

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

# **Sistemas baseados em amido termoplástico: pectina contendo hidroxiapatita nanoestruturada visando liberação de fósforo em meio aquoso**

**MARIA FERNANDA DOS SANTOS**

Defesa de mestrado apresentada ao programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de São Carlos como parte dos requisitos à obtenção do **título de mestre em Biotecnologia**, área de concentração em Pesquisa e Desenvolvimento.

**Orientadores:** Dr. Daniel Souza Corrêa

Dr. José Dalton Cruz Pessoa

**Co-orientadora:** Dra. Elaine Cristina Paris

São Carlos – SP

2013

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da  
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

S237sb

Santos, Maria Fernanda dos.

Sistemas baseados em amido termoplástico : pectina contendo hidroxiapatita nanoestruturada visando liberação de fósforo em meio aquoso / Maria Fernanda dos Santos. -- São Carlos : UFSCar, 2013.  
65 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2013.

1. Biotecnologia. 2. Amido termoplástico. 3. Blendas poliméricas. 4. Hidroxiapatita. 5. Pectina. 6. Solubilidade. I. Título.

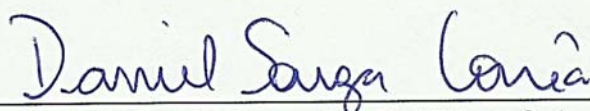
CDD: 660.6 (20<sup>a</sup>)

**Maria Fernanda dos Santos**

Dissertação de Mestrado submetida  
à Coordenação do Programa de  
Pós-Graduação em Biotecnologia,  
da Universidade Federal de São  
Carlos, como requisito parcial para  
a obtenção do título de Mestre em  
Biotecnologia

**Aprovado em: 28/06/2013**

**BANCA EXAMINADORA**



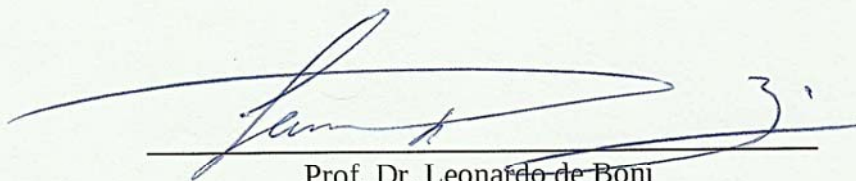
---

Prof. Dr. Daniel Souza Corrêa (Orientador)  
(Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária)



---

Prof. Dr. Marcos David Ferreira  
(Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária)



---

Prof. Dr. Leonardo de Boni  
(Instituto de Física de São Carlos/ USP)

Aos meus pais, Neide e Rubens, aos meus irmãos,

Neto e Vanessa e ao meu namorado Ricardo.

## **AGRADECIMENTOS**

Aos meus orientadores Dr. Daniel Souza Correa e Dr. José Dalton Cruz Pessoa pela orientação, ensinamentos e apoio que possibilitaram a realização desse trabalho.

A minha co-orientadora Dra. Elaine Cristina Paris pelas inúmeras horas orientando, ensinando e ajudando no desenvolvimento do trabalho sempre com muita paciência, dedicação, compreensão e amizade.

A minha amiga Camila R. Sciena, pela ótima convivência durante a realização deste trabalho, colaboração e amizade.

A minha amiga Alice Raabe pela colaboração no trabalho experimental e pela amizade.

Aos meus colegas de trabalho Luiz, Érico e Henrique pela amizade.

A todos da Embrapa Instrumentação, especialmente à Adriana C. Thomazi, Luiz F. de Mattêo Ferraz, Paulo R. O. Lasso e Viviane F. Soares pela ajuda indispensável na realização das análises durante o desenvolvimento do trabalho.

Ao Dr. José Manoel Marconcini pelas excelentes sugestões no decorrer do trabalho.

Ao Francys K. V. Moreira pela contribuição nas preparações e formulações das blendas poliméricas.

As amigas Dra. Alexandra Manzoli e Dra. Luiza Mercante pela colaboração na finalização do trabalho.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em biotecnologia, aos pesquisadores e colegas da Embrapa Instrumentação, que de alguma forma contribuíram para realização deste trabalho.

Aos meus pais Neide Z. dos Santos e Rubens dos Santos Jr pela vida, apoio, confiança e presença em todas as horas, sem eles eu não teria alcançado mais esta vitória na minha vida.

As minhas amigas Rafaella Takehara Paschoalin, Juliana Scramin e Tassiane Corrêa pela amizade e incentivo.

Ao meu namorado Ricardo Agnoletto, pelo amor, incentivo, apoio e compreensão dedicados em todos os momentos.

Pelo amor e carinho dos meus irmãos Neto e Vanessa.

Ao amor e carinho dos meus sobrinhos Mateus e Vinícius.

Ao apoio dos meus cunhados Adriano, Janaína e Juliano.

A Embrapa Instrumentação pela disponibilidade dos laboratórios e da infraestrutura utilizadas, para execução do trabalho experimental.

A todos que contribuíram com equipamentos, metodologias, análises, críticas, sugestões e discussões.

A Deus, pela luz ao longo de todo o caminho e por me proporcionar o privilégio de ter tantos a agradecer por mais esta etapa vencida.

A CAPES pelo auxílio financeiro disponibilizado para realização deste trabalho.

A todos, o meu sincero muito obrigada.

## SUMÁRIO

<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	<b>VII</b>
<b>ÍNDICE DE TABELAS</b>	<b>IX</b>
<b>LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIações</b>	<b>X</b>
<b>RESUMO</b>	<b>XI</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>XII</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>1</b>
1.1. Caracterização do Problema Focalizado pelo Projeto	1
1.2. Fertilizantes Minerais	2
1.3. Apatitas	4
1.3.1. Hidroxiapatita	5
1.3.2. Solubilidade da Hidroxiapatita	7
1.3.3. Métodos de Síntese da HAP	9
1.3.3.a. Coprecipitação	10
1.3.3.b. Método Hidrotermal	11
1.4. Polímeros Biodegradáveis	13
1.4.1. Amido	14
1.4.2. Pectina	15
1.4.3. Blendas Amido:Pectina (TPS:PEC)	16
1.4.4. Processamento de Blendas	17
<b>2. OBJETIVO</b>	<b>20</b>
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>21</b>
3.1. Sequência metodológica	21
3.2. Materiais	22
3.3. Síntese da HAP	22
3.3.1. Método Hidrotermal	23
3.4. Técnicas de caracterização - HAP	24

3.4.1. Difração de raios X.....	24
3.4.2. Espectroscopia na Região do Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).....	25
3.4.3. Potencial Zeta.....	25
3.4.4. Isotermas de adsorção/dessorção de N <sub>2</sub> .....	26
3.4.5. Microscopia Eletrônica de Varredura com Fonte de Emissão de Campo (MEV-FEG).....	26
<b>3.5. Preparação das Blendas Poliméricas.....</b>	<b>26</b>
3.5.1. Prensagem Térmica e Conformação.....	28
<b>3.6. Métodos de caracterização – Blendas Poliméricas.....</b>	<b>29</b>
3.6.1. Difração de raios X.....	29
3.6.2. Microscopia Eletrônica de Varredura.....	29
3.6.3. Termogravimetria(TGA/DTG).....	30
<b>3.7. Preparação dos Sachês de Amido Termoplástico:Pectina.....</b>	<b>30</b>
<b>3.8. Determinação da concentração de fósforo.....</b>	<b>31</b>
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>33</b>
<b>4.1. Caracterização das nanopartículas de hidroxiapatita.....</b>	<b>33</b>
4.1.2. Microscopia Eletrônica de Varredura com Fonte de Emissão de Campo (MEV-FEG).....	33
4.1.3. Método de Brunner-Emmett-Teller (BET) e Potencial Zeta.....	36
4.1.4. Difração de raios X.....	38
4.1.5. Espectroscopia na Região do Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).....	39
<b>4.2. Caracterização das Blendas Poliméricas.....</b>	<b>41</b>
4.2.1. Difração de raios X.....	41
4.2.2. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) dos filmes das blendas poliméricas.....	42
4.2.3. Análise Termogravimétrica.....	44
4.2.4. Solubilização dos Sachês TPS:PEC.....	46
<b>4.3. Determinação da concentração de fósforo.....</b>	<b>48</b>
<b>5. CONCLUSÕES.....</b>	<b>55</b>
<b>6. SUGESTÕES PARA TRABALHO FUTUROS.....</b>	<b>56</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>57</b>



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Representação da cela unitária da Hidroxiapatita: (a) vista lateral e (b) vista superior: verde $\text{Ca}^{2+}$ , violeta $\text{P}^{5+}$ , vermelho $\text{O}^{2-}$ e branco $\text{H}^{1+}$ .....	6
<b>Figura 2.</b> Estrutura química do amido.....	14
<b>Figura 3.</b> Estrutura química da pectina.....	16
<b>Figura 4.</b> Fluxograma da sequência da metodologia utilizada no trabalho.....	21
<b>Figura 5.</b> Fluxograma de obtenção das nanopartículas de HAP por coprecipitação.....	23
<b>Figura 6.</b> Representação esquemática do sistema de hidrotermalização.....	24
<b>Figura 7.</b> Misturador de câmara interna Haake.....	28
<b>Figura 8.</b> Ilustração da prensagem térmica da Blenda TPS:PEC.....	29
<b>Figura 9.</b> Imagens obtidas por microscopia eletrônica das amostras de HAP na forma de pós e a respectiva distribuição do diâmetro médio de partículas. Os tempos de hidrotermalização foram de a) 0, b) 12, c) 24, d) 36, e) 48, f) 60, g) 72, h) 84 e i) 96 h.....	35
<b>Figura 10.</b> Difrátogramas de raios X das amostras de hidroxiapatita obtidas por coprecipitação e hidrotermalizadas a $150^{\circ}\text{C}$ por 0, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 e 96 h.....	39
<b>Figura 11.</b> Espectros na região do infravermelho (FTIR) das amostras de HAP em função do tempo de hidrotermalização a) 0, b) 12, c) 24, d) 36, e) 48, f) 60, g) 72, h) 84 e i) 96 h.....	40
<b>Figura 12.</b> Difrátogramas de raios X dos filmes das blendas poliméricas, a) 100PEC:30G, b) 100PEC:40G, c) 100TPS:40G, d) 50TPS:50PEC:30G, e) 50TPS:50PEC:40G, f) 25TPS:75PEC:30G e g) 25TPS:75PEC:40G.....	42
<b>Figura 13.</b> Imagens obtidas por MEV das seções transversais dos filmes de blendas TPS:PEC: a) 100PEC:30G, b) 100PEC:40G, c) 100TPS:40G, d) 50TPS:50PEC:30G, e) 50TPS:50PEC:40G, f) 25TPS:75PEC:30G e g) 25TPS:75PEC:40G.....	44
<b>Figura 14.</b> Curva TGA e DTG para a blenda TPS/PEC: a) 100PEC:40G, b)100TPS:40G, c) 100PEC:0G, d) 100TPS:0G, e) 50TPS:50PEC:40G e f) 25TPS:75PEC:40G.....	46

