

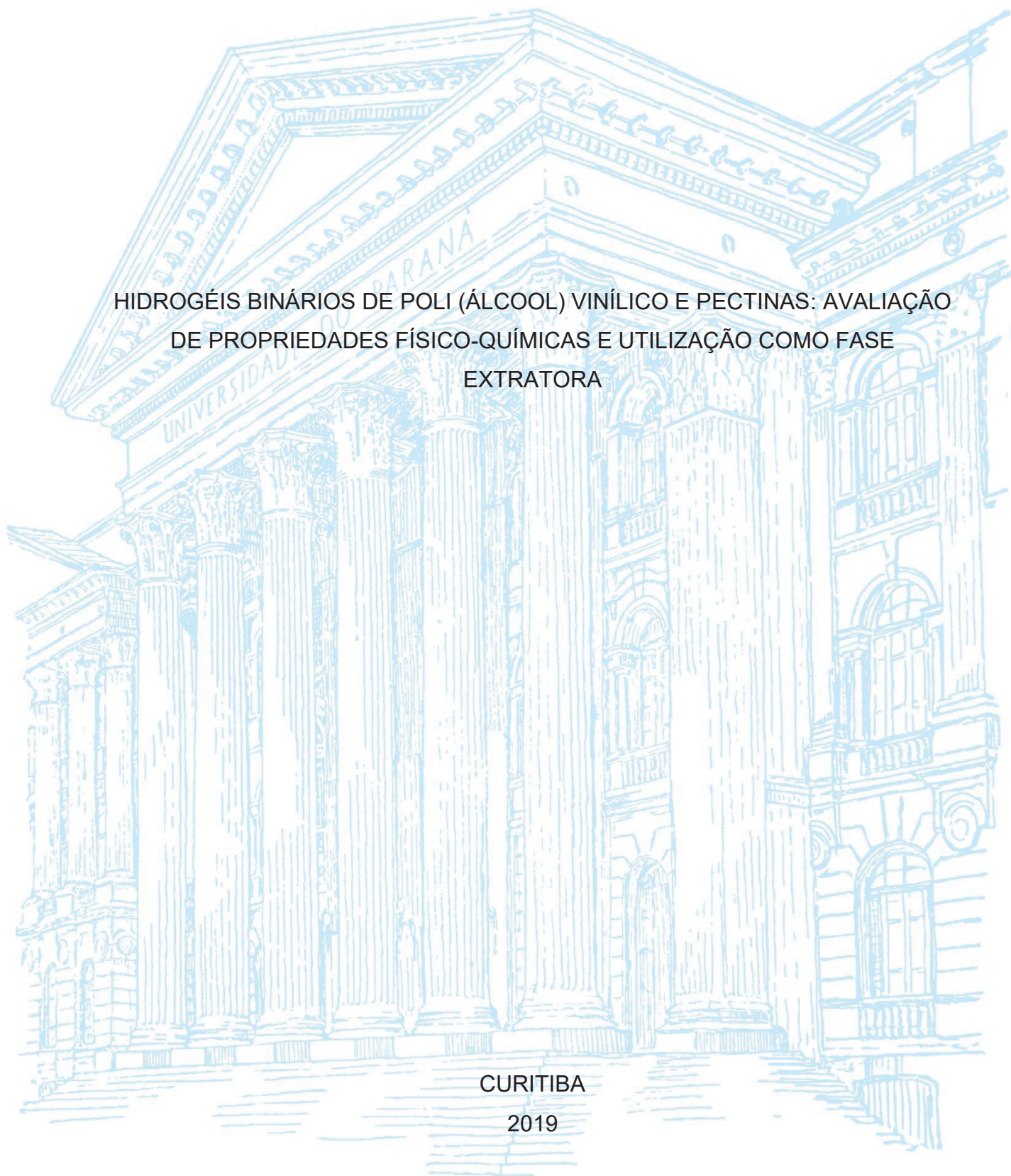
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ANA CAROLINE JASKI

HIDROGÉIS BINÁRIOS DE POLI (ÁLCOOL) VINÍLICO E PECTINAS: AVALIAÇÃO
DE PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E UTILIZAÇÃO COMO FASE
EXTRATORA

CURITIBA

2019



ANA CAROLINE JASKI

HIDROGÉIS BINÁRIOS DE POLI (ÁLCOOL) VINÍLICO E PECTINAS: AVALIAÇÃO
DE PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E UTILIZAÇÃO COMO FASE
EXTRATORA

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

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Izabel Cristina Riegel-Vidotti

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Fernanda Fogagnoli Simas

CURITIBA

2019

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

- J39h Jaski, Ana Caroline
 Hidrogéis binários de poli (álcool) vinílico e pectinas: avaliação de propriedades físico-químicas e utilização como fase extratora [recurso eletrônico] Ana Caroline Jaski – Curitiba, 2019.
- Dissertação - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Exatas, Programa de Pós-graduação em Química.
- Orientadora: Profa . Dra. Izabel Cristina Riegel Vidotti Miyata
 Coorientadora: Profa . Dra . Fernanda Fogagnoli Simas
1. Hidrogel. 2. Reologia. 3. Pectinas. I. Universidade Federal do Paraná. II. Miyata, Izabel Cristina Riegel Vidotti. III. Simas, Fernanda Fogagnoli. IV. Título.

CDD: 547.7

Bibliotecária: Roseny Rivelini Morciani CRB-9/1585



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS EXATAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO QUÍMICA -
40001016026P2

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em QUÍMICA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **ANA CAROLINE JASKI** intitulada: **HIDROGÉIS BINÁRIOS DE POLI (ÁLCOOL VINÍLICO) E PECTINAS: AVALIAÇÃO DE PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E À UTILIZAÇÃO COMO FASE EXTRATORA**, sob orientação da Profa. Dra. IZABEL CRISTINA RIEGEL VIDOTTI MIYATA, que após após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa. A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 31 de Julho de 2019.

IZABEL CRISTINA RIEGEL VIDOTTI MIYATA

Presidente da Banca Examinadora (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

JOANA LÉA MEIRA SILVEIRA

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

MARIA RITA SIERAKOWSKI

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

*Aos meus pais João e Lucia, os maiores
responsáveis por tudo o que sou.*

AGRADECIMENTOS

A minha orientadora Izabel, por todo o conhecimento transmitido, pelo apoio no decorrer desses dois anos, pela paciência e zelo pelo que faz, pelo exemplo de profissional que é e principalmente por acreditar em mim quando eu mesma duvidei.

A minha coorientadora Fernanda, por todos os ensinamentos e contribuições no importantíssimas no desenvolvimento do projeto.

A Universidade Federal do Paraná e aos funcionários do Programa de Pós-Graduação em Química.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Química pela contribuição pessoal e profissional neste período.

A professora Elisa Orth pelas contribuições na banca de qualificação.

A professora Joana por todo o auxílio nos experimentos de reologia, sempre muito acessível quando se fez necessário e pelas contribuições na banca de qualificação e defesa.

A professora Maria Rita que contribuiu neste projeto na correção do relatório anual e na banca de defesa.

Ao professor Bruno pelas contribuições na “etapa analítica do projeto”, pelas análises de GC e auxílio nas discussões.

A Naiara Sampaio pelas inúmeras contribuições em todas as etapas deste projeto. Não tenho dúvidas de que fundamental para o meu aprendizado neste período.

Ao Grupo de Química de Carboidratos da UFPR, em especial a Kahlile e a professora Lucimara.

Aos meus maravilhosos pais João e Lucia por serem meu lar e me apoiarem em tudo, sem nunca medirem esforços para ver a filha estudando. Mesmo sofrendo com a distância nos separando, os corações nunca deixaram de estarem unidos. Vocês são as pessoas mais importantes do mundo para mim. Tudo o que faço é pensando em vocês, por vocês.

Aos meus irmãos João Lucas e Thiago, que são os nenéns da Carol. Vocês dão sentido à vida, em todos os momentos. Quando estamos juntos, a paz do mundo está toda ali.

Ao meu namorado Rafael que mesmo de longe presta todo o apoio que eu preciso e me mostra que quando se ama de verdade, a distância é apenas um detalhe. Obrigada por sempre me incentivar, acreditar em mim e ser meu ponto de paz em meio ao caos.

Aos amigos do laboratório, pois como já disse o poeta, “quem tem amigos tem tudo”. Agradeço pelos bons momentos que passamos juntos, pelas risadas, pelas reclamações ouvidas, pelos ombros que seguraram meu choro quando eu precisei. Vocês são pessoas que mostram que a vida vale a pena, em especial a Tatiana por todos os anos de amizade, pelo apoio, pelas conversas, pelos rolês aleatórios mais legais, enfim, por tudo. A Letícia pela amizade, suporte, ajuda, conforto nos momentos de surto e boas risadas nos momentos de glória. Ao Alex e o José, a Morgana, Isabela, Giuliana, Bruna, Gabs, Thais, Renata Lima, Yane, Mari e Sheila.

Aos colegas do GPMIn e GCC pela boa convivência no laboratório.

Ao Centro de Microscopia Eletrônica da UFPR pelas análises.

Ao Centro de RMN da UFPR pelas análises.

A CAPES pela bolsa concedida.

“É muito melhor lançar-se em busca de conquistas grandiosas, mesmo expondo-se ao fracasso, do que alinhar-se com os pobres de espírito, que nem gozam muito nem sofrem muito, porque vivem numa penumbra cinzenta, onde não conhecem nem vitória, nem derrota. ”

(Theodore Roosevelt)

RESUMO

Hidrogéis são materiais que apresentam propriedades físico-químicas moduláveis e em virtude disso são passíveis de aplicação nas mais diversas áreas. Dentre os polímeros que podem ser utilizados no preparo de hidrogéis, o álcool polivinílico (PVOH) é um dos mais citados na literatura, isoladamente ou em conjunto com outros materiais. Polissacarídeos são biomoléculas passíveis de serem incorporadas ao PVOH na produção de hidrogéis. São biopolímeros abundantes na natureza e que exibem propriedades relevantes em várias áreas de pesquisa. Nesse sentido, este trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de hidrogéis compósitos baseados em PVOH e pectinas. Para isso, foram utilizadas pectina cítrica comercial (PC), pectina cítrica comercial dialisada (*d*PC) e pectina extraída da casca do maracujá (PPC), as quais apresentaram diferentes massas molares e graus de metil esterificação (GM). Tais diferenças foram observadas em análises de cromatografia de exclusão por tamanho de alta pressão (HPSEC) e ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN-¹H), respectivamente. Previamente à formação dos hidrogéis, foram realizadas análises reológicas das dispersões de PVOH/pectinas em diferentes concentrações mássicas. Foi verificado que em concentrações muito baixas de pectina, (P5PC1, P5*d*PC1 e P5PPC1), não houve diferença na viscosidade das dispersões preparadas, entretanto, com o incremento da concentração de pectina na dispersão, observou-se que as dispersões preparadas com a PC apresentaram os menores valores de viscosidade em todas as concentrações estudadas, comparadas com as outras pectinas. Isso pode estar relacionado com o fato de a PC possuir compostos pécticos de baixa massa molar e também contaminantes como frutose e sacarose em sua composição. Foi realizado o estudo da gelificação dos hidrogéis *in situ* no reômetro e por aquecimento na estufa. Em baixas concentrações de ambos os polímeros, (P5PC1, P5*d*PC1 e P5PPC1), não houve diferença no tempo de gelificação dos hidrogéis, bem como na força dos hidrogéis gelificados na estufa. Quando se aumentou a concentração, (P15PC2, P15*d*PC2 e P15PPC2) foram observadas diferenças nos tempos de gelificação dos hidrogéis preparados no reômetro e na força dos hidrogéis preparados na estufa, dependendo da pectina utilizada. O grau de intumescimento e sinerese não variou significativamente ao comparar-se os hidrogéis, quanto ao tipo de pectina utilizada. Nas análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi possível constatar que as três pectinas formam sistemas bifásicos com o PVOH, de modo que as pectinas se distribuem na matriz de PVOH na forma de partículas esféricas, que proporcionam maior porosidade ao material. O tamanho destas partículas apresentou-se bastante semelhante para as amostras PC e *d*PC. Para a amostra PPC os tamanhos de partículas se apresentaram bastante irregulares e com a distribuição mais heterogênea na matriz. Foi escolhido o hidrogel preparado com 15% de PVOH e 2% de pectina para ser testado como fase extratora para os compostos poluentes de preocupação emergente estriol, estrona e 17 β -estradiol. Estes compostos são altamente polares e sua extração utilizando-se fases extratoras disponíveis comercialmente é bastante difícil. Foi possível constatar, por análise de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-MS/MS) que os hidrogéis preparados com as três pectinas foram capazes de extrair os compostos de interesse, entretanto o hidrogel preparado a partir da pectina PPC apresentou a menor eficiência de extração. Este fato pode estar relacionado à distribuição irregular das partículas esféricas na matriz de álcool polivinílico e também à força que este hidrogel apresentou nas análises reológicas.

Palavras-chave: Hidrogel. Reologia. Pectinas. Maracujá. Álcool Polivinílico. Contaminantes Emergentes. Hormônios. Fase extratora.

ABSTRACT

Hydrogels are materials that have modulable physicochemical properties and therefore are applicable in many areas. Among the polymers that can be used in the preparation of hydrogels, polyvinyl alcohol (PVOH) is one of the most cited in the literature, alone or in conjunction with other materials. Polysaccharides are biomolecules that can be incorporated into PVOH in the production of hydrogels. They are biopolymers abundant in nature and exhibiting relevant properties in various areas of research. In this sense, this work aimed at the development of PVOH-based composite hydrogels and pectins. For this, commercial citrus pectin (PC), dialyzed commercial citrus pectin (dPC) and passion fruit rind (PPC) pectin were used, which presented different molar masses and degrees of methyl esterification (GM). Such differences were observed in high pressure size exclusion chromatography (HPSEC) and hydrogen nuclear magnetic resonance ($^1\text{H-NMR}$) analyzes, respectively. Prior to the formation of hydrogels, rheological analyzes of PVOH / pectin dispersions were performed at different mass concentrations. It was found that at very low concentrations of pectin (P5PC1, P5dPC1 and P5PPC1), there was no difference in the viscosity of the dispersions prepared, however, with the increase of pectin concentration in the dispersion, it was observed that dispersions prepared with CP the lowest viscosity values at all studied concentrations compared to the other pectins. This may be related to the fact that PC has low molecular weight pectic compounds and also contaminants such as fructose and sucrose in their composition. The study of gelation of hydrogels in situ on the rheometer and by heating in the greenhouse. At low concentrations of both polymers (P5PC1, P5dPC1 and P5PPC1), there was no difference in the gelation time of the hydrogels, as well as in the strength of the greenhouse gelled hydrogels. When the concentration was increased, (P15PC2, P15dPC2 and P15PPC2) differences were observed in the gelation times of the rheometer prepared hydrogels and the strength of the greenhouse prepared hydrogels, depending on the pectin used. The degree of swelling and syneresis did not vary significantly when comparing the hydrogels, regarding the type of pectin used. Scanning electron microscopy (SEM) analyzes showed that the three pectins form biphasic systems with PVOH, so that the pectins are distributed in the PVOH matrix in the form of spherical particles, which provide greater porosity to the material. The size of these particles was quite similar for the PC and dPC samples. For the PPC sample the particle sizes were quite irregular and with the most heterogeneous distribution in the matrix. The hydrogel prepared with 15% PVOH and 2% pectin was chosen to be tested as an extractor phase for the pollutant compounds of emerging concern estriol, estrone and 17β -estradiol. These compounds are highly polar and their extraction using commercially available extractor phases is quite difficult. It was possible to verify by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS/MS) that the hydrogels prepared with the three pectins were able to extract the compounds of interest, however the hydrogel prepared from the pectin PPC showed the lowest. extraction efficiency. This fact may be related to the irregular distribution of spherical particles in the polyvinyl alcohol matrix and also to the force that this hydrogel presented in the rheological analyzes.

Keywords: Hydrogel. Pectins. Passion Fruit. Rheology. Polyvinyl alcohol. Emerging Contaminants. Hormones. Phase extraction.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. ESTRUTURA DE HOMOGALACTURONANA. ONDE “R” PODE SER H OU CH ₃ DEPENDENDO DO GRAU DE METIL ESTERIFICAÇÃO.	20
FIGURA 2. REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DE ESTRUTURA DE ZONAS DE JUNÇÃO EM GÉIS DE PECTINAS HM INFERIDOS A PARTIR DE ESTUDOS DE DIFRAÇÃO DE RAIOS-X. OS ÁTOMOS DE HIDROGÊNIO DOS GRUPOS METIL HIDROFÓBICOS SÃO REPRESENTADOS POR CÍRCULOS PREENCHIDOS E AS LIGAÇÕES DE HIDROGÊNIO SÃO INDICADAS POR LINHAS PONTILHADAS.....	22
FIGURA 3. ESQUEMA ILUSTRATIVO DE ÍONS CÁLCIO COM O ÁCIDO GALACTURÔNICO (MODELO <i>EGG BOX</i>). OS CÍRCULOS PRETOS REPRESENTAM OS ÁTOMOS DE OXIGÊNIO ENVOLVIDOS NA COORDENAÇÃO DO ÍON CÁLCIO.....	22
FIGURA 4. REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA REAÇÃO DE OBTENÇÃO DO ÁLCOOL POLIVINÍLICO A PARTIR DO POLI VINIL ACETATO. A REAÇÃO OCORRE NA PRESENÇA DE METANOL E MEIO BÁSICO.	24
FIGURA 5. ETAPAS ENVOLVIDAS NA SPE: CONDICIONAMENTO DA FASE SORVENTE, PERCOLAÇÃO DA AMOSTRA, REMOÇÃO DOS INTERFERENTES E ELUIÇÃO DOS ANALITOS.....	27
FIGURA 6. REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO PREPARO DE UM HIDROGEL NA ESTUFA.....	34
FIGURA 7. REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO PROCESSO DE RETICULAÇÃO DE PVOH UTILIZANDO ÁCIDO CÍTRICO COMO AGENTE RETICULANTE.	35
FIGURA 8. SISTEMA <i>MANIFOLD</i> (A) E DISPOSITIVO DE EXTRAÇÃO FECHADO (B).	39
FIGURA 9. PERFIL CROMATOGRÁFICO (HPSEC) PARA AS PECTINAS PC (LINHA PRETA) <i>d</i> PC (LINHA VERMELHA) E PPC (LINHA AZUL). AS LINHAS PREENCHIDAS REFEREM-SE AO DETECTOR DE RI E AS LINHAS PONTILHADAS AO DETECTOR DE LS.....	43

FIGURA 10. ESPECTRO DE ^1H RMN DA AMOSTRA EXTRAÍDA DA CASACA DE MARACUJÁ (PPC) D_2O A 70°C E 256 SCANS.....	44
FIGURA 11. CURVAS DE FLUXO E VISCOSIDADE PARA OS SISTEMAS BINÁRIOS DE PVOH E PECTINAS, P5PC1, P5dPC1, P5PPC1, P10PC2, P10dPC2, P10PPC2, P15PC2, P15dPC2, P15PPC2, P15PC3, P15dPC3, P15PPC3, P20PC4, P20dPC4 E P20PPC4 A 25°C , UTILIZANDO-SE O SENSOR C60/2°TiL NO MODO CR. OS SÍMBOLOS ABERTOS REFEREM-SE À CURVA DE FLUXO E OS SÍMBOLOS PREENCHIDOS REFEREM-SE À CURVA DE VISCOSIDADE.....	47
FIGURA 12. CURVAS DE FLUXO E VISCOSIDADE PARA AS DISPERSÕES COMPARANDO P15PC2 COM P15PC3 E P10PC2 COM P15PC2 A 25°C , UTILIZANDO-SE O SENSOR C60/2°TiL NO MODO CR. OS SÍMBOLOS ABERTOS REFEREM-SE À CURVA DE FLUXO E OS SÍMBOLOS PREENCHIDOS REFEREM-SE À CURVA DE VISCOSIDADE.....	51
FIGURA 13. CURVAS DE FLUXO E VISCOSIDADE PARA AS DISPERSÕES COMPARANDO P15dPC2 COM P15dPC3 E P10dPC2 COM P15dPC2 A 25°C , , UTILIZANDO-SE O SENSOR C60/2°TiL NO MODO CR. OS SÍMBOLOS ABERTOS REFEREM-SE À CURVA DE FLUXO E OS SÍMBOLOS PREENCHIDOS REFEREM-SE À CURVA DE VISCOSIDADE.....	52
FIGURA 14. CURVAS DE FLUXO E VISCOSIDADE PARA AS DISPERSÕES COMPARANDO P15PPC2 COM P15PPC3 E P10PPC2 COM P15PPC2 A 25°C , , UTILIZANDO-SE O SENSOR C60/2°TiL NO MODO CR. OS SÍMBOLOS ABERTOS REFEREM-SE À CURVA DE FLUXO E OS SÍMBOLOS PREENCHIDOS REFEREM-SE À CURVA DE VISCOSIDADE.....	53
FIGURA 15. DEPENDÊNCIA DOS MÓDULOS G' E G'' EM RELAÇÃO AO TEMPO, EM TEMPERATURA FIXA DE 60°C , FREQUÊNCIA FIXA EM 1 Hz E DEFORMAÇÃO FIXA DE 1%. ANÁLISE DO PERFIL DE GELIFICAÇÃO DO HIDROGEL, PREPARADOS A PARTIR DAS DIPERSÕES DE PVOH E PECTINA COMERCIAL E PVOH E PECTINA COMERCIAL DIALISADA, UTILIZANDO ÁCIDO CÍTRICO	

COMO AGENTE RETICULANTE, P5PC1 E P5dPC1 NO REÔMETRO.	55
FIGURA 16. VARREDURAS DE FREQUÊNCIA HIDROGÉIS P5PC1 E P5dPC1 APÓS A GELIFICAÇÃO NO REÔMETRO. EXPERIMENTO REALIZADO A 25°C, COM DEFORMAÇÃO FIXA DE 1%.	56
FIGURA 17. DEPENDÊNCIA DOS MÓDULOS G' E G'' EM RELAÇÃO AO TEMPO, EM TEMPERATURA FIXA DE 60°C, FEQUÊNCIA FIXA EM 1 Hz E DEFORMAÇÃO FIXA DE 1%. ANÁLISE DO PERFIL DE GELIFICAÇÃO DO HIDROGEL, PREPARADOS A PARTIR DAS DIPERSÕES DE PVOH E PECTINA COMERCIAL E PVOH, PECTINA COMERCIAL DIALISADA E PECTINA DE MARACUJÁ UTILIZANDO ÁCIDO CÍTRICO COMO AGENTE RETICULANTE, P15PC2, P15dPC2 e P15PPC2 NO REÔMETRO.	57
FIGURA 18. VARREDURAS DE FREQUÊNCIA HIDROGÉIS P15PC2, P15dPC2 e P15PPC2 APÓS A GELIFICAÇÃO NO REÔMETRO. EXPERIMENTO REALIZADO A 25°C, COM DEFORMAÇÃO FIXA DE 1%.	58
FIGURA 19. DEPENDÊNCIA DOS MÓDULOS G' E G'' EM RELAÇÃO AO TEMPO, EM TEMPERATURA FIXA DE 60°C, FEQUÊNCIA FIXA EM 1 Hz E DEFORMAÇÃO FIXA DE 1%. ANÁLISE DO PERFIL DE GELIFICAÇÃO DO HIDROGEL, PREPARADOS A PARTIR DAS DIPERSÕES DE PVOH E PECTINA COMERCIAL E PVOH E PECTINA COMERCIAL DIALISADA, UTILIZANDO ÁCIDO CÍTRICO COMO AGENTE RETICULANTE, P15PC3 E P15dPC3 NO REÔMETRO.	59
FIGURA 20. VARREDURAS DE FREQUÊNCIA HIDROGÉIS P15PC3 E P15dPC3 APÓS A GELIFICAÇÃO NO REÔMETRO. EXPERIMENTO REALIZADO A 25°C, COM DEFORMAÇÃO FIXA DE 1%.	60
FIGURA 21. VARREDURAS DE FREQUÊNCIA DOS HIDROGÉIS P5PC1, P5dPC1, P10PC2, P10dPC2, P15PC2, P15dPC2, P15PC3, P15dPC3, P20PC4 E P20dPC4, PREPARADOS NA ESTUFA. ANÁLISE REALIZADA NA TEMPERATURA DE 25°C E 1% DE DEFORMAÇÃO.	62
FIGURA 22. VARREDURAS DE FREQUÊNCIA DOS HIDROGÉIS P15PC2, P15dPC2 E P15PPC2 PREPARADOS NA ESTUFA A 60°C. ANÁLISE	

REALIZADA NA TEMPERATURA DE 25°C E 1% DE DEFORMAÇÃO.

.....64

FIGURA 23. GRAU DE INTUMESCIMENTO DOS HIDROGÉIS PREPARADOS NA ESTUFA A 60°C A PARTIR DAS MISTURAS DE PVOH E PECTINA CÍTRICA COMERCIAL E PVOH E PECTINA CÍTRICA COMERCIAL DIALISADA, UTILIZANDO ÁCIDO CÍTRICO COMO AGENTE RETICULANTE P5PC1, P5dPC1, P10PC2, P10dPC2, P15PC2, P15dPC2, P15PC3, P15dPC3, P20PC4 E P20dPC4. ESTUDO REALIZADO NA TEMPERATURA DE 25°C.....65

FIGURA 24. HIDROGEL PREPARADOS NA ESTUFA A 60°C A PARTIR DAS MISTURAS DE PVOH E PECTINA CÍTRICA COMERCIAL UTILIZANDO ÁCIDO CÍTRICO COMO AGENTE RETICULANTE, P15PC2, SECO (A) E INTUMESCIDO (B).....66

FIGURA 25. GRAU DE INTUMESCIMENTO DOS HIDROGÉIS PREPARADOS A PARTIR DAS MISTURAS DE PVOH E PECTINA CÍTRICA COMERCIAL E PVOH E PECTINA CÍTRICA COMERCIAL DIALISADA, UTILIZANDO ÁCIDO CÍTRICO COMO AGENTE RETICULANTE P15PC2, P15dPC2 E P15PPC2 PREPARADOS NA ESTUFA A 60°C. ESTUDO REALIZADO NA TEMPERATURA DE 25°C.....67

FIGURA 26. PERFIL DE SINERESE DOS HIDROGÉIS PREPARADOS NA ESTUFA A 60°C A PARTIR DAS MISTURAS DE PVOH E PECTINA CÍTRICA COMERCIAL E PVOH E PECTINA CÍTRICA COMERCIAL DIALISADA, UTILIZANDO ÁCIDO CÍTRICO COMO AGENTE RETICULANTE, P5PC1, P5dPC1, P10PC2, P10dPC2, P15PC2, P15dPC2, P15PC3, P15dPC3, P20PC4 E P20dPC4. ESTUDO REALIZADO NA TEMPERATURA DE 25°C.....68

FIGURA 27. PERFIL DE PERDA DE ÁGUA DOS HIDROGÉIS PREPARADOS A PARTIR DAS MISTURAS DE PVOH E PECTINA CÍTRICA COMERCIAL, PVOH E PECTINA CÍTRICA COMERCIAL DIALISADA E PVOH E PECTINA DE MARACUJÁ, UTILIZANDO ÁCIDO CÍTRICO COMO AGENTE RETICULANTE P15PC2, P15dPC2 E P15PPC2 PREPARADOS NA ESTUFA A 60°C. ESTUDO REALIZADO NA TEMPERATURA DE 25°C.....68

FIGURA 28. IMAGENS DOS HIDROGÉIS P15PC2 (A), P15dPC2 (B) E P15PPC2 (C), PREPARADOS NA ESTUFA, AUMENTO 2000X.....	69
FIGURA 29. IMAGENS DO HIDROGEL PREPARADO A PARTIR DE PVOH NA ESTUFA.....	70
FIGURA 30. DIÂMETRO MÉDIO DAS PARTÍCULAS ESFÉRICAS DE PC, dPC E PPC DISTRIBUIDAS NA MATRIZ DE PVOH NOS HIDROGÉIS P15PC2, P15dPC2 e P15PPC2.	70
FIGURA 31. ÁREAS MÉDIAS DOS PICOS CROMATOGRÁFICOS (N =3) DOS HORMÔNIOS ESTRONA, ESTRIOL E 17 β -ESTRADIOL DE	71

