

Nanotecnologia para o Mercosul

Edição 2010 do Prêmio Mercosul de Ciência e Tecnologia

Brasília, novembro de 2010

Os autores são responsáveis pela escolha e apresentação dos fatos contidos neste livro, bem como pelas opiniões nele expressas, que não são necessariamente as da UNESCO, nem comprometem a Organização. As indicações de nomes e a apresentação do material ao longo deste livro não implicam a manifestação de qualquer opinião por parte da UNESCO a respeito da condição jurídica de qualquer país, território, cidade, região ou de suas autoridades, nem tampouco a delimitação de suas fronteiras ou limites.

Nanotecnologia para o Mercosul

Edição 2010 do Prêmio Mercosul de Ciência e Tecnologia

PATROCÍNIO PATROCINIO



ORGANIZAÇÃO ORGANIZACIÓN



Representação
no Brasil

RECyT



Ministério da Ciência
e Tecnologia do Brasil

© 2010 UNESCO

Revisão (português): Antônio João Guimarães - DeBrito Propaganda

Revisão (espanhol): Florencia Paoloni - Ministério de Ciência, Tecnologia e Inovação Produtiva (MINCyT/Argentina)

Diagramação: Paulo Selveira e Edson Fogaça

Projeto gráfico e capa: Edson Fogaça

Nanotecnologia para o MERCOSUL: edição 2010 do Prêmio Mercosul de Ciência e Tecnologia. –

Brasília: UNESCO, MBC, RECYT/ MERCOSUL, CNPq, 2010.

180 p.

ISBN: 978-85-7652-134-1

1. Nanotecnologia 2. Tecnologia 3. Mercosul. América Latina I. UNESCO II. Movimento Brasil Competitivo III. Reunião Especializada de Ciência e Tecnologia IV. Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico



Organização
das Nações Unidas
para a Educação,
a Ciência e a Cultura

Representação no Brasil

SAS, Quadra 5 Bloco H, Lote 6, Ed.

CNPq/IBICT/UNESCO, 9º andar

70070-914 - Brasília - DF - Brasil

Tel.: (55 61) 2106-3500

Fax: (55 61) 322-3697

E-mail: grupoeditorial@unesco.org.br

Site: www.unesco.org/brasil

AGRADECIMENTOS

À Comissão de Avaliação dos trabalhos concorrentes ao Prêmio, constituída de representantes indicados pelas coordenações da Reunião Especializada de Ciência e Tecnologia (RECyT) dos países-membros do Mercosul, que esteve reunida no escritório da UNESCO, em Brasília, no período de 21 a 23 de setembro de 2010 para analisar e selecionar os trabalhos premiados em quatro categorias.

Ao grupo técnico constituído por especialistas pertencentes às instituições organizadoras e patrocinadoras do Prêmio.

Ao Ministério da Ciência e Tecnologia do Brasil – MCT/Brasil, ao Movimento Brasil Competitivo – MBC e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, parceiros na organização e execução desse Prêmio, e ao Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação Produtiva da Argentina – MINCYT e à Fundação Nanotecnológica Argentina – FAN, patrocinadores do Prêmio Mercosul de Ciência e Tecnologia de 2010.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização desse Prêmio.

Comissão de Avaliação

- Professor Ary Mergulhão Filho
Presidente da Comissão, UNESCO/Brasil
- Professor Guillermo R. Castro
Representante da RECyT/Argentina
- Professor Joel Camargo Rubim
Representante da RECyT/Brasil
- Professor Juliano Chaker
Representante da RECyT/Brasil

Grupo Técnico da Comissão de Avaliação:

- Eliana Cardoso Emediato de Azambuja
MCT/Brasil
- Fernanda Velloso
UNESCO/Brasil
- José Henrique Dieguez Barreiro
MCT/Brasil
- Michele Knop
UNESCO/Brasil
- Rafaela Marques
UNESCO/Brasil
- Rita de Cássia da Silva
CNPq/Brasil
- Roberta da Silva
UNESCO/Brasil

SUMÁRIO

Abstract.....	9
Prêmio Mercosul de Ciência e Tecnologia Chamada 2010	11

TRABALHOS PREMIADOS

Categoria Iniciação Científica

Análise da impregnação de nanopartículas de dióxido de zircônio e de prata em um curativo visando ativação da circulação sanguínea e efeito antimicrobiano.....	15
---	----

Categoria Estudante Universitário

NanoSensores SERS: ampliando os métodos de Feigl	39
--	----

Categoria Jovem Pesquisador

Síntese de nanotubos de carbono através do uso do bagaço da cana-de-açúcar como matéria-prima.....	57
--	----

Categoria Integração

Materiais nanoestruturados: síntese, estudos com luz síncrotron, propriedades e aplicações.....	75
---	----

TRABALHOS AGRACIADOS COM MENÇÃO HONROSA

Categoria Iniciação Científica

Modificación de bentonita para la obtención de nanoarcillas y su utilización en un polímero biodegradable sintetizado a partir del ácido L(+)LÁCTICO policondensado	103
---	-----

Categoria Estudante Universitário	
Pontos quânticos de CdTe/CdS: uma nova ferramenta biofotônica na investigação de antígenos eritrocitários	123
Categoria Jovem Pesquisador	
Encapsulación del fármaco antirretroviral efavirenz en nanotransportadores poliméricos para la Optimización de la farmacoterapia del virus de la inmunodeficiencia humana en pacientes pediátricos	145
Nota sobre os autores	171
Nota sobre os membros da comissão de avaliação	177

ABSTRACT

The Mercosur's Science and Technology Award was established in 1998 by the Science and Technology Specialised Meeting – RECYT/Mercosur. In its seventh edition, the call for submission was launched on the 5th of April, 2010, with partnership from United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization (UNESCO), Brazilian Ministry of Science and Technology (MCT), Brazilian Competitive Movement (MBC) and National Council for Scientific and Technological Development (CNPq), and sponsorship from the Argentinian Ministry of Science, Technology and Productive Innovation (MINCYT), and the Argentinian Nanotechnology Foundation (FAN). The goal of the Award is to recognize and award prizes to the best research works that represent potential contribution to scientific and technological development of Mercosur countries. It also provides incentives for scientific and technological research to be carried out, directed at the regional integration process amongst the countries in the block. In 2010, *Nanotechnology* was chosen as the topic with four categories: *Scientific Initiation* for students of upper secondary education up to 21 years of age, *University Student* for higher education undergraduates with no age limit, *Young Researcher* for graduated scholars of up to 35 years of age and *Integration* for teams that have graduated, with no age limit and involving at least two different countries. This book presents the Award winners and the Honour received works in its four categories.

PRÊMIO MERCOSUL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA – Chamada 2010

Discutida desde 1959 a partir das ideias propostas pelo físico americano Richard Feynman, nanotecnologia é a capacidade de se criar objetos de qualidade superior aos existentes hoje, com base na organização dos átomos na forma desejada.

As maiores vantagens gerais para o uso da nanotecnologia podem ser definidas pelo menor impacto ambiental produzido pelos produtos gerados e pela otimização do uso dos recursos envolvidos em etapas de desenvolvimento e produção.

De forma mais específica, a nanotecnologia tem aplicações centrais nas áreas de informática, medicina e em vários setores industriais. Pretende-se, por exemplo, com um computador de tamanho muito reduzido, aumentar consistentemente a capacidade atual de processamento de dados, assim como, no campo da medicina, construir medicamentos mais eficazes com um mínimo de efeitos colaterais.

Atualmente existem alguns poucos produtos baseados em nanotecnologia, mas todos concordam que as pesquisas nessa área e suas aplicações encontram-se, ainda, em estágio bastante inicial. Porém, também é unânime que num futuro próximo a nanotecnologia terá importância central no cenário econômico e social no mundo. O domínio desses conhecimentos e dessas tecnologias será vital para os países nas próximas décadas.

Assim, vemos o significado do tema nanotecnologia para o contexto do Mercosul. Esta é uma área científica (nanociência) e tecnológica (nanotecnologia) que se encontra em fase inicial e com extrema necessidade de investimentos e de cooperação.

O Prêmio Mercosul de Ciência e Tecnologia em 2010 tem a nanotecnologia como tema central. Esta edição visa identificar e estimular a coope-

ração entre pesquisadores e instituições de pesquisa que já trabalham com o tema. Além disso, o Prêmio visa, também, aproximar aqueles que têm intenção de aventurar-se neste novo campo da ciência e da tecnologia.

É mais um esforço dos países integrantes do Mercosul e da UNESCO de fazer com que a ciência e a tecnologia alcancem seu principal objetivo: a melhoria da qualidade de vida das pessoas.

São apresentados, a seguir, os trabalhos premiados nas quatro categorias.

1º Lugar – CATEGORIA INICIAÇÃO CIENTÍFICA

Trabalho: “Análise da impregnação de nanopartículas de dióxido de zircônio e de prata em um curativo visando ativação da circulação sanguínea e efeito antimicrobiano”

Autoras: Gabriela Schaab da Silva, 18 anos, e Kawoana Trautman Vianna, 18 anos, alunas da 4ª série do curso técnico em química da Fundação Escola Técnica Liberato Salzano Vieira da Cunha

Professora-orientadora: Silvia Stanisçuaski Guterres, 49 anos

País: Brasil

1º Lugar – CATEGORIA ESTUDANTE UNIVERSITÁRIO

Trabalho: “NanoSensores SERS: ampliando os métodos de Feigl”

Autor: Daniel Grasseschi, 22 anos, aluno do 8º semestre do Instituto de Química da Universidade de São Paulo (USP)

Professor-orientador: Henrique Eisi Toma, 61 anos

País: Brasil

1º Lugar – CATEGORIA JOVEM PESQUISADOR

Trabalho: “Síntese de nanotubos de carbono através do uso do bagaço da cana-de-açúcar como matéria-prima”

Autor: Joner Oliveira Alves, 28 anos, aluno de doutorado em engenharia metalúrgica e de materiais na Universidade de São Paulo (USP)

País: Brasil

1º Lugar – CATEGORIA INTEGRAÇÃO

Trabalho: “Materiais nanoestruturados: síntese, estudos com luz síncrotron, propriedades e aplicações”

Autores: Aldo Felix Craievich, 71 anos, brasileiro, nascido na Argentina, doutor em física; Noemí Elisabeth Walsöe de Reca, 73 anos, argentina, doutora em química; Diego Germán Lamas, 43 anos, argentino, doutor em física; e Marcia Carvalho de Abreu Fantini, 54 anos, brasileira, doutora em física.

Países: Argentina e Brasil

Menção Honrosa – CATEGORIA INICIAÇÃO CIENTÍFICA

Trabalho: “Modificación de bentonita para la obtención de nanoarcillas, y su utilización en un polímero biodegradable sintetizado a partir del ácido L(+)-LÁCTICO policondensado”

Autor: Brian Samir Ginés Bejarano, 18 anos, aluno do 2º curso do Colégio Iberoamericano

Professora-orientadora: Fanny Elizabeth Florentín Ramos de González, 43 anos

País: Paraguai

Menção Honrosa – CATEGORIA ESTUDANTE UNIVERSITÁRIO

Trabalho: “Pontos quânticos de CdTe/CdS: uma nova ferramenta biofotônica na investigação de antígenos eritrocitários”

Autor: Paulo Euzébio Cabral Filho, 22 anos, aluno do 6º semestre do curso de biomedicina da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

Professora-orientadora: Adriana Fontes, 35 anos

País: Brasil

Menção Honrosa – CATEGORIA JOVEM PESQUISADOR

Trabalho: “Encapsulación del fármaco antirretroviral efavirenz en nanotransportadores poliméricos para la Optimización de la farmacoterapia del virus de la inmunodeficiencia humana en pacientes pediátricos”

Autor: Diego Andres Chiappetta, 35 anos, doutor em tecnologia farmacêutica.

País: Argentina

Categoria Iniciação Científica

1º Lugar

ANÁLISE DA IMPREGNAÇÃO DE
NANOPARTÍCULAS DE DIÓXIDO DE ZIRCÔNIO
E DE PRATA EM UM CURATIVO VISANDO
ATIVAÇÃO DA CIRCULAÇÃO SANGUÍNEA
E EFEITO ANTIMICROBIANO

Autoras: Gabriela Schaab da Silva, 18 anos, e Kawoana Trautman Vianna, 18 anos, alunas da 4ª Série do Curso Técnico em Química da Fundação Escola Técnica Liberato Salzano Vieira da Cunha

Professora-Orientadora: Sílvia Stanisçuaski Guterres, 49 anos

País: Brasil

ANÁLISE DA IMPREGNAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE DIÓXIDO DE ZIRCÔNIO E DE PRATA EM UM CURATIVO VISANDO ATIVAÇÃO DA CIRCULAÇÃO SANGUÍNEA E EFEITO ANTIMICROBIANO

Este trabalho é o estudo da impregnação de nanopartículas de prata e óxido de zircônio em curativos. O objetivo deste curativo é ativar a circulação sanguínea, aquecendo a pele, e ter ação antimicrobiana, acelerando a cicatrização e auxiliando no tratamento de ferimentos ou doenças. Sua produção envolveu o preparo de soluções de nanopartículas de ZrO_2 e de Ag para impregnação no tecido rayon, nas concentrações de 1% p/v e 3% p/v, respectivamente. Estas nanopartículas, medidas no Mastersizer, apresentaram tamanhos de 448 nanômetros (ZrO_2) e 119 nanômetros (Ag). Foi feito o teste de célula de Franz durante 3 horas para averiguar se as nanopartículas penetrariam a pele, o que seria perigoso, e o resultado foi que não oferece riscos. Testes de MEV e EDS indicam distribuição adequada das nanopartículas no tecido. O curativo foi enviado ao SENAI, onde foi feito o teste de ação antimicrobiana, cujos resultados indicam que houve total inibição bacteriana (*Staphylococcus aureus*) e parcial (40%) fúngica (*Aspergillus niger*). O teste do aquecimento cutâneo foi avaliado com câmera termográfica Ele-trophysics, aquecendo-se uma barra de alumínio e depositando-se o curativo e o rayon, sendo a temperatura controlada por 12 minutos. O curativo demonstrou capacidade de aumentar em $2^{\circ}C$ a temperatura da superfície, em comparação ao controle. O preço agregado ao curativo foi baixo (R\$ 0,07). Uma entrevista com enfermeiros indicou que 100% dos profissionais reconhecem a importância das propriedades do curativo e o utilizariam. O curativo apresentado reúne a solução de problemas enfrentados na área da saúde, e seu uso poderá acarretar em bom avanço no tratamento de

doenças. Assim, poderia vir como solução para estes problemas com a vantagem de agregar tecnologia e redução dos gastos com saúde pública no MERCOSUL.

I. INTRODUÇÃO

Este projeto trata de um tema bastante importante na área médica: curativos utilizados em tratamentos que visam acelerar o processo de cicatrização de cortes cirúrgicos e evitar infecções durante o mesmo.

Lendo boletins informativos sobre tecnologia, as integrantes do projeto tiveram a oportunidade de conhecer melhor a nanotecnologia e se interessaram pelo assunto. Estudando propriedades de certas nanopartículas como as de dióxido de zircônio e as de prata, surgiu a ideia de utilizá-las na realização de um projeto de pesquisa. O dióxido de zircônio tem a capacidade de ativar a circulação sanguínea quando em contato com a pele, porque reflete os raios infravermelhos (calor) emitidos por ela, e a prata tem efeito antimicrobiano na mesma situação. Assim, decidiu-se analisar a impregnação destas nanopartículas em um curativo visando à utilização deste para aumentar o fluxo sanguíneo cutâneo e ter efeito antimicrobiano, no local em que o mesmo fosse aplicado, acelerando processos de cicatrização.

O uso de curativos é quase indispensável no tratamento de feridas fechadas e cortes cirúrgicos, uma vez que é utilizado a fim de prevenir a contaminação do local doente, evitar infecções, facilitar o processo de cicatrização, auxiliar o processo de remoção de secreções, promover a hemostasia, aliviar a dor e proteger o local ferido.

É de extrema importância que ferimentos não apresentem infecções, pois estas impedem o processo de cicatrização, já que infecções geram inflamações e estas impedem que a cicatrização se inicie. O uso de soluções anti-sépticas aumenta as reações inflamatórias locais e desta forma também retarda a cicatrização de ferimentos.

Diversas doenças estão relacionadas a deficiências ou dificuldades na circulação sanguínea, diante das quais a ativação da circulação local se faz necessária e até mesmo indispensável. Entre estas doenças, pode-se citar a trombose, a arteriosclerose, edemas, isquemia e embolia, sendo que na maioria das vezes, elas ocorrem juntas. Estas doenças, em estágio avançado, podem provocar complicações mais graves. A arteriosclerose, o edema e a própria trombose muitas vezes culminam na amputação do membro afetado por estas doenças.

Outra situação em que a circulação se faz essencial é em tratamentos pós-operatórios, como, por exemplo, de amputações e reimplantes. No caso de amputações, a circulação sanguínea estimula a cicatrização, e assim evita a necrose e a necessidade de outra amputação. Quando se trata de reimplantes, além de estimular a cicatrização, a circulação sanguínea é vital para o restabelecimento dos vasos que ligam o membro reimplantado e o restante do corpo, o que define se o reimplante terá sucesso ou se haverá uma nova amputação.

Há ainda a diabetes, que sempre é um agravante para pacientes que passam por qualquer tipo de procedimento cirúrgico, uma vez que diabéticos têm mais dificuldade de cicatrização e conseqüentemente estão mais propensos a ter uma infecção. A doença é a responsável pela maioria das amputações feitas atualmente. Uma estimativa feita pela International Diabetes Federation (2010) calcula que nos países que compõem o MERCOSUL, haja mais de 10,5 milhões de diabéticos. Sendo a diabetes a causa da morte de mais de 100 mil pessoas, apenas em 2010, nos países citados. Estudos apontam que o número de diabéticos na América Latina deve crescer em 38% nos próximos anos, ao passo que a população deverá aumentar em 14%. Assim, aumentarão também os casos de amputação causados pela diabetes.

Melhorar a qualidade de vida de pessoas com diabetes que possam vir a passar por amputações, aumentar a chance de uma amputação e de um reimplante terem sucesso e diminuir a chance de amputações causadas por doenças circulatórias são temas que exigem atenção. Urge a necessidade de tratamentos que auxiliem nesses processos e aumentem a chance dos mesmos serem bem sucedidos.

Baseado no exposto, surge a pergunta norteadora da pesquisa: as nanopartículas de dióxido de zircônio e as de prata teriam a capacidade de, impregnadas em um tecido, ativar a circulação sanguínea e impedir a proliferação de microorganismos, assim auxiliando tratamentos de saúde?

Parte-se da hipótese de que é possível impregnar tais nanopartículas em um tecido e de que este poderá auxiliar em tratamentos pós-cirúrgicos e de saúde em geral, ativando a circulação sanguínea e exercendo efeito antimicrobiano.

O objetivo geral do projeto é impregnar as nanopartículas desejadas, em tecido próprio para curativos (rayon), gerando no mesmo a capacidade de ativar a circulação e ter efeito antimicrobiano. Os objetivos específicos são: impregnar as nanopartículas no rayon; confirmar a presença e distribuição

das mesmas no tecido por meio de espectroscopia de energia dispersiva por raios-X e microscopia eletrônica por varredura; verificar se as nanopartículas contidas no tecido penetrariam a pele, através do teste de célula de Franz; testar a eficácia da ativação sanguínea através de teste com uma barra metálica aquecida coberta pelo curativo, fazendo-se o uso de câmera termográfica; testar a propriedade antimicrobiana do curativo com teste específico feito em um laboratório especializado; calcular o custo agregado ao curativo de rayon; entrevistar enfermeiros/médicos para analisar a aceitação do novo curativo.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. NANOTECNOLOGIA

Nano, um prefixo que denota um fator de 10^{-9} , tem sua origem no grego *nanos*, que significa anão. Para entender melhor a proporção de um nanômetro, tem-se: $1\text{nm} = 10\text{Å} = 0,000000001\text{m}$.

O uso de materiais em dimensões próximas ao nível atômico foi citado pela primeira vez por Richard Feynman em 1959. No entanto, o primeiro a usar o termo nanotecnologia foi o pesquisador japonês Norio Taniguchi em 1974. Desde então, os estudos na área da nanotecnologia têm avançado consideravelmente.

A nanotecnologia é, portanto, o estudo e a aplicação de materiais que se encontram nesta escala. É uma área de estudo que tem crescido muito, devido às diversas aplicações que podem ser dadas a materiais tão pequenos, capazes de serem impregnados em inúmeros itens, melhorando sua eficácia ou até agregando a eles novas características. Isso se deve ao fato de que, segundo Arsenault e Ozin (2005), nanomateriais caracteristicamente exibem propriedades físicas e químicas diferentes da estrutura na macroescala.

A alteração de propriedades do estado macro para o estado nano se deve à grande relação superfície/volume das partículas, que têm sua energia superficial aumentada, o que as torna mais reativas. Os efeitos quânticos também são uma razão para as substâncias mudarem de comportamento no nível nanométrico, dimensões nas quais se torna praticamente impossível conhecer exata e simultaneamente a posição e a velocidade de uma partícula entre as outras.

2.1.1. Instrumentos utilizados na avaliação de nanomateriais

2.1.1.1. Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura tem sido muito usada por permitir a visualização de materiais com aumentos muito superiores aos da microscopia-

pia ótica. Estes aumentos dependem do material, ficando comumente na faixa de 10000 vezes, mas podendo chegar a 900000 vezes.

O MEV usa, a fim de explorar a superfície da amostra, um feixe de elétrons de pequeno diâmetro. Transmite então o sinal do detector a uma tela catódica. O feixe pode ser guiado pelo analisador, varrendo diversos locais da amostra, por um sistema de bobinas de deflexão. O filamento de tungstênio aquecido é a fonte de elétrons mais usada nesta técnica.

Para que seja feito um teste de MEV, a amostra deve ser aderida a um stub, que é uma pequena peça metálica que serve de suporte para o material a ser analisado, com esmalte incolor. Deve ser metalizada, e para tal utiliza-se platina, ouro ou carbono, conforme necessidades especiais de análise.

2.1.1.2. Espectroscopia de Energia Dispersiva por raios-X (EDS)

O MEV também realiza microanálises, baseadas na avaliação da interação de raios-X, produzidos pelo equipamento, com a amostra.

Por meio da identificação dos raios-X enviados pela amostra, em interação com o feixe eletrônico, pode-se definir a composição de regiões com até 1 μm de diâmetro.

2.1.1.3. Mastersizer

O instrumento Mastersizer X, da Malvern, identifica materiais com tamanhos entre 0,02 e 2000 micrometros, conforme informações do fabricante. Utiliza o princípio da difração da luz para determinar a distribuição do tamanho de partícula.

Um feixe de laser é enviado em direção à amostra líquida a ser analisada. No momento em que o feixe colimado encontra as partículas, parte deste é difratada e atravessa lentes, sendo então focada no detector. O tamanho da partícula e o ângulo de difração são inversamente proporcionais.

2.1.2. Aplicações

O avanço da tecnologia na direção do universo nanométrico tem aberto uma série de oportunidades em diferentes campos da ciência e da tecnologia. Além de representarem um leque de novas possibilidades, as nanopartículas, por serem muito reativas, podem encontrar-se em baixa concentração em um material e apresentarem desempenho satisfatório, sendo assim o preço agregado a produtos nanotecnológicos consideravelmente baixo.

Dentre as aplicações de nanomateriais em produtos, destacam-se novas drogas, sistema de aplicação de medicamentos “drug delivery”, terapias medicinais, o desenvolvimento de tecidos celulares sintéticos, a miniaturiza-

ção de circuitos e dispositivos eletro-eletrônicos e eletro-mecânicos (MENS/NEMS), desenvolvimento de novos materiais e produtos com características, propriedades e funcionalidades específicas, sensores, novos processos catalíticos, novas fontes de armazenamento e produção de energia.

2.1.3. Segurança

Por ser uma ciência nova, a nanotecnologia inspira atenção especial quanto à segurança, uma vez que não há normas oficiais completas sobre seu manuseio. O Instituto Nacional de Segurança e Saúde Ocupacional (NIOSH, em inglês), dos Estados Unidos, estabelece, na sua publicação “Approaches to Safe Nanotechnology” (2006), uma série de recomendações que podem vir a se tornar regras de manuseio da nanotecnologia.

Uma preocupação relacionada ao uso de artefatos nanotecnológicos é a possível citotoxicidade (toxicidade de um material em relação às células) de nanomateriais.

Os assuntos chave de segurança envolvendo o uso de nanopartículas em aplicações biomédicas relatam principalmente a sua biocompatibilidade com células. Pois um material na microescala, que não agride um organismo onde é introduzido, na nanoescala pode se tornar um perigo à saúde, especialmente se tiver dimensões inferiores a 100 nanômetros (ARSENAULT, 2005).

Porém, no caso de uma nanopartícula não penetrar a pele, não são relatados riscos à saúde do usuário de um produto que contenha nanopartículas, uma vez que estas não estariam interagindo diretamente com o organismo humano. Assim, é de extrema importância determinar se uma determinada nanopartícula penetra ou não na pele.

2.1.4. Célula de Franz

A célula de difusão de Franz tornou-se um método popular de estudo da difusão e permeação de substâncias através da pele. Depois de algum tempo foi também utilizada para determinação da liberação *in vitro* de semi-sólidos.

A célula de Franz segue o modelo bicompartimental das células de difusão, possuindo dois compartimentos, um contendo a substância a ser analisada (compartimento doador) e outro contendo uma substância onde a solução em análise é solúvel, separados por uma membrana natural ou sintética.

Para efeitos de avaliação de permeação da pele, os dois compartimentos são separados por um pedaço de pele, devidamente limpo. A análise da composição inicial e da final do compartimento receptor indica qualitativamente e quantitativamente a permeação da pele pela substância em questão, que é depositada sobre a pele, no compartimento de cima.

2.2. NANOPARTÍCULAS DE PRATA

A prata é o elemento químico de número atômico 47, representado simbolicamente pela sigla Ag.

Através de muitos estudos, a medicina vem comprovando que a prata tem a capacidade de destruir diversos organismos patogênicos como bactérias e fungos, ou seja, esta substância é um eficaz agente antimicrobiano. Isso porque a prata altera o metabolismo destes microrganismos impedindo estes cresçam e se desenvolvam acarretando na morte dos mesmos. Devido a este efeito a prata tem sido muito utilizada na área da saúde, com a finalidade de eliminar microrganismos, gerando proteção às infecções causadas por fungos e bactérias.

Atualmente muito se tem estudado sobre a ação de nanopartículas de prata impregnadas em tecidos, curativos e instrumentos cirúrgicos que protegem doentes de infecções. O tecido impregnado com nanopartículas poderia ser utilizado tanto em tratamento pós-operatórios de qualquer paciente quanto no dia-a-dia de diabéticos que frequentemente tem ulcerações nos pés, que podem se tornar um perigo caso o local infeccione. A vantagem das nanopartículas impregnadas é que elas ficam presas no tecido, impedidas de adentrarem o organismo humano, além de se apresentarem em baixa concentração.

2.3. INFECÇÕES

Infecções ocorrem quando um organismo invasor, também chamado de infectante, se hospeda em um corpo estranho, denominado infectado, e utiliza dos recursos deste para se multiplicar, alterando a fisiologia normal do hospedeiro, gerando prejuízos. Como consequência à instalação do infectante, o infectado gera a inflamação. Os agentes infectantes, patógenos, podem ser bactérias, fungos, vírus e parasitas, entre outros.

Toda infecção gera uma inflamação que é a resposta do corpo à infecção, como tentativa de eliminar os organismos invasores. Uma infecção é definida como a presença de edema (inchaço), hiperemia (vermelhidão), hiperestesia (dor ao toque), aumento da temperatura no local e, às vezes, perda de função. A inflamação pode resultar na formação de pus, durante um processo chamado de supuração.

Os organismos patógenos, ao penetrarem a pele, aderem às células do corpo e muitas vezes liberam toxinas, que prejudicam o funcionamento das células vizinhas e até às distantes do local infectado.

A infecção hospitalar é um dos principais problemas de saúde pública da atualidade e gera como consequência aumento da morbidade, da mortali-

dade e também dos custos relacionados à assistência à saúde. Em países como os Estados Unidos da América o prejuízo causado pelas infecções nosocomiais é calculado em 2.000.000 dólares/ano, sendo esta a 6ª causa de morte, chegando a gerar cerca de 500.000 mortes a cada ano.

As infecções hospitalares que ocorrem com maior frequência são as de feridas cirúrgicas, tratos urinários, tratos respiratórios e circulação sanguínea.

2.4. NANOPARTÍCULAS DE DIÓXIDO DE ZIRCÔNIO

O zircônio é o 18º elemento mais abundante na crosta terrestre, sendo encontrado principalmente como zirconato, $ZrSiO_4$, e pequenas quantidades de ZrO_2 , que é o dióxido de zircônio. Este dióxido tem, entre suas moléculas, atrações de Van der Waals, resultado de sua apolaridade.

As nanopartículas de dióxido de zircônio apresentam certas vantagens, tais como granulação uniforme e alta resistência mecânica. O dióxido de zircônio pode ser obtido na escala nano, na qual se observa mudança nas suas propriedades, principalmente no seu índice de refração, que passa a ser de 2,165.

O alto índice de refração do dióxido de zircônio faz com que, em um processo de refração, os raios incidentes sobre esta substância sofram um grande desvio, sendo que a maioria destes raios sofre reflexão total, retornando ao meio de origem.

Sua obtenção é feita comumente pelo método sol-gel, como faz a empresa Nanum (Av. José Cândido da Silveira, nº 2100, Cidade Nova – Belo Horizonte, Minas Gerais). As nanopartículas de ZrO_2 obtidas apresentam área superficial de 15 m²/g; densidade aparente de 0,09 g/cm³ e morfologia esférica.

2.5. A IMPORTÂNCIA DA CIRCULAÇÃO SANGUÍNEA

Diversas doenças estão relacionadas a deficiências ou dificuldades na circulação sanguínea, diante das quais ativar a circulação local se faz necessário e até mesmo indispensável.

Entre estas doenças, pode-se citar a arteriosclerose, que é o espessamento e endurecimento da parede arterial. Segundo a Sociedade Brasileira de Cirurgia Vasculare (SBCV), um tipo de arteriosclerose é a aterosclerose, doença que atinge artérias de grande e médio calibre, como as artérias coronárias, as artérias carótidas e as artérias dos membros inferiores. É caracterizada pelo depósito de gordura, cálcio e outros elementos na parede das artérias, reduzindo seu calibre e trazendo um déficit sanguíneo aos tecidos irrigados por elas. A superfície interna irregular da artéria com arteriosclerose predispõe à coagulação sanguínea neste local, com oclusão arterial aguda – trombose –

levando subitamente à falta de sangue para todos os tecidos nutridos por aquela artéria, que podem entrar em isquemia ou necrose.

A arteriosclerose pode levar à trombose, que é um tipo de embolia, a presença de uma substância estranha ao sangue caminhando na circulação, levando à oclusão parcial ou completa da luz do vaso em algum ponto do sistema circulatório. No caso da trombose, a embolia é causada por coágulo sanguíneo. Embolias podem ser gasosas (por exemplo, no caso de ficar oxigênio na veia após uma cirurgia) e líquidas, causadas por gorduras. A embolia gordurosa pode causar morte rápida, devido à sua alta capacidade de penetração em arteríolas e capilares, obstruindo a microcirculação. A embolia leva também a edemas e à isquemia.

Por definição, isquemia é o fluxo arterial insuficiente para manter as funções normais teciduais, isto é, a diminuição de nutrientes (glicose, oxigênio, proteínas, vitaminas, enzimas, etc.) para os tecidos e o retardo na retirada dos metabólitos. Pode ser resumida a “doença” do tecido.

Caso a isquemia evolua sem tratamento, ocorre a morte do tecido, chamada de gangrena. Gangrena é necrose (morte celular, de tecido ou de órgão) devido à obstrução, ou diminuição do fluxo sanguíneo.

Estas doenças, na maioria das vezes, ocorrem juntas e o tratamento é baseado em compressas de calor no local afetado em estágios iniciais, porém à medida que a doença avança podem ocorrer diversas complicações, culminando, até mesmo, em amputações, que teriam sido evitadas se houvesse circulação sanguínea adequada.

Além de prevenir amputações, a circulação sanguínea é essencial nas chances de um replante ser bem sucedido. O cirurgião Rames Mattar, especialista em replante de mão do Hospital Albert Einstein, citado por Stam (2008), afirma que “Sem circulação sanguínea os tecidos podem sofrer necrose em até seis horas em temperatura ambiente” o que inviabiliza o replante.

2.6. CURATIVOS

O uso de curativos, material colocado diretamente sobre uma ferida, é quase indispensável no tratamento destas, uma vez que é utilizado a fim de prevenir a contaminação do local doente, evitar infecções, facilitar o processo de cicatrização, auxiliar o processo de remoção de secreções, promover a hemostasia, aliviar a dor e proteger a ferida.

Os curativos que tem ganhado mais destaque na área médica são os que afetam o processo de cicatrização diretamente e os que possuem efeito antimicrobiano. Porém não existe nenhum que agregue estas duas propriedades.

3. METODOLOGIA

A pesquisa iniciou-se em 15 de abril de 2009 e terminou em 14 de outubro do mesmo ano, conforme o caderno de campo.

A pesquisa bibliográfica foi realizada nas bibliotecas da Fundação Liberto, da Unisinos, da Feevale e da PUC, bem como na internet.

A produção dos curativos, o teste da célula de Franz e o teste de lavagem, assim como todas as leituras do aparelho Mastersizer foram feitos nos laboratórios de cosmetologia (405) e multiuso (103) da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, situada na av. Ipiranga, 2752, Santa Cecília, Porto Alegre. Estes procedimentos foram feitos pelas integrantes do projeto.

Os testes de Microscopia Eletrônica de Varredura foi feito no Centro de Microscopia da UFRGS, situado na rua Felizardo 750, Jardim Botânico. O equipamento foi manuseado pelos profissionais do local, enquanto a preparação das amostras, a definição e a coleta de imagens foi feita pelas integrantes do projeto.

O teste de ação antimicrobiana foi feito pelos profissionais do laboratório do SENAI Estância Velha- Rua Gregório de Mattos, 111, Floresta.

O teste da ação térmica do curativo foi feito no laboratório de Biomecânica do Instituto Brasileiro de Tecnologia do Couro, Calçado e Artefatos (IBTeC), situado na rua Araxá, 750, Bairro Ideal em Novo Hamburgo, sendo manuseado pelas integrantes do projeto.

3.1. PLANO DE PESQUISA

Esta pesquisa tem abordagem qualitativa e objetivo explicativo com delineamento experimental.

A pesquisa teve como variável independente a composição do tecido de rayon comprado. As variáveis dependentes foram a ação antimicrobiana, a distribuição e concentração das nanopartículas no tecido, ação térmica e a capacidade ou não das nanopartículas penetrarem na pele humana.

A população desta pesquisa são as nanopartículas, tanto de dióxido de zircônio quanto de prata, encomendadas de empresa especializada. O critério de exclusão foi o tamanho das partículas: caso não estivessem na escala nanométrica ou estivessem muito abaixo do que ditam as normas de segurança, estas partículas não seriam utilizadas.

3.2. DESCRIÇÃO DAS ETAPAS, TÉCNICAS E PROCEDIMENTOS UTILIZADOS

3.2.1 Medição do tamanho das nanopartículas

Foram preparadas 10mL de três soluções aquosas: uma contendo apenas partículas de prata, na concentração de 30g/L; outra, contendo partículas de óxido de zircônio e polissorbato 80 (agente tensoativo), na concentração de 10g/L; e outra contendo tanto prata quanto óxido de zircônio, nas mesmas concentrações. As soluções foram preparadas em copos de béquer, agitadas com bastão de vidro e posteriormente em agitador magnético Multi Stirrer Velp Scientifica na velocidade 5, até obter-se a dispersão.

As soluções foram avaliadas no Mastersizer, colocando-se os 10mL no equipamento e fazendo-se a leitura por número, levando-se em consideração o índice de refração do óxido de zircônio (2,165), do poliestireno (1,59), usado para avaliação da prata, devido ao fato do equipamento não ter a prata no catálogo de índices de refração, e do meio dispersante (1,33). Foi avaliado, assim, o tamanho das nanopartículas utilizadas.

3.2.2. Impregnação

Após a limpeza, os curativos estavam prontos para que fossem impregnados com as nanopartículas. Esta etapa consistiu no preparo da dispersão com as nanopartículas, em banhar os curativos na dispersão, e na secagem dos curativos.

A pesagem dos reagentes foi feita para se obter uma dispersão aproximadamente 1% p/v de ZrO_2 , 3% p/v da emulsão com Ag e 1% p/v de polissorbato 80. Foram preparadas duas dispersões de 250 mL, através do método analítico, e cada uma, em um copo de béquer, recebeu 8 curativos de rayon. Os curativos, mantidos em contato com a dispersão foram colocados no agitador magnético Multi Stirrer Velp Scientifica na velocidade 5 e após 20 minutos foram retirados, colocados sobre um recipiente plástico e então, foram para secagem em uma câmara climática a uma temperatura de 45°C e sob umidade 30. Ao final de 24 horas os curativos foram retirados da câmara climática.

3.2.3. Pré-teste de impregnação

O pré- teste foi feito após a primeira impregnação, buscando averiguar o sucesso da impregnação, se as nanopartículas realmente ficaram no curativo, antes do teste de microscopia.

Para esse teste usou-se um curativo de rayon cortado em quatro pedaços que passaram pelo procedimento da impregnação. Estes foram lavados em água e analisados no equipamento Mastersizer X.

O procedimento de impregnação foi repetido da mesma maneira, porém com três soluções: uma delas contendo apenas ZrO_2 ; outra, contendo apenas Ag; e uma terceira com ZrO_2 e Ag juntos. Desta forma se averiguaria se ambos os compostos ficariam impregnados no curativo, caso estas nanopartículas fossem identificadas na água que recebeu os curativos impregnados.

3.2.4. Reimpregnação

Após o primeiro teste de microscopia eletrônica por varredura, mostrou-se necessária a reimpregnação de nanopartículas de Ag, que não se mostraram presentes em grande quantidade no tecido analisado na primeira impregnação, porém a dispersão continha apenas Ag a 3 % p/v.

3.2.5. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV):

Neste teste foram avaliadas quatro amostras: um pedaço de rayon sem nanopartículas (grupo de controle) e pedaços do curativo impregnado.

As amostras foram cortadas em círculos de diâmetro 1cm e coladas, com esmalte incolor, sobre um stub de alumínio previamente limpo com acetona, de forma que ficaram aderidas ao mesmo.

No Centro de Microscopia, foram metalizadas com platina e/ou carbono.

Foi feita então a avaliação da estrutura do curativo, comparada com o rayon puro. Foram tiradas fotos em aumentos de 200, 1000, 5000 e 15000 vezes.

3.2.6. Espectrometria de energia dispersiva de raios X (EDS):

Os mesmos stubs preparados para a microscopia eletrônica de varredura foram utilizados na espectrometria de energia dispersiva, uma vez que ambos os testes são feitos no mesmo equipamento.

Uma área do curativo foi selecionada e o equipamento fez a leitura, avaliando a presença dos elementos na amostra.

3.2.7. Célula de Franz

Neste teste, que busca avaliar se as nanopartículas do curativo em contato com a pele adentrariam o organismo, foram utilizadas seis células de difusão de Franz. Três delas tinham, acima da membrana, um pedaço do curativo, enquanto as outras três não continham curativo, sendo o grupo de controle. O ambiente receptor de todas as células foi preenchido com água ultra pura. A membrana utilizada foi a pele abdominal de porcas, previamente limpa e sem gordura. Foram escolhidos pedaços de pele com espessuras próximas, conforme a tabela:

Tabela 1: organização do teste de célula de Franz

Célula de Franz	Descrição	Espessura da pele
1	Grupo de controle	2,32mm
2	Grupo de controle	2,3mm
3	Grupo de controle	2,34mm
4	Com curativo	2,26mm
5	Com curativo	2,4mm
6	Com curativo	2,08mm

As coletas foram feitas nos tempos de 1h, 2h e 3h, sendo sempre retirada a água do ambiente receptor de uma das células com curativo e de outra do grupo de controle, simultaneamente.

Estas amostras foram avaliadas no equipamento Mastersizer, sendo feita a leitura por número considerando os índices de refração da zircônia (2,165) e do poliestireno (1,59).

3.2.8. Teste de ação da prata

Foram enviados ao SENAI dois pedaços do curativo (com e sem nanopartículas), com as dimensões de 7,5cm por 7,5cm. A ação do curativo quanto a fungos foi analisada com *Aspergillus niger*; quanto a bactérias, a ação do curativo foi avaliada com *Staphylococcus aureus*.

3.2.9. Teste de ação térmica do curativo

A propriedade do ZrO_2 de refletir raios infravermelhos que nele incidem provenientes de qualquer corpo foi testada aquecendo-se, uniformemente, com lâmpadas incandescentes de 60W, uma barra de alumínio.

Foram colocados sobre a chapa quente dois curativos: um deles (grupo de controle) contendo apenas ZrO_2 ; outro ZrO_2 e Ag (segunda impregnação).

Durante 12min, a barra coberta de curativos foi fotografada a cada 15s com uma câmara termográfica Eletrophysics modelo PV320T, que através de fotos indica a temperatura do local, onde branco é o ápice de calor e preto é o ápice de frio, passando intermediariamente por todo o espectro de cores.

3.2.10. Entrevista

Foi elaborada uma entrevista visando analisar a opinião dos profissionais da saúde sobre o curativo e sobre sua ação, relacionando-se a tratamentos pós-cirúrgicos. A pesquisa, de perguntas fechadas e de simples escolha, foi

aplicada a uma turma do curso de enfermagem da Universidade do Vale do Rio do Sinos que já cursou a cadeira Adultos II, na qual estuda-se e aplica-se curativos, tendo assim os alunos conhecimento e prática para avaliar o curativo produzido neste projeto.

Os enfermeiros foram questionados quanto à aprovação do curativo, e também quanto às principais causas de amputação por eles presenciadas, para que fosse possível averiguar a porcentagem de amputações que poderiam ter sido evitadas (aquelas que não são causadas por acidentes).

3.2.11. Custo

O custo foi calculado com base no percentual de ZrO_2 e Ag que ficaram no tecido, mostrado no aparelho de EDS. Para isso foi considerado o curativo com massa de 1,1395 g e as nanopartículas com custo de 3 reais/grama. Foi levado em consideração o preço do tecido de rayon (R\$ 14,28/m²) e o preço de mercado da impregnação terceirizada (R\$ 0,36/m²).

4. RESULTADOS E ANÁLISE DE DADOS

Depois de realizada a metodologia descrita neste relatório, foram analisados e discutidos os resultados encontrados.

4.1. ANÁLISE DO TAMANHO DAS NANOPARTÍCULAS

Os valores encontrados após a análise das amostras de água e ZrO_2 e Ag mostraram que o tamanho das partículas dispersas estavam entre 100 nanômetros e 1 micrômetro, ou seja as partículas foram consideradas nanométricas e adequadas para a impregnação no curativo, pois acima de 100nm dificilmente causam danos ao corpo humano (ARSENAULT et al, 2005). A leitura feita no Mastersizer indicou que as partículas de ZrO_2 tinham diâmetro médio de 448 nm e as de Ag tinham diâmetro médio de 119 nm.