- Figura 15.** Fotos (vista superior) dos sachês das blendas poliméricas TPS:PEC contidos em béqueres de água, evidenciando sua solubilização com o tempo. a) 100PEC:40G, b) 100TPS:40G, c) 50TPS:50PEC:40G e d) 25TPS:75PEC:40G.. 48
- Figura 16.** Espectro de absorção na região do UV-Vis das amostras de HAP hidrotermalizadas por 0, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 e 96 h após a solubilização e obtenção do complexo fosfomolibdato. .... 49
- Figura 17.** Curva analítica das soluções padrão de fósforo nas concentrações de 0,5, 2,5 e 5 mg L<sup>-1</sup> ..... 50
- Figura 18.** Curvas da variação da concentração de fosfato nas suspensões, com diferentes massas da HAP não hidrotermalizada, em função do tempo de retirada das alíquotas. .... 51
- Figura 19.** Curva de solubilidade da HAP em função do tempo de retirada de alíquotas para as amostras hidrotermalizadas a 0, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 e 96 h. Massa de HAP igual a 0,05 g mL<sup>-1</sup>. .... 52
- Figura 20.** Curva de solubilidade da HAP armazenada nos sachês poliméricos TPS:PEC em função do tempo de retirada de alíquotas para as amostras hidrotermalizadas a 0, 48 e 96 h. Massa de HAP igual a 0,05 g mL<sup>-1</sup>. .... 53

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Reagentes utilizados nos experimentos.....	22
<b>Tabela 2.</b> Formulações utilizadas para preparação das blendas TPS:PEC.....	27
<b>Tabela 3.</b> Valores de diâmetro médio obtido por meio das imagens de FEG, valores de área superficial e valores do potencial Zeta para as diferentes amostras de HAP hidrotermalizadas a 150°C de 0 a 96 h.....	37

## LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIACÕES

AS	Área superficial
BET	<i>Brunauer-Emmet-Teller</i>
Cu K $\alpha$	Radiação monocromática da camada K $\alpha$ do cobre
DM	Diâmetro médio
DRX	Difração de raios X
DTG	Derivada da curva termogravimétrica
FTIR	Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier
G	Glicerol
HAP	Hidroxiapatita
JCPDS	<i>Joint Committee of Powder Diffraction Standards</i>
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MEV-FEG	Microscopia Eletrônica de Varredura com Fonte de Emissão de Campo
PEC	Pectina
TGA	Análise Termogravimétrica
TPS	<i>Thermoplastic Starch</i>
UV-vis	Ultravioleta-visível
$\zeta$	Potencial Zeta

## **Resumo**

A necessidade do emprego de fertilizantes minerais, para o aumento da produção agrícola, aliada ao alto índice de importação deste insumo pelo Brasil, tem motivado o desenvolvimento científico e tecnológico de fertilizantes com desempenho elevado. Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo a síntese de nanopartículas de hidroxiapatita (HAP) pelo método de coprecipitação, e o envelhecimento das mesmas por hidrotermalização. Avaliou-se também a solubilidade da HAP obtida na forma de pós em diferentes tempos de hidrotermalização, visando acompanhar a dependência da solubilidade em solução aquosa com os diferentes tamanhos de partículas e condições de cristalização. Com a finalidade de controlar a liberação de íons fosfato da HAP, visando posterior aplicação no solo como fertilizante, foi utilizada uma metodologia de armazenamento das nanopartículas em filmes de blendas poliméricas com diferentes porcentagens mássicas de amido termoplástico (TPS) e pectina (PEC). Estes filmes foram utilizados como “sachês” para acondicionar as nanopartículas de HAP. Para avaliar a melhor composição das blendas a ser empregada, investigou-se a degradação dos sachês em solução aquosa. A avaliação da solubilidade das nanopartículas de HAP foi realizada por intermédio da determinação da concentração de íons fosfato em meio aquoso, utilizando-se a metodologia do azul de molibdênio. Os resultados obtidos para a HAP, não armazenadas em sachê, indicaram que a maior solubilização foi obtida para as nanopartículas sem tratamento hidrotermal, as quais apresentaram menor tamanho de partículas e cristalinidade inferior às hidrotermalizadas. Após o armazenamento no interior do sachê TPS:PEC, observou-se que ambas as nanopartículas, com e sem tratamento hidrotermal, apresentaram elevada solubilidade, o que pode ser devido à diminuição do pH do meio, ocasionado pela degradação dos sachês poliméricos. A partir destes resultados foi possível concluir que a incorporação da HAP no interior de sachês poliméricos pode ser uma alternativa para minimizar os efeitos de lixiviação e proporcionar a liberação controlada de fósforo, uma vez que os polímeros empregados (amido e pectina) apresentam elevada biodegradabilidade.

## **Abstract**

The use of fertilizers to increase agricultural production, combined to the high import rate of this resource by Brazil, has motivated scientific and technological development of high performance fertilizers. In this context, here we aimed at the synthesis of hydroxyapatite nanoparticles (HAP) by coprecipitation method followed by hydrothermal treatment. HAP solubility obtained at different hydrothermal aging was evaluated to monitor the dependence of solubility in aqueous solution with particle size and crystallization condition. In order to control the release of phosphate ions from HAP, aiming at application in soil as a fertilizing resource, the methodology used was based on placing the nanoparticles inside sachets-like compartments. Such sachets are composed by polymeric films containing different percentages of thermoplastic starch (TPS) and pectin (PEC). The best composition of the blends was determined by investigating the degradation of sachets in aqueous solution. The solubility of the HAP nanoparticles was evaluated by measuring the concentration of phosphate ions in aqueous solution, using the molybdenum blue colorimetric method. The results showed that the nanoparticles without hydrothermal treatment presented high solubility, lower particle size and crystallinity. After storage inside the polymeric sachet, it was observed that both the nanoparticles with and without hydrothermal treatment have high solubility, which may be due to a decrease in the pH caused by polymer degradation. From these results it was concluded that the incorporation of HAP inside the polymeric sachets could be an alternative to minimize the effects of leaching and provide controlled release of phosphorus, since the polymers employed (starch and pectin) show high biodegradability.

## **1. Introdução**

### **1.1. Caracterização do Problema Focalizado pelo Projeto**

O agronegócio brasileiro apresenta uma importante função para o desenvolvimento e produção em larga escala de alimentos de uma maneira sustentável. Os fertilizantes são responsáveis por incrementar cerca de um terço da produção agrícola nacional chegando a ser responsáveis, em alguns países, por até 50% das respectivas produções nacionais [1]. O Brasil importa fertilizantes fosfatados, enquanto poderia ser autossuficiente se houvessem maiores investimentos em pesquisas para incorporar novas tecnologias nestes insumos. Por isso, o conhecimento sobre a função e a importância dos fertilizantes na agricultura moderna é de extrema importância para a economia brasileira [2].

Nos últimos anos, o fosfato de rocha tem sido avaliado para aplicação direta no solo como fertilizante [3]. Um dos fosfatos de cálcio mais abundantes encontrados na natureza é a hidroxiapatita, tornando-se uma alternativa interessante para aplicação como fertilizante mineral, exceto pela sua característica de baixa solubilidade em meio aquoso [4]. Para isto, metodologias que possibilitem o aumento da solubilidade, tal como, o controle do tamanho das partículas, podem fazer com que a hidroxiapatita se torne uma fonte de fósforo viável para esta finalidade. Uma alternativa interessante para esta aplicação é a utilização de fertilizantes em condições que apresentem permanência longa no solo, evitando a lixiviação. Uma possível alternativa para este problema é o emprego de materiais de revestimento para fertilizantes, sendo necessária a investigação de fontes com baixo impacto ambiental [5]. Uma opção como material de revestimento são os polímeros biodegradáveis, que já apresentam a vantagem de serem compostos por matérias-primas que podem ser reinseridas nos ciclos biogeoquímicos da natureza [6, 7]. Os estudos voltados a novas aplicações e ao aproveitamento de materiais disponíveis na natureza, buscando um aumento na fertilidade do solo, podem ser excelentes alternativas para aprimorar a produtividade agrícola.

## 1.2. Fertilizantes Minerais

Para o desenvolvimento dos vegetais são essenciais 16 nutrientes, divididos entre micro e macronutrientes provenientes do solo, água e ar. Além disso, muitos elementos em abundância no planeta não são absorvidos pelas plantas ou o processo de absorção é muito lento, tornando-se necessária a adição de alguns destes nutrientes em formas mais acessíveis, buscando suprir as deficiências dos vegetais e aumentar a produtividade [8]. Os fertilizantes minerais podem suprir a deficiência destas substâncias vitais para os vegetais, uma vez que podem conter elementos minerais, naturais ou sintéticos essenciais para o desenvolvimento das plantas, influenciando assim, diretamente na produtividade agrícola [1, 8].

O fósforo (P) é o segundo macronutriente mais importante requerido para o crescimento e desenvolvimento das plantas e não pode ser substituído por nenhum outro elemento mineral. O fósforo é um componente do ATP (adenosina trifosfato), participando dos principais processos de energia como a fotossíntese, por intermédio da conversão de energia luminosa em energia química, e também um constituinte da estrutura molecular do DNA e RNA que são responsáveis pela transmissão genética. A deficiência de P em vegetais é um dos maiores limitantes na produção agrícola mundial, pois pode prejudicar seu desenvolvimento, comprometendo a produção de sementes ou restringindo o crescimento da planta, fato este, que não pode ser recuperado durante o desenvolvimento da mesma [3].

Dependendo do método de aplicação dos diferentes tipos de fonte de fósforo e das condições do solo, pode ocorrer um desequilíbrio microbiológico com perda dos nutrientes, sendo que aplicações em doses elevadas podem acarretar danos às raízes das plantas em início de desenvolvimento [9]. A dose necessária de fósforo varia de acordo com a quantidade de íons fosfato solúveis em água e do tipo de solo, que deve ser criteriosamente analisado antes da definição das doses e da adição de fertilizantes fosfatados [10]. No caso do cultivo de milho, por exemplo, as doses de fósforo recomendadas são altas, em torno de 20 a 30%, decorrente da alta capacidade de adsorção do fósforo pelo solo, o que reduz consequentemente a disponibilidade para as plantas [10].



Do fósforo total disponível, apenas 0,1% está na forma solúvel para absorção pelas plantas [11]. Após a adição de fertilizante fosfatado solúvel no solo, ocorrem reações de adsorção das partículas na superfície do solo e/ou a difusão do fósforo no interior do mesmo [12]. O fósforo é absorvido pelas raízes das plantas principalmente sob a forma do íon dihidrogenofosfato ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ), que é a espécie predominante na faixa de pH entre 4 e 8, comumente encontrada no solo [13].

Os fertilizantes tradicionais de fósforo obtidos a partir de fosfato de rocha são baseados no processamento químico de fosfato mineral insolúvel, o qual possui uma concentração elevada de minério [14]. Este processamento é realizado em temperatura elevada e em meio de ácido sulfúrico, tornando o processo não favorável em termos energéticos e ambientais, além de oneroso [11].