LISTA DE TABELA

TABELA 1. ESTRUTURA QUÍMICA, MASSA MOLAR E LOG DE KOW DOS HORMÔNIOS ESTRIOL, ESTRONA E 17 β -ESTRADIOL.	29
TABELA 2. CONCENTRAÇÕES INICIAIS E FINAIS (MISTURAS BINÁRIAS) DAS DISPERSÕES DE PVOH E PECTINAS (PC, <i>d</i> PC E PPC) UTILIZADAS NO PREPARO DOS HIDROGÉIS COMPÓSITOS.	34
TABELA 3. CONDIÇÕES DE ANÁLISE DO SISTEMA GC-MS/MS.....	40
TABELA 4. VALORES DE MASSA MOLAR PONDERAL MÉDIA ($\bar{M}_w$) E DISPERSÃO ($\bar{M}_w/\bar{M}_n$) DAS AMOSTRAS PC, <i>d</i> PC E PPC OBTIDOS POR HPSEC.	43
TABELA 5. COMPOSIÇÃO MONOSSACARÍDICA PARA AS AMOSTRAS PC, <i>d</i> PC E PPC.....	45
TABELA 6. PARÂMETROS REOLÓGICOS OBTIDOS APÓS O AJUSTE MATEMÁTICO DAS CURVAS DE FLUXO, PELO MODELO DE OSTWALD DE WAELE, PARA OS SISTEMAS BINÁRIOS DE PVOH E PECTINASP5PC1, P5 <i>d</i> PC1, P5PPC1, P10PC2, P10 <i>d</i> PC2, P10PPC2, P15PC2, P15 <i>d</i> PC2, P15PPC2, P15PC3, P15 <i>d</i> PC3, P15PPC3, P20PC4, P20 <i>d</i> PC4 E P20PPC4.	48
TABELA 7. VALORES DE REGRESSÃO DAS CURVAS DE VISCOSIDADE, PELO MODELO DE OSTWALD DE WAELE, PARA AS AMOSTRAS P15PC2, P15PC3 E P10PC2.	52
TABELA 8. VALORES DE REGRESSÃO DAS CURVAS DE VISCOSIDADE, PELO MODELO DE OSTWALD DE WAELE, PARA AS AMOSTRAS P15 <i>d</i> PC2, P15 <i>d</i> PC3 E P10 <i>d</i> PC2.....	53
TABELA 9. VALORES DE REGRESSÃO DAS CURVAS DE VISCOSIDADE, PELO MODELO DE OSTWALD DE WAELE, PARA AS AMOSTRAS P15PPC2, P15PPC3 E P10PPC2.....	54
TABELA 10. VALORES DE G' E G'' PARA OS HIDROGÉIS P5PC1 E P5 <i>d</i> PC1 NA FREQUÊNCIA FIXA DE 1 HZ.....	56
TABELA 11. VALORES DE G' E G'' PARA OS HIDROGÉIS P15PC2, P15 <i>d</i> PC2 e P15PPC2 NA FREQUÊNCIA FIXA DE 1 HZ.	59

TABELA 12. VALORES DE G' E G'' PARA OS HIDROGÉIS P15PC3 E P15dPC3 NA FREQUÊNCIA FIXA DE 1 Hz.	60
TABELA 13. VALORES DE G' E G'' PARA OS HIDROGÉIS P5PC1, P5dPC1, P10PC2, P10dPC2, P15PC2, P15dPC2, P15PC3, P15dPC3, P20PC4 E P20dPC4, PREPARADOS NA ESTUFA, NA FREQUÊNCIA FIXA DE 1 Hz. ANÁLISE REALIZADA NA TEMPERATURA DE 25°C E 1% DE DEFORMAÇÃO.	63
TABELA 14. VALORES DE G' E G'' PARA OS HIDROGÉIS P15PC2, P15dPC2 E P15PPC2, PREPARADOS NA ESTUFA, NA FREQUÊNCIA FIXA DE 1 Hz. ANÁLISE REALIZADA NA TEMPERATURA DE 25°C E 1% DE DEFORMAÇÃO.	64

LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

Ara	- Arabinose
CD	- Deformação controlada, do inglês <i>Controlled Deformation</i>
CroMe	- Grupo de Cromatografia e Técnicas de Microextração
dPC	- Pectina cítrica comercial dialisada
ETE	- Estação de tratamento de esgoto
f	- Frequência
G'	- Módulo de cisalhamento elástico
G''	- Módulo de cisalhamento viscoso
Gal	- Galactose
GalA	- Ácido galacturônico
GC-MS	- Cromatografia em Fase Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas, do inglês <i>Gas Chromatography Mass Spectrometry</i>
Glc	- Glucose
GM	- Grau de metil esterificação
GPMin	- Grupo de Pesquisa em Macromoléculas e Interfaces
HM	- Alto grau de metil esterificação, do inglês <i>high methoxyl</i>
HPSEC	- Cromatografia de exclusão por tamanho de alta eficiência, do inglês <i>High Performance Size Exclusion Chromatography</i>
^1H RMN	- Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
K	- Índice de consistência
LM	- Baixo grau de metil esterificação, do inglês <i>low methoxyl</i>
MEV	- Microscopia eletrônica de varredura
M_n	- Massa molar média em número
MSTFA	- N-metil-N-(trimetilsilil) trifluoroacetamida, do inglês <i>N-methyl-N-(trimethylsilyl) trifluoroacetamide</i>
M_w	- Massa molar média ponderal
MWCO	- <i>Molecular weight cut off</i>
n	- Índice de comportamento de fluxo
η	- Viscosidade intrínseca
PC	- Pectina cítrica comercial
PPC	- Pectina extraída da casca de maracujá
PVOH	- Álcool polivinílico

RG I	- Ramnogalacturonana do tipo I
RG II	- Ramnogalacturonana do tipo II
RMN	- Ressonância magnética nuclear
Rha	- Ramnose
SPE	- Extração em fase sólida, do inglês, <i>solid phase extraction</i>
TMSI	- Trimetilsililimidazol, do inglês, <i>Trimethylsilylimidazole</i>
$\dot{\gamma}$	- Taxa de cisalhamento
γ	- Deformação
τ	- Tensão de cisalhamento

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
1.1 OBJETIVOS	18
1.1.1 Objetivo geral	18
1.1.2 Objetivos específicos.....	18
2 REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1 HIDROGEL.....	19
2.2 PECTINAS	20
2.3 ÁLCOOL POLIVINÍLICO	23
2.4 CARACTERIZAÇÃO REOLÓGICA DE GÉIS E HIDROGÉIS	24
2.5 FASES EXTRATORAS BASEADAS EM HIDROGÉIS.....	26
3 MATERIAL E MÉTODOS	30
3.1 METODOLOGIA.....	30
3.1.1 Materiais.....	30
3.1.2 Caracterização e purificação das pectinas	31
3.1.2.1 Processo de diálise da pectina cítrica comercial	31
3.1.2.2 Cromatografia de exclusão por tamanho de alta pressão	31
3.1.2.3 Cálculo de grau de metil esterificação - ¹ H-RMN.....	31
3.1.2.4 Composição monossacarídica.....	32
3.1.3 Preparo das dispersões dos polímeros	33
3.1.4 Obtenção dos hidrogéis preparados na estufa.....	33
3.1.5 Ensaio reológico	35
3.1.5.1 Estudo do comportamento de fluxo das dispersões de polímero	35
3.1.5.2 Estudo do comportamento viscoelástico dos hidrogéis preparados na estufa	
36	
3.1.5.3 Estudo da gelificação dos hidrogéis <i>in situ</i> no reômetro.....	36
3.1.6 Caracterização morfológica por microscopia eletrônica de varredura (MEV)...	37
3.1.7 Grau de intumescimento	37
3.1.8 Sinerese	38
3.1.9 Utilização do material como fase extratora.....	38
3.1.9.1 Preparo das soluções de padrões	38
3.1.9.2 Extração dos hormônios	38

3.1.9.3 Reação de derivatização dos hormônios das amostras dessorvidas dos hidrogéis.....	40
3.1.9.4 Sistema analítico – GC-MS/MS	40
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
4.1 CARACTERIZAÇÃO DAS PECTINAS	42
4.1.1 Determinação da massa molar e perfil de distribuição de massas molares das pectinas.....	42
4.1.2 Determinação do grau de metil esterificação ¹ H-RMN	44
4.1.3 Composição monossacarídica para a PPC	45
4.2 ESTUDOS REOLÓGICOS	46
4.2.1 Estudo das curvas de fluxo das misturas poliméricas	46
4.2.2 Estudo da gelificação dos hidrogéis no reômetro.....	54
4.2.3 Análise do comportamento viscoelástico dos hidrogéis preparados por aquecimento em estufa	61
4.3 GRAU DE INTUMESCIMENTO E SINERESE DOS HIDROGÉIS PREPARADOS NA ESTUFA	65
4.3.1 Estudo do grau de intumescimento dos hidrogéis.....	65
4.3.2 Sinereze dos hidrogéis preparados na estufa	67
4.4 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DOS HIDROGÉIS POR MEV	69
4.5 UTILIZAÇÃO DOS HIDROGÉIS COMO FASE EXTRATORA	71
5 CONCLUSÕES	73
5.1 RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	75
REFERÊNCIAS.....	76
APENDICE 1 – DETALHAMENTO DO CÁLCULO DO GRAU DE METIL ESTERIFICAÇÃO PARA A AMOSTRA PPC	84
APÊNDICE 2 – DETALHAMENTO DOS CÁLCULOS DE DISTRIBUIÇÃO DE TAMANHO	85
APÊNDICE 3 – CROMATOGRAMAS DA DETERMINAÇÃO DOS HORMÔNIOS NAS SUAS FORMAS DERIVATIZADA COM MSTFA:1%TMSI	88

1 INTRODUÇÃO

Hidrogéis baseados em materiais poliméricos têm sido objeto de estudo de diversos grupos de pesquisa ao longo dos últimos cinquenta anos, uma vez que exibem propriedades físicas químicas moduláveis que permitem sua aplicação em diversas áreas¹⁻³. Dentre as propriedades mais importantes em um hidrogel podem ser citadas a capacidade de reter grandes quantidades de água e a permeabilidade do material⁴.

Diversos polímeros podem ser utilizados no desenvolvimento de hidrogéis, dentre eles, o álcool polivinílico (PVOH) é um dos mais citados na literatura por exibir propriedades como capacidade de formar filmes, biocompatibilidade, biodegradabilidade e baixa toxicidade⁵. Há a possibilidade de que o PVOH seja utilizado isoladamente^{6,7} ou em conjunto com outros materiais, sendo possível que as propriedades do hidrogel sejam potencializadas. Uma classe de materiais que pode ser incorporada na matriz polimérica de PVOH são os polissacarídeos⁸. Os polissacarídeos apresentam propriedades espessantes, estabilizantes, gelificantes, emulsificantes, e ainda podem apresentar atividade biológica como antitumoral, antioxidante, antiinflamatória⁹⁻¹¹, entre outras. Essas características possibilitam que sejam utilizados em uma série diversificada de aplicações¹².

Neste trabalho o polissacarídeo empregado foi a pectina (cítrica comercial e de maracujá) que é amplamente disponível na natureza e é proveniente de polpas e bagaços de frutos. As pectinas são extraídas de frutos ou a partir de seus resíduos da indústria alimentícia. Estes resíduos são empregados majoritariamente na produção ração animal, fertilizantes ou para a geração de bioenergia. Apesar de estarem disponíveis em grandes quantidades, a extração de componentes que possuam fins mais nobres, como as pectinas, ainda é pouco explorada¹³.

As pectinas podem apresentar diferentes propriedades dependendo principalmente da fonte de extração e metodologia de purificação. Tais diferenças se fazem presentes principalmente na massa molar e no grau de metil esterificação, o qual pode classificá-las como pectinas *high methoxyl* (alto teor de metil esterificação) ou *low methoxyl* (baixo teor de metil esterificação). Essas propriedades influenciam diretamente no processo de gelificação das pectinas, sendo que cada pectina necessita de condições específicas para que o processo de gelificação ocorra¹⁴.

O presente trabalho baseou-se em um projeto anterior desenvolvido pelo Grupo de Cromatografia e Técnicas de Microextração (CroMe) em colaboração com o Grupo de Pesquisa em Macromoléculas e Interfaces (GPMin), ambos da Universidade Federal do Paraná (UFPR) realizado por Sampaio e colaboradores¹⁵, que visou o desenvolvimento de um hidrogel a partir de PVOH e pectina cítrica comercial dialisada (*dPC*), para ser utilizado como fase extratora para os hormônios estriol, estrona, 17 β -estradiol, 17 α -etinilestradiol, progesterona e testosterona. Estes hormônios estão classificados como compostos poluentes de preocupação emergente.

Existem vários relatos na literatura que demonstram a presença desses compostos no ambiente, eles se comportam como interferentes endócrinos pois podem causar distúrbios no sistema reprodutor de animais e seres humanos e em caso mais graves podem levar ao desenvolvimento de câncer. Outro problema relacionado a eles é o fato de que são difíceis de serem extraídos de matrizes aquosas complexas, utilizando-se das fases extratoras comercialmente disponíveis por apresentarem caráter altamente polar¹⁶. Nesse sentido, o desenvolvimento de fases extratoras que sejam capazes de extrair esses compostos é uma área de estudos que tem se mostrado promissora.

Dentre os materiais que tem se destacado nessa área de estudos, podem ser citados os hidrogéis de origem natural ou sintética, por apresentar estrutura formada por redes poliméricas hidrofílicas química ou fisicamente reticuladas, capazes de absorver e reter grandes quantidades de água. Possuem ainda a presença de grupos funcionais específicos como $-OH$, $-COOH$, $-SO_3H$ e $-NH_2$ em sua estrutura química que permite a sua interação com os compostos de maior polaridade, permitindo assim que haja a extração destes compostos de matrizes aquosas¹⁷.

Devido a este fato, o presente trabalho buscou ampliar o estudo dos hidrogéis desenvolvidos por Sampaio e colaboradores¹⁵, porém utilizando pectinas com diferentes propriedades. Além da *dPC*, foram utilizadas a pectina cítrica comercial não dialisada (*PC*) e pectina extraída da casca de maracujá (*PPC*). Ao comparar-se a *dPC*, a *PC* e a *PPC*, estas possuem diferentes perfis de distribuição de massas molares e grau de metil esterificação. O objetivo principal do trabalho foi investigar através de análises físico-químicas, reológicas e morfológicas se a utilização destas pectinas (*PC*, *dPC* e *PPC*), exerceria influência nas características físico químicas e morfológicas das misturas binárias entre o PVOH e as pectinas, e também do hidrogel formado após reticulação dos polímeros. A influência das diferentes proporções de

polímero também foi avaliada. E, por fim, foram realizados testes para avaliar o potencial dos hidrogéis para serem utilizados como fase extratora de compostos poluentes de preocupação emergente estriol, estrona e 17 β -estradiol.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

O objetivo principal do trabalho foi investigar por meio de análises físico-químicas, reológicas e morfológicas se a utilização destas pectinas (PC, *d*PC e PPC), ocasionaria alterações nas características físico químicas e morfológicas das misturas entre o PVOH e as pectinas antes da reticulação e do hidrogel formado após reticulação dos polímeros. Foi avaliada também a influência das diferentes proporções de polímero. E, por fim, foram realizados testes para avaliar o potencial dos hidrogéis a fim de serem utilizados como fase extratora de compostos poluentes de preocupação emergente estriol, estrona e 17 β -estradiol.

1.1.2 Objetivos específicos

- a) Caracterizar quimicamente as pectinas, a fim de determinar sua massa molar e grau de metil esterificação;
- b) Realizar estudos reológicos das emulsões precursoras (antes da reticulação) e dos géis após a reticulação em estufa e no reômetro.
- c) Preparar hidrogéis compósitos a partir de PVOH e PC ou *d*PC ou PPC, em diferentes proporções mássicas totais e diferentes razões mássicas PVOH:pectina;
- d) Realizar estudos físico-químicos do hidrogel compósito determinando o grau de inchamento e sinerese
- e) Avaliar a morfologia dos hidrogéis através da microscopia eletrônica de varredura (MEV);
- f) Testar os hidrogéis como fase extratora para os contaminantes emergentes estriol, estrona e 17 β -estradiol.

REVISÃO DE LITERATURA

2.1 HIDROGEL

Hidrogel é um termo utilizado para descrever estruturas macromoleculares tridimensionais, formadas a partir de polímeros sintéticos ou naturais e que possuem a habilidade intrínseca de absorver grandes quantidades de água sem ser dissolvido¹⁸. Essa habilidade advém da existência de grupos funcionais hidrofilicos e também da presença de ligações cruzadas na cadeia polimérica^{17,19}.

Hidrogéis podem ser classificados quanto ao tipo de ligação que se faz presente na estrutura, essas ligações podem ser de natureza física ou química. As interações físicas consistem principalmente em interações eletrostáticas, enquanto as ligações químicas se dão pela substituição de ligações de hidrogênio por ligações covalentes irreversíveis^{20,21}. Para o caso das ligações químicas, pode ser utilizado um agente reticulante, que é um artefato que serve para reforçar as ligações cruzadas na rede polimérica. Geralmente é uma molécula de baixa massa molar, com dois ou mais grupos funcionais, que permite a formação de pontes entre as cadeias poliméricas.

As especificidades mais importantes em um hidrogel são a capacidade de retenção de água e a permeabilidade do material. No momento em que o hidrogel é colocado em contato com a água, os grupos hidrofílicos polares passam para o estado hidratado, absorvendo água. Esse processo é regulado por forças opostas causadas pelas ligações cruzadas físicas ou covalentes, ocasionando um retraimento da rede tridimensional. Logo, o hidrogel absorve água até que seja atingido o chamado equilíbrio de intumescimento^{4,17}.

Diversos polímeros podem ser utilizados para o desenvolvimento de hidrogéis, tanto os biopolímeros, quanto os sintéticos. A escolha se embasa nas funcionalidades desejadas para o material. Os biopolímeros e os polímeros sintéticos podem, inclusive, ser combinados para a formação de hidrogéis compósitos. Nesta classe de materiais é possível obter hidrogéis com melhores propriedades, comparado a hidrogéis preparados a partir de um único polímero, tendo em vista que hidrogéis compósitos apresentam as funcionalidades dos dois ou mais polímeros de origem^{22,23}.

Essas características possibilitam que hidrogéis apresentem-se como materiais bastante versáteis, possuindo potencialidades de aplicação em diversas áreas, dentre as quais pode-se citar medicina regenerativa, como suporte para o

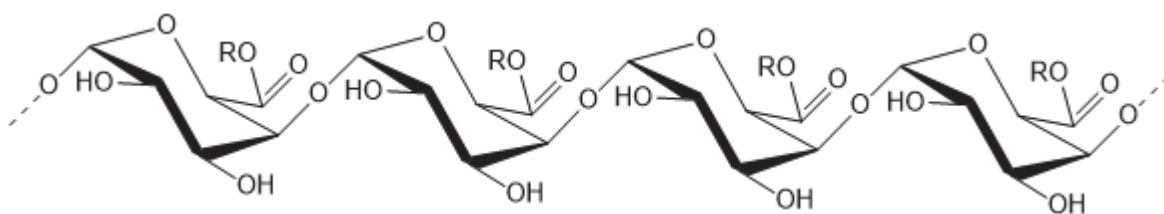
crescimento de células^{1,24-26}, na farmácia, para sistemas de liberação controlada de medicamentos^{2,27,28} e na agricultura, em sistemas de armazenamento de água e liberação controlada de fertilizantes^{3,29}.

2.2 PECTINAS

Os polissacarídeos apresentam características consideráveis como espessante, estabilizante, gelificante e agentes emulsificantes. As cadeias de polissacarídeos podem ser lineares ou ramificadas, o que altera diretamente as suas propriedades físicas tais como solubilidade em água, viscosidade e o comportamento de gelificação^{30,31}. Podem ainda conter um grande número de grupos hidroxilas, átomos de oxigênio, e outros grupos (amina, sulfato, carboxilato) que são passíveis de interagir com outras moléculas, principalmente através ligação de hidrogênio³². Desse modo, estudos que relacionam a estrutura molecular e conformação, com propriedades, funcionalidades e aplicações vêm se destacando nas pesquisas recentes.

Uma classe importante de polissacarídeos é a das pectinas ou substâncias pécticas, que são um grupo de polissacarídeos complexos que compõem a parede celular dos vegetais³³. As pectinas podem ser classificadas como homogalacturonanas ou ramnogalacturonanas do tipo I (RG I) ou tipo II (RG II)³¹. Tem como característica a presença de altos teores de ácido galacturônico (FIGURA 1).

FIGURA 1. ESTRUTURA DE HOMOGALACTURONANA. ONDE "R" PODE SER H OU CH₃ DEPENDENDO DO GRAU DE METIL ESTERIFICAÇÃO.



FONTE: ADAPTADO DE CARPITA ET AL. (1993)³⁴.

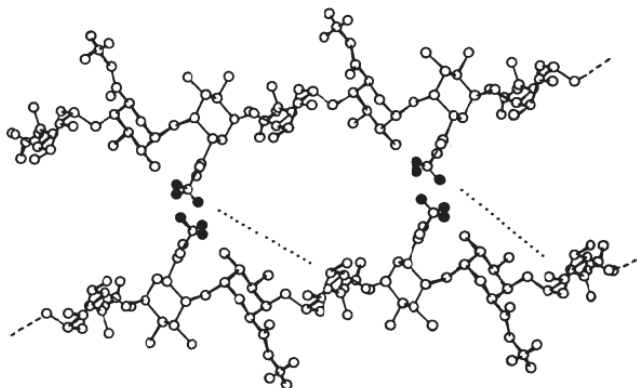
Homogalacturonanas são homopolímeros formados a partir de unidades de ácido galacturônico com ligações glicosídicas do tipo $\alpha(1\rightarrow4)$ ³⁴. As ramnogalacturonanas são polissacarídeos que contém cadeias principais de ácido

galacturônico intercaladas com unidades de ramnose³⁵. As ramnogalacturonanas do tipo I (RG I) possuem a cadeia principal composta por porções repetitivas do dissacarídeo $[\rightarrow 4\text{-}\alpha\text{-D-GalpA-(1}\rightarrow 2)\text{-}\alpha\text{-L-Rhap-(1}\rightarrow)]^{34,36,37}$. Nestas estruturas, podem haver diferentes cadeias laterais nas RG I formadas principalmente por arabinanas, galactanas e/ou arabinogalacturonanas^{34,36}. As ramnogalacturonanas do tipo II (RG II) compõem a classe mais complexa de pectinas, pois podem possuir cadeias laterais formadas por monossacarídeos raros como apiose, 2-O-metil-fucose, 2-O-metil-xilose e ácido acérico^{34,35}.

As pectinas são classificadas também quanto ao seu grau de metil esterificação (GM) que corresponde ao percentual de grupos carboxílicos esterificados em relação ao valor total de grupos carboxílicos presentes no polissacarídeo. O GM depende diretamente da fonte vegetal, metodologia de extração e purificação das pectinas^{38,39}. Existem as pectinas com alto GM, chamadas de HM (*high methoxyl*) cujos valores de GM estão entre 50 e 80% e as pectinas com baixo valor de GM, as chamadas LM (*low methoxyl*), as quais possuem valores entre 25 e 50% para o GM¹⁴.

A propriedade que se destaca nas pectinas é a sua capacidade de formar géis^{40,41}, a qual está diretamente relacionada ao GM, visto que o mecanismo de gelificação para as pectinas HM é diferente do que para as pectinas LM. Géis de pectinas HM são formados na presença de altas concentrações de sacarose e pH ácido (entre 2,5 e 3). A sacarose favorece as interações cadeia-cadeia, que são as responsáveis pela formação do gel. O pH baixo é responsável por reduzir o efeito da repulsão eletrostática através da protonação de grupos carboxílicos não esterificados⁴²⁻⁴⁴. As interações predominantes nestes géis são ligações de hidrogênio que proporcionam estabilidade termodinâmica ao material^{45,46}. Uma representação esquemática deste processo pode ser observada na FIGURA 2.

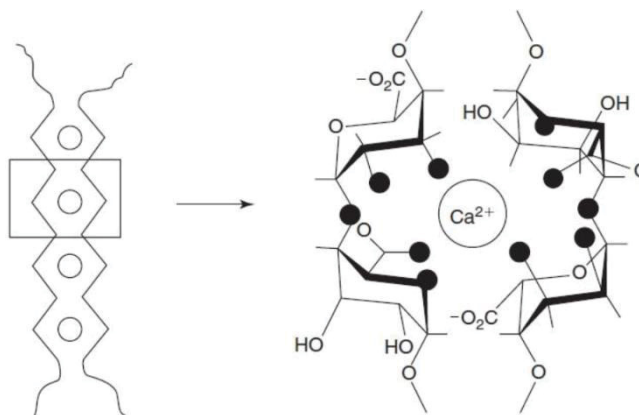
FIGURA 2. REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DE ESTRUTURA DE ZONAS DE JUNÇÃO EM GÉIS DE PECTINAS HM INFERIDOS A PARTIR DE ESTUDOS DE DIFRAÇÃO DE RAIOS-X. OS ÁTOMOS DE HIDROGÊNIO DOS GRUPOS METIL HIDROFÓBICOS SÃO REPRESENTADOS POR CÍRCULOS PREENCHIDOS E AS LIGAÇÕES DE HIDROGÊNIO SÃO INDICADAS POR LINHAS PONTILHADAS



FONTE: ADAPTADO DE WALKINSHAW (1981)⁴⁷.

Nos géis de pectinas LM as interações predominantes são ligações iônicas cruzadas entre íons carboxilatos provenientes de cadeias poliméricas distintas, e íons di ou trivalentes, especialmente os íons Ca^{2+} , tal modelo de gelificação recebe a denominação de *egg box*^{48,49,50}. Esses géis possuem a característica de serem responsivos ao pH, dado que a sua formação depende da ionização dos grupos carboxilato. Por esta razão, a probabilidade de formação de estruturas do tipo *egg box* aumenta com a diminuição do grau de metoxilação⁵¹. A representação esquemática deste processo de gelificação pode ser observado na FIGURA 3.

FIGURA 3. ESQUEMA ILUSTRATIVO DE ÍONS CÁLCIO COM O ÁCIDO GALACTURÔNICO (MODELO *EGG BOX*). OS CÍRCULOS PRETOS REPRESENTAM OS ÁTOMOS DE OXIGÊNIO ENVOLVIDOS NA COORDENAÇÃO DO ÍON CÁLCIO.



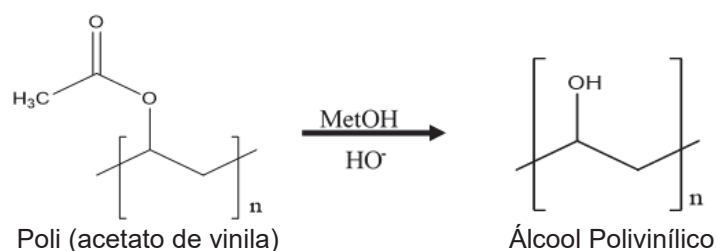
FONTE: BRACCINI E PEREZ (2001)⁴⁹.

As pectinas comerciais são obtidas principalmente de resíduos da indústria alimentícia, a maior parte vem do bagaço de maçã e de frutas cítricas. Esses resíduos estão disponíveis em grandes quantidades, tendo em vista que o Brasil é um grande produtor de suco de laranja, sendo responsável por 50% da produção mundial, com aproximadamente 1,397,000 toneladas por ano, sendo que o segundo lugar deste ranking é ocupado pelos Estados Unidos, com 327,000 toneladas por ano⁵². O Brasil é ainda, o maior produtor mundial de maracujá, com 694,539 toneladas por ano, e 95% desta quantidade é destinada à indústria de sucos concentrados⁵³. A grande maioria destes resíduos não é aproveitada na sua totalidade, sendo utilizados no preparo ração animal, fertilizantes ou para a geração de bioenergia. Porém a extração de compostos de maior valor agregado destes resíduos, como a pectina, vem se destacando em várias linhas de pesquisa¹³. Explorar novas potencialidades de aplicação para a pectina e também outros subprodutos obtidos destes resíduos pode ser uma maneira de diminuir a quantidade de resíduo no ambiente e principalmente agregar valor econômico a ele.

2.3 ÁLCOOL POLIVINÍLICO

O PVOH é um polímero sintético derivado da hidrólise do poli (acetato de vinila) (FIGURA 4) e sua unidade de repetição consiste em $(-\text{CH}_2\text{CHOH})$. O álcool polivinílico pode ser dividido em dois grupos: completamente hidrolisado, com o grau de hidrólise de aproximadamente 99% e parcialmente hidrolisado, com o grau de hidrólise de aproximadamente 85%⁵⁴. A massa molar do PVOH pode apresentar variações dependendo do grau de hidrólise, sendo que seu valor médio é em torno de $160\,000\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ⁵⁵. O grau de hidrólise e a massa molar podem gerar variações nas propriedades físico-químicas do PVOH, principalmente na sua solubilidade em água⁵⁶. Quando é obtido na forma totalmente hidrolisada, é totalmente solúvel em água, porém, a solubilidade diminui com a diminuição do grau de hidrólise⁵⁷. Outras características relevantes que podem ser citadas para o PVOH incluem capacidade de formar filmes, biocompatibilidade, biodegradabilidade e baixa toxicidade⁵.

FIGURA 4. REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA REAÇÃO DE OBTENÇÃO DO ÁLCOOL POLIVINÍLICO A PARTIR DO POLI VINIL ACETATO. A REAÇÃO OCORRE NA PRESENÇA DE METANOL E MEIO BÁSICO.



FONTE: ADAPTADO DE TUBBS (1965)⁵⁸.

As características que foram citadas até agora, fazem do álcool polivinílico o candidato ideal para o desenvolvimento de hidrogéis, que são passíveis de aplicação principalmente nas áreas médica e farmacêutica, como *template* para o crescimento de células, sistemas de liberação controlada de fármacos, curativos para feridas, lentes de contato, dentre outras^{6,59-61}.

Estudos mais recentes também demonstraram que hidrogéis baseados em PVOH tem potencial de aplicação para extrair determinados compostos de amostras aquosas, dentre eles pode-se citar o trabalho realizado por Wang e colaboradores⁶², em que foi desenvolvido um hidrogel baseado em PVOH, alginato de sódio, quitosana e montmorilonita para ser utilizado na extração de azul de metileno de amostras de água.

