanopartículas em relação à NP sem adição da quitosana. Ocorreu um decréscimo no tamanho das NPS após a adição do AG como segunda camada, este comportamento é devido a compactação das camadas provenientes de uma forte interação eletrostática do AG com a nanopartículas previamente recobertas com quitosana

#### 5.5 ESTUDO DAS PARTÍCULAS COMPÓSITAS POR MICROSCOPIA CONFOCAL À LASER (CLSM)

Após o recobrimento das NP T7D pela quitosana modificada com FITC e analisada por potencial zeta, foram realizadas medidas de microscopia de

fluorescência confocal a laser (CLSM). Na Figura 32 é apresentado a imagem de CLSM para a quitosana purificada e modificada com FITC.

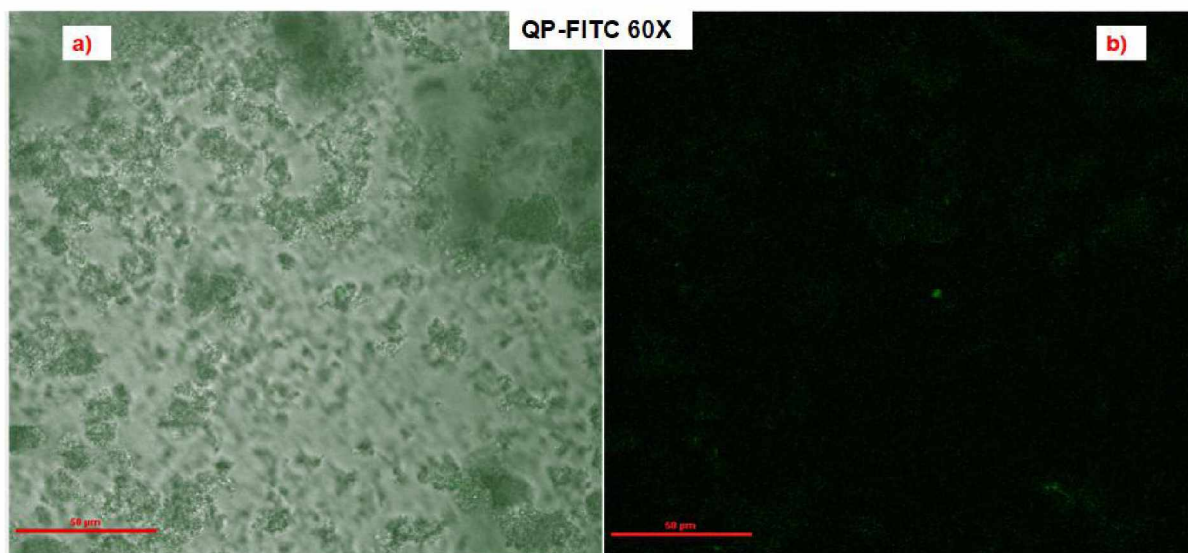


FIGURA 32 - IMAGENS CAPTURADAS POR CLSM (AUMENTO 60 X) DAS NP DE SÍLICA T7D APÓS RECOBRIMENTO POR LbL COM QP-FITC, A) IMAGEM COMBINADA E B) FLUORESCÊNCIA OBSERVADA EM VERDE

Foi observado que a intensidade do fluoróforo estava muito baixa, devido as consecutivas lavagens realizadas durante o processo de modificação e LbL, e também ao fato do FITC perder com mais facilidade a intensidade da fluorescência em pH baixo como é o caso das NP recobertas com quitosana (pH 3,5).

Na Figura 33 é apresentado a imagem de CLSM para as NP recobertas com duas camadas, a primeira QP-FITC e a segunda com A-RITC.

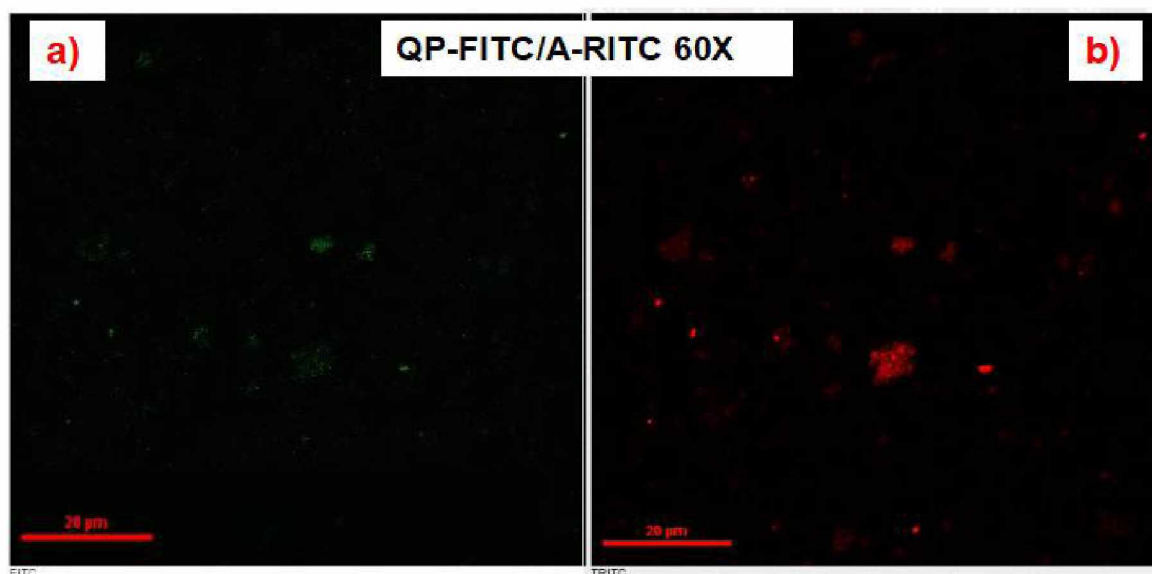


FIGURA 33 - IMAGENS CAPTURADAS POR CLSM (AUMENTO 60 X) DAS NP DE SÍLICA T7D APÓS RECOBRIMENTO POR LbL COM QP-FITC SEGUIDA DA SEGUNDA ADIÇÃO COM A-RITC, A) FLUORESCÊNCIA OBSERVADA EM VERDE, COMPRIMENTO DE ONDA EMISSÃO 525 nm E B) FLUORESCÊNCIA OBSERVADA EM VERMELHO COM COMPRIMENTO DE ONDA EMISSÃO 595 nm

Pode-se observar que a marcação foi eficiente, e que houve o recobrimento por LbL das NP devido a presença da fluorescência e mudança no potencial zeta, conforme foram adicionados os polieletrólitos.

## 5.6 TEOR DE SÓLIDOS

O teor de sólidos foi determinado e desta forma calculou-se a concentração ( $\text{mg mL}^{-1}$ ) para cada uma das amostras, que estão apresentado na Tabela 6.

TABELA 6 - CONCENTRAÇÃO OBTIDA PELA ANÁLISE DE TEOR DE SÓLIDOS PARA AS NP T1D, T5D E T8D ANTES E APÓS O RECOBRIMENTO POR LbL

Amostra	Volume final (mL)	Concentração ( $\text{mg mL}^{-1}$ )
T8D-Q-A	25	13,6
T5D-Q-A	25	10,2
T1D-Q-A	23	2,92
T8D-Q	25	11,8
T5D-Q	23	18,0
T1D-Q	14	2,25
T7D-(QP-FITC)	10	2,40
T7D-Q-(A-RITC)	10	2,10

O teor de sólidos foi realizado para que fosse possível empregar as NP em emulsões, verificando a interação das NP com o óleo e sua capacidade de atuar como estabilizante e/ou desestabilizante.