Outra possível forma de utilização dos fosfatos de rocha como fertilizantes é por intermédio do aumento da reatividade, empregando-se ativação mecânica. Este processo é determinado pela quantidade de energia empregada durante o tratamento mecânico e a estabilidade da estrutura apresentada pelo material [15]. Durante a ativação mecânica podem ser aplicadas diferentes intensidades de força e tempos de moagem. À medida que o tamanho da partícula diminui é necessário aumentar a força inicial aplicada ou o tempo de moagem, uma vez que com a diminuição no tamanho das partículas, espera-se que ocorra um aumento da solubilidade dos fosfatos de rocha [16].

Chaikina e Aman [16] utilizaram um moinho planetário para investigar o efeito da ativação mecânica de apatita sedimentar e obtiveram partículas com maior área superficial devido ao menor tamanho das mesmas, em torno de 5 a 50 nm. Estes resultados estão de acordo com Tõnsuaadu *et al.* [15], que mostraram uma diminuição do tamanho dos cristais da apatita após a moagem em um moinho planetário, levando ao aumento da área superficial com consequente aumento da solubilidade.

Dessa maneira, verifica-se que o controle do tamanho de partículas é de fundamental importância para o domínio da solubilidade de apatitas, a fim de possibilitar o emprego destes compostos na forma de fertilizantes particulados. Além disso, sabendo-se o tamanho ideal para esta aplicação, este conhecimento

contribui para a utilização dos fosfatos de rocha por meio da técnica de moagem, o qual busca aumentar a reatividade da HAP.

### 1.3. Apatitas

Pertencente à família dos fosfatos de cálcio, as apatitas são um dos minérios mais abundantes na crosta terrestre. As apatitas se formam em condições variadas e são o principal componente mineral da rocha fosfática. As principais origens destes depósitos fosfáticos são magmática ou sedimentar, podendo ser encontrados na Rússia, Brasil, África, Estados Unidos, entre outros [17].

A estrutura geral da apatita é  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{X}_2$  e pode ser encontrada na forma hexagonal ou monocínica. A família das apatitas inclui a cloroapatita, fluoroapatita e hidroxiapatita, que se diferenciam pelos seus ânions predominantes,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{F}^-$  e  $\text{OH}^-$  respectivamente [18].

Substituições químicas na estrutura da apatita podem ocasionar alterações quanto à solubilidade, dureza, fragilidade, estabilidade térmica e propriedades ópticas do material [19]. A fluoroapatita, por exemplo, é encontrada na superfície do esmalte dos dentes e também é frequentemente utilizada em produtos dentais fluoretados [19].

As apatitas tem se destacado por apresentar baixa toxicidade devido à natureza química deste material, formado basicamente por íons cálcio e fosfato [20]. Estas propriedades fazem com que as apatitas sejam extensivamente empregadas em diversas áreas, como geológica, médica e odontológica [19, 20].

Atualmente muitos estudos investigam a apatita a fim de compreender o comportamento deste mineral em diferentes ambientes, buscando um detalhamento quanto à composição, estrutura e efeitos das composições químicas na estrutura da apatita [17]. A hidroxiapatita será melhor discutida nos próximos itens por ser o material de interesse no presente trabalho.

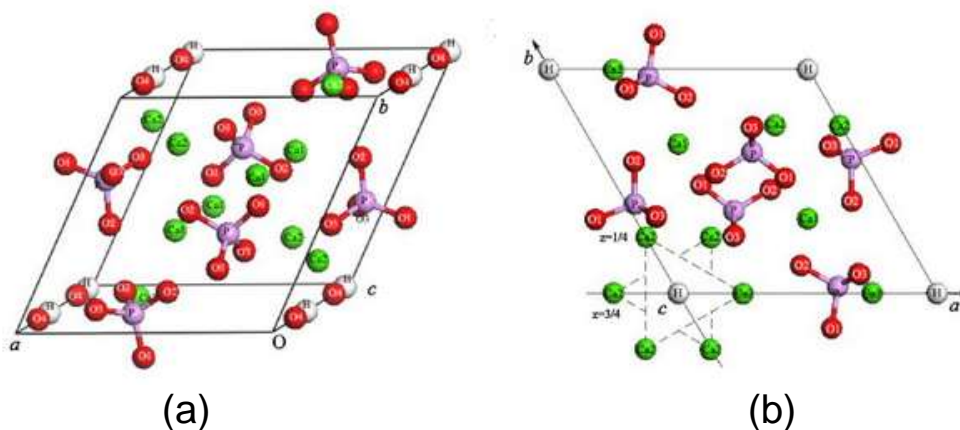
### 1.3.1. Hidroxiapatita

A hidroxiapatita (HAP) é um material biocerâmico encontrado na natureza nas formas hexagonais e monoclinicas de composição química  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , pertencente à família das apatitas de cálcio [21, 22]. O nome hidroxiapatita é formado pela junção das palavras *Hidroxi* e *apatita*, em que *hidroxi* refere-se ao grupo hidroxila (OH) e *apatita* é um nome mineral que vem do grego e significa “decepciono” por ser confundida com turmalina ou berilo [23].

A HAP é um constituinte mineral natural encontrado nos ossos e dentes, com uma composição de cerca de 30 a 70%. Este material vem sendo muito utilizado para recuperação de tecidos ósseos devido sua alta biocompatibilidade e osteocondutividade [24-26]. Porém, a HAP apresenta certa fragilidade dificultando sua aplicação ortopédica em regiões ósseas responsáveis por sustentar grande massa do corpo humano [27]. Por esta razão, cerâmicas de HAP são usadas na ortopedia maxilo-facial e cirurgias de implante dentário, isoladamente, ou em combinação com outros materiais como silicatos, os quais têm aumentado acentuadamente o desempenho biológico da HAP estequiométrica.

A HAP também vem sendo estudada para aplicações em catálise, devido à incomum propriedade de possuir sítios ácidos, representados pelos cátions  $\text{Ca}^{2+}$ , e sítios básicos, representados pelos ânions  $\text{PO}_4^{3-}$ , em uma única cela da estrutura cristalina [21].

Morfologicamente, a HAP pode alterar-se de acordo com o método de reação química empregado, e suas propriedades estão diretamente relacionadas com sua pureza, cristalização, estequiometria e estrutura. A razão Ca/P da HAP pura é de 1,67, sendo que quando esta razão molar é inferior a este valor a HAP é considerada deficiente em cálcio [28, 29]. A representação da cela unitária hexagonal da HAP consiste no arranjo de íons de  $\text{Ca}^{2+}$  (cálcio),  $\text{PO}_4^{3-}$  (fosfato) e  $\text{OH}^-$  (hidroxila), conforme representado na Figura 1 [26].



**Figura 1.** Representação da cela unitária da Hidroxiapatita: (a) vista lateral e (b) vista superior: verde Ca<sup>2+</sup>, violeta P<sup>5+</sup>, vermelho O<sup>2-</sup> e branco H<sup>1+</sup> [26].

A HAP possui uma estrutura que permite facilmente substituições isomórficas que podem alterar os parâmetros de rede, a cristalinidade, a dimensão dos cristais, a estabilidade e a sua solubilidade. As hidroxilas podem ser substituídas por carbonatos, fluoretos e cloretos; os grupos fosfatados por carbonatos e vanadatos, o Ca<sup>2+</sup> por cátions metálicos como o Pb<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Sr<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+</sup>, etc [30]. A presença de cátions e ânions incorporados, ou não, à estrutura cristalina da HAP pode estabilizar ou desestabilizar diferentes fases de fosfato de cálcio durante os processos de nucleação e crescimento do cristal. Das diversas substituições iônicas possíveis na estrutura da HAP, a de maior relevância é a de grupos aniônicos pelo íon carbonato (CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>) que provoca mudanças na morfologia, solubilidade, deformação, tamanho do cristal e nos parâmetros de rede da cela unitária [21]. Tais alterações influenciam diretamente nas propriedades da HAP, sendo que as condições de síntese precisam ser controladas para que haja controle da estequiometria e conseqüentemente da solubilidade deste material.

As características estruturais, o tamanho e a distribuição das partículas refletem diretamente nas propriedades relacionadas à solubilidade da HAP, que são de grande interesse no presente trabalho, deste modo os parâmetros de síntese precisam ser cuidadosamente investigados.

### 1.3.2. Solubilidade da Hidroxiapatita

De acordo com Mayo *et al.* [31], as nanopartículas têm uma tendência muito maior para dissolver do que partículas maiores, o que pode ser atribuído a maior área superficial característica de partículas com dimensões nanométricas, podendo a solubilidade aumentar em até 10.000 vezes comparada às partículas micrométricas. Esta dependência da solubilidade em relação ao tamanho de partículas foi representada matematicamente por Ostwald-Freundlich por meio da Equação 1:

$$S_d = S_0 \cdot \exp\left(\frac{\gamma V_m}{RTd}\right) \quad (1)$$

em que,  $R$  é a constante universal dos gases,  $T$  é a temperatura absoluta,  $V_m$  é o volume molar do soluto,  $S_d$  é a solubilidade de pequenas partículas com diâmetro  $d$ ,  $S_0$  é a solubilidade do equilíbrio e  $\gamma$  a tensão superficial [32].

Shellis *et al.* [33] analisaram a solubilidade de carbono apatitas preparadas por precipitação e por hidrólise após 24 h em solução tampão, e observaram que as amostras obtidas por precipitação apresentaram maior solubilidade comparada às obtidas por hidrólise. Os autores relacionaram a diferença de solubilidade entre as amostras à diferença de tamanho das partículas, sendo que a hidrolisada não resultou em partículas uniformes, consistindo em cristais grandes e pequenos, atribuindo-se assim, a baixa solubilidade desta amostra aos cristais maiores.

Estudos têm sido desenvolvidos sobre a solubilidade da HAP nas escalas nano- e micrométricas, porém o comportamento deste sólido em solução aquosa ainda não está totalmente elucidado; há controvérsias em relação à formação de um produto de solubilidade definido para este composto [34]. Entretanto, funções termodinâmicas para a HAP, a partir das quais o produto de solubilidade possa ser calculado com confiabilidade têm sido reportadas [35, 36]. O aparente comportamento anômalo da solubilidade da HAP em solução aquosa tem sido explicado por meio de um modelo que descreve a formação de complexos sobre a superfície do sólido. Este modelo supõe que o equilíbrio entre as fases sólida e líquida não é encontrado na porção cristalina da HAP, mas com as camadas superficiais, as quais possuem composição química diferente daquela do *bulk*.