2.4 CARACTERIZAÇÃO REOLÓGICA DE GÉIS E HIDROGÉIS

Uma técnica que se mostra como bastante apropriada para a caracterização de géis é a reologia, por meio dela é possível obter informações sobre o comportamento viscoelástico e das propriedades mecânicas dos materiais. Os experimentos são realizados em uma pequena faixa de deformação⁶³, de modo que a medida se encontre na região de viscoelasticidade linear do material, ou seja, a deformação causada no material será reversível. Os testes mais comuns nesse caso é o de cisalhamento oscilatório de pequena amplitude, testes de fluência e de recuperação de fluência⁶⁴.

Em reômetros que operam no modo de deformação controlada, a deformação é aplicada à amostra como uma oscilação senoidal $\gamma(t) = \gamma_0(\sin \omega t)$ e a tensão de cisalhamento medida é também uma onda senoidal deslocada em fase da deformação

$\tau(t) = \tau_0(\sin \omega t + \delta)$ em que ω é a frequência angular aplicada e δ é a diferença de fase entre as duas ondas. Para reômetros que operam no modo de tensão controlada, a tensão de cisalhamento é aplicada como $\tau(t) = \tau_0(\sin \omega t)$ e a deformação resultante é medida como $\gamma(t) = \gamma_0(\sin \omega t + \delta)$. Quando o material apresenta comportamento puramente elástico, as ondas de deformação e de tensão estão em fase ($\delta = 0^\circ$), enquanto uma resposta puramente viscosa tem as duas ondas defasadas em 90° ($\delta = 90^\circ$). Materiais viscoelásticos dão origem a ângulos de fase entre 0° e 90° ^{65,66}.

Nas medidas de cisalhamento oscilatório de pequena amplitude, os parâmetros monitorados são o módulo de armazenamento ou elástico, G' , e módulo de perda ou viscoso, G'' , em função do tempo, frequência ou tensão. De modo mais claro, G' mede a energia de deformação armazenada durante o processo de cisalhamento do material, ou seja, a rigidez do material, e G'' é a medida da energia dissipada durante o cisalhamento, isto é, a resposta do comportamento de fluxo do material. Se $G'' \gg G'$ a amostra apresenta comportamento mais semelhante ao de um líquido viscoso e se $G' \gg G''$ o material se comporta mais como um sólido elástico^{64,65}.

Para as amostras de géis, ao monitorar a evolução de G' e G'' com o tempo, é possível observar o momento em que a gelificação do material ocorre. Ao monitorar-se os módulos G' e G'' em função da tensão de cisalhamento é possível determinar a região da viscoelasticidade linear, ou seja, a região em que os módulos são independentes da tensão. Ao medir-se os módulos G' e G'' em função da frequência é possível obter informações quanto ao comportamento viscoelástico do material em diferentes frequências, pois o mesmo material pode apresentar comportamento de sólido ($G' > G''$) em altas frequências, e se comportar muito mais como um líquido ($G'' > G'$) em baixas frequências.

A cinética de gelificação e rigidez final dos géis e hidrogéis são propriedades fundamentais que impactam diretamente os usos finais dos materiais, por essa razão os estudos reológicos podem trazer contribuições bastante relevantes para o conhecimento do comportamento dos materiais de interesse⁶⁷.

Dentro deste contexto, existem vários relatos na literatura que mostram a utilização desta técnica para avaliação de propriedades físico-químicas de sistemas baseados em géis. Dentre os quais pode-se citar o de Sivaraman e colaboradores⁶⁸, que descreve o preparo de um gel de PVOH utilizado para a liberação de diclofenaco na pele humana. Neste trabalho a análise reológica foi utilizada para verificar o caráter

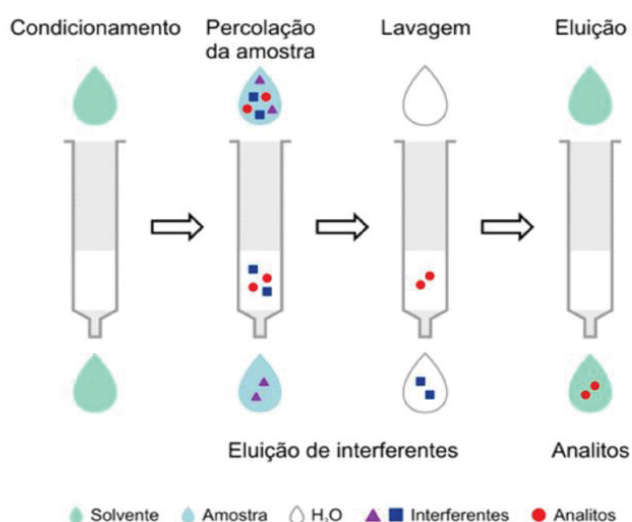
de gel do material formado, comparativamente a um gel comercial, utilizado para o mesmo fim. Foi verificado que os dois géis, o de PVOH e o comercial, demonstraram comportamento de material elástico, com o valor de G' maior que G'' em toda a faixa de frequência analisada. Os autores concluíram que o gel formado a partir do PVOH apresentou características de gel mais fraco, o que neste caso, melhorou as propriedades da aplicação, propiciando uma melhor eficiência na entrega do fármaco em estudo, sendo que esta teve início em um menor tempo, em relação ao gel comercial. Pode ser citado ainda o trabalho de Taherian e colaboradores⁶⁹, no qual foram investigadas algumas propriedades de misturas entre PVOH e quitosana, dentre as quais, as propriedades reológicas deste sistema. Neste trabalho foi avaliada a influência da massa molar da quitosana na força do gel. Os autores concluíram que a quitosana de menor massa molar propiciou a formação de géis mais fracos, devido ao fato de diminuir a quantidade de grupos funcionais disponíveis para reagirem e formar ligações cruzadas.

2.5 FASES EXTRATORAS BASEADAS EM HIDROGÉIS

Nos métodos analíticos uma das etapas mais importantes é a de preparo de amostra, em que geralmente se faz a extração, pré concentração e remoção de interferentes da amostra. Para isso, várias técnicas foram desenvolvidas, sendo que uma das mais utilizadas atualmente é a extração em fase sólida (*Solid Phase Extraction* – SPE). A SPE é utilizada com a finalidade de isolar os compostos de interesse presentes em amostras e seus mecanismos de separação envolvem adsorção, partição (fases normal e reversa), troca iônica e exclusão⁷⁰. Os dispositivos de extração empregados na SPE podem ser encontrados na forma de cartucho ou disco de extração e a escolha apropriada depende das propriedades físico-químicas dos compostos de interesse⁷¹.

Normalmente o procedimento de extração em fase sólida ocorre em quatro etapas: a) Condicionamento da fase sorvente com solventes apropriados; b) Extração dos analitos através da percolação da amostra pelo sorvente; c) Remoção dos interferentes, geralmente utilizando-se água; e d) Eluição dos analitos com solvente orgânico (FIGURA 5).

FIGURA 5. ETAPAS ENVOLVIDAS NA SPE: CONDICIONAMENTO DA FASE SORVENTE, PERCOLAÇÃO DA AMOSTRA, REMOÇÃO DOS INTERFERENTES E ELUIÇÃO DOS ANALITOS.



FONTE: CALDAS ET AL. (2011).

As fases extratoras para SPE atualmente disponíveis no mercado são baseadas em sílica ligada quimicamente a grupos orgânicos, como C18, C8, C2, carbono grafitizado e polímeros como o copolímero de poliestireno⁷². No entanto essas fases apresentam algumas desvantagens como baixa seletividade e caráter altamente hidrofóbico, o que torna difícil a sua utilização para extração de compostos polares presentes em matrizes aquosas, sendo que o analito acaba se perdendo durante a etapa de percolação da amostra e a lavagem.

Dentro dessa problemática, há um interesse crescente no desenvolvimento de fases extratoras alternativas para esses compostos. Dentre os materiais que têm se mostrado promissores nessa área de estudos, podem ser citados os hidrogéis de origem natural ou sintética, isso é justificado por apresentar estrutura formada por redes poliméricas hidrofílicas química ou fisicamente reticuladas, capazes de absorver e reter grandes quantidades de água sem se dissolver^{17,18}.

A presença de grupos funcionais específicos como –OH, –COOH, –SO₃H e –NH₂ na estrutura do hidrogel permite a sua interação com os compostos de maior polaridade, permitindo assim que haja a extração destes compostos de matrizes aquosas, o que não vem sendo possível de ser feito pelas fases extratoras comerciais. Há ainda a possibilidade de modulação do material para obter hidrogéis mais seletivos e estímulo responsivos.

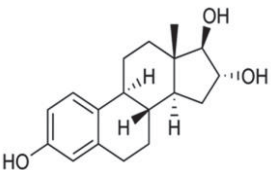
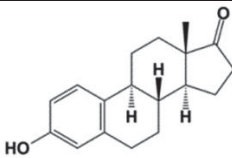
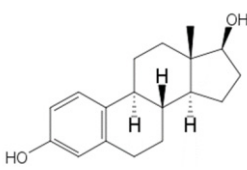
Nos últimos anos, alguns trabalhos vêm sendo desenvolvidos nesse sentido. Pode-se citar o trabalho de Basheer e colaboradores (2005)⁷³, que é um dos pioneiros no desenvolvimento de fases extratoras baseadas em hidrogéis, o qual desenvolveu um método de microextração em fibra oca revestida com hidrogel de polimetilmetacrilato (PMMA) para a determinação de estrona, 17 β -estradiol, 17 α -etinilestradiol e dietilestilbestrol em amostras de água de torneira e de reservatório por GC-MS. Um outro trabalho relevante é o de Bahram e colaboradores (2016)⁷⁴, que desenvolveram um hidrogel de poli(estireno-co-anidrido maleico) para ser utilizado como fase extratora, sensível ao pH em um procedimento de microextração semissólido-líquido dispersiva para pré concentração e detecção de alguns analitos em amostras de água.

Podem ser citados também dois trabalhos mais recentes nesta mesma linha de pesquisa, ambos foram desenvolvidos no grupo CroME em colaboração com o grupo GPMIn, ambos da Universidade Federal do Paraná (UFPR). O primeiro, realizado por Castilhos e colaboradores⁷⁵, baseou-se no desenvolvimento de um hidrogel preparado a partir de alginato e zeína para ser utilizado como fase extratora para os compostos ibuprofeno, 4-nonilfenol, estrona, 17- α - etinilestradiol, estriol, progesterona, testosterona, paracetamol, estradiol, triclosan, 4- octilfenol e atrazina. O segundo foi desenvolvido por Sampaio e colaboradores (2019)¹⁵ e visou o preparo de um hidrogel baseado em PVOH e pectina cítrica comercial para ser utilizado como fase extratora para os compostos estriol, estrona, 17 β -estradiol, 17 α -etinilestradiol, progesterona e testosterona, e, neste caso, pode-se observar que a pectina melhorou significativamente a eficiência de extração do hidrogel, visto que quando o hidrogel preparado a partir apenas do PVOH não foi possível obter a eficiência desejada na extração dos analitos pois houve a formação de uma rede altamente reticulada, o que impossibilitou a permeação da solução de contaminantes. Este hidrogel apresentou ainda maior estabilidade do que as fases extratoras comerciais, o que possibilita que sejam reutilizados várias vezes. Os resultados obtidos nestes dois trabalhos, mostram que realmente os hidrogéis são uma alternativa para substituir as fases de extração convencionais.

No presente trabalho foram testadas fases extratoras baseadas em PVOH e pectinas, a fim de verificar se haveria diferenças na eficiência de extração dependendo das propriedades da pectina utilizada. Os compostos escolhidos para esse teste foram o estriol, a estrona e o 17 β -estradiol, (estruturas apresentadas na TABELA 1 a seguir)

os quais são representantes da família dos estrogênios e no organismo humano são responsáveis por estimular e desenvolver o sistema reprodutor feminino^{76,77}. Esses compostos se tornaram motivo de preocupação de diversos pesquisadores, devido ao fato de que podem interferir no funcionamento do sistema endócrino de animais e seres humanos, trazendo prejuízos aos sistemas reprodutivos e promover o desenvolvimento de câncer¹⁶.

TABELA 1. ESTRUTURA QUÍMICA, MASSA MOLAR E LOG DE KOW DOS HORMÔNIOS ESTRIOL, ESTRONA E 17 β -ESTRADIOL.

Analito	Fórmula Estrutural	Massa Molar (g.mol ⁻¹)	Log K _{o/w}
Estriol		288,38	2,81
Estrona		270,37	3,13
17 β -estradiol		272,38	3,3

FONTE: ALBERO (2013)⁷⁸.

Esses hormônios entram no ambiente aquático principalmente através do esgoto doméstico, na forma de comprimidos não administrados ou excreção da forma livre, visto que são amplamente utilizados em pílulas contraceptivas e no tratamento da menopausa, e ainda de efluentes de estações de tratamento de esgoto (ETE), tendo em vista que essas ETE's não fazem a remoção desses poluentes. Podem ainda ser despejados no ambiente pelo escoamento superficial em regiões com atividades de agropecuária, pois esses hormônios são utilizados na dieta de animais⁷⁹.

São encontrados vários estudos na literatura que mostram a presença desses compostos no ambiente⁸⁰⁻⁸², demonstrando que o motivo de preocupação é real, desse modo encontrar metodologias eficientes, acessíveis e de baixo custo para a detecção desse contaminantes é de suma importância para que seja possível a minimização desse problema.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 METODOLOGIA

3.1.1 Materiais

A pectina cítrica foi obtida no Mercado Municipal da Cidade de Curitiba (PR). Esta amostra foi previamente caracterizada pelo Grupo de Pesquisa em Macromoléculas e Interfaces⁸³ e esta foi testada na forma bruta (utilizada diretamente como é comprada), classificada como LM (*low methoxyl*) devido a seu grau de metil-esterificação de 46%, e na forma dialisada em membrana 12 a 14 kDa, classificada como HM (*high methoxyl*) devido a seu grau de metil esterificação ser de 77%. A pectina do maracujá (*Passiflora edulis f. flavicarpa*) foi obtida pela equipe da Prof.^a Dr.^a Lucimara Mach Cortes Cordeiro, do Grupo de Química de Carboidratos, Departamento de Bioquímica da UFPR. O álcool polivinílico na forma 99% (massa molar~89000-98000 .mol⁻¹) hidrolisado foi adquirido da empresa Sigma-Aldrich®, bem como o ácido cítrico P.A. utilizado como reticulante.

O estudo da aplicação do material como fase extratora foi realizada sob a supervisão do Prof. Bruno José Gonçalves da Silva, e colaboração da doutoranda Naiara M. Sampaio, do grupo CroME. Foram utilizados os seguintes padrões de alta pureza: bisfenol A - d16 (99,9%, Supelco®), estrona (99%, Fluka®), 17β-estradiol (98%, Sigma-Aldrich®), estriol (97%, Fluka®). Na etapa anterior a análise cromatográfica, para a reação de derivatização foi utilizado o N-metil-N-(trimetilsilil)trifluoroacetamida (MSTFA) e trimetilsililimidazol (TMSI), adquiridos da Sigma-Aldrich®.

Para a análise cromatográfica foram utilizados os solventes diclorometano (Panreac®), acetato de etila e metanol (J. T. Baker®). Utilizou-se água ultrapura com resistividade controlada em 18,2 μΩ cm, purificada pelo sistema Millipore-Simplicity UV (Bedford, MA, USA).

3.1.2 Caracterização e purificação das pectinas

3.1.2.1 Processo de diálise da pectina cítrica comercial

A pectina cítrica comercial foi utilizada na forma bruta e na forma purificada por processo de diálise, empregando-se membrana de celulose regenerada com M_wCO (*Molecular weight cut off*) de 12 a 14 kDa (Spectra/Por®). Para isso, preparou-se uma solução de pectina com concentração de 10% (m/v), a qual foi acondicionada no interior da membrana e deixada em um banho de água ultrapura. A diálise ocorreu durante um período de 3 dias, no qual trocou-se a água ultrapura 4 vezes ao dia. Após esse processo a solução de pectina foi liofilizada. Em seguida as amostras foram submetidas a análise de HPSEC a fim de verificar a efetividade da diálise em remover compostos de menor massa molar.

3.1.2.2 Cromatografia de exclusão por tamanho de alta pressão

Essa análise foi efetuada para as três pectinas utilizadas neste trabalho, PC, dPC e PPC. Foi solubilizado 1 mg de cada amostra em 1 mL de nitrito de sódio ($NaNO_2$) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e 200 ppm de azida de sódio (NaN_3), também utilizado como fase móvel na mesma concentração. Em seguida foi utilizada uma membrana de PVDF Millipore com tamanho de poros nominais de $0,22 \text{ }\mu\text{m}$ para filtrar as amostras. As análises foram realizadas no Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da UFPR em um cromatógrafo de exclusão estérica de alta pressão (HPSEC) com quatro colunas usadas em série com limites de exclusão ($7 \times 10^6 \text{ Da}$, $4 \times 10^5 \text{ Da}$, $8 \times 10^4 \text{ Da}$ e $5 \times 10^3 \text{ Da}$, (Ultrahydrogel, Waters) e que possui um detector de índice de refração diferencial (RI), modelo WATERS 2410 e ainda um detector de espalhamento de luz laser com multiângulos (MALLS) WYATT TECHNOLOGY, modelo DAWN DSP com 18 canais acoplados em série. O software ASTRA versão 4.70.07® foi utilizado para a obtenção dos valores referentes a massa molar ponderal média (M_w).

3.1.2.3 Cálculo de grau de metil esterificação - ^1H -RMN

Essa análise foi realizada apenas para a pectina extraída da polpa de maracujá (PPC), tendo em vista que para as pectinas PC e dPC essa caracterização já foi realizada em um trabalho anterior⁸³ do Grupo de Pesquisa em Macromoléculas

e Interfaces. O espectro de ^1H RMN foi obtido no Centro de RMN da UFPR, em equipamento Bruker, modelo AVANCE DRX-400, situado no Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da UFPR. A amostra foi previamente dissolvida em D_2O a 10 mg mL^{-1} . Os espectros foram obtidos a 70°C , com 256 scans. Os deslocamentos químicos dos hidrogênios dos experimentos de ^1H RMN foram determinados utilizando a sequência de pulsos convencionais providas pelo equipamento e foram expressos em relação à ressonância do deutério.

Para a determinação do GM da PPC, foi utilizada a metodologia descrita por Grasdalen⁸⁴, segundo a Equação 1:

$$GM = \left(\frac{I_A - I_B}{I_A + I_B} \right) \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

Em que I_A corresponde a integral dos sinais de H1 e H5 das unidades de ácido galacturônico esterificados e I_B a integral dos sinais de H5 das unidades de ácido galacturônico livres. Os H5 que são adjacentes aos grupos carboxílicos livres apresentam sinal em aproximadamente 4 ppm. Os H1 e H5 adjacentes a um carbono carboxílico metil esterificado apresentam-se em dois sinais em torno de 5 ppm. Devido à proximidade ou até mesmo a sobreposição dos sinais, é necessário realizar a integral combinada de ambos para que seja possível a quantificação do GM.

3.1.2.4 Composição monossacarídica

A composição de monossacarídeos neutros da pectina de maracujá foi determinada por derivatização em acetatos de alditol após hidrólise e redução. A amostra PPC foi submetida a hidrólise com ácido trifluoroacético (TFA) 2 mol L^{-1} durante 8 h a 100°C , seguida de redução de borohidreto de sódio (NaBH_4) e acetilação de um dia para o outro com anidrido acético-piridina (1:1, v/v). As análises foram realizadas em GC-MS (Varian, modelo Saturno 4000), com He como gás de transporte. Uma coluna capilar (30 m $\times$ 0,25 mm d.i.) de DB-225, mantido a 50°C durante a injeção por 1 min, e então foi ajustado a $40^\circ\text{C min}^{-1}$ a 220°C e mantido nessa temperatura constante por 19,75 min e foi utilizada para a análise quantitativa. Os ácidos urônicos foram determinados colorimetricamente de acordo com o proposto por Filisetti-Cozzi e Carpita⁸⁵.

3.1.3 Preparo das dispersões dos polímeros

Foram preparadas dispersões do polímero PVOH nas concentrações 5%, 10%, 15% e 20% (m/m), dispersando-o em água ultrapura e foi empregado aquecimento ($\sim 85^{\circ}\text{C}$) para facilitar a dispersão do polímero e agitação magnética durante o período de 3 horas.

Foram preparadas dispersões nas concentrações de 1%, 2%, 3% e 4% (m/m) para cada uma das pectinas. Os polímeros foram dispersos em água ultrapura e mantidos sob agitação magnética em temperatura ambiente ($\sim 20^{\circ}\text{C}$) durante o período de 12 horas.

3.1.4 Obtenção dos hidrogéis preparados na estufa

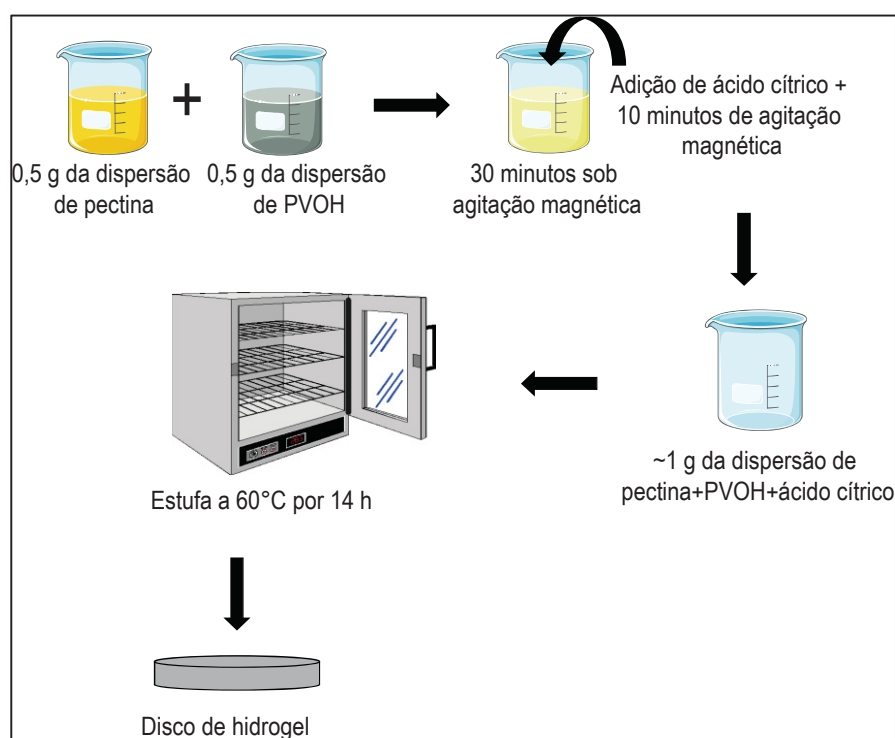
Os hidrogéis foram obtidos pela reticulação das misturas de PVOH com as três pectinas como está mostrado na tabela TABELA 2 a seguir, utilizando o ácido cítrico como agente reticulante. Primeiramente, foi preparada uma dispersão pela mistura, na proporção de 1:1 (m/m), da dispersão de PVOH (5%, 10%, 15% ou 20%, m/m) com as dispersões das pectinas PC, dPC e PPC (1%, 2%, 3% ou 4%, m/m). Essa dispersão permaneceu sob agitação magnética durante 30 minutos e, após esse período, foi adicionada uma quantidade de ácido cítrico (na forma sólida) que correspondia a 10% da massa total dos polímeros¹⁵ (PVOH+PC), (PVOH+dPC) e (PVOH+PPC) e então esta dispersão (PVOH+pectina+ácido cítrico) foi mantida sob agitação magnética por mais 10 minutos para a solubilização do ácido cítrico. Em seguida, uma massa de aproximadamente 1 g da dispersão de PVOH+pectina+ácido cítrico foi adicionada a béqueres de 10 mL cujos fundos serviram como moldes, e foram levados à estufa a 60°C durante 14 horas. Uma representação esquemática deste processo pode ser observada na FIGURA 6. Na FIGURA 7 pode ser vista uma representação esquemática do processo de reticulação do PVOH com ácido cítrico.

TABELA 2. CONCENTRAÇÕES INICIAIS E FINAIS (MISTURAS BINÁRIAS) DAS DISPERSÕES DE PVOH E PECTINAS (PC, dPC E PPC) UTILIZADAS NO PREPARO DOS HIDROGÉIS COMPOSITOS.

			[PVOH] _i (m/m)	[Pectina] _i (m/m)	[PVOH] _f (m/m)	[Pectina] _f (m/m)
P5PC1	P5dPC1	P5PPC1	5%	1%	2,5%	0,5%
P10PC2	P10dPC2	P10PPC2	10%	2%	5%	1%
P15PC2	P15dPC2	P15PPC2	15%	2%	7,5%	1%
P15PC3	P15dPC3	P15PPC3	15%	3%	7,5%	1,5%
P20PC4	P20dPC4	P20PPC4	20%	4%	10%	2%

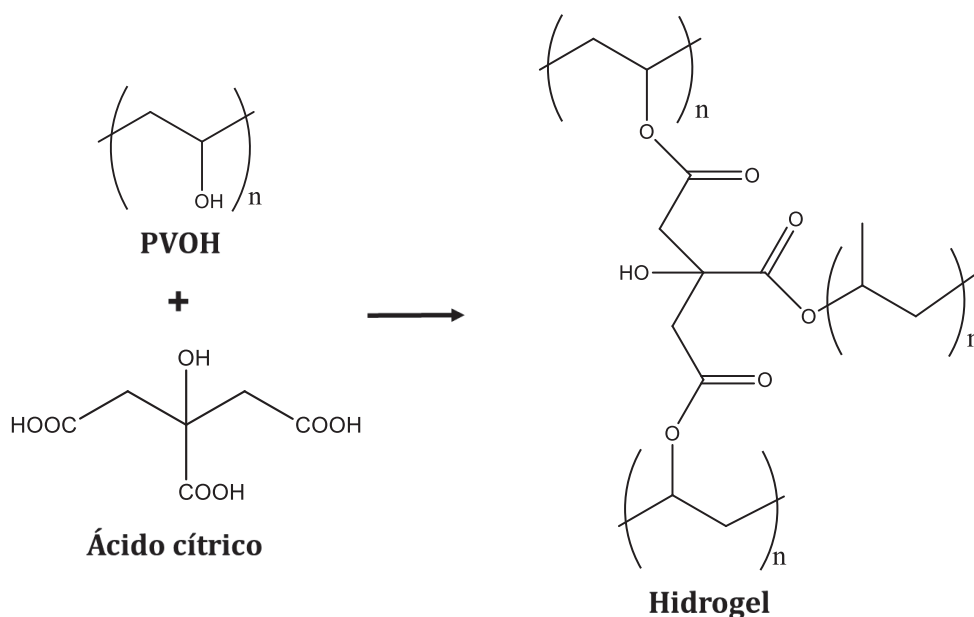
FONTE: O autor (2019)

FIGURA 6. REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO PREPARO DE UM HIDROGEL NA ESTUFA.



FONTE: O AUTOR (2019)

FIGURA 7. REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO PROCESSO DE RETICULAÇÃO DE PVOH UTILIZANDO ÁCIDO CÍTRICO COMO AGENTE RETICULANTE.



FONTE: ADAPTADO DE REDDY ET AL⁸⁶. (2010)

3.1.5 Ensaios reológicos

Os estudos reológicos foram efetuados no Departamento de Bioquímica e Biologia Celular da UFPR, utilizando-se de um Reômetro HAAKE MARSII. A temperatura foi controlada por dispositivo Peltier (TC81, Haake) acoplado a um banho termo circulante (DC5, Haake). O software RheoWin 4 Data Manager foi utilizado para obter os parâmetros reológicos e estatísticos.

3.1.5.1 Estudo do comportamento de fluxo das dispersões de polímero

Esse estudo foi realizado no momento anterior ao processo de reticulação e sem a adição do ácido cítrico, utilizado como agente reticulante. Para tais medidas foi utilizado o sensor C60/2°TiL (sistema cone-placa) e foram realizadas curvas de fluxo a 25°C para todas as concentrações citadas na TABELA 2 na faixa de 0,01 até 1000 s⁻¹ de cisalhamento. As curvas obtidas neste experimento foram ajustadas matematicamente pelo modelo de Ostwald de Waele⁸⁷ utilizando-se da Equação 2.

$$\tau = K\dot{\gamma}^n$$

Equação 2

Onde:

 τ : tensão de cisalhamento K : Índice de consistência $\dot{\gamma}$: Taxa de cisalhamento n : Índice de comportamento de fluxo.

3.1.5.2 Estudo do comportamento viscoelástico dos hidrogéis preparados na estufa

Para este estudo, os hidrogéis preparados na estufa foram hidratados em água ultrapura e foi utilizado o sensor PP20/Ti (placa-placa) e então foram realizadas varreduras de frequência no modo CD (*Controlled Deformation*) e deformação fixa de 1% na faixa de 0,01-10 Hz, na temperatura de 25°C para todos os hidrogéis citados na TABELA 2. Foi ajustado também o valor de força normal igual a 10N devido à dificuldade de ajuste do *gap* para estes experimentos, pois os hidrogéis obtidos possuíam diferentes espessuras.

3.1.5.3 Estudo da gelificação dos hidrogéis *in situ* no reômetro

A etapa de preparo das dispersões para este experimento foi idêntica ao descrito na seção 3.1.3 e então adicionou-se o ácido cítrico, (10% da massa total de polímero) e ao invés de transferir uma quantidade conhecida da dispersão para béqueres de 10 mL, a dispersão foi levada ao reômetro cuja placa teve, previamente, sua temperatura estabilizada em 60°C (mesma temperatura utilizada para a reticulação na estufa). Após o sensor C60/2°TiL atingir o *gap* de medida que foi de 0,105 mm, o módulo elástico e o módulo viscoso (G' e G'' , respectivamente) das misturas foram monitorados durante o período de 9 horas, numa frequência fixa de 1Hz e deformação de 1%. Durante esta varredura de tempo, foi obtido o tempo de gelificação, considerado o tempo onde ocorreu o crossover dos módulos. A partir deste ponto G' permaneceu superior a G'' , caracterizando a transição sol-gel. Ao final desse tempo, o reômetro realizou o ajuste da temperatura para 25°C e em seguida realizou-se uma varredura de frequência com o objetivo de avaliar o comportamento viscoelástico e a força do gel formado.