## 5.7 APLICAÇÃO DAS NP EM EMULSÕES ÓLEO/ ÁGUA

Primeiramente realizou-se testes para definição do melhor método para o preparo das emulsões contendo as NP.

Os principais resultados obtidos foram divididos em duas partes, na primeira etapa são apresentadas as emulsões feitas com a primeira metodologia descrita na seção 4.10 onde empregou-se o *vortex* para preparo das emulsões, e foram utilizados tamanhos distintos de NP de sílica.

Na segunda parte, são apresentados os resultados das emulsões preparados com turrax e contendo NP de sílica modificadas com fluoróforos e analisadas por microscopia confocal.

### 5.7.1 Estabilidade das emulsões - Parte I

Utilizou-se o *vortex* para o preparo das emulsões e empregou-se as NP T1D, T5D e T8D recobertas com quitosana e quitosana/alginato em emulsões óleo-água para investigar se apresentam potencial de estabilização das emulsões.

Na Figura 34 são apresentadas as imagens das emulsões preparadas com óleo de linhaça registradas no tempo zero que é logo após o preparo das emulsões, e nos tempos de 24, 96, e 192 horas.

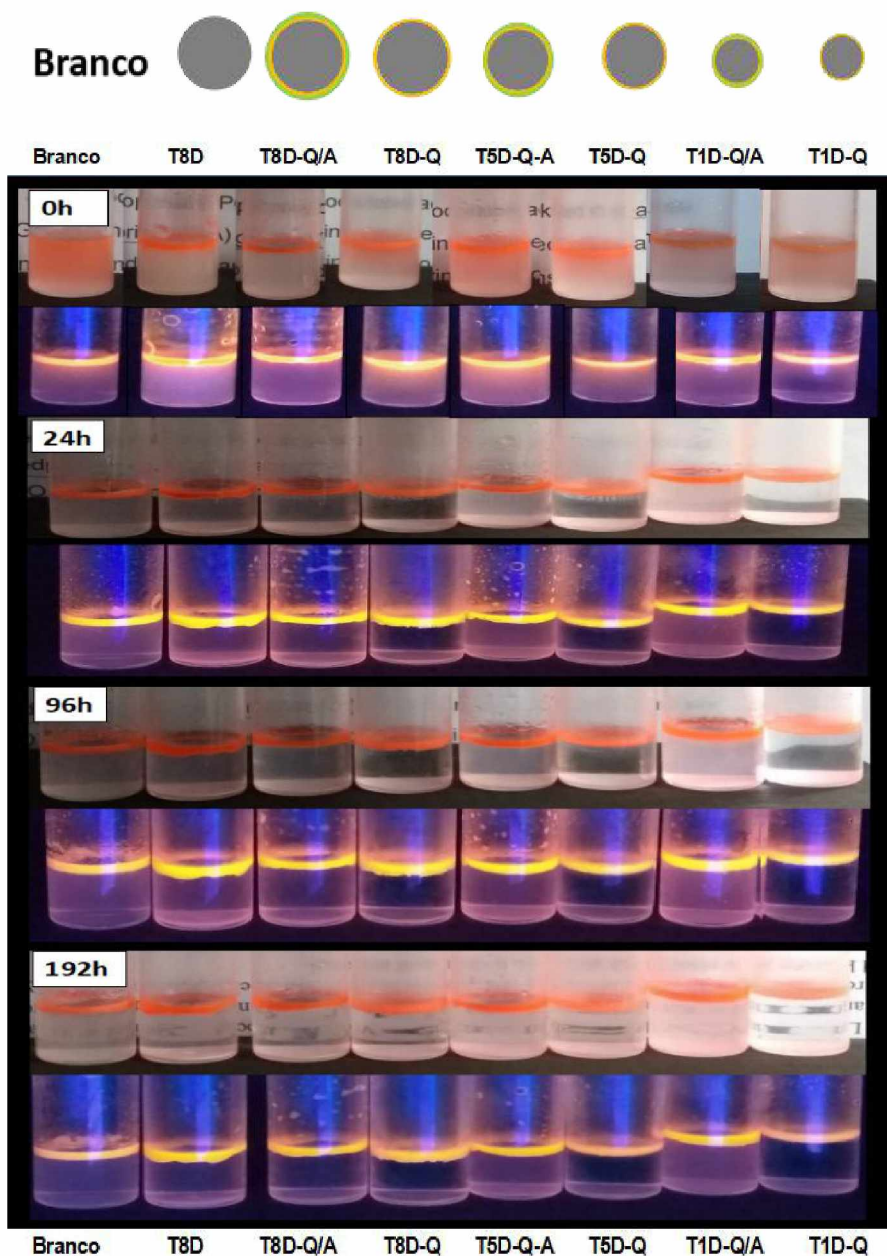


FIGURA 34 - IMAGENS NA LUZ BRANCA E NA LUZ ULTRAVIOLETA DO ACOMPANHAMENTO DAS EMULSÕES DE ÓLEO DE LINHAÇA EM ÁGUA EM FUNÇÃO DO TEMPO EM REPOUSO E A TEMPERATURA AMBIENTE. ONDE **BRANCO**) ÁGUA E ÓLEO DE LINHAÇA), **T8D**) NP SEM RECOBRIR, **T8D-Q/A**- REVESTIDA COM QUITOSANA (QP) E ALGINATO (AG), **T8D-Q**) REVESTIDA COM QP **T5D-Q-A** REVESTIDA COM QP E AG, **T5D-Q** REVESTIDA COM QP **T1D-Q/A** REVESTIDA COM QP E AG **T1D-Q** REVESTIDA COM QP

Observou-se que nas emulsões de óleo de linhaça 3 % (m/v), logo nos primeiros instantes após o preparo da emulsão, já ocorre separação parcial do óleo. Na amostra controle, observou-se óleo emulsionado em todos os tempos estudados.

Na emulsão identificada como **T8D**, com tamanho médio igual a 478 nm, as NP não foram revestidas e observou-se o início da separação de fase após 3,5 horas, havendo a formação de um corpo de fundo branco proveniente da



sedimentação das NP, enquanto que a maior fração do óleo cremeou, demonstrando a baixa interação das NP com ambas as fases quando não revestida.

As emulsões recobertas com quitosana e identificadas como **T8D-Q**, **T5D-Q** e **T1D-Q** separaram fase no tempo de 24 horas, onde ao invés de formar um “filme” observou-se que houve a presença de gotículas macroscópicas de óleo na parte superior que permaneceram desta forma até o fim do experimento em 336 horas. Este fato foi associado à presença das NP revestidas com quitosana com caráter hidrofóbico, que migraram para a interface do óleo formando um filme atuando de forma estérica e, por consequência, impedindo que estas gotículas de óleo continuem no processo de desestabilização e coalescência, este comportamento deve-se ao fato das NP recobertas com quitosana serem cineticamente estáveis à coalescência.

Em **T5D-Q** e **T1D-Q** observou-se que estas gotículas de óleo formadas aparentam ser menores conforme o tamanho das NP diminui, sendo este comportamento associado a quantidade de NP que estão atuando na interface, visto que na mesma relação mássica as NP menores apresentaram maior área específica e maior concentração de NP (FRELICHOWSKA; BOLZINGER; CHEVALIER, 2009).

Já para as emulsões **T8D-Q/A**, **T5D-Q-A** e **T1D-Q/A**, preparadas com NP revestidas com alginato, observou-se que estas emulsões permaneceram por mais tempo na forma emulsionada em relação as outras emulsões. Constatou-se o comportamento opalescente onde **T8D-Q/A** separou fase mais rápido (168 horas) do que as outras NP recobertas com alginato, observou-se também um corpo de fundo branco no frasco, associado às NP. Já a emulsão **T5D-Q-A** continuou opalescente por 288 horas, **T1D-Q/A** continuou opalescente até o final do experimento, em 336 horas.