Entre os fatores que afetam a solubilidade da HAP, além do tamanho de partículas, destacam-se: o pH do meio, a estequiometria, a cristalinidade e o método de síntese [29, 37]. Alguns estudos indicam que, geralmente, a hidroxiapatita é solúvel em soluções ácidas, insolúvel em soluções alcalinas e pouco solúvel em água. A solubilidade da HAP pode ser aumentada por intermédio da adição de eletrólitos, ou ainda, pode ser modificada pela presença de aminoácidos, proteínas, enzimas e outros compostos orgânicos [38]. Klein *et al.* [39] analisaram amostras de fosfatos de cálcio, incluindo hidroxiapatita, variando o pH em 6,2 e 7,2 e os resultados obtidos mostraram que a solubilidade diminui com o aumento do pH do meio. Estes resultados corroboram com os obtidos por Skartsila e Spanos [40] que pesquisaram as propriedades da hidroxiapatita em solução ácida em diferentes concentrações por meio de titulação potenciométrica. Os autores verificaram que, com a dissolução da hidroxiapatita, íons  $H^+$  foram consumidos na solução, e que este fenômeno é intensificado pela diminuição do pH, principalmente em soluções com valores de pH muito baixos, aumentando bruscamente a dissolução do material.

Em relação à composição da HAP, as substituições iônicas de carbonato tem demonstrado um aumento da solubilidade do material, enquanto que, substituições por flúor na estrutura da HAP diminuem a solubilidade [29]. Comparações de solubilidade entre HAP estequiométrica e não estequiométrica mostram que a HAP estequiométrica tem a solubilidade reduzida quando comparada a não estequiométrica e que conforme a razão Ca/P aumenta, o produto de solubilidade diminui [29].

A cristalinidade é outro fator que afeta o comportamento da HAP em meio aquoso, sendo que as que possuem maior cristalinidade tendem a ser mais insolúveis, enquanto as menos cristalinas apresentam maior solubilidade [29].

Dessa maneira, a escolha da rota sintética empregada tem papel fundamental na solubilidade do material, uma vez que o tamanho das partículas, a composição estequiométrica e a cristalinidade são totalmente dependentes da mesma. Assim, a escolha do método de síntese da HAP é uma etapa fundamental para obtenção de partículas com solubilidade controlada.

### 1.3.3. Métodos de Síntese da HAP

O desenvolvimento de métodos de síntese de materiais nanoestruturados que permitam um total controle quanto à formação de fases cristalinas, tamanho e forma das partículas, e que resultem em materiais não aglomerados torna-se necessários. A escolha da metodologia empregada é fundamental para as aplicações do produto final, uma vez que as propriedades das nanopartículas de HAP dependem do processo utilizado para sua obtenção, devido à alta complexidade e diversificação dos fosfatos de cálcio [21, 24, 25, 41]. Variações de pH, temperatura e tempo de adição de reagentes interferem nas características dos nanocristais de apatita [21, 42]. Modificações nos métodos de síntese têm sido empregadas para obtenção de pós com estequiometria, grau de cristalinidade, morfologia ou substituições iônicas de acordo com a aplicação de interesse [25]. Há uma variedade de métodos para obtenção de hidroxiapatita, sendo os de maior destaque: método sol-gel, coprecipitação e hidrotermal.

A técnica sol-gel consiste na mistura estequiométrica de cálcio e fósforo, utilizando-se como precursores alcóxidos e/ou sais dos respectivos cátions e ânions que compõem a fase inorgânica final esperada, como o ácido fosfórico e o nitrato de cálcio. Estes compostos são solubilizados em água e alcoóis, ocasionando a condensação com a consequente formação de um gel homogêneo [20, 21]. Esta técnica foi utilizada por Liu *et al.* [43], empregando-se trietilfosfito e nitrato de cálcio como precursores de fósforo e cálcio diluídos em água e etanol respectivamente. A solução ficou estável, sem gelatinização, por 5 dias, e após a remoção do solvente a 60°C formou-se um gel branco que foi posteriormente calcinado a temperatura de 350°C. Os autores observaram que o aumento do tempo de calcinação resultou no crescimento dos cristais de HAP [43].

O método de coprecipitação seguido por calcinação foi empregado por Mobasherpour *et al.* [25, 41], os quais obtiveram HAP a partir de uma solução de nitrato de cálcio, fosfato de amônio e hidróxido de amônio para ajustar o pH. Os resultados mostraram sucesso na obtenção de partículas nanométricas por meio da técnica de precipitação. Os autores observaram um aumento no tamanho das nanopartículas com o aumento da temperatura de tratamento de 100 para 1.200°C.

A obtenção de HAP pelo método hidrotermal foi verificada por Neira *et al.* [44], que sintetizaram HAP utilizando como precursores nitrato de cálcio tetrahidratado, fosfato diamônio e uréia. Estes autores observaram que o aumento no pH da solução durante o processo hidrotermal empregando uma temperatura de 90°C favoreceu a formação de hidroxiapatita monocristalina com morfologia hexagonal bem definida.

Os métodos de síntese por coprecipitação e hidrotermal empregados para obtenção da HAP, que são de interesse no presente trabalho, são discutidos detalhadamente nos itens 1.3.3.a e 1.3.3.b.

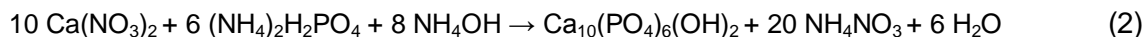
### **1.3.3.a. Coprecipitação**

O método de coprecipitação é um dos mais utilizados para a obtenção da HAP. Este método envolve reações em meio aquoso entre precursores de cálcio e fósforo, com controle de pH e temperatura. A natureza do reagente é referente à sua composição, podendo ou não, apresentar íons indesejados alterando características morfológicas e cristalográficas. A solução deve estar supersaturada para que ocorra o processo de nucleação e conseqüentemente, formação de nanopartículas [45, 46]. A adição dos reagentes influencia na taxa de nucleação dos cristais e a velocidade do gotejamento está diretamente relacionada à cinética da reação, em que a lenta adição de íons fosfato proporciona maior taxa de crescimento e menor taxa de nucleação, obtendo-se partículas de maior tamanho, enquanto que se ocorrer uma rápida adição dos reagentes um maior número de núcleos se forma sem que haja tempo suficiente para o crescimento de partículas [47, 48]. Portanto, parâmetros como concentração e natureza dos reagentes, temperatura da reação, pH e tempo de envelhecimento precisam ser cuidadosamente controlados neste método por serem variáveis críticas para a pureza e características cristalográficas do material obtido [21, 42, 46].

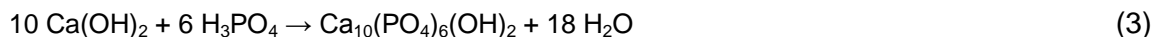
As duas rotas mais frequentemente utilizadas são:

i) a mistura de dihidrogeno fosfato de amônio com nitrato de cálcio, demonstrada pela reação [42]:





ii) Uso de ácido ortofosfórico com uma suspensão de hidróxido de cálcio conforme a reação [42]:



Na reação referente à Equação 2, devido ao uso de hidróxido de amônio ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) para a manutenção do pH básico da solução, torna-se necessário algumas lavagens do produto obtido após o processo de síntese com água para remoção do mesmo [42, 49, 50].

No método de coprecipitação é comumente formada uma fase metaestável inicial, que passa por um ou mais passos intermediários de recristalização até a formação do precipitado termodinamicamente estável. De acordo com as regras de estágios de Ostwald, que determina qual composto se forma em determinadas condições do processo, para baixas saturações a primeira fase é a de maior solubilidade, em que ocorrem dissolução e recristalização transformando as fases subsequentes em menos solúveis [51]. Com base nestas regras, tem-se que para valores de pH maiores que 7 a primeira fase a se precipitar é o fosfato de cálcio amorfo, o qual é transformado lentamente em hidroxiapatita. Enquanto que, para valores de pH entre 5 e 7 pode ocorrer a formação de precursores como fosfatos octacálcico e o fosfato de cálcio dihidratado (brushita) [51].

Desse modo, verifica-se que as variáveis empregadas durante o método de coprecipitação para a obtenção da HAP particulada, tais como, reagentes precursores, solventes, temperatura e mineralizadores, são de fundamental importância para as características finais do material obtido.

### 1.3.3.b. Método Hidrotermal

Um método de síntese que tem demonstrado grande eficácia no crescimento de nanocristais com controle da formação de fase (estequiometria) e do tamanho e forma das nanopartículas é o método hidrotermal. Neste método, a reação química ocorre em um sistema fechado, envolvendo um ou mais

precursores diferentes, na presença de água a uma temperatura superior à sua ebulição (100°C), sendo portanto, baseado na sobreposição entre a pressão como fator termodinâmico e as propriedades específicas da água [45, 52]. A pressão de vapor e a estrutura da água em temperatura elevada desempenham um papel diferente daquele na temperatura ambiente, sendo um importante precursor no processo de cristalização [45]. Em condições hidrotermais, a solubilidade da partícula amorfa é significativamente aumentada e sua cristalização pode ocorrer simultaneamente com processos de redissolução e reprecipitação [53]. As nanopartículas em suspensão são solubilizadas na solução que pode estar supersaturada, fazendo com que a nucleação e o crescimento das partículas ocorram com tamanho específico. Em geral, soluções menos saturadas possuem uma taxa de crescimento menor [28].

Normalmente, a síntese hidrotérmica da HAP é realizada em temperaturas até 300°C [45]. Assim como no método de coprecipitação, vários fatores afetam o processo hidrotérmico, incluindo o tipo de precursor, pH da solução, relação água/precursor, temperatura, natureza do solvente e estabilizante [45, 52]. Variando-se estes parâmetros, as partículas podem ser sintetizadas com controle de tamanho, forma e estado de aglomeração. A síntese hidrotérmica utilizando temperatura elevada em soluções sob alta pressão resulta na formação de estruturas com grau de cristalinidade elevado e com razão Ca/P próximo ao valor estequiométrico (Ca/P = 1,67) [23]. O controle do pH pode ser ajustado para a preparação de materiais específicos, na estabilização de diferentes formas estruturais, na elaboração de nanocompósitos e no controle do tamanho e forma dos cristais [52].

A fim de verificar a influência do pH e da temperatura na estrutura e morfologia das nanopartículas de hidroxiapatita, Liu *et al.* [27] sintetizaram HAP por meio de tratamento hidrotérmico com pH = 6 e 9. As amostras foram bem cristalizadas, apresentando diâmetro de partículas de 3 a 10 nm e comprimento de 2 a 20 µm para a amostra sintetizada em pH 6, e diâmetro de 20 nm e comprimento de 100 nm a 2 µm para aquelas sintetizadas em pH 9. A partir de pH 14, a cristalinidade apresentada foi relativamente baixa, com diâmetro médio da partículas de 150 nm.

Por intermédio do processo hidrotérmico pode-se obter materiais de qualidade, sendo vantajoso por produzir menos resíduos e poder utilizar uma grande variedade de matérias-primas de custo reduzido [53]. Dessa maneira, verifica-se que a composição química, o tamanho e a forma das partículas de HAP são totalmente dependentes do método e das condições de síntese empregadas. Uma vez que estes fatores são determinantes no processo de solubilidade da HAP, uma gama de variações podem ser empregadas com a finalidade de otimizar este comportamento.