3.1.6 Caracterização morfológica por microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Para esta análise foi utilizado o hidrogel na forma seca, congelado com N₂ e crio-fraturado e tendo em vista que o material não é um condutor elétrico, houve a necessidade de depositar uma fina camada de ouro sobre a superfície do material. As amostras foram analisadas por um microscópio eletrônico de varredura modelo JSM-6360LV (JOEL®), operando em 10 kV.

As imagens de MEV foram então analisadas fazendo o uso do software gratuito ImageJ®, a fim de obter a distribuição de tamanhos das partículas esféricas presentes no sistema. Obteve-se a distribuição de tamanhos de oito imagens representativas de MEV, com uma contagem total mínima de 150 partículas. Os dados foram então analisados e foi possível realizar o cálculo do tamanho médio das partículas esféricas para cada hidrogel estudado utilizando-se o software Microsoft Excel®. Para todos os testes realizados, além do tamanho médio das partículas, foram calculados o desvio padrão e o erro amostral. O procedimento detalhado da análise das imagens de microscopia eletrônica de varredura está apresentado no APENDICE 1.

3.1.7 Grau de intumescimento

Para a avaliação de grau de intumescimento, os hidrogéis secos foram pesados e imersos em água ultrapura. Foram realizadas medidas das massas dos hidrogéis intumescidos a cada trinta minutos em um tempo total de 5 horas e para os cálculos foi utilizada a Equação 3⁸⁸:

$$I\% = \left(\frac{M_t - M_0}{M_0} \right) \times 100 \quad \text{Equação 3}$$

I%: Grau de intumescimento

M_t: Massa do hidrogel intumescido em um tempo t;

M₀: Massa do hidrogel seco.

3.1.8 Sinerese

Os hidrogéis secos foram hidratados, sendo imersos em água ultrapura, por 90 minutos, visto que esse tempo foi o suficiente para que o gel atingisse o equilíbrio de intumescimento e, posteriormente, o excesso de água foi removido com o auxílio de papel absorvente. O estudo de perda de água foi realizado a 25°C. A massa foi acompanhada com pesagem a cada 30 minutos por 5 horas. Para cálculo do % de perda de água foi utilizada a Equação 4⁸⁹:

$$Sinerese(\%) = \left(\frac{M_{eq} - M_t}{M_{eq}} \right) \times 100 \quad \text{Equação 4}$$

Onde:

M_{eq} = massa do hidrogel no equilíbrio de intumescimento;

M_t = massa do hidrogel em um tempo t .

3.1.9 Utilização do material como fase extratora

Todas as etapas deste estudo foram realizadas seguindo o procedimento já realizado e publicado por Sampaio e colaboradores¹⁵ em colaboração com o grupo CroME.

3.1.9.1 Preparo das soluções de padrões

Para o preparo das soluções estoque, foi utilizado o metanol como solvente, em que os hormônios e o padrão interno (bisfenol A - d16) foram solubilizados nas concentrações de 1000 mg L⁻¹ e 400 mg L⁻¹, respectivamente. Para tal procedimento, foi pesado 10,00 mg de cada hormônio e 4,00 mg de bisfenol A - d16, os quais foram dissolvidos com 10 mL de metanol.

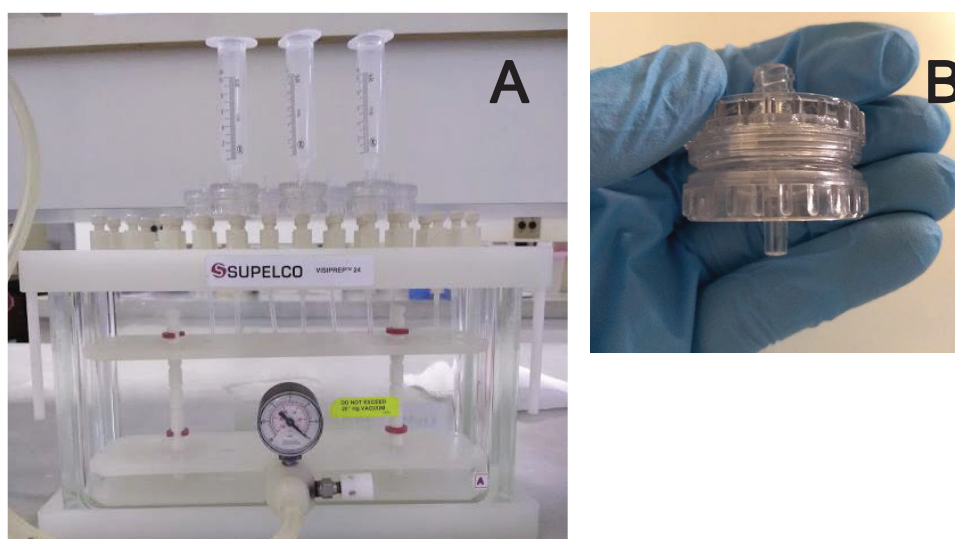
3.1.9.2 Extração dos hormônios

Os hidrogéis P15PC2, P15dPC2 e P15PPC2 foram preparados segundo o procedimento descrito no item 3.1.4 e foram, em seguida, avaliados como fase

extratora para a determinação dos hormônios estriol, estrona e 17β -estradiol em matrizes aquosas. Para este teste as amostras empregadas consistiram em água ultrapura enriquecida com os analitos na concentração de 1 mg L^{-1} .

Para a extração foram utilizados suportes reutilizáveis de polycarbonato para filtro de membrana para ser acoplado em seringa, com diâmetro de 25 mm, dentro dos quais eram dispostos os hidrogéis. E então foi utilizado um sistema manifold Visiprep (Supelco®), onde os hidrogéis foram posicionados e aos quais se acoplou uma seringa de 20 mL sem o embolo para que se pudesse verter a amostra. As extrações foram realizadas a pressão atmosférica e em triplicata. A FIGURA 8 traz o dispositivo empregado juntamente com o sistema *manifold*.

FIGURA 8. SISTEMA *MANIFOLD* (A) E DISPOSITIVO DE EXTRAÇÃO FECHADO (B).



FONTE: O AUTOR (2019)

Anteriormente ao processo da extração, os hidrogéis, já posicionados no suporte de filtro seringa foram hidratados com 10 mL de água ultrapura e dispostos no sistema manifold. Então foi feita a percolação de 100 mL de amostra pelo hidrogel, em seguida foi realizada a secagem do hidrogel no sistema manifold com vácuo por 1 hora, empregando-se uma bomba de vácuo (Tecnal® TE-0581). Os analitos foram dessorvidos da fase extratora com 1 mL de metanol em banho ultrassônico durante 20 minutos.

Por fim, o extrato foi seco em concentrador e reconstituído com 200 μL de metanol, dos quais 100 μL foram transferidos para um vial. Antes da injeção de 1 μL de amostra no sistema GC-MS/MS esta passou pelo processo de derivatização que está descrito a seguir.

3.1.9.3 Reação de derivatização dos hormônios das amostras dessorvidas dos hidrogéis

Para as reações de sililação, foi seguido o procedimento já descrito por Quintana et al.⁹⁰, Basheer et al.⁷³ e Shareef et al.⁹¹ Primeiramente foi realizada a total evaporação de 100 μL da solução de trabalho dos hormônios (25 mg L^{-1}), seguida da adição de 50 μL do agente de sililação (MSTFA:0,1%TMSI) e homogeneização em vórtex durante 30 segundos. A reação foi efetuada em um banho termostatizado a 60°C por 30 minutos. Após o término da reação, as amostras foram secas em estufa, reconstituídas com 100 μL de acetato de etila e injetadas no sistema GC-MS/MS. Os ensaios foram realizados em triplicata.

3.1.9.4 Sistema analítico – GC-MS/MS

O sistema GC-MS/MS utilizado operou nos modos simples (MS), onde o primeiro e o segundo quadrupolo (Q1 e q2) são utilizados como focalizadores e o terceiro quadrupolo (Q3) como analisador, e sequencial (MS/MS) que utiliza o primeiro e o terceiro quadrupolo (Q1 e Q3) como analisadores e o segundo quadrupolo (q2) como célula de colisão. A TABELA 3 demonstra as condições de análise do sistema GC-MS/MS.

TABELA 3. CONDIÇÕES DE ANÁLISE DO SISTEMA GC-MS/MS.

Injetor	Temperatura do injetor	250 °C
	Volume de injeção	1 μL
	Modo de injeção Split	1:10
CG	Coluna	SH-Rtx-5MS (Shimadzu) 30 m x 0,25 mm x 0,25 μm
	Gás de arraste	He (5.0)
	Fluxo do gás de arraste	1 mL min^{-1}
		Coluna: 220 °C (2 min)

	Rampa de aquecimento	Rampa 1: 20 °C min ⁻¹ até 280 °C (1 min) Rampa 2: 2 °C min ⁻¹ até 290 °C Rampa 3: 20 °C min ⁻¹ até 300 °C (1,5 min)
TQMS	Temperatura da linha de transferência	300°C
	Temperatura da fonte de ionização	250 °C
	Analizador de massas Triplo quadrupolo Energia de ionização	70 eV
	Modo de registro dos íons	Full Scan
FONTE: O autor (2019)		

Na etapa anterior à injeção no sistema GC-MS/MS, os analitos foram derivatizados, empregando-se as condições da reação de sililação.

O argônio foi utilizado como gás de colisão, e a otimização dos parâmetros do MS/MS foi descrito em um trabalho já realizado por Sampaio e colaboradores¹⁵.

Por fim, foi realizada a análise de variância (ANOVA) de fator único para cada um dos compostos estudados.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 CARACTERIZAÇÃO DAS PECTINAS

4.1.1 Determinação da massa molar e perfil de distribuição de massas molares das pectinas

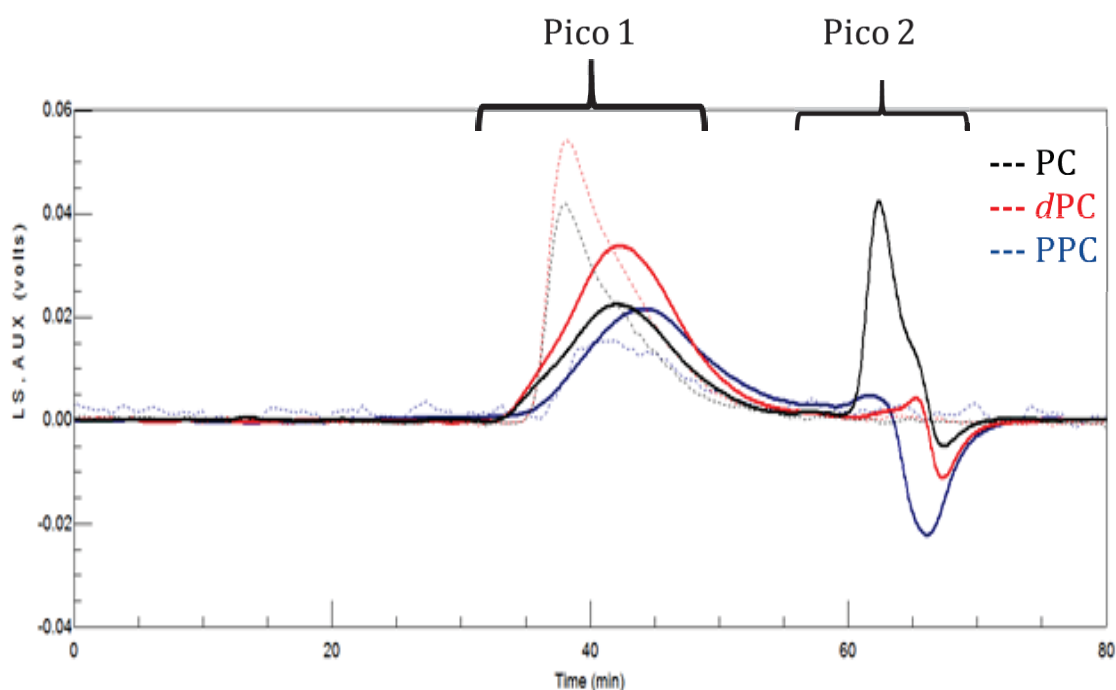
Na FIGURA 9 é apresentado o perfil cromatográfico das amostras PC (linha preta), *d*PC (linha vermelha) e PPC (linha azul). Para a amostra PC é possível observar a presença de dois picos, por meio do detector de índice de refração, sendo o eluído primeiro (44 minutos) atribuído a compostos de massa molar mais alta e o segundo, eluído em um tempo maior (64 minutos), atribuído à presença de compostos de baixa massa molar nesta amostra. Na amostra *d*PC, que é a amostra obtida após o processo de diálise, há a presença de um pico majoritário (45 minutos) que coincide com o tempo de eluição de um dos picos obtidos na amostra PC. Este perfil indica que o processo de diálise foi eficiente em retirar os compostos de baixa massa molar presentes na PC obtendo-se uma fração rica nas pectinas de massa molar mais alta. O perfil de eluição da amostra PPC, também apresentado na FIGURA 9 mostrou a presença de um pico cromatográfico com perfil semelhante ao das amostras PC (tempo de eluição: 44 minutos) e *d*PC (tempo de eluição 45 minutos), em relação ao tempo de eluição, que foi de 46 minutos para essa amostra

Utilizando-se dos perfis cromatográficos obtidos e do software ASTRA versão 4.70.07®, foi possível realizar o cálculo da massa molar ponderal média ($\bar{M}_w$) e a polidispersão de massas molares ($\bar{M}_w/\bar{M}_n$) das amostras. O incremento de índice de refração, está relacionado com a variação do índice de refração em função da concentração da amostra, neste trabalho o valor utilizado foi $dn/dc = 0,147 \text{ mL/g}$, este foi previamente calculado em um trabalho anterior do Grupo de Pesquisa em Macromoléculas e Interfaces⁸³. O resultado está mostrado na TABELA 4, onde é possível observar que o pico referente aos compostos de alta massa molar para as amostras PC, *d*PC e PPC apresenta valor de massa molar média ponderal na mesma ordem de grandeza, sendo $2,056 \times 10^5$ para a PC, $2,098 \times 10^5$ para a *d*PC e $1,015 \times 10^5$ para a PPC. O cálculo também foi realizado para o pico que eluiu no maior tempo (aproximadamente 64 minutos) presente na amostra PC, porém o valor obtido apresentou erro de 68%, devido à ausência de sinal pelo detector de espalhamento

de luz (representado no gráfico pelas linhas pontilhadas). Apesar de estarem na mesma grandeza, foi possível observar que a amostra PPC foi a que apresentou o menor valor de massa molar média e também o menor valor de polidispersão.

O perfil observado no detector de LS mostrou a presença de picos eluindo em tempos semelhantes para as três pectinas, porém, com intensidades diferentes, o que indica a diferença nas massas molares das amostras.

FIGURA 9. PERFIL CROMATOGRÁFICO (HPSEC) PARA AS PECTINAS PC (LINHA PRETA) *d*PC (LINHA VERMELHA) E PPC (LINHA AZUL). AS LINHAS PREENCHIDAS REFEREM-SE AO DETECTOR DE RI E AS LINHAS PONTILHADAS AO DETECTOR DE LS.



FONTE: O AUTOR (2019)

TABELA 4. VALORES DE MASSA MOLAR PONDERAL MÉDIA ($\bar{M}_w$) E DISPERSÃO ($\bar{M}_w/\bar{M}_n$) DAS AMOSTRAS PC, *d*PC E PPC OBTIDOS POR HPSEC.

Amostra	Tempo de eluição (min) (Pico 1)	M_w (g.mol ⁻¹) (Pico 1)	M_w (g.mol ⁻¹) (Pico 2)	M_w/M_n
PC	46	$2,056 \times 10^5$	** $1,015 \times 10^5$	1,5
<i>d</i> PC	45	$2,098 \times 10^5$	-	1,4
PPC	44	$1,078 \times 10^5$	-	1,2

**Valor com 68% de erro devido à ausência de detecção no LS

FONTE: O AUTOR (2019)

4.1.2 Determinação do grau de metil esterificação ^1H -RMN

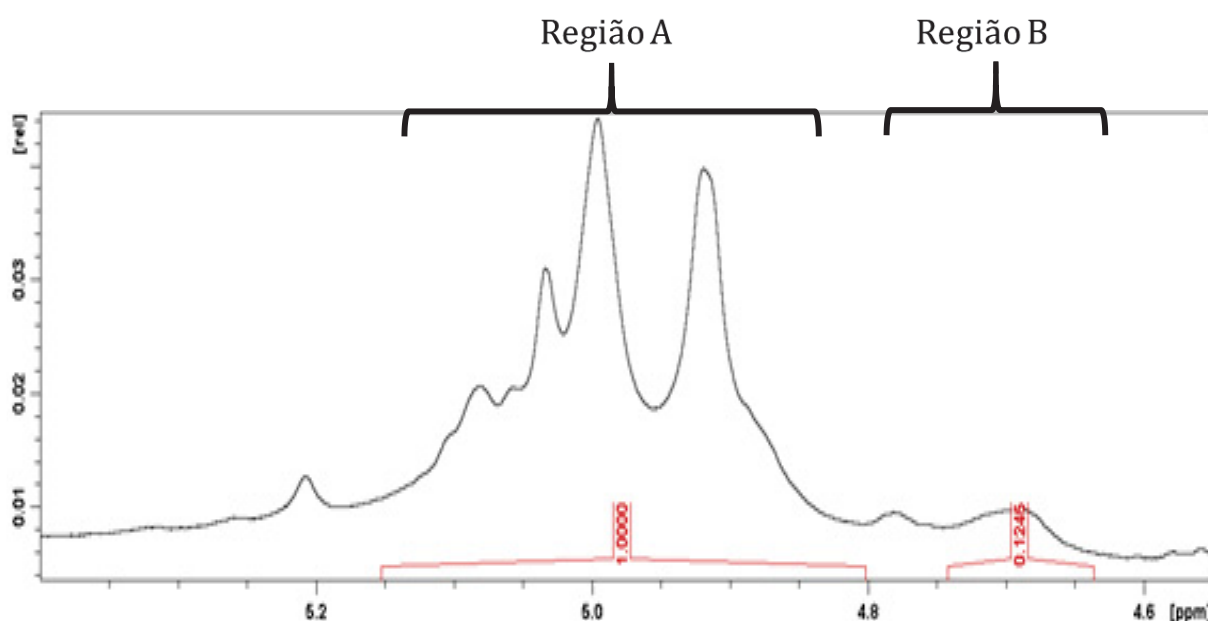
A fim de calcular o grau de metil esterificação para a PPC e verificar se há semelhanças entre esta e as outras pectinas, PC e dPC, foi realizada a análise de ^1H RMN, cujo espectro é mostrado na FIGURA 10.

Os hidrogênios adjacentes aos grupos carboxílicos livres (H5) podem ser assinalados em $\sim 4,5$ ppm enquanto os hidrogênios H1 e H5 adjacentes a grupos carboxílicos metil esterificados são assinalados em $\sim 5,00$ ppm. Devido à proximidade ou até mesmo a sobreposição dos sinais dos H1 e H5 (de unidades de ácido galacturônico metil-esterificadas) somente é possível determinar uma integral combinada destes dois sinais, sendo assim, por meio dessa análise e utilizando a metodologia de Grasdalen⁸⁴ foi possível realizar o cálculo do GM que é definido como a quantidade de grupos éster em relação à quantidade total de ácidos carboxílicos livres ou esterificados. Para o cálculo foi utilizada a

Equação 1:

$$GM = \left(\frac{I_A - I_B}{I_A + I_B} \right) \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

FIGURA 10. ESPECTRO DE ^1H RMN DA AMOSTRA EXTRAÍDA DA CASACA DE MARACUJÁ (PPC) D₂O A 70°C E 256 SCANS.



FONTE: O AUTOR (2019)

Realizando a integração dos picos utilizando o software TopSpin, foi possível obter o valor do grau de metoxilação para a amostra PPC igual a 78%. O valor obtido se assemelha a valores reportados na literatura para a pectina extraída da casca de maracujá. No trabalho de Silva e colaboradores⁹² o valor obtido foi de 78,5% e Matsumoto e colaboradores⁹³ obtiveram o valor de 73,2%. Fazendo a comparação da PPC com as outras duas pectinas, PC e *d*PC, que possuem os valores de 49 e 79%, respectivamente, para o GM⁸³ conclui-se que se tratando desta propriedade, ela se assemelha com a pectina *d*PC, sendo considerada uma pectina *high methoxyl*. Desse modo é possível concluir que o maracujá pode ser uma fonte alternativa de pectinas HM.

4.1.3 Composição monossacarídica para a PPC

Cipriani e colaboradores⁹⁴ relataram que a pectina cítrica é composta essencialmente por ácido galacturônico (95,5%), com traços de monossacarídeos neutros como galactose (1,8%), glucose (1,5%), arabinose (0,8%) e ramnose (0,4%).

Na TABELA 5 é apresentada a composição monossacarídica para as amostras PC, *d*PC e PPC. As amostras apresentam uma composição complexa de monossacarídeos, típica de polissacarídeos pécticos, com altas quantidades de ácidos urônicos, os quais indicam a presença de ácido galacturônico, (o que foi observado na análise de ¹H RMN) seguidas de galactose, glucose, arabinose e ramnose. Esta composição monossacarídica sugere a presença majoritária de homogalacturonanas nestas frações.

TABELA 5. COMPOSIÇÃO MONOSSACARÍDICA PARA AS AMOSTRAS PC, *d*PC E PPC

Amostra	Ácido Urônico (%)	Rha (%)	Ara (%)	Gal (%)	Glc (%)	Fuc (%)	Xyl (%)	Man (%)
*PC	43	1,6	2,0	12,8	40,6	-	-	-
* <i>d</i> PC	73	3,4	3,7	19,9	traço	-	-	-
**PPC	79,5	2	11	2,2	3,1	0,27	0,7	1,3

FONTE: *ADAPTADO DE LOPES, L. C. (2017)⁸³. **O AUTOR (2019)

Na amostra PC há a presença de contaminantes como frutose e sacarose em sua composição. A glucose presente em porcentagem elevada (40,6%) pode ser proveniente de unidades de frutose (produto de hidrólise da sacarose) que após o processo de redução e acetilação tautomerizam formando a glucose. Estes contaminantes foram removidos durante o processo de diálise e por isso sua presença não é observada na amostra *dPC*.

A amostra PPC apresentou quantidade de ácidos urônicos (79,5%), valor que se aproxima ao da amostra *dPC* (73%), mostrando que existe similaridade entre as duas amostras.

4.2 ESTUDOS REOLÓGICOS

4.2.1 Estudo das curvas de fluxo das misturas poliméricas

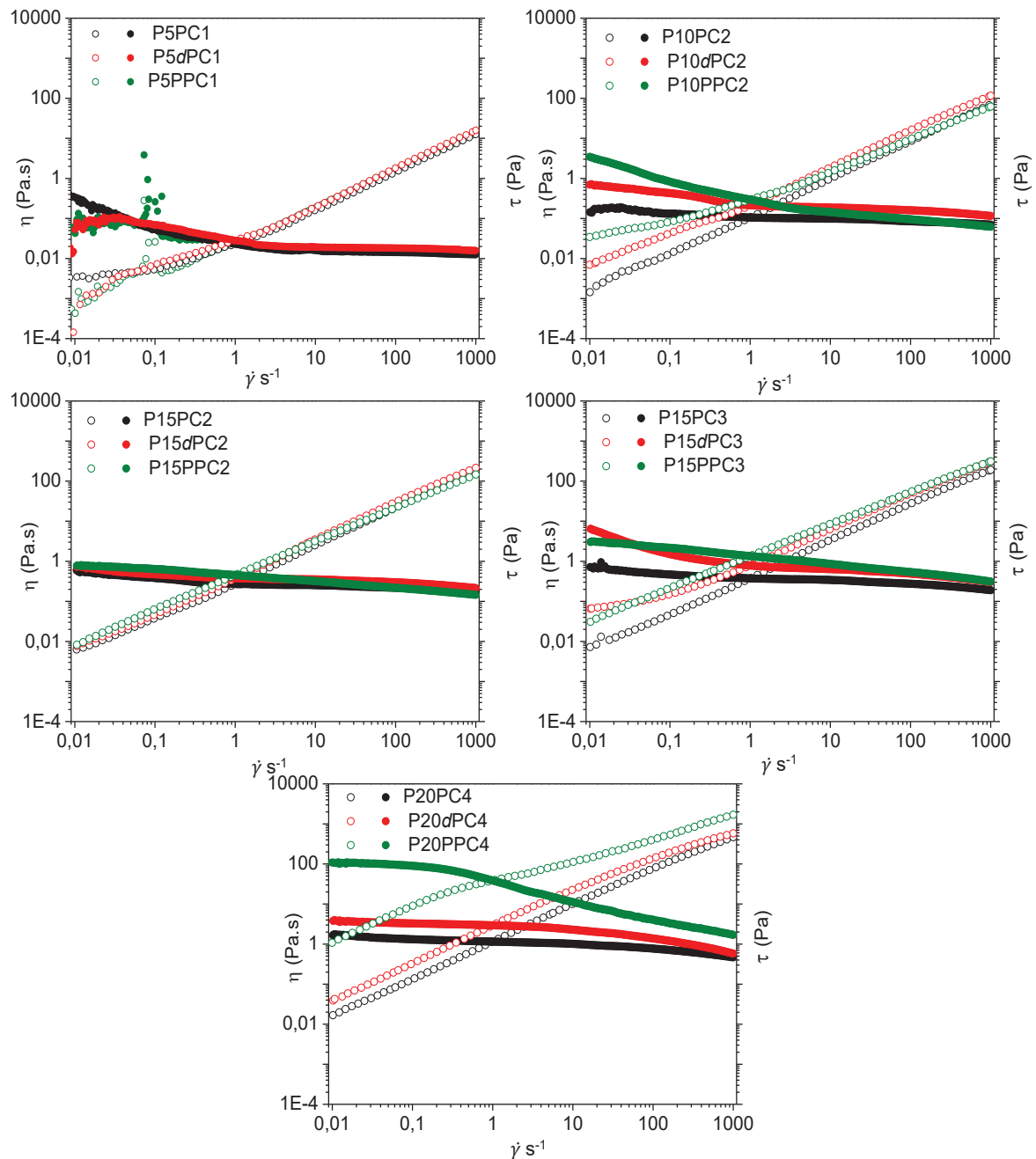
Esse estudo, realizado para as misturas de PVOH com as três pectinas nas concentrações citadas na seção 3.1.4, foi realizado com o intuito de verificar se haveriam diferenças na viscosidade das misturas dependendo da concentração dos polímeros e do tipo de pectina utilizada, dado que a viscosidade pode estar relacionada com a estrutura dos compostos.

A

FIGURA 11 mostra as curvas de fluxo (símbolos abertos) e de viscosidade (símbolos fechados) obtidas para as dispersões P5PC1, P5*dPC*1, P5PPC1, P10PC2, P10*dPC*2, P10PPC2, P15PC2, P15*dPC*2, P15PPC2, P15PC3, P15*dPC*3, P15PPC3, P20PC4, P20*dPC*4 E P20PPC4 na temperatura de 25°C, previamente a etapa de adição do agente reticulante. Pode-se observar que na menor concentração (P5PC1, P5*dPC*1 e P5PPC1) praticamente não houve diferença na viscosidade das amostras, isto é, o tipo de pectina não alterou a viscosidade das dispersões. Isso provavelmente ocorreu pelo fato de a concentração dos polímeros ser muito baixa, assim sendo, as interações polímero-polímero e polímero solvente não são influenciadas pela estrutura das pectinas. Para complementar o estudo as curvas foram ajustadas pelo modelo matemático de Ostwald de Waele e os parâmetros reológicos obtidos pelo modelo foram comparativamente analisados. Este modelo foi o que melhor se ajustou em relação aos modelos de Cross e Herschel–Bulkley. Todas as amostras adequaram-se

ao modelo, pois os valores de R^2 ficaram acima de 0,99. Esses resultados estão apresentados na TABELA 6.

FIGURA 11. CURVAS DE FLUXO E VISCOSIDADE PARA OS SISTEMAS BINÁRIOS DE PVOH E PECTINAS, P5PC1, P5dPC1, P5PPC1, P10PC2, P10dPC2, P10PPC2, P15PC2, P15dPC2, P15PPC2, P15PC3, P15dPC3, P15PPC3, P20PC4, P20dPC4 E P20PPC4 A 25°C, UTILIZANDO-SE O SENSOR C60/2°TIL NO MODO CR. OS SÍMBOLOS ABERTOS REFEREM-SE À CURVA DE FLUXO E OS SÍMBOLOS PREENCHIDOS REFEREM-SE À CURVA DE VISCOSIDADE.



FONTE: O AUTOR (2019)

TABELA 6. PARÂMETROS REOLÓGICOS OBTIDOS APÓS O AJUSTE MATEMÁTICO DAS CURVAS DE FLUXO, PELO MODELO DE OSTWALD DE WAELE, PARA OS SISTEMAS BINÁRIOS DE PVOH E PECTINASP5PC1, P5dPC1, P5PPC1, P10PC2, P10dPC2, P10PPC2, P15PC2, P15dPC2, P15PPC2, P15PC3, P15dPC3, P15PPC3, P20PC4, P20dPC4 E P20PPC4.