Sabe-se que a estabilidade das emulsões dependem do tamanho das partícula atuantes na interface, como empregou-se tamanhos distintos de NP (Tabela 5), esperava-se observar o comportamento inverso na estabilidade das emulsão em vista da maior energia de desorção que depende do quadrado do raio das NP. Este comportamento pode ser explicado pela maior quantidade das NP pequenas em relação as NP maiores, resultando em uma maior energizado de desorção total do sistema, ou seja, maior trabalho para que ocorra a desorção de todas as NP pequenas em relação as NP maiores.

Um fator que influenciou na estabilização das emulsões apresentadas na Parte I foi o fato da energia fornecida para o preparo das emulsões ser relativamente baixa, contribuindo para que houve-se uma desestabilização já nos primeiros instantes, não dando tempo suficiente para que as NP migrassem até a interface e atuassem estabilizando de forma efetiva a emulsão inicial.

#### 5.7.2 Morfologia das Emulsões - Parte II

Para investigar a influência das NP de sílica revestidas sobre a estabilização/ desestabilização das emulsões preparadas pela metodologia com turrax, foi realizado o acompanhamento em função do tempo das emulsões (Figura 35). Utilizou-se as NP denominadas de T7D recobertas com Q-FITC e A-RITC incorporadas na emulsão. Na Figura 36 são apresentadas as imagens capturada por microscopia confocal.

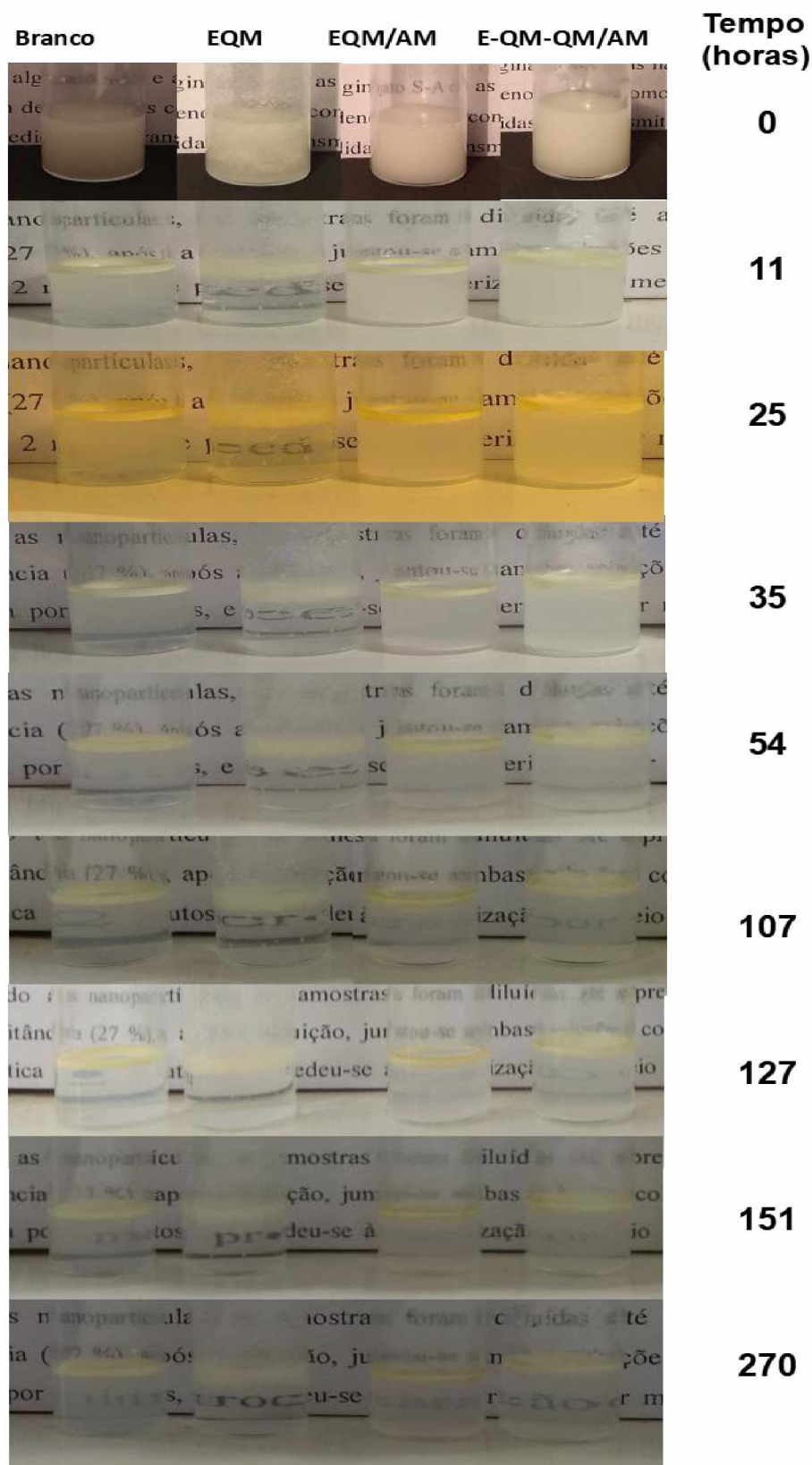
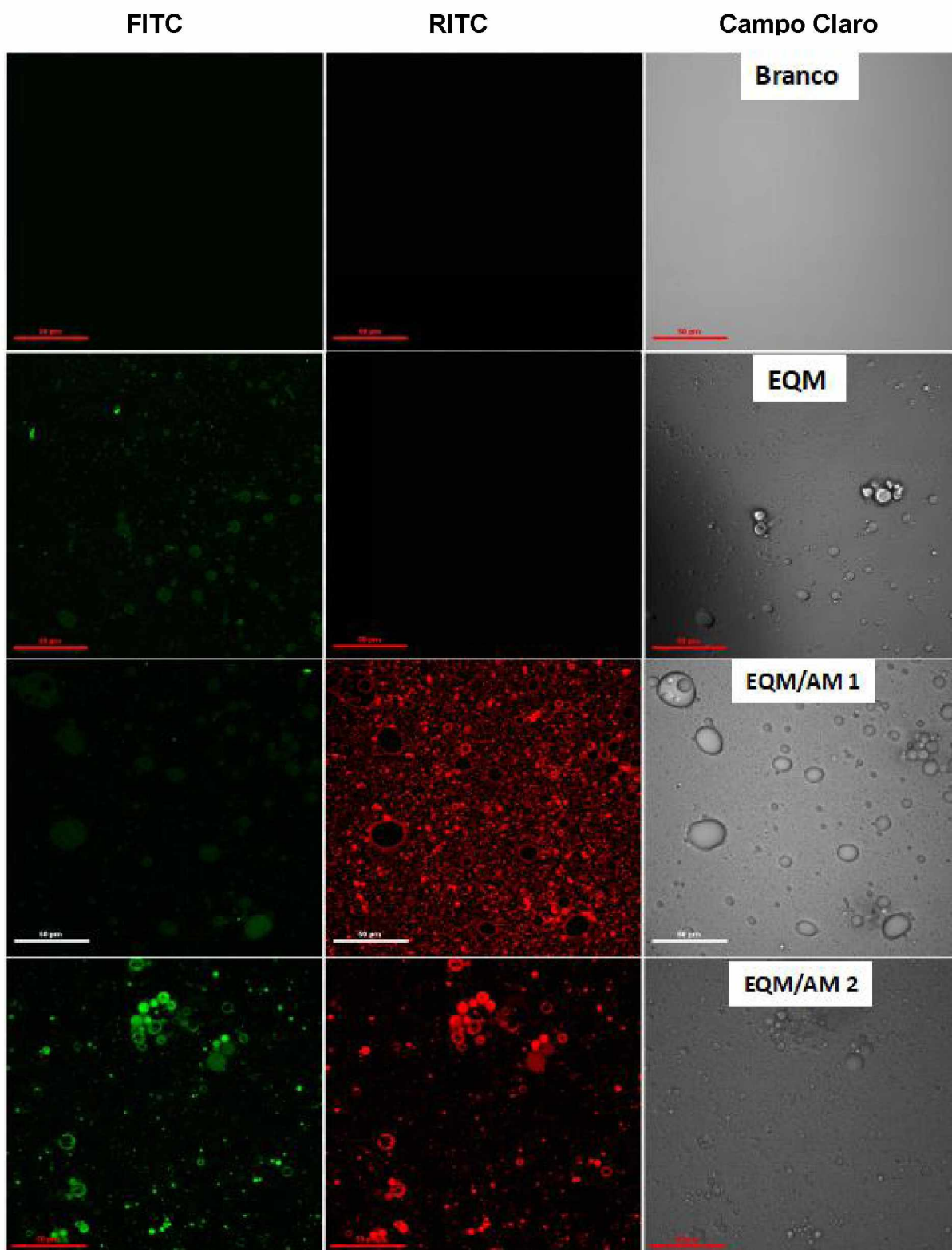