#### **1.4. Polímeros Biodegradáveis**

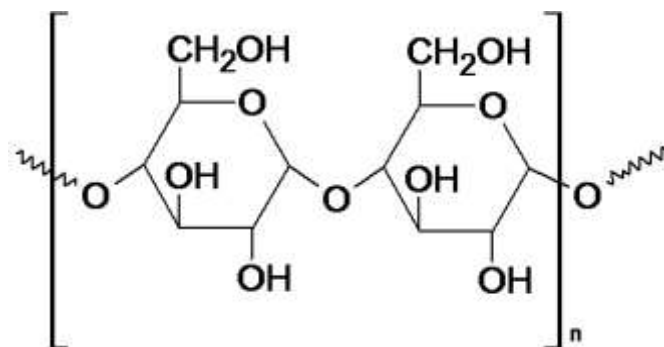
Uma alternativa para melhorar a disponibilização de nutrientes para as plantas, reduzir as ameaças ambientais e, conseqüentemente, aumentar a produtividade agrícola é a utilização de fertilizantes com liberação controlada [54]. Uma das estratégias que pode ser aplicada para este fim é a utilização de polímeros, tanto orgânicos (termoplásticos ou resinas) quanto inorgânicos (à base de minerais) como revestimento para os fertilizantes. O uso de polímeros para esta finalidade tende a melhorar a nutrição das plantas devido à capacidade destes materiais de reter água com subsequente liberação. Esta característica reduz os gastos com água de irrigação para fins agrícolas e minimiza os impactos ambientais causados por lixiviação de fertilizantes solúveis em água, reduzindo a contaminação decorrente do acúmulo de fósforo nas águas [55]. Neste caso, o controle do processo de difusão dos nutrientes é feito por meio da variação da espessura e da composição do revestimento polimérico, sendo comumente utilizada uma mistura entre polímeros de baixa e de elevada permeabilidade [54].

Os polímeros são compostos, naturais ou artificiais, formados por macromoléculas que, por sua vez, são constituídas por unidades estruturais repetitivas, denominadas monômeros. Seu alto peso molecular origina-se da ligação destes monômeros por meio de reações químicas de polimerização. Os polímeros, depois de formados, apresentam propriedades físico-químicas muito diferentes dos monômeros de partida [56]. Do ponto de vista tecnológico, os polímeros são altamente versáteis, podendo ser aplicados em diversas áreas. Uma das classes de polímeros que tem atraído grande interesse do setor

industrial são aqueles derivados de fontes agrícolas renováveis, devido à crescente preocupação da sociedade com o desenvolvimento sustentável [57]. Estes polímeros são provenientes de fontes naturais como milho, batata, celulose, cana-de-açúcar e apresentam elevada taxa de degradabilidade decorrente da ação de microrganismos, como bactérias, fungos e algas [58]. Um limitante da utilização de polímeros biodegradáveis é a umidade, pelo fato da água aumentar a velocidade de degradação ou a diminuir temperatura de amolecimento, que é baixa [59]. Desta forma, o desenvolvimento de pesquisas nesta área vem crescendo, a fim de modificar os polímeros para viabilizar o processamento e o uso dos mesmos em diversas aplicações [58].

#### 1.4.1. Amido

Dentre os polímeros biodegradáveis, o amido vem sendo amplamente empregado para o desenvolvimento de materiais compósitos devido a sua grande disponibilidade e por ser um produto natural de baixo custo e renovável [57, 60]. Estruturalmente, o amido é um homopolissacarídeo composto por cadeias de amilose e amilopectina [57, 60, 61]. A amilose é constituída de cadeias lineares formadas por unidades de glicose unidas por ligações glicosídicas  $\alpha$ -1,4. Já a amilopectina é formada por unidades de glicose unidas em  $\alpha$ -1,4 e  $\alpha$ -1,6, resultando em uma estrutura ramificada [62]. As proporções em que essas estruturas aparecem diferem em relação às fontes botânicas, variedades de uma mesma espécie e, mesmo numa mesma variedade, de acordo com o grau de maturação da planta [63]. A estrutura química do amido pode ser visualizada na Figura 2.



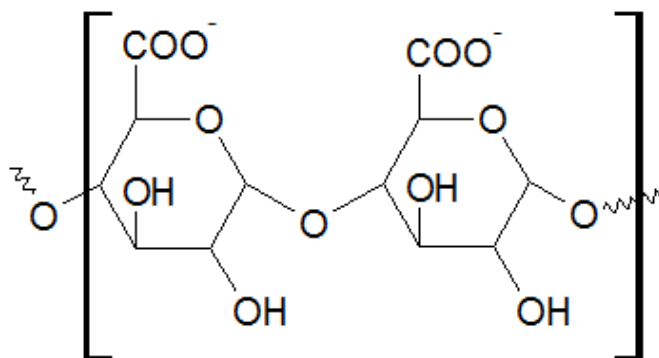
**Figura 2.** Estrutura química do amido [64].

A presença dos grupamentos hidroxila na molécula do amido lhe confere propriedades hidrofílicas, o que torna os polímeros derivados deste composto sensíveis à umidade do meio ambiente. Este comportamento pode ser contornado com a adição de plastificantes, sendo o glicerol o mais comumente utilizado para a obtenção do amido termoplástico. Para se obter o amido termoplástico é necessário destruir a estrutura semicristalina original dos grânulos. Para isso, o amido nativo deve ser aquecido na presença de um plastificante, como água ou glicerol, em temperaturas de 90 a 180°C. Sob efeito de forças de cisalhamento, o amido sofre fusão obtendo-se um material amorfo [65]. Corradini *et al.* [60] obtiveram amido termoplástico a partir de amidos de milho, contendo de 72 a 100% de amilopectina, por meio de processamento em um misturador intensivo a 160°C, usando glicerol como plastificante. Neste trabalho, os autores constataram que, após 6 semanas de armazenamento, o amido com 72% de amilopectina apresentou maior cristalinidade que aquele com 100%, o que foi atribuído à presença da amilose que possui maior velocidade de cristalização que a amilopectina. Estes resultados mostram que a razão amilose/amilopectina responsáveis pela cristalinidade do amido afeta as propriedades mecânicas e dinâmico-mecânicas, sendo que a presença de estruturas cristalinas nos amido termoplástico melhorou a resistência mecânica do material [60].

#### **1.4.2. Pectina**

Outro polímero biodegradável de fonte renovável com grande potencial de aproveitamento é a pectina (PEC), cuja estrutura química está ilustrada na Figura 3. Este polímero é um polissacarídeo encontrado na parede celular primária e regiões intercelulares de plantas e frutos [66]. A estrutura química da molécula de pectina define suas propriedades funcionais, em que a presença de ramificações permite a retenção de água tornando o meio gel, característica esta que se altera de acordo com o grau de metilesterificação (GM) do composto. No caso do GM igual ou maior a 50% as pectinas são chamadas HM (do inglês "*high-methoxyl*") e menor LM (do inglês "*low-methoxyl*") [67, 68]. Essa propriedade faz com que este composto possa ser utilizado como agente gelificante e estabilizante devido seu

alto valor de ingrediente funcional, sendo excelente fonte de fibra na alimentação [66, 68].



**Figura 3.** Estrutura química da pectina [64].

A PEC pode ser utilizada para uma extensa gama de aplicações pelo fato deste polímero apresentar excelente solubilidade aquosa e ser biodegradável [69]. Estima-se que o consumo anual de pectina no mundo esteja em torno de 45 mil toneladas [70]. A maior fonte das pectinas comercialmente são os resíduos de processamento de frutas cítricas, cana-de-açúcar e suco de maçã. A extração do polímero é realizada em condições ácidas, precipitada e em seguida transformada em pó com características padronizadas [66, 68]. Mariniello *et al.* [71] mostraram que a utilização de pectina, farinha de soja e uma enzima capaz de fazer ligações isopeptídicas, entre as cadeias de soja, permitiu a obtenção de filmes homogêneos com potencialidade para revestimento de fármacos ou como filme comestível para alimentos.

#### 1.4.3. Blendas Amido:Pectina (TPS:PEC)

Uma alternativa economicamente viável para melhorar as propriedades dos materiais poliméricos é a mistura de polímeros, em condições de processamento adequadas, originando as blendas poliméricas. As blendas poliméricas vêm sendo amplamente utilizadas industrialmente como excipientes para alimentos, dispositivos médicos, inseticidas, detergentes, fertilizantes, entre outras aplicações [69].

Blendas poliméricas são formadas pela mistura de dois ou mais polímeros que possuam características constitucionais ou configuracionais diferentes e com

baixo grau de ligação química [57]. A mistura dos componentes é uma característica muito importante para todos os tipos de blendas poliméricas, podendo estas serem miscíveis ou imiscíveis [72, 73]. As misturas miscíveis apresentam uma única temperatura de transição de fase, enquanto as misturas imiscíveis apresentam duas ou mais temperaturas de transição de fase, de acordo com o número de diferentes polímeros que compõe o material [72-74]. A maioria das misturas entre polímeros é imiscível e precisa ser compatibilizada para otimizar a tensão interfacial, a morfologia e a adesão entre as fases no estado sólido, sendo que este processo pode ser realizado com a adição de um agente de compatibilização ou processamento reativo [73]. Desta forma, a compatibilização resulta na mistura de polímeros de acordo com as características finais desejadas, sendo que o ajuste da tensão interfacial determina o grau de dispersão [73].

Para melhorar a processabilidade e aumentar a flexibilidade podem ser utilizados plastificantes com massa molecular menor em relação ao polímero, formando um material aparentemente homogêneo, mais flexível e de fácil processamento [57]. A escolha dos componentes na produção de uma blenda deve obedecer a critérios de propriedade, custo e processabilidade, a fim de que atinjam as propriedades desejáveis. A mistura entre a pectina, amido e glicerol representa uma excelente estratégia para obtenção de materiais com propriedades mecânicas que permitem a utilização desta blenda como filmes comestíveis, biodegradáveis e como barreira na entrada de oxigênio [57, 69].

#### **1.4.4. Processamento de Blendas**

O crescente interesse pelo desenvolvimento de blendas a partir de polímeros biodegradáveis tem intensificado as pesquisas por métodos de processamento das blendas, a fim de se avaliar a influência das condições de preparação sobre as propriedades viscoelásticas, mecânicas e morfológicas das mesmas.

A mistura (ou preparação) das blendas poliméricas consiste na incorporação dos componentes poliméricos procurando atingir o estado de mistura desejado, sendo a blenda polimérica normalmente utilizada no estado

fundido para facilitar a moldagem ou conformação [75, 76]. É importante que após este processo a blenda mantenha suas propriedades morfológicas, o que irá garantir as propriedades finais de interesse [75]. A mistura dos polímeros geralmente é realizada em equipamentos convencionais de processamento de polímeros como extrusoras, injetoras, misturadores de cilindros e misturadores Haake [60, 75].