4.2. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

Neste teste, a presença de partículas aderidas à superfície do curativo, não encontradas no grupo de controle (rayon), indicaria que houve impregnação e a disposição das nanopartículas na fibra. A análise deixou clara a presença de nanopartículas na fibra do tecido, como mostram a figura:

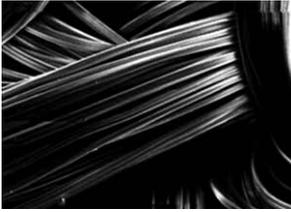


Figura 1: Resultado da Microscopia Eletrônica de Varredura com aumento de 200 vezes: apenas o tecido;

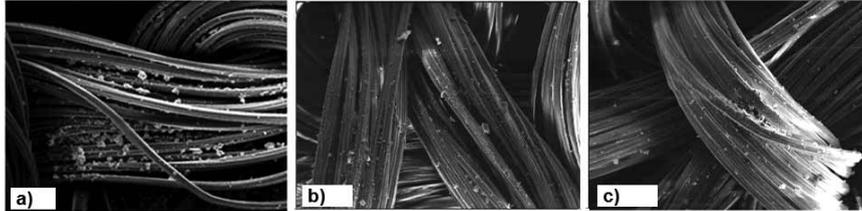


Figura 2: Resultado da Microscopia Eletrônica de Varredura com aumento de 200 vezes: a) apenas óxido de zircônio e prata antes da reimpregnação; b) apenas prata; c) óxido de zircônio e prata depois da impregnação.

4.3. ESPECTROMETRIA DE ENERGIA DISPERSIVA DE RAIOS-X (EDS)

O procedimento realizado no aparelho EDS mostrou quais os elementos químicos presentes na amostra de curativo. Se fossem encontrados os elementos prata e zircônio, elemento que seria encontrado devido ao ZrO_2 , isso comprovaria que as nanopartículas desejadas estariam impregnadas no curativo. A presença de carbono e de oxigênio nas análises se justifica pela composição das fibras do tecido; sílica é considerada impureza (poeira); alumínio, quando encontrado, é referente à composição do stub, onde foi colocada a amostra; na primeira microscopia a metalização foi feita com platina, o que justifica sua presença enquanto as duas últimas foram feitas com carbono.

Após a primeira impregnação, a análise por EDS mostrou que apenas o dióxido de zircônio estava aderido às fibras do tecido em quantidade considerável, porém o percentual encontrado não pode ser levado em consideração, uma vez que o aparelho não consegue diferenciar Zr de Pt, então ele indica se há Zr mas não na quantidade real, como pode ser observado na tabela:

Tabela 2: concentração dos compostos na primeira análise de EDS

Elemento	C	O	Zr	Ag	Pt
Valor (%)	46,97	1,36	43,52	0,50	7,66

Analisando-se o tecido reimpregnado com somente prata, observou-se sua presença, como indica a tabela:

Tabela 3: concentração dos compostos na análise de EDS com rayon e prata

Elemento	C	O	Al	Si	Ag
Valor (%)	80,53	15,20	1,84	0,25	2,18

Quanto ao tecido que continha óxido de zircônio e foi reimpregnado com prata, foi comprovada a presença de ambas as substâncias, conforme a tabela:

Tabela 4: concentração dos compostos na análise de EDS no tecido reimpregnado

Elemento	C	O	Al	Zr	Ag
Valor (%)	82,12	15,34	0,46	1,26	0,81

4.4. CÉLULA DE FRANZ

Nas amostras coletadas nos tempos de 1h, 2h e 3h, avaliadas no equipamento Mastersizer, a presença de nanopartículas indicaria que curativo as havia liberado e que elas penetraram a pele, chegando até a água.

O resultado em todas as seis amostras foi negativo, ou seja, fica provado que as nanopartículas não adentrariam o organismo quando em contato com a pele. Assim, com base na bibliografia consultada, pode-se afirmar que o curativo não apresentaria riscos à saúde do paciente.

4.5. TESTE DE AÇÃO DA PRATA

O SENAI elaborou um laudo do teste, que foi avaliado. A presença de halo de inibição entre o curativo e os micróbios indicaria a ação antimicrobiana da prata.

O curativo inibiu totalmente a proliferação da bactéria *Staphylococcus aureus* e parcialmente a proliferação do fungo *Aspergillus niger*. Como as infecções por bactérias são as mais danosas à pele, o resultado foi considerado

positivo. No entanto, pretende-se aumentar a concentração de prata no curativo, o que, acredita-se, melhorará seu desempenho quanto a fungos, como mostra a figura 3:

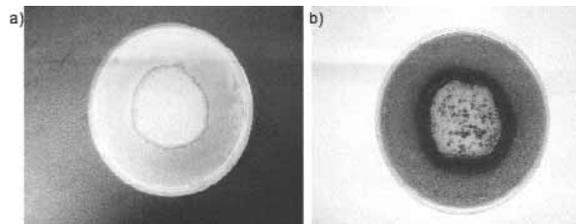


Figura 3: laudo da ação antimicrobiana da prata: a) em relação à bactéria *Staphylococcus aureus* (inibição total com formação de halo de inibição); b) em relação ao fungo *Aspergillus niger* (inibição de 40%).

4.6. TESTE DE AÇÃO TÉRMICA DO CURATIVO

Observando-se as imagens obtidas, pode-se concluir que as temperaturas iniciais para os dois curativos eram as mesmas; após o período do teste, observou-se uma significativa variação na coloração da barra de metal nos seus diferentes pontos: enquanto no grupo de controle a coloração variou de branco a róseo intenso, o da segunda impregnação apresentou a maior parte da sua superfície ainda branca, o que indica que realmente manteve o calor da barra metálica com muita eficácia, como mostra a figura:

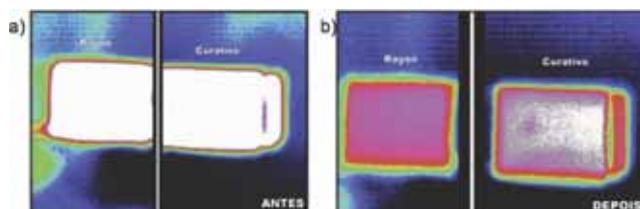


Figura 4: fotos dos curativos com câmara termográfica: a) no início da experimentação; b) ao término da experimentação.

A análise de dados de imagens do computador acoplado à câmara termográfica indica que, na situação final, entre o grupo de controle e o curativo de segunda impregnação, houve variação de 2°C, o que é muito significativo, uma vez que a bibliografia consultada indica que um aumento de 0,5°C provoca bom aumento do fluxo sanguíneo local.

4.7. ENTREVISTA

A totalidade dos entrevistados considerou importante a ativação da circulação sanguínea na cicatrização, bem como a inibição da proliferação de bactérias e fungos. Todos os entrevistados afirmaram, ainda, que usariam o curativo impregnado de nanopartículas de ZrO_2 e Ag se fossem os responsáveis por um tratamento pós-cirúrgico, especialmente de amputação e reimplante.

Quanto às causas de amputação presenciadas por estes alunos, 61,9% afirmaram que estariam relacionadas à diabetes; 23,81% consideraram acidentes de trânsito os principais responsáveis; 9,52% indicaram acidentes de trabalho como causadores destas complicações; 3,17% afirmaram que as amputações teriam sido realizadas devido a doenças vasculares; e 1,59% seriam causadas pela má formação de membros, como indica o gráfico da figura 5:

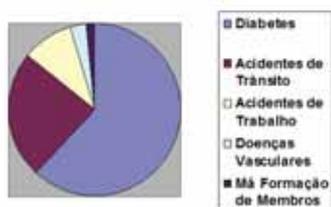


Figura 5: gráfico das respostas dos enfermeiros entrevistados a respeito das causas de amputação por eles presenciadas

4.8. CUSTO

Através da análise de EDS percebeu-se que no curativo reimpregnado o percentual de ZrO_2 era de 1,26% e o de Ag era de 0,81%. Logo a massa de ZrO_2 contida no mesmo era igual a 0,0144g e a de Ag era igual a 0,0092g. É importante lembrar que o curativo tinha dimensões de 7,5 x 15cm. Assim, o custo pra a impregnação das nanopartículas foi de 0,07 reais em 112,5cm² de curativo. Considerando o preço do rayon de da impregnação, o custo de 1m² do curativo seria de 20,87 reais.

5. CONCLUSÃO

O objetivo principal do projeto foi alcançado. Foi criado um curativo capaz de ativar a circulação sanguínea, inibir o risco de infecção por bactérias e reduzir o risco das causadas por fungos. Isso aconteceu devido às propriedades das nanopartículas de ZrO_2 e Ag que foram impregnadas com sucesso

no curativo de rayon. Este feito é inédito no mundo e, portanto, contribui para que a América Latina esteja cada vez mais inserida no contexto da pesquisa científica no âmbito da nanotecnologia. Esta inserção é fundamental não só para a ciência, mas também para o desenvolvimento econômico da região, além de trazer prestígio internacional interessante ao MERCOSUL.

O curativo de rayon, como mostrado no teste de microscopia eletrônica por varredura, continha as nanopartículas das substâncias desejadas e estas estavam dispostas uniformemente em toda a fibra do tecido.

Já o teste de EDS pode comprovar que as substâncias observadas no MEV eram realmente ZrO_2 e Ag.

Ao longo da elaboração do projeto, desenvolveu-se o método mais adequado para a produção do curativo, que consiste em impregnar primeiro as nanopartículas de óxido de zircônio e depois as de prata. Este método se mostrou bastante apropriado, pois permite uma distribuição uniforme e proporcional das nanopartículas nas fibras do tecido. Pode-se agora trabalhar na diminuição do pick up, a fim de obter-se um melhor rendimento, podendo-se economizar material e baixar o custo, tomando o cuidado de que as propriedades do curativo continuem as mesmas.

O teste de célula de Franz mostrou que o curativo não seria nocivo ao paciente que fizesse uso do mesmo, pois as nanopartículas não passaram pela pele utilizada, logo não penetrariam na pele humana.

O laudo do teste de efeito antimicrobiano mostrou que o curativo seria capaz de impedir totalmente a proliferação de bactérias e parcialmente a de fungos, dessa forma assumiria um papel importante na redução do risco do paciente ter uma infecção no ferimento sobre o qual o curativo fosse aplicado.

O teste de aumento da temperatura gerado pelo curativo provou que este seria capaz de aumentar em $2^\circ C$ a temperatura da pele sobre a qual fosse aplicado, o que geraria um significativo aumento do fluxo sanguíneo no local.

O custo agregado a cada curativo de rayon impregnado com as nanopartículas foi de aproximadamente 7 centavos. Estima-se que um metro quadrado do curativo custaria, em média, 20,87 reais.

A entrevista realizada com enfermeiros, baseada em suas experiências em hospitais, revelou que todos os entrevistados aplicariam o curativo produzido neste projeto, se responsáveis por um tratamento pós-operatório, uma vez que consideram suas propriedades de extrema importância. Constatou-se ainda, com a entrevista, que as principais causas de amputação presenciadas

pelos entrevistados estavam relacionadas à diabetes (61,9%) e, portanto, poderiam ter sido evitadas se houvesse circulação sanguínea adequada no membro debilitado.

Logo, o curativo criado poderia ajudar significativamente no tratamento de doenças microvasculares de maneira geral, bem como tratamentos pós-operatórios, uma vez que se provou capaz de ativar a circulação e reduzir muito a chance de infecções. Desta forma a hipótese do projeto foi comprovada e as consequências do uso do curativo, que acelera o processo de cicatrização, seriam também trazer mais qualidade de vida a quem passa pelos procedimentos cirúrgicos ou possuem as doenças citadas. O curativo poderia ainda reduzir a chance de um diabético passar por uma amputação, ou aumentar a chance de um reimplante ser bem sucedido.

Além disso, com o baixo custo agregado ao curativo devido à impregnação das nanopartículas, em comparação com os curativos já existentes, seu uso não se restringiria a uma pequena parcela da população com melhores recursos financeiros. Este fato também diminuiria consideravelmente os gastos brasileiros com este tipo de tratamento e, graças ao livre comércio e parceria oriundos do Mercosul, também reduziria os gastos em saúde de todos os países membros, levando a toda a América Latina novas esperanças da redução de amputações e do bom desempenho de reimplantes.

O curativo ainda se sobressai sobre os métodos já existentes para a ativação da circulação sanguínea e efeito antimicrobiano uma vez que é de fácil aplicação; não ficaria aderido à pele (o que provocaria dor); é poroso o suficiente para que a pele consiga respirar e para que o exsudato de feridas possa passar. Além disso, por ser um tecido aplicado externamente, seu uso seria um método não invasivo.

A partir de todas as constatações expostas, conclui-se com a presente pesquisa, que a impregnação de nanopartículas de óxido de zircônio e de prata permite a produção de um curativo eficaz aos fins a que se propõe, chegando como alternativa viável e de procedência local ao tratamento de doenças que hoje causam tantos danos à região.

BIBLIOGRAFIA

AIRES, M. de M. (Org.). *Fisiologia*. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 1999.

ARSENAULT, A.; OZIN, G. *Nanochemistry*. a chemical approach to nanomaterials. Toronto: Editora RSC Publishing, 2005.

BALBINOT, L. F. *Termografia na identificação de trigger points miofaciais*. Florianópolis: Editora Blucher Acadêmica, 2008.

MADIGAN; MARTINHO; PARKER. *Microbiologia de Brock*. 10.ed. São Paulo: Editora Pearson, 2004. p. 551-553.

THE ECONOMIC IMPACTS OF DIABETES. *International Diabetes Atlas*. Bélgica: 2009. Disponível em: <<http://www.diabetesatlas.org/content/economic-impacts-diabetes>>. Acesso em: 10 nov. 2009.

Categoria Estudante Universitário

1º Lugar

NANOSENSORES SERS:
AMPLIANDO OS MÉTODOS DE FEIGL

Autor: Daniel Grasseschi, 22 anos, aluno do 8º semestre do Instituto de Química da Universidade de São Paulo (USP)

Professor-Orientador: Henrique Eisi Toma, 61 anos

País: Brasil

NANOSENSORES SERS: AMPLIANDO OS MÉTODOS DE FEIGL

1. RESUMO

Neste trabalho buscou-se o desenvolvimento de novos caminhos para os *spot-tests* de Feigl, criando ao mesmo tempo novos substratos SERS compostos de nanopartículas de ouro. Por se tratar de uma abordagem original, foi necessário realizar uma prova de conceito, utilizando a ditizona, um reagente analítico bastante empregado por Feigl, porém imobilizado na superfície de nanopartículas esféricas de ouro. Foi feito um estudo minucioso dos sistemas através da espectroscopia eletrônica e Raman.

2. INTRODUÇÃO

Spot tests tornaram-se procedimentos populares em laboratórios e em química forense desde o trabalho monumental de Fritz Feigl, abrangendo análises orgânicas e inorgânicas.[1] Eles são usualmente realizados adicionando um gota de solução em um papel filtro impregnado com reagentes seletivos ou específicos, capazes de reconhecer os analitos contidos na amostra. Apesar da rápida evolução de técnicas modernas de análises, os *spots tests* mantêm-se bastante úteis, particularmente para a identificação de íons inorgânicos.

Embora não seja uma prática comum, muitos *spot tests* podem ser acoplados com instrumentações analíticas adequadas, como um espectroscópio Uv-vis de reflectância, com intuito de aprimorar a avaliação das mudanças de cor e extrair informações mais detalhadas sobre a natureza das espécies químicas. Em particular, o limite visual de diluição e identificação pode ser muito expandido com a assistência de detectores sensíveis e instrumentação adequada.

Hoje em dia, com o advento da nanotecnologia, nanopartículas metálicas têm introduzido, na química, novas possibilidades a serem exploradas, como por exemplo, em nanocatálise e nanomateriais, permitindo uma ampla variedade de aplicações.[2],[9]

Em escala nanométrica as propriedades físicas e químicas das moléculas são diferentes e podem ser manipuladas com intuito de construir dispositivos inteligentes. Nesse contexto, a abordagem supramolecular contribui para o estudo de espécies organizadas em que moléculas e partículas são utilizadas como unidades de montagem, através de interações intermoleculares ou coordenativas, para o desenvolvimento de materiais funcionais.[10],[11]

As nanopartículas vêm se destacando na composição desses materiais, pois apresentam interessantes propriedades ópticas relacionadas com a oscilação dos elétrons superficiais em ressonância com a radiação eletromagnética.[12] A frequência de ressonância desses elétrons superficiais, denominados plasmões, é altamente dependente do tamanho e da forma das nanopartículas, uma vez que o diâmetro delas é muito menor que o comprimento de onda da radiação incidente. Com isso, a simetria das partículas determina como os elétrons superficiais respondem ao campo elétrico da luz como mostram a Figura 1 e a Figura 2.

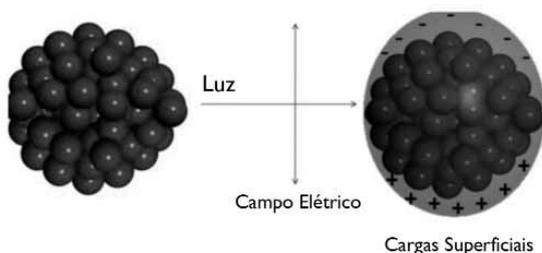


Figura 1 - Separação de cargas na superfície das nanopartículas metálicas esféricas, decorrente da incidência de uma onda eletromagnética.

Deste modo, este efeito promove uma incomum absorção e espalhamento de luz, dando origem a fortes e características cores de nanopartículas metálicas. A ressonância plasmônica gera uma forte intensificação do campo elétrico próximo (E_s) à superfície da nanopartícula, formando a base da espectroscopia Raman intensificada de superfície (SERS). Campos elétricos extremamente altos podem ocorrer em superfícies plasmônicas metálicas, particularmente em alguns pontos descontínuos, como *nanoburacos*, estruturas enrugadas com escalas nanométricas. Esses intensos campos elétricos

são conhecidos como *hot spots* e respondem, pelo menos em parte, pelo efeito SERS observado para moléculas orgânicas adsorvidas em eletrodos de cobre, ouro e prata.^{13,14}

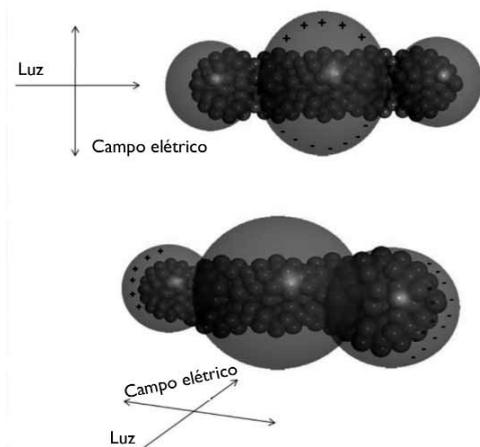


Figura 2 - Separação de cargas na superfície das nanopartículas em forma de bastões (nanorods), decorrente da incidência de uma onda eletromagnética.

No caso de nanopartículas plasmônicas, tem sido demonstrado que *hot spots* são naturalmente gerados através de processos de agregação que aumentam as interações de acoplamento plasmônico. Estudos teóricos [15] suportam a conclusão de que *hot spots* são localizados em regiões entre duas nanopartículas interagindo onde o campo elétrico é fortemente intensificado sob a influência da ressonância plasmônica longitudinal. Outro aspecto importante é que as espécies metal-adsorbato permitem novas excitações, como transferência de carga (TC), transições do nível de Fermi (E_f) para orbital molecular desocupado de mais baixa energia da molécula ($E_f \longrightarrow$ LUMO), ou do orbital molecular ocupado de mais alta energia para E_f ($E_f \longrightarrow$ HOMO). Quando a excitação está em ressonância com a transição eletrônica no complexo metal-adsorbato, o espalhamento Raman intensificado por superfície pode incorporar esse tipo de mecanismo de transferência de carga metal-molécula, como proposto originalmente por Otto e colaboradores. [16] Raman Ressonante (RR) envolvendo os níveis eletrônicos da molécula adsorvida também é muito importante. Essa possibilidade é referida como SERRS, espalhamento Raman ressonante intensificado por superfície, e as intensidades espectrais observadas podem ser ligeiramente diferentes daquelas encontradas no espectro Raman original das moléculas progenitoras. Recentemente uma visão unificada do efeito SERS vem sendo apresentada por Lombardi e Birke [17] em termos de contribuição de:

- i) A ressonância plasmônica eletromagnética (EM) em nanopartículas metálicas;
- ii) A ressonância de transferência de carga (TC) na interface metal-molécula;
- iii) E a ressonância (RR) dentro da própria molécula.

Quando as três ressonâncias (EM, TC, RR) ocorrem simultaneamente, enormes intensificações de magnitude, acima de 14 ordens de grandezas, podem ser observadas em um espectro SERS, permitindo ampliar a detecção para o limite de uma única molécula.

Junto com o efeito SERS, as propriedades químicas das nanopartículas de ouro são extremamente relevantes. Elas estão associadas com a grande porcentagem de átomos superficiais e seus elétrons delocalizados que se comportam como ondas plasmônicas. Visto que os sítios de coordenação destes átomos na superfície estão incompletos, a ligação de espécies doadoras-receptoras, ou de ligantes à superfície da nanopartícula de ouro é facilitada, proporcionando uma forte analogia com os complexos metálicos convencionais. Desta forma, a grande afinidade das nanopartículas de ouro por ligantes tiolados tem similaridade com os correspondentes íons metálicos. [10], [11], [18], [19] Isso permite que a abordagem da química de coordenação seja aplicada para as nanopartículas de ouro, incluindo a utilização dos princípios de ácidos e bases duros e moles, dando um novo contexto aos clássicos *spot tests* de Feigl, além de expandir consideravelmente seus limites de detecção através do efeito SERS.

3. OBJETIVOS E JUSTIFICATIVAS

Neste trabalho buscou-se o desenvolvimento de novos caminhos para os *spot-tests* de Feigl, criando ao mesmo tempo novos substratos SERS compostos de nanopartículas de ouro. Sendo uma abordagem original, foi necessário realizar uma prova de conceito, utilizando a ditizona, um reagente analítico bastante empregado por Feigl, porém imobilizado na superfície de nanopartículas esféricas de ouro. Foi feito um estudo minucioso dos sistemas através da espectroscopia eletrônica e Raman.

A justificativa do trabalho, no âmbito da Mercosul, está na importância dos testes analíticos, como forma de controle de qualidade e autenticidade de produtos, incluindo bebidas, alimentos, ensaios forensicos, principalmente para detectar a adulteração dos mesmos, e também como apoio à monitoração ambiental, considerando a importância dos recursos hídricos, minerais e das atividades agro-pecuárias existentes, que dependem da disponibilidade

dos microelementos (Fe, Mn, Co, Cu, Zn, Mo) normalmente adicionados aos fertilizantes e rações. A monitoração ambiental, principalmente de metais pesados, como Hg, Cd, Pb é igualmente relevante para a preservação da qualidade de vida da população. Uma melhoria nesse setor pode significar enormes ganhos de produtividade, e certamente terá impactos comerciais importantes para o Mercosul. Este trabalho também se insere na área criminalística, onde os *spot-tests* têm sido consagrados por sua praticidade e eficiência. Por essa razão, optou-se pelo uso de um equipamento portátil, adequado para trabalho de campo, para análise dos *spot-tests* em papel. Note-se que nas condições empregadas neste trabalho, os testes visuais já não são perceptíveis, ao contrário dos fortes sinais observados pelo equipamento Raman. Estamos lidando, portanto, com uma outra dimensão dos *spot-tests* de Feigl.

A temática apresentada está na fronteira da nanotecnologia atual, por utilizar nanopartículas funcionalizadas e lidar com desafios conceituais muito importantes, como os efeitos da ressonância plasmônica de superfície e o efeito de intensificação Raman, conhecido como SERS. Ao mesmo tempo, confere uma nova abordagem aos testes introduzidos por Fritz Feigl, que fez do Brasil a sua pátria, e colocou a química brasileira como referência internacional na área analítica, na metade do século passado.

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1. EQUIPAMENTOS E REAGENTES

4.1.1. Espectroscopia Eletrônica

Os espectros eletrônicos e de extinção foram obtidos com um espectrofotômetro com detector de rede de diodos da marca *Hewlett Packard* modelo 8453A para estudos na região de 190 a 1100 nm, utilizando cubetas de quartzo de duas faces com caminho ótico de 1,0 cm.

4.1.2. Espectroscopia Vibracional

Para espectros Raman e SERS foi utilizado um espectrômetro portátil para trabalho em campo, da marca *In Photonics* com laser de excitação em 785 nm na faixa de 2000 a 350 cm^{-1} , potência máxima de 250 mW, operando com fibras ópticas.

O controle do tamanho está intimamente relacionado aos procedimentos de síntese e à intensa coloração que apresenta a solução obtida. Um dos fatores que altera a distribuição de tamanhos das nanopartículas é a rapidez de redução dos sais de Au^{3+} , variando velocidade de adição e o volume de citrato, varia-se a taxa de redução [12]. É de extrema importância o controle da taxa de adição de citrato, uma vez que a intensidade do sinal Raman está intimamente ligada à banda de absorção eletrônica das nanopartículas, devido ao efeito eletromagnético de intensificação, que por sua vez depende da distribuição de tamanhos das mesmas.

4.2.2 Funcionalização das nanopartículas esféricas de ouro.

Para funcionalizar a superfície da nanopartícula misturou-se 1,5 ml de solução de nanopartícula com 0,5 ml de solução de ditizona 10^{-4} mol/L com 100 μl de NaCl 1 mol/L, para promover a agregação das partículas.

Com o intuito de estudar a variação do espectro vibracional das nanopartículas funcionalizadas com ditizona adicionou-se à solução recém preparada quantidades variadas dos sais dos seguintes metais: Cu^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Hg^{2+} , Co^{2+} , Pb^{2+} e Zn^{2+} .

4.2.3. Realização dos SERS Spot Test

Para a realização dos testes utilizou-se um papel filtro Watson (papel de cromatografia) embebido em solução de nanopartículas de ouro funcionalizadas com ditizona, como descrito no item anterior. Ao papel foi adicionado 10 μl de soluções de íons metálicos (Cu^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Hg^{2+} , Co^{2+} , Pb^{2+} e Zn^{2+}). O espectro SERS de uma região do papel onde havia, somente nanopartículas de ouro com ditizona, foi comparado com o espectro SERS da região na qual foram adicionados os 10 μl de solução de íons metálicos.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. EFEITO DA INTERAÇÃO DA NANOPARTÍCULA COM A DITIZONA

O efeito SERS consiste na intensificação significativa do espalhamento Raman e foi descoberto durante uma tentativa de estudar espécies adsorvidas em superfícies de eletrodos através da espectroscopia Raman [24], podendo ser estendido a outros tipos de superfícies, como por exemplo, nanopartículas de metais nobres, como discutido anteriormente. Dois aspectos estão envolvidos no mecanismo do efeito SERS, o eletromagnético e o molecular [13].

O modelo eletromagnético diz basicamente que o dipolo da molécula adsorvida na superfície leva ao surgimento de um dipolo induzido na superfície metálica, sendo que a soma de ambos geraria um dipolo maior resultante, quando estivessem alinhados à normal da superfície e a resultante seria zero quando estivessem paralelos a superfície [12]. Essa regra justificaria a observação dos modos normais cuja resultante estivesse na direção normal à superfície de maneira intensificada. O modelo molecular leva em consideração as modificações na polarizabilidade molecular, geradas pela interação da molécula espalhadora com a superfície. Essa interação pode se dar pela formação de complexos entre a nanopartícula e a molécula passivante, por ligações químicas, ou por interações eletrostáticas. Neste caso, o contato com a superfície é essencial e os espectros obtidos dessa maneira podem divergir daqueles registrados em solução, seja por mudança em intensidades relativas, meia largura, deslocamentos de frequências ou mesmo pelo aparecimento de novas bandas [23].

Podemos comprovar o efeito SERS através do estudo do espectro Raman da ditizona em solução aquosa e da ditizona em solução aquosa de nanopartículas, a intensificação de modos vibracionais e o surgimento de novos modos podem ser comprovados comparando os espectros da figura 4.

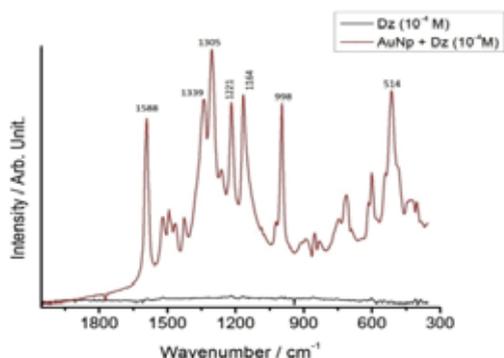


Figura 4: Ilustração comparativa do espectro Raman de uma solução aquosa de ditizona (10^{-4} molL $^{-1}$) (preto) e uma de ditizona contendo nanopartículas de ouro (vermelho) ($\lambda_{exc} = 785$ nm), nas mesmas condições. O contraste permite ver o efeito da intensificação proporcionado pelas nanopartículas de ouro.

5.2. ANÁLISE DO ESPECTRO RAMAN DA DITIZONA NA SUPERFÍCIE DA NANOPARTÍCULA E DOS SERS SPOT TESTES

A ditizona em sua forma neutra é um composto anfiprótico, apresentando dois prótons ionizáveis, representados com H_2Dz . O anion correspondente é HDz^- e o ácido conjugado é representado como H_3Dz^+ . É tradicionalmente aceito que em solução aquosa a ditizona existe em equilíbrio entre a forma tiol e tiona [1].

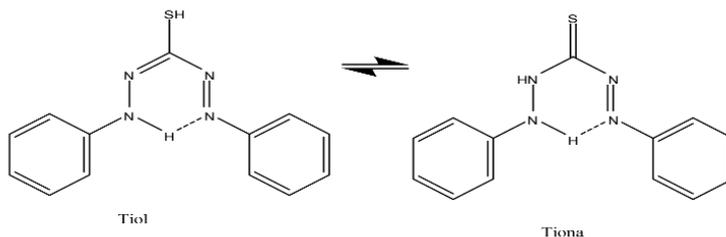


Figura 5: Equilíbrio tautomérico entre as formas tiol e tiona da ditizona

Porém estudos de ressonância magnética nuclear (RMN) mostram que os dois prótons estão em ambientes químicos equivalentes. Com isso, a ditizona está presente na forma mostrada abaixo [24], [25].

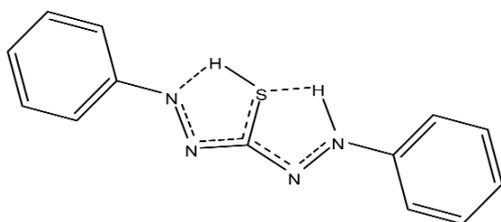


Figura 6: Geometria da molécula de ditizona em meio neutro

Esta forma da ditizona é formalmente um ácido diprótico, porém o segundo próton não se dissocia em solução de pH menor que 14. A dissociação do primeiro próton ocasiona na formação de um anion que apresenta uma coloração amarela, HDz^- ($\lambda_{\text{max}} = 470 \text{ nm}$). A protonação da ditizona forma um cátion, H_3Dz^+ , que em solução apresenta uma coloração vermelho-violeta, ($\lambda_{\text{max}} = 520 \text{ nm}$) [26].

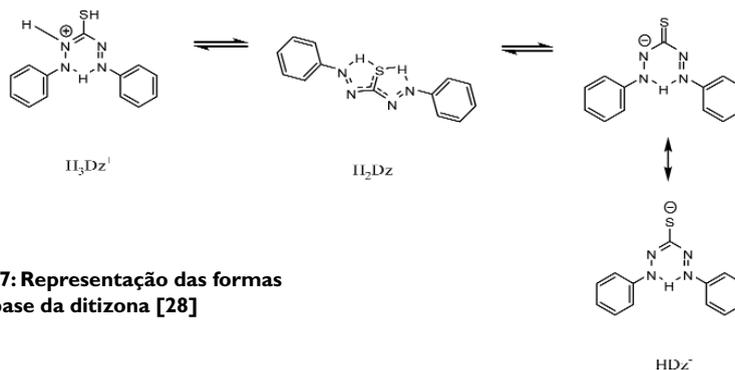


Figura 7: Representação das formas ácido-base da ditizona [28]

A tabela 1 mostra a possível atribuição dos picos do espectro Raman da ditizona na superfície da nanopartícula, figura 4, feita através de comparação de dados experimentais e da literatura [26], [30].

Tabela 1: Atribuição dos picos do Espectro Raman da solução de ditizona, $10^{-4} \text{ molL}^{-1}$.

Deslocamento Raman/ cm^{-1}	Atribuição
420	Estiramento Au-S
514	Estiramento C-S
709	Estiramento C-N
998	Respiro do anel
1164	Estiramento C=S
1221	Deformação axial C=S, com contribuição da deformação axial C-N
1305	Estiramento Ph-NH, análogo a série das anilinas
1339	Estiramento simétrico N=C-N
1493	Estiramento N=N
1520	Estiramento assimétrico N=C-N
1588	Estiramento C=N + Estiramento C-N

Pode-se notar que as maiores contribuições para o SERS estão associadas com os modos vibracionais das ligações C=S e C-N, portanto é esperado que a ditizona esteja ligada às nanopartículas de ouro através dos átomos de enxofre e/ou nitrogênio, como é mostrado na figura 8.

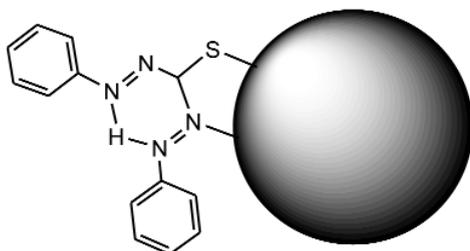


Figura 8: Ditizona ancorada na nanopartícula de ouro

Em solução, tem sido observado que o processo de formação da ligação leva alguns minutos, depois disso o sistema se estabiliza, atingindo um máximo de absorção, (figura 9), e de espalhamento Raman.

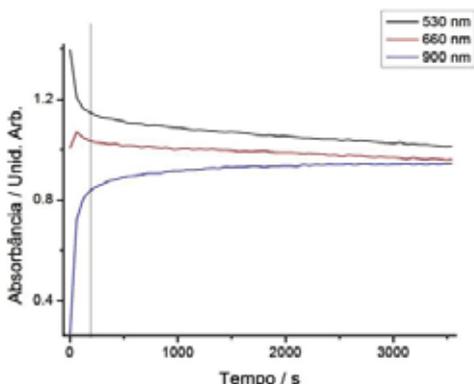


Figura 9: Variação, com o tempo, das bandas em 530, 660 e 900 nm da solução de nanopartículas de ouro com ditizona 10^{-4} mol/L.

Neste ponto, contudo, a adição de íons metálicos (concentração inicial = 10^{-4} mol L⁻¹) tais como Mn²⁺, Hg²⁺, Pb²⁺, Ni²⁺, Co²⁺ e Zn²⁺, não produz mudança significativa no espectro Raman (Figura 10)

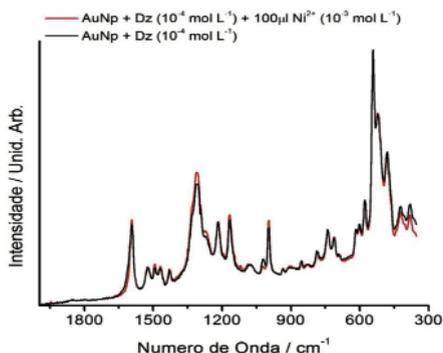


Figura 10: Espectros Raman de solução aquosa de nanopartículas de ouro com ditizona (10^{-4} mol L⁻¹) na presença de Ni²⁺ (10^{-3} mol L⁻¹).

Presume-se que depois da agregação e estabilização das nanopartículas de ouro-ditizona, o reagente orgânico fique preso em regiões intersticiais, e a ligação e o acesso de íons metálicos, em condições de diluição, não são favoráveis. Contudo se os íons metálicos são adicionados antes do processo de estabilização, o espectro Raman permanece sensível, respondendo às interações dos íons metálicos com a ditizona, (Figura 11). Por essa razão, os

aspectos cinéticos que controlam o processo de agregação devem ser levados em consideração, no caso de testes SERS analíticos em solução. Conseqüentemente, embora os testes possam ser feitos antes do processo de agregação se completar, a reprodutibilidade fica comprometida e os efeitos cinéticos precisam ser devidamente controlados.

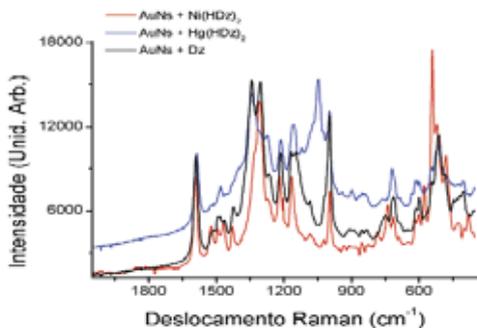


Figura 11: Espectros SERS da interação de nanoesferas de ouro recém tratadas com ditizona (10^{-3} molL⁻¹), em pH 10, na presença de Hg²⁺ (10^{-3} molL⁻¹) e Ni²⁺ (10^{-3} molL⁻¹), antes de atingir o patamar de estabilização mostrado na Figura 9.

Resultados melhores são obtidos misturando-se nanopartículas de ouro-citrato com ditizona (10^{-5} molL⁻¹) e impregnando um papel filtro Watson (papel de cromatografia) com essa suspensão. A resposta SERS da ditizona nesse papel impregnado foi muito forte, Figura 12, mascarando os sinais de fundo da matriz.

Os sinais Raman observados são similares aqueles obtidos em soluções coloidais aquosas, exibindo uma mudança em 1336 cm⁻¹, envolvendo a frequência vibracional de estiramento da ligação Ph-N. Provavelmente, no papel, a molécula de ditizona adota uma configuração mais plana, mudando a orientação dos anéis fenílicos. O sinal Raman em 408 cm⁻¹ se torna mais definida, e pode ser descrito como sendo o pico do estiramento da ligação Au-S.

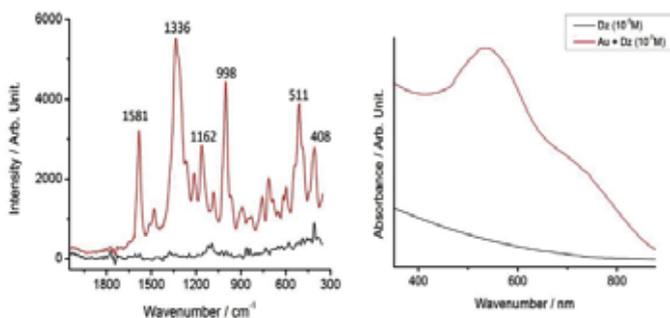


Figura 12: Espectro eletrônico (direita) e Raman (esquerda) do papel impregnado com ditizona (10^{-5} mol L⁻¹) (preto) e nanopartículas de ouro-ditizona, ($\lambda_{exc} = 785$ nm) (vermelho) mostrando a enorme intensificação do sinal SERS e o perfil de extinção das nanopartículas suportadas em celulose.

Depois de seco, aplicando uma microgota de solução diluída de íons metálicos (Hg^{2+} , Pb^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Zn^{2+}), notou-se que apenas o íon mercúrio levou a uma mudança considerável no espectro Raman (Figura 13). Um importante aspecto, neste caso, é que as mudanças são sistemáticas e reprodutíveis, em contraste com aquelas realizadas em suspensões aquosas.

A vantagem de realizar testes SERS em papel é que os íons metálicos ficam circunscritos apenas na região da gota, em contraste com a grande diluição observada quando uma gota é adicionada em uma solução de nanopartículas. A competitividade do íon metálico com o reagente orgânico ancorado na superfície da nanopartícula é extremamente reduzida devido aos problemas de diluição. Além disso, no caso dos testes em papel, a concentração local do íon metálico tende a aumentar conforme o solvente evapora.

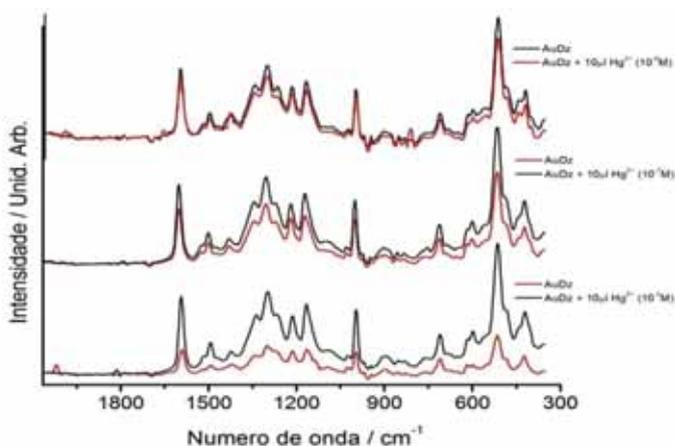


Figura 13: Resposta SERS do papel impregnado com nanopartículas de ouro-ditizona, depois de ser aplicado 10 μL de solução de Hg^{2+} ($\lambda_{\text{exc}} = 785\text{nm}$)

Em um substrato de papel, utilizando concentrações de íons metálicos abaixo de $10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, apenas os íons Hg^{2+} são capazes de produzir mudanças significativas no espectro SERS das nanopartículas de ouro-ditizona, como mostra a Figura 13. A depleção observada no sinal Raman, sem mudanças apreciáveis nas frequências, é consistente com a substituição das nanopartículas de ouro por íons de mercúrio, coordenados a ditizona (Figura 14). Não há evidência da ligação dos íons de mercúrio às moléculas de ditizona imobilizadas na superfície da nanopartícula de ouro. Isso explica

a seletividade observada para íons mercúrio(II), uma vez que o mecanismo envolve uma competição direta com as nanopartículas de ouro. O limite de detecção para os SERS *spottests* com ditizona está próximo a $2\mu\text{L}$ de Hg^{2+} 10^{-9} mol L^{-1} , correspondendo a uma massa de 500 femtogramas de mercúrio. Obtendo um curva de calibração, os SERS *spot-tests* poderão ser empregados como um teste quantitativo.

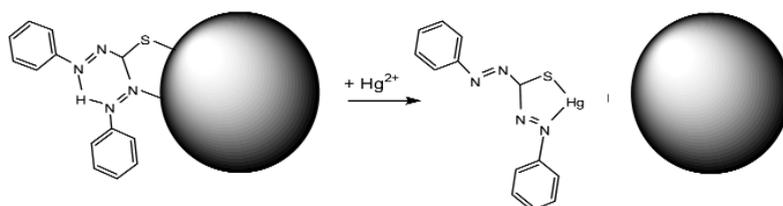


Figura 14: Deslocamento da ditizona pela complexação com íons mercúrio (II) em papel e conseqüente depleção do efeito SERS

6. CONCLUSÃO

Explorando o efeito SERS através do uso de nanopartículas de ouro e ligantes orgânicos usados em análise forenses pode-se aumentar a sensibilidade e a seletividade dos testes, permitindo alcançar limites de detecção da ordem de pico/femto ($10^{-12}/10^{-15}$) gramas. Ao reinventar os testes de Feigl, grande parte dos testes forenses e analíticos poderão ser beneficiados com a introdução de nanopartículas, permitindo a confecção de laudos mais precisos, diminuindo a possibilidade de falsos positivos e permitindo a realização de um maior número de análises em um curto espaço de tempo.

7. AGRADECIMENTOS:

Este projeto tem o apoio da FAPESP (bolsa de IC FAPESP 2010/05501-0), do Projeto Temático 2009/08584-6, do Projeto Universal CNPq 576309/2009-3, e da Rede de Nanotecnologia da Petrobrás.