FIGURA 35 - ACOMPANHAMENTO DAS EMULSÕES DE ÓLEO DE LINHAÇA EM ÁGUA EM FUNÇÃO DO TEMPO EM REPOUSO E A TEMPERATURA AMBIENTE. ONDE A ESQUERDA ENCONTRA SE O **BRANCO**: ÁGUA E ÓLEO DE LINHAÇA, **EQM**: NP TD7 REVESTIDAS COM QP-FITC, **EQM/AM**: REVESTIDA COM QP-FITC COMO PRIMEIRA CAMADA E A-RITC NA SEGUNDA CAMADA, E **EQM@EQAM**: QUE CONSISTE NA COMBINAÇÃO DAS NP REVESTIDAS COM QP-FITC E AS NP REVESTIDA COM A-RITC NA SEGUNDA CAMADA.

Na Figura 36 são apresentadas as imagens de CLSM para as emulsões realizadas após 1 hora do preparo das emulsões ( $t_0$ ) para **EQM/AM** e a **EQM@EQM/AM** após 100 horas do preparo das emulsões



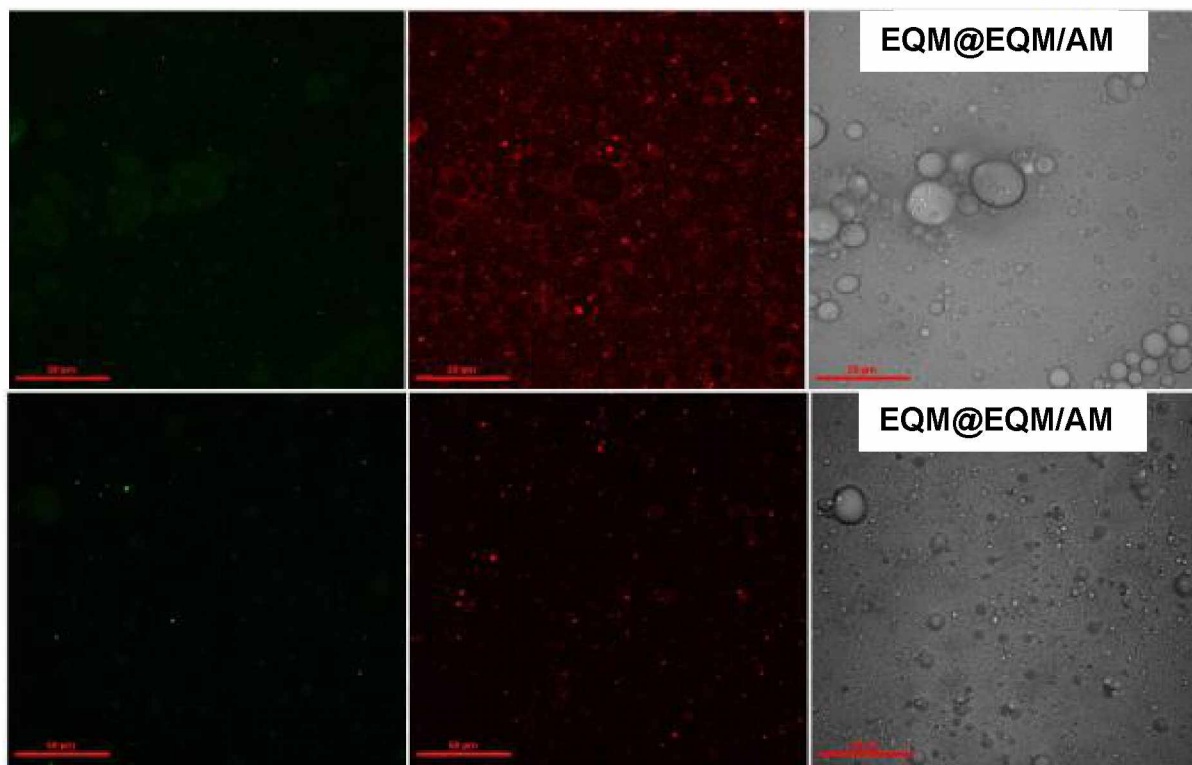


FIGURA 36 - IMAGENS CAPTURADAS POR CLSM (AUMENTO 60 X) DAS EMULSÕES DE ÓLEO DE LINHAÇA EM ÁGUA DA ESQUERDA PARA DIREITA DETECÇÃO PARA FITC, RITC, E CAMPO CLARO, **BRANCO**) ÁGUA E ÓLEO DE LINHAÇA, **EQM**) EMULSÃO COM NP REVESTIDAS COM QP-FITC, **EQM/AM**) EMULSÃO CONTENDO AS NP REVESTIDA COM QP-FITC COMO PRIMEIRA CAMADA E A-RITC NA SEGUNDA CAMADA NO TEMPO DE 1 HORA E NO TEMPO DE 100 HORAS, E **EQM@EQM/AM** QUE CONSISTE NA COMBINAÇÃO DAS NP REVESTIDAS COM QP-FITC E AS NP REVESTIDA COM QP-FITC E A-RITC NO TEMPO DE 1 HORA E NO TEMPO DE 100 HORAS.

Observou-se que as emulsões de óleo de linhaça 3 % m/v preparadas com a metodologia do turrax (parte II) apresentaram maior estabilidade em relação a primeira metodologia adotada. O branco consiste na emulsão contendo apenas água e óleo, que permaneceu turva com uma cor esbranquiçada por 24 horas ocorrendo a separação de fase gradativa após este tempo. Na imagem de CLSM não foi detectado fluorescência, o que era o esperado já que não foram adicionadas NP ao meio.

Na Figura 37 são apresentadas as imagens de microscopia ótica das emulsões após desestabilização das emulsões de óleo, foram capturadas imagens do óleo após o solvente secar, da fase rica em solvente (F. Aqu) e da fase superior (F.Org).