O Haake é um misturador intensivo utilizado para pequenas quantidades de material. Durante o processamento, características como comportamento sob fluxo, sensibilidade térmica e cisalhamento dos polímeros são avaliadas através de um reômetro de torque acoplado ao misturador [77]. Este equipamento reproduz, em menor escala, o comportamento de equipamentos utilizados industrialmente, como misturadores, o que permite observar as características reológicas dos polímeros de maneira mais próxima das condições reais de processamento [78]. O comportamento reológico durante o processamento pode ser influenciado pelo teor de plastificante, temperatura de processamento, velocidade de rotação e a natureza do material [77].

Industrialmente, a técnica mais comumente empregada no processamento de polímeros é a extrusão, por ser uma técnica de processamento contínuo rápida, eficiente e que permite utilizar uma grande quantidade de massa. A extrusão ocorre em um ambiente fechado pressurizado em alta temperatura e tensão de cisalhamento elevada, e consiste em forçar um material a passar por um orifício chamado matriz, conferindo-lhe um formato final [79]. Fishman *et al.* [69] extrudaram pectina, amido e glicerol em diferentes composições para avaliar as propriedades térmicas e mecânicas das amostras. Estes autores observaram que a quantidade de água pode ser ajustada para controlar o grau de gelatinização do amido, que por sua vez, pouco influenciou nas propriedades mecânicas dos filmes finais. Neste trabalho também foi verificado que a temperatura de transição vítrea do material era de 50°C, indicando razoável flexibilidade à temperatura ambiente [69].

Outra técnica para obtenção de filmes poliméricos é por *casting*, na qual a solução aquosa contendo os componentes é derramada sobre um substrato e o filme polimérico é obtido após a evaporação do solvente. Neste procedimento a



forma de secagem influencia diretamente nas propriedades e na espessura do filme obtido [62].

Como pode ser visto, existem diversas técnicas para obtenção de blendas poliméricas, sendo que a escolha da metodologia depende das propriedades finais desejadas, formato do produto, bem como da demanda na produção e dos equipamentos disponíveis para o uso. Dessa maneira, verifica-se que blendas poliméricas podem resultar em diferentes aplicações, que são dependentes de sua composição e processamento. Blendas que sejam efetivas para o emprego no revestimento de fertilizantes para liberação controlada vêm sendo estudadas, porém seu uso pode ser ampliado por intermédio de novas aplicações associadas a outros materiais disponíveis na natureza, reduzindo o custo e impacto ambiental, além de melhorar propriedades como ductilidade e sensibilidade a umidade.

## **2. Objetivo**

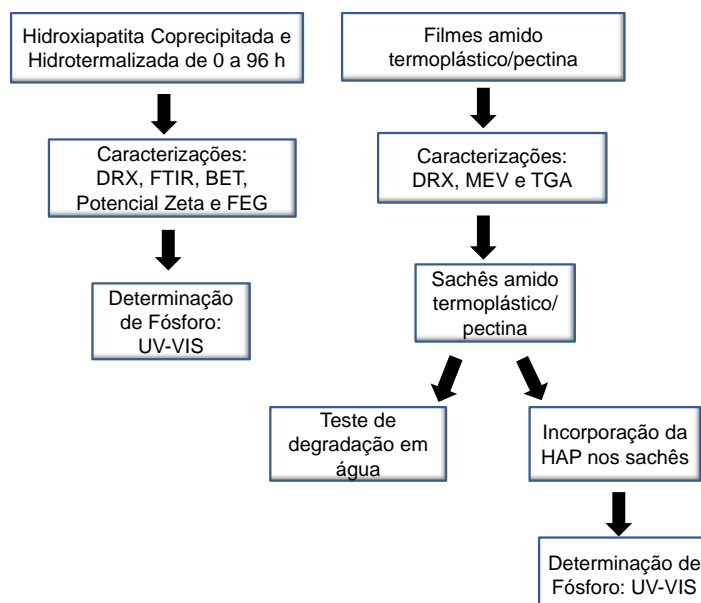
Este trabalho teve como objetivos:

1. Sintetizar nanopartículas de hidroxiapatita (HAP) com diferentes tamanhos e graus de cristalinidade;
2. Avaliar a solubilidade em meio aquoso das nanopartículas de HAP, determinadas pela concentração de íons fosfato, de maneira a encontrar condições otimizadas de solubilização do material;
3. Obter blendas de filmes de amido:pectina com diferentes proporções para determinação das melhores condições de processamento;
4. Produzir sachês dos filmes de amido:pectina para armazenamento das nanopartículas de HAP visando controlar a liberação de fósforo em ambiente úmidos (ou aquoso).

### 3. Materiais e Métodos

#### 3.1. Sequência metodológica

A sequência da metodologia utilizada neste trabalho está representada na Figura 4 e será descrita neste item. A caracterização das nanopartículas de HAP obtidas por meio do método de coprecipitação seguido de hidrottermalização em diferentes tempos foi realizada por intermédio das técnicas de DRX (Difração de raios X), FTIR (Espectroscopia na Região do Infravermelho com transformada de Fourier), isotermas de adsorção/dessorção de N<sub>2</sub> (BET), MEV-FEG (Microscopia Eletrônica de Varredura com Fonte de Emissão de Campo) e potencial Zeta. Os filmes de polímeros termoplásticos de amido:pectina (TPS:PEC) obtidos foram caracterizados por meio das técnicas de DRX, MEV (Microscopia Eletrônica de Varredura) e TGA (Termogravimetria). A avaliação da solubilidade das nanopartículas de HAP, com a consequente determinação da concentração de fósforo em solução, foi realizada com a técnica de espectroscopia na região do ultravioleta-visível (UV-Vis).



**Figura 4.** Fluxograma da sequência da metodologia utilizada no trabalho.

### 3.2. Materiais

As sínteses e análises descritas neste trabalho foram realizadas utilizando-se os reagentes apresentados na Tabela 1, sem prévia purificação.

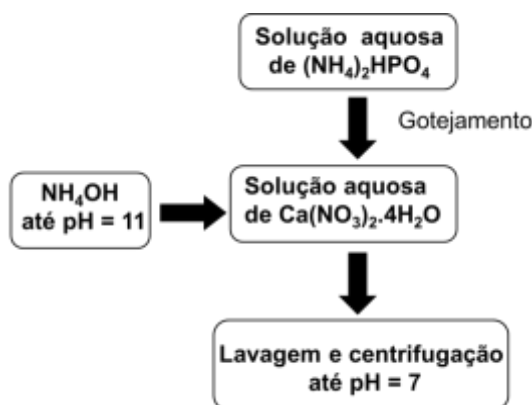
**Tabela 1.** Reagentes utilizados nos experimentos.

Reagente	Fornecedor	Pureza (%)
Ácido Cítrico Anidro	Vetec	99,5
Ácido Esteárico	Synth	100
Ácido L-Ascórbico	Synth	99
Ácido sulfúrico	Synth	95-98
Amido	Corn Products	-
Fosfato dibásico de amônio	J.T.Baker	98,8
Glicerina	Cromoline	99,5
Molibdato de Amônio	Mallinckrodt	81,4
Nitrato de Cálcio	Synth	99
Pectina	CPKelco	-
Solução Padrão de Fósforo Total	Specsol	99,9
Tartarato de Antimônio e Potássio	Synth	99,8

### 3.3. Síntese da HAP

As nanopartículas de HAP foram obtidas empregando-se o método de coprecipitação por via úmida (Figura 5). Este método foi escolhido, quando comparado a outros métodos sugeridos na literatura, devido à simplicidade da reação, do baixo custo dos reagentes e do grau de pureza do material obtido. Seguindo-se esta metodologia, foram feitas suspensões baseadas na hidrólise do sal dos íons de interesse ( $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{P}^{5+}$ ). Desta forma, para obtenção de 1 g de hidroxiapatita, foram solubilizados 2,33 g nitrato de cálcio em água sob constante agitação. Paralelamente, solubilizou-se 0,78 g de fosfato de amônio em água, cuja solução foi transferida para uma bureta, para realizar um gotejamento lento

para a solução de nitrato de cálcio. O pH do meio reacional foi ajustado para 11 com a adição de hidróxido de amônio. Todo processo de síntese foi realizado sob fluxo de nitrogênio. Após o término da síntese, observou-se a formação de um precipitado branco e a suspensão obtida foi submetida a centrifugações em 10.000 rpm em 5 ciclos de 2 minutos a 20°C. Utilizou-se água deionizada para a remoção do sobrenadante até atingir pH 7. Em seguida, o precipitado foi seco em estufa com circulação de ar a 40°C. Para as amostras que foram submetidas ao tratamento hidrotermal não foram realizadas as etapas de centrifugação, lavagem e secagem. Este processamento está descrito de forma detalhada no próximo item.

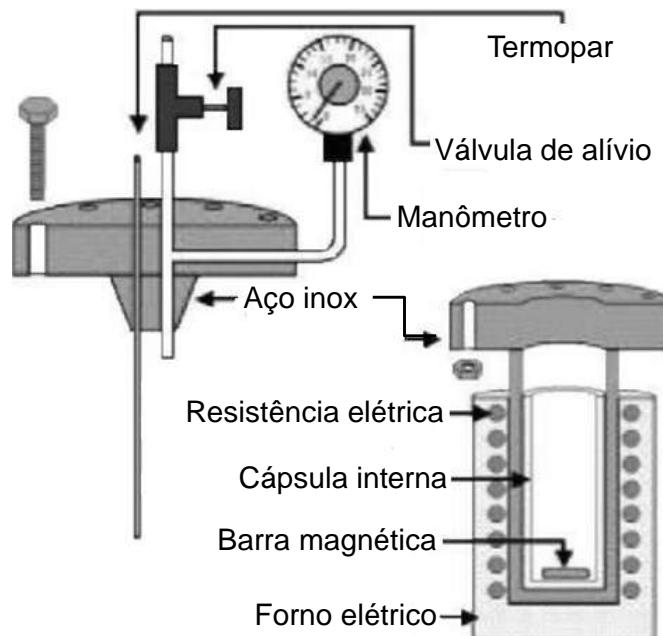


**Figura 5.** Fluxograma de obtenção das nanopartículas de HAP por coprecipitação.

### 3.3.1. Método Hidrotermal

Para o envelhecimento do precipitado, a suspensão obtida após a síntese foi submetida a um processo de hidrotermalização. Os tratamentos hidrotermais foram realizados em uma temperatura de 150°C, empregando-se um reator de aço inox a uma pressão em torno de 15 atm. A este reator acoplou-se um frasco de politetrafluoretileno (Teflon) com finalidade de minimizar os efeitos de ataque químico por parte da solução, o qual é aquecido externamente por um forno tubular, esquematicamente representado na Figura 6. Para a aferição da temperatura e da pressão no sistema foi utilizada uma sonda interna (termopar), acoplada a um controlador de temperatura, e um manômetro. O tempo de

hidrotermalização foi realizado em intervalos de 12 horas, portanto, foram obtidas amostras hidrotermalizadas a 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 e 96 h. O produto resultante da hidrotermalização foi lavado com água deionizada até o pH da suspensão chegar a 7.