BIBLIOGRAFIA

1. FEIGL, F.; ANGER, V. *Spot Tests in Inorganic Analysis*. 6.ed. Amsterdan: Elsevier, 1972.
2. EUSTIS, S.; EL-SAYED, M. A. *Chem. Soc. Rev.*, n. 35, p. 209, 2006.
3. DANIEL, M. C.; ASTRUC, D. *Chem. Rev.*, n. 104, p. 293, 2004.
4. CHON, J. W. M. et al. *Adv. Funct. Mater.*, n. 17, p. 875, 2007.
5. CHEN, M. S.; GOODMAN, D. W. *Acc. Chem. Res.*, n. 39, p. 739, 2006.
6. STEWART, M. E. et al. *Chem. Rev.*, n. 108, p. 494, 2008.
7. ZHAO, J. et al. *Acc. Chem. Res.*, n. 41, p. 1710, 2008.
8. CAMDEN, J. P. et al. *Acc. Chem. Res.*, n. 41, p. 1653, 2008.
9. NOGUEZ, C.; GARZON, I. L. *Chem. Soc. Rev.*, n. 38, p. 757, 2009.
10. ZAMARION, V. M. et al. *Inorg. Chem.*, n. 47, p. 2934, 2008.
11. TOMA, S. H. et al. *Eur. J. Inorg. Chem.* n. 3356, 2007.
12. ZAMARION, V. M. *Estudos e aplicações de ressonância plasmônica superficial em nanosondas* 2008. Dissertação (Mestrado) - SERS, São Paulo.
13. AROCA, R., *Surface-enhanced vibrational spectroscopy*. Chichester: John Wiley & Sons, 2006. p 233.
14. GHOSH, S. K.; PAL, T. *Chem. Rev.*, n. 107, p. 4797, 2007.
15. ARAVIND, P. K.; METIU, H. *J. Phys. Chem.*, n. 86, p. 5076, 1982.
16. OTTO, A. et al. *J. Phys., Cond. Matter*, n. 4, p. 1143, 1992.
17. LOMBARDI, J. R.; BIRKE, R. L. *Acc. Chem. Res.*, n. 42, p. 734, 2009.
18. TOMA, H. E. et al. *J. Braz. Chem. Soc.*, n. 21, p. 1158, 2010.
19. NUNES, F. S. et al. *Inorg. Chem.*, n. 45, p. 94, 2006.
20. TURKEVICH, J.; STEVENSON, P. C.; HILLIER, J. *Disc. Faraday Soc.*, n. 55, 1951.
21. FRENS, G. *Nature, Phys. Sci.*, n. 241, p. 20, 1973.
22. FLEISCHMANN, M.; HENDRA, P. J.; MCQUILLAN, A. J. *Chem Phys* n. 69, p. 4472, 1978.
23. FARIA, D. L. A.; TEMPERINI, M. L. A.; SALA, O. *Quím. Nova.*, v. 22, n. 54, p. 1, 1999.

24. IRVING, H. M. N. H. et al. *Anal. Chem.*, n. 205, 1971.
25. ARMELAO, L. et al. *Appl. Organometal. Chem.*, n. 21, p. 246, 2007.
26. PEMBERTON, J. E.; BUCK R. P., *J. Raman Spec.*, v. 12, n. 1, p. 76, 1982.
27. MIKKAHALAF, F.; SCHIFFRIN, D. J. *J. Chem. Soc.: Faraday Trans.*, v. 94, n. 9, 1998.
28. BACHACKASHVILLI, A. et al. *J. Phys. Chem.*, v. 88, n. 25, p. 6185, 1984.
29. PEMBERTON, J. E.; BUCK R. P. *J. Phys. Chem.*, v. 85, n. 3, p. 248, 1981.
30. PEMBERTON, J. E.; BUCK R. P. *J. Phys. Chem.*, n. 87, p. 3336-3343, 1983.

Categoria Jovem Pesquisador

1º Lugar

SÍNTESE DE NANOTUBOS DE CARBONO
ATRAVÉS DO USO DO BAGAÇO DA
CANA-DE-AÇÚCAR COMO MATÉRIA-PRIMA

Autor: Joner Oliveira Alves, 28 anos, aluno de doutorado em engenharia metalúrgica e de materiais na Universidade de São Paulo (USP)

País: Brasil

SÍNTESE DE NANOTUBOS DE CARBONO ATRAVÉS DO USO DO BAGAÇO DA CANA-DE-AÇÚCAR COMO MATÉRIA-PRIMA

Os nanotubos de carbono (CNTs) são materiais que possuem inúmeras possibilidades de aplicações tecnológicas devido às suas excepcionais propriedades, entretanto o elevado custo de produção deste material é um obstáculo a ser superado. Este trabalho apresenta uma solução economicamente e ambientalmente viável para a produção dos CNTs por meio do uso do bagaço da cana-de-açúcar como matéria-prima. A tradicional produção de açúcar, associada à crescente produção de bioetanol, faz da indústria sucroalcooleira um dos principais segmentos da economia dos países membros do Mercosul. Aproximadamente 225 kg de bagaço são gerados para cada tonelada de cana inserida no processo, somente no Brasil cerca de 150 milhões de toneladas deste resíduo são geradas a cada ano. A busca por uma matriz energética menos dependente do petróleo, por parte dos integrantes do Mercosul, tende a aumentar a produção de etanol proveniente da cana, elevando a geração do bagaço. A metodologia proposta cria novas fontes de renda para a indústria do açúcar, uma vez que os usineiros têm a oportunidade de vender a energia elétrica gerada no processo, ganhar com a emissão de créditos de carbono, economizar com as despesas de despejo do bagaço, e ainda comercializar os CNTs (que possuem alto valor de mercado). Os experimentos consistiram no processo de pirólise a 1000°C associado a um sistema catalisador visando à recuperação dos gases gerados como matéria-prima para a síntese dos CNTs. As emissões gasosas foram analisadas por cromatografia e os materiais produzidos foram caracterizados com o emprego de MEV, MET, TGA e espectroscopia Raman. Os resultados

mostraram que o uso do catalisador resultou na diminuição das emissões gasosas, e que nanotubos de carbono com comprimentos de 10 a 40 μm e diâmetros entre 20 e 50 nm foram produzidos.

Palavras-chave: Nanotubos de carbono, Nanotecnologia, Cana-de-açúcar, Bioetanol, Energia, Reciclagem.

I. INTRODUÇÃO

A tradicional produção de açúcar, associada à crescente produção de bioetanol, faz da indústria sucroalcooleira um dos principais segmentos da economia dos países integrantes do Mercosul.

A redução dos gases do efeito estufa tem sido amplamente discutida devido ao aquecimento global. O emprego do etanol em substituição aos combustíveis fósseis é considerado uma das principais medidas a serem adotadas, uma vez que estes combustíveis são responsáveis por 73% da produção de CO_2 . O interesse pela energia da biomassa tem aumentado consideravelmente em todo o mundo devido à necessidade de encontrar recursos renováveis e fontes de energias limpas. O etanol proveniente da biomassa possui potencial para substituir grandes quantidades de combustíveis derivados do petróleo (HOOGWIJK et al., 2009; KIM; DALE, 2004). Segundo a IEA (*International Energy Agency*), a oferta global de biocombustíveis terá aumento de 190 mil barris por dia em 2010, atingindo 1,8 milhão de barris diários (IEA, 2010). Os líderes mundiais na produção de etanol são EUA e Brasil, que juntos representam cerca de 90% da produção mundial. A principal matéria-prima para o etanol empregada nos EUA é o grão de milho, enquanto no Brasil predomina a aplicação da cana-de-açúcar (KIM; DALE, 2004; KIM; DALE, 2005).

A Argentina exporta entre 400 e 700 mil toneladas de açúcar por ano. Além disto, este país tem investido na expansão da produção bioenergética, uma vez que busca diversificar sua matriz energética devido à elevada dependência do uso de combustíveis fósseis. Diversos órgãos são favoráveis ao estímulo do uso dos biocombustíveis; recentemente, o governo argentino adotou a mistura de 5% de etanol em sua gasolina a partir de 2010 e já cogita elevar este percentual para 7% ou 10% (NASTARI, 2010). Outro país integrante do Mercosul, o Paraguai, possui uma grande dependência do petróleo estrangeiro, fator que atrelado a economia predominantemente agrária faz desse país um forte candidato ao emprego de novas políticas de bioenergia. O governo tem trabalhado neste sentido; atualmente, a mistura

de 24% de etanol na gasolina é compulsória. O emprego de terras subutilizadas para a produção de biomassa torna desnecessário o desvio de terras usadas para produzir alimentos. A matriz energética do Uruguai é altamente dependente de outros países, sendo assim, o desenvolvimento de uma política voltada para a produção do etanol é uma solução plausível. Uma das medidas adotadas para desenvolver este segmento foi a criação da Comissão Nacional de Biocombustíveis e do Programa Nacional de Bioetanol (Prona-bio-E). Outros países associados ao Mercosul, como a Colômbia, Chile e Peru possuem políticas de incentivo à produção de biocombustíveis em níveis iniciais, sendo que o uso da cana-de-açúcar para a produção de etanol representa uma das perspectivas futuras (MASIERO; LOPES, 2008).

A fermentação é o principal processo empregado na indústria sucroalcooleira, durante esta etapa é gerado um resíduo conhecido como bagaço da cana. Aproximadamente 225 kg deste resíduo são gerados para cada 1000 kg de cana inserida no processo (MCKENDRY, 2002). A Figura 1 ilustra a produção da cana-de-açúcar e o grande volume de bagaço gerado após o processo de produção do bioetanol.



Figura 1. Local de plantio da cana-de-açúcar e o pátio de armazenamento do bagaço em uma indústria de bioetanol (SUGIMOTO, 2010).

As indústrias brasileiras são responsáveis por cerca de 50% nas exportações mundiais de açúcar, e detêm a liderança absoluta na produção de etanol proveniente da cana-de-açúcar. Segundo a Conab (Companhia Nacional de Abastecimento - Brasil), a produção brasileira de álcool em 2009 foi de aproximadamente 28 bilhões de litros, demandando cerca de 350 milhões de toneladas de cana e gerando cerca de 79 milhões de toneladas de bagaço. Os números da geração deste resíduo são ainda maiores quando considerada a cana utilizada na produção de açúcar. Juntas, as indústrias brasileiras de açúcar e álcool processaram cerca de 630 milhões de toneladas de cana em 2009, gerando aproximadamente 142 milhões de toneladas de bagaço (PORTO et al., 2010).

O bagaço da cana-de-açúcar possui conteúdo energético de 17 MJ/kg, podendo ser queimado em caldeiras para produzir energia elétrica e vapor, sendo utilizada dentro da própria planta industrial ou exportada para um sis-

tema de aquecimento urbano, reduzindo a demanda de combustíveis fósseis (BAXTER, 2004; KIM; DALE, 2004; MCKENDRY, 2002). A co-geração de energia por meio da queima do bagaço da cana estabelece novas fontes de renda para a indústria sucroalcooleira. Além de produzir açúcar e etanol, os usineiros têm a oportunidade de vender energia elétrica e ganhar com a emissão de créditos de carbono sob as regras do Mecanismo de Desenvolvimento Limpo (MDL), créditos estes comercializáveis em bolsas de valores (HOOGWIJK et al., 2009).

A queima controlada de resíduos sólidos, visando a produção de energia, tem vantagens como a redução da quantidade de resíduos que entram em aterros sanitários e a geração de energia sem o uso de recursos não-renováveis (ALVES et al., 2010a). A decomposição por tratamento térmico de resíduos da biomassa para a produção de energia tem sido amplamente discutida, pesquisas mostraram que essa tecnologia é economicamente eficiente e produz baixos índices de poluição (BAXTER, 2004; KIM; DALE, 2004; MCKENDRY, 2002; WANG et al., 2009). Neste trabalho foi utilizado o processo da pirólise, no qual o material é decomposto por tratamento térmico com a ausência de ar.

Um catalisador metálico foi introduzido no sistema com o objetivo de uma avaliação da recuperação dos gases gerados no processo para a síntese de nanomateriais e, por conseguinte, uma diminuição das emissões gasosas.

A nanotecnologia tem despertado o interesse de diversas áreas devido às enormes possibilidades de aplicações. Os produtos que empregam a nanotecnologia possuem mercado estimado para 2010 de US\$11 trilhões, sendo que US\$340 bilhões são correspondentes apenas aos nanomateriais, como por exemplo, os catalisadores para automóveis, materiais para gravação magnética e componentes para protetores solares (PITKETHLY, 2003). Os nanomateriais são materiais com graus estruturais na ordem de nanômetros (10⁻⁹ m), ou seja, de um bilionésimo de metro. Diversos tipos de nanomateriais, como os nanotubos de carbono, nanopartículas metálicas, nanopartículas de óxidos de metais de transição, nanoemulsões e diferentes tipos de nanocompósitos, deixaram de ser apenas alvos dos laboratórios acadêmicos e podem facilmente ser encontrados em produtos comercializados atualmente (ZARBIN, 2007).

Dentre os produtos de nanotecnologia, os nanotubos de carbono (CNTs) destacam-se como os mais promissores. Os CNTs foram descobertos por Iijima no início da década de 90, estes materiais são formados por estruturas cilíndricas constituídas de átomos de carbono com graus estruturais na

ordem de nanômetros (IIJIMA, 1991). Os nanotubos de carbono possuem inúmeras possibilidades de aplicações tecnológicas devido às suas excepcionais propriedades, tais como alta resistência química, resistência à oxidação e à temperatura, baixa densidade, transporte elétrico, altíssima resistência mecânica, flexibilidade e resistência à ruptura (BAUGHMAN et al., 2002; SEE; HARRIS, 2007). A Figura 2 apresenta um modelo da estrutura dos nanotubos de carbono.

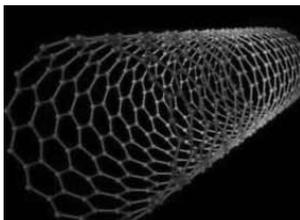


Figura 2. Desenho esquemático da estrutura de um nanotubo de carbono (OLIVEIRA, 2010).

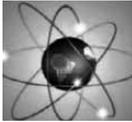
Apesar das excelentes propriedades, o uso dos nanotubos de carbono é limitado devido ao alto custo de produção. Para reduzir o custo de um produto, duas vias são fundamentais: o barateamento do processo ou a redução do custo das matérias-primas. Este trabalho apresenta soluções nestes dois sentidos, uma metodologia inovadora para a síntese dos nanotubos e a introdução de uma fonte sustentável e de baixo custo como matéria-prima (ALVES et al., 2010b).

2. OBJETIVOS

O objetivo geral deste trabalho é o emprego de uma nova tecnologia no processo da queima do bagaço da cana-de-açúcar visando, além da tradicional geração de energia, uma diminuição das emissões gasosas e à produção de nanotubos de carbono. Um esquema ilustrativo dos objetivos específicos deste trabalho separados pelas áreas de interesse é exibido na Figura 3.



Figura 3. Objetivos específicos do projeto.



Implementação de uma nova tecnologia totalmente inovadora para a síntese dos Nanotubos de Carbono, um material com inúmeras aplicações tecnológicas devido às suas excepcionais propriedades.



Diminuição das emissões gasosas geradas durante o processo de queima do bagaço de cana através do uso de um sistema catalisador.

Incentivo a prática da geração de energia a partir da biomassa através da valorização do processo com o advento de um novo produto.



Criação de fontes de rendas adicionais para as indústrias do bioetanol através da valorização do bagaço da cana-de-açúcar, da possibilidade de venda de energia e geração de créditos de carbono.

Geração de energia sustentável através do uso do bagaço da cana, uma matéria-prima renovável.

3. MATERIAL E MÉTODOS

A matéria-prima empregada neste trabalho foi o bagaço da cana-de-açúcar fornecido por uma indústria de bioetanol localizada no Estado de São Paulo (Brasil). O material foi recebido na forma de uma fibra seca (veja Figura 4) tendo sido pulverizada a uma granulometria inferior a 500 μm antes de ser utilizado.

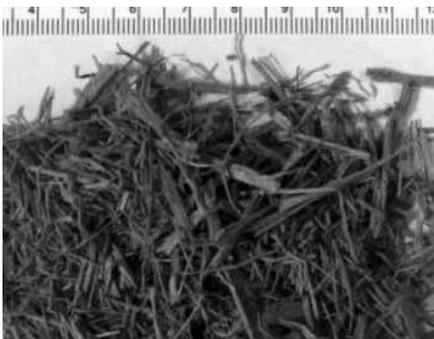


Figura 4. Bagaço da cana-de-açúcar como recebido

O bagaço da cana apresenta cerca da metade de sua composição na forma de carbono, que é o elemento de maior interesse neste trabalho uma vez que este é o principal precursor dos nanomateriais a serem formados. A Tabela 1 apresenta a análise química do bagaço da cana utilizado.

Tabela I - Análise química do bagaço da cana utilizado (em % de peso).

C	O	Si	H	Fe	K	Ca	S	Cl	P	N	Outros
50,5	17,5	7,0	6,7	4,8	4,1	2,7	1,7	1,0	0,5	0,3	3,2

Um cadinho de cerâmica foi utilizado para inserir 4 gramas do material no sistema. O aparato empregado consiste em dois fornos tubulares em escala laboratorial ligados por um tubo de quartzo (veja Figura 5). Neste trabalho foi empregado o processo de pirólise, no qual o material é decomposto por tratamento térmico com a ausência de gases oxigenados. A temperatura foi mantida constante a 1000°C e a atmosfera controlada pelo fluxo de N₂.

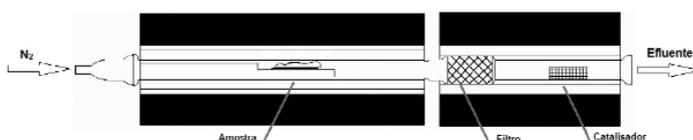


Figura 5. Desenho do aparato utilizado nos experimentos.

Visando a ausência de ar, a atmosfera do aparato foi controlada com a adição de nitrogênio na entrada do tubo de quartzo. O cadinho é inserido no primeiro forno, no qual ocorre o processo de pirólise do material. O efluente da pirólise passa ao segundo forno, onde um filtro com estrutura do tipo colmeia, feito de carbetto de silício, retém 97% das partículas sub-mícron.

Em um segundo momento foi introduzido um catalisador metálico composto de uma tela de malha de aço inoxidável - tipo 304 (uma liga composta de 67% ferro, 18-20% cromo e 11% níquel), esta tela foi utilizada como recebida (sem pré-tratamentos). Peças de 300 x 100 mm foram enroladas em forma circular com cerca de 40 mm de diâmetro e inseridas de forma paralela à direção do fluxo de gases no forno secundário.

O esquema demonstrado na Figura 6 fornece um apanhado geral do procedimento realizado. O cadinho é inserido no forno primário (A), os gases gerados pela queima do material atravessam o filtro (B) e entram no segundo forno, no qual a tela metálica (C) reage com os gases e forma o material particulado.

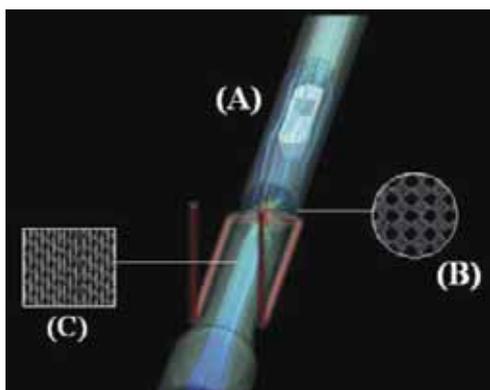


Figura 6. Desenho esquemático dos processos de pirólise e catálise: (A) cadinho inserido no forno, (B) filtro retém partículas sólidas e (C) gases atingem a tela catalisadora.

As caracterizações realizadas neste trabalho consistiram em duas frentes, uma análise dos hidrocarbonetos gasosos gerados e um estudo do material sintetizado. Amostras dos efluentes gasosos foram coletadas na saída do segundo forno e analisadas em um aparelho de cromatografia gasosa modelo HP-6890. Amostras de diferentes regiões da tela metálica foram analisadas em um Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) modelo Hitachi 4800, e em dois tipos de Microscópio Eletrônico de Transmissão (MET), um de baixa resolução (modelo JEOL 1010 – tensão de aceleração de 70 kV) e um de alta resolução (modelo JEOL 2010 – tensão de aceleração de 200 kV).

Visando uma maior obtenção de materiais, os experimentos foram repetidos dez vezes. Após os experimentos, as telas metálicas foram diluídas em uma solução de etanol, que foi submetida a um sonicador e aquecida, restando apenas um pó fino que foi analisado através do emprego da Análise Termogravimétrica (utilizando um TGA modelo HR V5.4A, com fluxo de N_2 e rampa de aquecimento de $10\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$) e da Espectroscopia Raman (utilizando um Micro-Raman RENISHAW).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

AVALIAÇÃO DAS EMISSÕES GASOSAS E DA INFLUÊNCIA DO SISTEMA CATALISADOR

Os hidrocarbonetos leves (LHCs) podem ser definidos como compostos orgânicos com baixo peso molecular e que consistem inteiramente de hidrogênio e carbono. Os principais hidrocarbonetos leves gasosos provenientes da queima do bagaço consistiram em metano, etileno, acetileno, benzeno e tolueno, sendo que traços de outros compostos também foram detectados: etano, propano, propileno, etilacetileno e etilbenzeno (ALVES et al., 2010c).

Primeiramente, foi realizado um ensaio de pirólise do bagaço sem o uso do sistema catalisador, tendo sido registrado um total de LHCs de 4892 µg/g. Em seguida, foram realizados três ensaios com o uso da tela metálica, sendo registrados valores totais de LHCs de 2825, 3078 e 3351 µg/g. A Tabela 2 apresenta os valores do aumento de peso da tela catalisadora e as diminuições nas emissões dos LHCs com o uso do sistema catalisador. Através da análise desta tabela é possível afirmar que o emprego da tela ocasionou uma diminuição das emissões dos hidrocarbonetos gasosos, indicando que uma retenção dos hidrocarbonetos ocorreu no sistema de catálise, ou seja, os gases gerados durante a pirólise do bagaço da cana sofreram uma reação química quando em contato com a tela metálica.

Tabela 2 - Análise da influência do sistema catalisador.

Ensaio	Aumento de peso da tela	Diminuições nas emissões dos LHCs
1	133 mg	2167 µg/g
2	101 mg	1541 µg/g
3	124 mg	1814 µg/g

O processo de síntese empregado neste trabalho é baseado na deposição química de vapor (CVD), a qual consiste de reações de desidrogenação térmica através do uso de um catalisador composto de um metal de transição empregado para “quebrar” os hidrocarbonetos gasosos em carbono e hidrogênio (SEE; HARRIS, 2007). Baker et al. (1973) estudaram o crescimento de fibras de carbono através da decomposição catalítica de fontes de hidrocarbonetos nas superfícies ativas de metais de transição. Durante esse processo, os hidrocarbonetos são decompostos em carbono e hidrogênio, seguido por uma difusão do carbono sobre a superfície do metal, até a solução tornar-se saturada. A supersaturação da solução resulta na precipitação de partículas sólidas de carbono na superfície do metal. Outras pesquisas mostraram que os hidrocarbonetos podem ser utilizados como fontes de carbono na produção de nanotubos de carbono empregando a metodologia CVD (KONG et al., 1998; TIBBETTS, 1983; ZHAO et al., 2006).

O metano (CH₄) foi o LHC que apresentou a maior concentração nos experimentos (em torno de 50% do total das emissões), este gás é o hidrocarboneto cineticamente mais estável, sendo o primeiro a sofrer decomposição no processo de pirólise em altas temperaturas (ALVES et al., 2010).

Kong et al. (1998) investigaram a utilização do metano como combustível para produzir nanotubos de carbono via CVD com temperatura de 1000°C, sendo que foram produzidos CNTs de alta qualidade.

Com base no que foi discutido é possível afirmar que a recuperação dos hidrocarbonetos gasosos, gerados durante a pirólise do bagaço da cana-de-açúcar como fonte de carbono para a síntese de CNTs via CVD, é uma tecnologia viável.

ANÁLISE MICROESTRUTURAL DOS MATERIAIS FORMADOS

A microscopia eletrônica de varredura foi utilizada para uma análise preliminar da formação dos nanomateriais. As Figuras 7-A, 7-B e 7-C apresentam as imagens MEV dos materiais sintetizados a partir do bagaço da cana. O emprego da microscopia eletrônica de transmissão possibilitou uma análise das estruturas dos nanomateriais formados. As Figuras 7-D e 7-E apresentam as imagens obtidas com o MET de baixa resolução e a Figura 7-F com o MET de alta resolução.

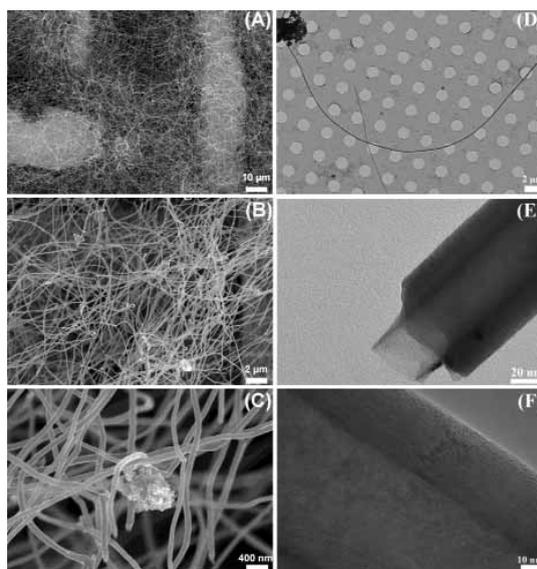


Figura 7 - Imagens MEV (A, B e C) e MET (D, E, F) dos nanomateriais produzidos.

A Figura 7-A exibe a tela catalisadora ao fundo com as ramificações dos nanomateriais impregnados na superfície de um modo não uniforme. Nas Figuras 7-B e 7-C é possível observar uma alta densidade de emaranhados de

fibras de nanomateriais, que abrangem a malha catalisadora, bem como o elevado comprimento destas fibras (entre 10 e 40 μm).

A imagem de MET exibida na Figura 7-D aponta a formação de fios longos e de algumas impurezas, provavelmente carbono amorfo. A Figura 7-E possibilita uma avaliação da média dos diâmetros dos materiais sintetizados. Foram produzidos nanomateriais com diâmetros entre 20 e 50 nm. Como esperado, as imagens de MET mostraram que os nanomateriais produzidos possuem a forma tubular característica dos nanotubos de carbono.

A Figura 7-F possibilita uma análise da estrutura das paredes dos CNTs produzidos. Foi evidenciada a presença das camadas de grafeno paralelas ao redor de uma cavidade oca. Os CNTs podem ser classificados em nanotubos de carbono de parede simples (NCPS) ou de parede múltiplas (NCPM), sendo que os NCPS são compostos de uma única folha de grafite na forma de um tubo cilíndrico, e os NCPM são formados por um conjunto de nanotubos concêntricos (SEE; HARRIS, 2007). Os CNTs produzidos neste trabalho possuem várias paredes, portanto podem ser classificados como NCPM.

ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TGA)

A análise termogravimétrica foi utilizada neste trabalho para uma investigação das impurezas presentes no pó obtido após a imersão das telas metálicas na solução de etanol. A Figura 8 exhibe a curva TGA do material produzido.

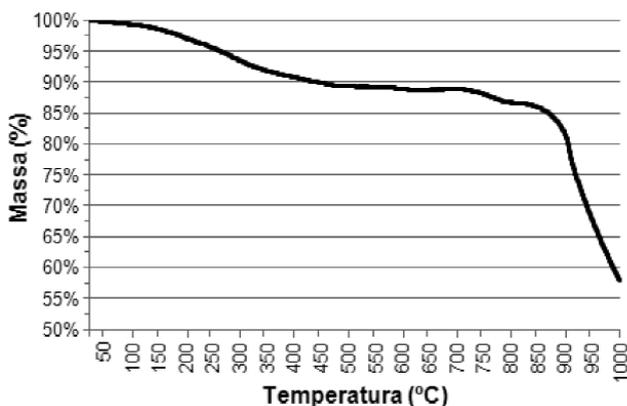


Figura 8 - Curva TGA do material produzido (rampa de aquecimento de até 1000 °C).

O tratamento térmico é uma das alternativas para a purificação dos CNTs, uma vez que possíveis impurezas degradam-se em temperaturas inferiores do que estes materiais (LOBACH et al., 2002).

A curva TGA do material produzido apresenta um aumento acelerado na perda de massa após a temperatura de 800°C, tal fato está relacionado à decomposição dos nanomateriais. A perda de aproximadamente 13% da massa inicial antes da temperatura atingir 800°C indica a presença das impurezas presentes no pó recolhido, estas impurezas são constituídas basicamente por carbono amorfo. Portanto, é possível afirmar que aproximadamente 87% do material coletado no sistema catalisador é composto por nanotubos de carbonos.

ESPECTROSCOPIA RAMAN

A espectroscopia Raman permite a diferenciação entre as diferentes formas alotrópicas do carbono: nanotubos, grafite ou carbono amorfo. Os CNTs possuem estruturas ordenadas com faixas do espectro Raman bem definidas. Os modos vibracionais tangenciais são responsáveis pela banda G, associada a nanotubos perfeitos e com faixa de frequência próximas a 1.575 cm^{-1} . A banda D, visualizada em torno de 1350 cm^{-1} é atribuída à presença de estruturas desordenadas, como nanotubos de carbono defeituosos ou carbono amorfo (DRESSELHAUS et al., 2005; EKLUND et al., 1995).

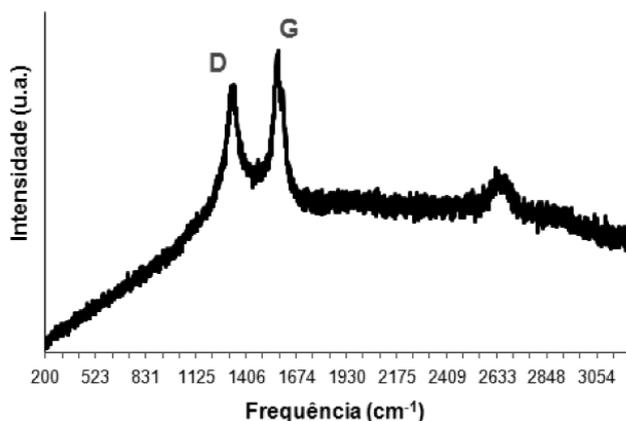


Figura 9 - Espectro Raman dos materiais produzidos.

A Figura 9 mostra o espectro Raman dos materiais produzidos. A presença das bandas G e D são coerentes com a forma estrutural dos nanotubos de carbono. A banda G possui uma maior intensidade do que a banda D, tal fato indica uma boa proporção de nanotubos perfeitos (DRESSELHAUS et al., 2005; EKLUND et al., 1995).

5. CONCLUSÕES

A co-geração de energia por meio da pirólise do bagaço da cana-de-açúcar estabelece novas fontes de renda para a indústria sucroalcooleira, uma vez que os usineiros têm a oportunidade de produzir energia elétrica e ganhar com a emissão de créditos de carbono sob as regras do Mecanismo de Desenvolvimento Limpo (MDL), créditos estes comercializáveis em bolsas de valores. A associação do processo de catálise ao de pirólise representa uma solução inovadora para a diminuição das emissões gasosas e a produção de nanomateriais. O emprego da tela de aço inoxidável ocasionou uma diminuição das emissões de gases nocivos ao meio ambiente como o metano, hidrocarboneto que apresentou as maiores quedas nas taxas de emissões.

Os resultados apontaram que o material coletado no sistema catalisador é constituído por aproximadamente 87% de nanomateriais, sendo que a espectroscopia Raman comprovou que estes materiais possuem estrutura similar aos nanotubos de carbono. Foram produzidas altas densidades de emaranhados de nanotubos de carbono de paredes múltiplas com diâmetros de 20 a 50 nm e comprimentos na faixa de 10 a 40 μm . Portanto, o uso do bagaço da cana-de-açúcar como matéria-prima para a produção de nanotubos de carbono mostrou ser bastante satisfatória e uma área interessante para investimentos futuros.

AGRADECIMENTOS

Projeto desenvolvido com a orientação dos professores Jorge Alberto Soares Tenório (Escola Politécnica – Universidade de São Paulo, Brasil) e Yiannis Angelo Levendis (College of Engineering – Northeastern University, EUA).

Auxílio financeiro concedido pelo CNPq-Brasil (Processo nº: 202120/2008-2) e CAPES (Edital 04/CII-2008 - Rede Nanobiotec-Brasil).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, J. O., ZHUO, C., LEVENDIS, Y. A., TENÓRIO, J. A. S. Analysis of light hydrocarbon gases in the pyrolysis and combustion processes of waste tires. In: TMS ANNUAL MEETING & EXHIBITION, 139th. Seattle, EUA, 2010. *Light Metals: Recycling General Session*, v. 5, p. 703-709, 2010a.
- ALVES, J. O. et al. Estudo da viabilidade do uso do bagaço da cana-de-açúcar como matéria-prima para a produção de nanomateriais. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE BIOENERGIA, 5. Curitiba, Brasil, 2010.. *Anais...* Curitiba: [s.n.], 2010b.
- ALVES, J. O. et al. Análise dos hidrocarbonetos leves gerados durante o processo de pirólise do bagaço da cana-de-açúcar. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DA ABM, 65. Rio de Janeiro, Brasil, 2010. *Anais...* Rio de Janeiro: ABM, 2010c.
- BAKER, R. T. K. et al. Formation of filamentous carbon from iron, cobalt and chromium catalyzed decomposition of acetylene. *Journal of Catalysis*, v. 30, n. 1, p. 86-95, 1973.
- BAUGHMAN, R. H.; ZAKHIDOV, A. A.; HEER, W. A. Carbon nanotubes: the route toward applications. *Science*, v. 297, p. 787-792, 2002.
- BAXTER, L. Biomass-coal co-combustion: opportunity for affordable renewable energy. *Fuel*, v. 84, p. 1295-1302, 2004.
- DRESSELHAUS, M. S. et al. Raman spectroscopy of carbon nanotubes. *Physics Reports*, v. 409, p. 47-99, 2005.
- EKLUND, P. C.; HOLDEN, J. M.; JISHI, R. A. Vibrational modes of carbon nanotubes: spectroscopy and theory. *Carbon*, v. 33, p. 959-972, 1995.
- HOOGWIJK, M. et al. Exploration of regional and global cost-supply curves of biomass energy from short-rotation crops at abandoned cropland and rest land under four IPCC SRES land-use scenarios. *Biomass and Bioenergy*, v. 33, n. 1, p. 26-43, 2009.
- IEA. *Statistics & Balances*. International Energy Agency. Disponível em: <<http://www.iea.org/stats/index.asp>>. Acesso em: 30 abr. 2010.
- IJIMA, S. Helical microtubules of graphitic carbon. *Nature*, v. 354, p. 56-58, 1991.
- KIM, S.; DALE, B. E. Global potential bioethanol production from wasted crops and crop residues. *Biomass and Bioenergy*, v. 26, n. 4, p. 361-375, 2004.
- KIM, S.; DALE, B. E. Environmental aspects of ethanol derived from no-tilled corn grain: nonrenewable energy consumption and greenhouse gas emissions. *Biomass and Bioenergy*, v. 28, n. 5, p. 475-489, 2005.

- KONG, J.; CASSELL, A. M.; DAI, H. Chemical vapor deposition of methane for single-walled carbon nanotubes. *Chemical Physics Letters*, v. 292, p. 567-574, 1998.
- LOBACH, A. S. et al. Comparative analysis of various methods of purification of single-walled carbon nanotubes. *Physics of the Solid State*, v. 44, n. 3, p. 475-477, 2002.
- MASIERO, G.; LOPES, H. Etanol e biodiesel como recursos energéticos alternativos: perspectivas da América Latina e da Ásia. *Revista Brasileira de Política Internacional*, v. 51, n. 2, 2008.
- MCKENDRY, P. Energy production from biomass (part 2): conversion technologies. *Bioresource Technology*, v. 83, n. 1, p. 47-54, 2002.
- NASTARI, P. A pendente integração do açúcar no Mercosul. *Portal do Agronegócio*. Disponível em: <<http://www.portaldoagronegocio.com.br/conteudo.php?id=42101>>. Acesso em: 10 ago. 2010.
- OLIVEIRA, A. Admirável pequeno mundo. *Ciência Hoje*. Disponível em: <<http://cienciahoje.uol.com.br/colunas/fisica-sem-misterio>>. Acesso em: 03 fev. 2010.
- PITKETHLY, M. J. Nanoparticles as building blocks. *Nano Today*, v. 36, p. 36-42, 2003.
- PORTO, S. I., SILVA, A. C. P., OLIVEIRA, E. P. *Relatório da produção brasileira de cana-de-açúcar*. CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/1cana_de_acucar>. Acesso em: 11 jan. 2010.
- SEE, C. H., HARRIS, A. T. A review of carbon nanotube synthesis via fluidized-bed chemical vapor deposition. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, v. 46, n. 4, p. 997-1012, 2007.
- WANG, L. et al. Technical and economical analyses of combined heat and power generation from distillers grains and corn stover in ethanol plants. *Energy Conversion and Management*, v. 50, n. 7, p. 1704-1713, 2009.
- ZARBIN, A. J. G. Química de (nano)materiais. *Química Nova*, v. 30, n. 6, p. 1484-1490, 2007.
- ZHAO N. et al. Fabrication and growth mechanism of carbon nanotubes by catalytic chemical vapor deposition. *Materials Letters*, v. 60, n. 2, p. 159-163, 2006.

Categoria Integração

1º Lugar

MATERIAIS NANOESTRUTURADOS: SÍNTESE, ESTUDOS COM LUZ SÍNCROTRON, PROPRIEDADES E APLICAÇÕES

Autor: Aldo Felix Craievich, 71 anos, brasileiro, nascido na Argentina, doutor em física; Noemí Elisabeth Walsøe de Reca, 73 anos, argentina, doutora em química; Diego Germán Lamas, 43 anos, argentino, doutor em física; e Márcia Carvalho de Abreu Fantini, 54 anos, brasileira, doutora em física.

Países: Argentina e Brasil

MATERIAIS NANOESTRUTURADOS: SÍNTESE, ESTUDOS COM LUZ SÍNCROTRON, PROPRIEDADES E APLICAÇÕES

RESUMO

Este trabalho é uma revisão das pesquisas realizadas desde 2004, decorrentes de uma colaboração científica entre membros do IFUSP, Brasil, e do CINSO, CONICET-CITEFA, Argentina. Trata-se de estudos da estrutura, propriedades e aplicações de diversos materiais nanoestruturados produzidos no CINSO. Descrevemos os métodos de síntese para a obtenção dos diversos nanomateriais (i) com elevados valores de condução iônica e condução mista (iônica e eletrônica) e (ii) com características semicondutoras. Apresentamos os estudos das propriedades estruturais realizados mediante várias técnicas experimentais, com ênfase em métodos que utilizam a fonte de luz síncrotron do LNLS, Campinas, Brasil. Focalizamos dois aspectos particularmente interessantes: (i) as condições de retenção de fases metaestáveis e (ii) as mudanças das propriedades físicas em função do tamanho de grão nanocristalino. Finalmente, descrevemos as aplicações dos nanomateriais estudados em dois dispositivos originais: sensores de gases e células a combustível de óxido sólido de temperatura intermediária. *Nas referências de cada capítulo indicamos com (*) os artigos e as informações sobre patentes correspondentes aos trabalhos realizados dentro da presente etapa de nossa colaboração.*

Palavras chave: materiais nanoestruturados, síntese, estrutura, aplicações, células a combustível, sensores de gases.

I. SÍNTESE DE NANOMATERIAIS E TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO

I.1. INTRODUÇÃO

Os nanomateriais são sistemas que contêm partículas de dimensão nanométrica (10^{-9}m). A nanotecnologia é definida como o desenho, fabricação e aplicação de nanoestruturas ou nanomateriais e trata também da relação entre as propriedades físico-químicas e as dimensões dos nanomateriais [1]. Existe uma razão principal de interesse no desenvolvimento de nanomateriais devido às suas propriedades não usuais que, muitas vezes, geram novas aplicações surpreendentes. Isto porque ocorre uma variação considerável das propriedades de um material se os cristalitos que o compõem atingem dimensões nanométricas [2-3].

Os cristais em escala nanométrica têm em geral uma temperatura de fusão muito menor que os cristais micrométricos, possuem parâmetros de rede cristalina reduzidos e podem ser sinterizados a temperaturas relativamente baixas. Em nanocerâmicos, além disso, algumas fases metaestáveis podem ser retidas à temperatura ambiente. Por outro lado, materiais ferroe-létricos e ferromagnéticos podem perder sua ferroeletricidade ou seu ferromagnetismo quando os cristais são reduzidos à escala nanométrica.

Em sistemas nanoestruturados, a origem das propriedades não usuais baseia-se em dois fatores: i) a dimensão da partícula é similar, ou mesmo menor, que o valor crítico de certos parâmetros como o comprimento de onda de de Broglie para o elétron, a distância necessária para formar um laço de discordância “dislocation loop” de Frank-Reed, a espessura da camada de carga espacial, o livre caminho médio dos elétrons, o tamanho máximo do domínio magnético, etc. e ii) efeitos de superfície, que dominam a termodinâmica das partículas com estrutura nanocristalina, sua reatividade e a morfologia superficial. O primeiro fator conduz, por exemplo, a propriedades elétricas especiais em materiais iônicos nanoestruturados, a propriedades eletrônicas, magnéticas e ópticas particulares e, no caso de nanosemicondutores, à possibilidade de aplicação em dispositivos de pontos quânticos “quantum-dots”. O segundo fator pode fazer com que os nanocristais adotem morfologias distintas às de cristais volumétricos, já que diferentes planos da rede estão presentes na superfície e afetam de forma diferente a química superficial [4] e a atividade catalítica [5].

O objetivo geral deste trabalho conjunto é apresentar diversos resultados sobre rotas de síntese, estudos estruturais, especialmente por técnicas de luz síncrotron, e aplicações de diversos nanomateriais em sensores de gases e em células a combustível de óxido sólido.

1.2. SÍNTESE DE MATERIAIS NANOESTRUTURADOS

Os materiais nanocerâmicos sintetizados neste projeto incluem (i) sólidos iônicos para eletrólitos e materiais para eletrodo (nanopós, nanotubos, sistemas mesoporosos) para células a combustível de óxido sólido (SOFCs) (ver todas as fórmulas no original em pdf) e (ii) nanomateriais semicondutores para aplicações em sensores de gases e sistemas optoeletrônicos.

Técnicas de síntese gerais não serão descritas aqui, mas apenas aquelas empregadas neste trabalho, tal como a gelificação-combustão, que foi utilizada para a síntese da maioria dos materiais investigados nesta cooperação.

O método de gelificação-combustão baseia-se na formação de um gel e na posterior combustão dos nitratos dos metais selecionados com combustíveis orgânicos (glicina, ureia, lisina, ácido cítrico, etc.) [10], [11]. O processo de combustão é produzido pela reação de oxidação-redução (redox) exotérmica entre os íons nitrato, fortemente oxidantes, e a redução do combustível. A liberação de gases desintegra o precursor do gel, sendo o tamanho das nanopartículas finais dependente da velocidade da reação.

Empregando o método de gelificação-combustão, foram desenvolvidas diversas rotas de síntese de pós nanocristalinos de vários óxidos mistos, especialmente para a síntese de soluções sólidas homogêneas em composição de ZrO_2-CeO_2 [11,15-20], $ZrO_2-Y_2O_3$ [20] e ZrO_2-CaO [20], [21]. (ver fórmula no original em pdf) Os combustíveis utilizados são glicina, lisina, alanina e arginina. Além desses materiais, sintetizamos céria dopada com gadolína para ser usada como eletrólito de IT-SOFCs (“Intermediate Temperature-Solid Oxide Fuel Cells”) [22], [23].