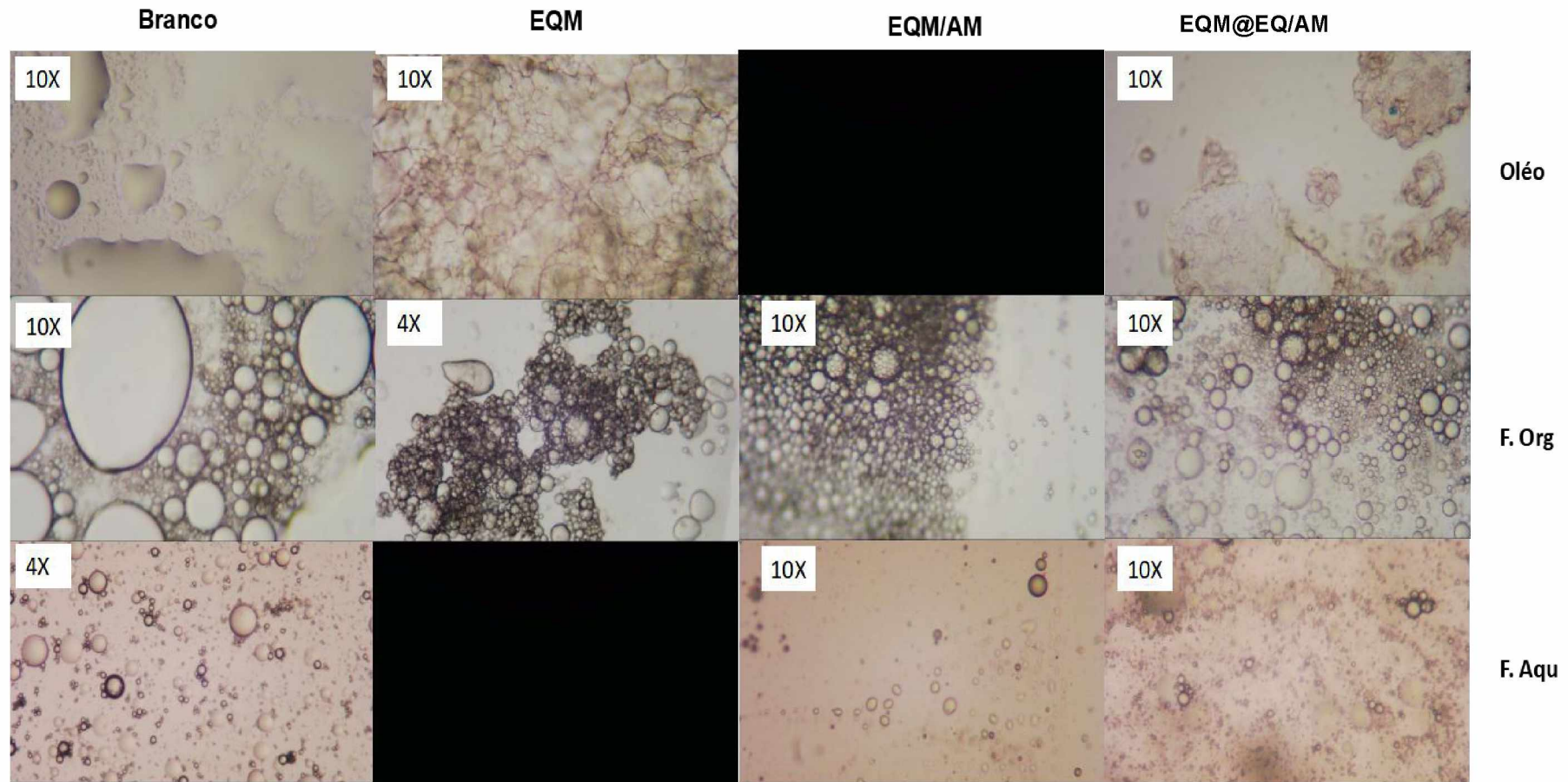


FIGURA 37 - MICROGRAFIA DAS EMULSÕES DE ÓLEO DE LINHAÇA EM ÁGUA, IMAGEM DA FASE RICA EM SOLVENTE (**F.AQU**), FASE SUPERIOR (**F.ORG**) E DO ÓLEO APÓS O SOLVENTE SECAR. **BRANCO**) EMULSÃO SEM NP, **EQM**) EMULSÃO COM NP REVESTIDAS QP-FITC, **EQM/AM**) EMULSÃO CONTENDO NP REVESTIDA COM QP-FITC COMO PRIMEIRA CAMADA E A-RITC COMO SEGUNDA CAMADA, E **EQM@EQ/AM** QUE CONSISTE NA EMULSÃO QUE CONTEM 50% DE NP REVESTIDAS COM QP-FITC COM 50% DAS NP REVESTIDA COM A-RITC COMO ULTIMA CAMADA

Na emulsão identificada como **EQM** as NP foram revestidas com QP-FITC, e observou-se que imediatamente após adição das NP houve separação de fase de forma permanente, mesmo agitando o frasco após a separação de fase, não foi possível redispersar o óleo. Esse comportamento é devido à forte interação das NP recobertas com QP-FITC com a fase óleo e baixa afinidade com a água proveniente do caráter hidrofóbico, que vai de encontro com as imagens de microscopia ótica da floculação e após o solvente secar, apresentadas na Figura 37. Em **EQM** a presença das NP recobertas com QP-FITC na interface resultaram que ao separar a fase não houve a formação de uma película/filme pois o óleo não se encontra livre na superfície como foi observado para o branco (Figura 37).

Para a emulsão denominada **EQM/AM** revestida com Q-FITC como primeira camada e A-RITC como segunda camada, foi observada uma maior capacidade de estabilização da fase rica em solvente, observada pela turbidez um pouco mais evidente que a combinação **EQM@EQ/AM** quando comparado no tempo de 270 horas de acompanhamento. Contudo observou-se maior quantidade de óleo livre na fase superior (**EQM/AM**) quando comparada com a emulsão **EQM@EQ/AM**.

Na Figura 36, para **EQM/AM** no primeiro tempo analisado observa-se uma alta concentração de partículas e que a emulsão se encontra estável, com o passar do tempo (100 horas) percebe-se a diminuição da estabilidade da emulsão e a presença das NP na interface água-óleo atuando como estabilizante.

Já a emulsão **EQM@EQ/AM** que consiste na combinação das NP revestidas com Q-FITC e as NP revestida com Q-FITC e A-RITC, observa-se menor quantidade de óleo livre na fase superior, e na fase rica em solvente há uma tendência de estabilização, que pode-ser observada pela turbidez intermediária, o que implica na menor quantidade de óleo emulsionado presente nesta fase.

Na imagem de microscopia (Figura 36) para **EQM@EQ/AM** é possível observar a emulsão no tempo de 1 hora, na qual observa-se as NP na interface atuando como partículas de Pickering, já na imagem no tempo de 100 horas após o preparo das emulsões, observa-se menores quantidades de gotículas de óleo estabilizadas pelas NP quando comparada na mesma altura vertical, indicando que houve maior separação de fase e o óleo migrou para a parte superior (nível verticalmente) da emulsão, onde não foi possível a detecção por causa de limitações da altura do Z (vertical) do equipamento confocal.

Como foram observadas diferenças na quantidade de óleo livre para as emulsões **EQM/AM** e **EQM@EQ/AM**, realizou-se um teste de redispersão da emulsão, onde foi agitado 20 vezes manualmente cada uma das emulsões, na Figura 38 é apresentado os resultados do acompanhamento da redispersão das emulsões com o passar do tempo.