**Figura 6.** Representação esquemática do sistema de hidrotermalização [80].

### 3.4. Técnicas de caracterização - HAP

Após a obtenção das nanopartículas de HAP pelo método de coprecipitação seguido, ou não, do processamento hidrotermal foram realizadas as seguintes caracterizações:

#### 3.4.1. Difração de raios X

A difração de raios X (DRX) fornece inúmeras informações a respeito da estrutura do material, sendo, uma das principais técnicas de caracterização estrutural de materiais cristalinos. Por esta técnica, é possível identificar a fase e a estrutura cristalina da amostra sem destruição do material. Os difratogramas de raios X foram obtidos em um equipamento Shimadzu, modelo XRD 6000, utilizando-se radiação  $\text{Cu K}\alpha$ . As condições empregadas para as análises foram

no modo  $\theta$ - $2\theta$  com  $2\theta$  variando de 10 a 75°, velocidade de 1° min<sup>-1</sup> e varredura contínua.

### **3.4.2. Espectroscopia na Região do Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)**

A espectroscopia na região de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) é obtida por meio da radiação refletida, transmitida ou absorvida pelo material. No presente trabalho este método foi utilizado para verificar a presença, ou não, de espécies adsorvidas na superfície da amostra e como ferramenta adicional para a confirmação da obtenção da hidroxiapatita. Nesta análise, foi empregado o módulo de transmitância em um equipamento Bruker, modelo Equinox 55. Foram realizadas 32 varreduras entre 4000 e 400 cm<sup>-1</sup> com resolução de 4 cm<sup>-1</sup>.

### **3.4.3. Potencial Zeta**

Nanopartículas em suspensão normalmente carregam uma carga eletrostática na sua superfície. Íons ou surfactantes iônicos podem ser adsorvidos na superfície das nanopartículas, modificando o potencial de superfície total e formando uma dupla camada elétrica em torno de cada partícula. O potencial desta superfície é designado potencial Zeta ( $\zeta$ ). O potencial  $\zeta$  pode ser afetado pelo pH ou força iônica do meio e a interação das partículas se dá pela magnitude do potencial  $\zeta$ , ou seja, quanto maior o potencial  $\zeta$  (tanto negativo quanto positivo), maior a estabilização por carga do sistema [81]. A medida do potencial  $\zeta$  das suspensões foi realizada utilizando-se o equipamento Malvern Instruments - Zetasizer Nano ZS90. Os valores do potencial  $\zeta$  das nanopartículas de HAP obtidas em diferentes condições foram calculados por meio de medidas de mobilidade eletroforética realizadas no referido equipamento. Para a realização dessas medidas, 0,005 g de HAP foram dispersas em 25 mL de água deionizada e deixadas em um ultrassom de ponta por 1 min com frequência de 30 Hz.

#### 3.4.4. Isotermas de adsorção/dessorção de N<sub>2</sub>

As análises de adsorção e dessorção de nitrogênio pelo método BET (Brunauer, Emmett e Teller) foram feitas em um equipamento ASAP 2200. Nesta caracterização foram realizadas medidas da área superficial específica dos materiais de interesse. Os parâmetros utilizados foram: rampa de aquecimento de 10°C min<sup>-1</sup>, temperatura de aquecimento final de 70°C, taxa de evacuação de 1,36 x 10<sup>-3</sup> bar s<sup>-1</sup>, tempo de evacuação de 60 minutos e o vácuo foi de 1,33 x 10<sup>-12</sup> bar.

#### 3.4.5. Microscopia Eletrônica de Varredura com Fonte de Emissão de Campo (MEV-FEG)

A Microscopia Eletrônica de Varredura com Fonte de Emissão de Campo (MEV-FEG) é uma técnica que vem sendo muito utilizada no estudo do tamanho, forma e distribuição de partículas por meio da obtenção de imagens com alta resolução. Neste trabalho, para obtenção das imagens de microscopia, foi utilizado o microscópio JEOL, modelo JSM 6701F. As amostras foram preparadas por meio da deposição de uma fina camada do material no porta-amostras recoberto com uma camada de tinta carbono. Após a secagem, as amostras foram analisadas no microscópio com magnificações de 150 vezes. Por meio das imagens de MEV-FEG foram obtidos os valores do diâmetro médio das nanopartículas de HAP, com o programa ImageJ<sup>®</sup>, versão 1.44. Foram selecionadas 100 partículas de cada amostra de HAP para a obtenção da média e do desvio padrão.

#### 3.5. Preparação das Blendas Poliméricas

Neste trabalho, foram utilizados os polímeros: pectina de frutas cítricas (CPKelco, Limeira-SP, Brasil) e amido de milho “Amidex 3001” (cedido pela *Corn Products*). Foram preparadas formulações das blendas de amido e pectina de acordo com a metodologia empregada por Moreira [70]. Neste procedimento, além dos polímeros foram adicionados água destilada e glicerol como



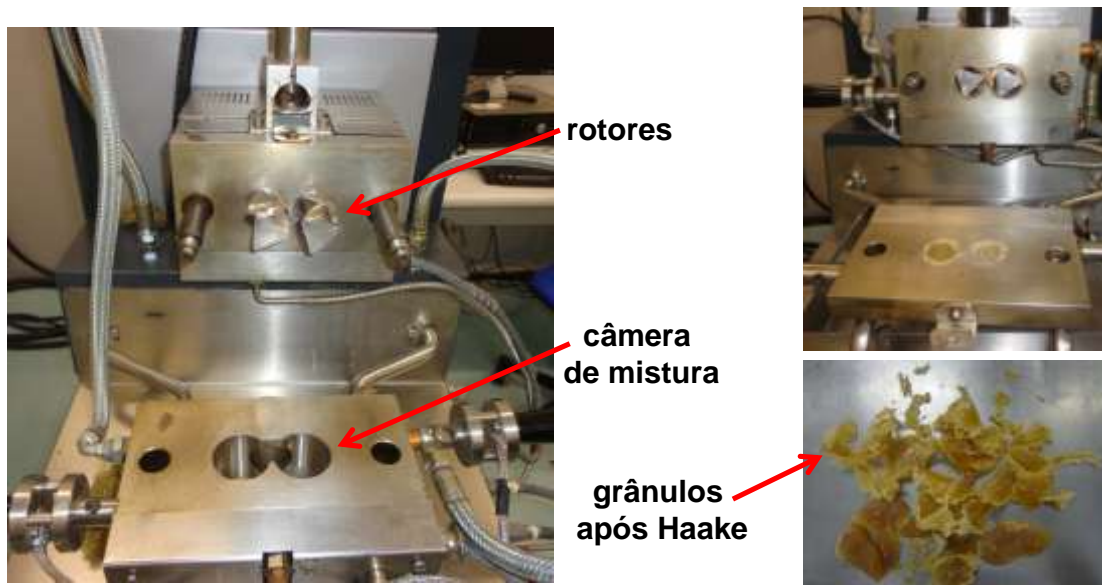
plastificantes e o ácido esteárico como ligante. Foram avaliadas diversas proporções entre amido:pectina: 100:0, 50:50, 25:75 e 0:100, as quais foram calculadas em termos da massa seca de cada polímero. Foram também utilizadas duas diferentes concentrações de glicerol: 30 e 40%. Na Tabela 2 estão especificadas as massas dos componentes e as concentrações de sólidos e líquidos das formulações.

**Tabela 2.** Formulações utilizadas para preparação das blendas TPS:PEC [70].

Componente	Formulação (g)	
	30% Glicerol	40% Glicerol
Ácido Esteárico	0,28	0,24
Água Deionizada	5,6	4,8
Glicerol	12	16
Polímero*	28	24
Massa Total	45,88	45,04

\*quantidade correspondente ao amido ou pectina, ou mistura de ambos nos casos das formulações das blendas.

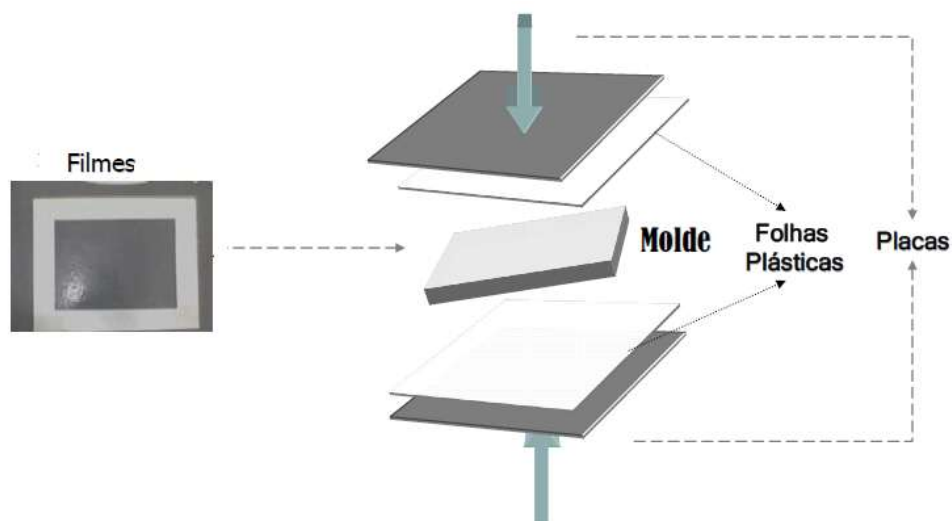
O amido, a pectina e o ácido esteárico foram homogeneizados manualmente em sacos plásticos, adicionando-se água destilada e glicerol e submetidos à mistura até a obtenção de uma massa homogênea. A seguir, as preparações foram processadas em um misturador Haake, que consiste de dois rotores que giram em contra rotação na câmara interna de mistura, conforme representado na Figura 7. O material é inserido neste câmara através de um alimentador superior conectado ao reômetro de torque. Neste trabalho, utilizou-se um misturador do tipo Haake com unidade de base PolyLab Rheodrive 4 e misturador Rheomix OS4 equipado com rotores tipo *roller*. O misturador com câmara de mistura (volume 69 cm<sup>3</sup>) foi previamente lubrificado com desmoldante a base de silicone e aquecido a 130°C, em seguida carregado com as formulações em rotações de 160 rpm durante 4 minutos. O *software Polysoft OS* foi utilizado para registrar as curvas de torque. O material final foi obtido em forma de grânulos e, posteriormente, prensado termicamente.



**Figura 7.** Misturador de câmara interna Haake.

### **3.5.1. Prensagem Térmica e Conformação**

Para obtenção de filmes poliméricos, o material obtido no misturador foi espalhado sob um molde de aço inox com dimensões de 11x15 cm entre duas folhas plásticas utilizadas para evitar aderência do material ao aço e colocado em uma prensa previamente aquecida a 140°C por 2 minutos para amolecimento do material. Em seguida, este material foi pré-prensado por 2 minutos utilizando uma força de 5 toneladas, e na sequência 10 toneladas por mais 3 minutos. Logo após a prensagem, o material foi lentamente resfriado até 60°C, retirando-se a força aplicada na prensa, liberando assim, o molde para retirada do filme. A prensa utilizada foi projetada na Embrapa Instrumentação e está esquematizada na Figura 8 [70].