Mais recentemente, obtivemos nanopós e outros materiais de grão fino de ZrO_2-SrO_3 , nos quais estudamos as propriedades, a fim de utilizá-los como eletrólitos de IT-SOFCs [24], [26]. Investigamos também materiais para catodos, tais como perovskitas de $(La;Sr)CoO_3$ y $(Sm;Sr)CoO_3$ e, nestes casos, obtivemos materiais em forma de nanotubos pela técnica de molde plástico assistida com microondas empregando membranas de policarbonato [27], [29]. Estes nanotubos foram depositados sobre eletrólitos de céria dopada com samária, a partir de pastas preparadas com solventes comerciais, que foram posteriormente secadas a baixa temperatura e sinterizadas a temperaturas moderadas (1000-1100°C), seguindo a técnica de “fast-firing” [27]. Obtivemos, assim, um novo tipo de catodo nanoestruturado com nanotubos de $La_{0.6}Sr_{0.4}CoO_3$ – de alta porosidade, que exibem baixa resistência à polarização.

Estruturas tubulares formadas com nanopartículas de manganitas já haviam sido sintetizadas com sucesso, utilizando a técnica desenvolvida por Leyva e colaboradores [30,31]. Elas apresentam uma área específica muito elevada, razão pela qual sugeriu-se sua utilização como catodo para SOFCs [32]. Entretanto, as manganitas não são boas candidatas para IT-SOFCs já que não apresentam propriedades eletrocatalíticas adequadas para a redução de oxigênio a temperaturas intermediárias [33]. Por esta razão, neste trabalho estudamos o desempenho de cobaltitas.

As soluções sólidas homogêneas em composição de ZrO_2-CeO_2 são adequadas para anodos de SOFCs por suas excelentes propriedades catalíticas [11], [20], mas é necessário preparar materiais compostos com metais, como Ni ou Cu, para se obter uma melhor condutividade eletrônica. Dessa forma, como para o caso dos catodos, preparamos pastas com solventes orgânicos partindo de nanopós de NiO e da solução sólida de ZrO_2-CeO_2 , que foram depositadas sobre os eletrólitos e posteriormente sinterizadas. O NiO se reduz a Ni na atmosfera redutora do anodo, originando um material composto de alta condutividade eletrônica e excelentes propriedades catalíticas para a oxidação de metano.

Estes materiais compostos foram empregados como anodos de IT-SOFCs de câmara única, operadas em misturas de metano e ar [34]. Utilizamos CeO_2-ZrO_2 por sua conveniência estrutural e boas propriedades eletrocatalíticas. Além disso, a céria apresenta a capacidade de armazenar oxigênio, pois o cátion de cério pode ser oxidado ou reduzido. Os óxidos de cério e de zircônio com uma composição nominal $Ce_{0.9}Zr_{0.1}O_2$ apresentaram excelentes propriedades catalíticas [35].

Quanto aos semicondutores nanoestruturados, obtivemos (i) SnO_2 por gelificação-combustão [8], [9] e na forma de nanotubos por técnicas de sol-gel empregando membranas de policarbonato, e (ii) ZnO puro e dopado com Al mediante a transferência de sóis que contêm as nanopartículas requeridas pelo método de “dip-coating”. O ZnO é empregado em sensores de gases e em dispositivos optoeletrônicos.

O estudo da variação das propriedades ópticas que realizamos incluiu a preparação de filmes nanocristalinos partindo de diferentes precursores de ZnO [36], [37]. O ZnO tem aplicações em equipamentos de emissão óptica em uma faixa ampla de comprimentos de onda. O ZnO dopado com Al possui melhores propriedades de luminescência em comparação com materiais dopados com elementos de transição [38].

1.3. PRINCIPAIS TÉCNICAS EXPERIMENTAIS UTILIZADAS

1.3.1. Difractometria de raios X

Dentre as medidas de caracterização física dos materiais nanocristalinos, a determinação do tamanho médio de cristalito é, usualmente, o primeiro passo em qualquer investigação estrutural. Um dos métodos mais utilizados para a determinação do tamanho médio dos nanocristais é a difratometria de raios X (XRD, “X-Ray Diffraction”).

Estudando nanomateriais por difração de raios X, observa-se um alargamento dos picos de Bragg com a diminuição do tamanho, D , dos cristalitos. O diâmetro médio dos cristalitos é determinado mediante a equação de Scherrer, $D = k \lambda / \beta \cdot \cos\theta$, onde k é uma constante (usualmente 0,9), λ o comprimento de onda do feixe de raios X, β a largura do pico de difração selecionado, medido na metade do seu máximo (FWHM), depois da eliminação dos efeitos instrumentais, e o ângulo do centro de gravidade do pico de Bragg. O comprimento de onda dos feixes de raios X geralmente utilizados em difratômetros clássicos é de 0,154 nm ($\text{CuK}\alpha$). Valores similares são utilizados quando o difratômetro está associado a uma fonte de luz síncrotron.

A equação de Scherrer representa o tratamento mais simples do alargamento de um pico de Bragg e pode ser estendido para incluir o efeito de microdeformações. Claramente, este método permite determinar o tamanho médio de cristalito, mas não fornece informação sobre a dispersão de tamanhos ou de quão aglomerados estão os nanocristais para formar os grãos. É possível também associar os métodos de difração com fontes de luz síncrotron, de muito alto brilho, o que permite determinar de forma precisa as características de picos de Bragg, mesmo daqueles de muito baixa intensidade.

1.3.2. Microscopia eletrônica

A Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM, Transmission Electron Microscopy), e mais particularmente de alta resolução (HRTEM, High Resolution-TEM), é o método ideal para determinar o tamanho médio de partícula ou de cristalito e sua distribuição de tamanhos. Entretanto, a preparação de amostras para TEM pode apresentar dificuldades. A alta magnificação, ou alta resolução, dos aparelhos de TEM deve-se ao pequeno comprimento de onda efetivo do elétron λ , dado pela relação de de Broglie: $\lambda = h / \sqrt{2mqV}$, sendo m e q a massa e a carga do elétron, respectivamente, h a constante de Planck e V a diferença de potencial com que o elétron é acelerado no microscópio. Para um microscópio com $V=200\text{kV}$, o comprimento de onda dos elétrons é de 0,0062 nm.

1.3.3. Absorção de raios X (EXAFS)

A técnica de EXAFS (Extended X-ray Absorption Fine Structure) é aplicada ao estudo da estrutura local de materiais cristalinos, nanocristalinos e amorfos. Mediante a técnica de EXAFS são analisadas as oscilações no espectro de absorção de raios X que se produzem na faixa de energia acima das bordas de absorção de níveis eletrônicos profundos (K, L, ...) dos átomos que compõem o material a ser analisado.

As oscilações no espectro de absorção de raios X são devidas a um efeito de interferência entre as ondas associadas aos fotoelétrons ejetados pelos átomos e aos fotoelétrons retroespalhados pelos átomos vizinhos. O sinal observado depende do tipo e do número de vizinhos que geram o retroespalhamento, e é afetado pelo fator de Debye-Waller (associado a desordens atômicas estática e dinâmica). As oscilações EXAFS não estão relacionadas com a ordem estrutural de longo alcance e são sensíveis às configurações locais no entorno dos átomos centrais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

(* *Referências com participantes deste projeto (CINSO-IFUSP), desde o início da presente etapa de colaboração, em 2004.*

- [1] ROCO, M. C. JOM-J. *Minerals, Metals and Materials*, n. 54, p. 2, 2002.
- [2] GLEITER, H. *Prog. Mater. Sci.*, n. 33, p. 223, 1989.
- [3] GLEITER, H. *Acta Mater.*, n. 48, p. 1, 2000.
- [4] STARK, J. V. et al. *Chem. Mat.*, n. 8, p. 1904, 1996.
- [5] SUN, Y.; XIA, Y. *Science*, n. 298, p. 2176, 2002.
- [6] LAMAS, D. G.; LASCALEA, G. E.; RECA, N. E. W. de J. *Eur. Ceram. Soc.*, n. 18, p. 1217, 1998.
- [7] JUÁREZ, R. E. et al. *J. Eur. Ceram. Soc.* n. 20, p. 133, 2000.
- [8] FRAIGI, L. B.; LAMAS, D. G.; WALSÖE de RECA, N. E. *Mater. Lett.*, n. 47, p. 262, 2001.
- [9] FRAIGI, L. B. 2006. Tese (Doutorado em Engenharia) - FI-Universidad de Buenos Aires.
- [10] LAMAS, D. G. 1999. Tese (Doutorado em Física) - FCEyN-Universidad de Buenos Aires.

- [11] (*) LASCALEA, G. 2004. Tesis (Doctoral en Ciencia de Materiais) - Inst. "Prof. Jorge Sábato" - UNSAM, San Martin, Argentina.
- [12] LAMAS, D. G. et al. *Nanostruct. Mat.*, n. 10, p. 1199, 1998.
- [13] LAMAS, D. G. et al. In: SAM' 97, Buenos Aires, 14-16 May, 1997. *Proceed...* Buenos Aires: Tandil, 1997. p. 455.
- [14] BIANCHETTI, M. et al. *J. Mat. Res.*, n. 17, p. 2185, 2002.
- [15] LAMAS, D. G. et al. *J. Mat. Sci. Lett.*, n. 20, p. 1447, 2001.
- [16] LASCALEA, G. et al. *J. Mat. Lett.*, n. 58, p. 2456, 2004.
- [17] (*) LASCALEA, G. et al. *Mat. Res. Bull.*, n. 40, p. 2029, 2005.
- [18] (*) LAMAS, D. G. et al. *Journal of Applied Crystallography*, n. 38, p. 867-873, 2005.
- [19] (*) ACUÑA, L. M. et al. *Powder Diffraction Suppl.*, v. 23, n. 2, Jun. 2008.
- [20] (*) FÁBREGAS, I. O. 2008. Tese (Doutorado em Química) – Facultad de Ciencias Exactas y Naturales – UBA, Argentina.
- [21] (*) FÁBREGAS, I. O. et al. *Journal of Applied Crystallography*, n. 41, p. 680-689, 2008.
- [22] FUENTES, R. O.; BAKER, R. T. *Int. Journal of Hydrogen Energy*, n. 33, p. 3480-3484, 2008.
- [23] FUENTES, R. O. et al. *Journal of Materials Chemistry*, n. 18, p. 5689-5695, 2008.
- [24] (*) ABDALA, P. M.; KEMPF, R.; LAMAS, D. G. *ECS Transactions: Solid Oxide Fuel Cells*, n. 7, p. 2197-2205, 2007.
- [25] (*) ABDALA, P. M. et al. *The Journal of Physical Chemistry C*, n. 113, p. 18661-18666, 2009.
- [26] (*) ABDALA, P. M. 2010. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Materiais) - Inst. de Tecn. "Jorge Sábato" - UNSAM, San Martin, Argentina.
- [27] (*) BELLINO, M. G. *Journal of the American Chemical Society*, n. 129, p. 3066-3067, 2007.
- [28] (*) SACANELL, J.; LAMAS, D. G.; LEYVA, A. G. *Physica B*, n. 398, 341-343, 2007.
- [29] (*) SACANELL, J. et al. *Journal of Power Sources*, n. 195, p. 1786-1792, 2010.

- [30] LEVY, P. et al. *Appl. Phys. Lett.*, n. 83, p. 5247, 2005.
- [31] LEYVA, A. G. et al. *J. Sol. Stat. Chem.*, n. 177, p. 3949, 2004.
- [32] HUESO, L.; MATHUR, N. *Nature*, n. 427, p. 301, 2004.
- [33] SKINNER, S. J. *Int. J. Inorg. Mater.*, n. 3, p. 113, 2001.
- [34](*) LAMAS, D. G. et al. *ECS Transactions: Solid Oxide Fuel Cells*, n. 7, p. 961-970, 2007.
- [35] (*) LARRONDO, S. A. et al. M. A. *Catalysis Today*, n. 53, p. 107-108, 2005.
- [36] BOJORGE, C. D. et al. *J. Mat. Sci. Mater. Electron*, n. 18, p. 1119, 2007.
- [37] (*) BOJORGE, C. D. et al. In: SAM-CONAMET, San Nicolás, Buenos Aires, Sept. 2007. *Proceed...* Buenos Aires: [s.n.], 2007.
- [38] OTAL, E. H. 2009. Tese (Doutorado em Química) – Facultad de Ciencias Exactas y Naturales – UBA, Argentina.

2. ESTRUTURA CRISTALINA E RETENÇÃO DE FASES METAESTÁVEIS EM SOLUÇÕES SÓLIDAS NANOESTRUTURADAS BASEADAS EM ZrO_2

2.1. ASPECTOS GERAIS

Como vimos na introdução, os materiais nanoestruturados são sólidos nos quais as distâncias entre defeitos vizinhos (bordas de grão, defeitos pontuais, discordâncias, etc.) são da ordem das distâncias interatômicas. Devido a este alto grau de desordem, os nanomateriais podem apresentar novas propriedades (elétricas, magnéticas, ópticas, etc.). Por outro lado, foram estabelecidos métodos de retenção, inclusive à temperatura ambiente, de fases de alta temperatura que não são termodinamicamente estáveis e que, em muitos casos, possuem melhores propriedades que as fases estáveis conhecidas.

A zircônia (dióxido de zircônio, ZrO_2) em forma nanocristalina desperta um grande interesse tecnológico devido às suas excelentes propriedades elétricas e mecânicas [1-3]. Estas propriedades estão estreitamente relacionadas com as estruturas cristalinas que esses materiais assumem e com suas transformações de fases. Apesar desses materiais terem sido muito estudados, ainda existem diversas discrepâncias na literatura e questões em aberto, razão pela qual suas propriedades básicas seguem sendo objeto de intensa investigação.

2.2. ANTECEDENTES

A zircônia pura (sem dopar) apresenta três tipos de estruturas que dependem da temperatura. À temperatura ambiente a fase estável tem estrutura monoclinica, correspondente ao grupo espacial $P2_1/c$. Aproximadamente a $1170^\circ C$, ela apresenta uma transformação martensítica para a fase tetragonal de grupo espacial $P4_2/nmc$, enquanto que a $2370^\circ C$ tem outra transformação para a fase cúbica de grupo espacial $Fm3m$. Esta fase cúbica possui uma estrutura tipo fluorita CaF_2 (Fig. 2.1), enquanto que a fase tetragonal apresenta os ânions O^{2-} apenas deslocados no eixo-c; e o parâmetro de rede c é levemente maior que o parâmetro de rede a (a diferença é de 1%, aproximadamente). Este fato faz com que a análise estrutural seja muito delicada.

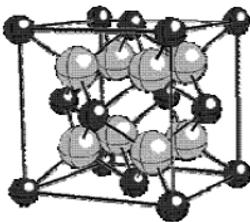


Fig. 2.1 Estrutura cristalográfica tipo fluorita. Os símbolos menores e escuros representam os cátions (em nosso caso Zr^{4+}) e os maiores e claros os oxigênios (O^{2-}).

As fases de alta temperatura tetragonal e cúbica podem ser retidas a temperaturas mais baixas, inclusive ambiente, dopando a zircônia com outros óxidos, geralmente de metais bivalentes ou trivalentes, que formam soluções sólidas com a zircônia. Os cátions metálicos adicionados substituem o cátion Zr^{4+} e, por sua menor valência, geram vacâncias na subrede de oxigênio, que são responsáveis pela condução iônica a alta temperatura através dos íons O^{2-} . A faixa de composições de estabilização das fases tetragonal e/ou cúbica é estreita, e depende da temperatura e do dopante, sendo Y_2O_3 , Sc_2O_3 , CaO e MgO os mais utilizados.

A altas temperaturas, a maioria dos sistemas baseados em zircônia apresentam três regiões no diagrama de equilíbrio de fases (*i.e.*, de fases estáveis) temperatura vs. composição. A baixas concentrações de dopante estabiliza-se a fase tetragonal, a concentrações intermediárias se encontra uma mistura das fases tetragonal e cúbica, e a concentrações mais altas se retém a fase cúbica [4].

À temperatura ambiente, a fase estável não é a tetragonal, mas a monoclinica. Entretanto, a fase tetragonal pode ser retida em forma metaestável à temperatura ambiente em pós nanocristalinos e em cerâmicas de grão submicrométrico [5]. É importante destacar que os mecanismos de retenção destas fases ainda não estão bem esclarecidos.

Os materiais com concentrações intermediárias, que apresentam uma mistura das fases tetragonal e cúbica, não são homogêneos em composição, já que estas fases têm distintas concentrações de dopante. Entretanto, é possível sintetizar materiais homogêneos em composição, que mantêm esta propriedade em forma metaestável.

Yashima e colaboradores estudaram a estrutura cristalina de soluções sólidas homogêneas em composição para diversos sistemas como ZrO_2 - Y_2O_3 [6,7], ZrO_2 - Er_2O_3 [7], ZrO_2 - Nd_2O_3 [7], ZrO_2 - Sm_2O_3 [7], ZrO_2 - Y_2O_3 [7] e ZrO_2 - CeO_2 [8-10], as quais foram preparadas por fusão dos óxidos em forno de arco seguida de resfriamento rápido ou por reação de estado sólido. Em todos estes sistemas, os autores citados acima reportaram a existência de três formas da fase tetragonal, denominadas t, t' e t'', todas elas pertencentes ao grupo espacial $P4_2/nmc$.

A forma t é a que aparece como a fase tetragonal no diagrama de equilíbrio e está restrita ao limite de solubilidade que se prediz neste diagrama.

A forma t' tem uma solubilidade maior, mas é instável e, no equilíbrio, se transforma numa mistura das fases tetragonal t e cúbica, como prediz o diagrama de equilíbrio de fases. As formas t e t' têm um quociente axial $c/a > 1$,

mas em ambos os casos os parâmetros de rede a e c não atingem diferenças maiores que 1,5%.

Para concentrações do dopante ainda maiores foi encontrada uma terceira forma da fase tetragonal, chamada t'' , com $c/a = 1$, mas com os ânions O^{2-} deslocados de suas posições ideais da fluorita (sítios 8c do grupo espacial $Fm\bar{3}m$) ao longo do eixo c .

Nos sistemas $ZrO_2-Y_2O_3$ e $ZrO_2-Sc_2O_3$, os limites correspondentes às transições de fase t'/t'' e $t''/cúbica$ se encontram, aproximadamente, em composições de 9 %molar e 11 %molar, respectivamente [6,7]. No caso do sistema ZrO_2-CeO_2 , o limite t'/t'' ocorre para 60 %molar CeO_2 , enquanto que o limite $t''/cúbica$ está entre 80 e 90 %molar CeO_2 [10]. A partir destes resultados, vários autores construíram diversos diagramas de fases estáveis e metaestáveis para soluções sólidas homogêneas em composição de materiais convencionais (ou seja, de grão micrométrico) [8,9,11].

2.3. OBJETIVOS DA COLABORAÇÃO CINSO (ARGENTINA) – IFUSP (BRASIL) REFERENTE AO ESTUDO DAS PROPRIEDADES DE NANOESTRUTURAS

Nosso aporte ao estudo estrutural deste tipo de materiais de interesse para numerosas aplicações inclui (i) a determinação das características cristalográficas das fases retidas em forma de nanocristais e (ii) a análise da influência do tamanho de cristalito nos diagramas de fase.

Desde o ano de 2004, membros do Laboratório de Cristalografia do Instituto de Física da Universidade de São Paulo (IFUSP), Brasil, e do CINSO (Centro de Investigaciones en Sólidos), CONICET-CITEFA, Argentina, colaboram no estudo da estrutura cristalina à temperatura ambiente e a alta temperatura, ordem atômica local e transições de fases de soluções sólidas nanoestruturadas baseadas em ZrO_2 [12-30].

Nossos estudos são realizados através de difração de raios X para pós (XPD, “X-ray Powder Diffraction”), com radiação convencional de tubo e no LNLS, Campinas, Brasil, utilizando luz síncrotron, bem como mediante o uso de espectroscopia Raman no IQUSP e absorção de raios X (EXAFS, “Extended X-ray Absorption Fine Structure”). As medidas de EXAFS são também realizadas no LNLS.

Desta maneira, estudamos a retenção de fases metaestáveis t , t' e t'' nestes nanomateriais, considerando especialmente sistemas de interesse em SOFCs, e a influência do tamanho de cristalito na retenção destas fases.

Os sistemas que investigamos nesta cooperação são soluções sólidas nanoestruturadas de ZrO_2-CeO_2 , $ZrO_2-Y_2O_3$, ZrO_2-CaO e $ZrO_2-Sc_2O_3$.

Como mencionamos na seção anterior, os materiais de ZrO_2-CeO_2 são de interesse por suas excelentes propriedades catalíticas para oxidação de hidrocarbonetos e são estudados para aplicação como anodos de SOFCs. Por outro lado, os cerâmicos de $ZrO_2-Y_2O_3$, ZrO_2-CaO e $ZrO_2-Sc_2O_3$ têm excelentes propriedades elétricas devido à alta condutividade iônica, e por isso os estudamos para aplicações como eletrólitos de SOFCs.

Finalmente, no caso de pós nanocristalinos de zircônia pura, investigamos a retenção da fase tetragonal por efeito de tamanho de cristalito e analisamos a ordem atômica local na ausência de dopantes.

2.4. USO DE TÉCNICAS EXPERIMENTAIS COM LUZ SÍNCROTRON NO LNL

É importante mencionar que é muito difícil distinguir a fase tetragonal da fase cúbica nos sistemas descritos nas seções anteriores a partir de dados de difração de raios X obtidos em difratômetros convencionais de laboratório. Isso acontece porque os parâmetros de rede, a e c , são muito similares e a difração de raios X é pouco sensível aos deslocamentos dos ânions O^{2-} devido ao seu baixo número de elétrons. Em especial, é difícil identificar a forma t'' , que tem quociente axial $c/a = 1$ e, portanto, não apresenta o desdobramento de picos característico da fase tetragonal, observados nos diagramas de difração correspondentes às formas t e t' , para as quais $c/a > 1$.

Qualitativamente, a única diferença entre as fases cúbica e t'' (as duas com $c/a = 1$) é a presença de alguns picos de difração de raios X de muito baixa intensidade, que correspondem a reflexões de Bragg proibidas na estrutura fcc, tipo fluorita, da fase cúbica. Estes picos estão relacionados, exclusivamente, com os deslocamentos dos ânions O^{2-} e, portanto, são muito difíceis de serem detectados com um difratômetro convencional de laboratório. Essa dificuldade se agrava quando o deslocamento do O^{2-} é pequeno – como ocorre no caso dos materiais que apresentam a forma t'' da fase tetragonal – e, mais ainda, em materiais nanoestruturados, que apresentam picos de difração muito largos.

O uso de luz síncrotron, que possui uma intensidade muito superior à dos tubos de raios X convencionais, nos permite detectar as reflexões fracas mencionadas acima e medir com precisão suas intensidades, a partir das quais se pode determinar as posições dos ânions O^{2-} na cela unitária.

Por outro lado, o uso de luz síncrotron resultou indispensável para realizar medidas de absorção de raios X (EXAFS) devido à sua alta intensidade e espectro de emissão contínuo.

2.5. SOLUÇÕES SÓLIDAS NANOESTRUTURADAS DE ZIRCÔNIA-CÉRIA

Nos primeiros trabalhos desta cooperação realizamos um estudo cristalográfico de pós nanocristalinos homogêneos em composição de ZrO_2-CeO_2 sintetizados no CINSO pelo método de gelificação-combustão [13,14,29]. Analisamos estes materiais por difração de raios X com luz síncrotron, experiências que realizamos utilizando as linhas D10B-XPD e D12A-XRD1 do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS, Brasil).

Com o uso da luz síncrotron conseguimos distinguir as fases tetragonal e cúbica, e determinar com precisão os parâmetros de rede e as posições dos oxigênios, realizando assim uma caracterização completa da estrutura cristalográfica dos nanomateriais analisados. Observamos as mesmas formas metaestáveis da fase tetragonal determinadas por Yashima e colaboradores, sendo os limites em composição t'/t'' e $t''/cúbica$ similares, com algumas diferenças qualitativas de importância já que não detectamos uma região de composições bifásicas $t'+t''$, observadas por esses autores.

Posteriormente, analisamos as propriedades catalíticas destes materiais e as correlacionamos com sua estrutura cristalina. Encontramos que os pós nanoestruturados de $ZrO_2-90\%$ molar CeO_2 de fase cúbica são os materiais que têm melhores propriedades catalíticas para a oxidação de metano [15]. Atualmente estamos estudando o desempenho destes materiais como anodo de SOFCs formando compostos com Ni, bem como desenvolvendo novos sistemas mesoporosos ordenados com alta área superficial para aplicações catalíticas.

2.6. SOLUÇÕES SÓLIDAS NANOESTRUTURADAS DE ZIRCÔNIA-ÍTRIA E ZIRCÔNIA-CÁLCIA

Realizamos o estudo de nanomateriais de $ZrO_2-Y_2O_3$ e ZrO_2-CaO com uma metodologia similar à descrita na seção anterior e, novamente, encontramos resultados consistentes com os de Yashima e colaboradores [13,19,22,29]. Os limites em composição t'/t'' e $t''/cúbica$ são similares aos informados por estes autores e não detectamos mudanças importantes em função do tamanho de cristalito.

Realizamos também um estudo detalhado da ordem atômica local nos sistemas $ZrO_2-Y_2O_3$ e ZrO_2-CaO utilizando a técnica de EXAFS [19,22,29]. Encontramos que a ordem local não concorda com a ordem prevista pela estrutura cristalina da fase tetragonal, amplamente aceita na literatura. Os resultados indicam que existe uma desordem local que poderia ser associada a deslocamentos dos oxigênios não apenas na direção do eixo-c, mas também

nas direções dos eixos a e b. Estes deslocamentos não previstos se compensariam na média de longo alcance, o que explicaria os resultados observados por difração de raios X. Este aporte à compreensão da ordem atômica local destes materiais é importante para entender as propriedades elétricas dos mesmos. Os detalhes destas propriedades formam parte da tese de doutorado de Ismael Fábregas [29].

2.7. SOLUÇÕES SÓLIDAS NANOESTRUTURADAS ZIRCÔNIA-ESCÂNDIA

Diferentemente dos sistemas anteriores, os nanomateriais de $ZrO_2-Sc_2O_3$ apresentam variações muito importantes em função do tamanho de cristalito. Este sistema tem grande relevância tecnológica como eletrólito de SOFCs por sua alta condutividade iônica a alta temperatura, em comparação com os descritos nas seções precedentes, mas a temperaturas inferiores a 550-600°C ele apresenta várias fases de estrutura romboédrica (β , γ e δ) de baixa condutividade.

Realizamos nossas investigações por difração de raios X com luz síncrotron no LNLS, à temperatura ambiente e a alta temperatura. A partir dos resultados obtidos, determinamos o diagrama de fases de soluções sólidas nanoestruturadas com um tamanho de cristalito de aproximadamente 25 nm [21], [23], [30]. Constatamos que o diagrama de fase obtido difere substancialmente do diagrama de equilíbrio – que é determinado para um tamanho de grão micrométrico ou maior – já que, reduzindo o tamanho de cristalito, é possível evitar as fases romboédricas de baixa condutividade iônica. A Fig. 2.2 mostra uma comparação entre ambos os diagramas de fase. O diagrama de fase para o caso de cristais nanométricos é qualitativamente similar ao de outros sistemas baseados em zircônia; i.e., observa-se a presença das formas tetragonais t' e t'' , e da fase cúbica, sem fases romboédricas.

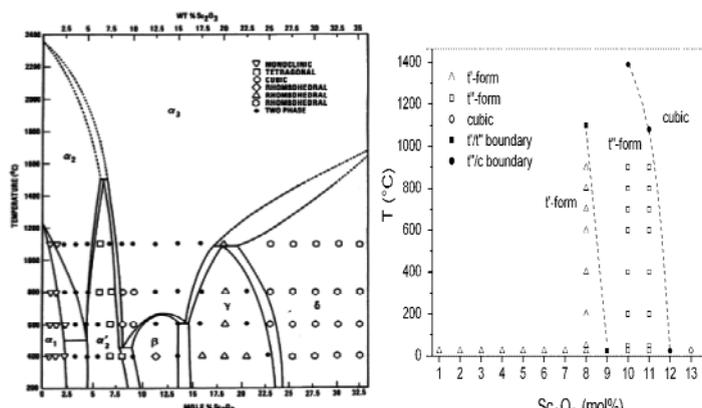


Fig. 2.2: Diagramas de fase do sistema $ZrO_2-Sc_2O_3$. Esquerda: Diagrama de equilíbrio para microcristais [31]. Direita: Diagramas de fase para nanocristais de 25 nm [23], [30].

Para uma melhor compreensão da influência do tamanho de cristalito na retenção de fases metaestáveis, realizamos um estudo cristalográfico detalhado de materiais com conteúdos de Sc_2O_3 entre 10 e 14% molar e tamanhos de cristalito entre 10 e 100 nm. Encontramos que existe um tamanho de cristalito crítico, de aproximadamente 35 nm, acima do qual aparecem as fases romboédricas de equilíbrio [24,26,30]. Estas investigações estão detalhadas na tese de doutorado de Paula Abdala [30], na qual se inclui também a possibilidade de estender estes estudos de pós nanocristalinos para cerâmicos densos com grãos finos.

Demonstramos também que é possível evitar a formação das fases romboédricas em cerâmicos densos de $\text{ZrO}_2\text{-Sc}_2\text{O}_3$ através de um efeito combinado de tamanho de grão submicrométrico e tensões intergranulares, o que representa um resultado importante para as aplicações tecnológicas destes eletrólitos sólidos.

Finalmente, investigamos as propriedades elétricas destes materiais cujos resultados formam parte da tese de doutorado de Paula Abdala [30]. Confirmamos que, ao evitar as fases romboédricas, estes cerâmicos densos de grão fino possuem excelente condutividade iônica em toda a faixa de temperaturas de interesse.

2.8. ZIRCÔNIA NANOESTRUTURADA

É importante destacar o estudo que realizamos de pós nanocristalinos de zircônia pura. Neste caso, apesar de não se introduzir dopantes na estrutura, vários autores demonstraram que é possível reter a fase tetragonal à temperatura ambiente, também em forma metaestável, em pós nanocristalinos de tamanho de cristalito inferior a 20 nm. Em vários trabalhos prévios, tamanhos críticos entre 20 e 30 nm foram reportados. Outros autores afirmaram que também se pode reter a fase cúbica à temperatura ambiente para tamanhos de cristalito extremamente pequenos (<10 nm).

Entretanto, nos trabalhos prévios, a fase cúbica não foi claramente discriminada da fase tetragonal, já que a identificação de fases foi realizada por difração de raios X com difratômetros convencionais de laboratório e, como já se mencionou, é muito difícil, nessas condições, distinguir ambas as fases, principalmente em materiais com tamanhos de cristalito tão pequenos.

Nossas investigações, realizadas por difração de raios X com fonte de luz síncrotron em uma configuração de alta intensidade para se obter uma boa estatística de contagem de fótons, demonstraram que somente é possível reter a fase cúbica em nanopós de zircônia pura com tamanhos de cristalito

extremamente pequenos, inferiores a 2,0 nm [12,17,27]. Para tamanhos de cristalito maiores, até 25-30 nm, demonstramos que se retém a fase tetragonal.

Por outro lado, determinamos os parâmetros cristalográficos em função do tamanho de cristalito, observando que tanto o quociente axial c/a como o deslocamento dos oxigênios, com respeito às posições na fase cúbica, decrescem com a diminuição do tamanho de cristalito [17]. Estas investigações nos permitiram compreender mais claramente as características estruturais destes nanomateriais e os mecanismos de retenção da fase tetragonal na ausência de dopantes.

No caso dos nanopós de zircônia pura de fase tetragonal, também estudamos a influência do tamanho de cristalito na ordem atômica local destes materiais e também os deslocamentos dos oxigênios na ausência de dopantes [25,28]. Obtivemos resultados similares aos mencionados anteriormente para sistemas dopados, o que indica que os oxigênios não apenas se posicionam em pontos da rede ao longo do eixo- c , mas também deslocam-se em outras direções, diferentemente do que se supunha em estudos cristalográficos realizados por difração de raios X convencional.

Como mencionamos anteriormente, estas investigações são importantes para uma melhor compreensão das propriedades dos nanomateriais baseados em ZrO_2 de fase tetragonal, que têm numerosas aplicações tecnológicas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

(*) Referências com participantes deste projeto (CINSO-IFUSP), desde o início da presente etapa de colaboração, em 2004.

[1] NOWOTNY, J. *Science of ceramic interfaces II*. Amsterdam: *Elsevier Science*, 1994.

[2] LEE, W. E.; RAINFORTH, W. M. *Ceramic microstructures: property control by processing*. London: Chapman & Hall, 1994.

[3] GARVIE, R. C.; HANNINK, R. H. J.; PASCOE, R. T. *Nature*, n. 258, 703-770, 1975.

[4] SCOTT, H.G. *J. Mater. Sci.*, n. 10, p. 1527-1535, 1975. Parei aqui

[5] JUÁREZ, R. E. et al. *Defect and Diffusion Forum*, n. 177/178, p. 1-26, 1999.

[6] YASHIMA, M. et al. *Acta Cryst.*, n. B50, p. 663-672, 1994.

- [7] YASHIMA, M. et al. *J. Phys. Chem. Solids*, n. 57, p. 17-24, 1996.
- [8] YASHIMA, M. et al. *J. Am. Ceram. Soc.*, n. 76, p. 2865-2868, 1993.
- [9] YASHIMA, M. et al. *J. Am. Ceram. Soc.*, n. 77, p. 1869-1874, 1994.
- [10] YASHIMA, M. et al. *Appl. Phys. Lett.*, n. 72, p. 182-184, 1998.
- [11] YASHIMA, M.; KAKIHANA, M.; YOSHIMURA, M. *Solid State Ionics*, n. 86/88, p. 1131-1149, 1996.
- [12] (*) LAMAS, D. G. et al. In: CONGRESO CONAMET-SAM, 2004. *Actas...* Buenos Aires: [s.n.], 2004. p. 489-494.
- [13] (*) LAMAS, D. G. et al. In: CONGRESO CONAMET-SAM, 2004. *Actas...* Buenos Aires: [s.n.], 2004. p. 775-780.
- [14] (*) LAMAS, D. G. et al. *Journal of Applied Crystallography*, n. 38, p. 867-873, 2005.
- [15] (*) LARRONDO, S. et al. *Catalysis Today*, n. 107/108, p. 53-29, 2005.
- [16] (*) FÁBREGAS, I. O. et al. *Journal of Physics: Condensed Matter*, n. 18, p. 7863-7881, 2006.
- [17] (*) LAMAS, D. G. et al. *Scripta Materialia*, n. 55, p. 553-556, 2006.
- [18] (*) CASANOVA, J. R. et al. *Journal of Applied Crystallography*, n. 40, p. s147-s152, 2007.
- [19] (*) FÁBREGAS, O. et al. *Powder Diffraction*, n. 23, p. S46-S55, 2008.
- [20] (*) ACUÑA, L. M. et al. *Powder Diffraction*, n. 23, p. S70-S74, 2008.
- [21] (*) ABDALA, P. M. et al. *Powder Diffraction*, n. 23, p. S87-S90, 2008.
- [22] (*) FÁBREGAS, I. O. et al. *Journal of Applied Crystallography*, n. 41, p. 680-689, 2008.
- [23] (*) ABDALA, P. M. et al. *The Journal of Physical Chemistry C*, n. 113, p. 18661-18666, 2009.
- [24] (*) ABDALA, P. M. et al. *Physical Chemistry Chemical Physics*, n. 12, p. 2822-2829, 2010.
- [25] (*) ACUÑA, L. M. et al. *Journal of Applied Crystallography*, n. 43, p. 227-236, 2010.
- [26] (*) ABDALA, P. M. et al. *Journal of Alloys and Compounds*, n. 495, p. 561-564, 2010.

[27] (*) ROSSO, M. 2004. Tese (Bacharelado em Cs. Físicas) - Facultad de Ciencias Exactas y Naturales - UBA, Buenos Aires.

[28] (*) ACUÑA, L. M. 2005. Tese (Bacharelado em Ciências Físicas) - Facultad de Ciencias Exactas y Naturales - UBA, Buenos Aires.

[29] (*) FÁBREGAS, I. O. 2008. Tese (Doutorado em Ciências Químicas) - Facultad de Ciencias Exactas y Naturales - UBA, Buenos Aires.

[30] (*) ABDALA, P. M. 2010. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia, Menção Materiais) - Instituto Sábató, Universidad Nacional de Gral. San Martín-CNEA, San Martín, Argentina.

[31] RUH, R. et al. *Journal of the American Ceramic Society*, n. 60, p. 399-403, 1977.

3. APLICAÇÕES DOS MATERIAIS NANOESTRUTURADOS

Das várias aplicações dos materiais estudados neste projeto conjunto, descreveremos apenas aquelas relacionadas a sensores de gases e a células a combustível de óxido sólido de temperatura intermediária (IT-SOFCs).

3.1. APLICAÇÕES A SENSORES DE GASES CONSTRUÍDOS COM SEMICONDUTORES NANOESTRUTURADOS

3.1.1. Funcionamento dos sensores

Descreveremos o funcionamento de sensores construídos com óxidos semicondutores, por exemplo, SnO_2 ou ZnO , que detectam gases por variação da resistência superficial. O semicondutor cerâmico reage previamente com o oxigênio do ar formando adsorbatos de oxigênio (O^- , O^{2-}) [1] que recobrem a superfície do semicondutor e os contornos de grão.

Estes adsorbatos reagem com o gás de interesse, por exemplo, monóxido de carbono ($\text{CO}(\text{g})$) à temperatura de operação (T_{op}). Tipicamente T_{op} é da ordem de $300\text{--}450^\circ\text{C}$ se o sensor for construído com material microcristalino.

No caso de um óxido metálico semicondutor tipo n, a formação dos adsorbatos cria uma região de carga espacial, ou seja, uma camada cuja superfície está empobrecida em elétrons, devido à transferência do elétron ao adsorbato: $1/2\text{O}_2(\text{g}) + 2\text{e}^- = 2\text{O}^-$ (adsorb.). A profundidade da região de carga espacial L é função das características do recobrimento superficial dos adsorbatos e da concentração intrínseca de elétrons no volume. Em consequência, a resistência de um semicondutor tipo n é alta, porque se formam barreiras de potencial à condução eletrônica na superfície de cada grão e em cada contorno de grão [2]. Se o sensor se expõe a um gás redutor (por ex. CO) à T_{op} o gás reage com o adsorbato segundo: $\text{CO} + \text{O}^- = \text{CO}_2 + \text{e}^-$.

Quando os adsorbatos se consomem em reações subsequentes estabelece-se um novo estado de equilíbrio do recobrimento superficial, a barreira de potencial diminui e se produz uma diminuição da resistência. A variação da resistência é um parâmetro de medida do sensor, definida como: $\Delta\rho = n.e.\Delta L$, onde n é o número de cargas, e a carga das espécies móveis e ΔL a variação da largura da região de carga espacial.

Por outro lado, a sensibilidade S é definida como: $S = R_{\text{ar}} / R_{\text{ar+gás}}$, onde R_{ar} é a resistência no ar e $R_{\text{ar+gás}}$ a resistência em uma mistura de gases que contém o gás redutor. A reatividade dos adsorbatos de oxigênio é uma função do tipo de gás redutor e da T_{op} do sensor. No caso do uso destes materiais nos sensores semicondutores de tipo p, os portadores de carga são buracos e

a resistência em ar resulta mais baixa. O comportamento deste sensor aparece, então, inverso ao do sensor construído com um semiconductor de tipo n.

3.1.2. Construção dos sensores

Construímos também sensores de gases com SnO_2 micro e nanocristalino. Observamos que a sensibilidade dos sensores que utilizam material nanocristalino resulta entre 30 e 37% mais alta que a de sensores construídos com material microcristalino convencional. A temperatura de operação T_{op} diminui a 180-220°C para os primeiros em comparação com a faixa usual para T_{op} de 350-450°C em sensores construídos com material microcristalino.

Os óxidos metálicos semicondutores podem ser usados em sensores puros ou dopados, tendo o material dopado maior seletividade para certos gases [3].

Desenvolvemos também sensores para detectar CO(g) [4], VOCs e hidrogênio, que utilizam SnO_2 nanocristalino. O sensor de SnO_2 dopado com cátions trivalentes permitiu melhorar a resposta, já que a concentração de portadores é reduzida e, conseqüentemente, a profundidade L aumenta. O SnO_2 foi sintetizado pelo método de gelificação-combustão.

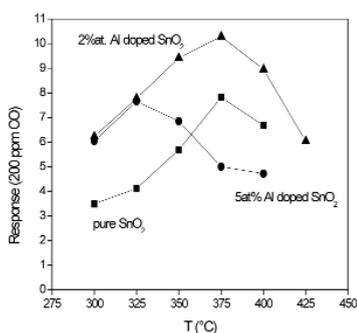


Fig. 3.1. Resposta de sensor com SnO_2 puro.

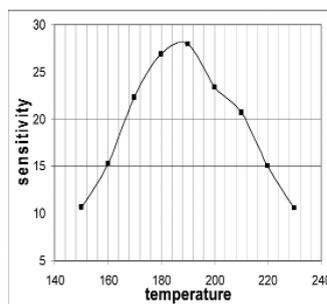


Fig. 3.2. Sensibilidade em função da temperatura

O uso de rotas de síntese similares à utilizada para os outros sistemas permitiu o aumento do limite de solubilidade do dopante, em uma condição metaestável, ao mesmo tempo em que se reteve a homogeneidade em composição dos materiais [5], [6]. A Fig. 3.1, mostra a resposta do SnO_2 puro e dopado com Al (2 at% e 5 at%) em função da T_{op} (°C) para 200 ppm CO em ar.

Os sensores com SnO₂ dopados com 2%Al (2%AlSnO₂) mostraram melhor resposta ($S_m > 10$) em comparação com os dispositivos construídos com SnO₂ puro ($S_m \sim 8$) em toda a faixa de temperatura. A diminuição da temperatura de operação T_{op} do sensor pode ser atribuída a um deslocamento da temperatura característica de formação dos adsorbatos O⁻ por incorporação do Al na rede do SnO₂.

Os resultados obtidos indicam que o método de gelificação-combustão aumenta a solubilidade do Al em SnO₂, em comparação com o método de co-precipitação e, ao mesmo tempo, contribui para reduzir o tamanho de cristalito.

Como consequência das investigações realizadas, construímos sensores de filmes espessos com SnO₂ (micro e nanocristalino) puro e dopado com In₂O₃ [7]. O sensor construído com SnO₂ nanocristalino dopado mostrou maior sensibilidade (35-37%) comparada à de sensores montados com SnO₂ microcristalino dopado.

Observamos o mesmo efeito sobre a sensibilidade em outro sensor de filme espesso que detecta 5ppm de H₂ em ar [8] construído com SnO₂ puro com tamanho de cristalito de 1-2 nm, sendo os pós nanocristalinos sintetizados por um método original.

A Fig. 3.2 mostra a sensibilidade do sensor de H₂ em função da temperatura de operação T_{op} . A maior sensibilidade se observa para $T_{op} \sim 180-200^\circ\text{C}$. Para se obter uma T_{op} menor neste sensor, comparada à dos sensores comerciais (350-450°C), o substrato convencional de AlSiMg – com aquecedor e terminais sobre faces opostas – foi substituído por uma lâmina (“wafer”) de Si recoberta por N4Si. Com técnicas para preparação de MEMS (“Micro-Electro-Mechanical Systems”) desenvolvidas em CITEFA [9] construiu-se um sistema de comutação que mede, alternativamente, a T_{op} e a resistividade (parâmetro de medida do sensor).