	K [Pa.sⁿ]	n	R²
P5PC1	0,019	0,94	1
P5dPC1	0,026	0,93	0,99
P5PPC1	0,027	0,93	1
P10PC2	0,131	0,91	1
P10dPC2	0,319	0,85	0,99
P10PPC2	0,218	0,82	1
P15PC2	0,370	0,89	0,99
P15dPC2	0,589	0,86	0,99
P15PPC2	0,476	0,83	1
P15PC3	0,597	0,84	0,99
P15dPC3	1,251	0,80	0,99
P15PPC3	1,450	0,78	0,99
P20PC4	2,064	0,79	0,99
P20dPC4	6,898	0,65	0,99
P20PPC4	20,15	0,64	0,99

FONTE: O AUTOR (2019)

Por meio do ajuste das curvas pelo modelo de Ostwald de Waele foi possível adquirir o valor do índice de comportamento de fluxo (n). Quando o valor de n está mais próximo de 0, diz-se que o fluido apresenta comportamento pseudoplástico, em oposição, quando o valor de n se aproxima de 1, diz-se que o comportamento é característico de um fluido Newtoniano. As amostras P5PC1, P5dPC1 e P5PPC1, avaliadas nessa etapa do estudo apresentaram valores de n próximo de 1, indicando que em nestas baixas concentrações de polímeros os sistemas possuem comportamento próximo ao Newtoniano. Esse comportamento já foi descrito por Moraes e colaboradores⁹⁵, em que foi realizado o estudo do comportamento de fluxo de dispersões diluídas de PVOH e gelatina e está relacionado ao fato de que em dispersões muito diluídas as interações das macromoléculas com a água são mais

favoráveis do que as interações entre as macromoléculas, o que propicia que a dispersão apresente comportamento de fluido Newtoniano⁹⁶.

O outro parâmetro possível de ser obtido é o coeficiente de consistência (K), que diz respeito à viscosidade, dessa forma, quanto maior esse índice, maior é a viscosidade do fluido. Esse valor foi muito próximo para as amostras *dPC* e *PPC* (0,02609 e 0,02663, respectivamente) e foi menor para a amostra *PC* (0,01881), este fato pode estar relacionado aos compostos de baixa massa molar presentes na *PC*, contribuindo para a diminuição da viscosidade da dispersão preparada a partir desta pectina.

Para os sistemas binários *P10PC2*, *P10dPC2* e *P10PPC2*, em que a concentração dos polímeros é o dobro das amostras previamente apresentadas, foi possível observar diferenças nos perfis das curvas, principalmente em baixas taxas de cisalhamento. Isso fica mais evidente quando se observam os valores dos parâmetros matemáticos obtidos após ajuste matemático das curvas pelo modelo de Ostwald de Waele, que está apresentado na TABELA 6.

Ao analisar o índice de fluxo (n) destas amostras, ficou evidenciado que a pectina *PC* é a que apresenta o comportamento mais próximo ao de um fluido Newtoniano, seguido pela *dPC* e por último a *PPC*. Quanto ao índice de consistência (K), a amostra preparada a partir da *dPC* apresentou o maior valor, ou seja, é a mistura polimérica mais viscosa, seguida pela *PPC* e a menos viscosa é a pectina *PC*. Essa diferença nos parâmetros n e K, e consequentemente na viscosidade das amostras está diretamente relacionada às propriedades das pectinas, como grau de metil esterificação e massa molar. A amostra *PC* possui compostos de baixa massa molar na composição que contribuem para que ela se apresente como a amostra menos viscosa. Esses compostos de baixa massa molar são removidos da amostra pelo processo de diálise, isso explica a viscosidade maior da pectina *dPC*. A pectina *PPC* deu origem à dispersão mais viscosa do que as outras duas pectinas. Isso pode estar relacionado à sua massa molar e possibilidade de interação com o PVOH.

Para as amostras *P15PC2*, *P15dPC2* e *P15PPC2* (FIGURA 11) foi possível observar que diferenças nas viscosidades ficaram menos evidentes. Isso pode ter ocorrido pelo fato de que a proporção de PVOH é maior do que para as outras amostras, sendo assim, ele pode estar sendo o fator dominante no comportamento, impossibilitando que as pectinas se sobressaíam. Entretanto, quando se observa os valores do ajuste matemático das curvas pelo modelo de Ostwald de Waele, (TABELA

6), é possível constatar que o parâmetro K seguiu a mesma tendência das amostras P10PC2, P10dPC2 e P10PPC2, em que a viscosidade das amostras seguiu a ordem: P15dPC2>P15PPC2>P15PC2, pelas mesmas razões que foram explicitadas anteriormente. O parâmetro n apresentou o valor de 0,9109, 0,8548 e 0,8186 para os sistemas P15PC2, P15dPC2 e P15PPC2, respectivamente, indicando comportamento de fluido Newtoniano.

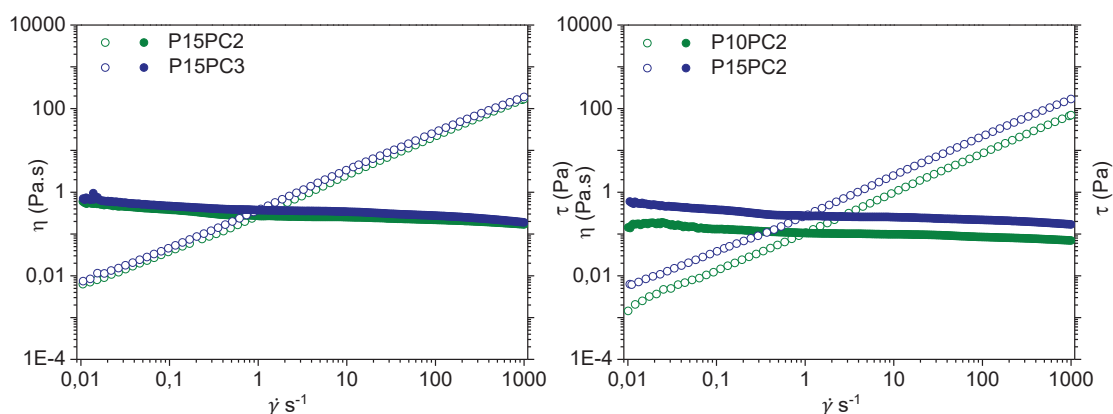
Para as amostras P15PC3, P15dPC3 e P15PPC3 (FIGURA 11), em que a concentração de pectina foi maior, foi possível observar que a dispersão preparada a partir do PVOH juntamente com a pectina PPC demonstrou maior viscosidade a partir da taxa de cisalhamento de $0,06 \text{ s}^{-1}$. Este fato foi evidenciado ao observar-se os parâmetros obtidos do ajuste das curvas pelo modelo de Ostwald de Waele, cujos valores estão apresentados na TABELA 6, em que o K seguiu a ordem P15PPC3>P15dPC3>P15PC3. Este fato pode ser um indício de que a PPC tem a possibilidade de interagir melhor com o PVOH em concentrações maiores, favorecendo o enovelamento das cadeias e fazendo com que o fluido apresente maior resistência ao fluxo. A tendência apresentada pelas pectinas PC e dPC corroborou com os dados analisados anteriormente para as outras concentrações. O parâmetro n apresentou os valores 0,8885, 0,856 e 0,8293 para as amostras P15PC3, P15dPC3 e P15PPC3, respectivamente, indicando comportamento menos newtoniano.

Para as amostras P20PC4, P20dPC4 e P20PPC4 (FIGURA 11), ficou ainda mais evidente que a pectina PPC é capaz de exercer maior influência na viscosidade quando está presente em concentrações maiores. Isso fica mais evidente quando se observa os valores dos parâmetros obtidos do ajuste das curvas pelo modelo de Ostwald de Waele (TABELA 6), em que o valor de K para a amostra P20PPC4 foi dez vezes maior do que para a P20PC4. Observando os valores de n verifica-se um que nestas concentrações, as misturas apresentam perfil pseudoplástico. Tal comportamento ocorre pelo fato de que quando as moléculas estão em repouso na dispersão, se orientam aleatoriamente devido à fraca interação entre as cadeias e quando o cisalhamento é aplicado, ocorre o alinhamento das moléculas em direção ao fluxo e por isso há a diminuição da viscosidade com o aumento da taxa de cisalhamento⁹⁷. Esse comportamento já foi observado por Ma e colaboradores⁹⁸, onde foi estudado o comportamento de viscosidade de dispersões de álcool polivinílico e goma de tara, que é uma galactomanana formada por manose e galactose⁹⁹. E ainda por Lewandowska e colaboradores, em que foi estudado o comportamento de fluxo

de misturas de PVOH (10% m/m) e pectina com baixo GM (3%) em diferentes temperaturas (40°C e 70°C), foi observado neste estudo que o aumento da temperatura diminui o comportamento pseudoplástico das misturas, de modo que as ligações de hidrogênio são destruídas no processo¹⁰⁰.

Foram plotados também gráficos comparativos a fim de verificar a influência de cada polímero (PVOH e pectina) nas dispersões. Na FIGURA 12 são mostrados os resultados para as dispersões com a mesma concentração de PVOH variando a concentração de PC (gráfico A) e depois mantendo a concentração de PC constante e variando a concentração de PVOH (gráfico B). Analisando as curvas de viscosidade percebe-se, que as curvas apresentaram perfis semelhantes com variações nos parâmetros reológicos obtidos do ajuste das curvas pelo modelo de Ostwald de Waele, cujos valores estão apresentados na TABELA 7. Comparando as amostras em que a concentração de PC foi mantida constante e a concentração de PVOH foi variada, ao analisar o valor de K, obtido do ajuste das curvas pelo modelo de Ostwald de Waele e apresentados na TABELA 7, observa-se que a variação na concentração de PVOH parece influenciar mais na viscosidade da mistura do que a variação na concentração de pectina.

FIGURA 12. CURVAS DE FLUXO E VISCOSIDADE PARA AS DISPERSÕES COMPARANDO P15PC2 COM P15PC3 E P10PC2 COM P15PC2 A 25°C, UTILIZANDO-SE O SENSOR C60/2°TiL NO MODO CR. OS SÍMBOLOS ABERTOS REFEREM-SE À CURVA DE FLUXO E OS SÍMBOLOS PREENCHIDOS REFEREM-SE À CURVA DE VISCOSIDADE



FONTE: O AUTOR (2019)

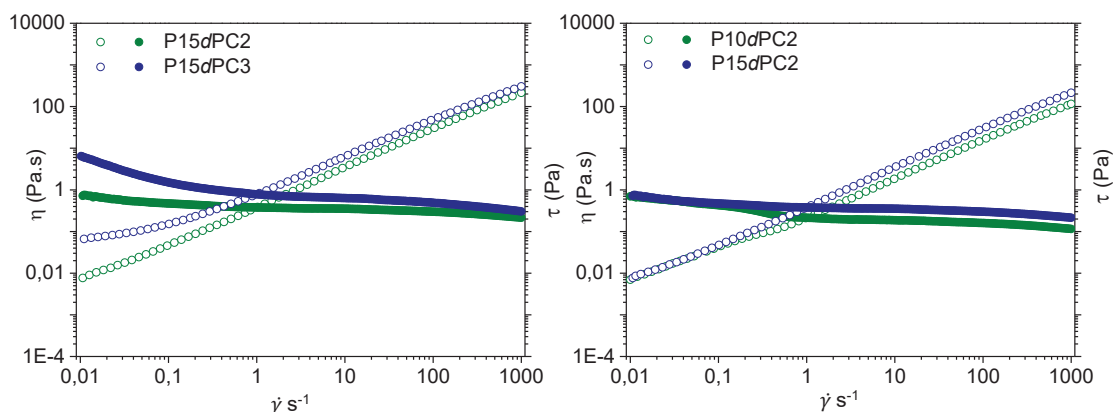
TABELA 7. VALORES DE REGRESSÃO DAS CURVAS DE VISCOSIDADE, PELO MODELO DE OSTWALD DE WAELE, PARA AS AMOSTRAS P15PC2, P15PC3 E P10PC2.

	K [Pa.s ⁿ]	n	R ²
P15PC2	0,370	0,88	0,99
P15PC3	0,597	0,84	0,99
P10PC2	0,130	0,91	1
P15PC2	0,370	0,88	0,99

FONTE: O AUTOR (2019)

Quando observamos a mesma comparação com as misturas feitas com a amostra *d*PC (FIGURA 13 e TABELA 8), pode-se constatar que a *d*PC exerce uma influência maior na viscosidade da dispersão, pois quando se compara o parâmetro K para P15*d*PC2 e P15*d*PC3, o valor obtido para a maior concentração de *d*PC é o dobro (0,5892 e 1,251, respectivamente). Comparando o K para as amostras P10*d*PC2 e P15*d*PC2, (0,3189 e 0,5892, respectivamente) também houve diferença no valor, porém essa diferença foi menor do que entre P15*d*PC2 e P15*d*PC3. Este fato pode ser um indício de que a *d*PC, que é mais viscosa do que a PC, exerce maior influência na viscosidade das dispersões do que o PVOH.

FIGURA 13. CURVAS DE FLUXO E VISCOSIDADE PARA AS DISPERSÕES COMPARANDO P15*d*PC2 COM P15*d*PC3 E P10*d*PC2 COM P15*d*PC2 A 25°C, UTILIZANDO-SE O SENSOR C60/2°TiL NO MODO CR. OS SÍMBOLOS ABERTOS REFEREM-SE À CURVA DE FLUXO E OS SÍMBOLOS PREENCHIDOS REFEREM-SE À CURVA DE VISCOSIDADE



FONTE: O AUTOR (2019)

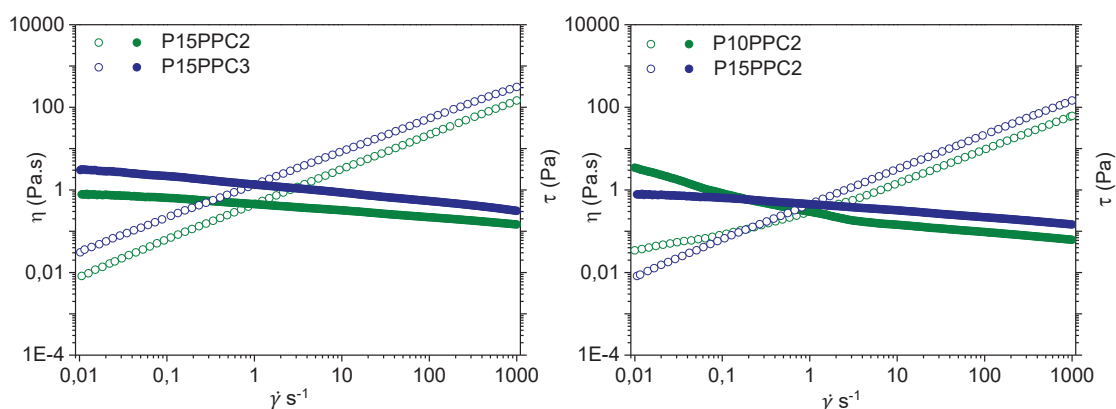
TABELA 8. VALORES DE REGRESSÃO DAS CURVAS DE VISCOSIDADE, PELO MODELO DE OSTWALD DE WAELE, PARA AS AMOSTRAS P15dPC2, P15dPC3 E P10dPC2.

	K [Pa.s ⁿ]	n	R ²
P15dPC2	0,599	0,85	0,99
P15dPC3	1,251	0,80	0,99
P10dPC2	0,319	0,85	0,99
P15dPC2	0,599	0,85	0,99

FONTE: O AUTOR (2019)

Quando avaliou-se o papel do PVOH e da PPC na viscosidade das misturas, (FIGURA 14 e TABELA 9) pode-se constatar que a PPC exerce uma influência bastante semelhante à dPC na viscosidade e no comportamento de fluxo das misturas. Quando se compara o parâmetro K para P15PPC2 e P15PPC3, (0,4765 e 1,45, respectivamente) observa-se que aumentando a concentração de pectina o valor de K foi três vezes maior, mostrando que a PPC exerce uma influência significativa na viscosidade das dispersões. Comparando o K para as amostras P10PPC2 e P15PPC2, 0,2181 e 0,4765, respectivamente, também houve diferença nos valores, sugerindo que para esta mistura, a variação de proporção de ambos os polímeros parecer influenciar na viscosidade.

FIGURA 14. CURVAS DE FLUXO E VISCOSIDADE PARA AS DISPERSÕES COMPARANDO P15PPC2 COM P15PPC3 E P10PPC2 COM P15PPC2 A 25°C, UTILIZANDO-SE O SENSOR C60/2°TIL NO MODO CR. OS SÍMBOLOS ABERTOS REFEREM-SE À CURVA DE FLUXO E OS SÍMBOLOS PREENCHIDOS REFEREM-SE À CURVA DE VISCOSIDADE



FONTE: O AUTOR (2019)

TABELA 9. VALORES DE REGRESSÃO DAS CURVAS DE VISCOSIDADE, PELO MODELO DE OSTWALD DE WAELE, PARA AS AMOSTRAS P15PPC2, P15PPC3 E P10PPC2.

	K [Pa.sⁿ]	n	R²
P15PPC2	0,476	0,83	1
P15PPC3	1,450	0,78	0,99
P10PPC2	0,218	0,82	1
P15PPC2	0,476	0,83	1

FONTE: O AUTOR (2019)

Baseado em todas as informações até aqui apresentadas, pode-se afirmar que há um claro indicativo de que a pectina, mesmo sendo a fração presente em menor quantidade, exerce uma influência significativa no comportamento de fluxo das dispersões, que pode estar relacionado ao entrelaçamento das cadeias de polissacarídeo proveniente do grande número de hidroxilas presentes na estrutura⁹⁸. As pectinas mais viscosas *d*PC e PPC influenciam mais do que a pectina que apresenta a menor viscosidade, PC. O fato da viscosidade apresentar-se dependente da composição da mistura polimérica pode ser conferido aos efeitos de interações eletrostáticas, ligações de hidrogênio ou fenômenos de associação¹⁰¹.

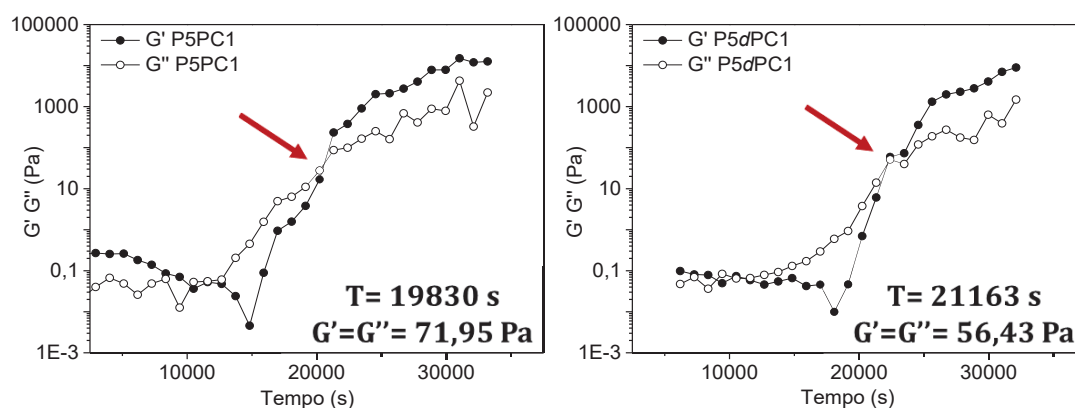
4.2.2 Estudo da gelificação dos hidrogéis no reômetro

Os resultados apresentados nesta seção dizem respeito a experimentos que tiveram o intuito investigar se as diferentes pectinas exerciam influência no processo da gelificação dos hidrogéis. Este foi realizado para todas as concentrações citadas na seção 3.1.4 para as amostras PC e *d*PC e apenas para a mistura que parte da dispersão 15% de PVOH e 2% de pectina, utilizando a pectina PPC, pelo fato de que não houve tempo hábil para a sua realização em todas as concentrações. A FIGURA 15 mostra o perfil de gelificação dos hidrogéis P5PC1, e P5*d*PC1, na temperatura de 60°C, realizado no reômetro e utilizando ácido cítrico como agente reticulante, avaliando-se a dependência dos módulos G' e G'' em função do tempo.

Para ser considerado um gel, algumas características reológicas precisam ser levadas em consideração, como por exemplo, o módulo elástico (G') deve ser independente da frequência de deformação e maior que o módulo viscoso (G'') em toda a faixa de frequência^{102,103}. A partir destas curvas foi possível obter o tempo de

gelificação dos hidrogéis, que é definido como o momento em que os módulos G' e G'' se igualam e a partir deste ponto, o módulo G' passa a ser maior do que o módulo G'' , indicando o comportamento característico de um gel¹⁰². Ao analisar os gráficos observa-se que o perfil de gelificação foi semelhante para essas duas amostras. Isso fica mais facilmente visível ao observar-se os valores de tempo de gelificação apresentados. Os valores de tempo de gelificação também foram muito próximos para as duas amostras, 19830 segundos para a P5PC1 e 21163 segundos para a mistura P5dPC1. Este fato pode estar relacionado à presença de grande quantidade de água no sistema, essa situação pode tornar as interações polímero-solvente mais favorecidas do que as interações polímero-polímero, que são as interações atuantes na formação do gel. Assim sendo, para o caso dessa concentração o tipo de pectina utilizada não exerce influência significativa no processo de gelificação do material.

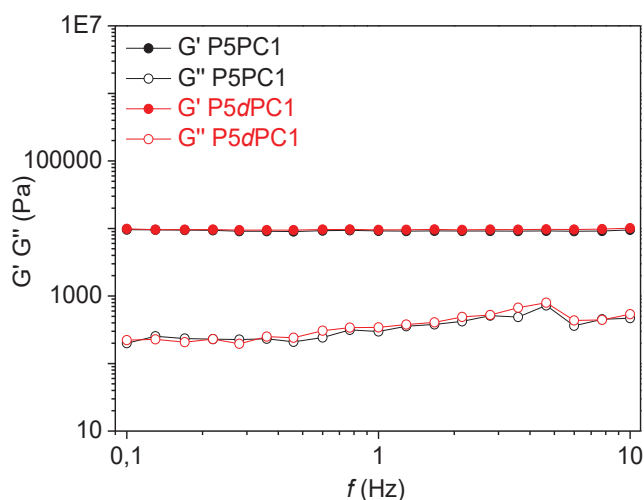
FIGURA 15. DEPENDÊNCIA DOS MÓDULOS G' E G'' EM RELAÇÃO AO TEMPO, EM TEMPERATURA FIXA DE 60°C, FREQUÊNCIA FIXA EM 1 Hz E DEFORMAÇÃO FIXA DE 1%. ANÁLISE DO PERFIL DE GELIFICAÇÃO DO HIDROGEL, PREPARADOS A PARTIR DAS DIPERSÕES DE PVOH E PECTINA COMERCIAL E PVOH E PECTINA COMERCIAL DIALISADA, UTILIZANDO ÁCIDO CÍTRICO COMO AGENTE RETICULANTE, P5PC1 E P5dPC1 NO REÔMETRO.



FONTE: O AUTOR (2019)

Após o período de 9 horas que foi estipulado para a gelificação do hidrogel, baseado no trabalho anterior realizado por Sampaio e colaboradores¹⁵, foi realizado o experimento de varredura de frequência, com o propósito de verificar o comportamento viscoelástico do hidrogel formado, bem como para comparar a força destes hidrogéis (FIGURA 16 e TABELA 10).

FIGURA 16. VARREDURAS DE FREQUÊNCIA HIDROGÉIS P5PC1 E P5dPC1 APÓS A GELIFICAÇÃO NO REÔMETRO. EXPERIMENTO REALIZADO A 25°C, COM DEFORMAÇÃO FIXA DE 1%.



FONTE: O AUTOR (2019)

Na varredura de frequência também foi possível observar que houve a formação do gel, pois G' apresentou-se maior valor do que G'' em toda faixa de frequência e ainda os módulos não são dependentes da frequência. Não foi possível observar diferenças significativas na força dos hidrogéis, sugerindo, mais uma vez que em baixas concentrações as diferentes propriedades das pectinas utilizadas não exercem influência considerável no processo de formação e na força do hidrogel.

TABELA 10. VALORES DE G' E G'' PARA OS HIDROGÉIS P5PC1 E P5dPC1 NA FREQUÊNCIA FIXA DE 1 HZ.

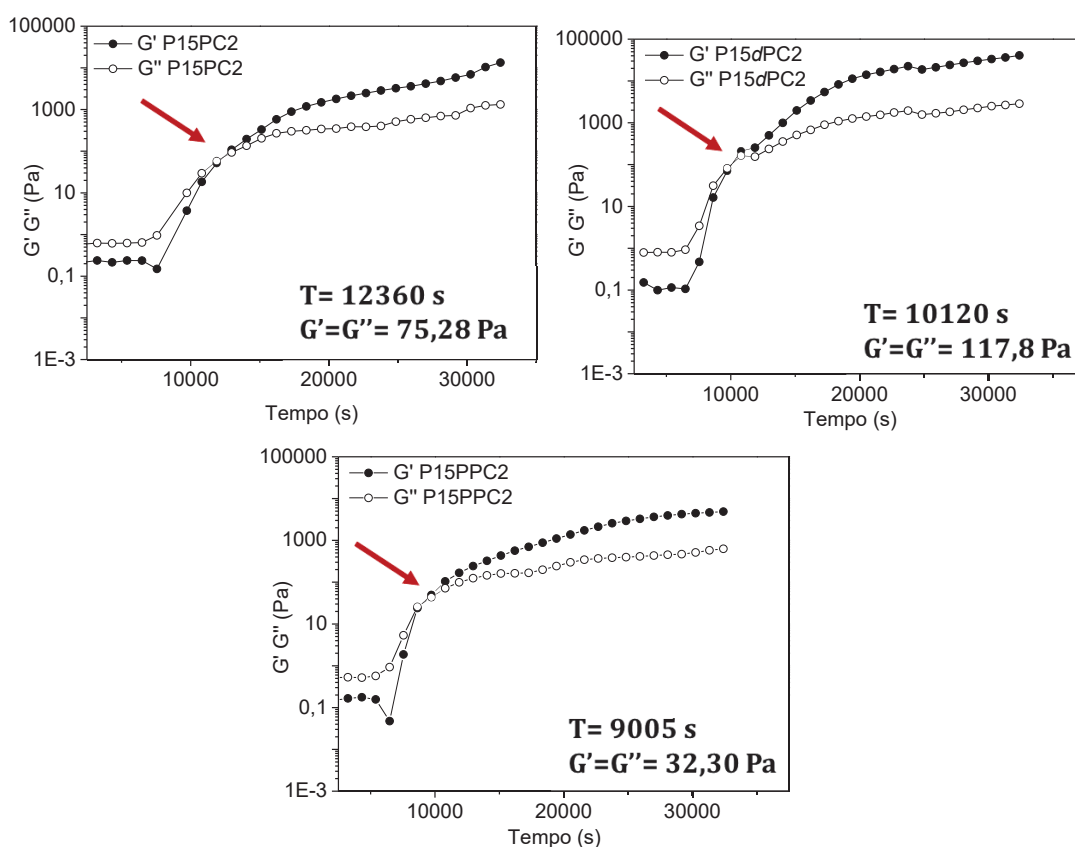
	G' (Pa)	G'' (Pa)	G'/G''
P5PC1	9202	297,7	30,91
P5dPC1	9521	342,2	27,82

FONTE: O AUTOR (2019)

Na FIGURA 17 são mostrados os perfis do processo de gelificação dos hidrogéis P15PC2, P15dPC2 e P15PPC2, Foi escolhida essa concentração para testar a pectina PPC neste experimento pelo fato de que este hidrogel foi o que apresentou as melhores propriedades de extração de hormônios esteroidais no trabalho anterior¹⁵ do grupo CroME em colaboração com o grupo GPMin. Analisando os tempos de gelificação, observa-se que o hidrogel preparado a partir do PVOH com a pectina PPC foi formado no menor tempo, seguido pelo que foi preparado a partir

do álcool polivinílico com a pectina *d*PC e por último o que foi preparado a partir do álcool polivinílico com a pectina PC. Esse é um indicativo de que as propriedades da pectina como massa molar, grau de metil esterificação e presença de compostos de baixa massa, podem influenciar o processo de gelificação do material.

FIGURA 17. DEPENDÊNCIA DOS MÓDULOS G' E G'' EM RELAÇÃO AO TEMPO, EM TEMPERATURA FIXA DE 60°C, FREQUÊNCIA FIXA EM 1 Hz E DEFORMAÇÃO FIXA DE 1%. ANÁLISE DO PERFIL DE GELIFICAÇÃO DO HIDROGEL, PREPARADOS A PARTIR DAS DIPERSÕES DE PVOH E PECTINA COMERCIAL E PVOH, PECTINA COMERCIAL DIALISADA E PECTINA DE MARACUJÁ UTILIZANDO ÁCIDO CÍTRICO COMO AGENTE RETICULANTE, P15PC2, P15*d*PC2 e P15PPC2 NO REÔMETRO.