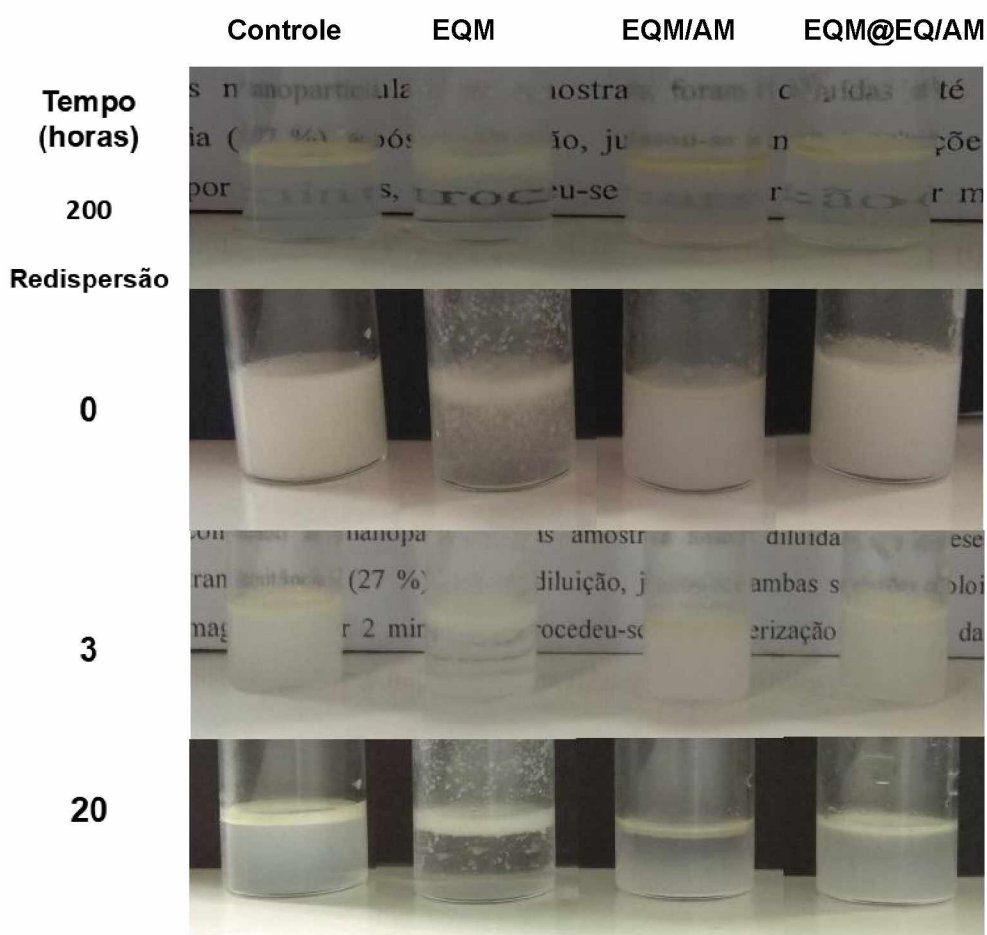


FIGURA 38 - ACOMPANHAMENTO DAS EMULSÕES DE ÓLEO DE LINHAÇA EM ÁGUA APÓS REDISPERSÃO DAS EMULSÕES EM FUNÇÃO DO TEMPO EM REPOUSO E A TEMPERATURA AMBIENTE. ONDE À ESQUERDA É APRESENTADO O BRANCO: ÁGUA E ÓLEO DE LINHAÇA, **EQM**: NP REVESTIDAS COM QP-FITC, **EQM/AM**: REVESTIDA COM QP-FITC COMO PRIMEIRA CAMADA E A-RITC COMO SEGUNDA CAMADA, **EQM@EQ/AM**: QUE CONSISTE NA COMBINAÇÃO DE 50% DAS NP REVESTIDAS COM QP-FITC COM 50% DAS NP REVESTIDA COM QP-FITC E A-RITC

Na Figura 38, a emulsão controle, apresentou óleo livre na fase superior enquanto na fase F. Aquí observou-se turbidez intermediária após a redispersão da emulsão. Já a emulsão **EQM** conforme já foi mencionado, não apresenta óleo livre, porém ocorre a floculação da emulsão e, devido a diferença de densidade, permanece na fase superior.



Para a emulsão **EQM/AM** observou-se a presença de óleo livre na parte superior e a diminuição da turbidez da F.Aqu formando corpo de fundo devido a decantação das NP revestidas com AG. Enquanto que a emulsão **EQM@EQ/AM** apresentou menos óleo livre, demonstrando maior potencial de estabilização.

Foi feita a combinação de NP catiônicas e aniônicas na proporção de 50/50 por cento, pois foi observado conforme Figura 39 (apêndices) que ocorrem associações entre as NP catiônicas e aniônicas, essas interações, e por conseguinte a associação entre as NP contribuíram para estabilizar a fase rica em óleo por mais tempo que as outras emulsões após a redispersão da emulsão, pois as NP associadas conseguem atuar na interface óleo/água formando um filme impedindo que as gotículas de óleo continuem no processo de desestabilização, diminuindo a energia interfacial água-óleo.

## 6 CONCLUSÕES

Foram desenvolvidas as melhores condições de síntese, baseado no método de Stöber, para a obtenção de nanopartículas de sílica com um bom controle de tamanho. Quanto maior a concentração de TEOS empregada, maior foi o tamanho das NP, resultando em uma relação linear. A variação da velocidade de adição do precursor não teve influência no tamanho das NP, mas a razão H<sub>2</sub>O/TEOS influenciou na morfologia e porosidade das NP.

O estudo do crescimento das NP mostrou indícios que o mecanismo de crescimento que ocorre é a nucleação dos monômeros seguidas de uma competição entre o processo de nucleação e o crescimento das partículas provenientes da agregação das subpartículas, sendo o mecanismo de agregação favorecido.

Foi realizado o recobrimento por LbL das NP com quitosana e alginato e foi constatado por medidas do potencial zeta, DLS e microscopia confocal que houve o recobrimento efetivo das NP.

As NP recobertas foram aplicadas em emulsões água/óleo com óleo de linhaça. Empregando a técnica de microscopia confocal, em conjunto com os testes de estabilidade, foi possível observar as contribuições das NP para a estabilidade das emulsões, levando à conclusão de que as NP compósitas apresentam propriedades e habilidades distintas, o que refletiu diretamente na estabilidade das emulsões.

As NP recobertas com quitosana apresentaram ótimo potencial para serem empregadas como agente floculante, possibilitando a separação da fase aquosa do óleo, praticamente que instantaneamente devido ao caráter hidrofóbico das NP. Já as NP recobertas com alginato apresentaram maior interação com a fase aquosa com capacidade intermediária de atuarem como estabilizante de Pickering. Enquanto que as NP catiônicas e aniônicas quando utilizadas juntas tendem a associar-se, contribuindo com a melhor estabilização da emulsão, além de permitir a redispersão da emulsão após ter ocorrido o processo de cremeação.

## REFERÊNCIAS

ASSAR, E. J; MESSADDEQ, Y; RIBEIRO, S, J, L. Influência da catálise ácida e básica na preparação da sílica funcionalizada pelo método sol-gel. **Quím. Nova**, São Paulo , v. 25, n. 1, p. 27-31, fev. 2002

AVEYARD, R.; BINKS, B. P.; CLINT, J. H. Emulsions stabilised solely by colloidal particles. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 100–102, p. 503–546, 28 fev. 2003.

AZEVEDO, V. V. C. *et al.* Quitina e Quitosana: aplicações como biomateriais. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 2.3, p. 27–34, 2007.

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**. v 65, p. 751-758, 2016.

BECKER, A. L.; JOHNSTON, A. P. R.; CARUSO, F. Layer-by-layer-assembled capsules and films for therapeutic delivery. **Small**, v. 6, n 17, p. 1836-1852, 2010.

BOGUSH. G, ZUKOSKI. C, Studies of the kinetics of the precipitation of uniform silica particles through the hydrolysis and condensation of silicon alkoxides. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 142, n. 1, p. 1–18, mar. 1991.