3.1.3. Comentários

Atualmente estão sendo estudadas a síntese e as propriedades de nanotubos de SnO₂ e de diferentes nanomorfologias em ZnO (nanofitas e nanofios) para utilização em sensores de gases. Esses dispositivos poderão atingir uma sensibilidade ainda maior que a observada até o momento, dado que a absorção dos gases aumenta notavelmente com estas morfologias de maior densidade de superfície exposta. Esses materiais são depositados sobre os substratos de Si nitretado mencionados anteriormente [9].

3.2. MATERIAIS NANOESTRUTURADOS PARA CÉLULAS A COMBUSTÍVEL DE ÓXIDO SÓLIDO DE TEMPERATURA INTERMEDIÁRIA (IT-SOFCs)

As células a combustível são dispositivos eletroquímicos que convertem a energia química dos combustíveis (H_2 , CH_4 , gás natural, biogás, etc.) em energia elétrica. Apresentam como vantagens sua alta eficiência de conversão e baixa emissão de gases de efeito estufa. Dentro desta área, as células de membrana trocadora de prótons (PEMFC, “Proton-Exchange Membrane-based Fuel Cells”) e as de óxido sólido (SOFCs) mereceram maior atenção, tanto no que se refere à investigação científica como a desenvolvimento tecnológico. É importante destacar que as PEMFCs se encontram atualmente disponíveis no mercado, enquanto que as SOFCs ainda não entraram em etapa de pré-comercialização, razão pela qual, neste caso, é necessário realizar investigação científica e desenvolvimento tecnológico adicionais.

A principal razão pela qual existe um enorme interesse no desenvolvimento das SOFCs é sua grande flexibilidade na escolha do combustível: as células PEMFCs requerem H_2 de alta pureza enquanto que as SOFCs podem operar com H_2 não purificado e hidrocarbonetos (CH_4 , gás natural, biogás, etc.). Além disso, as SOFCs apresentam outras vantagens importantes com respeito às PEMFCs: não usam catalisadores de metais preciosos, têm maior resistência à contaminação com compostos de enxofre (contaminação típica em gás natural) e têm melhores propriedades mecânicas.

A dificuldade que se tem com as SOFCs convencionais é sua elevada temperatura de operação, o que exige o uso de materiais de interconexão muito caros. Também, podem ocorrer reações químicas ou interdifusão nas interfaces, rupturas por diferenças nos coeficientes de dilatação dos componentes, degradação por ciclagem térmica, etc. . Portanto, um passo fundamental para que as SOFCs ingressem na etapa de précomercialização seria reduzir a temperatura de operação. Por isso é necessário desenvolver novos materiais para eletrólito, catodo e anodo de altas eficiências. As SOFCs de menor temperatura de operação são conhecidas como “SOFCs de temperatura intermediária” (IT-SOFCs).

Basicamente, os processos que ocorrem nas SOFCs são a redução de $O_2(g)$ a O^{2-} no catodo, o transporte de íons O^{2-} através do eletrólito sólido e a reação destes íons com o combustível no anodo (ver Fig. 3.3).

Nesta cooperação nos concentramos no estudo de novas morfologias que permitam alcançar um melhor desempenho dos diversos materiais investigados. Em especial avaliamos as vantagens destes nanomateriais para seu uso

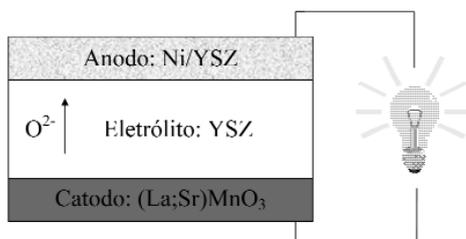


Fig. 3.3: Esquema de uma célula a combustível de óxido sólido construída com materiais convencionais para alta temperatura.

em dispositivos associados a tecnologias para geração limpa e eficiente de energia.

A utilização de nanomateriais em SOFCs foi, até o presente, pouco explorada, provavelmente porque a alta temperatura de trabalho em que geralmente operam estas células, 900-1000°C, provocaria um importante crescimento dos grãos nos materiais que a compõem. Entretanto, o uso de nanomateriais é factível em IT-SOFCs, que operam a 500-700°C. Este novo conceito aqui proposto está sendo atualmente intensamente explorado em nossa cooperação.

3.2.1. Eletrólitos sólidos nanoestruturados de alta condutividade

Investigações recentes realizadas no CINSO demonstraram que os eletrólitos sólidos nanoestruturados exibem um importante aumento de condutividade iônica em comparação com materiais microcristalinos. Como exemplo, destacam-se os estudos sobre eletrólitos nanoestruturados de céria (CeO_2) dopada [13-15] e cerâmicos de grãos finos de $\text{ZrO}_2\text{Sc}_2\text{O}_3$ [16,17], que mostraram a importância do transporte paralelo por contorno de grãos. Este resultado é importante para aplicações, uma vez que poderá melhorar o desempenho do eletrólito e, portanto, da célula a combustível. No caso dos cerâmicos de $\text{ZrO}_2\text{-Sc}_2\text{O}_3$, estudamos as propriedades correspondentes a composições que apresentam as fases de alta condutividade iônica tetragonal e/ou cúbica, para evitar a presença das fases monoclinica e romboédrica, que têm propriedades elétricas muito pobres, como já foi mencionado em seção anterior.

3.2.2. Eletrodos (catodos o anodos) para IT-SOFCs baseados em condutores mistos nanoestruturados de alta área específica

Recentemente, investigadores do CINSO propuseram o estudo de catodos para IT-SOFCs baseados em condutores mistos nanoestruturados de alta área específica. Neste caso espera-se que as reações de eletrodo sejam ainda mais eficientes, uma vez que a área de reação é maior. Para avaliar esta proposta, preparamos estruturas tubulares formadas por nanopartículas de cobaltitas de La e Sr (perovskitas com uma composição de $\text{La}_{0.6}\text{Sr}_{0.4}\text{CoO}_3$) mediante síntese por molde plástico assistida com microondas, que foram

utilizadas para construir uma nova arquitetura, altamente porosa, para catodos nanoestruturados de IT-SOFCs.

Os resultados obtidos confirmaram o comportamento esperado: os catodos nanoestruturados mostraram um desempenho muito superior ao de catodos convencionais microcristalinos, apresentando uma resistência muito baixa de polarização [15], [18], [20].

Nossas últimas investigações permitiram demonstrar que, além do aumento da área de reação, nos condutores mistos nanoestruturados se produz um aumento da difusividade dos íons O^{2-} com a redução do tamanho de grão, fenômeno similar ao descrito anteriormente para os eletrólitos [20].

3.2.3. Retenção de fases metaestáveis em nanomateriais cerâmicos baseados em ZrO_2 para eletrólitos ou anodos de SOFCs

Como vimos no capítulo 2, em soluções sólidas nanoestruturadas baseadas em ZrO_2 pode-se reter fases metaestáveis de alta condutividade iônica para uso como eletrólito de SOFCs (sistemas ZrO_2 - Sc_2O_3 , ZrO_2 - Y_2O_3 e ZrO_2 - CaO) ou de excelentes propriedades catalíticas para oxidação de CH_4 (sistema ZrO_2 - CeO_2) que podem ser utilizadas no anodo destes dispositivos.

As propriedades dos materiais mencionados foram investigadas nas teses de doutorado de Ismael Fábregas [21] e Paula Abdala [17].

3.2.4. Comentários

Atualmente estamos avaliando os nanomateriais utilizados nas três linhas de investigação descritas nas seções anteriores, em condições de operação como parte de dispositivos de prova de células a combustível de pequenas dimensões e baixa potência.

Os materiais são ensaiados com distintos combustíveis e condições de trabalho a fim de se determinar os parâmetros ótimos de operação. Em todos os casos, os nanomateriais operam a temperaturas moderadas para evitar o crescimento das partículas. Desta maneira as nanoestruturas desenvolvidas para os distintos componentes das células a combustível são preservadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

(*) Referências com participantes deste projeto (CINSO-IFUSP), desde o início da presente etapa de colaboração, em 2004.

[1] YAMAZOE, N. et al. *Surf. Sci.*, n. 86, p. 335, 1979.

[2] SHIMIZU, Y.; EGÁSHIRA, M. *MRS Bulletin*, v. 24, n. 6, p. 18, 1999.

[3] XU, C. et al. *Sens. & Actuators*, n. B 3, p. 147, 1991.

- [4] (*) CABEZAS, M. et al. *Solicitud de Patente da R.A.* 2010. (em andamento).
- [5] LAMAS, D. G. ; WALSÖE DE RECA, N. E. *J. Mat. Sci.*, n. 35, p. 5563-5567, 2000.
- [6] LAMAS, D. G. et al. *Mat. Chem.*, n. 13, p. 904-910, 2003.
- [7] (*) BIANCHETTI, M. F. et al. *Solicitud de Patente da R.A.* 2010. (em andamento).
- [8] (*) BIANCHETTI, M. F.; WALSÖE DE RECA, N. E. *Application for A.R. Patentes de Método de Síntese (MNS) e Construção de Sensor de H2.* 2010. (solicitações em andamento).
- [9] (*) ALANIZ, L. T.; ARRIETA, C. L.; BIANCHETTI, M. F.; GILLARI, C. A.; GIMÉNEZ, J. F.; LACOMI, H. A.; VALERIO, F.; WALSÖE DE RECA, N. E. *Patente de Invenção de R.A.*: Ner. P- 070105987. Concedida em: 28 dez. 2007.
- [10] NOWOTNY, J. *Science of Ceramic Interfaces II.* Amsterdam: Elsevier Science, 1994.
- [11] LEE, W. E.; RAINFORTH, W. M. *Ceramic Microstructures: property control by processing.* London: Chapman & Hall, 1994.
- [12] GARVIE, R. C.; HANNINK, R. H. J.; PASCOE, R. T. *Nature*, n. 258, p. 703-704, 1975.
- [13] (*) BELLINO, M.G.; LAMAS, D. G.; WALSÖE DE RECA, N. E. *Advanced Functional Materials*, n. 16, p. 107-113, 2006.
- [14] (*) BELLINO, M.G.; LAMAS, D. G.; WALSÖE DE RECA, N. E. *Advanced Materials*, n. 18, p. 3005-3009, 2006.
- [15] (*) BELLINO, M.G. 2007. Tese (Doutorado em Cs. Físicas) – Facultad de Ciencias Exactas y Naturales - UBA, Buenos Aires.
- [16] ABDALA, P.M.; CUSTO, G. S.; LAMAS, D.G. *Journal of Power Sources*, n. 195, 3402-3406, 2010.
- [17] (*) ABDALA, P.M. 2010. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia, Menção Materiais) - Instituto Sábató, Universidad Nacional de Gral. San Martín-CNEA, San Martín, Argentina.
- [18] (*) BELLINO, M. G. et al. *Journal of the American Chemical Society*, n. 129, p. 3066-3067, 2007.

[19] (*) SACANELL, J. et al. *Physica B*, n. 398, p. 341-343, 2007.

[20] (*) SACANELL, J. et al. *Journal of Power Sources*, n. 195, p. 1786-1792, 2010.

[21] (*) FÁBREGAS, I. O. 2008. Tese (Doutorado em Cs. Químicas) - Facultad de Ciencias Exactas y Naturales - UBA, Buenos Aires.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Relatamos neste trabalho as pesquisas realizadas desde 2004 no âmbito de uma estreita cooperação internacional CINSO (Argentina)-IFUSP (Brasil), visando a obtenção de novos materiais nanoestruturados com propriedades não usuais e adequados para sua utilização em dispositivos sensores e IT-SOFCs.

Ao longo do trabalho todas as etapas de pesquisa científica e de desenvolvimento tecnológico foram percorridas: (i) partimos da preparação de nanomateriais mediante novos processos de síntese, (ii) estudamos os mesmos utilizando modernos métodos experimentais, (iii) elaboramos modelos estruturais que elucidaram várias questões em aberto na literatura científica, e finalmente (iv) testamos com sucesso esses novos materiais desenvolvidos em vários dispositivos-modelos.

O trabalho realizado deu origem a um elevado número de artigos científicos publicados em revistas indexadas de circulação internacional, e a várias patentes e teses de doutorado, todos eles mencionados nas referências dos capítulos 1, 2 e 3.

As conclusões desta pesquisa nos permitirão no futuro (i) construir novos dispositivos com desempenho otimizado baseados no uso de novos nanomateriais, e (ii) desenvolver novos temas de pesquisa, que já começamos a explorar, tal como a síntese de materiais porosos nanoestruturados, a base de zircônia, de alta área superficial.

Diversas agências de fomento nos forneceram generosos apoios financeiros através dos acordos de cooperação CAPES-SECyT (2003-2004), CNPq-CONICET (2005-2006), CAPES-MinCyT (2007-2008), Centro Latinoamericano de Física (2006, 2008, 2009 e 2010) e Programa PROSUL do CNPq (2006-2008 e 2009-2011).

Agradecemos ao Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS), Campinas, Brasil, por haver permitido o uso das linhas de luz XPD, XAFS e SAXS durante todo o desenvolvimento das investigações descritas neste trabalho.

Categoria Iniciação Científica

Menção Honrosa

MODIFICACIÓN DE BENTONITA PARA LA
OBTENCIÓN DE NANOARCILLAS, Y SU
UTILIZACIÓN EN UN POLÍMERO BIODEGRADABLE
SINTETIZADO A PARTIR DEL ÁCIDO L(+)LÁCTICO
POLICONDENSADO

Autor: Brian Samir Ginés Bejarano, 18 anos, aluno do 2º curso do Colégio Iberoamericano

Professora-Orientadora: Fanny Elizabeth Florentín Ramos de González, 43 anos

País: Paraguai

MODIFICACIÓN DE BENTONITA PARA LA OBTENCIÓN DE NANOARCILLAS, Y SU UTILIZACIÓN EN UN POLÍMERO BIODEGRADABLE SINTETIZADO A PARTIR DEL ÁCIDO L(+)LÁCTICO POLICONDENSADO

Brian Ginés Bejarano

RESUMEN

En la investigación se ha diseñado un mecanismo para la modificación de la bentonita, que es una arcilla natural compuesta mayoritariamente por montmorillonita, para su aprovechamiento como nanoarcilla útil como refuerzo en la matriz polimérica del ácido poliláctico, que es obtenido por medio de una policondensación y catalización con zinc metálico de alta pureza del ácido L(+)Láctico, que es sintetizado en la fermentación natural de la fécula de la mandioca.

El proceso consiste en la modificación de la bentonita sódica en una solución de agua desmineralizada y alcohol etílico, utilizando un compuesto de amonio cuaternario como catalizador de transferencia de fase para aumentar la solubilidad de los compuestos en solventes orgánicos, con el objeto de facilitar el uso de las nanoarcillas en matrices poliméricas.

El intercambio de cationes inorgánicos por iones de amonio orgánicos permite al filosilicato hidrofílico que sea mayormente organofílico, y consecuentemente, más compatible con el ácido poliláctico, que es un polímero orgánico.

El ácido poliláctico es biodegradable, termoplástico y un poliéster natural.

En la investigación es realizada una caracterización mecánica y nuclear, con lo que se comprueban los beneficios directos de utilizar las nanoarcillas, presentando un mejoramiento de la resistencia del 25% del ácido poliláctico nanocompuesto, con lo que se optimiza su capacidad de aplicación como sustituyente de los plásticos derivados del petróleo.

La nanoarcilla presenta un campo de aplicación muy extenso, y es una iniciativa conveniente para el desarrollo de nanocompuestos que optimicen las características de resistencia, absorción de humedad y capacidad ignífuga de los polímeros biodegradables.

INTRODUCCIÓN

Las nanoarcillas son nanopartículas de silicatos, obtenidas a partir del procesamiento de las organoarcillas que son consideradas como nanomateriales naturales, pero que precisan una modificación empleando un surfactante de compuesto de amonio cuaternario, para alcanzar una adecuada integración con matrices poliméricas, para lo que se presenta la necesidad de efectuar un intercambio de cationes inorgánicos por iones de amonio orgánicos, que permita que el filosilicato hidrofílico sea mayormente organofílico, y consecuentemente más compatible con el polímero biodegradable.

En la presente investigación se efectúa una metodología para la modificación de la bentonita sódica, que en su composición estructural posee una cantidad considerable de montmorillonita, que es un hidroxisilicato de magnesio y aluminio, que presenta las características elementales para su empleo como un nanorefuerzo.

El ácido L-(+)-láctico es el obtenido por medio de la fermentación del almidón, que consiste en una biotransformación llevada a cabo por bacterias naturales. Dicho ácido es posteriormente policondensado, y catalizado con cinc metálico de alta pureza, para producir el ácido poliláctico, que es un polímero biodegradable, termoplástico, y poliéster alifático, utilizable en la realización de distintos productos de uso masivo, tales como las bolsas de plástico, los paquetes, etc.

La abundancia de la bentonita y fécula de mandioca en países sudamericanos, como Argentina, Brasil y Chile, evidencian la existencia de una materia aprovechable en el escenario regional, para el mejoramiento de materiales poliméricos biodegradables nanocompuestos.

OBJETIVO

- Desarrollar nanoarcillas, modificando organoarcillas de la bentonita sódica natural, con la utilización de un surfactante de amonio cuaternario, para su aprovechamiento como nanorefuerzo del polímero biodegradable ácido poliláctico.

JUSTIFICACIÓN

En la actualidad se presenta el desafío de disminuir la contaminación ambiental causada por los productos derivados del petróleo, que es el principal recurso para la realización de materiales poliméricos de alto consumo en la región, los cuales terminan constituyendo distintos detrimentos a la naturaleza, ya que no son sustancias que puedan descomponerse fácilmente en elementos químicos naturales por la sola acción de agentes biológicos, sino que permanecen en el ambiente contaminando constantemente.

Ante dicha problemática surgen los polímeros biodegradables como opciones efectivas, aunque sus características y propiedades básicas, en la mayoría de los productos, no son las más adecuadas, por lo que es necesario plantear la utilización de la nanotecnología para mejorar (en sus características mecánicas, físicas, y químicas) dichos polímeros naturales, y de esa forma contribuir a disminuir el progreso del cambio climático en el mundo, desde Sudamérica.

IMPORTANCIA DEL ESTUDIO NANOTECNOLÓGICO EN SUDAMÉRICA

La nanotecnología posee un mayúsculo impacto en los procesos industriales de los países, y por consecuente, en el desarrollo económico y social, ya que permite la manipulación de la materia a nano escala, lo que a la vez es provechoso para mejorar los productos y los procesos de fabricación. Así como permite la implementación de nuevos mecanismos en la medicina, en la disciplina que se denomina *nanomedicina*.

El desarrollo de nanocompuestos poliméricos biodegradables es una opción hacedera para la fabricación de envases y bolsas que son bastante utilizadas en la vida cotidiana.

Las empresas tradicionales pueden obtener un beneficio directo de la nanotecnología para mejorar su competitividad en los sectores tradicionales, como el textil, el de construcción, el de industria química, etc., pues facilita la optimización de los procesos productivos.

En el Mercosur es necesario promover la creación de Programas de Acceso a la nanotecnología, que ayude a las empresas a introducirse a las posibilidades que representa la nanomanipulación.

DESCRIPCIÓN DE MATERIALES

Bentonita

La bentonita posee una importante implicancia industrial a causa de sus propiedades físico-químicas, las cuales responden a distintas propiedades que son tenidas en cuenta en la selección de la bentonita adecuada, y dichas características son:

- El tamaño de sus partículas (inferiores a 2 nm),
- Su morfología laminar,
- Las sustituciones isomórficas, que propician la presencia de carga en las láminas con cationes débilmente ligados en el espacio interlaminar.

La bentonita empleada está constituida principalmente por montmorillonita, la cual está compuesta por capas estratificadas.

El análisis químico de la bentonita empleado en la presente investigación posee la siguiente caracterización química:

Químico	Porcentaje
SiO ₂	57
Al ₂ O ₃	17,06
Fe ₂ O ₃	5,20
Na ₂ O	1,77
CaO	1,02
MgO	0,96

Compuesto de amonio cuaternario

El compuesto de amonio cuaternario consiste en una mezcla de cloruros de alquil-dimetil-bencil-amonio de fórmula general:

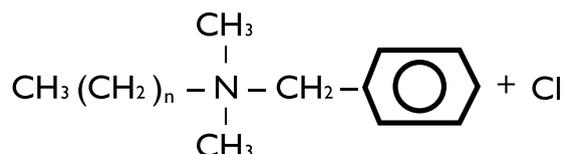


Gráfico 1: Fórmula general del compuesto empleado para la modificación de la organoarcilla

El largo radical alquílico comprende los miembros pares de 12 hasta 18 átomos de carbono.

La modificación del espacio intercapas de las organoarcillas consiste en el intercambio catiónico con iones de compuestos de amonio cuaternarios que contienen alquil, pridil, fenil y bencil.

Los cationes cuaternarios de amonio son iones poliatómicos, cargados positivamente, de la estructura NR^4+ , y se encuentran constantemente cargados, independientemente del pH.

Ácido láctico

El ácido láctico, también conocido por su nomenclatura técnica como ácido 2-hidroxi-propanoico o ácido α -hidroxi-propanoico, es un compuesto químico que interviene en diversos procesos bioquímicos. Es un ácido carboxílico, con un grupo hidroxilo en el carbono adyacente al grupo carboxilo, lo que lo convierte en un ácido α -hidroxílico (AHA) de fórmula $\text{H}_3\text{C}-\text{CH}(\text{OH})-\text{COOH}$ ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$).

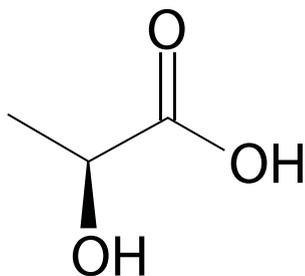


Gráfico 2: Fórmula del ácido láctico

El ácido láctico es quiral, por lo que se pueden encontrar dos enantiómeros (isómeros ópticos). Uno es el dextrógiro ácido D-(-)-láctico o d-ácido láctico (en este caso, el ácido (R)-láctico)]; el otro es el levógiro ácido L-(+)-láctico o l-ácido láctico (en este caso, ácido (S)-láctico).

Para esta investigación es utilizado el ácido L-(+)-láctico, que es el obtenido por medio de la fermentación del almidón.

La fermentación del ácido láctico es llevada a cabo por bacterias naturales, cuya actividad se desarrolla en ausencia de oxígeno -anaerobiosis-, y consiste en la transformación de los azúcares presentes en la fécula de mandioca en ácido láctico.

La fécula¹ de la mandioca es empleada como sustrato en el proceso de fermentación para la obtención del ácido láctico,



Gráfico 3: Representación del ácido láctico

1. El almidón es un polisacárido de reserva alimenticia predominante en las plantas, constituido por amilosa y amilopectina.

teniendo en cuenta la amplia disponibilidad del mismo en el escenario regional.

La cepa utilizada para la fermentación del ácido láctico es proveniente del estado natural de la fécula de la mandioca y del agua.

La biotransformación consiste en la utilización de un birreactor horizontal, que procesa el almidón de mandioca, estando en el medio presente $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ como fuente de nitrógeno y CaCO_3 como regulador de pH para ajustar el pH inicial a 6. Para la extracción del ácido de la materia sólida biotransformada se utiliza la técnica de centrifugación.

Las condiciones de fermentación son de 40°C durante 36 h. de forma discontinua, con lo que se produce de 4,72 a 10,05 g l⁻¹, y cuyo método descrito específicamente se encuentra en el trabajo "*Direct fermentative production of lactic acid on cassava and other starch substrates*", de W. Xiaodong.

Ácido poliláctico

El ácido láctico o PLA es un polímero, biodegradable, termoplástico, y poliéster alifático procedente de la policondensación del ácido láctico en presencia de un catalizador. El PLA tiene una cristalinidad del orden del 37%, una temperatura de transición vítrea entre $60\text{-}65^\circ\text{C}$, una temperatura de fusión entre $173\text{-}178^\circ\text{C}$, y un módulo de elasticidad entre 2.7-16 GPa.

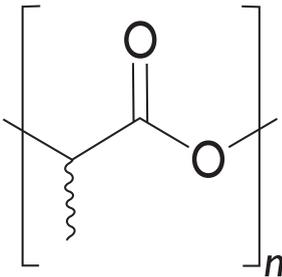


Gráfico 4: Unidad estructural del ácido poliláctico

El ácido poliláctico se puede procesar como la mayoría de los termoplásticos.

El PLA se utiliza actualmente en una serie de aplicaciones biomédicas, así como se lo utiliza como un bioplástico bastante útil para el envasado de alimentos, la realización de vajillas desechables, bolsas de abono, en forma de fibras y productos textiles. Además posee bastante potencial de uso en tapicería, toldos y productos desechables.

El PLAS es una alternativa sostenible a los productos derivados de petroquímicos, ya que resulta de la fermentación de productos agrícolas, y se degrada sencillamente en agua y óxido de carbono.

METODOLOGÍA Y MARCO EXPERIMENTAL

Obtención de la arcilla "Bentonita"

La bentonita sódica fue obtenida en grado comercial, considerando el procesamiento previo de purificación del mineral. El producto es procedente de Argentina, y posee una superficie específica² de 250 m²/g, y una capaci-

dad de intercambio catiónico de 180 meq/100 g, lo que evidencia sus condiciones para ser empleada en el desarrollo de las nanoarcillas modificadas.

Una vez adquirida la bentonita, es almacenada en un receptáculo hermético para evitar el contacto con la humedad, conociendo su alta capacidad de absorción de agua.

Modificación de las organoarcillas

El mecanismo para la modificación de las organoarcillas se encuentra basado en dos investigaciones científicas de Lee J. Y. y Nigam Vineeta, consistente en el intercambio catiónico. La fórmula ha sido adaptada a las necesidades físico-químicas de la bentonita, y ha sido optimizada a los efectos de disminuir los costos de producción, haciendo más accesible su futura aplicación industrial. El procedimiento expresado es el resultado de la optimización realizada en el contexto de la presente investigación.

El procedimiento consiste en la preparación de 500 ml de una solución de 80% agua y 20% alcohol etílico en un vaso de precipitados, lo cual es posteriormente calentado con un mechero Bunsen, hasta alcanzar una temperatura de 60° C, lo que es monitoreado con un termómetro.

Una vez que la solución se encuentra preparada, es agregado 20 g de bentonita sódica y procesada en un agitador magnético a 250 rpm por 1 hora y media.

Paralelamente es preparada en un vaso de precipitados una solución de 200 ml de agua desmineralizada y 15 gramos del Cloruro de Benzalconio, agitados manualmente hasta lograr una adecuada homogenización.

Una vez que termina el procesamiento de la bentonita, el resultante es mezclado con la solución de cloruro de Benzalconio manualmente, y es luego introducido a un agitador magnético por 8 horas.

Para eliminar el agua sobrenadante y lavar las muestras, se prepara una solución de 100 ml de agua desmineralizada y 100 ml de alcohol etílico que es agregado a la solución de bentonita, que luego es centrifugada a 2000 rpm durante 10 minutos. La solución húmeda resultante es secada en un horno a 180° C durante 5 minutos, buscando solamente la evaporación de la materia líquida, evitando el contacto de las organoarcillas con temperaturas muy elevadas por mucho tiempo. Las nanoarcillas modificadas son después dejadas en reposo por 48 horas en un recipiente herméticamente cerrado.

2. La superficie específica es el área de la superficie externa sumado el área de la superficie interna de las partículas que constituyen la arcilla.

Después las nanoarcillas modificadas son introducidas en un mortero para triturarlas hasta lograr unos finos polvos. Dicho procedimiento es realizado para facilitar la disolución de las organoarcillas en las soluciones de ácido poliláctico, ya que su disposición final en la matriz polimérica no está subordinada al tamaño de sus partículas resultante del pulverizado, sino que a su capacidad de integrarse al polímero, lo que depende de la estructura natural de las organoarcillas y la modificación con el cloruro de Benzalconio.

Producción biotecnológica del ácido poliláctico

Mediante policondensación con un catalizador de cinc metálico es obtenido el ácido poliláctico, empleando el ácido láctico.

Se emplean 500 ml de ácido L-láctico, producido a partir del almidón de la mandioca, dentro de un Erlenmeyer de 1 l.

Como catalizador de la policondensación se utiliza 15 gramos de zinc metálico puro, que es un compuesto organometálico.

Primeramente se trata de eliminar el agua de la solución mediante la condensación directa del ácido láctico que es calentado gradualmente (15° C por minuto) hasta llegar a los 180°C, disponiendo de un mechero Bunsen para el efecto.

El vapor generado es condensado para posteriores verificaciones, así como para evitar la excesiva emisión de vapores.

Al llegar a la temperatura de 180°C, es agregado el zinc metálico, el cual es mezclado hasta lograr su total dispersión, y después se agregan los 20 g de la nanoarcilla modificada disuelta en solvente de alcohol etílico, para lo que se utiliza el agitador magnético por 2 minutos. Una vez agregado el catalizador, la solución es nuevamente expuesta al calor del mechero de bunsen durante 20 minutos a la temperatura citada, y posteriormente es reducida a 60 °C por un total de 8 horas.

Al culminar la policondensación, la solución es retirada del fuego, y es almacenada en un módulo de metal para su enfriamiento natural por 10 horas, a temperatura ambiente, y presión atmosférica normal.

El líquido resultante de la condensación es guardado en un recipiente hermético.

Desarrollo del nanocompuesto – Mezcla de polímero con nanoarcilla

Se utilizan 15 g de nanoarcilla modificada y 200 g del polímero ácido poliláctico.

La nanoarcilla es disuelta con disolvente orgánico, utilizando en éste caso 5 ml de alcohol etílico, que es mezclado manualmente con la nanoarcilla hasta alcanzar una sustancia de aspecto gelatinoso, que es verificado por microscopio para verificar que no se encuentren granos de tamaños considerables.

Se funde el ácido poliláctico, introduciendo la cantidad de 200 g en un Erlenmeyer de 1 l, que es luego sometido al calor del mechero Bunsen, a una temperatura de 120° C constantemente, hasta lograr la fundición homogénea del mismo.

Posteriormente es agregada, de forma paulatina, la nanoarcilla disuelta a la solución de ácido poliláctico fundido, mezclando manualmente por 5 minutos. Después, el resultante, es procesado con una extrusora de doble husillo.

El polímero nanoreforzado es materializado con la extrusora en forma de cubos pequeños, que son mantenidos sobre una superficie metálica por 5 horas para permitir la estabilidad del polímero.

El tiempo de residencia ha sido calculado entre 3 y 5 minutos, siendo el perfil de temperatura 120° C, permitiendo aumentar a los efectos de observar mayores resultados, pudiendo llegar hasta los 195° C, y la velocidad de giro de los husillos de 80 rpm.

El material extruido es luego inyectado utilizando una inyectora con capacidad de cierre de 90 T, en un molde especial. Determinadas probetas son tratadas térmicamente para aumentar los resultados.

Según Kawai, en la investigación "*Crystallization and melting behavior of poly (L-lactic acid)*", la velocidad de crecimiento de las esferulitas en el PLA demuestra dos máximos en aproximadamente 100°C y 125°C, por lo que para obtener un grado mayor de cristalinidad, el proceso es llevado a cabo a 120° C.

Análisis de Fluorescencia de rayos X dispersiva en energía (FRXDE)

La espectroscopia de FRXDE es ampliamente usada en análisis cualitativos y cuantitativos de muestras ambientales, geológicas, biológicas, industriales, etc.

La FRXDE es empleada como un análisis químico elemental, tanto cualitativo como cuantitativo, de los elementos comprendidos entre el Potasio al Itrio (Líneas K) y del bario al uranio (Líneas L).

Se prepara una muestra de 10 g de nanoarcilla, que es enviada a la Universidad Nacional, a la Comisión Nacional de Energía Atómica, para la realización del experimento.

Resistencia mecánica

Se mide la resistencia mecánica del Ácido poliláctico Nanocompuesto con nanoarcilla, entendiendo a “resistencia” como el elemento que define la capacidad para resistir esfuerzos y fuerzas aplicadas al PLA sin que llegue a romperse.

Se preparan probetas siguiendo la norma ISO de número 527/1997, y se realiza la experimentación utilizando una máquina de ensayos universal, la cual posee una célula de carga de 25kN.

Las condiciones del ensayo es la velocidad de movimiento de mordazas de 10mm/min, presión atmosférica normal y temperatura ambiente.

ANÁLISIS DE RESULTADOS

Obtención de la arcilla “Bentonita”.

La arcilla conseguida presenta los caracteres específicos que son precisados para el trabajo, ya que presenta unos polvos bastantes reducidos, según se ha observado por medio del microscopio.

El principal filosilicato presente en la nanoarcilla es la montmorillonita, que es un hidroxisilicato de magnesio y aluminio, y de fórmula química $(Al_{1,67}Mg_{0,33})[(OH)_2Si_4O_{10}]Na_{0,33}(H_2O)_n$.

Modificación de las organoarcillas

La modificación de las organoarcillas con la sal de amonio cuaternario produce una nanoarcilla.

Las organoarcillas son nanoarcillas naturales por su condición estructural, aunque la modificación es un proceso importante para mejorar los resultados en la interacción nanoarcilla-ácido poliláctico.

Los silicatos intercalados o estratificados, son los nanoelementos inorgánicos empleados para la preparación de los nanocompuestos de arcilla, ya que su estructura cristalina consiste en dos capas bidimensionales, en la cual una lámina octaédrica central se encuentra unida por los extremos a dos tetraedro externos de sílice, de forma que los iones oxígeno también pertenecen a las láminas del tetraedro. El espesor de la capa es de aproximadamente 1nm, y las dimensiones laterales de dichas capas varían desde 30nm a varias micras.

Las capas se organizan formando apilamientos con un espaciado regular entre ellas conocido como intercapas o galerías como es representado en el siguiente gráfico:

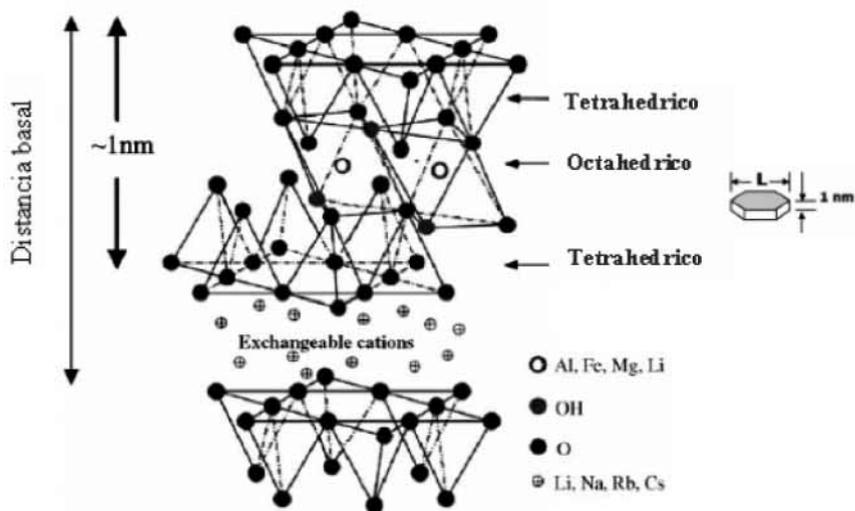


Gráfico 5: Estructura de los filosilicatos

El amonio cuaternario es usado como catalizador de transferencia de fase para aumentar la solubilidad de los compuestos en solventes orgánicos, facilitando el uso de las nanoarcillas en matrices poliméricas.

El amonio cuaternario empleado para la modificación de las organoarcillas naturales es el cloruro de Benzalconio.

Es sabido que los cationes de metal alcalino presentes en la estructura de la bentonita se sustituyen fácilmente por cationes orgánicos de amonio, funcionalizando la superficie del aluminosilicato.

El intercambio de cationes inorgánicos por iones de amonio orgánicos permite al filosilicato hidrofílico que sea mayormente organofílico, y consecuentemente, más compatible con el ácido poliláctico, que es un polímero orgánico. Aunque también tiene un efecto en el aumento de la separación entre láminas, facilitando de ese modo el ingreso del polímero.

Para el desarrollo de las nanoarcillas es sumamente importante la capacidad de intercambio catiónico (CIC), que es una propiedad que hace referencia a la capacidad de cambiar los iones fijados en la superficie exterior de la arcilla o en los espacios interlaminares. La CIC se define como la suma de todos los cationes de cambio que un mineral puede absorber, y es equivalente a la medida del total de cargas negativas del mineral.

La bentonita es una nanoarcilla natural, teniendo en cuenta su composición estructural, aunque sus características hidrofílicas no permiten una inte-

racción adecuada con el polímero, además de que las láminas de arcilla se atraen por las fuerzas electrostáticas de los cationes, por lo que para obtener una dispersión de silicatos en el ácido láctico, es sumamente necesaria la utilización de agentes de acoplamiento, que son fundamentalmente moléculas establecidas por una función hidrofílica y otra organofílica, lo cual es logrado con una reacción de intercambio con surfactantes catiónicos, empleando en esta investigación el cloruro de Benzalconio.

Producción biotecnológica del ácido poliláctico

El ácido láctico, al ser pilicondensado y catalizado con el zinc metálico de alta pureza, produce el ácido poliláctico.

En el gráfico 6 puede observarse el proceso de transformación del ácido láctico a ácido poliláctico, que ya es un polímero.

Desarrollo del nanocompuesto – Mezcla de polímero con nanoarcilla

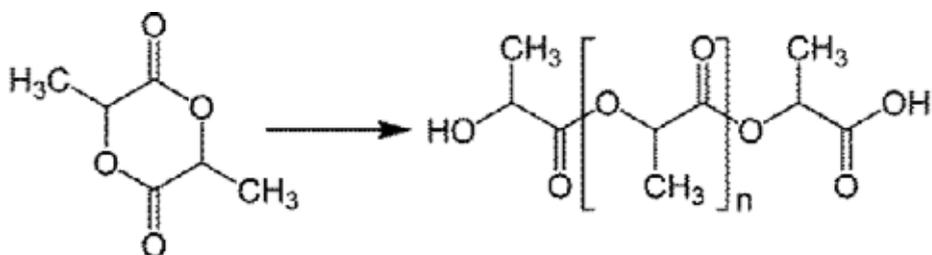


Gráfico 6: De dímero cíclico del ácido láctico a ácido poliláctico

La intercalación del polímero y la nanoarcillas por mezclado físico es realizada con la matriz polimérica en estado fundido, con lo que se logra que las superficies de las láminas sean compatibles con el ácido poliláctico, ya que el polímero puede ingresar dentro del espacio entre las láminas y constituir un nanocompuesto exfoliado o intercalado.

Lo interesante de este método es que demuestra la facilidad de utilizar la nanoarcilla en distintas formulaciones de polímeros, ya que no es necesaria su adición en el proceso de constitución de los monómeros, sino que es accesible fundir el ácido poliláctico, y agregar después la nanoarcilla, que se encuentra disuelta con un disolvente de alcohol etílico.

La utilización del disolvente con la nanoarcilla modificada genera una sustancia gelatinosa, que es más sencilla de integrar al polímero.

La integración de la nanoarcilla con el polímero es ilustrada en el gráfico 7. Es posible obtener tres tipos de compuestos utilizando el ácido poliláctico

y la arcilla cuando se asocian. El resultante depende de la miscibilidad de los componentes, de tanto la arcilla, la matriz polimérica y el catión orgánico.

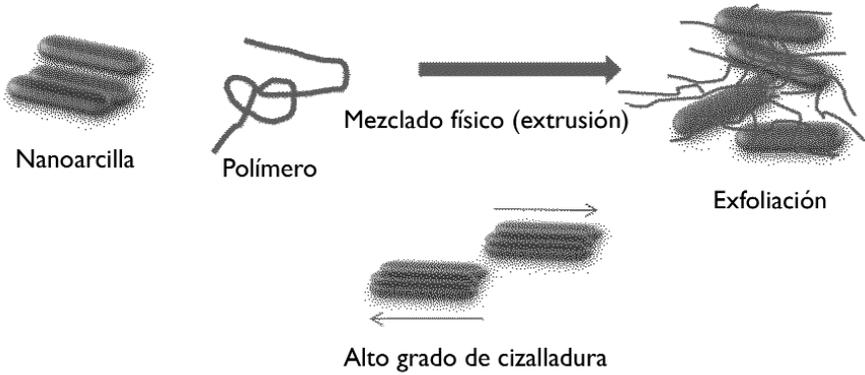
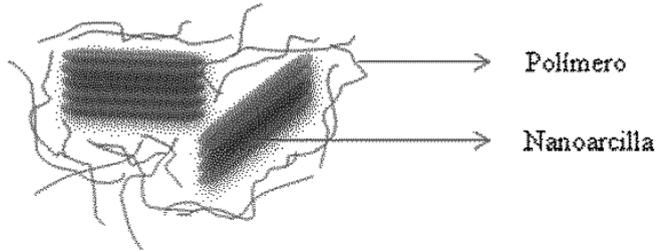


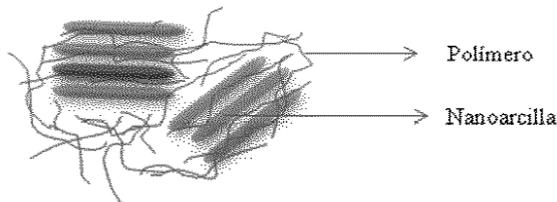
Gráfico 7: Proceso de intercalación

Si el polímero no se intercala entre las placas de la nanoarcilla, se obtiene un compuesto de dos fases, como lo ilustra la siguiente imagen:

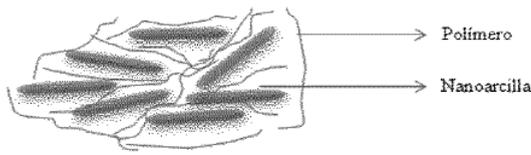


Fases separadas

Además existen otros dos tipos de nanocompuestos. Pocas cadenas del polímero son intercaladas entre las láminas de la arcilla lo que genera una morfología ordenada, alternando cadenas de ácido poliláctico y láminas inorgánicas, tal como se expresa en la subsecuente ilustración:



Intercalado



Exfoliado

Las láminas que son total y uniformemente dispersadas en la matriz polimérica, poseen una estructura exfoliada, como lo indica esta imagen:

La extrusión es un procedimiento bastante empleado para la formación de materiales plásticos, ya que asegura la plastificación del material, y el mezclado del polímero con la nanoarcilla.

La utilización de una extrusora de doble husillo permite elevar el nivel de cizalladura que mejora la intercalación del polímero entre las placas de arcilla.

Al culminar el proceso, el ácido poliláctico se presenta en forma de gránulos, que se enfrían naturalmente, y después se almacenan.

Análisis de Fluorescencia de rayos X dispersiva en energía (FRXDE)

El análisis de fluorescencia de rayos X dispersiva en energía demuestra la existencia de los elementos comunes de la montmorillonita, tales como Na, Ca, Al, Mg, Si, entre otros.

El análisis es de carácter cualitativo, por lo que se trata de una caracterización primaria, a nivel nuclear.

Resistencia mecánica

Los ensayos a nivel de tracción han verificado las propiedades mecánicas básicas del polímero nanocompuesto con relación a un polímero sin agregados.

Las probetas de ácido poliláctico con adición de organoarcillas evidenciaron que tienen una resistencia mayor al 25% (en promedio general) con respecto al ácido poliláctico sin nanoarcillas.