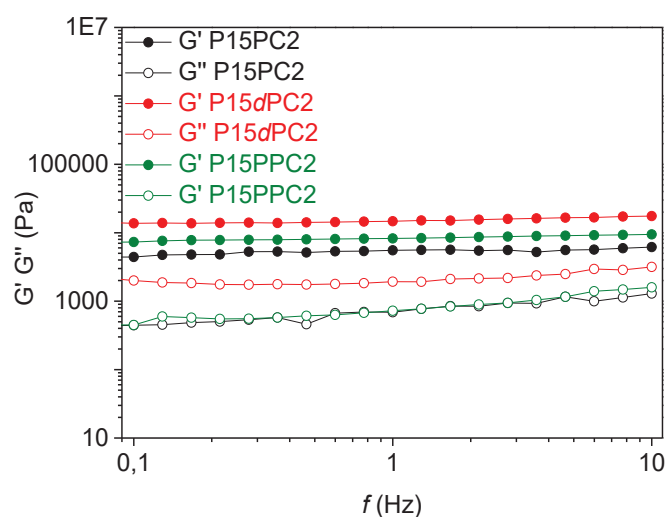
FONTE: O autor (2019)

Os compostos de baixa massa presentes na pectina PC podem estar dificultando o processo da gelificação do material, de forma que esses compostos têm as interações polímero-solvente mais favorecidas do que as interações polímero-polímero, que atuam na formação da rede tridimensional. Fato que corrobora com os resultados obtidos na varredura de frequência dos hidrogéis (FIGURA 18) em que é possível observar que o gel formado a partir da PC foi o mais fraco dentre os três analisados.

O tempo de gelificação depende das estruturas poliméricas utilizadas, desse modo este foi avaliado principalmente para averiguar se o processo ocorreria diferentemente a depender da pectina empregada. Como conclusão parcial desses experimentos, observou-se que em concentrações maiores, há de fato, diferenças nos tempos de gelificação, dependendo da pectina utilizada, que podem ocasionar alterações no processo de formação do gel.

Na varredura de frequência (FIGURA 18 e TABELA 11) ainda é possível notar que o hidrogel P15PPC2 é o gel mais forte, baseado na relação entre os módulos elástico e viscoso⁶⁶, que foi $G'/G''=11,4$ para este hidrogel. Para os outros dois hidrogéis, P15PC2 e P15dPC2, o valor foi de 8,0 e 7,6, respectivamente. Sugere-se que as razões pelas quais a pectina PPC pode ocasionar a formação do gel mais forte estão relacionadas ao tamanho das cadeias, disponibilidade de ramificações e ainda a mobilidade de cadeias laterais, que podem estar interferindo na formação das zonas de junção.

FIGURA 18. VARREDURAS DE FREQUÊNCIA HIDROGÉIS P15PC2, P15dPC2 e P15PPC2 APÓS A GELIFICAÇÃO NO REÔMETRO. EXPERIMENTO REALIZADO A 25°C, COM DEFORMAÇÃO FIXA DE 1%.



FONTE: O AUTOR (2019)

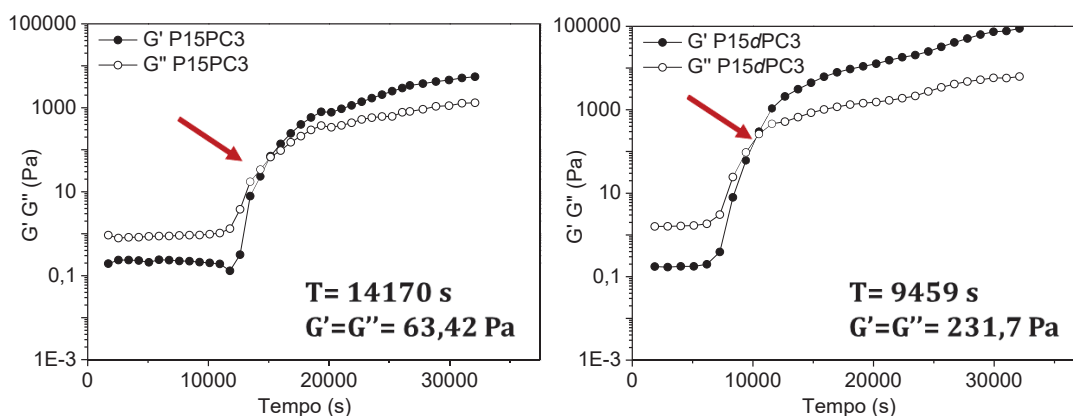
TABELA 11. VALORES DE G' E G'' PARA OS HIDROGÉIS P15PC2, P15dPC2 e P15PPC2 NA FREQUÊNCIA FIXA DE 1 HZ.

	G' (Pa)	G'' (Pa)	G'/G''
P15PC2	5534	688,3	8,0
P15dPC2	14730	1928	7,6
P15PPC2	8255	724,9	11,4

FONTE: O AUTOR (2019)

Comparando o comportamento de gelificação dos hidrogéis P15PC3 e P15dPC3, (FIGURA 19). Observou-se que o hidrogel formado a partir de PVOH e dPC foi o que gelificou no menor tempo, concordando com a hipótese de que os compostos de baixa massa presentes na PC dificultam a formação do hidrogel

FIGURA 19. DEPENDÊNCIA DOS MÓDULOS G' E G'' EM RELAÇÃO AO TEMPO, EM TEMPERATURA FIXA DE 60°C, FREQUÊNCIA FIXA EM 1 Hz E DEFORMAÇÃO FIXA DE 1%. ANÁLISE DO PERFIL DE GELIFICAÇÃO DO HIDROGEL, PREPARADOS A PARTIR DAS DIPERSÕES DE PVOH E PECTINA COMERCIAL E PVOH E PECTINA COMERCIAL DIALISADA, UTILIZANDO ÁCIDO CÍTRICO COMO AGENTE RETICULANTE, P15PC3 E P15dPC3 NO REÔMETRO.

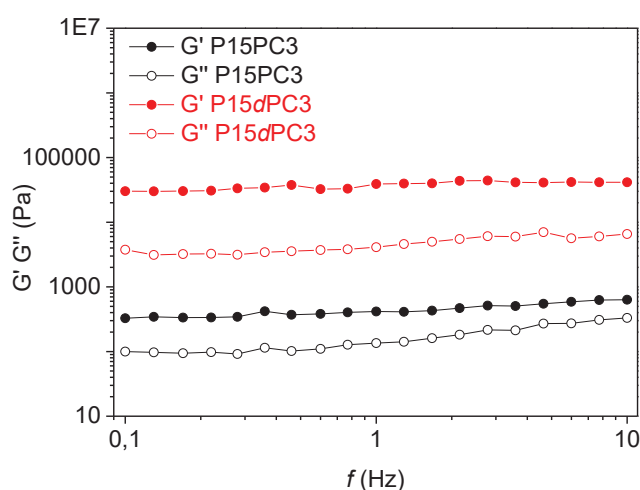


FONTE: O AUTOR (2019)

Na FIGURA 20 são apresentadas as varreduras de frequência dos hidrogéis P15PC3 e P15dPC3 após a gelificação no reômetro e na TABELA 12 são mostrados os valores dos módulos G' e G'' na frequência fixa de 1 Hz. Analisando o perfil do gráfico e os valores da tabela, pode-se observar que os valores concordam com aqueles obtidos para os hidrogéis P15PC2 e P15dPC2, em que o hidrogel preparado

a partir da *d*PC é o gel mais forte. Porém, aumentando a concentração de pectina, que é o caso dos hidrogéis P15PC3 e P15*d*PC3 é possível visualizar uma diferença ainda maior nos valores de força do gel. Sendo assim, pode-se concluir que um pequeno aumento na concentração de pectina, de 2% para 3%, pode causar uma alteração de 2,6X no valor de G' , o que mostra um aumento na força do gel formado. Comportamento semelhante já foi reportado por Chang e colaboradores¹⁰⁴, os autores desenvolveram um hidrogel baseado em álcool polivinílico e celulose e observaram que a força dos hidrogéis aumentou quando houve um incremento da quantidade de celulose no sistema.

FIGURA 20. VARREDURAS DE FREQUÊNCIA HIDROGÉIS P15PC3 E P15*d*PC3 APÓS A GELIFICAÇÃO NO REÔMETRO. EXPERIMENTO REALIZADO A 25°C, COM DEFORMAÇÃO FIXA DE 1%.



FONTE: O AUTOR (2019)

TABELA 12. VALORES DE G' E G'' PARA OS HIDROGÉIS P15PC3 E P15*d*PC3 NA FREQUÊNCIA FIXA DE 1 Hz.

	G' (Pa)	G'' (Pa)	G'/G''
P15PC3	415,6	135,2	3,07
P15 <i>d</i> PC3	39000	4112	9,48

FONTE: O AUTOR (2019)

4.2.3 Análise do comportamento viscoelástico dos hidrogéis preparados por aquecimento em estufa

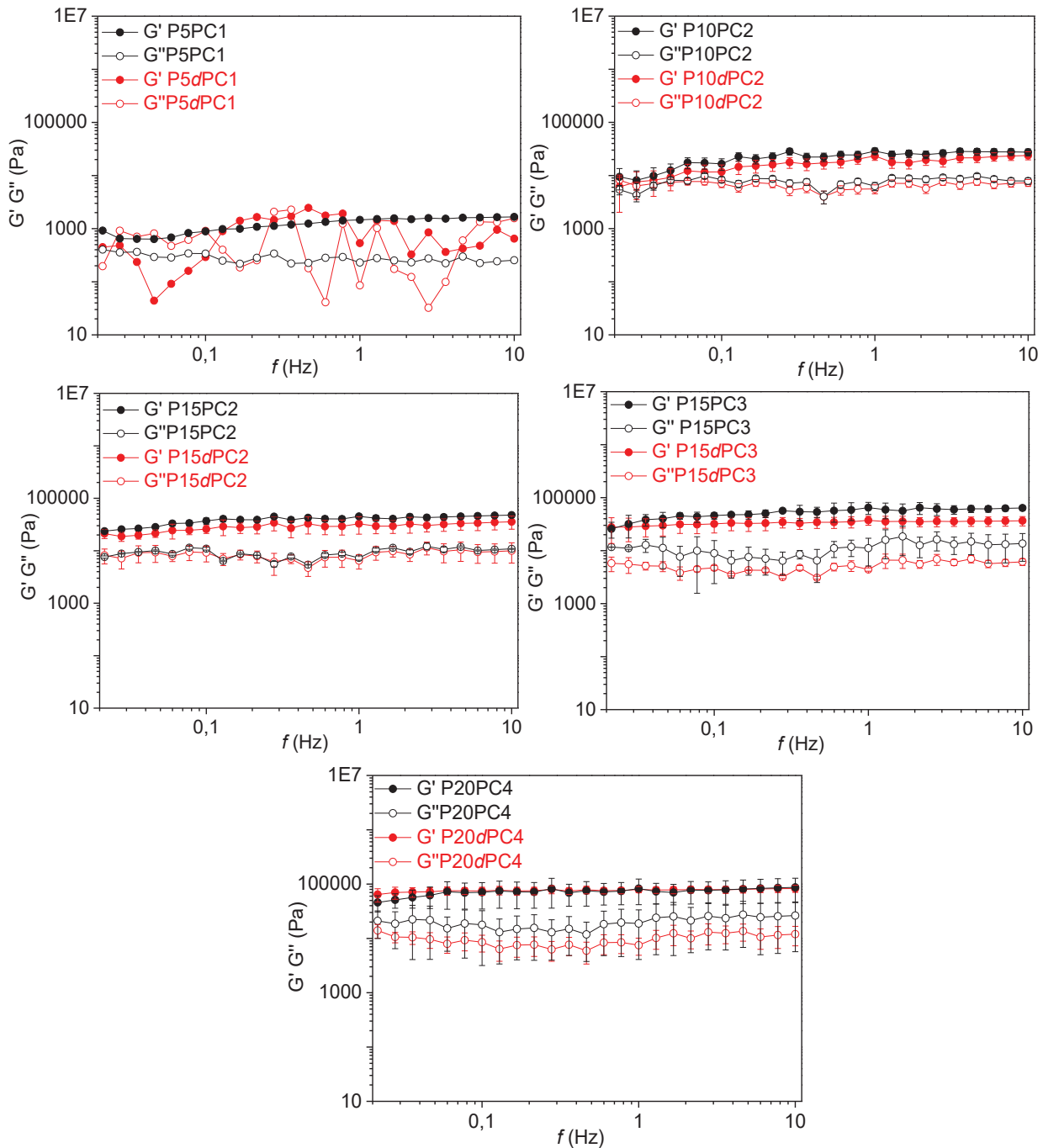
Nesta seção estão apresentadas as varreduras de frequência dos hidrogéis preparados por aquecimento na estufa. Este experimento foi realizado para todas as concentrações (seção 3.1.4) para os hidrogéis preparados a partir de álcool polivinílico e PC e álcool polivinílico e *d*PC e para umas das concentrações utilizando a pectina PPC, P15PPC2, visto que essa foi a concentração que apresentou as melhores propriedades de extração de hormônios esteroidais em um trabalho anterior¹⁵ realizado pelo grupo de CroME em colaboração com o grupo GPMIn. Estes hidrogéis são diferentes daqueles preparados no reômetro visto que no reômetro não há evaporação de água do sistema e na estufa toda a água do sistema é removida. Na FIGURA 21 podem ser observados os gráficos das varreduras de frequência dos hidrogéis P5PC1, P5*d*PC1, P10PC2, P10*d*PC2, P15PC2, P15*d*PC2, P15PC3, P15*d*PC3, P20PC4 E P20*d*PC4 após a gelificação na estufa a 60°C.

De modo geral, todos os hidrogéis apresentaram comportamento praticamente independente da frequência, uma vez que os módulos G' e G'' se mantiveram praticamente constantes na faixa de frequência estudada.

Comparando os hidrogéis formados pelas pectinas cítricas (dialisada e não dialisada), percebe-se que nas concentrações menores (P5PC1 e P5*d*PC1) não houve diferenças significativas na força dos hidrogéis formados. Isso pode ser melhor observado nos valores apresentados na TABELA 13, em que são mostrados os valores de G' e G'' para os hidrogéis na frequência fixa de 1 Hz e também a relação entre os módulos (G'/G''). Existem relatos na literatura que mostram que a quantidade de polímero presente na dispersão precursora do hidrogel pode afetar diretamente as propriedades mecânicas do hidrogel resultante^{98,105}. Neste estudo este fato pode ser claramente observado. Analisando os dados obtidos, nas menores concentrações os valores para a relação de G'/G'' foram muito semelhantes, a diferença entre eles foi menor que uma unidade. Quando houve o incremento da concentração de ambos os polímeros, foi possível observar que os valores obtidos para a relação entre G' e G'' apresentou valores maiores para os hidrogéis preparados a partir do PVOH e da pectina *d*PC. Sugere-se que isso ocorreu pelo fato de haver a presença de compostos de baixa massa molar na pectina PC que podem estar dificultando o processo de gelificação dos hidrogéis, formando assim um gel mais fraco. Nas menores

concentrações pode haver mais interações entre as cadeias dos polímeros com o solvente, nos momentos antes de sua evaporação total, desfavorecendo as interações entre as cadeias poliméricas, que atuam na formação da rede tridimensional de hidrogel.

FIGURA 21. VARREDURAS DE FREQUÊNCIA DOS HIDROGÉIS P5PC1, P5dPC1, P10PC2, P10dPC2, P15PC2, P15dPC2, P15PC3, P15dPC3, P20PC4 E P20dPC4, PREPARADOS NA ESTUFA. ANÁLISE REALIZADA NA TEMPERATURA DE 25°C E 1% DE DEFORMAÇÃO.



FONTE: O AUTOR (2019)

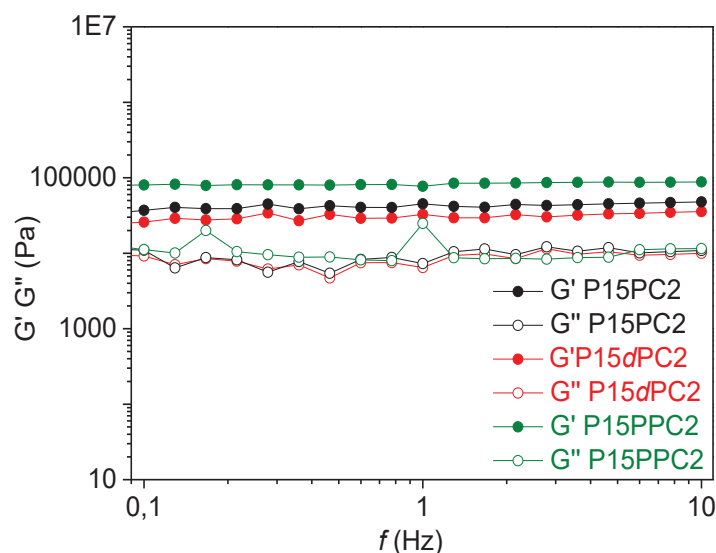
TABELA 13. VALORES DE G' E G'' PARA OS HIDROGÉIS P5PC1, P5dPC1, P10PC2, P10dPC2, P15PC2, P15dPC2, P15PC3, P15dPC3, P20PC4 E P20dPC4, PREPARADOS NA ESTUFA, NA FREQUÊNCIA FIXA DE 1 Hz. ANÁLISE REALIZADA NA TEMPERATURA DE 25°C E 1% DE DEFORMAÇÃO.

	G' (Pa)	G'' (Pa)	G'/G''
P5PC1	1462	230	6,3
P5dPC1	533	85,44	6,2
P10PC2	28776,5	6283,5	4,6
P10dPC2	23346,5	5584,5	4,2
P15PC2	45075	7301	6,2
P15dPC2	32690	6455,5	5,0
P15PC3	64810	11432	5,7
P15dPC3	39106	4367	9,0
P20PC4	82765	18806,5	4,4
P20dPC4	79520	7495	10,6

FONTE: O AUTOR (2019)

Comparando os hidrogéis P15PC2, P15dPC2 E P15PPC2, pode-se observar que o hidrogel formado a partir da PPC se apresentou como um gel mais forte do que os outros dois, como está mostrado na FIGURA 22. Uma hipótese para que isso tenha ocorrido é o fato de que a PPC tem a menor massa molar e pode interagir melhor com o PVOH, possibilitando assim a formação de uma rede mais reticulada. Na TABELA 14, em que são apresentados os valores de G' e G'' para os hidrogéis P15PC2, P15dPC2 E P15PPC2, pode-se observar também a relação de G'/G'' , em que o maior valor foi para o hidrogel P15PPC2, sendo 9,2, que foi quase o dobro do valor obtido para os outros dois hidrogéis.

FIGURA 22. VARREDURAS DE FREQUÊNCIA DOS HIDROGÉIS P15PC2, P15dPC2 E P15PPC2 PREPARADOS NA ESTUFA A 60°C. ANÁLISE REALIZADA NA TEMPERATURA DE 25°C E 1% DE DEFORMAÇÃO.



FONTE: O AUTOR (2019)

TABELA 14. VALORES DE G' E G'' PARA OS HIDROGÉIS P15PC2, P15dPC2 E P15PPC2, PREPARADOS NA ESTUFA, NA FREQUÊNCIA FIXA DE 1 Hz. ANÁLISE REALIZADA NA TEMPERATURA DE 25°C E 1% DE DEFORMAÇÃO.

	G' (Pa)	G'' (Pa)	G'/G''
P15PC2	45075	7301	6,2
P15dPC2	32690	6455,5	5,0
P15PPC2	77210	8342,5	9,2

FONTE: O AUTOR (2019)

Comparando os resultados das varreduras de frequência com as curvas de fluxo e viscosidade e com as gelificações do hidrogéis realizadas no reômetro, percebe-se que os três experimentos levaram a resultados que concordam entre si. As diferenças nas propriedades das pectinas não causam alterações nas propriedades do sistema quando os polímeros estão em baixas concentrações (concentração da dispersão precursora: 5% (m/m) de PVOH e 1% (m/m) de pectina), porém quando há um aumento na concentração de ambos (concentração da dispersão precursora: 15% (m/m) de PVOH e 2% (m/m) de pectina), podem ser observadas diferenças no comportamento das dispersões e dos hidrogéis, dependendo da pectina que está sendo associada ao álcool polivinílico. As diferenças

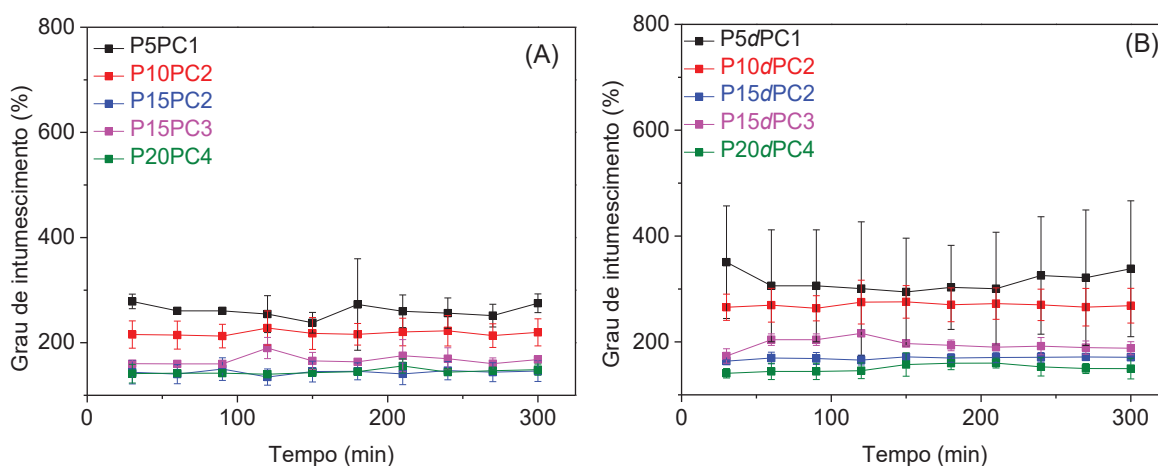
ficaram evidenciadas na viscosidade das dispersões, no tempo de gelificação e na força dos hidrogéis. Então, conclui-se que a concentração dos polímeros é um fator tão importante no processo de formação do hidrogel quanto as propriedades da pectina que está sendo empregada.

4.3 GRAU DE INTUMESCIMENTO E SINERESE DOS HIDROGÉIS PREPARADOS NA ESTUFA

4.3.1 Estudo do grau de intumescimento dos hidrogéis

O grau de intumescimento de um hidrogel está diretamente relacionado a algumas propriedades físico-químicas dos polímeros utilizados, dentre elas pode-se citar a estrutura química, massa molar e grau de reticulação⁴. Na FIGURA 23 são apresentados os resultados do estudo do grau de intumescimento dos hidrogéis P5PC1, P5dPC1, P10PC2, P10dPC2, P15PC2, P15dPC2, P15PC3, P15dPC3, P20PC4 E P20dPC4 preparados na estufa. Essa análise foi realizada a 25°C.

FIGURA 23. GRAU DE INTUMESCIMENTO DOS HIDROGÉIS PREPARADOS NA ESTUFA A 60°C A PARTIR DAS MISTURAS DE PVOH E PECTINA CÍTRICA COMERCIAL E PVOH E PECTINA CÍTRICA COMERCIAL DIALISADA, UTILIZANDO ÁCIDO CÍTRICO COMO AGENTE RETICULANTE P5PC1, P5dPC1, P10PC2, P10dPC2, P15PC2, P15dPC2, P15PC3, P15dPC3, P20PC4 E P20dPC4. ESTUDO REALIZADO NA TEMPERATURA DE 25°C.

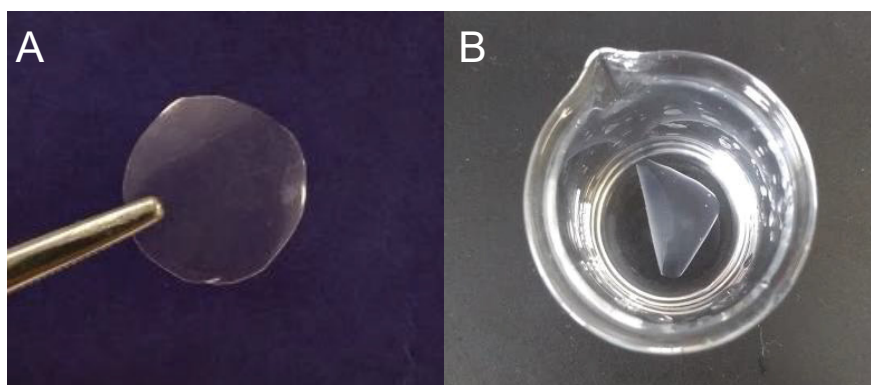


FONTE: O AUTOR (2019)

Observou-se que todos os hidrogéis atingiram o equilíbrio de intumescimento antes da primeira medida ser realizada (30 minutos). Os hidrogéis preparados a partir das dispersões menos concentradas foram os que atingiram os maiores graus de

intumescimento (aproximadamente 300%). Isso se deu pelo fato de que estes hidrogéis possuem a menor quantidade de massa de polímero em sua estrutura e por consequência, há mais espaços vazios entre as cadeias. Esses espaços vazios podem ser preenchidos pela água. Na FIGURA 24 pode ser observado um disco de extração seco e outro intumescido.

FIGURA 24. HIDROGEL PREPARADOS NA ESTUFA A 60°C A PARTIR DAS MISTURAS DE PVOH E PECTINA CÍTRICA COMERCIAL UTILIZANDO ÁCIDO CÍTRICO COMO AGENTE RETICULANTE, P15PC2, SECO (A) E INTUMESCIDO (B).

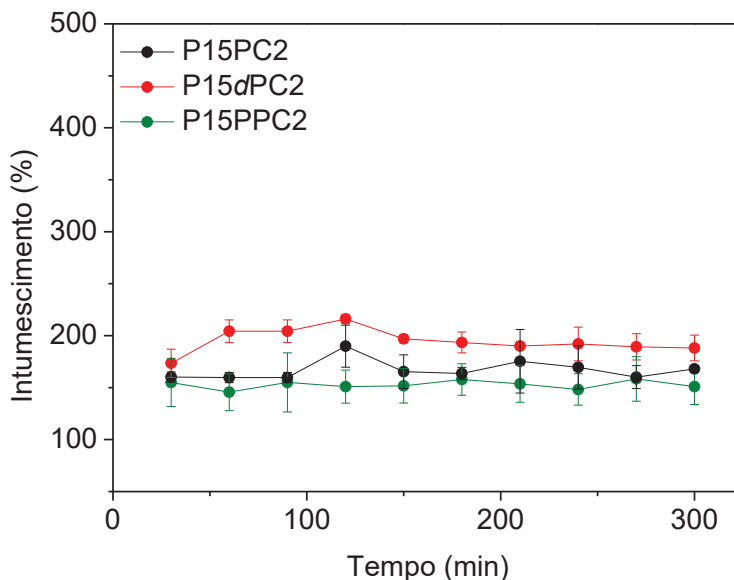


FONTE: O AUTOR (2019)

Comparando os hidrogéis com relação à pectina utilizada para o preparo, não se pode afirmar se a pectina foi ou não um fator determinante no grau de intumescimento, pois quando foi realizada a primeira medida, aos 30 minutos, todos os hidrogéis já tinham atingido o equilíbrio de intumescimento. Os hidrogéis preparados a partir das dispersões com as menores concentrações foram os que atingiram os maiores graus de intumescimento, é citado na literatura que esta propriedade está relacionada com a quantidade de polímero presente no hidrogel¹⁰⁵, quanto menor a quantidade de polímero que está na composição do hidrogel, sobram mais espaços vazios para que a água se introduza entre as cadeias de polímero.

Este estudo também foi realizado para uma das concentrações utilizando a pectina PPC, (P15PPC2), tais resultados são mostrados na FIGURA 25. Nessa concentração, observa-se que houve pequena variação no grau de intumescimento no tempo máximo (300 minutos) atingido para os três hidrogéis, que foi de 190%, 168% e 151% para os hidrogéis P15dPC2, P15PC2 e P15PPC2, respectivamente. Não foi realizado teste estatístico para analisar se essa diferença é significativa.

FIGURA 25. GRAU DE INTUMESCIMENTO DOS HIDROGÉIS PREPARADOS A PARTIR DAS MISTURAS DE PVOH E PECTINA CÍTRICA COMERCIAL E PVOH E PECTINA CÍTRICA COMERCIAL DIALISADA, UTILIZANDO ÁCIDO CÍTRICO COMO AGENTE RETICULANTE P15PC2, P15dPC2 E P15PPC2 PREPARADOS NA ESTUFA A 60°C. ESTUDO REALIZADO NA TEMPERATURA DE 25°C.