BAE, G. Y. *et al.* Superhydrophobicity of cotton fabrics treated with silica nanoparticles and water-repellent agent. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 337, n. 1, p. 170–175, 1 set. 2009.

Bio-Rad Laboratories, Inc. SpectraBase; ID do composto SpectraBase = 6TbqO4pGTat ID do Espectro SpectraBase = 4G9lfZvu3zT

Acesso em <<http://spectrabase.com/spectrum/4G9lfZvu3zT> > acessado em 07 de janeiro de 2019

BRINKER, C. SCHERER, G. **Sol-Gel Science: The Physics and Chemistry of Sol-Gel Processing**, 1990. 908p.

BRINKER, C. J. I HYDROLYSIS AND CONDENSATION OF SILICATES: EFFECTS ON STRUCTURE. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 100, p. 31–50, 1988.

CARNEIRO, J.; TEDIM, J.; FERNANDES, S. C. M.; FREIRE, C. S. R.; GANDINI, A.; FERREIRA, M. G. S. **Chitosan as a smart coating for controlled release of corrosion inhibitor 2-mercaptobenzothiazole**. *ECS Electrochemistry Letters*, v. 2, p. C19-C22, 2013.

CARRASQUE, L. S.; MORAES, Â. M.; DA SILVA, B. C. **Avaliação do efeito da reticulação térmica nas propriedades de membranas de quitosana e alginato projetadas para o recobrimento de lesões de pele**. VIII Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica. **Anais**. 2009

CHANDRAWATI, R. **Capsosomes: en route toward synthetic cellular systems**. Dezembro/2011. 194 p. Tese de doutorado – Universidade de Melbourne. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11343/37150>.

CHANDRAWATI, R. *et al.* Cholesterol-mediated anchoring of enzyme-loaded liposomes within disulfide-stabilized polymer carrier capsules. **Biomaterials**, v. 30, n. 30, p. 5988–5998, out. 2009.

CHEVALIER, Y.; BOLZINGER, M. A. Emulsions stabilized with solid nanoparticles: Pickering emulsions. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, 2013.

HOSTA-RIGAU, L. *et al.* Capsosomes with “free-floating” liposomal subcompartments. **Advanced materials (Deerfield Beach, Fla.)**, v. 23, n. 35, p. 4082–7, 15 set. 2011.

DAMIAN, C. *et al.* Quitosana : Um Amino Polissacarídeo Com Características Funcionais. **Alim. Nutr.**, v. 16, n. 2, p. 195–205, 2005

DAEMI, H.; BARIKANI, M. Synthesis and characterization of calcium alginate nanoparticles, sodium homopolymannuronate salt and its calcium nanoparticles. **Scientia Iranica**, v. 19, n. 6, p. 2023–2028, 2012.

DECHER, G.; HONG, J. D.; SCHMITT, J. Buildup of ultrathin multilayer films by a self-assembly process: III. Consecutively alternating adsorption of anionic and cationic polyelectrolytes on charged surfaces. **Thin Solid Films**, v. 210–211, p. 831–835, abr. 1992.

ELDIN, M. S. M. *et al.* Preparation and characterization of imino diacetic acid functionalized alginate beads for removal of contaminants from waste water: I. methylene blue cationic dye model. **Desalination and Water Treatment**, v. 40, n. 1–3, p. 15–23, 2012.

FALCÓN, J. M.; BATISTA, F. F.; AOKI, I. V. Encapsulation of dodecylamine corrosion inhibitor on silica nanoparticles. **Electrochimica Acta**, v. 124, p.109-118, 2014.

FANI, M. Os alginatos e suas múltiplas aplicações. **Food Ingredients Brasil**, v. nº 26, p. 34–38, 2013.

FERREIRA, A. P. G. *et al.* Dually fluorescent silica nanoparticles. **Journal of Luminescence**, v. 131, n. 5, p. 888–893, maio 2011.

FRANZOL, A.; REZENDE, M. C. Estabilidade de emulsões: um estudo de caso envolvendo emulsionantes aniônico, catiônico e não-iônico. **Polímeros**, v. 25, n. special, p. 1–9, 2015.

FRELICHOWSKA, J.; BOLZINGER, M. A.; CHEVALIER, Y. Pickering emulsions with bare silica. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, 2009.

GAO, W.; RIGOUT, M.; OWENS, H. Self-assembly of silica colloidal crystal thin films with tuneable structural colours over a wide visible spectrum. **Applied Surface Science**, v. 380, p. 12–15, 2016.

GITE, V. V.; TATIYA, P. D.; MARATHE, R. J.; MAHULIKAR, P. P.; HUNDIWALE, D. G. Microencapsulation of quinoline as a corrosion inhibitor in polyurea microcapsules for application in anticorrosive PU coatings. **Progress in Organic Coatings**, v. 83, p.11-18, 2015.

HIRATSUKA, R. S.; SANTILLI, V, PULCINELLI, S. H. O processo sol-gel: uma visão físico-química. **Química Nova. São Paulo: Soc Brasileira Química**, v. 18, n. 2, p. 171-180, 1995. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/32989>>

HOOD, M. A. *et al.* Controlling hydrophobicity of silica nanocapsules prepared from organosilanes. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, 2017. Disponível em <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0927775717304934>>

HYDE, E. D. E. R. *et al.* Colloidal Silica Particle Synthesis and Future Industrial Manufacturing Pathways: A Review. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 55, n. 33, p. 8891–8913, 24 ago. 2016. Disponível em <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.iecr.6b01839>>

JACUMASSO, S. C *et al.* Synthesis and characterization of polypyrrole/alginate beads and their application in microextraction analysis. Trabalho apresentado no: XVI SBPMat, 10 a 14 de setembro, Gramado, Rs, Brazil.

JOHNSTON, A. P. R. *et al.* Layer-by-layer engineered capsules and their applications. **Current Opinion in Colloid and Interface Science**, 2006

KEAN, T.; THANOU, M. Biodegradation, biodistribution and toxicity of chitosan. **Advanced Drug Delivery Reviews**, jan. 2010. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0169409X0900283X>>

LEAL, D. A. **Síntese e caracterização de microcápsulas com dupla-funcionalidade contendo óleo de linhaça e benzotriazol para aplicação em revestimentos anticorrosivos inteligentes**. 2016. 119 f. Dissertação (mestrado em Engenharia dos materiais) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciências dos Materiais (PIPE), Universidade do Paraná, Paraná. 2016

LEAL, D. A. *et al.* Smart coating based on double stimuli-responsive microcapsules containing linseed oil and benzotriazole for active corrosion protection. **Corrosion Science**, v. 130, p. 56–63, 1 jan. 2018.

LEVINE, S.; BOWEN, B. D.; PARTRIDGE, S. J. Stabilization of emulsions by fine particles I. Partitioning of particles between continuous phase and oil/water interface. **Colloids and Surfaces**, v. 38, n. 2, p. 325–343, 1 jan. 1989.

LIMA, A. M. F. *et al.* Influência da adição de plastificante e do processo de reticulação na morfologia, absorção de água e propriedades mecânicas de filmes de alginato de sódio. **Química Nova**, v. 30, n. 4, p. 832–837, 2007.

LIMA, S, R, G ; SANTANA, D, P. Desenvolvimento e caracterização de micropartículas de quitosana para a veiculação de lidocaína na pele. Trabalho apresentado no I Congresso de Iniciação em Desenvolvimento Tecnológico e Inovação. p. 14, 2009.

LIU, X. *et al.* Synthesis of ultrasmall silica nanoparticles for application as deep-ultraviolet antireflection coatings. **Applied Surface Science**, v. 420, p. 180–185, 2017.