Se obtienen nanocompuestos de estructura mixta, que se enmarcan en las regulaciones internacionales, por lo que se verifica que las interacciones entre el polímero - ión modificador y superficie de arcilla-ión modificador son positivas, y están en el rango necesario para considerar a las nanoarcillas como opciones para las matrices poliméricas, otorgando mayor resistencia a la tracción.

Según la bibliografía, además las nanoarcillas aumentan la resistencia a la humedad de los materiales poliméricos, así como transfieren un determinado porcentaje de capacidad ignífuga, sin comprometer la termoplaticidad propia de los mismos.

APLICACIÓN INDUSTRIAL

Perspectivas de industrialización en el Mercosur

Los procesos involucrados en la realización de la organoarcilla son bastante simples, y han sido optimizados para su futura industrialización, por lo que se ha buscado con esta investigación la utilización de materias primas existentes en la región.

La bentonita se encuentra en bastantes países sudamericanos, entre los que resaltan Argentina, Chile y Brasil, con lo que se dibuja un buen horizonte de aplicación directa de los mecanismos expresados para la modificación de la organoarcilla.

El ácido láctico, que es un derivado de la fermentación de recursos como la fécula de la mandioca, posee distintas formas de polimerización, en esta investigación se ha empleado la policondensación considerando su accesibilidad, aunque a nivel industrial también se pueden aplicar otros métodos más productivos.

Es posible industrializar la realización del polímero biodegradable nanocompuesto, o solamente la modificación de la bentonita para su transformación en nanoarcilla para su empleo en otras matrices poliméricas.

Impacto social y ambiental

El polímero biodegradable nanocompuesto es un material que puede sustituir a otros derivados del petróleo, los cuales causan bastantes detrimentos al medio ambiente, y ante la necesidad de plantear acciones estratégicas en beneficio a frenar el cambio climático, representando la opción del ácido poliláctico nanocompuesto con 7,5% de nanoarcilla una contribución relevante, pues está constituido por materia prima natural, abundante en países del Mercosur, y regenerables en el caso de la fécula de la mandioca.

La aplicación directa del polímero nanocompuesto es en la realización de bolsas biodegradables.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La bentonita, cuyas partículas son inferiores a 2 nm, se encuentra compuesta principalmente por montmorillonita, y es una organoarcilla natural, que al ser modificada con la presencia de un surfactante, genera una nanoarcilla adecuada para su incorporación a matrices poliméricas biodegradables.

En la investigación se ha comprobado que el proceso de modificación consiste en procesar la bentonita sódica en una solución de agua desmineralizada y alcohol etílico, la cual es calentada hasta alcanzar una temperatura de

60° C, y es posteriormente sometida a un agitador magnético a 250 rpm por 1 hora y media. Después es agregado un compuesto de amonio cuaternario, que es previamente desleído en agua mineral. La solución es sometida a un agitador magnético por 8 horas. El resultante es lavado con agua desmineralizada y alcohol etílico, que son agregados a la solución de bentonita. Luego la solución es centrifugada a 2000 rpm durante 10 minutos para la separación de las nanoarcillas de los disolventes. La solución húmeda resultante es secada en un horno a 180°C durante 5 minutos, después las nanoarcillas son almacenadas herméticamente.

El amonio cuaternario es usado como catalizador de transferencia de fase para aumentar la solubilidad de los compuestos en solventes orgánicos, facilitando el uso de las nanoarcillas en matrices poliméricas. El intercambio de cationes inorgánicos por iones de amonio orgánicos permite al filosilicato hidrofílico que sea mayormente organofílico, y consecuentemente, más compatible con el ácido poliláctico, que es un polímero orgánico.

El ácido láctico, que es sintetizado por medio de la fermentación del almidón llevado a cabo por bacterias naturales, al ser pilicondensado y catalizado con el zinc metálico de alta pureza, produce el ácido poliláctico, que es un polímero biodegradable, termoplástico, y poliéster alifático natural.

La intercalación del polímero y la nanoarcillas por mezclado físico es realizada con la matriz polimérica en estado fundido, con lo que se logra que las superficies de las láminas sean compatibles con el ácido poliláctico, ya que el polímero puede ingresar dentro del espacio entre las láminas y constituir un nanocompuesto exfoliado o intercalado, con la adición de 7,5 % de nanoarcillas con relación a la cantidad de polímero biodegradable.

En cuanto a la caracterización mecánica, las probetas de ácido poliláctico con adición de nanoarcillas evidenciaron que poseen una resistencia mayor al 25% (en promedio general) con respecto al ácido poliláctico sin nanoarcillas. El ácido poliláctico puede ser empleado como materia prima para la fabricación de bolsas y envases de mucha demanda a nivel social, preservando su biodegradabilidad, por lo que la optimización de sus capacidades es trascendental para aumentar su aplicación como sustituyente de los derivados del petróleo.

La nanoarcilla presenta un campo de aplicación muy extenso, y por su condición de producto natural y abundante en el Mercosur, es una iniciativa conveniente para el desarrollo de nanocompuestos que optimicen las características de resistencia, absorción de humedad y capacidad ignífuga de los polímeros biodegradables, contribuyendo a la vez con el medio ambiente, ya que viabiliza el mejoramiento de las tecnologías verdes.

BIBLIOGRAFÍA

B. Lepoittevin, M. Devalckenaere, N. Pantoustier, M. Alexandre, D. Kubies, C. Calberg, R. Jérôme and P. Dubois: Poly(-caprolactone)/clay nanocomposites prepared by melt intercalation: mechanical, thermal and rheological properties; *Polymer*, 2002.

D. Burgentzlé, J. Duchet, J.F. Gérard, A. Jupin, and B. Fillon: Solvent-based nanocomposite coatings I. Dispersion of organophilic montmorillonite in organic solvents; *Colloid and Interface Science*, 2004.

Kiersnowski and J. Piglowski: Polymer-layered silicate nanocomposites based on poly(-caprolactone); *European Polymer Journal*, 2004.

J.I. Weon and H.J. Sue: Effects of clay orientation and aspect ratio on mechanical behavior of nylon-6 nanocomposite; *Polymer*, 2005.

L. Ludeña: Obtención de compuestos de matriz polimérica biodegradable y arcilla comercial; *Asociación Argentina de Materiales*. 7 págs.

P Mapleston: “Environmentally degrading: Bioplastics in Europe (part 2)”. *Plastics Engineering Europe Spring*, 2006.

M.Ll. MasPOCH, L. Nascimento, J. Gamez-Perez, O. Santana. Comportamiento a fractura de nanocompuestos en base Poli (ácido) láctico. Centre Català del Plàstic (CCP), Universitat Politècnica de Catalunya. España. 2009.

Perugachi B. Rodrigo*; Paredes V. Cecilia*; Cornejo M. Mauricio*. Las nanoarcillas y sus potenciales aplicaciones en el Ecuador. Escuela Superior Politécnica del Litoral. Guayaquil, Ecuador. Octubre, 2006.

Apolo L. Andrés, Paredes V. Cecilia, Cornejo M. Mauricio, Rigail C. Andrés. Escuela Superior Politécnica del Litoral1. Optimización de una metodología para la obtención de nanoarcillas a partir de arcillas pertenecientes a la Península de Santa Elena (PSE).Guayaquil, Ecuador.

Hélele Boitel. Desarrollo de nanocompuestos basados en mezclas de EVOH con arcilla. Barcelona, España.

V. Tunjano, F. Salcedo, I.C. Jiménez, J.A Medina2, O.A. Alvarez E .Prieto. Estudio de las propiedades térmicas y mecánicas del almidón termoplástico reforzado con nanoarcilla. Venezuela. Suplemento de la Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales. 2009;

Andrés Maximiliano Apolo Loaiza. Optimización de una metodología para modificar a nivel nanomolecular las propiedades de las arcillas tipo montmorillonita. Guayaquil, Ecuador. 2009.

Serna Cock, Liliana. Rodríguez de Stouvenel, Aida. Producción económica de ácido láctico utilizando residuos de cosecha y jugos de caña de azúcar.

Estupiñán, Hugo Armando. Parada, Diana Carolina. Laver, Dionisio. Yesid, Darío. Obtención de ácido poli L-láctico mediante policondensación con catalizador de cinc metálico. Pereira, Colombia. 2007

Gil-Horán, Ricardo Heliodoro; Domínguez-Espinosa, Rosa María; Pachó-Carrillo, Juan Daniel. Bioproducción de ácido láctico a partir de residuos de cáscara de naranja: Procesos de separación y purificación. México. 2008.

Categoria Estudante Universitário

Menção Honrosa

PONTOS QUÂNTICOS DE CDTE/CDS: UMA NOVA FERRAMENTA BIOFOTÔNICA NA INVESTIGAÇÃO DE ANTÍGENOS ERITROCITÁRIOS

Autor: Paulo Euzébio Cabral Filho, 22 anos, aluno do 6º semestre do curso de biomedicina da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

Professora-Orientadora: Adriana Fontes, 35 anos

País: Brasil

PONTOS QUÂNTICOS DE CDTE/CDS: UMA NOVA FERRAMENTA BIOFOTÔNICA NA INVESTIGAÇÃO DE ANTÍGENOS ERITROCITÁRIOS

RESUMO

Pontos quânticos, ou *quantum dots* (QDs), são nanocristais de semicondutores que constituem uma nova classe de marcadores fluorescentes. Comparados aos corantes orgânicos, os QDs apresentam uma excepcional resistência à fotodegradação e alta intensidade de fluorescência. Os QDs podem ser aplicados em técnicas e metodologias inovadoras, que complementam as análises moleculares para contribuir em uma maior eficiência nos exames imunohematológicos. Nos eritrócitos há cerca de 207 antígenos associados a 30 grupos sanguíneos. A correta fenotipagem destes antígenos é importante para transfusão sanguínea e transplante de órgãos. Além disso, os QDs ainda podem ajudar a mapear e investigar a distribuição espacial dos antígenos nas células sanguíneas. Neste trabalho, objetivou-se utilizar QDs de CdTe/CdS funcionalizados com (ácido mercaptopropiônico) AMP, bioconjugados ao anticorpo anti-A, para imunomarcção de antígenos eritrocitários A⁺. Após ajuste do pH da suspensão, os QDs foram bioconjugados ao anti-A à temperatura ambiente e incubados com os eritrócitos A⁺ e O⁺. As análises foram feitas por microscopia de fluorescência e citometria de fluxo, e a caracterização óptica dos QDs foi obtida, por espectros de absorção e emissão, já a estrutural, por Difração de Raio X e Microscopia Eletrônica de Transmissão. A bioconjugação foi confirmada por fluoroimunoensaio em placas ELISA. Os espectros de emissão e de absorção apresentaram o mesmo perfil antes e após a bioconjugação e os anticorpos continuaram funcionais. A citometria identificou 35% dos eritrócitos A⁺ marcados, enquanto os eritrócitos O⁺ (controle) não apresentaram marcação, confirmando os resultados obtidos na microscopia. As caracterizações estruturais confirmaram o

tamanho nanométrico e a estrutura cristalina desses nanocristais. Os QDs podem ser bioconjugados com outros anticorpos e podem tornar-se uma ferramenta precisa, de baixo custo para utilização como marcador fluorescente em imunodiagnósticos nos bancos de sangue auxiliando e agilizando as transfusões sanguíneas.

I. INTRODUÇÃO

Desde o aparecimento do microscópio, por volta de 1500, grandes avanços na área biomédica estão associados com a capacidade de se obter e melhorar imagens. Dentre as microscopias mais utilizadas atualmente está a microscopia por fluorescência, que tem como principal vantagem a sua alta intensidade permitindo a aquisição de imagens praticamente em tempo real. Sua especificidade (bio)química advém da afinidade existente entre marcadores fluorescentes e as macromoléculas no objeto de estudo. Na maioria dos casos, esses marcadores fluorescentes são corantes orgânicos citotóxicos que sofrem rápida fotodegradação. Além da microscopia, existem outras técnicas importantes na área biomédica, as quais também utilizam marcadores fluorescentes, entre elas estão a citometria de fluxo e os ensaios de imunofluorescência.

Novos métodos de análise envolvendo nanocristais fluorescentes de semicondutores (pontos quânticos ou *quantum dots* -QDs) como marcadores vêm cada vez mais sendo utilizados em Ciências da Vida. Isso ocorre devido ao fato dos QDs apresentarem consideráveis vantagens em relação aos marcadores convencionais (principalmente os corantes orgânicos) de marcação celular e diagnóstico, tais como: (1) um único laser pode excitar a luminescência das nanopartículas, que podem emitir em diferentes regiões do espectro variando-se apenas o tamanho da partícula (moléculas orgânicas exigem mais de uma fonte de luz de excitação) – (2) baixa citotoxicidade – (3) o efeito de fotodegradação da luminescência é cerca de 100 vezes menor nos QDs do que nos corantes orgânicos (isso permite que amostras sejam expostas à luz, as imagens sejam obtidas com maior intensidade de luminescência e que estudos de processos em função do tempo possam ser realizados) – (4) o material biológico a ser analisado não necessita fixação, podendo ser marcado em cultura, por exemplo, e (5) os QDs são eletrodensos, permitindo localização sub-celular das nanopartículas por microscopia eletrônica de transmissão (SUKHANOVA, 2008; MEDINTZ, 2005, MICHALET, 2005).

Os QDs são nanopartículas de escala nanométrica tendo diâmetros na ordem de 1 a 10 nm (nanômetros) ($1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$). Estes são constituídos de poucas centenas a poucos milhares de átomos, exibindo propriedades ópticas que são marcadamente diferentes quando comparadas as dos mesmos cristais em escala macroscópica “*bulk*” (SANTOS, 2008; MICHALET, 2008). Os QDs podem ser feitos de vários tipos de materiais semicondutores e são referidos como sendo nanocristais dos tipos: II -VI, III -V ou IV -VI, baseado em combinação de elementos pertencentes aos grupos da tabela periódica (SUKHANOVA, 2008). Por exemplo, nanocristais de CdTe (Telureto de Cádmiio), onde o Cádmiio é pertencente ao grupo II e o Telúrio ao grupo VI da tabela periódica dos elementos químicos.

Quando recebem energia externa, por meio de fótons de radiação eletromagnética, por exemplo, os elétrons da banda de valência (BV), a qual apresenta menor energia, passam para a banda de condução (BC), de maior energia, gerando um par elétron-buraco, também chamado de éxciton, assim como mostra a Figura 1.

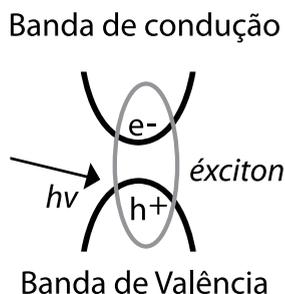


Figura 1 – Esquema de formação de um éxciton, h^+ representa o buraco gerado na banda de valência, pela excitação do elétron e^- e $h\nu$ a energia de um fóton excitando a amostra, onde; $E = h\nu$. (Fonte: CHAVES, 2006).

A recombinação dos elétrons excitados na BC com os buracos na BV dá origem a emissão característica destes materiais tanto em regime macroscópico quanto nanoestruturados. Porém, neste último regime de tamanho, os elétrons e buracos sofrem um forte confinamento quântico, modificando as propriedades ópticas desses materiais.

Quando a partícula está sob efeito de confinamento quântico, em três dimensões, é chamada de *quantum dot* e controlando-se o tamanho desta, pode-se conseguir a sintonização do comprimento de onda de emissão. Isto ocorre devido ao fato de que as diferenças entre os estados energéticos da BV e da BC (Energia do *band gap* ou E_g) variam de acordo com o tamanho da nanopartícula para um mesmo material. Assim, quanto menor a partícula de um dado semicondutor, maior a diferença de energia entre os estados da BV e BC, ou seja, maior a E_g (Figura 2). Desta forma, partículas menores tendem a emitir em regiões próximas ao azul, enquanto as maiores devem apresentar luminescência em regiões mais próximas ao vermelho (CHAVES, 2006).

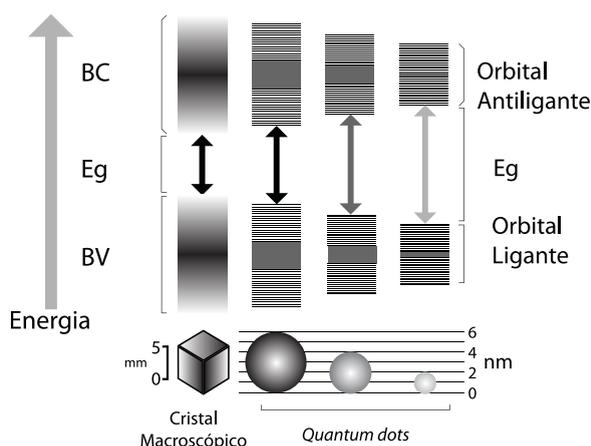


Figura 2 – Redução do tamanho de partículas semicondutoras dentro do regime de confinamento quântico comparando os *quantum dots* ao *bulk* (cristal macroscópico) do mesmo material (CHAVES, 2006).

Portanto, essas novas características, que materiais (já bem conhecidos na escala macroscópica) adquirem quando escalonados nanometricamente, é que os fazem ter grande potencial de aplicações em diferentes áreas da pesquisa desde a microeletrônica às Ciências da Vida. Isso se deve principalmente às novas propriedades ópticas que são alcançadas controlando o tamanho desses nanomateriais (SANTOS, 2008).

Foi publicado em 1982 por Henglein e colaboradores um dos primeiros trabalhos sobre síntese e caracterizações ópticas de QDs de Sulfeto de Cádmio (CdS) e co-colóides de Sulfeto de Cádmio e Zinco (CdS-ZnS) (HENGLEIN, 1982). No entanto, somente em 1998 é que surgem os primeiros trabalhos nos quais essa classe de material começa a ser utilizada para fins de marcação em sistemas biológicos (ALIVISATOS, 1998; CHAN, 1998). A partir desse momento, um grande número de aplicações vem surgindo, essas aplicações vão desde o diagnóstico óptico (FARIAS, 2006) até o estudo de difusão de receptores de membrana neuronal (DAHAN, 2003).

Para um bom desempenho como marcadores (e competição comercial com os corantes), os QDs têm sido sintetizados com o objetivo de otimizar a sua luminescência e sua estabilidade química em meio aquoso. A redução do volume da partícula resulta num aumento da relação área/volume, no entanto a elevada área superficial aumenta a contribuição dos defeitos de superfície dos nanocristais (átomos da superfície do cristal que têm ligações não compartilhadas) resultando no decréscimo da eficiência da emissão de luz pelas nanopartículas. Isso ocorre devido aos defeitos que levam a forma-

ção de níveis intermediários entre a banda de valência e a banda de condução, e ao invés do elétron ir diretamente da banda de condução para a banda de valência, ele vai perdendo energia aos poucos nesses níveis intermediários, levando a uma baixa eficiência de luminescência. Uma maneira de contornar esses problemas é crescer uma “casca” (camada de passivação) de umas poucas camadas de átomos de um material com um E_g maior que o “caroço” (núcleo da nanopartícula). Esse processo da formação da “casca” é denominado passivação e as partículas resultantes apresentam uma estrutura física do tipo *core/shell* (caroço/casca). Estes processos resultam numa nanoestrutura complexa composta de várias camadas, como pode ser visto na Figura 3, onde: o núcleo é o coração da nanopartícula (NP) e determina sua emissão, a camada de passivação determina a intensidade da emissão e a fotoestabilidade e, por fim, a camada orgânica, funcionalizante, mais externa, determina a sua estabilidade química e o grau de funcionalidade em relação à marcação do sistema biológico de interesse. Podem ser efetuadas também, funcionalizações mais complexas com substâncias presentes nos sistemas biológicos, chamadas de bioconjugações, como por exemplo, albumina e imunoglobulinas.

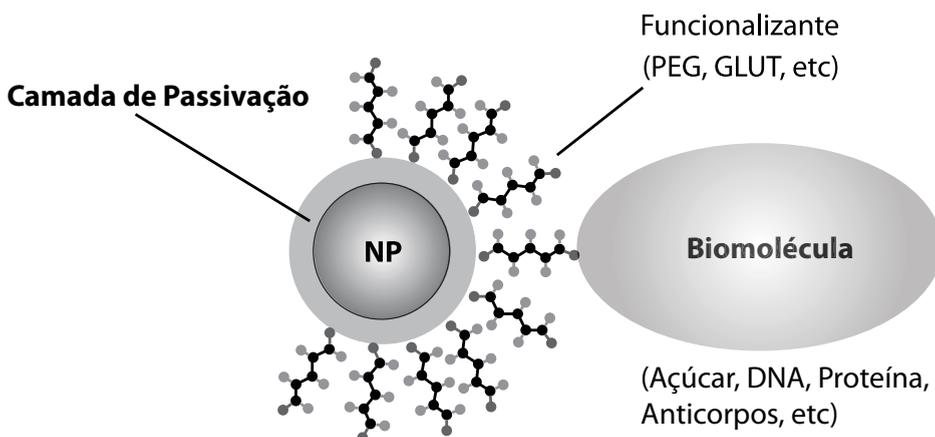


Figura 3 – Esquema de um nanocristal de semicondutor (QD) funcionalizado quimicamente para sua utilização como marcadores, onde NP é o núcleo do nanocristal.

Este fato possibilita, por exemplo, a marcação de antígenos específicos, como os do sistema ABO utilizando-se QDs bioconjugados a anticorpos ou imunoglobulinas (Figura 4). Outro tipo de QD, o CdS/Cd(OH)₂, por exemplo, já foi aplicado no estudo de antígenos eritrocitários (FARIAS, 2005; LIRA, 2010).

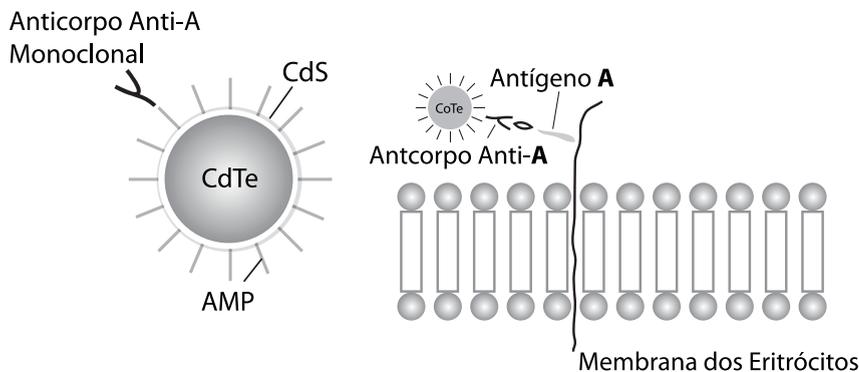


Figura 4 – Esquerda: esquema mostrando a bioconjugação específica de QDs de CdTe/CdS - AMP com anticorpo anti-A. Direita: QDs de CdTe/CdS com anticorpo anti-A interagindo com a membrana de eritrócitos que contém antígeno A. (Adaptado de FARIAS, 2005).

Nos eritrócitos há aproximadamente 308 antígenos, onde cerca de 207 deles estão associados a 30 grupos sanguíneos. A técnica mais usualmente empregada para a imunofenotipagem de alguns desses antígenos é normalmente baseada em reações de hemoaglutinação utilizando anticorpos. Esses antígenos são importantes, pois sua classificação é pré-requisito para transfusões sanguíneas, e até mesmo para transplantes de órgãos devido à distribuição destes antígenos em várias células do corpo. Transfusões de sangue, com antígenos diferentes aos dos pacientes, podem levar a sérias reações imunológicas chamadas de incidentes transfusionais, que são agravos ocorridos durante ou após a transfusão sanguínea, podendo levar até mesmo o paciente a óbito (LUDWIG; ZILLY, 2007).

Apesar dos anticorpos monoclonais anti-A e/ou anti-B reconhecerem e aglutinarem a maioria dos grupos do sistema ABO, a determinação daqueles que apresentam baixa expressão de antígenos é laboratorialmente trabalhosa, tendo que algumas vezes utilizar protocolos com várias etapas e também biologia molecular. Além disso, nos subgrupos ou variantes, há uma distinção na quantidade e possivelmente no padrão de distribuição de antígenos A, B ou O (H) nos eritrócitos, sendo que o grupo A é o que apresenta a maior variação de subgrupos (A₂⁺, A₂B⁺, ...) (BATISSOCO; NOVARETTI, 2003).

Por essas razões, as metodologias alternativas, que possam ser estendidas para vários subgrupos sanguíneos e que auxiliem as técnicas de biologia molecular, estarão sempre em foco para determinar expressões desses antígenos eritrocitários e minimizar os erros transfusionais. Técnicas baseadas em fluorescência (tais como a citometria e microscopia de fluorescência, normalmente disponíveis no banco de sangue) têm demonstrado serem ferramentas úteis para esta finalidade por possibilitar a análise de padrões e perfis de intensidade característicos de tipos celulares marcados com fluoróforos. Estas são então algumas das motivações para a realização deste trabalho que une a sensibilidade de detecção da fluorescência com as vantagens fotofísicas dos pontos quânticos bioconjugados ao anticorpo anti-A para investigação de antígenos eritrocitários.

2. OBJETIVOS

Dentro do contexto apresentado na Introdução, o presente trabalho tem os seguintes objetivos:

2.1. OBJETIVO GERAL

Imunomarcagem de antígenos eritrocitários do tipo A com pontos quânticos do tipo CdTe/CdS estabilizados e funcionalizados com ácido mercaptopropiônico (AMP) e bioconjugados aos anticorpos anti-A para imunofenotipagem do sistema ABO usando microscopia de fluorescência, além da quantificação por citometria de fluxo como metodologias de avaliação.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar e caracterizar opticamente e estruturalmente os nanocristais;
- Bioconjugar os nanocristais ao anticorpo anti-A;
- Confirmar a bioconjugação dos nanocristais ao anticorpo anti-A por fluoroimunoensaio;
- Caracterizar opticamente os bioconjugados;
- Imunomarcas os eritrócitos do tipo A;
- Usar a microscopia de fluorescência para avaliar qualitativamente a imunomarcagem do bioconjugado aos eritrócitos;
- Quantificar as células marcadas por citometria de fluxo.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. SÍNTESE, PASSIVAÇÃO E FUNCIONALIZAÇÃO DOS QDS DE CDTE/CDS

Os QDs foram sintetizados em meio aquoso utilizando como precursores para formação das nanopartículas o $\text{Cd}(\text{ClO}_4)_2$ (Perclorato de Cádmió) e o (Te^{-2}) Telúrio reduzido. A reação se procede na presença de AMP (ácido mercaptopropiônico), o qual é o agente estabilizante da reação. Para preparação das nanopartículas o $\text{Cd}(\text{ClO}_4)_2$ foi misturado com o AMP e posteriormente pH foi ajustado para 10,5. Esse sistema se manteve em atmosfera inerte de Argônio. Uma nova solução aquosa, contendo íons Te^{-2} reduzidos através do Boridreto de Sódio (NaBH_4) a partir do Telúrio metálico (Te^0) foram adicionados ficando, então, todo sistema sob refluxo a 95°C . Além de estabilizante, AMP também age como funcionalizante dessas nanoestruturas e a proporção molar utilizada para a síntese foi: $\text{Cd}:\text{Te}:\text{AMP} = 2:1:2,4$ (LIRA, 2010; MENEZES, 2005). As etapas desta síntese podem ser observadas na Figura 5, a qual resulta em nanopartículas de CdTe passivadas com Cds e funcionalizadas com o AMP.

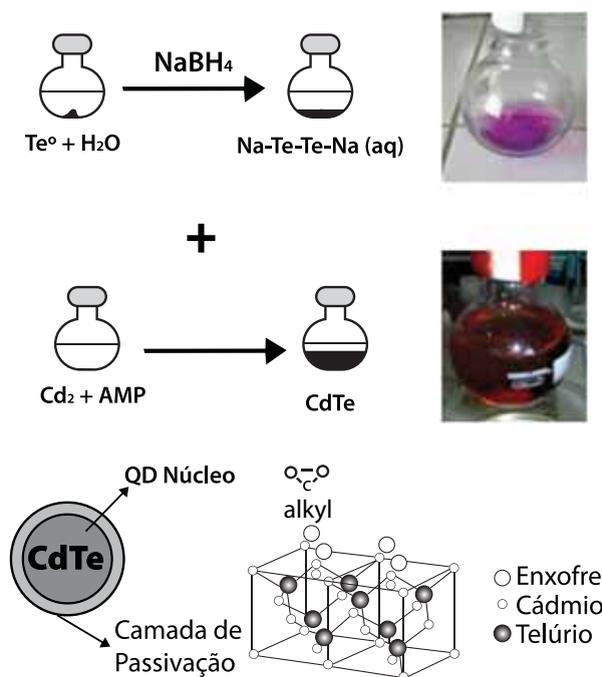


Figura 5 – Esquema da síntese do CdTe/CdS.

3.2. CARACTERIZAÇÃO ÓPTICA E ESTRUTURAL DOS QDs:

Após as etapas descritas acima, fez-se, então, a caracterização óptica dos QDs utilizando espectroscopia eletrônica de absorção e emissão das amostras descritas. Essa caracterização é importante para se avaliar a qualidade óptica dos QDs bem como para saber em que comprimento de onda está sua fluorescência para utilização na marcação dos sistemas biológicos de interesse, além da escolha dos equipamentos para análise, os quais devem conter os filtros correspondentes aos comprimentos de onda da emissão e/ou excitação. As medidas para caracterização óptica das nanopartículas foram realizadas utilizando o instrumento UV/VIS Spectrophotometer, *Perkin-Elmer* modelo *Lambda6*, e o espectrofotômetro *Ocean Optics* modelo *HR4000* utilizando a água ultra pura como referência.

A caracterização estrutural foi feita por meio da análise da difração do Raio X em pó (DRX). Os difratogramas foram realizados no difratômetro da *Siemens Nixford* D5000 digital (com biblioteca cristalográfica), com radiação incidente K (Cu) = 1,542 Å, voltagem de 40 KV e corrente de 40 mV. A preparação da amostra se procedeu com a precipitação dos nanocristais utilizando isopropanol com o auxílio da centrifugação, e posteriormente o precipitado foi colocado na parte fosca de uma lâmina de microscopia deixando-se secar lentamente.

3.3. BIOCONJUGAÇÃO DO CDTE/CDS -AMP COM O ANTI-A E MARCAÇÃO DE HEMÁCIAS COM OS NANOCRISTAIS BIOCONJUGADOS

Os QDs de CdTe/CdS funcionalizados com AMP, após o ajuste do pH para o fisiológico foram incubados com o anticorpo monoclonal anti-A (DiaMed – Minas Gerais – Brasil), por 2 horas à temperatura ambiente, para ocorrer a bioconjugação por processo de adsorção. As hemácias “A” e “O”, obtidas do banco de sangue, foram suspensas a 5% em solução fisiológica 0,9%. Para a marcação das hemácias incubou-se os QDs bioconjugados com as hemácias suspensas por 1 hora a 37° C. As hemácias “O” foram o controle negativo do experimento por não possuírem “antígenos A” em sua membrana, não havendo, portanto possibilidade de marcação via Anti-A. É importante ressaltar que os anticorpos utilizados nos experimentos são os mesmos utilizados nos bancos de sangue para identificação dos tipos sanguíneos por hemoaglutinação.

Este trabalho está vinculado ao projeto de pesquisa aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HEMOPE com Parecer final N°003/09 homologado e APROVADO em reunião do mesmo comitê no dia 04/03/2009, em

cumprimento aos dispositivos da resolução 196/96 e complementares do CNS -MS (Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde - Brasil).

As células foram analisadas no microscópio de fluorescência confocal (equipamento da Leica SPII-AOBS), já a citometria foi feita no equipamento FACSCalibur (Becton Dickinson, San Jose, CA, USA). O *software* utilizado para o tratamento dos dados citométricos foi o Cell Pro (Cell Quest™ Software, Becton Dickinson *immunocytometry system*, San Jose, CA, USA). As análises foram realizadas com aquisição de 10.000 eventos por segundo. Na Figura 6 (A) pode ser identificado um gráfico citométrico (citograma ou *dot plot*) caracterizando as populações celulares com ou sem fluorescência (quadrante negativo) e a Figura 6 (B) a separação dos filtros de emissão dependendo do comprimento de onda.

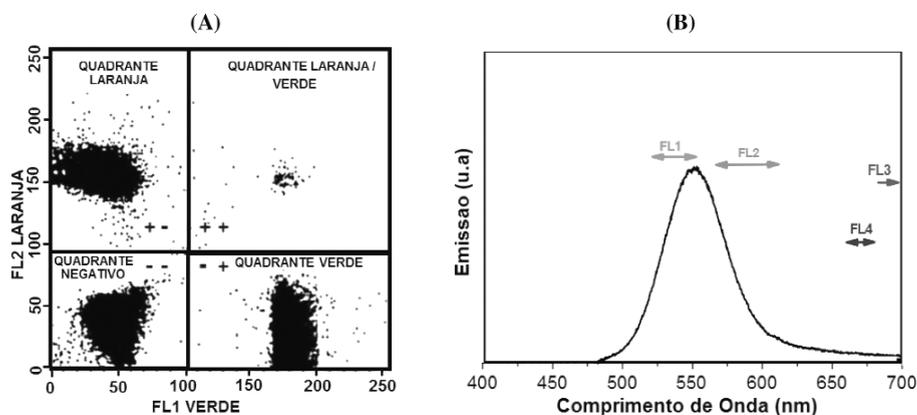


Figura 6 – Em (A) *dot plots* mostrando em seus quatro quadrantes a positividade e negatividade de marcação para dois antígenos celulares em filtros FL1 e FL2 (verde e laranja, respectivamente) (GIVAN, 2001, adaptada); e em (B) representação dos filtros de emissão do citômetro dependentes do comprimento de onda. (Adaptado de SALES-NETO, 2009).

Apesar do alto custo e da necessidade de técnicos especializados para realização da avaliação citofluorométrica, esta técnica tem sido aplicada em diversos projetos científicos relacionados a análises no Brasil (NAKAGE, 2005) e é padrão ouro para diversas reações imunofenotípicas como, por exemplo, para investigação de subtipos de leucemia mielóide aguda utilizando corantes orgânicos associados a anticorpos específicos. Em adição, a citometria permite um rastreamento rápido de um grande número de células, e por esta técnica, um número pequeno de células defeituosas pode ser detectado entre um grande número de células normais (GUILHERME, 2008).

3.4. FLUOROIMUNOENSAIO

Como a funcionalização e bioconjugação adequadas dos QDs com moléculas orgânicas ainda se constitui um desafio, a bioconjugação foi confirmada por experiências inovadoras realizadas por fluoroimunoensaio em placas da *Optiplat F HB*, pretas, de poliestireno, com 96 poços da *PerkinElmer*, as mesmas utilizadas para o ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*), onde as proteínas tem afinidade pelo poliestireno e ficam aderidas à placa após incubação por 2 horas a 37° C.

As amostras utilizadas foram separadas nos seguintes sistemas: (1) anticorpo anti-A diluído em salina na mesma proporção utilizada no bioconjugado sendo, portanto, o controle; (2) QD diluído em água ultra pura após o ajuste do pH (controle); e (3) como amostra teste utilizando o bioconjugado QD/anti-A. Os experimentos foram realizados em triplicata para confirmação dos resultados e após sucessivas lavagens a leitura foi feita no equipamento *Wallac 1420* com o software *VICTOR² HR4000*.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. CARACTERIZAÇÃO ÓPTICA DOS QDS

As suspensões foram analisadas por espectroscopia de absorção eletrônica na região do ultravioleta-visível. Através desta técnica podemos verificar a qualidade das suspensões coloidais com relação à sua homogeneidade e estimar o diâmetro dos nanocristais suspensos.

A Figura 7 mostra o padrão de absorção e emissão da suspensão de CdTe/CdS -AMP em meio aquoso. Tomando como base o primeiro máximo de absorção em 470 nm, essas nanopartículas apresentam aproximadamente um diâmetro de 2,3 nm (ROGHACH, 2007) e, além disso, podemos estimar o número de partículas para esses QDs. Através desta metodologia sintética foi estimada uma concentração de aproximadamente 10^{21} partículas/ml, dados obtidos a partir da fórmula da concentração (YU, 2003).

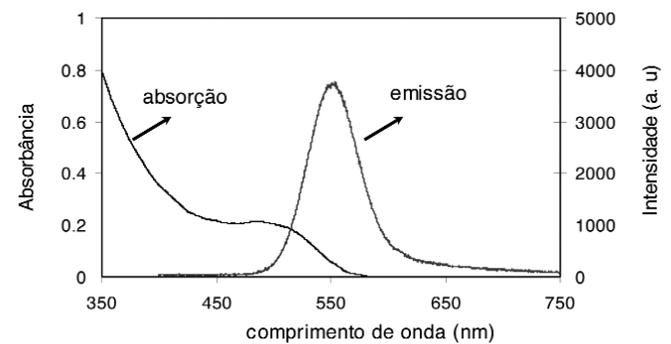


Figura 7 – Espectro de absorção e emissão de nanopartículas de CdTe/CdS – AMP.

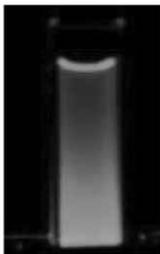


Figura 8 – Suspensão de QDs de CdTe/CdS. A amostra recém sintetizada excitada por luz ultravioleta em comprimento de onda de 365 nm.

Após a etapa de bioconjugação dos nanocristais de CdTe/CdS -AMP com o anticorpo monoclonal anti-A, observa-se que os espectros de emissão e absorção (Figura 9) mostram-se similares aos da amostra antes da bioconjugação (Figura 7), sugerindo que as propriedades ópticas e o tamanho dos QDs permaneceram inalterados.

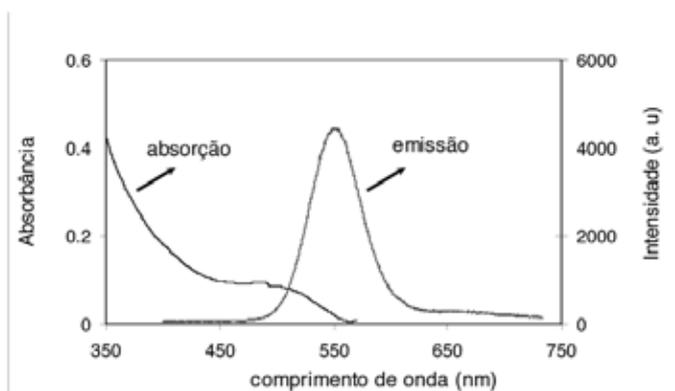


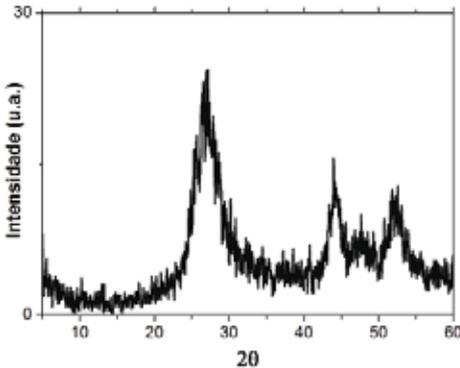
Figura 9 – Espectros dos QDs bioconjugados. Na imagem podemos observar o espectro de absorção e o espectro de emissão da suspensão de CdTe/CdS -AMP bioconjugados com o anticorpo monoclonal anti-A.

De uma forma geral, a posição do pico máximo (em comprimento de onda) no espectro de emissão está relacionada à estrutura eletrônica do semicondutor, ao tamanho das partículas e aos defeitos de superfície do nanocristal. Quando se tem uma nanopartícula livre de defeitos, quanto maior a partícula mais para o vermelho é sua emissão. Já os valores das intensidades dos picos e a largura do espectro de emissão revelam os defeitos de superfície e as impurezas. A obtenção dos espectros, tanto de absorção como de emissão, se torna importante, pois nos informa características como a homogeneidade das populações de nanopartículas envolvidas no processo de luminescência. É importante também, com relação ao equipamento de aquisição de imagem, saber qual é o melhor valor do comprimento de onda para

absorção e excitação da fluorescência, bem como onde está o valor do máximo de emissão.

4.2. CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DOS QDS POR DIFRAÇÃO DE RAIOS X

No difratograma de Raios-X de CdTe/CdS-AMP apresentado na Figura 10, observou-se um grande alargamento dos picos, indicando um regime de dimensão nanométrico. O pico de maior intensidade foi visualizado na região $2\theta = 27^\circ$, evidenciando a estrutura característica dos nanocristais de CdTe, Cúbica – Blenda de Zinco, através da análise de todos os picos mais



intensos exibidos no difratograma, em concordância com trabalhos já relatados e com a biblioteca cristalográfica JCPDS N° 75 – 2086.

Figura 10 – Difratograma de Raios-X de CdTe/CdS-AMP.

$$0,9 \cdot \lambda = d \cdot B \cdot \cos \theta$$

Para cálculo do tamanho médio das partículas sintetizadas utilizou-se a fórmula de Scherrer (CHAVES, 2006):

- Onde: d = diâmetro das nanopartículas em (nm) λ = comprimento de onda utilizado pelo equipamento ($\lambda = 0,1542$ nm) B = largura de linha a meia altura do pico de difração de maior intensidade (em radianos) θ = ângulo de incidência do feixe de raio-X no pico mais intenso do difratograma

Encontramos, portanto, um tamanho médio de aproximadamente 2,3 nm. A caracterização estrutural e óptica confirmaram o tamanho nanométrico para estes materiais.

4.3. CONFIRMAÇÃO DA BIOCONJUGAÇÃO POR FLUOROIMUNOENSAIO

Para a excitação dos poços foi usado o filtro F480 que permite a passagem de uma banda total de 31 nm em torno do máximo (465 a 496 nm), já para a leitura foi utilizado o filtro de emissão F535 que permite a passagem de uma banda total de 25 nm em torno do máximo (523 a 548 nm). Dada a largura de banda da emissão do CdTe, uma boa faixa do espectro é ainda detectada por esse filtro F535.

Os QDs de CdTe/CdS-AMP, por não possuírem afinidade com a placa de poliestireno, são removidos durante as lavagens não apresentando fluorescência considerável. Já a amostra controle, que só possui anticorpo anti-A, fica toda aderida a placa, porém não possui propriedades fluorescentes. Os valores que estão na tabela 1, referentes aos QDs sozinhos e ao anti-A sozinho, estão relacionados a ruídos de detecção do equipamento. Quando os QDs ficam realmente ligados ao anticorpo, eles não são removidos nas lavagens, visto que os anticorpos, por serem proteínas, ficarão ligados à placa, assim a leitura será positiva quando esses poços forem excitados pela luz, como pode ser visto na Tabela 1. Isso confirma que houve bioconjugação do QD com a biomolécula (anticorpo) de interesse. Os resultados são apresentados pela média da leitura de três poços. É importante ressaltar que os controles apresentaram valores muito próximos da leitura da fluorescência de poços vazios, confirmando que essas leituras estão relacionadas a ruídos do equipamento.

Sistemas	Sinal de Fluorescência (a. u.)
QDs/anti-A	2037
QDs	705
anti-A	837

Tabela 1 – Resultados do fluoroimunoensaio em placas de poliestireno. O sinal alto para QDs/anti-A apresenta que os QDs foram bioconjugados com sucesso ao anticorpo anti-A. (Valores representados pela média das três medidas; a. u.: unidades arbitrárias).