FONTE: O AUTOR (2019)

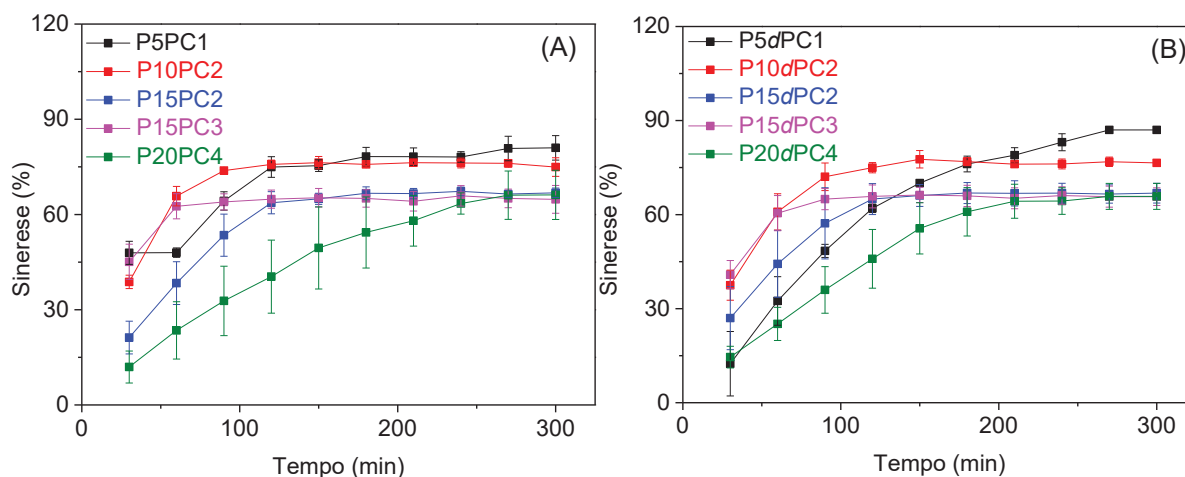
4.3.2 Sinerese dos hidrogéis preparados na estufa

A sinerese é definida como o processo de expulsão da água causado pela contração da rede polimérica. Este estudo foi realizado para os hidrogéis P5PC1, P5dPC1, P10PC2, P10dPC2, P15PC2, P15dPC2, P15PC3, P15dPC3, P20PC4 e P20dPC4 preparados na estufa. Essa análise foi realizada a 25°C. Os resultados estão apresentados na FIGURA 26.

Os hidrogéis preparados a partir das dispersões menos concentradas foram os que atingiram os maiores níveis de perda de água, sugere-se que seja pelo fato de que possuem maior quantidade de espaços vazios para serem preenchidos e assim tem mais água para ser liberada da rede polimérica, concordando com o estudo do grau de intumescimento, os hidrogéis que intumescem mais tem maior quantidade de água para eliminar.

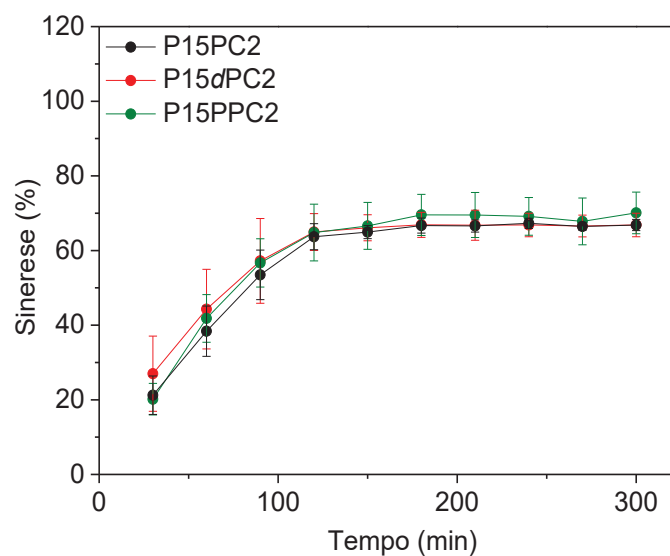
Este estudo também foi realizado para uma das concentrações utilizando a pectina PPC, P15PPC2, Tais resultados são mostrados na FIGURA 27. Utilizando a mesma proporção de polímeros e alterando apenas o tipo de pectina utilizada no processo de gelificação em estufa foi observado o mesmo perfil de sinerese ao longo do tempo.

FIGURA 26. PERFIL DE SINERESE DOS HIDROGÉIS PREPARADOS NA ESTUFA A 60°C A PARTIR DAS MISTURAS DE PVOH E PECTINA CÍTRICA COMERCIAL E PVOH E PECTINA CÍTRICA COMERCIAL DIALISADA, UTILIZANDO ÁCIDO CÍTRICO COMO AGENTE RETICULANTE, P5PC1, P5dPC1, P10PC2, P10dPC2, P15PC2, P15dPC2, P15PC3, P15dPC3, P20PC4 E P20dPC4. ESTUDO REALIZADO NA TEMPERATURA DE 25°C.



FONTE: O AUTOR (2019)

FIGURA 27. PERFIL DE PERDA DE ÁGUA DOS HIDROGÉIS PREPARADOS A PARTIR DAS MISTURAS DE PVOH E PECTINA CÍTRICA COMERCIAL, PVOH E PECTINA CÍTRICA COMERCIAL DIALISADA E PVOH E PECTINA DE MARACUJÁ, UTILIZANDO ÁCIDO CÍTRICO COMO AGENTE RETICULANTE P15PC2, P15dPC2 E P15PPC2 PREPARADOS NA ESTUFA A 60°C. ESTUDO REALIZADO NA TEMPERATURA DE 25°C.

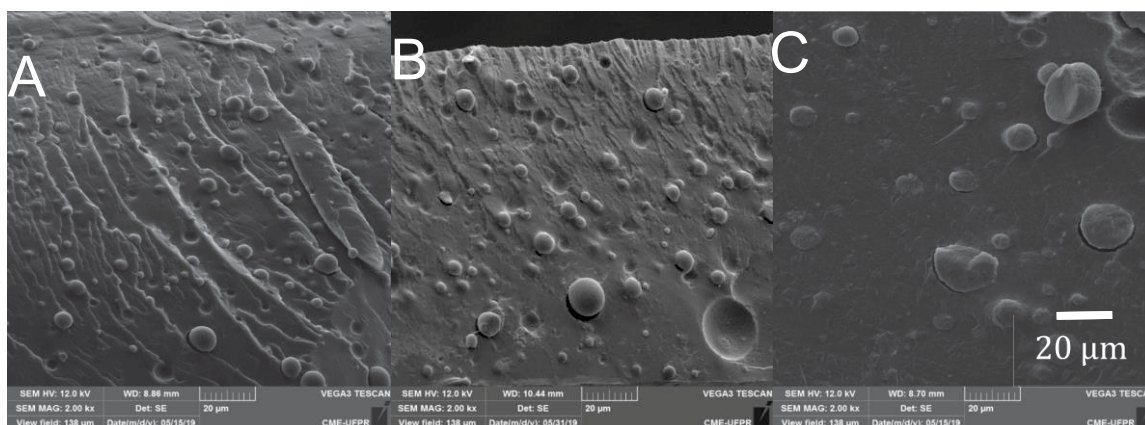


FONTE: O AUTOR (2019)

4.4 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DOS HIDROGÉIS POR MEV

Os aspectos morfológicos dos hidrogéis preparados na estufa P15PC2, P15dPC2 e P15PPC2 são mostrados nas imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) (FIGURA 28). Para esta análise os hidrogéis foram secos, congelados com nitrogênio líquido e criofraturados. Desse modo as imagens apresentadas se referem as seções transversais dos discos que sofreram essa fratura.

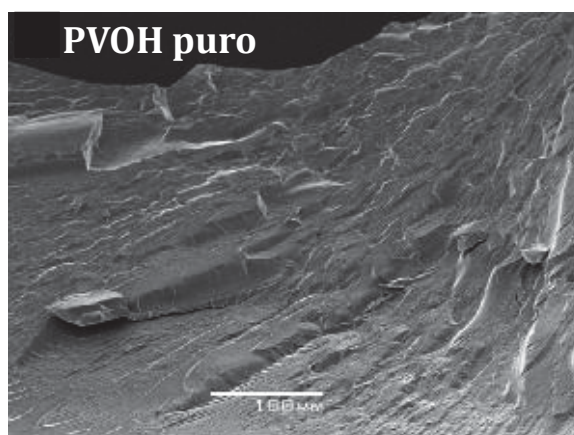
FIGURA 28. IMAGENS DOS HIDROGÉIS P15PC2 (A), P15dPC2 (B) E P15PPC2 (C), PREPARADOS NA ESTUFA, AUMENTO 2000X.



FONTE: O AUTOR (2019)

As imagens permitem a visualização da superfície do material, a qual apresenta partículas esféricas distribuídas na estrutura do hidrogel. Estas partículas esféricas são atribuídas à presença da pectina, visto que quando realizou-se o MEV do hidrogel preparado apenas a partir do PVOH (FIGURA 29), não foi possível observar estas partículas¹⁵, sendo este um sistema bifásico, formado por uma matriz de álcool polivinílico e a fase dispersa formada pelas partículas esféricas de pectina.

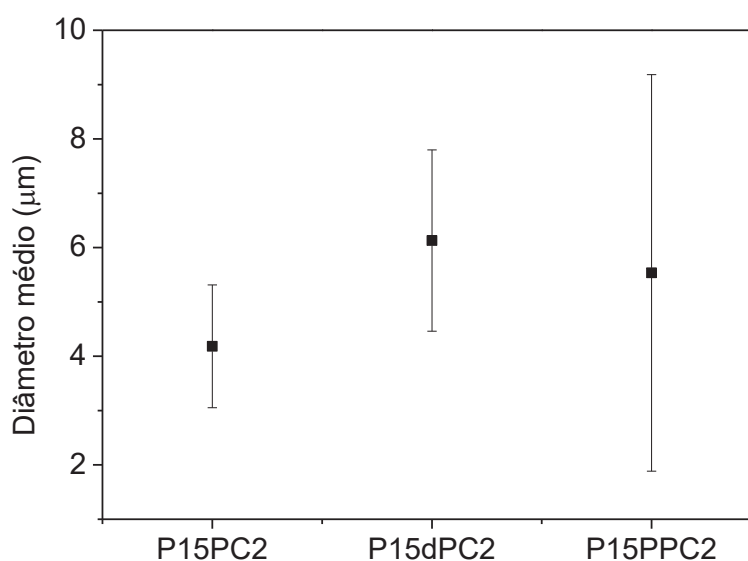
FIGURA 29. IMAGENS DO HIDROGEL PREPARADO A PARTIR DE PVOH NA ESTUFA



FONTE: SAMPAIO ET AL¹⁵. (2019)

Relatos da literatura sobre hidrogéis compósitos mostram que a adição de um segundo componente a matriz de álcool polivinílico melhora a porosidade do material. Dentre eles pode-se citar o trabalho de Zhang e colaboradores¹⁰⁶, em que foi desenvolvido um hidrogel baseado em álcool polivinílico e carragenana, o de Wang e colaboradores¹⁰⁷ onde foi preparado um hidrogel compósito a partir de álcool polivinílico e carboximetilcelulose, entre outros. As imagens foram também analisadas utilizando-se o software ImageJ® a fim de verificar possíveis diferenças na distribuição de tamanho das partículas esféricas a depender da pectina utilizada. As análises foram realizadas de modo que houvesse a contagem mínima de 150 partículas para cada amostra. O gráfico obtido está apresentado na FIGURA 30.

FIGURA 30. DIÂMETRO MÉDIO DAS PARTÍCULAS ESFÉRICAS DE PC, dPC E PPC DISTRIBUIDAS NA MATRIZ DE PVOH NOS HIDROGÉIS P15PC2, P15dPC2 e P15PPC2.



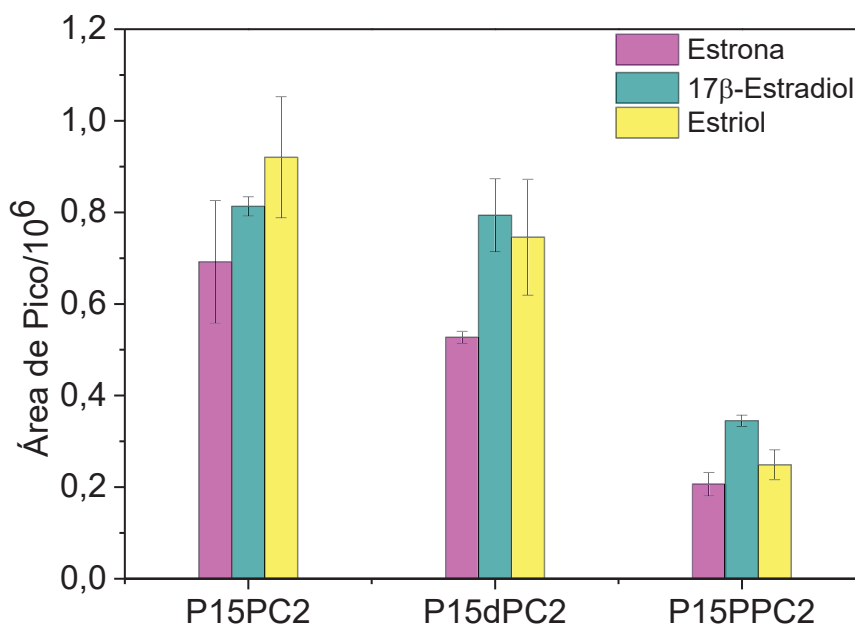
FONTE: O AUTOR (2019)

Por meio dessa análise foi possível observar que na amostra P15dPC2 há uma tendência de partículas maiores quando comparada a amostra P15PC2, esta pequena diferença pode ser proveniente dos compostos de baixa massa molar presentes na pectina PC. Para a amostra PPC o valor encontrado teve um valor de desvio padrão muito elevado, isso se deve ao fato de apresentar um amplo espectro de tamanhos de partículas.

4.5 UTILIZAÇÃO DOS HIDROGÉIS COMO FASE EXTRATORA

A partir das análises do GC foi possível verificar que os hidrogéis formados a partir das três diferentes pectinas analisadas (todas com PVOH a 15% e pectina a 2%) foram capazes de extrair os compostos de interesse neste trabalho, como pode ser observado na FIGURA 31 em que são mostradas as áreas médias dos picos cromatográficos dos hormônios de acordo com a composição do hidrogel utilizado na extração.

FIGURA 31. ÁREAS MÉDIAS DOS PICOS CROMATOGRÁFICOS (N =3) DOS HORMÔNIOS ESTRONA, ESTRIOL E 17 β -ESTRADIOL DE ACORDO COM A COMPOSIÇÃO DO HIDROGEL EMPREGADO NA EXTRAÇÃO (P15PC2, P15dPC2 e P15PPC2).



FONTE: O AUTOR (2019)

Os valores obtidos estão dentro do intervalo de 95% de confiança. Entre os hidrogéis preparados a partir da PC e dPC observou-se que não há diferença estatística na extração, o que pode estar relacionado aos tamanhos de partículas esféricas semelhantes observadas nas imagens de MEV apesar de haver uma leve tendência de partículas menores na PC, a capacidade de extração foi semelhante.

O hidrogel P15PPC2 preparado a partir da PPC foi o que apresentou menor capacidade de extração. Apesar de esse hidrogel ter apresentado algumas características semelhantes aos outros dois, como grau de intumescimento e sinerese, o mesmo não apresentou capacidade de extração semelhante. Isso pode estar relacionado à distribuição de tamanhos heterogêneos das partículas esféricas na matriz de PVOH, o que faz com que a área superficial seja menor e dificulte a extração dos compostos de interesse. Quanto as análises reológicas, o hidrogel formado a partir do PVOH e PPC foi o que apresentou caráter de gel mais forte, o que pode indicar uma rede mais fortemente reticulada, o que pode ter impedido a permeação da solução contendo os contaminantes e por isso apresentou a menor eficiência de extração, enquanto que os outros dois hidrogéis, preparados a partir do PVOH e PC e PVOH e dPC, apresentaram características semelhantes quanto a força de gel, isso pode estar relacionado com a eficiência de extração semelhante.

Existem relatos na literatura que descrevem hidrogéis compósitos tanto de PVOH quanto de pectinas, empregados como fase extratora para compostos poluentes. Pode-se citar o trabalho de Wang e colaboradores¹⁰⁸ em que foi utilizado polietilenoglicol para aumentar a capacidade sorvente de um criogel preparado a partir de PVOH e um MOF (*metal organic framework*). Os autores concluíram que a adição de polietilenoglicol aumentou consideravelmente a afinidade do criogel com os compostos polares de interesse, que neste caso foram drogas utilizadas como antiinflamatórios. Quanto a morfologia os autores concluíram que o compósito apresentou maior área superficial, o que contribuiu para a melhoria na capacidade de extração. Pode ser citado também o trabalho de Shinga e colaboradores¹⁰⁹, onde foi desenvolvido um hidrogel baseado em pectina-g- (acrilato de sódio-N-isopropilacrilamida) empregado como fase extratora de corantes de amostras aquosas. Os autores concluíram que a combinação entre polímeros sintéticos e naturais, confere equilíbrio entre as propriedades físico-químicas do hidrogel resultante, como por exemplo, as características necessárias para o bom desempenho da quimiossorção seletiva de corantes.

5 CONCLUSÕES

Foi realizada a caracterização da pectina cítrica comercial, pectina cítrica comercial dialisada e pectina extraída da casca de maracujá (PC, *d*PC e PPC citar o que são) por HPSEC, através da qual foi possível observar que as amostras apresentam diferentes valores de massa molar e perfil de distribuição. Observou-se, ainda, que a amostra PC contém compostos de baixa massa molar em sua estrutura, fato que também exerce influência em suas propriedades. Pela análise de ^1H RMN foi possível obter o valor para o grau de metil esterificação para a amostra PPC (78%) e realizar a comparação deste com os valores obtidos na literatura para as amostras PC (49%) e *d*PC (79%). Foi possível constatar que a amostra PPC se inclui no grupo das pectinas HM, bem como a amostra *d*PC e a amostra PC se enquadra no grupo das pectinas LM. Mediante os estudos reológicos das dispersões de PVOH com as três amostras pecticas pode-se concluir que em dispersões de baixa concentração a viscosidade das dispersões independe do tipo de pectina que está sendo incorporada ao PVOH. À medida que há um incremento na concentração dos polímeros, podem ser observadas diferenças nas viscosidades das amostras. As amostras preparadas a partir de PC apresentaram os menores valores de viscosidade, fato que está relacionado à presença de compostos de baixa massa molar em sua estrutura. O processo de diálise remove estes compostos e a pectina dialisada apresenta incremento em seus valores de viscosidade. A amostra PPC, em concentrações elevadas apresentou os maiores valores de viscosidade, uma hipótese é a de que em concentrações elevadas, as cadeias interajam mais com elas mesmas do que com o solvente, dificultando o fluxo das cadeias e ocasionando este aumento na viscosidade.

Pelos estudos da gelificação das amostras no reômetro foram obtidos resultados concordantes com os estudos da viscosidade das amostras. Em baixas concentrações não foram observadas diferenças nos tempos de gelificação das amostras PC e *d*PC. Quando a concentração foi aumentada pôde-se observar que a presença das diferentes pectinas exerceu influência no processo, alterando o ponto de gelificação e a força dos géis obtidos. Foi possível observar que o hidrogel preparado a partir do PVOH com a pectina PPC foi formado no menor tempo, seguido pelo que foi preparado a partir do PVOH com a pectina *d*PC e por último o que foi preparado a partir do PVOH com a pectina PC. Este último foi caracterizado como sendo o gel mais fraco dentre os três.

Dos estudos reológicos realizados com os hidrogéis preparados na estufa, pôde-se concluir que nas menores concentrações não houve diferenças na força dos hidrogéis dependendo da pectina utilizada. E aumentando-se a concentração os hidrogéis formados a partir de PVOH e *d*PC foram os géis mais fortes. Isso se deveu ao fato de que nas menores concentrações as interações entre as macromoléculas e o solvente são mais favorecidas nos momentos que antecedem a formação do gel. Nas concentrações maiores, sugere-se que os compostos de baixa massa molar presentes na PC podem dificultar a gelificação, contribuindo para a formação de um gel mais fraco. A amostra PPC que foi testada em apenas uma concentração se apresentou como o gel mais forte dentre as três pectinas empregadas com o álcool polivinílico. Isso pode estar relacionado à sua menor massa molar, que possibilita melhor interação entre essa pectina e o PVOH.

Nas análises de grau e intumescimento foi observado que os hidrogéis preparados a partir das dispersões menos concentradas foram os que intumesceram mais por apresentarem mais espaços vazios em sua estrutura. O mesmo raciocínio pode ser utilizado para o perfil de sinerese, em que os hidrogéis que intumesceram mais, atingiram também os maiores graus de sinerese. Destas análises não foi possível obter uma conclusão concreta se a pectina utilizada foi ou não um fator determinante nestes processos.

Nas análises de MEV foi possível verificar que as três amostras pecticas se distribuem na matriz de PVOH na forma de partículas esféricas. Para as amostras PC e *d*PC não foi possível observar diferenças significativas no tamanho das partículas. Para a amostra PPC o tamanho das partículas foi altamente heterogêneo e as partículas estavam heterogeneamente distribuídas na matriz de PVOH.

Por fim foram realizados os testes de extração para os hormônios estriol, estrona e 17 β -estradiol. Observou-se que os três hidrogéis testados, P15PC2, P15*d*PC2 e P15PPC2 foram capazes de extrair os compostos de interesse da matriz aquosa, sendo que o hidrogel preparado a partir da pectina do maracujá (PPC) foi o que apresentou a menor eficiência de extração. Este fato pode estar relacionado à distribuição não uniforme das partículas esféricas na estrutura e também com a heterogeneidade nos tamanhos destas partículas. Entre os hidrogéis preparados a partir das amostras PC e *d*PC não foram observadas diferenças significativas na eficiência de extração dos analitos, o que pode estar associado ao tamanho bastante semelhante das partículas esféricas distribuídas na matriz de PVOH.

De maneira geral, conclui-se que as diferentes propriedades das pectinas se manifestam de maneira mais evidente quando ambos os polímeros estão presentes em maiores concentrações, pois isto aumenta a probabilidade de as cadeias de macromoléculas interagirem entre si. Nas menores concentrações as interações que são mais favorecidas são as interações entre as macromoléculas e o solvente, nos momentos que antecedem a reticulação das cadeias poliméricas para a formação dos hidrogéis.

5.1 RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Analisar a capacidade de extração dos hidrogéis para outros analitos a fim de verificar a faixa de polaridade que a maior eficiência de extração pode ser alcançada. Testar a eficiência de extração em amostras reais, como de rios, por exemplos demonstrando a viabilidade técnica dos hidrogéis.

Outro viés do projeto é testar a incorporação de outros materiais na matriz de PVOH a fim de observar a maneira que irão se distribuir na estrutura do hidrogel e se isto exercerá influência na eficiência de extração dos analitos de interesse.

REFERÊNCIAS

1. WILLIAMS, D. F. In *Principles of Regenerative Medicine (Third Edition)*; Atala, A., Lanza, R., Mikos, A. G., Nerem, R., Eds.; Academic Press: Boston, 2019, p 627.
2. ALI, A.; AHMED, S. A review on chitosan and its nanocomposites in drug delivery. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.109, p.273. 2018.
3. THOMBARE, N.; MISHRA, S.; SIDDIQUI, M. Z.; JHA, U.; SINGH, D.; MAHAJAN, G. R. Design and development of guar gum based novel, superabsorbent and moisture retaining hydrogels for agricultural applications. **Carbohydrate Polymers**, v.185, p.169. 2018.
4. PEPPAS, N.; BURES, P.; LEOBANDUNG, W.; ICHIKAWA, H. Hydrogels in pharmaceutical formulations. **European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics**, v.50, n.1, p.27. 2000.
5. PARK, H.; PARK, K. Biocompatibility issues of implantable drug delivery systems. **Pharmaceutical research**, v.13, n.12, p.1770. 1996.
6. MORE, S. M.; KULKARNI, R. V.; SA, B.; KAYANE, N. V. Glutaraldehyde-crosslinked poly (vinyl alcohol) hydrogel discs for the controlled release of antidiabetic drug. **Journal of applied polymer science**, v.116, n.3, p.1732. 2010.
7. MANSUR, H. S.; SADAHIRA, C. M.; SOUZA, A. N.; MANSUR, A. A. FTIR spectroscopy characterization of poly (vinyl alcohol) hydrogel with different hydrolysis degree and chemically crosslinked with glutaraldehyde. **Materials Science and Engineering: C**, v.28, n.4, p.539. 2008.
8. BONILLA, J.; FORTUNATI, E.; ATARÉS, L.; CHIRALT, A.; KENNY, J. M. Physical, structural and antimicrobial properties of poly vinyl alcohol–chitosan biodegradable films. **Food Hydrocolloids**, v.35, p.463. 2014.
9. CARLOTTO, J.; DE SOUZA, L. M.; BAGGIO, C. H.; WERNER, M. F. D. P.; MARIA-FERREIRA, D.; SASSAKI, G. L.; IACOMINI, M.; CIPRIANI, T. R. Polysaccharides from *Arctium lappa* L.: Chemical structure and biological activity. **International journal of biological macromolecules**, v.91, p.954. 2016.
10. OVODOVA, R. G.; GOLOVCHENKO, V. V.; POPOV, S. V.; POPOVA, G. Y.; PADERIN, N. M.; SHASHKOV, A. S.; OVODOV, Y. S. Chemical composition and anti-inflammatory activity of pectic polysaccharide isolated from celery stalks. **Food Chemistry**, v.114, n.2, p.610. 2009.
11. POPOV, S. V.; OVODOVA, R. G.; GOLOVCHENKO, V. V.; POPOVA, G. Y.; VIATYASEV, F. V.; SHASHKOV, A. S.; OVODOV, Y. S. Chemical composition and anti-inflammatory activity of a pectic polysaccharide isolated from sweet pepper using a simulated gastric medium. **Food Chemistry**, v.124, n.1, p.309. 2011.

12. WANG, T.; TURHAN, M.; GUNASEKARAN, S. Selected properties of pH-sensitive, biodegradable chitosan–poly (vinyl alcohol) hydrogel. **Polymer International**, v.53, n.7, p.911. 2004.
13. MÜLLER-MAATSCH, J.; BENCIVENNI, M.; CALIGIANI, A.; TEDESCHI, T.; BRUGGEMAN, G.; BOSCH, M.; PETRUSAN, J.; VAN DROOGENBROECK, B.; ELST, K.; SFORZA, S. Pectin content and composition from different food waste streams. **Food Chemistry**, v.201, p.37. 2016.
14. DE VRIES, J.; HANSEN, M.; SØDERBERG, J.; GLAHN, P.-E.; PEDERSEN, J. Distribution of methoxyl groups in pectins. **Carbohydrate Polymers**, v.6, n.3, p.165. 1986.
15. MFM SAMPAIO, N.; DB CASTILHOS, N.; C DA SILVA, B.; C RIEGEL-VIDOTTI, I.; JG SILVA, B. Evaluation of Polyvinyl Alcohol/Pectin-Based Hydrogel Disks as Extraction Phase for Determination of Steroidal Hormones in Aqueous Samples by GC-MS/MS. **Molecules**, v.24, n.1, p.40. 2019.
16. GHISELLI, G.; JARDIM, W. F. Interferentes endócrinos no ambiente. **Química nova**. 2007.
17. HOFFMAN, A. S. Hydrogels for biomedical applications. **Advanced drug delivery reviews**, v.64, p.18. 2012.
18. PEPPAS, N.; MIKOS, A. Preparation methods and structure of hydrogels. **Hydrogels in medicine and pharmacy**, v.1, p.1. 1986.
19. AHMED, E. M. Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review. **Journal of advanced research**, v.6, n.2, p.105. 2015.
20. RATNER, B. D. Synthetic hydrogels for biomedical application. Am. Chem. Soc. Symp. Ser. 1976. 1 p.
21. HENNINK, W. E.; VAN NOSTRUM, C. F. Novel crosslinking methods to design hydrogels. **Advanced drug delivery reviews**, v.64, p.223. 2012.
22. DAS, D.; KAR, T.; DAS, P. K. Gel-nanocomposites: materials with promising applications. **Soft Matter**, v.8, n.8, p.2348. 2012.
23. NAFICY, S.; BROWN, H. R.; RAZAL, J. M.; SPINKS, G. M.; WHITTEN, P. G. Progress Toward Robust Polymer Hydrogels. **Australian Journal of Chemistry**, v.64, n.8, p.1007. 2011.
24. YANG, J.-A.; YEOM, J.; HWANG, B. W.; HOFFMAN, A. S.; HAHN, S. K. In situ-forming injectable hydrogels for regenerative medicine. **Progress in Polymer Science**, v.39, n.12, p.1973. 2014.
25. HUANG, Y.; HE, K.; WANG, X. Rapid prototyping of a hybrid hierarchical polyurethane-cell/hydrogel construct for regenerative medicine. **Materials Science and Engineering: C**, v.33, n.6, p.3220. 2013.

26. VERHULSEL, M.; VIGNES, M.; DESCROIX, S.; MALAQUIN, L.; VIGNJEVIC, D. M.; VIOVY, J.-L. A review of microfabrication and hydrogel engineering for micro-organs on chips. **Biomaterials**, v.35, n.6, p.1816. 2014.
27. LAURÉN, P.; LOU, Y.-R.; RAKI, M.; URTTI, A.; BERGSTRÖM, K.; YLIPERTTULA, M. Technetium-99m-labeled nanofibrillar cellulose hydrogel for in vivo drug release. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.65, p.79. 2014.
28. MIYATA, T.; URAGAMI, T.; NAKAMAE, K. Biomolecule-sensitive hydrogels. **Advanced drug delivery reviews**, v.54, n.1, p.79. 2002.
29. GUILHERME, M. R.; AOUADA, F. A.; FAJARDO, A. R.; MARTINS, A. F.; PAULINO, A. T.; DAVI, M. F. T.; RUBIRA, A. F.; MUNIZ, E. C. Superabsorbent hydrogels based on polysaccharides for application in agriculture as soil conditioner and nutrient carrier: A review. **European Polymer Journal**, v.72, p.365. 2015.
30. FREITAS, R.; PAULA, R.; FEITOSA, J.; ROCHA, S.; SIERAKOWSKI, M.-R. Amylose contents, rheological properties and gelatinization kinetics of yam (*Dioscorea alata*) and cassava (*Manihot utilissima*) starches. **Carbohydrate polymers**, v.55, n.1, p.3. 2004.
31. ASPINALL, G. O. In *Carbohydrates: Structure and function*; Elsevier: 1980, p 473.
32. WANG, Q.; CUI, S. W. Understanding the physical properties of food polysaccharides. **Food carbohydrates: chemistry, physical properties, and applications**, p.162. 2005.
33. BROWNLEADER, M.; JACKSON, P.; MOBASHERI, A.; PANTELIDES, A.; SUMAR, S.; TREVAN, M.; DEY, P. Molecular aspects of cell wall modifications during fruit ripening. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.39, n.2, p.149. 1999.
34. CARPITA, N. C.; GIBEAUT, D. M. Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. **The Plant Journal**, v.3, n.1, p.1. 1993.
35. REID, J. G. In *Plant biochemistry*; Elsevier: 1997, p 205.
36. MCNEIL, M.; DARVILL, A. G.; FRY, S. C.; ALBERSHEIM, P. Structure and function of the primary cell walls of plants. **Annual review of biochemistry**, v.53, n.1, p.625. 1984.
37. LAU, J. M.; MCNEIL, M.; DARVILL, A. G.; ALBERSHEIM, P. Structure of the backbone of rhamnogalacturonan I, a pectic polysaccharide in the primary cell walls of plants. **Carbohydrate research**, v.137, p.111. 1985.