MLADENOVSKA, K. *et al.* 5-ASA loaded chitosan–Ca–alginate microparticles: Preparation and physicochemical characterization. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 345, n. 1–2, p. 59–69, 10 dez. 2007.

MORA-HUERTAS, C.E., FESSI, H., ELAISSARI, A. **Polymer-based nanocapsules for drug delivery**. *International Journal of Pharmaceutics*. 2010, n. 385, p. 113-142.

NOZAWA, K., GAILHANOU, H., RAISON, L., PANIZZA, P., USHIKI, H., SELLIER, E., DELVILLE, J.P., DELVILLE, M.H. **Smart Control of Monodisperse Stöber Silica Particles: Effect of Reactant Addition Rate on Growth Process**. *Langmuir*. 2005, n. 21, p. 1516—1523.

OU, J. Z. *et al.* Human intestinal gas measurement systems: in vitro fermentation and gas capsules. **Trends in Biotechnology**, v. 33, n. 4, p. 208–213, abr. 2015. abr. 2015. Disponível em < <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2015.02.002>

PARTICLE METRIX GmbH. **Manual do Stabino Control 2.00.23**. Germany, Meerbusch: Particle Metrix GmbH, 108 p. 2014

PAVIA, D.L. *et al.* **Introdução à Espectroscopia**, 4.ed. São Paulo: Cengage Learning, 2010.

PAULO, F.; SANTOS, L. Design of experiments for microencapsulation applications: A review. **Materials Science and Engineering: C**, v. 77, p. 1327–1340, ago. 2017. Disponível em <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928493116321439>>

SADTLER, V. M.; IMBERT, P.; DELLACHERIE, E. Ostwald ripening of oil-in-water emulsions stabilized by phenoxy-substituted dextrans. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 254, n. 2, p. 355–361, 15 out. 2002.

SCHIFINO, J.; *Tópicos de Físico Química*. Porto Alegre. Ed. Da UFRGS, 2013. p. 110-134

SHAW, J.D. **Introdução à Química dos Coloides**. ed. Edgar Blucher Ltda, São Paulo 1975.

SHAW, J.D.; *Introduction to Colloid and Surface Chemistry*. **Elsevier Science Ltda**, 2002. p. 43-58.

SIGNINI, R.; CAMPANA, S. P. Características e Propriedades de Quitosanas Purificadas nas Formas Neutra, Acetato e Cloridrato. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 11, n. 2, p. 58–64, 2001.

STÖBER, W.; FINK, A.; BOHN, E. Controlled growth of monodisperse silica spheres in the micron size range. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 26, n. 1, p. 62–69, jan. 1968. Disponível em:  
<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0021979768902725>>

SUNDARAMURTHY, A.; SUNDRAMOORTHY, A. K. Polyelectrolyte capsules preloaded with interconnected alginate matrix: An effective capsule system for encapsulation and release of macromolecules. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 107, p. 2251–2261, 1 fev. 2018.

TADROS, T. F. Emulsion Formation, Stability, and Rheology. *In* TADROS, T. F. (Org.). **Emulsion Formation and Stability**, 1ª Ed. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2013. Cap. 1

TAM, S. K. *et al.* Biocompatibility and physicochemical characteristics of alginate-polycation microcapsules. **Acta Biomaterialia**, v. 7, n. 4, p. 1683–1692, abr. 2011.

TAN, S. C. *et al.* The degree of deacetylation of chitosan: Advocating the first derivative UV-spectrophotometry method of determination. **Talanta**, v. 45, n. 4, p. 713–719, 1998.

TARN, D *et al.* Nanoparticle de Nanoparticle da sílica mesoporosa: Biofuncionalidade e Biocompatibilidade. **Acc. Chem. Res**, 46 (3), p. 792-801, fev, 2013.

VAN BLAADEREN, V.A, GEEST, J, VRIJ, A. Monodisperse colloidal silica spheres from tetraalkoxysilanes: Particle formation and growth mechanism. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 154, n. 2, p. 481–501, dez. 1992.

VAZQUEZ, N. I. *et al.* Synthesis of mesoporous silica nanoparticles by sol–gel as nanocontainer for future drug delivery applications. **Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio**, v. 56, n. 3, p. 139–145, 1 maio 2017.

WANG, X.-D. *et al.* Preparation of spherical silica particles by Stöber process with high concentration of tetra-ethyl-orthosilicate. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 341, n. 1, p. 23–29, 1 jan. 2010.

WU, J.; MA, G. H. Recent Studies of Pickering Emulsions: Particles Make the Difference. **Small (Weinheim an der Bergstrasse, Germany)**, v. 12, n. 34, p. 4633–4648, 2016.

WEN, Y. *et al.* Enantioselective ecotoxicity of the herbicide dichlorprop and complexes formed with chitosan in two fresh water green algae. **Journal of**



**Environmental Monitoring**, v. 13, n. 4, p. 879–885, 2011.

YUAN, S.; TONG, M.; WU, G. Destabilization of emulsions by natural minerals. **Journal of Hazardous Materials**, v. 192, n. 3, p. 1882–1885, 15 set. 2011.

ZARGAR, V.; ASGHARI, M.; DASHTI, A. A Review on Chitin and Chitosan Polymers: Structure, Chemistry, Solubility, Derivatives, and Applications. **ChemBioEng Reviews**, 2015.

ZAWADZKI, J.; KACZMAREK, H. Thermal treatment of chitosan in various conditions. **Carbohydrate Polymers**, v. 80, n. 2, p. 394–400, 12 abr, 2010.

ZHOU, Y. *et al.* Mesoporous silica nanoparticles for drug and gene delivery. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, 12 fev. 2018.

## APÊNDICE 1 – Associação NP Catiônicas e Aniônicas

Após o procedimento de LbL e as devidas caracterizações, foram feitas combinações entre as nanopartículas com alginato S-A e as nanopartículas revestidas com quitosana (S-Q), essas combinações foram denominadas como SQ-SA. Para isso foi usado um espectrofotômetro UV/Vis para medidas de transmitância da solução coloidal contendo as nanopartículas, as amostras foram diluídas até apresentarem a mesma transmitância (27 %), após a diluição, juntou-se ambas soluções coloidais sob agitação magnética por 2 minutos, e procedeu-se à caracterização por meio da determinação da carga superficial e de imagens de MEV e MET.

Após 24 horas em repouso observou-se a olho nu que houve a formação de “fios” dentro da amostra, esses “fios” bem como a parte dispersa da amostra foram analisados por imagens de MEV e MET apresentados na Figura 37. Para realizar as análises de MEV, utilizou se uma malha como suporte, e esse foi fixado sobre o porta-amostras com uma fita de cobre.

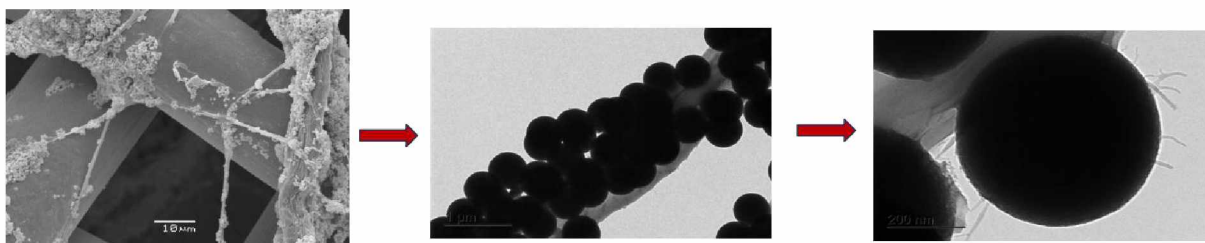


FIGURA 39 - MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO MET E MEV PARA A ASSOCIAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS SQ-SA.