4.4. MARCAÇÃO DAS CÉLULAS

4.4.1. Imagens de Microscopia de Fluorescência

As imagens foram obtidas utilizando microscopia de fluorescência confocal (Figura 12), para avaliar qualitativamente o padrão de marcação, visto que é uma técnica mais sensível de análise da fluorescência quando comparada com a microscopia convencional, onde a primeira utiliza lasers excitando a amostra para obtenção da fluorescência e fotomultiplicadoras para detecção (ao invés de câmeras), além de selecionar um plano focal mais restrito possibilitando melhor padrão de qualidade de imagem, enquanto a segunda técnica utiliza luz. Na Figura 12 (A) observamos as hemácias A marcadas quando a amostra foi excitada em 488 nm e a emissão correspondente ao QDs na região do verde. Na Figura 12 (B) tem-se a sobreposição das imagens do contraste de fase com a Figura 12 (A) para observar o padrão de marcação das hemácias. Vale ressaltar que para as hemácias O não foi detectada nenhuma fluorescência, como era esperado, pois são o controle negativo do experimento.

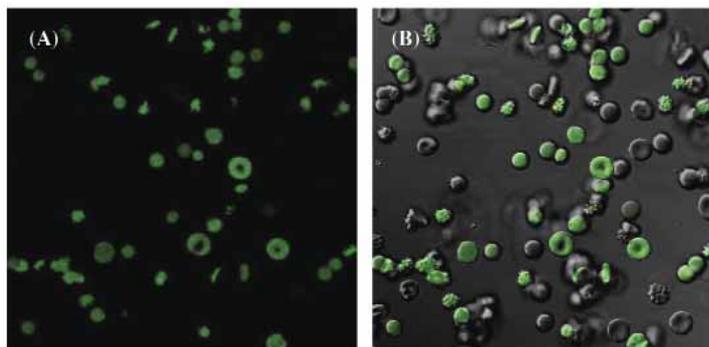


Figura 12 – Imagens de hemácias A marcadas com CdTe/CdS - AMP-anti-A por microscopia confocal. Em (A) imagens de fluorescência confocal com excitação da amostra em 488 nm e a emissão da fluorescência no verde; em (B) sobreposição das imagens de fluorescência confocal e contraste de fase.

4.4.2. Quantificação das células marcadas por citometria de fluxo:

Para quantificar as células marcadas especificamente com o CdTe/CdS - AMP-anti-A foi feito um ensaio no citômetro de fluxo (Figura 13). Em (A) podemos identificar que a população de hemácias A suspensas a 5% (padrão) sem QDs ficaram delimitadas no primeiro quadrante (mostrando que não há sinal de fluorescência), tendo um total de células de 99,91%; em (B) 98,05% não foram marcadas, indicando que não há marcação inespecífica entre o QD e as células. Já em (C) pode-se identificar a evidente marcação no filtro FL1 (emissão no verde) de 33,7% das células quando o QD foi bioconjugado ao anticorpo anti-A. No entanto, em (D) as hemácias O com QD-anti-A apresentaram 99,53% de células não marcadas, sendo o controle

negativo do experimento por não possuírem antígenos A na superfície das hemácias.

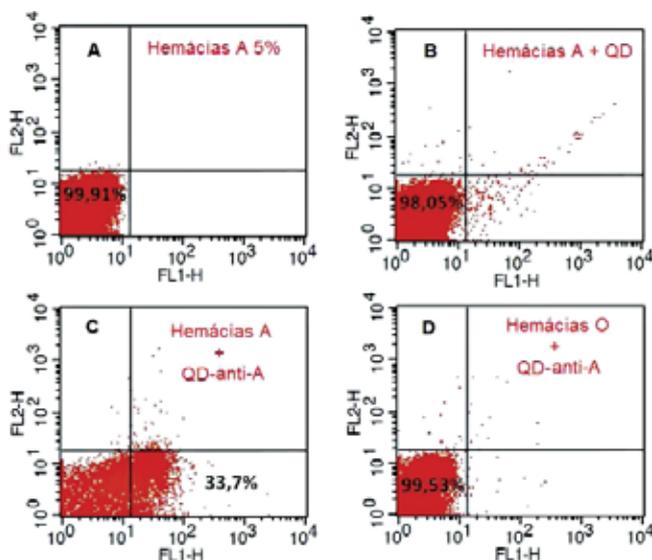


Figura 13 – Dot plots de hemácias A e O: (A) células não marcadas; (B) hemácias com QDs não marcadas; (C) Hemácias A marcadas com QD-anti-A e (D) hemácias O usadas como controle do experimento.

Os resultados das marcações apresentados foram re-produtíveis, visto que as duplicatas e as análises por microscopias de fluorescência e citometria de fluxo foram semelhantes, porém precisam de aprimoramento e melhoramento das técnicas de bioconjugação e incubação, pois nem todas as “hemácias A” estão sendo marcadas. Esses achados podem ocorrer devido ao processo de bioconjugação ainda em testes de concentrações e/ou proporções do número de anticorpos para o número de células. Para tanto, a técnica de bioconjugação empregada, a adsorção, pode ser melhorada por ajustes do pH da suspensão, da temperatura, dentre outros fatores externos que podem melhorar a eficiência da ligação entre o anticorpo e o QD.

Além disso, não se sabe se alguns QDs estão se ligando ao anticorpo, através da porção Fab (porção ativa e ligante do antígeno), o que minimiza o potencial de ligação dos mesmos aos antígenos específicos, e impedem a ligação de todos os anticorpos em todas as hemácias fazendo com que nem todas as células apresentem marcação. Porém, estes estudos iniciais têm demonstrado o uso da nanotecnologia como promissora para investigações relacionadas a imunofenotipagem eritrocitária.

De acordo com dados da literatura, assim como os apresentados em nota técnica do Bangs Laboratories, o mecanismo de adsorção é baseado em ligações hidrofóbicas por forças de Van der Waals. Além disso, a mesma nota descreve que quando se tem grupos tiol disponíveis, como é o caso do CdTe/CdS-AMP utilizado neste trabalho, a adsorção se dará não só por forças de Van der Waals, mas também por forças iônicas. O trabalho de Shi e colaboradores também levanta esse ponto relacionado às forças iônicas (SHI, 2009). Além do pH, o uso de quantidade de imunoglobulinas em excesso na adsorção pode otimizar a orientação destas moléculas favorecendo a adsorção do anticorpo pela porção Fc (porção constante), o que seria ideal, pois possivelmente não haverá inativação da imunoglobulina. Além disso, o uso de soluções contendo NaCl (cloreto de sódio) em concentrações próximas a 0,15 M para diluição do QD, também poderá favorecer o processo de adsorção.

5. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

A síntese dos QDs utilizados nesse experimento foi feita com sucesso assim como a caracterização óptica dos QDs. Além disso, o sistema nanoestruturado estudado se mostrou eficiente na marcação específica dos eritrócitos A. Além de mostrar que, apesar do uso de funcionalizadores e/ou

bioconjugadores, as nanopartículas continuam eficientes e compatíveis com os equipamentos convencionais para análise, e que sua fluorescência praticamente não é alterada.

Pelos resultados das marcações obtidas, é possível que os QDs se liguem a vários outros anticorpos e o protocolo seja extrapolado para outros antígenos de detecção mais laboriosa podendo tornar-se potenciais ferramentas de baixo custo em diagnóstico imunohematológicos para antígenos de baixa expressão, os quais não manifestam reações de hemoaglutinação, porém desenvolvem incidentes transfusionais, bem como investigar distribuição de antígenos nas células de subgrupos sanguíneos.

Apesar de os equipamentos serem de alto custo, ainda assim, a técnica é considerada de baixo custo, visto que os equipamentos já são utilizados na rotina dos bancos de sangue na imunofenotipagem leucocitária (citômetro de fluxo) e as nanopartículas são sintetizadas em meio aquoso, e se tratando de escala nanométrica, pouca quantidade de reagente é necessária.

Este trabalho demonstra grande potencial de inovação tecnológica, principalmente porque a análise dos grupos sanguíneos e também dos subgrupos sanguíneos (A^{2+} , A^3B^+ , etc) poderá complementar os dados da literatura e ajudar os bancos de sangue dos países do Mercosul. Isso se deve pelo fato da manipulação dos QDs ser fácil e mais rápida quando comparada com as técnicas de biologia molecular, e ser mais sensível quando comparada com as reações de hemoaglutinações, usualmente utilizadas para a identificação dos grupos sanguíneos nos bancos de sangue, especialmente quando se trata da investigação de subgrupos.

AGRADECIMENTOS

Os autores são gratos a FACEPE, CNPq, CAPES, L'OREAL, PHILIPS, Academia Brasileira de Ciências, INCT de Fotônica, CPqAM/FIOCRUZ, HEMOPE, UFPE, UNICAMP e a todos que contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALIVISATOS, A. P. et al. *Semiconductor nanocrystals as fluorescent biological labels*. *Science* v. 281, p. 2013-2016, 1998.

BANGS LABORATORIES, INC. *Adsorption to Microspheres: techNote*, v. 204, p. 1-6, 2008.

BATISSOCO, A. C.; NOVARETTI, M. C. Z. Aspectos moleculares do Sistema Sangüíneo ABO. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter*; v. 25, n. 1, p. 47-58, 2003.

CHAN, W. C. W.; NIE, S. Quantum dot bioconjugates for ultrasensitive nonisotopic detection. *Science*, v. 281, p. 2016-2018, 1998.

CHAVES, C. R. *Síntese e caracterização de nanopartículas de sulfeto de cádmio: aplicações biomédicas*. 2006. Dissertação (Mestrado em Ciência de Materiais) - CCEN - Universidade Federal de Pernambuco,. Recife. 111 p..

DAHAN, M. et al. Diffusion dynamics of glycine receptors revealed by single-quantum dot tracking. *Science*. v. 302, p. 442-445, 2003.

FARIAS, P. M. A. et al. Core-shell CdS/Cd(OH)₂ quantum dots: synthesis and bioconjugation to target red cells antigens. *Journal of Microscopy*, v 209, p. 103 -108, 2005.

_____ et al. Quantum dots as fluorescent biolabels in cancer diagnostic. *Phys. Stat. Sol. C* 3, n. 11, p. 4001–4008, 2006.

GIVAN, A. L. Seeing the light: Lasers, Fluorochromes, and filters. *Flow Cytometry First Principles*, 2. ed. [S.l.]: Wiley-Liss 2001.

GUILHERME, R. S. et al. Exames laboratoriais complementares indicados no apoio ao diagnóstico do linfoma difuso de grandes células B (LDGCB). *Arquivos Brasileiros de Ciências da Saúde*, v. 33, n. 3, p. 185-194, 2008.

HENGLEIN, A. Photochemistry of colloidal cadmium sulfide. 2. Effects of adsorbed methyl viologen and of colloidal platinum. *J. Phys. Chem.*v. 86, p. 2291–2293, 1982.

LIRA, R. B. et al. . Biocompatible Water Soluble Quantum Dots as New Biophotonic Tools for Hematologic Cells: Applications for Flow Cell Cytometry. *Proceedings of SPIE (Colloidal Quantum Dots for Biomedical Applications V)*, v. 7575, p. 7575075755, 2010.

LUDWIG, L.; ZILLY, A. Reações transfusionais ligadas ao sistema ABO. *Newslab.*, v. 84, p. 102 -102, 2007.

- MEDINTZ, I. L. et al. Quantum dot bioconjugates for imaging, labelling and sensing. *Nature Materials*. v. 4, p. 435 -446, 2005.
- MENEZES, F. D. et al. CdTe/CdS core shell quantum dots for photonic applications. *Microelectronics Journal*, v. 36, p. 989–991, 2005.
- MICHALET, X.; BENTOLILA, L.A.; WEISS, S. Molecular imaging: physics and bioapplications of quantum dots. In: WOLBARST, A. B.; MOSSMAN, K. L.; HENDEE, W. R. (Eds). *Advances in Medical Physics*, v. 2. Madison, Wisconsin: Medical Physics Publishing, 2008. p. 111-127.
- MICHALET, X. F. et al. Quantum dots for live cells, in vivo imaging, and diagnostics. *Science*, v. 307, p. 538-544, 2005.
- NAKAGE, A. P. M. et al. Metodologia e aplicação da citometria de fluxo na hematologia veterinária. *Cienc. Rural*. v. 35, n. 4, p. 966-973, 2005.
- ROGACH, A. L. et al. Aqueous synthesis of thiol-capped CdTe nanocrystals: State-of-the-art. *J. Physics Chem.*, v. 111, p. 14628 -14637, 2007.
- SALES NETO, A. T. *Imunomarcção de antígenos eritrocitários do tipo "A" com nanopartículas fluorescentes de semicondutores CdS/Cd(OH)2*. 2009. Monografia (Especialização em Análises Clínicas) - Departamento de Ciências Farmacêuticas - Universidade Federal de Pernambuco, –Recife. 56 p.
- SANTOS, B. S.; FARIAS, P. M. A; FONTES, A. Semiconductor quantum dots for biological applications. In: _____; _____; _____. *Handbook of Self Assembled Semiconductor Nanostructures Novel Devices in Photonics and Electronics*. Amsterdam: Elsevier, 2008.
- SHI, C. et al. Interaction of CdTe/CdS quantum dots with antibodies. *Chinese Letters*, v. 20, p. 1119 -1122, 2009.
- SUKHANOVA, A.; NABIEV, I. Fluorescent nanocrystal quantum dots as medical diagnostic tools. *Expert Opin. Med. Diagn.* v. 2, n. 4, p. 429-447, 2008.
- YU, W. W. et al. Experimental determination of the extinction coefficient of the CdTe, CdSe and CdS nanocrystals. *Chem. Mater.* v. 15, p. 2854 -2860, 2003.

Categoria Joven Pesquisador

Menção Honrosa

ENCAPSULACION DEL FÁRMACO
ANTIRRETROVIRAL EFAVIRENZ EN
NANOTRANSPORTADORES POLIMÉRICOS
PARA LA OPTIMIZACIÓN DE LA FARMACOTERAPIA
DEL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA
EN PACIENTES PEDIÁTRICOS

Autor: Diego Andres Chiappetta, 35 anos, doutor em tecnologia farmacêutica

País: Argentina

RESUMEN

La infección pediátrica por VIH es baja en los países desarrollados y el 90% de los pacientes pediátricos con VIH viven en países en desarrollo. Aproximadamente el 90% de los niños VIH-positivos no tienen acceso a los fármacos antirretrovirales (ARVs). Sin tratamiento, el 50% de los pacientes muere antes de los 2 años de edad. Efavirenz (EFV, solubilidad acuosa ~4µg/ml, 40-45% de biodisponibilidad), un inhibidor de la transcriptasa reversa no nucleosídicos (NNRTI), es un ARV de primera elección en el tratamiento pediátrico. Para asegurar concentraciones plasmáticas terapéuticas, EFV se administra en dosis relativamente altas. EFV en solución acuosa irrita la mucosa oral, produciendo un síndrome de quemazón en la boca (BMS). El presente trabajo describe el desarrollo de una formulación acuosa de EFV concentrada (20mg/ml, 2%) para un manejo más adecuado de la terapia pediátrica contra el VIH. Las formulaciones presentaron una alta estabilidad fisicoquímica en el tiempo en condiciones de almacenamiento normales. Los ensayos de liberación *in vitro* de EFV mostraron un efecto de liberación inmediata (2 h) y luego una cinética de orden cero (entre 2 y 24 h). Por último, las pruebas de sabor realizadas en voluntarios sanos adultos indican que la combinación de sabores y edulcorantes empleados reducen la intensidad del BMS y acortan su duración de manera significativa. Estos resultados indican que la estrategia nanotecnológica propuesta (rentable y escalable) podría permitir una administración más conveniente y ser ajustada a dosis más bajas de EFV. Debido a un mejor perfil farmacocinético, esto daría lugar a niveles plasmáticos similares a aquellos obtenidos con dosis más altas desde formas sólidas o desde la solución aceitosa. En este contexto, podemos pensar en una reducción del costo del tratamiento. Esto podría mejorar el acceso de los pacientes pediátricos con menos recursos a los medicamentos en países pobres.

1. INTRODUCCIÓN

El último informe sobre la situación del Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH)/Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA) indica que, actualmente, viven 40 millones de pacientes infectados (AIDS EPIDEMIC UPDATE, 2007). Aproximadamente 2,5 millones son niños menores de 15 años. Este grupo demuestra una mortalidad especialmente elevada y representa una población de alto riesgo (AIDS EPIDEMIC UPDATE, 2007). La terapia antirretroviral de alta actividad (en inglés HAART) fue

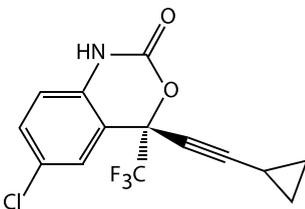
introducida en 1996 y ha extendido la expectativa de vida de los pacientes infectados a más de una década (PANEL OF CLINICAL PRACTICES FOR TREATMENT OF HIV INFECTION, 2001; UNAIDS/WHO AIDS EPIDEMIC, 2009; SHAH, 2007). Las dosis de fármaco antirretroviral (ARV) utilizadas son altas y los complicados regímenes de administración afectan notablemente la calidad de vida de los pacientes. De acuerdo a investigaciones epidemiológicas, niveles de adherencia inferiores al 95% pueden reducir las chances de éxito terapéutico en aproximadamente el 50% (ANDREWS; FRIEDLAND, 2000).

El VIH pediátrico ha sido eliminado en los países desarrollados mediante la reducción del denominado contagio-de-madre-a-feto y a través de la leche materna en lactantes (MSF, 2009). Por el contrario, en los países en vías de desarrollo, la situación es dramáticamente diferente, donde más del 90% de los niños infectados no tienen acceso a la medicación. El HAART pediátrico representa un desafío terapéutico ya que de los 25 fármacos aprobados para uso en adultos, sólo 12 lo están para niños (GIAQUINTO et al., 2008). Además, los fármacos de uso en adultos sólo se encuentran disponibles en formulación sólida (BROWN, 2007). Para permitir el ajuste de dosis por peso corporal y la fácil deglución, las formulaciones sólidas deben ser manipuladas y procesadas para la preparación de formas magistrales (STANDING; TULEU, 2005). Cada año, aproximadamente 40 millones de niños reciben medicamentos sin licencia en Europa (EC-EI, 2008; CONROY, 2003). Estas formulaciones han despertado serios cuestionamientos respecto de la calidad, seguridad y eficacia (CHOONARA; CONROY, 2002; NUNN; WILLIAMS, 2005; EILEEN KAIRUZ et al., 2007). Estas limitaciones son aún más notables en países con una pobre infraestructura en salud. Además, inconvenientes organolépticos que llevan a la reducción en la adhesión a los regímenes terapéuticos son a veces descuidados (VAN DYKE et al., 2002). En ciertos casos, se ha detectado una disminución en la biodisponibilidad de la droga cuando es administrada en su formulación sólida (MUELLER et al., 1998). Este fenómeno se debe a la adsorción de fármaco a diferentes excipientes de la misma. Sin embargo, cuando no se dispone de una formulación líquida comercial, las formulaciones magistrales constituyen la única alternativa para el tratamiento de neonatos y niños infectados con el VIH (COMMITTEE ON PEDIATRIC AIDS, 2007). La última Asamblea Mundial de la Salud (WHA) reconoció de manera explícita el derecho de los niños a acceder a medicamentos seguros, efectivos y proba-

dos, y aprobó la resolución *Best medicines for children* (WHO/MAKE MEDICINES CHILD SIZE, 2009), lanzando la campaña mundial *Make medicines child size* (WHO/MAKE MEDICINES CHILD SIZE, 2009).

Efavirenz (EFV, Sustiva[®], Esquema 1) pertenece al grupo de los inhibidores de transcriptasa reversa no nucleosídicos y se encuentra clasificado en la Clase II del Sistema de Clasificación Biofarmacéutico (BCS) (LINDENBERG et al., 2004). Efavirenz es un fármaco de primera línea en el tratamiento antirretroviral de pacientes adultos (GAZZARD, 2006) y pediátricos (BARRUECO et al., 2005; WINTERGERST et al., 2008). La baja solubilidad acuosa del fármaco (4 µg/ml) limita su absorción en el tracto gastrointestinal (RABEL et al., 2001; GAO et al., 2007). Así, la biodisponibilidad oral es aproximadamente 40-45% y la alta variabilidad inter-individual observada demanda el monitoreo de los niveles alcanzados en plasma (CSAJKA et al., 2003; AARNOUTSE et al., 2003). La dosis utilizada en pacientes pediátricos está entre 200 y 600 mg/día (SOSNIK et al., 2009). En EEUU se ha desarrollado una solución oleosa de efavirenz a base de triglicéridos de cadena media (STARR et al., 2002; BAHAL et al., 2003). Dicha formulación no está comercialmente disponible en nuestro país (no existe registro en la ANMAT) y algunos pacientes reciben dicha medicación mediante su importación bajo la categoría de “uso compasivo”. Sin embargo, esta solución presenta desventajas notables como ser una biodisponibilidad oral inferior a la forma farmacéutica sólida y una mayor variabilidad inter-individual. Esto se debe a la baja solubilidad del vehículo oleoso en el fluido gastrointestinal. Además, es de esperar que la ingesta de grandes volúmenes de vehículos oleosos (>20 ml en niños de 14 años) podría producir una diarrea profusa. Este efecto adverso impactaría de manera crucial en la calidad de vida del paciente y puede provocar una caída en los niveles de aceptación y adherencia. Por otro lado, efavirenz solubilizado en medio acuoso irrita la mucosa oral (Burning Mouth Syndrome o BMS) (BORRAS-BLASCO et al., 2006). Este fenómeno es una sensación de quemazón que no se debe a la

presencia de heridas específicas y es otra causa de interrupción del tratamiento (MARCELLIN et al., 2008).



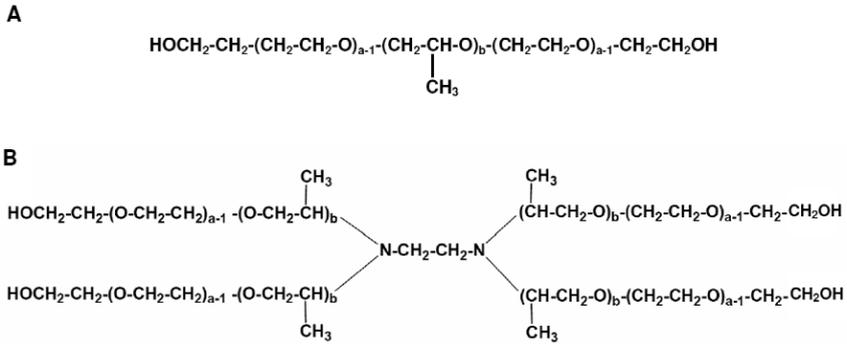
Esquema 1. Estructura química de efavirenz

La disponibilidad de formulaciones líquidas constituye un eslabón esencial en la farmacoterapia pediátrica; los niños menores a 7 años comúnmente no son capaces de tragar medicamentos sólidos (YEUNG; WONG, 2005). Así, el desarrollo de formulaciones líquidas disponibles comercialmente que optimicen la biodisponibilidad oral y reduzcan la variabilidad inter-individual aparece como un desafío de alta relevancia clínica en el tratamiento de esta enfermedad.

La prevalencia de la enfermedad es extremadamente alta en países pobres (SMART, 2005) donde el desarrollo de medicamentos antirretrovirales escalables y con menor costo de producción puede representar la barrera entre el acceso o no de los pacientes a la medicación adecuada (CHIAPPETTA et al., 2009; SOSNIK et al., 2008); la administración de menores dosis que son absorbidas más efectivamente en el tracto gastrointestinal representaría una mejora sustancial en la accesibilidad de más pacientes a efavirenz.

La nanotecnología puede proveer de herramientas únicas para optimizar la farmacoterapia de VIH. En general, se observa una buena correlación entre el aumento de la solubilidad acuosa y el aumento de la biodisponibilidad oral de los fármacos de Clase II. La inclusión en el núcleo hidrofóbico de micelas poliméricas constituye una estrategia nanotecnológica muy versátil para aumentar la solubilidad en agua de drogas poco hidrosolubles (CHIAPPETTA; SOSNIK, 2008). Las micelas poliméricas se obtienen mediante el auto-ensamblado de polímeros anfifílicos en medio acuoso y la generación de una estructura nanoscópica que comprende un núcleo (*core*) hidrofóbico y una corona (*shell*) hidrofílica. Dicha estructura única dota a las micelas poliméricas de una notable capacidad solubilizante. Así, las moléculas insolubles pueden alojarse en el núcleo de la micela, con lo que su solubilidad aparente en agua puede llegar a superar en varios órdenes de magnitud su solubilidad intrínseca en un medio acuoso libre de micelas. Así, se logran mantener en solución moléculas de fármaco que, de otra manera, serían prácticamente insolubles en medio acuoso. Los materiales formadores de micelas poliméricas más extensamente estudiados son los copolímeros de poli(óxido de etileno) y poli(óxido de propileno) (PEO-PPO) (CHIAPPETTA; SOSNIK, 2008). Los segmentos de PEO y PPO constituyen el componente hidrofílico e hidrofóbico, respectivamente. Existen dos familias comercialmente disponibles: (i) los tribloques lineales PEO-PPO-PEO o poloxámeros (Pluronic[®]) (Esquema 2A) y (ii) las poloxaminas ramificadas (Tetronic[®]) (Esquema 2B). Una ventaja notable de estos copolímeros es que

algunos han sido aprobados por FDA y EMEA para su uso como excipientes farmacéuticos y en dispositivos médicos (REEVE, 1997; BROMBERG; RON, 1998; SUBBARAMAN et al., 2006).



Esquema 2. Estructura general de los poloxámeros (A) y las poloxaminas (B).

Nuestro grupo de investigación estudia diferentes aproximaciones nanotecnológicas para optimizar las propiedades biofarmacéuticas de fármacos utilizados en el tratamiento de VIH/SIDA. Contrariamente al cáncer, una enfermedad que afecta tanto a personas de países en desarrollo como de los países desarrollados, la prevalencia de VIH es extremadamente mayor en aquellos países con carencia de recursos y con acceso limitado a tecnologías más sofisticadas (y en consecuencia más costosas) (SMART, 2005). Por ello, existe la necesidad del desarrollo escalable a nivel industrial de medicinas antirretrovirales y de costo razonable, que mejoren las características de las formulaciones del arte previo y que sean accesibles a todos los pacientes, sin importar su situación socioeconómica (CHIAPPETTA et al., 2009). Así, para permitir el escalado de la formulación económicamente viable y asegurar el acceso de todos los pacientes, independientemente de su estatus socioeconómico, es imprescindible que los copolímeros utilizados sean de fácil acceso comercial. Desde el punto de vista tecnológico-farmacéutico, el hecho de que los derivados de PEO-PPO hayan sido aprobados por diferentes entes regulatorios internacionales y que se encuentren en el mercado en una amplia variedad de pesos moleculares y de balances hidrofóbico/hidrofílico, constituye una ventaja destacable por sobre todos los otros polímeros en etapas de estudio experimental, fundamentalmente limitados al ámbito académico. Así, su utilización permitiría, en el caso de desarrollar un producto farmacéutico, acortar y agilizar el proceso de aprobación por los organismos regulatorios nacionales. Asimismo, en una instancia previa, permitiría una

evaluación favorable del comité de ética médica para llevar adelante estudios clínicos.

El presente estudio exploró la solubilización de efavirenz en diferentes micelas poliméricas de PEO-PPO para el desarrollo posterior de una formulación acuosa de alta concentración de fármaco soluble (20 mg/ml). Los estudios preclínicos comparativos del perfil farmacocinético del fármaco en el sistema micelar y en una suspensión extemporánea y una solución oleosa demostraron el aumento significativo de la biodisponibilidad oral y sustenta el uso de esta estrategia para el desarrollo de una solución oral acuosa concentrada, estable y económica para el tratamiento pediátrico de la infección.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. MATERIALES

Los poloxámeros Pluronic® F68 (Peso molecular 8,6 kDa), F108 (Peso molecular 14,8 kDa) y F127 (Peso molecular 12,6 kDa) y poloxaminas Tetronic® 1107 (T1107, Peso molecular 15 kDa) y 1307 (T1307, Peso molecular 18 kDa) fueron donadas por BASF (NJ, USA). Efavirenz (Laboratorio Farmacéutico Richmond, Buenos Aires, Argentina), Na₂HPO₄, ácido cítrico, KCl, NaOH, HCl y demás solventes utilizados fueron de grado analítico.

2.2. PREPARACIÓN DE MICELAS DE COPOLÍMEROS DEL TIPO PEO-PPO

Se elaboraron micelas poliméricas (1 a 17% p/v, dependiendo del polímero) disolviendo la cantidad requerida de polímero en un buffer fosfato-citrato a pH 5,0 a 4°C y equilibrando el sistema a 23°C, al menos 24 horas antes de su uso.

2.3. SOLUBILIZACIÓN DE EFAVIRENZ EN MICELAS POLIMÉRICAS

Efavirenz fue agregado en exceso (~50 mg/ml) a los sistemas micelares (3 ml, solución de polímero) en viales de vidrio de 10 ml. Las muestras se agitaron 48 horas en un agitador horizontal con control de temperatura, manteniendo esta última a 23°C. Para remover el exceso de droga, las suspensiones se filtraron a través de filtros clarificadores (0,45 µm, con membrana de celulosa) y luego fueron secadas en estufa de vacío, a temperatura ambiente. Los especímenes secos se re-disolvieron en metanol y la concentración se ajustó de acuerdo a lo requerido. Las concentraciones de efavirenz se determinaron por espectrofotometría UV ($\lambda = 247$ nm), a 23°C. Los factores de solubilidad (f_s) se calcularon de acuerdo con la ecuación

$$f_s = S_a/S_{\text{water}}$$

Donde S_a y S_{water} son, respectivamente, la solubilidad aparente de efavirenz en los diferentes sistemas micelares, y la solubilidad intrínseca de la droga en un medio acuoso libre de polímeros, determinadas experimentalmente a pH 5,0 (4 $\mu\text{g/ml}$). La titulación del fármaco en las formulaciones fue llevada a cabo mediante HPLC.

2.4. PREPARACIÓN DE FORMULACIONES ACUOSAS DE EFAVIRENZ ENCAPSULADO EN MICELAS POLIMÉRICAS

Se prepararon tres formulaciones utilizando un poloxámero (Pluronic F127) y dos poloxaminas (Tetronic 904 y 1307). Las formulaciones al 2% de efavirenz (20 mg/ml) contienen: polímero 10%, benzoato de sodio 0,2%, ciclamato de sodio 0,15%, acesulfamo de potasio 0,3%, sorbitol 5%, glicerol 6% y buffer fosfato-citrato pH 5 c.s.p. 100 ml. El polímero se solubilizó en un buffer de pH 5 a 4 ° C durante 24 horas. Una vez solubilizado el polímero, se incorporó la droga al sistema micelar y finalmente los excipientes.

2.5. ESTABILIDAD FÍSICA DE LAS FORMULACIONES

Para el estudio de la estabilidad física en el tiempo de las micelas conteniendo efavirenz, las muestras fueron almacenadas durante diferentes períodos de tiempo a temperatura ambiente (24°C), y la concentración de droga fue monitoreada mediante HPLC.

2.6. ESTABILIDAD FÍSICA DE LAS FORMULACIONES EN DILUCIÓN

Formulaciones conteniendo efavirenz fueron diluidas (1/10, 1/50 y 1/75) en condiciones que asemejan las del estómago (HCl 0,1N, pH 1,5) e incubadas a 37°C. La concentración de droga fue monitoreada en el tiempo mediante HPLC. Como control se utilizaron soluciones de droga sin polímero.

2.7. ESTUDIOS DE LIBERACIÓN DESDE SISTEMAS MICELARES INVITRO

Para evaluar la liberación de droga desde las formulaciones, se diluyeron sistemas conteniendo efavirenz (1/10, 1/50 and 1/75) en un buffer (pH 5,0). Las muestras (50 ml) fueron colocadas en membranas de diálisis (tubuladura de celulosa regenerada, MWCO = 3500), inmersas en buffer que asemeja al medio intestinal (pH 6,8, 900 ml) y la concentración de droga en la solución interna fue monitoreada durante el tiempo mediante UV, a 37°C. El medio de liberación fue reemplazado cada 6 horas por medio fresco. Se comparó la liberación con la de una solución oleosa de igual concentración de efavirenz.

2.8. ESTUDIOS DE LIBERACIÓN DESDE SISTEMAS MICELARES INVITRO EN CONDICIONES DE TOMA

Para simular la liberación de fármaco en el organismo también se estudió la liberación en un medio acuoso de pH similar gástrico (HCl 0,1N, pH 1,5, 900 ml) durante las dos primeras horas, para luego cambiar cada 4 horas por un medio similar intestinal (pH 6,8, 900 ml) a 37° C.

2.9. ENSAYOS DE SABOR DE LA FORMULACIÓN ACUOSA DE EFV

El ensayo de sabor de la formulación se llevó a cabo en voluntarios sanos y se lo comparó con el de una solución acuosa de efavirenz en micelas poliméricas sin esencias y saborizantes. Para ello, 500 µl de la formulación fueron retenidos en el centro de la lengua durante 10 segundos. Luego, se midieron los siguientes parámetros: (i) tiempo de aparición de la quemazón, (ii) intensidad de la quemazón (iii) duración de la quemazón. A la intensidad se le asignó un puntaje de acuerdo a una escala numérica entre 0 y 4 donde: 0 es sabor quemazón no detectable; 1 detectable; 2 leve; 3 moderado y 4 fuerte.

2.10. ESTUDIOS FÁRMACOCINÉTICOS INVIVO

La biodisponibilidad comparativa de la formulación fue estudiada en ratas Wistar Macho (220-250 g). La administración por vía oral se realizó mediante la introducción cuidadosa de un trocar en el esófago del animal conciente. Se administró efavirenz (40 mg/kg) en las distintas formulaciones bajo estudio (todas de concentración 20 mg/ml): (i) formulación a base de micelas, (ii) suspensión extemporánea y (iii) solución en triglicérido de cadena media (Miglyol 812). El volumen en cada una de las aplicaciones fue de 0,2 ml/kg de peso del animal. Se tomaron muestras de sangre (alrededor de 70 µl) de la vena de la cola de la rata a tiempos estipulados previamente para caracterizar el perfil de concentraciones plasmáticas en función del tiempo. Los tiempos de muestreo seleccionados fueron 0,5; 1; 1,5; 2; 3; 4; 5; 6; 8 y 24 horas. Las muestras plasmáticas fueron centrifugadas, separándose el suero para la determinación analítica de las concentraciones plasmáticas de efavirenz. Para la cuantificación de efavirenz en muestras de suero, se realizó la desproteinización del mismo con acetonitrilo en una proporción 2:1 con respecto al suero y la concentración se determinó por HPLC con detector UV (248 nm). El método analítico fue validado en un rango de concentraciones de 20 hasta 5000 ng/ml. El análisis farmacocinético de los niveles plasmáticos de efavirenz fue realizado mediante el programa computacional TOPFIT ajustando los datos a un modelo no-compartmental con absor-

ción por vía oral. Los siguientes parámetros farmacocinéticos fueron estimados para cada formulación: (i) área bajo la curva (AUC_{0-24}), (ii) concentración plasmática máxima ($C_{m\acute{a}x}$) y (iii) tiempo a $C_{m\acute{a}x}$. Los parámetros fueron log-transformados mediante análisis estadístico para reducir la heterogeneidad de la varianza y comparados por ANOVA y el Test de Bonferroni (GraphPad Prism version 5.02 for Windows, GraphPad Software, San Diego, California, CA). La significancia estadística se definió como $P < 0,05$. La variabilidad interindividual de los parámetros farmacocinéticos fue determinada mediante la comparación del coeficiente de variación (CV%).

2.11. MÉTODO CROMATOGRÁFICO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE EFV

Los niveles de EFV en los ensayos de estabilidad y en las muestras plasmáticas fueron cuantificados por cromatografía líquida de alta precisión (HPLC) con detección ultravioleta (UVIS 204, Linear Instruments, Reno, USA) a 248 nm. Se utilizó una columna Phenomenex ODS, C18, 250mm/4,6 mm (LUNA). La fase móvil se preparó de la siguiente manera: agua destilada: acetonitrilo:triethylamina (60:40:0,2; pH 3) y se mantuvo a un flujo de 1,4 ml/min. El método analítico para la cuantificación fue validado en el rango de 20 y 5000 ng/ml.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. SOLUBILIZACIÓN DE EFAVIRENZ EN MICELAS POLIMÉRICAS DE PEO-PPO

El primer objetivo del presente trabajo fue explorar la solubilidad del fármaco en micelas poliméricas de diferentes poloxámeros y poloxaminas. A concentraciones inferiores a la Concentración Micelar Crítica (CMC), la capacidad de solubilización de fármacos hidrofóbicos por parte de estos copolímeros es muy limitada (DONG et al., 2004). Debido a ello, se utilizaron concentraciones superiores (Tabla 1) (ALEXANDRIDIS et al., 1994; FERNANDEZ-TARRIO et al., 2008; ALEXANDRIDIS; HATTON, 1995; NAKASHIMA, 1994).

Tabla 1. Valores de CMC de diferentes copolímeros de PEO-PPO.

Polímero	CMC _{25°C} (% w/v)*	Ref.
Pluronic® F68	~10	NAKASHIMA, 1994
Pluronic® F108	4,0	ALEXANDRIDIS et al., 1994
Pluronic® F127	0,5	ALEXANDRIDIS & HATTON, 1995
Tetronic® I107	1,0	CHIAPPETTA et al., 2008; GONZALEZ-LOPEZ et al., 2008
Tetronic® I307	1,0	GONZALEZ-LOPEZ et al., 2008; FERNANDEZ-TARRIO et al., 2008

*Concentraciones de polímero en g/100 ml

La solubilidad aparente de efavirenz en los diferentes copolímeros es presentada en la Tabla 2. Se observaron aumentos dramáticos de la solubilidad, especialmente con el poloxámero F127 y las poloxaminas T1107 y T1307. En general, el aumento de la concentración de copolímero resultó en el aumento gradual de la capacidad solubilizante (Figura 1). En el caso de los poloxámeros F68 y F108, se observó una menor capacidad solubilizante.

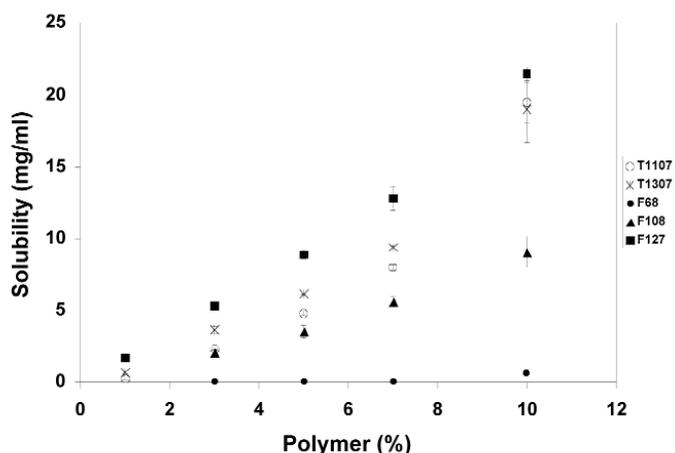


Figura 1. Sa de efavirenz versus concentración de copolímero de diferentes derivados de PEO-PPO.

Este fenómeno se debió a que estos copolímeros presentan valores de CMC mayores (3 y 10% para F108 y F68, respectivamente) y por ello a bajas concentraciones no se encuentran formando micelas, sino agregados unimoleculares conocidos con el nombre de unímeros.

Tabla 2. Solubilidad aparente (S_a) de efavirenz en diferentes sistemas micelares

Copolímero	HLB*	S_a (mg/ml) (D.E.)							
		1%	3%	5%	7%	10%	12%	15%	17%
T1107	18-23	0,25 (0,04)	2,27 (0,03)	4,80 (0,17)	8,00 (0,14)	19,48 (1,37)	-	-	-
T1307	> 24	0,68 (0,09)	3,64 (0,28)	6,16 (0,07)	9,39 (0,07)	19,00 (2,34)	-	-	-
F68	> 24	-	0,02 (0,02)	0,06 (0,00)	0,09 (0,02)	0,64 (0,07)	2,90 (0,42)	6,32 (0,23)	10,13 (0,30)
F108	> 24	-	2,09 (0,26)	3,56 (0,43)	5,61 (0,35)	9,06 (1,08)	-	-	-
F127	18-23	1,70 (0,02)	5,30 (0,13)	8,89 (0,32)	12,80 (0,82)	21,46 (0,46)	-	-	-

*Provisto por BASF.

Los factores de solubilidad (f_s) se muestran en la Tabla 3. Por otro lado, por encima de la CMC (~10%), F68 mostró el aumento pronunciado de la solubilización del fármaco. Los valores de S_a para soluciones 12 y 17% de F68 fueron 2,90 ($f_s = 725$) and 10,13 mg/ml ($f_s = 2533$), respectivamente. Para Pluronic® F108, el punto de inflexión se observó a una concentración menor (~3%) (Figura 1). Los copolímeros con mayor contenido relativo de PPO mostraron valores más bajos de CMC y en consecuencia fueron efectivos a menores concentraciones, incluso al 1%. Por ejemplo, los valores de S_a fueron 0,25 ($f_s = 63$), 0,68 ($f_s = 170$) y 1,70 mg/ml ($f_s = 425$) para sistemas al 1% de T1107, T1307 y F127, respectivamente. Luego, el aumento a 3% resultó en valores de S_a de 2,27 ($f_s = 568$), 3,64 ($f_s = 910$) y 5,30 mg/ml ($f_s = 1325$). Finalmente, soluciones al 10% mostraron valores de S_a de 19,5 ($f_s = 4870$), 19,0 ($f_s = 4750$) y 21,5 mg/ml ($f_s = 5365$), respectivamente (Tabla 3), representando cargas de fármaco de hasta el 22 % en peso total.

Tabla 3. Factores de solubilidad de efavirenz (f_s) en sistemas micelares, a pH 5

Polímero	Factor de solubilidad de efavirenz (f_s)							
	1%	3%	5%	7%	10%	12%	15%	17%
T1107	63	568	1200	2000	4870	-	-	-
T1307	170	910	1540	2348	4750	-	-	-
F68	-	5	15	23	160	725	1580	2533
F108	-	523	890	1403	2265	-	-	-
F127	425	1325	2223	3200	5365	-	-	-

La caracterización de las micelas cargadas con efavirenz se llevó a cabo mediante dos técnicas complementarias, difracción de luz láser (DLS) y microscopía electrónica de transmisión (TEM). Los resultados de DLS son ejemplificados para sistemas de F127 y T1307 al 10% (Figura 2). El tamaño de las micelas poliméricas libres de fármaco se encuentra en general en el rango entre 5 y 10 nm. La incorporación de fármaco dentro del núcleo micelar resultó en la expansión de la micela y el aumento del tamaño a valores de hasta 25-30 nm. La presencia de una segunda población de agregados de menor tamaño (5-7 nm) indicaría que parte de las micelas conservó su tamaño. La morfología fue estudiada por TEM. Los resultados de TEM son ejemplificados con T1307 (10%) en la Figura 3.