38. DAAS, P. J.; BOXMA, B.; HOPMAN, A. M.; VORAGEN, A. G.; SCHOLS, H. A. Nonesterified galacturonic acid sequence homology of pectins. **Biopolymers: Original Research on Biomolecules**, v.58, n.1, p.1. 2001.
39. VORAGEN, A. G.; COENEN, G.-J.; VERHOEF, R. P.; SCHOLS, H. A. Pectin, a versatile polysaccharide present in plant cell walls. **Structural Chemistry**, v.20, n.2, p.263. 2009.
40. WILLATS, W. G.; KNOX, J. P.; MIKKELSEN, J. D. Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel. **Trends in Food Science & Technology**, v.17, n.3, p.97. 2006.
41. WALTER, R. **Analytical and graphical methods for pectin**. Academic Press: San Diego, CA. 1991. p.
42. MAY, C. D. Industrial pectins: sources, production and applications. **Carbohydrate polymers**, v.12, n.1, p.79. 1990.
43. TSOGA, A.; RICHARDSON, R.; MORRIS, E. Role of cosolutes in gelation of high-methoxy pectin. Part 1. Comparison of sugars and polyols. **Food Hydrocolloids**, v.18, n.6, p.907. 2004.
44. JARVIS, M. C.; APPERLEY, D. C. Chain conformation in concentrated pectic gels: evidence from ¹³C NMR. **Carbohydrate research**, v.275, n.1, p.131. 1995.
45. O'BRIEN, A. B.; PHILP, K.; MORRIS, E. R. Gelation of high-methoxy pectin by enzymic de-esterification in the presence of calcium ions: a preliminary evaluation. **Carbohydrate Research**, v.344, n.14, p.1818. 2009.
46. AGOUB, A. A.; GIANNOULI, P.; MORRIS, E. R. Gelation of high methoxy pectin by acidification with d-glucono- δ -lactone (GDL) at room temperature. **Carbohydrate polymers**, v.75, n.2, p.269. 2009.
47. WALKINSHAW, M.; ARNOTT, S. Conformations and interactions of pectins: II. Models for junction zones in pectinic acid and calcium pectate gels. **Journal of molecular biology**, v.153, n.4, p.1075. 1981.
48. VINCENT, R. R.; WILLIAMS, M. A. Microrheological investigations give insights into the microstructure and functionality of pectin gels. **Carbohydrate research**, v.344, n.14, p.1863. 2009.
49. BRACCINI, I.; PÉREZ, S. Molecular basis of Ca²⁺-induced gelation in alginates and pectins: the egg-box model revisited. **Biomacromolecules**, v.2, n.4, p.1089. 2001.
50. KASTNER, H.; EINHORN-STOLL, U.; SENGE, B. Structure formation in sugar containing pectin gels—Influence of Ca²⁺ on the gelation of low-methoxylated pectin at acidic pH. **Food Hydrocolloids**, v.27, n.1, p.42. 2012.

51. EINHORN-STOLL, U.; KASTNER, H.; HECHT, T.; ZIMATHIES, A.; DRUSCH, S. Modification and physico-chemical properties of citrus pectin–Influence of enzymatic and acidic demethoxylation. **Food Hydrocolloids**, v.51, p.338. 2015.
52. WARD, M.; SMITH, G.; TRAN, Q. This Report Contains Assessments of Commodity and Trade Issues Made by Usda Staff and Not Necessarily Statements of Official US Government Policy. **USDA Foreign Agricultural Service: Washington, DC, USA**, p.11. 2016.
53. FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. Maracujá: o produtor pergunta, a Embrapa responde. **Embrapa Cerrados-Livro técnico (INFOTECA-E)**. 2016.
54. SAKURADA, I. **Polyvinyl alcohol fibers**. CRC Press, v.6. 1985. p.
55. PEPPAS, N. A.; MERRILL, E. W. Crosslinked poly (vinyl alcohol) hydrogels as swollen elastic networks. **Journal of Applied Polymer Science**, v.21, n.7, p.1763. 1977.
56. TUBBS, R. K. Sequence distribution of partially hydrolyzed poly (vinyl acetate). **Journal of Polymer Science Part A-1: Polymer Chemistry**, v.4, n.3, p.623. 1966.
57. JONES, J. I. Polyvinyl alcohol. Properties and applications. Edited by CA Finch. John Wiley, Chichester. 1973. Pp. xviii+ 622. Price:£ 14.00. **British Polymer Journal**, v.5, n.6, p.493. 1973.
58. TUBBS, R. K. Melting point and heat of fusion of poly (vinyl alcohol). **Journal of Polymer Science Part A: General Papers**, v.3, n.12, p.4181. 1965.
59. FEJERSKOV, B.; SMITH, A. A.; JENSEN, B. E.; HUSSMANN, T.; ZELIKIN, A. N. Bioresorbable surface-adhered enzymatic microreactors based on physical hydrogels of poly (vinyl alcohol). **Langmuir**, v.29, n.1, p.344. 2012.
60. QIU, Y.; PARK, K. Environment-sensitive hydrogels for drug delivery. **Advanced drug delivery reviews**, v.53, n.3, p.321. 2001.
61. AN, Q.; BEH, C.; XIAO, H. Preparation and characterization of thermo-sensitive poly (vinyl alcohol)-based hydrogel as drug carrier. **Journal of Applied Polymer Science**, v.131, n.1. 2014.
62. WANG, W.; ZHAO, Y.; BAI, H.; ZHANG, T.; IBARRA-GALVAN, V.; SONG, S. Methylene blue removal from water using the hydrogel beads of poly (vinyl alcohol)-sodium alginate-chitosan-montmorillonite. **Carbohydrate polymers**, v.198, p.518. 2018.
63. ROSS-MURPHY, S. B. Rheological characterization of polymer gels and networks. **Polymer Gels and Networks**, v.2, n.3-4, p.229. 1994.
64. MACOSKO, C. Viscous liquid. **Rheology: principles, measurements and applications**, p.65. 1994.

65. MEZGER, T. G. **The rheology handbook: for users of rotational and oscillatory rheometers**. Vincentz Network GmbH & Co KG. 2006. p.
66. KAVANAGH, G. M.; ROSS-MURPHY, S. B. Rheological characterisation of polymer gels. **Progress in Polymer Science**, v.23, n.3, p.533. 1998.
67. YAN, C.; POCHAN, D. J. Rheological properties of peptide-based hydrogels for biomedical and other applications. **Chemical Society Reviews**, v.39, n.9, p.3528. 2010.
68. SIVARAMAN, A.; GANTI, S. S.; NGUYEN, H. X.; BIRK, G.; WIEBER, A.; LUBDA, D.; BANGA, A. K. Development and evaluation of a polyvinyl alcohol based topical gel. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v.39, p.210. 2017.
69. TAHERIAN, A. R.; LACASSE, P.; BISAKOWSKI, B.; LANCTÔT, S.; FUSTIER, P. A comparative study on the rheological and thermogelling properties of chitosan/polyvinyl alcohol blends in dairy products. **LWT**, p.108305. 2019.
70. JARDIM, I. Extração em fase sólida: fundamentos teóricos e novas estratégias para preparação de fases sólidas. **Scientia Chromatographica**, v.2, n.1, p.13. 2010.
71. CALDAS, S. S.; GONÇALVES, F. F.; PRIMEL, E. G.; PRESTES, O. D.; MARTINS, M. L.; ZANELLA, R. Principais técnicas de preparo de amostra para a determinação de resíduos de agrotóxicos em água por cromatografia líquida com detecção por arranjo de diodos e por espectrometria de massas. 2011.
72. FONTANALS, N.; MARCÉ, R.; BORRULL, F. New materials in sorptive extraction techniques for polar compounds. **Journal of Chromatography A**, v.1152, n.1-2, p.14. 2007.
73. BASHEER, C.; JAYARAMAN, A.; KEE, M. K.; VALIYAVEETIL, S.; LEE, H. K. Polymer-coated hollow-fiber microextraction of estrogens in water samples with analysis by gas chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v.1100, n.2, p.137. 2005.
74. BAHRAM, M.; KESHVARI, F.; MOHSENI, N. A novel hydrogel based microextraction of analytes. **Journal of Saudi Chemical Society**, v.20, p.S624. 2016.
75. CASTILHOS, N. D.; SAMPAIO, N. M.; DA SILVA, B. C.; RIEGEL-VIDOTTI, I. C.; GRASSI, M. T.; SILVA, B. J. Physical-chemical characteristics and potential use of a novel alginate/zein hydrogel as the sorption phase for polar organic compounds. **Carbohydrate polymers**, v.174, p.507. 2017.
76. COMBALBERT, S.; PYPE, M.-L.; BERNET, N.; HERNANDEZ-RAQUET, G. Enhanced methods for conditioning, storage, and extraction of liquid and solid samples of manure for determination of steroid hormones by solid-phase extraction and gas chromatography–mass spectrometry. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v.398, n.2, p.973. 2010.

77. NOPPE, H.; LE BIZEC, B.; VERHEYDEN, K.; DE BRABANDER, H. Novel analytical methods for the determination of steroid hormones in edible matrices. **analytica chimica acta**, v.611, n.1, p.1. 2008.
78. ALBERO, B.; SÁNCHEZ-BRUNETE, C.; MIGUEL, E.; PÉREZ, R. A.; TADEO, J. L. Analysis of natural-occurring and synthetic sexual hormones in sludge-amended soils by matrix solid-phase dispersion and isotope dilution gas chromatography–tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v.1283, p.39. 2013.
79. DEBLONDE, T.; COSSU-LEGUILLE, C.; HARTEMANN, P. Emerging pollutants in wastewater: a review of the literature. **International journal of hygiene and environmental health**, v.214, n.6, p.442. 2011.
80. VELICU, M.; SURI, R. Presence of steroid hormones and antibiotics in surface water of agricultural, suburban and mixed-use areas. **Environmental monitoring and assessment**, v.154, n.1-4, p.349. 2009.
81. LOCATELLI, M.; SCIASCIA, F.; CIFELLI, R.; MALATESTA, L.; BRUNI, P.; CROCE, F. Analytical methods for the endocrine disruptor compounds determination in environmental water samples. **Journal of Chromatography A**, v.1434, p.1. 2016.
82. VAN DER VEEN, A.; VAN FAASSEN, M.; DE JONG, W. H.; VAN BEEK, A. P.; DIJCK-BROUWER, D. J.; KEMA, I. P. Development and validation of a LC-MS/MS method for the establishment of reference intervals and biological variation for five plasma steroid hormones. **Clinical Biochemistry**. 2019.
83. LOPES, L. C.; SIMAS-TOSIN, F. F.; CIPRIANI, T. R.; MARCHESI, L. F.; VIDOTTI, M.; RIEGEL-VIDOTTI, I. C. Effect of low and high methoxyl citrus pectin on the properties of polypyrrole based electroactive hydrogels. **Carbohydrate polymers**, v.155, p.11. 2017.
84. GRASDALEN, H.; BAKØY, O. E.; LARSEN, B. Determination of the degree of esterification and the distribution of methylated and free carboxyl groups in pectins by ¹H-NMR spectroscopy. **Carbohydrate Research**, v.184, p.183. 1988.
85. FILISETTI-COZZI, T. M.; CARPITA, N. C. Measurement of uronic acids without interference from neutral sugars. **Analytical biochemistry**, v.197, n.1, p.157. 1991.
86. REDDY, N.; YANG, Y. Citric acid cross-linking of starch films. **Food chemistry**, v.118, n.3, p.702. 2010.
87. RAO, M. A. In *Rheology of fluid, semisolid, and solid foods*; Springer: 2014, p 27.
88. SPINKS, G. M.; LEE, C. K.; WALLACE, G. G.; KIM, S. I.; KIM, S. J. Swelling behavior of chitosan hydrogels in ionic liquid– water binary systems. **Langmuir**, v.22, n.22, p.9375. 2006.
89. MC GANN, M. J.; HIGGINBOTHAM, C. L.; GEEVER, L. M.; NUGENT, M. J. The synthesis of novel pH-sensitive poly (vinyl alcohol) composite hydrogels using a

freeze/thaw process for biomedical applications. **International Journal of Pharmaceutics**, v.372, n.1-2, p.154. 2009.

90. QUINTANA, J. B.; CARPINTEIRO, J.; RODRÍGUEZ, I.; LORENZO, R. A.; CARRO, A. M.; CELA, R. Determination of natural and synthetic estrogens in water by gas chromatography with mass spectrometric detection. **Journal of Chromatography A**, v.1024, n.1, p.177. 2004.

91. SHAREEF, A.; PARNIS, C. J.; ANGOVE, M. J.; WELLS, J. D.; JOHNSON, B. B. Suitability of N,O-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide and N-(tert-butyldimethylsilyl)-N-methyltrifluoroacetamide as derivatization reagents for the determination of the estrogens estrone and 17 α -ethinylestradiol by gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v.1026, n.1, p.295. 2004.

92. SILVA, I. M.; GONZAGA, L. V.; AMANTE, E. R.; TEÓFILO, R. F.; FERREIRA, M. M.; AMBONI, R. D. Optimization of extraction of high-ester pectin from passion fruit peel (*Passiflora edulis flavicarpa*) with citric acid by using response surface methodology. **Bioresource Technology**, v.99, n.13, p.5561. 2008.

93. MATSUMOTO, L.; OTAGAKI, M. Pectin content in dried peel of passion fruit. **J. Food Sci**, v.18, n.1, p.132. 1990.

94. CIPRIANI, T. R.; GRACHER, A. H. P.; DE SOUZA, L. M.; FONSECA, R. J. C.; BELMIRO, C. L. R.; GORIN, P. A. J.; SASSAKI, G. L.; IACOMINI, M. Influence of molecular weight of chemically sulfated citrus pectin fractions on their antithrombotic and bleeding effects. **Thromb Haemost**, v.101, n.05, p.860. 2009.

95. MORAES, I. C.; CARVALHO, R. A.; BITTANTE, A. M. Q.; SOLORZA-FERIA, J.; SOBRAL, P. J. Film forming solutions based on gelatin and poly (vinyl alcohol) blends: Thermal and rheological characterizations. **Journal of Food Engineering**, v.95, n.4, p.588. 2009.

96. BARRETO, P.; ROEDER, J.; CRESPO, J.; MACIEL, G.; TERENCE, H.; PIRES, A.; SOLDI, V. Effect of concentration, temperature and plasticizer content on rheological properties of sodium caseinate and sodium caseinate/sorbitol solutions and glass transition of their films. **Food Chemistry**, v.82, n.3, p.425. 2003.

97. SHARMA, B.; SHEKHAR, S.; GAUTAM, S.; JAIN, P. Dynamic shear rheology behavior and long term stability kinetics of reduced graphene oxide filled poly (vinyl alcohol) biofilm. **Polymer Testing**, v.69, p.583. 2018.

98. MA, Q.; DU, L.; YANG, Y.; WANG, L. Rheology of film-forming solutions and physical properties of tara gum film reinforced with polyvinyl alcohol (PVA). **Food hydrocolloids**, v.63, p.677. 2017.

99. ALAIS, C. **Food biochemistry**. Springer Science & Business Media. 2012. p.

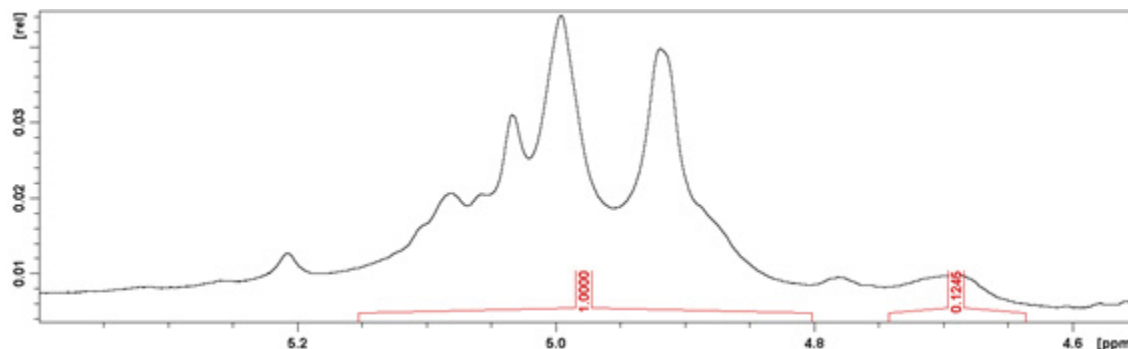
100. LEWANDOWSKA, K.; DĄBROWSKA, A.; KACZMAREK, H. Rheological properties of pectin, poly (vinyl alcohol) and their blends in aqueous solutions. **e-Polymers**, v.12, n.1. 2012.

101. BERCEA, M.; MORARIU, S.; TEODORESCU, M. Rheological investigation of poly (vinyl alcohol)/poly (N-vinyl pyrrolidone) mixtures in aqueous solution and hydrogel state. **Journal of Polymer Research**, v.23, n.7, p.142. 2016.
102. MULLER, R.; GERARD, E.; DUGAND, P.; REMPP, P.; GNANOU, Y. Rheological characterization of the gel point: a new interpretation. **Macromolecules**, v.24, n.6, p.1321. 1991.
103. HERNÁNDEZ, R.; SARAFIAN, A.; LÓPEZ, D.; MIJANGOS, C. Viscoelastic properties of poly (vinyl alcohol) hydrogels and ferrogels obtained through freezing–thawing cycles. **Polymer**, v.45, n.16, p.5543. 2004.
104. CHANG, C.; LUE, A.; ZHANG, L. Effects of crosslinking methods on structure and properties of cellulose/PVA hydrogels. **Macromolecular chemistry and physics**, v.209, n.12, p.1266. 2008.
105. ZHANG, Q.; HU, X.; WU, M.; WANG, M.; ZHAO, Y.; LI, T. Synthesis and performance characterization of poly (vinyl alcohol)-xanthan gum composite hydrogel. **Reactive and Functional Polymers**, v.136, p.34. 2019.
106. ZHANG, Y.; YE, L.; CUI, M.; YANG, B.; LI, J.; SUN, H.; YAO, F. Physically crosslinked poly (vinyl alcohol)–carrageenan composite hydrogels: pore structure stability and cell adhesive ability. **Rsc Advances**, v.5, n.95, p.78180. 2015.
107. WANG, L.-Y.; WANG, M.-J. Removal of heavy metal ions by poly (vinyl alcohol) and carboxymethyl cellulose composite hydrogels prepared by a freeze–thaw method. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v.4, n.5, p.2830. 2016.
108. WANG, Y.; JIA, M.; WU, X.; WANG, T.; WANG, J.; HOU, X. PEG modified column MIL-101 (Cr)/PVA cryogel as a sorbent in stir bar solid phase extraction for determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs in water samples. **Microchemical Journal**, v.146, p.214. 2019.
109. SINGHA, N. R.; KARMAKAR, M.; MAHAPATRA, M.; MONDAL, H.; DUTTA, A.; ROY, C.; CHATTOPADHYAY, P. K. Systematic synthesis of pectin-g-(sodium acrylate-co-N-isopropylacrylamide) interpenetrating polymer network for superadsorption of dyes/M (II): Determination of physicochemical changes in loaded hydrogels. **Polymer Chemistry**, v.8, n.20, p.3211. 2017.

APENDICE 1 – DETALHAMENTO DO CÁLCULO DO GRAU DE METIL ESTERIFICAÇÃO PARA A AMOSTRA PPC

Para este cálculo é calculada a integral combinada dos hidrogênios H1 e H5 dos ácidos carboxílicos livres ou esterificados, a partir do espectro de RMN. (Figura 1).

FIGURA 1. ESPECTRO DE ^1H RMN PARA A AMOSTRA PPC.



A partir do espectro foi possível obter as regiões em que estes hidrogênios se encontram:

I_A = H1 de todas as unidades de GalA + H5 esterificado (δ 5.12 a δ 4.76)

I_B = H5 não esterificado (δ 4.58 a δ 4.52)

E pela integração dos picos obtiveram-se os valores:

$I_A = 1$

$I_B = 0,125$

Estes valores foram aplicados a seguinte equação:

$$GM = \left(\frac{I_A - I_B}{I_A + I_B} \right) \times 100$$

$$GM = \left(\frac{1 - 0,125}{1 + 0,125} \right) \times 100$$

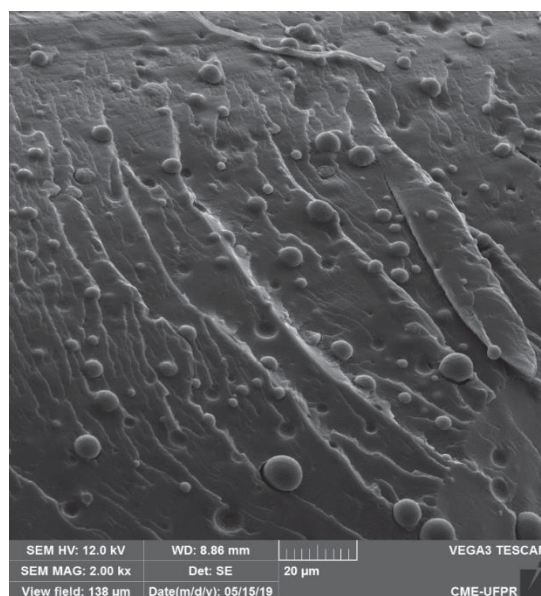
E assim chegou-se no valor de aproximadamente 78% para o GM da amostra PPC.

APÊNDICE 2 – DETALHAMENTO DOS CÁLCULOS DE DISTRIBUIÇÃO DE TAMANHO

MEV

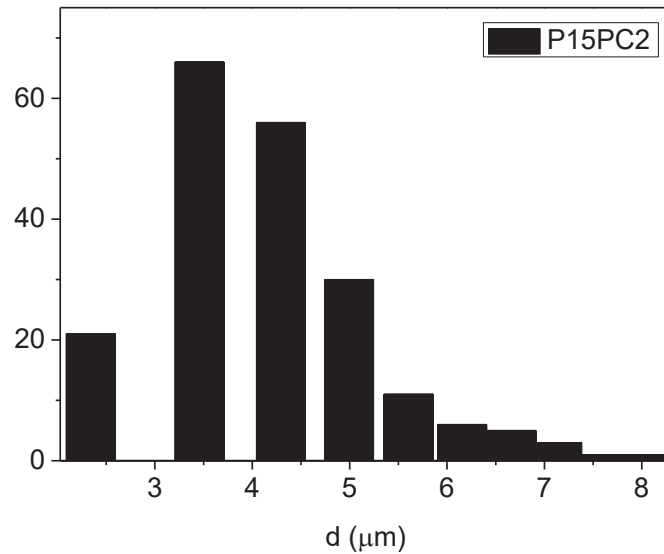
Todos os cálculos de distribuição de tamanho para obtenção de diâmetro médio das partículas esféricas de pectina distribuídas na matriz de PVOH foram realizadas de acordo com a metodologia descrita a seguir. Inicialmente foi obtida uma imagem de microscopia óptica a partir do microscópio eletrônico de varredura modelo JSM-6360LV (JOEL®), operando em 10 kV, como mostrado na Figura 1.

Figura 1. Imagem de MEV do hidrogel P15PC2



Em seguida essa imagem é adicionada ao software ImageJ e então utilizando a barra de escala da imagem, é possível criar uma escala no software. E assim, manualmente mediu-se o tamanho de cada partícula esférica presente na imagem. Em seguida pela ferramenta *Analyse Particles* é possível obter os tamanhos medidos e o número de esferas medidas com aqueles determinados tamanhos. Assim, obtem-se um histograma para cada amostra, com pode ser observado na figura 2.

Figura 2. Histograma obtido da distribuição de tamanhos para o hidrogel P15PC2



A partir dos dados desse histograma calcula-se o diâmetro médio, desvio padrão e erro amostral utilizando-se o Microsoft Excel®.

Estes cálculos foram realizados utilizando-se a seguinte equação:

$$d_{médio} = \frac{\sum_{i=1}^n d_i \cdot f_i}{n}$$

Sendo f_i o número de contagens para cada diâmetro d_i , e sendo n o número total de partículas esféricas contadas:

Os cálculos de desvio padrão foram feitos de acordo com a equação a seguir:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=0}^n (d_i - d_{médio})^2 \cdot f_i}{n - 1}}$$

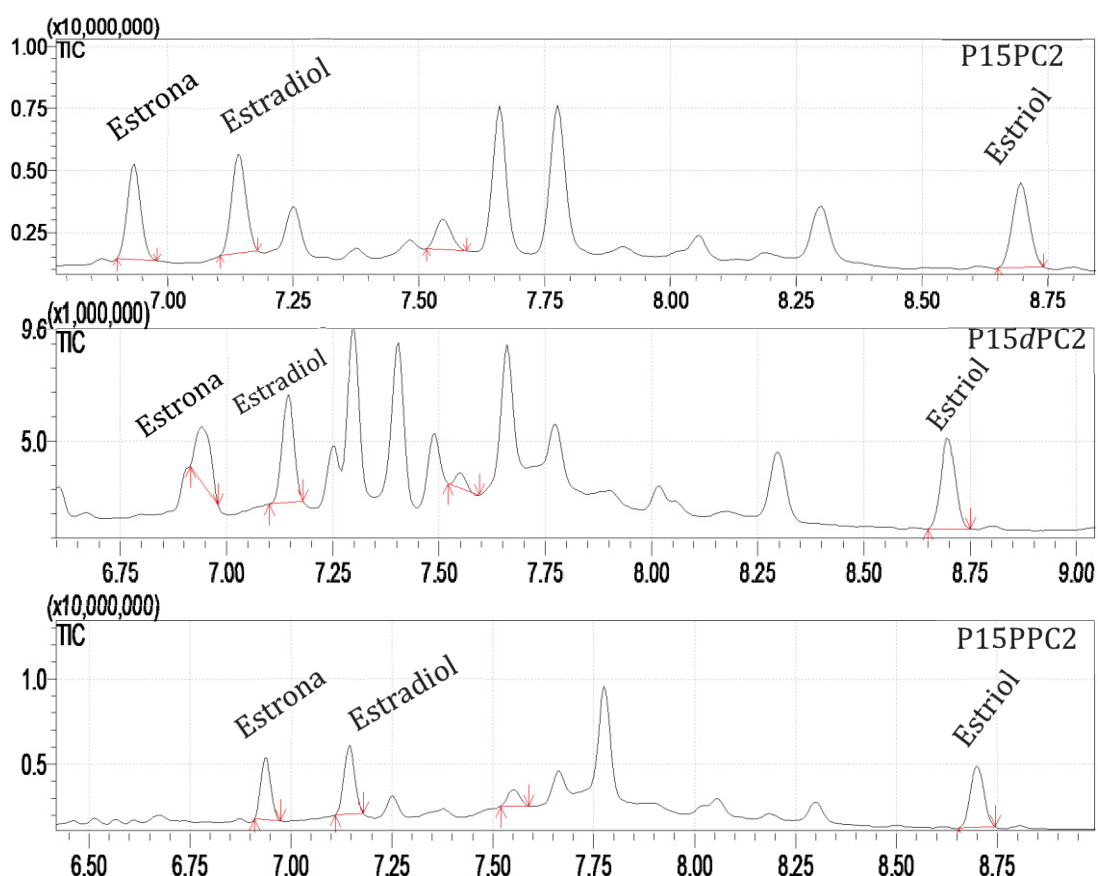
O erro em relação a média foi calculado a partir da seguinte relação, válida para $n \geq 30$:

$$Erro = \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$$

Com os dados de diâmetro médio e erro amostral foram gerados os gráficos mostrados no texto desse trabalho.

APÊNDICE 3 – CROMATOGRAMAS DA DETERMINAÇÃO DOS HORMÔNIOS NAS SUAS FORMAS DERIVATIZADA COM MSTFA:1%TMSI

Figura 1. Cromatogramas da determinação dos hormônios estriol, estrona e 17 β -estradiol, utilizando os hidrogéis P15PC2, P15DPC2 e P15PPC2 como discos de extração. Modo de registro de íons: scan. As condições cromatográficas empregadas são descritas no item de materiais e métodos.



**Nos cromatogramas é observada a presença de interferentes, porém a identificação dos hormônios de interesse não foi prejudicada pelo fato de que sua determinação já havia sido realizada fazendo-se o uso de padrões durante as análises.