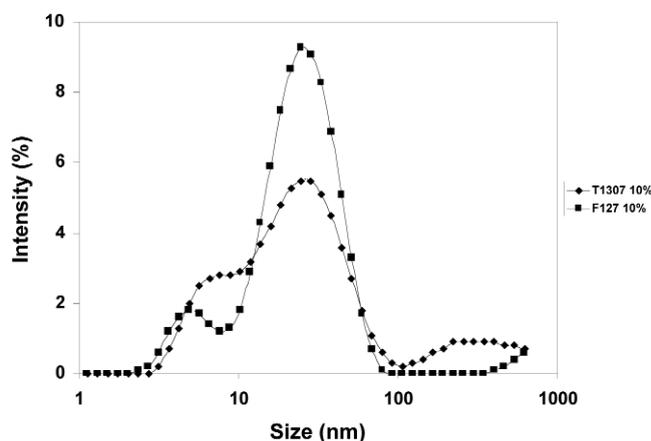


Figura 2. Tamaño y distribución de tamaños de micelas de F127 y T1307 al 10% cargadas con efavirenz

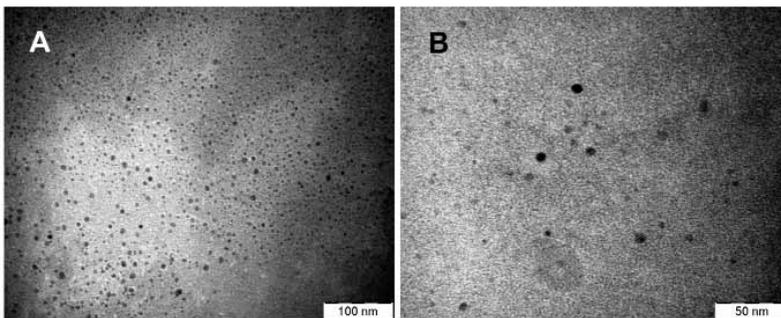


Figura 3. Micrografías TEM de micelas de T1307 (10%) cargadas con efavirenz. A) Barra = 100 nm y B) Barra = 50 nm.

3.2. DESARROLLO DE LA FORMULACIÓN

El objetivo central del presente trabajo es el desarrollo de una formulación concentrada de efavirenz que demuestre estabilidad fisicoquímica y que resulte en el aumento significativo de la biodisponibilidad oral y que además presente propiedades organolépticas mejoradas. Las esencias de mentol y cereza fueron previamente descritas como efectivos enmascaradores de sabor picante (SOHI et al., 2004). Además, el efecto refrescante del mentol calma irritaciones de la mucosa bucal (HUSSEIN; BARCELON, 1991). Un efecto beneficioso similar fue reportado para edulcorantes como sorbitol y acesulfame (SCHIFFMAN et al., 1994). Una vez desarrolladas, las formulaciones, fueron caracterizadas exhaustivamente respecto de la estabilidad fisicoquímica y las propiedades organolépticas.

3.3. ESTABILIDAD FISICOQUÍMICA DE LAS FORMULACIONES

Dos mecanismos podrían afectar la estabilidad de la formulación: (i) la desagregación de las micelas y la precipitación del fármaco y (ii) la hidrólisis de efavirenz. Tanto los poloxámeros como las poloxaminas demuestran un comportamiento dependiente de la temperatura; cuanto menor es la temperatura, mayor es la CMC. Así, el enfriamiento de la formulación en condiciones de almacenamiento no controladas podría provocar fenómenos de inestabilidad física. A 4^o C (una condición altamente desfavorable que induce la desagregación micelar), la formulación a base de F127 demostró alta estabilidad. La concentración de efavirenz fue 92% de la inicial después de 1 mes de incubación en la heladera. Las formulaciones a base de poloxaminas fueron menos estables, observándose la aparición gradual de un precipitado cristalino. El análisis espectroscópico y cromatográfico del precipitado permitió indentificar a efavirenz y confirmar la inestabilidad física del sistema de poloxamina en estas condiciones. A temperatura ambiente (24^o C), todas las formulaciones demostraron títulos de efavirenz superiores a 90-

95% después de un mes de incubación. Además, el análisis cromatográfico de todas las formulaciones permitió confirmar la ausencia de productos de degradación de efavirenz y la estabilidad química del fármaco bajo estas condiciones (Figura 4).

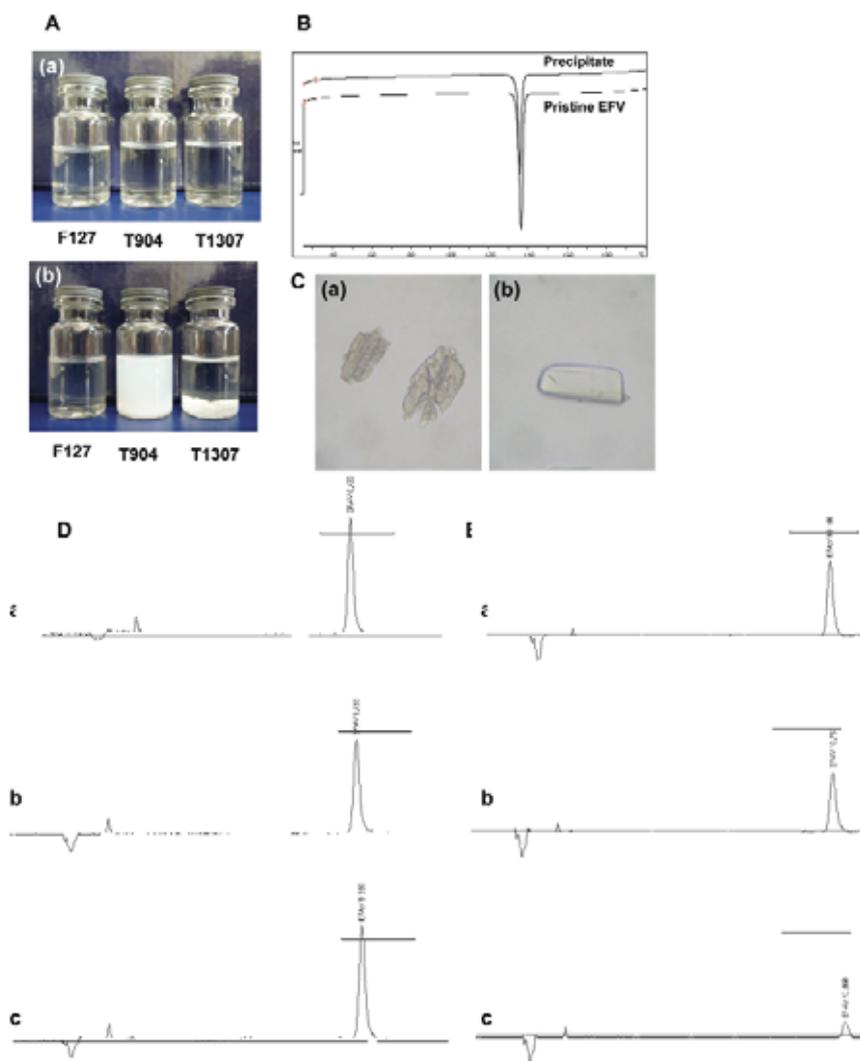


Figura 4. Estabilidad fisicoquímica de formulaciones de efavirenz. **A)** Aspecto de las formulaciones después de 28 días a (a) 24° C y (b) 4° C. **B)** Termograma de efavirenz y del precipitado cristalino aislado de una formulación efavirenz/T1307 al día 28. **E)** Micrografías de microscopía óptica de (a) efavirenz original y (b) precipitado de una formulación. **D)** Cromatogramas de HPLC de la formulación a base de poloxámero F127 a (a) día 0 y (b) 4°C y (c) 24°C después de 28 días. **E)** Cromatogramas de HPLC de la formulación a base de poloxámero T904 a (a) día 0 y (b) 4°C y (c) 24°C después de 28 días.

3.4. ESTABILIDAD FISICOQUÍMICA DE LAS FORMULACIONES EN CONDICIONES DE DILUCIÓN

Las formulaciones de efavirenz a base de micelas poliméricas fueron diseñadas para la administración oral. Por ello, nos interesó evaluar el comportamiento de las mismas en condiciones similares gástricas; la mezcla de la formulación con el medio gástrico tiene dos efectos de consideración: (i) la dilución que puede provocar inestabilidad física por la desagregación micelar y (ii) la acidificación que puede provocar inestabilidad química por la hidrólisis de efavirenz.

Cualquiera de ellas podría afectar la concentración efectiva de fármaco para su absorción en intestino y finalmente la biodisponibilidad oral. Se considera que los fármacos son diluidos en el volumen gástrico total (~600 ml) (BECKERS et al., 1988). Considerando volúmenes de administración entre 10 y 30 ml, formulaciones a base de F127 y T1307 fueron diluidas (1/10, 1/50 y 1/75) e incubadas durante dos semanas a 37°C. La concentración de fármaco se mantuvo inalterada durante el período de estudio en niveles superiores al 98%. Además, es remarcable que el efavirenz no sufrió hidrólisis durante el tiempo del ensayo. Así, las formulaciones se mantendrían estables fisicoquímicamente en el estómago. Esta alta estabilidad en dilución también permitiría eventualmente su dilución en bebidas para su ingesta.

3.5. Ensayos de sabor. El mejoramiento de las propiedades organolépticas y la minimización del BMS fue un objetivo central del trabajo; BMS está asociado íntimamente a la interrupción del tratamiento. El Pluronic® F127 ha sido aprobado por la Food and Drug Administration y está disponible comercialmente en calidad Farmacopea de EEUU. Además, las formulaciones a base de este copolímero han demostrado la mayor estabilidad fisicoquímica de todos los sistemas investigados. En este contexto, una formulación 2% de efavirenz conteniendo 10% de F127 y un sistema similar sin esencias y edulcorantes fue evaluada en ensayos de sabor por voluntarios adultos sanos. Los resultados se presentan en la Tabla 4. La combinación de esencias de mentol y cereza con sorbitol y acesulfame permitieron mejorar de manera notable el sabor de la formulación, resultando en tres efectos beneficiosos: (i) postergación de la aparición del BMS de 45 segundos a 2,2 minutos, (ii) reducción de la intensidad del fenómeno de 4 (BMS fuerte) a 2,6 (leve a moderado) y (iii) acortamiento de la duración de 53 a 36 minutos. En diluciones 1/5 y 1/10 en agua mineral, el agregado de excipientes de sabor redujo la intensidad de moderada a leve y de leve a niveles detectables,

respectivamente, y la duración de 38 a 24 minutos. La deglución de una cucharada de té (5 ml) de jalea de uva inmediatamente después del contacto de la muestra con la mucosa bucal tiene un efecto favorable y acorta el tiempo de duración de la quemazón a 15 minutos. Un efecto similar se observó tras la ingesta de 50 ml de leche chocolatada.

Tabla 4. Ensayos de sabor de una formulación a base de F127 y su contraparte sin el agregado de esencias y edulcorantes en voluntarios adultos sanos (n = 5). Escala de BMS: 0, no detectable; 1, detectable; 2, leve; 3, moderado; 4, fuerte.

	Muestra (20 mg/ml)	Aparición de BMS (min)	Intensidad de BMS*	Duración de BMS (min)
Blanco	Agua	-	0	-
Muestras originales	Micelas**	0,65	3,60	58,0
	Formulación	2,20	2,60	36,2
Jalea de uva (5 ml)	Micelas**	0,73	3,75	23,0
	Formulación	2,49	2,20	16,8
Leche chocolatada (50 ml)	Micelas**	0,57	2,80	34,4
	Formulación	6,00	1,00	19,0*
Dilución 1/5	Micelas**	0,79	2,75	32,8
	Formulación	2,30	1,60	23,2
Dilución 1/10	Micelas**	0,67	2,20	32,8
	Formulación	5,05	1,00	24,0

*Nota: Dos voluntarios reportaron la ausencia de BMS después de la ingesta de la formulación seguida de leche chocolatada (el score de intensidad fue 0).

**Micelas cargadas con efavirenz sin esencias ni edulcorantes.

3.6. ENSAYOS FARMACOCINÉTICOS

Las diferentes muestras de efavirenz en Pluronic F127, suspensión y solución oleosa, todas con concentración de fármaco 20 mg/ml, fueron administradas por vía oral en ratas (40 µg/kg) y la concentración plasmática determinada a diferentes tiempos. Las curvas de concentración plasmática de la formulación en función del tiempo versus la suspensión y la solución oleosa se presentan en la Figura 5. Los parámetros farmacocinéticos se presentan en la Tabla 5. La $C_{\text{máx}}$ aumenta de 1526 ng/ml en la suspensión y

1789 $\mu\text{g/ml}$ en la solución oleosa a 2863 ng/ml en la formulación de la presente invención, representando aumentos de 87,6 y 60%, respectivamente. La biodisponibilidad también muestra un aumento pronunciado; el AUC aumenta de 15,1 mg/ml/h con la suspensión y 12,6 mg/ml/h con la solución oleosa a 23,5 mg/ml/h con la formulación a base de micelas (significa aumentos de 55,6 y 86,5%, respectivamente, en la biodisponibilidad). Además, nuestros resultados confirmaron la menor biodisponibilidad de la solución oleosa respecto de la suspensión. Finalmente, se observa un descenso del CV% de la $C_{\text{máx}}$ y el AUC de 42,2 y 62,2% para la suspensión y 39,1 y 50,2% para la solución oleosa a 29,8 y al 29,4% para la formulación, respectivamente.

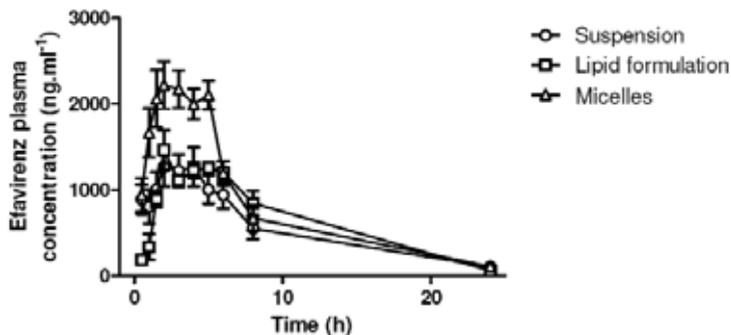


Figura 5. Perfiles plasmáticos de efavirenz luego de la administración oral de una formulación micelar de F127 al 10%, una suspensión extemporánea y una solución en triglicérido de cadena media. Dosis = 40 mg/kg dosis ($n = 10$).

Tabla 5. Parámetros farmacocinéticos luego de administración oral de la formulación a base de Pluronic F127 y de una suspensión y una solución oleosa.

Parámetro	Formulación		Suspensión			Solución oleosa		
	Promedio	CV %	Promedio	CV %	Valor P	Promedio	CV%	Valor P
$C_{\text{máx}}$ (ng/ml)	2863*	28,3	1526*	42,2	0,002	1789*	61,4	0,040
$T_{\text{máx}}$ (horas)	2,85	40,5	2,38	50,0	-	2,42	53,0	-
AUC (mg/ml/h)	23,5**	37,1	15,1**	55,2	0,050	12,6**	49,0	0,018

* $C_{\text{máx}}$ de formulación micelar es significativamente mayor que la suspensión y la solución oleosa.

**AUC de formulación micelar es significativamente mayor que la suspensión y la solución oleosa.

4. CONCLUSIONES

La nanotecnología se ha convertido en una herramienta sumamente útil para diseñar medicamentos más efectivos. Sin embargo, al contrario de lo que ocurre en cáncer que no reconoce límites físicos o socioeconómicos, VIH/SIDA demuestra una incidencia mayor en poblaciones pobres de países en vías de desarrollo. Por ello, existe poco interés de la industria farmacéutica de invertir recursos en la mejora de la farmacoterapia de esta epidemia. Si bien la nanotecnología aparece como menos accesible debido a mayores costos de producción, el desafío científico y ético es implementarlas a costos razonables. La contribución puede ser desde el mejoramiento de las propiedades organolépticas y aspectos tecnológicos y hasta el diseño de sistemas de liberación más sofisticados que permitan direccionar el fármaco a reservorios celulares y anatómicos específicos. Los pacientes pediátricos constituyen un grupo de alto riesgo. Más del 90% de estos pacientes se encuentran en la región sub-sahariana del continente africano. En este contexto, es sorprendente que la única formulación líquida de efavirenz, un fármaco de primera línea con baja biodisponibilidad oral, no esté disponible a todos los pacientes (no hay registro en ANMAT de esta formulación). Además, esta formulación oleosa demuestra biodisponibilidad oral inferior a la forma sólida y alta variabilidad inter-individual. Por otro lado, la administración de altas cantidades de aceite puede provocar trastornos gastrointestinales que pueden afectar la aceptación y adherencia al tratamiento. Así, la única opción es la preparación de una formulación magistral.

La encapsulación de efavirenz en micelas poliméricas permitió aumentar la solubilidad del fármaco más de 5000 veces y preparar una formulación acuosa concentrada del fármaco (20 mg/ml). Esta formulación es compatible con la administración de las dosis comúnmente utilizadas (200 a 600 mg/día). Las ventajas más destacables de los copolímeros usados son (i) disponibilidad comercial en un amplio espectro de pesos moleculares y composiciones relativas y (ii) aprobación de varios derivados por la FDA (EEUU) y EMEA (Europa) para uso en productos farmacéuticos y dispositivos médicos. La formulación elegida para ensayos de sabor y evaluación preclínica demostró alta estabilidad fisicoquímica y una mejora sustancial de las propiedades organolépticas. Finalmente, los ensayos preclínicos evidenciaron un aumento significativo de la biodisponibilidad oral y una caída importante de la variabilidad inter-individual.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AARNOUTSE, R.; SCHAPIRO, J.M.; BOUCHR, C.A.B.; HKSTER, Y.A.; BURGER, D.M. Therapeutic drug monitoring. *Drugs* v. 63, p. 741-753, 2003.

AIDS EPIDEMIC UPDATE 2007, World Health Organization. <http://www.who.int/hiv/epiupdates/en/index.html> (accessed 07/2009).

ALEXANDRIDIS, P.; HOLZWARATH, J.F.; HATTON, T.A. Micellization of poly(ethylene oxide)-poly(propylene oxide)-poly(ethylene oxide) triblock copolymers in aqueous solutions: Thermodynamics of polymer association. *Macromolecules* v. 27, p. 2414-2425, 1994.

ALEXANDRIDIS, P.; HATTON, T.A. Poly(ethylene oxide)-poly(propylene oxide)-poly(ethylene oxide) block copolymer surfactants in aqueous solutions and interfaces: thermodynamics, structure, dynamics and modeling. *Colloids Surf. A* v. 96, p. 1-46, 1995.

ANDREWS, L.; FRIEDLAND, G. Progress in HIV therapeutics and the challenges of adherence to antiretroviral therapy. *Inf. Dis. Clin. N. Amer.* v. 14, p. 1-26, 2000.

BAHAL, S.M.; ROMANSKY, J.M.; ALVAREZ, F.J. Medium chain triglycerides as vehicle for palatable oral liquids. *Pharm. Dev. Technol.* v. 8, p. 111-115, 2003.

BARRUECO, N.; CASTILLO, I.; AIS, A.; MARTÍNEZ, C.; SANJURJO, M. Program of pharmaceutical attention to pediatric patients in antiretroviral therapy. *Farm. Hosp.* v. 29, p. 367-374, 2005.

BECKERS, E.J.; REHRER, N.J.; BROUNS, F.; TEN HOOR, F.; SARIS, W.H.M. Determination of total gastric volume, gastric secretion and residual meal using the double sampling technique of George. *Gut* V. 29, p. 1725-1729, 1988.

BORRÁS-BLASCO J., BELDA A., ROSIQUE-ROBLES J.D., CASTERÁ E., ABAD F.J. Burning Mouth Syndrome due to efavirenz therapy. *Ann. Pharmacother.* v. 40, p. 1471-1472, 2006.

BROMBERG, L.E.; RON, E.S. Temperature-responsive gels and thermogelling polymer matrices for protein and peptide delivery. *Adv. Drug Del. Rev.* v. 31, p. 197-221, 1998.

BROWN, E. In: Antiretroviral therapy in children, HIV/AIDS primary care guide. Chapter 30, AIDS Education & Training Centers National Resource Center, p. 419, 2007.

CHIAPPETTA, D.A.; SOSNIK, A. Poly(ethylene oxide)-Poly(propylene oxide) block copolymer micelles as drug delivery agents: Improved hydro-solubility, stability and bioavailability of drugs. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* v. 66, p. 303-317, 2007.

CHIAPPETTA, D.A.; DEGROSSI, J.; TEVES, S.; D'AQUINO, M.; BREGNI, C.; SOSNIK, A. Triclosan-loaded poloxamine micelles for enhanced antibacterial activity against biofilm. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* v. 69, p. 535-545, 2008.

CHIAPPETTA, D.A.; CARCABOSO, A.M.; RUBIO, M.C.; BRAMUGLIA, G.; SOSNIK, A. Indinavir-loaded pH-sensitive microparticles for taste masking: Toward extemporaneous paediatric anti-HIV/AIDS liquid formulations with improved patient compliance. *AAPS PharmSciTech.* v. 10, p. 1-6, 2009.

CHOONARA, I; CONROY, S. Unlicensed and off-label drug use in children: Implications for safety. *Drug Saf.* v. 25, p. 1-5, 2002.

COMMITTEE ON PEDIATRIC AIDS. Section on international child health. increasing antiretroviral drug access for children with HIV infection. *Pediatrics.* v. 119, p. 838-845, 2007.

CONROY, S. Extemporaneous (magistral) preparation of oral medicines for children in European hospitals. *Acta Paediatr.* v. 92, p. 408-411, 2003.

CSAJKA, C.; MARZOLLINI, C.; FATTINGER, K.; DÉCOSTERD, L.A.; TELENTI, A.; BIOLLAZ, J.; BUCLIN, T. Population pharmacokinetics and effects of efavirenz in patients with human immunodeficiency virus infection. *Clin. Pharm. Ther.* v. 73, p. 20-30, 2003.

DONG, J.; ARMSTRONG, J.; CHOWDRY, B.Z.; LEHARNE, S.A. Thermodynamic modelling of the effect of pH upon aggregation transitions in aqueous solutions of poloxamine T701. *Therm. Acta.* v. 417, p. 201-206, 2004.

EILEEN KAIRUZ, T.; GARGIULO, D.; BUNT, C.; GARG, S. Quality, Safety and Efficacy in the 'Off-Label' Use of Medicines. *Curr. Drug Saf.* v. 2, p. 89-95, 2007.

EC-EI - European Commission-Enterprise and Industry. Medicines for Children, 2008. In: <http://ec.europa.eu/enterprise/pharmaceuticals/paediatrics/index.htm> (accessed 07/2009).

FERNANDEZ-TARRIO, M.; YAÑEZ, F.; IMMESOETE, K.; ALVAREZ-LORENZO, C.; CONCHEIRO, A. Pluronic and Tetronic copolymers with polyglycolized oils as self-emulsifying drug delivery systems. *AAPS PharmSciTech*. v. 9, p. 471-479, 2008.

GAO, J.ZH.; HUSSAIN, M.A.; MOTHERAM, R.; GRAY, D.A.B.; BENDEK, I.H.; FISKE, W.D.; DOLL, W.J.; SANDEFER, E.; PAGE, R.C.; DIGENIS, G.A. Investigation of human pharmacoscintigraphic behavior of two tablets and a capsule formulation of a high dose, poorly water soluble/highly permeable drug (Efavirenz). *J. Pharm. Sci.* v. 96, p. 2970-2977, 2007.

GAZZARD, B. British HIV Association (BHIVA) guidelines for the treatment of HIVinfected adults with antiretroviral therapy. *HIV Med.* v. 7, p. 487-496, 2006.

GIAQUINTO, C.; MORELLI, E.; FREGONESE, F.; RAMPON, O.; PENAZZATO, M.; DE ROSSI, A.; D'ELIA, R. Current and Future Antiretroviral Treatment Options in Paediatric HIV Infection. *Clin. Drug Invest.* v. 28, p. 375-397, 2008.

HUSSEIN, M.M.; BARCELON S.A. Flavor enhancing and medicinal taste masking agent. US Patent 4.983.394, 1991.

LINDENBERG, M.; KOPP, S.; DRESSMAN, J.B. Classification of orally administered drugs on the World Health Organization Model List of Essential Medicines according to the biopharmaceutics classification system. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* v. 58, p. 265-278, 2004.

MARCELLIN, F.; BOYER, S.; PROTOPOPESCU, C.; AISSATA, D.; ONGOLO-ZOGO, P.; KOULLA-SHIRO, S.; SÉVERIN-CÉCILE, A.; ABÉ, C.; MOATTI, J-P.; SPIRE, B.; CARRIERI, M.P. Determinants of unplanned antiretroviral treatment interruptions among people living with HIV in Yaoundé, Cameroon (EVAL survey, ANRS 12-116). *Tropical Med. Int. Health.* v. 13, p. 1470-1478, 2008.

MSF - Medecins sans Frontieres, Press release, In: <http://www.msf.org/> (accessed 07/2009).

MUELLER, B.U.; SLEASMAN, J.; NELSON JR, R.P.; SMITH, S.; DEUTSCH, P.J.; JU, W.; STEINBERG, S.M.; BALIS, F.M.; JAROSINSKI, P.F.; BROUWERS, P.; MISTRY, G.; WINCHELL, G.; ZWERSKI, S.; SEI, S.; WOOD, L.V.; ZEICHNER, S.; PIZZO, P.A. A phase I/II Study of the protease inhibitor indinavir in children with HIV infection. *Pediatrics* v. 102, p. 101-109, 1998.

NAKASHIMA, K.; ANZAI, T.; FUJIMOTO, Y. Fluorescence studies on the properties of a Pluronic F68 micelle. *Langmuir*: v. 10, p. 658-661, 1994.

NUNN, T.; WILLIAMS, J. Formulation of medicines for children. *Br. J. Clin. Pharmacol.* v. 59, p. 674-676, 2005.

PANEL OF CLINICAL PRACTICES FOR TREATMENT OF HIV INFECTION. *Pan. Am. J. Public Health*, v. 10, p. 426-435, 2001.

RABEL, S.R.; SUN, S.; MAURIN, M.B. Electronic and resonance effects on the ionization of structural analogues of efavirenz. *AAPS PharmSciTech* v. 3, article 28, 2001.

REEVE, L. In: Handbook of Biodegradable Polymers (Drug Targeting and Delivery, vol. 7), 1st ed. Domb, A.; Kost, Y.; Wiseman D. Eds., Harwood Academic Publishers: London, Great Britain, 1997.

SCHIFFMAN, S.S.; GATLIN, L.A.; SATTELY-MILLER, E.A.; GRAHAM, B.G.; HEIMAN, S.A.; STAGNER, W.C.; ERICKSON, R.P. The effect of sweeteners on bitter taste in young and elderly subjects. *Brain Res. Bull.* v. 35, p. 189-204, 1994.

SHAH, C.A. Adherence to high activity antiretroviral therapy (HAART) in pediatric patients infected with HIV: Issues and interventions. *Indian J. Pediatr.* v. 74, p. 55-60, 2007.

SMART, T. Children with HIV are being left behind in the rollout of anti-retroviral therapy. *HIV & AIDS Treatment in Practice HATIP #40*, January 28th, 2005.

SOHI, H.; SULTANA, Y.; KHAR, R.K. Taste masking technologies in oral pharmaceuticals: recent developments and approaches. *Drug Dev. Ind. Pharm.* v. 30, p. 429-448, 2004.

SOSNIK, A.; CARCABOSO, A.M.; CHIAPPETTA, D.A. Polymeric Nanocarriers: New endeavors for the optimization of the technological aspects of drugs. *Recent Pat. Biomed. Eng.* v. 1, p. 43-59, 2008.

- SOSNIK, A.; CHIAPPETTA, D.A.; CARCABOSO, A. Drug delivery systems in HIV pharmacotherapy: What has been done and the challenges standing ahead. *J. Control. Release.* v. 138, p. 2-15, 2009.
- STANDING, J.F.; TULEU, C. Paediatric formulations—getting to the heart of the problem. *Int. J. Pharm.* v. 300, p. 56-66, 2005.
- STARR, S.E.; FLETCHER, C.V.; SPECTOR, S.A.; BRUNDAGE, R.C.; YONG, F.H.; DOUGLAS, S.D.; FLYNN, P.M.; KLINE, M.W. Efavirenz liquid formulation in human immunodeficiency virus-infected children. *Pediatr. Infect. Dis. J.* v. 21, p. 659-663, 2002.
- SUBBARAMAN, L.N.; BAYER, S.; GLASIER, M.-A.; LORENTZ, H.; SENCHYNA, M.; JONES, L. Rewetting drops containing surface active agents improve the clinical performance of silicone hydrogel contact lenses. *Opt. Vis. Sci.* v. 83, p. 143-151, 2006.
- UNAIDS/WHO AIDS EPIDEMIC. In <http://www.unaids.org/en/HIV> (accessed 07/2009).
- VAN DYKE, R.B.; LEE, S.; JOHNSON, G.M.; WIZNIA, A.; MOHAN, K.; STANLEY, K.; MORSE, E.V.; KROGSTAD, P.A.; NACHMAN, S. Reported adherence as a determinant of response to highly active antiretroviral therapy in children who have Human Immunodeficiency Virus Infection. *Pediatrics* v. 109, p. 61-67, 2002.
- WHO/MAKE MEDICINES CHILD SIZE. In <http://www.who.int/child-medicines/en/> (accessed 07/2009).
- WINTERGERST, U.; HOFFMANN, F.; JANSSON, A.; NOTHEIS, G.; HUß, K.; KUROWSKI, M.; BURGER, D. Antiviral efficacy, tolerability and pharmacokinetics of efavirenz in an unselected cohort of HIV-infected children. *J. Antimicrob. Chemother.* v. 61, p. 1336-1339, 2008.
- YEUNG, V.W.; WONG, I.C.K. When do children convert from liquid antiretroviral to solid formulations? *Pharm. World Sci.* v. 27, p. 399-402, 2005.

NOTA SOBRE OS AUTORES

CATEGORIA INICIAÇÃO CIENTÍFICA – 1º LUGAR

Gabriela Schaab da Silva (*autora do trabalho*), 18 anos, brasileira, aluna do Ensino Médio e Técnico em Química na Fundação Escola Técnica Liberato Salzano Vieira da Cunha de Novo Hamburgo (RS), com término em 2011. Conhecimentos avançados em inglês e intermediários em espanhol e alemão. Experiência no exterior (Irlanda em 2009, Uruguai em 2002 e Alemanha em 2000). Elaboração de projetos de pesquisa nas áreas de Meio Ambiente, Bioquímica e Nanotecnologia, de 2007 a 2010, com duas participações na FEBRACE (SP- Brasil), duas participações na MOSTRATEC (NH- Brasil), uma participação na MILSET (MA- Brasil) e uma participação na INTEL ISEF (CA- Estados Unidos). Projeto premiado na área da saúde (2010).

Kawoana Trautman Vianna (*autora do trabalho*), 18 anos, brasileira, aluna do Ensino Médio e Técnico em Química na Fundação Escola Técnica Liberato Salzano Vieira da Cunha de Novo Hamburgo (RS), com término em 2011. Conhecimento intermediário em inglês. Participação na Olimpíada de Química do Rio Grande do Sul (2007 – 8º Lugar do RS) e do Brasil (2008). Elaboração de projetos de pesquisa nas áreas de Meio Ambiente, Bioquímica e Nanotecnologia, de 2007 a 2010, com duas participações na FEBRACE (SP- Brasil), três participações na MOSTRATEC (NH- Brasil), uma participação na MILSET (MA- Brasil) e uma participação na INTEL ISEF (CA- Estados Unidos). Projeto premiado na área da saúde (2010).

Sílvia Stanisquaski Guterres (*Professora-orientadora do trabalho*), 49 anos, brasileira, possui graduação em Faculdade de Farmácia pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS-1985), mestrado em Programa de Pós Graduação Ciências Farmacêuticas pela UFRGS (1990) e doutorado em Faculté de Pharmacie – Universite de Paris XI (Paris-Sud) (1995). Atual-

mente é professor associado III da UFRGS, atua na área de nanobiotecnologia e tecnologia farmacêutica, tem artigos e patentes publicados no tema e orientou vários mestres e doutores. É a Coordenadora de Rede Nanocosméticos (CNPq/MCT-2005), membro do Conselho Superior do Centro de Microscopia da UFRGS, do Centro de Nanociência da UFRGS (Cnano) e coordenadora da Rede Nanotecnologia Farmacêutica da CAPES.

CATEGORIA ESTUDANTE UNIVERSITÁRIO – 1º LUGAR

Daniel Grasseschi (*autor do trabalho*), 22 anos, brasileiro, aluno do 8º semestre do curso de Bacharelado em Química da Universidade de São Paulo (USP). Participa do projeto de pesquisa de desenvolvimento de sensores SERS utilizando nanorods metálicos.

Henrique Eisi Toma (*Professor-orientador do trabalho*), 61 anos, brasileiro, Professor Titular e Coordenador do Laboratório de Nanotecnologia Molecular da USP. Químico pela Universidade de São Paulo (USP), doutorou-se em 1974 e fez pos-doutorado na CALTECH. Foi Chefe do Departamento de Química da USP e é Pesquisador 1A do CNPq. Publicou 300 artigos científicos, com 5.000 citações (h = 34). Autor de 7 livros, orientou 57 mestres e doutorados. Recebeu 15 prêmios nacionais e internacionais, incluindo o TWAS Chemistry Prize, Guggenheim Award 1999, Fritz-Feigl 2001, Grã-Cruz da Ordem Nacional do Mérito Científico 2006. Membro da Academia Brasileira de Ciências e do Third World Academy of Sciences (TWAS).

CATEGORIA JOVEM PESQUISADOR – 1º LUGAR

Joner Oliveira Alves, 28 anos, brasileiro, Bacharel em Física e Mestre em Engenharia de Materiais pela Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP). Atuou como professor no Instituto Federal de Minas Gerais (IFMG), no campus Ouro Preto, e como pesquisador visitante na Northeastern University (Boston, EUA). Atualmente é Doutorando em Engenharia Metalúrgica e de Materiais na Universidade de São Paulo (USP) e Pesquisador pleno da ArcelorMittal Inox Brasil. Possui experiência em ensino e pesquisa, sendo suas principais áreas de interesse: nanotecnologia, siderurgia e tratamento de resíduos.

CATEGORIA INTEGRAÇÃO – 1º LUGAR

Aldo Felix Craievich, 71 anos, brasileiro, nascido na Argentina, Bacharel (1964) e Doutor (1969) em Física pelo Instituto Balseiro da Universidad Nacional de Cuyo, localizada em Bariloche/Argentina, com tese de doutorado realizada na Université Paris-Sud, França (1966-69). Desenvolve pesquisas sobre propriedades estruturais de nanomateriais utilizando principalmente técnicas de espalhamento e absorção de raios X, havendo publicado cerca de 250 artigos que receberam aproximadamente 2500 citações. Foi Diretor e Chefe do Departamento Científico do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS) do CNPq, Campinas-SP (1987-97), e Chefe do Departamento de Física Aplicada (2002-06) e Presidente da Comissão de Pesquisa (2007-08) do Instituto de Física da Universidade de São Paulo (USP). Desde 1980 é Membro Titular da Academia de Ciências do Estado de São Paulo e, desde 1990, possui Bolsa de Produtividade em Pesquisa do CNPq em Nível 1A.

Noemí Elisabeth Walsøe de Reca, 73 años, argentina, Doctora en Química de la Universidad de Buenos Aires, 1966, se especializó en Ciencia de Materiales en Technische Hochschule-München (Alemania), Centre d' Etudes Nucleaires de Saclay (Francia) y Université d' Orsay (Francia). Directora del Centro de INvestigaciones en SOLIDOS (CINSO) CONICET-CITEFA e Investigador Superior del CONICET. Desde 2007: Académica Correspondiente, Academia Nacional de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Publicó aproximadamente 300 trabajos científicos en revistas argentinas e internacionales, obtuvo 16 patentes de invención. Ha dirigido 33 tesis de grado y doctorado y numerosos trabajos de becarios. Su área de investigación actual abarca: "Materiales Nanoestructurados: Síntesis, Caracterización y Aplicaciones (Sensores de Gases y Celdas de Combustible)" y "Semiconductores monocristalinos para detección de radiaciones infrarroja, gama y X". Ha recibido numerosos premios por su trabajo científico.

Diego Germán Lamas, 43 años, argentino, investigador independiente de CONICET, investigador principal de CITEDEF (actualmente con licencia) y recientemente se incorporó a la Universidad Nacional del Comahue como profesor asociado. Se licenció en Física en 1992 y se doctoró en 1999 en la Universidad de Buenos Aires. En 1993 ingresó al Centro de Investigaciones en Sólidos, CONICET-CITEDEF, donde realizó las investigaciones de su tesis de doctorado y desde el año 2001 dirigió el área de nanomateriales para

celdas de combustible de óxido sólido. Publicó 66 trabajos en revistas internacionales y dirigió 4 tesis de doctorado y 4 de grado. En 2005 recibió el Premio Houssay de la SECyT y en 2007 el Premio Schumacher de la Academia Nacional de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales.

Marcia Carvalho de Abreu Fantini, 54 años, brasileira, Doutora em Física pelo IFGW-UNICAMP, Campinas, Brasil, em 1985. De 1987 a 1989 realizou pós-doutorado no Department of Physics do Brooklyn College da CUNY, NY, EUA. Desde 1989 é professora do IF-USP, São Paulo, Brasil. Obteve os títulos de Livre-Docente em 1995 e de Titular em 2008. Trabalha na investigação das propriedades morfológicas e estruturais de materiais utilizando raios X. Publicou 94 artigos em revistas científicas e uma patente internacional. Orientou 28 estudantes. No projeto de colaboração entre IF-USP e CINSO-CONICETCITEFA trabalhou com a técnica de EXAFS para a elaboração de modelos estruturais.

CATEGORIA INICIAÇÃO CIENTÍFICA – MENÇÃO HONROSA

Brian Samir Ginés Bejarano (*autor del trabajo*), 18 años, paraguayo, estudiante del 2do. Curso del Colegio Iberoamericano; presidente del Club de Ciencias Galileo Galilei y de la Academia Literaria ALSPV; Secretario General de la R.E.A.L.; Miembro de la CONADEH; Escritor del Centro Astronómico Bicentenario; Ganador del 1er. Puesto del Premio Mercosur de Ciencia y Tecnología 2009 - Categoría Iniciación Científica; Premio Juvenil de Ciencias Pierre et Marie Curie; Paraguayo Sobresaliente del Año 2009 por el diario Última Hora; Miembro de la Coordinación del Plan Nacional de Lectura; Miembro de la Comisión de Jóvenes Emprendedores de la UIP; Investigador con varios trabajos científicos realizados.

Fanny Elizabeth Florentín de Gonzalez (*profesora-orientadora*), 43 años, paraguaya, de profesión Química Analítica, es egresada de la Universidad Nacional de Asunción, en la Facultad de Química, y habilitada para la Docencia del Instituto Superior de Educación (I.S.E.). Ejerce la docencia en el Colegio Iberoamericano en las cátedras de Ciencias de la Naturaleza, Salud, y Química; además, es profesora en el Colegio Nacional San Vicente de Pal, Colegio Nacional Vicepresidente Sánchez, y en la Universidad Iberoamericana. Asimismo, es asesora del Club de Ciencias Galileo Galilei del Colegio Iberoamericano.

CATEGORIA ESTUDANTE UNIVERSITÁRIO – MENÇÃO HONROSA

Paulo Euzébio Cabral Filho (*autor do trabalho*), 22 anos, brasileiro, graduando do 6º semestre do curso de Biomedicina pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), onde exerce atividades de monitoria, extensão e pesquisa. Atualmente é aluno de iniciação científica do PIBIC/FACEPE/CNPq desenvolvendo, na UFPE, o projeto intitulado: “Nanocristais Fluorescentes de Semicondutores para Caracterização de Sistemas Biológicos - Imunomarcção de Antígenos Eritrocitários “A””. Participa dos grupos de pesquisas Nanoestruturas e Interfaces Biológicas e Óptica Biomédica. Trabalha na área de biofotônica com microscopia de fluorescência e pontos quânticos para aplicações biológicas sob a orientação da professora Adriana Fontes e co-orientações de Beate S. Santos e Patrícia M. A. Farias.

Adriana Fontes (*Professora-orientadora do trabalho*), 35 anos, brasileira, possui bacharelado (1996), mestrado (2000) e doutorado (2004) em Física pela Universidade Estadual de Campinas. Atualmente é professora adjunta da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), onde exerce atividades de ensino e pesquisa e orienta alunos de graduação, mestrado e doutorado. É bolsista de produtividade em pesquisa nível 2 do CNPq e jovem membro afiliado da Academia Brasileira de Ciências. Recebeu o Grant L’Oreal em Ciências Físicas em 2008 para jovens mulheres da Ciência, uma iniciativa da ABC, L’Oreal e UNESCO. Trabalha na área de biofotônica utilizando pinças ópticas, microscopias, espectroscopias e pontos quânticos para investigação de sistemas biológicos. É co-líder do grupo de Óptica Biomédica. É membro do grupo de pesquisa em Nanoestruturas e Interfaces Biológicas, onde desenvolve projetos em conjunto com Beate S. Santos e Patrícia M. A. Farias.

CATEGORIA JOVEM PESQUISADOR – MENÇÃO HONROSA

Diego Andres Chiappetta, 35 años, argentino, se graduó de Farmacéutico en la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires (UBA) en 2001, donde obtuvo también el título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires en 2006. Actualmente es Profesor Adjunto en la Cátedra de Farmacotecnia I de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UBA e Investigador Asistente del CONICET. Hasta el momento ha publicado 30 trabajos en revistas nacionales e internacionales y presentado 40 trabajos en Congresos nacionales e internacionales. Ha dictado varios seminarios en ámbitos académicos o de reuniones científicas y participa en proyectos vinculados con la Nanotecnología Farmacéutica.

NOTA SOBRE OS MEMBROS DA COMISSÃO DE AVALIAÇÃO

Professor Ary Mergulhão Filho, UNESCO/Brasil, Presidente da Comissão de Avaliação

Brasileiro com mestrado em Ciências pelo Instituto Tecnológico da Aeronáutica (ITA). Atuou como empresário e consultor de empresas. Orientou mais de sessenta trabalhos acadêmicos de graduação em 19 anos como professor universitário. Na esfera pública, atuou no Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e no Ministério da Ciência e Tecnologia na formulação e implantação de políticas para o setor. Atualmente é Oficial de Ciência e Tecnologia da UNESCO no Brasil.

Professor Guillermo R. Castro, Representante da RECyT/Argentina Argentino, Licenciado en Ciencias Químicas de la Universidad de Buenos Aires, Doctor de la Universidad de Buenos Aires en el Área de Ciencias Químicas. Becario de la Fundación PEW (EE.UU.); Director del Laboratorio de Nanobiomateriales, CINDEFI (Argentina). Prof. Adjunto de la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata (Argentina); *Adjunct Professor, Department of Biomedical Engineering, Tufts University* (EE.UU.), Investigador CONICET (Argentina). Representó a la Fundación Argentina de Nanotecnología en la Comisión.

Professor Joel Camargo Rubim, Representante da RECyT/Brasil Brasileiro com doutorado em Química pela USP, com pós-doutorado na Universidade de Düsseldorf (Alemanha) como bolsista da Fundação Alexander von Humboldt. Foi Professor do Instituto de Química da USP (1983-1998), onde obteve o título de Professor Livre Docente (1993). Desde 1998 é Professor do Instituto de Química da Universidade de Brasília, onde coordena o Laboratório de Materiais e Combustíveis (LMC). É Pesquisador 1B do CNPq.

Professor Juliano Chaker, Representante da RECyT/Brasil Brasileiro, Químico com doutorado na área de Ciência de Materiais e Físico-Química, pela Universidade de Paris XI e Universidade Estadual Paulista – UNESP. Atua na área de nanotecnologia, com ênfase em síntese e elaboração de materiais multifuncionais e técnicas avançadas de caracterização por radiação Síncrotron. Tem interação efetiva com renomados grupos de pesquisa no país e no exterior e conta com publicações em revistas de alto índice de impacto. Desenvolve projetos com temas envolvendo a polímeros orgânico-inorgânicos para liberação controlada de fármacos, membranas PEM para células combustível e nanopartículas antitumorais para terapia do câncer.