**Figura 8.** Ilustração da prensagem térmica da Blenda TPS:PEC [70].

### 3.6. Métodos de caracterização – Blendas Poliméricas

Após a obtenção das blendas poliméricas, foram realizadas as caracterizações descritas a seguir:

#### 3.6.1. Difração de raios X

Os difratogramas foram obtidos a partir dos filmes das blendas poliméricas preparados na etapa de prensagem térmica. As medidas foram realizadas nas mesmas condições que os pós de HAP, exceto pelos valores de  $2\theta$  que foram de 5 a  $55^\circ$ .

#### 3.6.2. Microscopia Eletrônica de Varredura

A Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) foi utilizada para a determinação da espessura das blendas poliméricas e para verificar a homogeneidade do material. As amostras de filmes foram fixadas no porta-amostras com uma fina camada de tinta de prata para fazer o contato elétrico e em seguida, foram recobertas com ouro. Neste trabalho foi usado um microscópio

eletrônico de varredura JEOL-JSM 6510. As imagens foram obtidas com ampliações de 33 vezes.

### **3.6.3. Termogravimetria (TGA/DTG)**

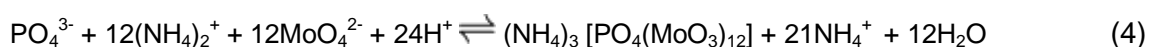
A análise termogravimétrica (TGA) consiste em uma técnica termoanalítica, na qual a variação de massa da amostra é medida em função da temperatura ou tempo em um sistema com temperatura controlada [82]. Por intermédio da derivada da curva termogravimétrica (DTG) pode-se analisar a estabilidade térmica do material, alterações que ocorrem devido ao aquecimento e a faixa de temperatura em que a composição química é estabilizada [82]. O equipamento utilizado foi o *TA Instruments*, modelo Q500. A massa das amostras utilizadas variaram de 8 a 10 mg, as quais foram aquecidas de 25 a 600°C, empregando-se uma taxa de aquecimento de 10°C min<sup>-1</sup> e porta amostras de alumínio. As análises foram realizadas em uma vazão de 60 mL min<sup>-1</sup> de ar sintético e 40 mL min<sup>-1</sup> de nitrogênio.

### **3.7. Preparação dos Sachês de Amido Termoplástico:Pectina**

Após a obtenção dos filmes poliméricos, os mesmos foram dimensionados em 2x2 cm para confecção dos sachês. As bordas foram umedecidas com água deionizada e rapidamente prensadas a 130°C para o amolecimento do material. Apenas três das quatro bordas foram prensadas isoladamente, sem colocar a parte central do sachê em contato com o aquecimento, possibilitando a introdução das nanopartículas de hidroxiapatita. Após a inserção destas nanopartículas, a última borda foi selada, fechando-se o sachê. A ideia do emprego desta metodologia foi de impedir a exposição das nanopartículas ao aquecimento, a fim de garantir que não ocorressem alterações durante o empacotamento.

### 3.8. Determinação da concentração de fósforo

Neste trabalho, as caracterizações pela técnica de UV-Vis foram realizadas em um equipamento Shimadzu, modelo UV-1601PC. Esta técnica foi utilizada como ferramenta para determinação da concentração de íons fosfato em solução, permitindo assim avaliar a solubilidade das nanopartículas de HAP em solução aquosa. O fosfato geralmente é determinado espectrofotometricamente por meio da técnica do azul de molibdênio [12, 83]. Este método óptico desenvolvido por Murphy e Riley é recomendado como norma para a determinação laboratorial de fosfato pela Agência Europeia do Meio Ambiente e pela ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas), sendo portanto, a técnica padrão mais amplamente aceita para determinação de fósforo [84]. Esta metodologia permite dosar o fósforo, na forma de íon fosfato, o qual reage em meio ácido com o molibdato de amônio, formando o complexo fosfomolibdato, conforme esquematizado na reação mostrada a seguir [84-86].



O complexo formado é amarelo e apresenta baixa absorvidade molar, de modo que se faz necessária a utilização de um agente redutor, geralmente o ácido ascórbico, para reduzir os íons de  $\text{Mo}^{6+}$  a  $\text{Mo}^{5+}$ , formando um complexo de coloração azul, conhecido como azul de molibdênio, que por sua vez apresenta elevada absorvidade molar em 880 nm [87]. Normalmente esta redução é lenta, porém a adição de um catalisador, o tartarato de antimônio e potássio pode ser utilizado para que esta reação ocorra rapidamente. A quantidade do complexo azul de fosfomolibdênio formado é proporcional à concentração de fósforo presente como fosfato na amostra [86]. Neste método óptico, o espectrofotômetro mede a transmitância do feixe de luz em um determinado comprimento de onda após atravessar a solução contida numa cubeta de quartzo. Através da relação da lei de Beer-Lambert, pode-se relacionar a concentração a absorvância da amostra[86].

Foram avaliadas duas massas de HAP, 0,03 e 0,05 g, as quais foram transferidas para um volume inicial de 250 mL de água deionizada. Destas

soluções foram, retiradas alíquotas (5 mL) nos tempos de 4, 8, 12, 24, 32 e 48 horas. A seguir, as alíquotas foram congeladas até a realização das análises. Para a determinação de fósforo por meio da técnica do azul de molibdênio foram preparadas as seguintes soluções aquosas: ácido sulfúrico 25% V/V, molibdato de amônio  $95,2 \text{ g L}^{-1}$ , ácido ascórbico  $70 \text{ g L}^{-1}$ , tartarato de antimônio e potássio  $32,4 \text{ g L}^{-1}$ , e ácido cítrico  $22 \text{ g L}^{-1}$ . A partir do preparo destas soluções, preparou-se o “reagente misto” por meio da mistura de 25 mL da solução de ácido sulfúrico, 5,5 mL solução de molibdato de amônio e 0,6 mL solução de tartarato de antimônio e potássio.

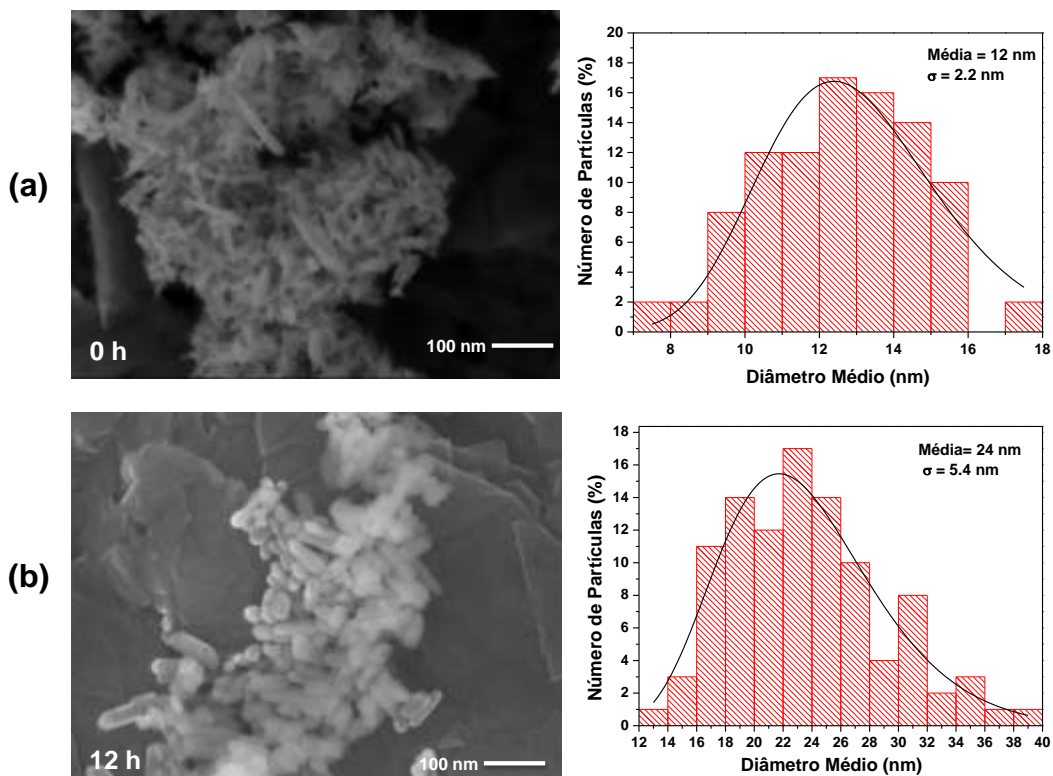
Para a construção da curva analítica (absorbância *versus* concentração padrão de fósforo) foram preparadas soluções padrão de fósforo (solução trabalho) a partir da transferência de 5, 25 e 50 mL de uma solução de fósforo  $10 \text{ mg L}^{-1}$  para balões de 100 mL completados com água deionizada. A absorbância de cada uma destas soluções foi medida para a construção da curva analítica. Em tubos de ensaio foram adicionados 5 mL das soluções de trabalho, 0,2 mL da solução de ácido cítrico, 2 mL da solução de ácido ascórbico e 2 mL da solução de reagente misto. As misturas obtidas foram homogeneizadas e permaneceram em banho termostático a  $50^\circ\text{C}$  por 15 minutos. A seguir, foram realizadas medidas na região espectral de 500 a 950 nm. Os valores máximos de absorbância ( $\sim 880 \text{ nm}$ ) foram utilizados para o cálculo das concentrações de fósforo nas amostras de hidroxiapatita por intermédio da equação da reta obtida da curva analítica ( $y = a + xb$ ), onde  $y$  é a absorbância da amostra,  $x$  a concentração de fósforo na solução,  $a$  o coeficiente linear e  $b$  o coeficiente angular da reta.

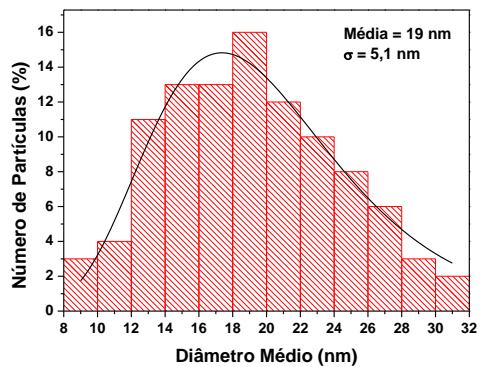
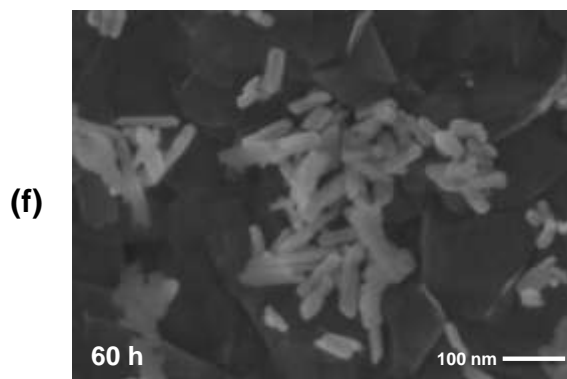
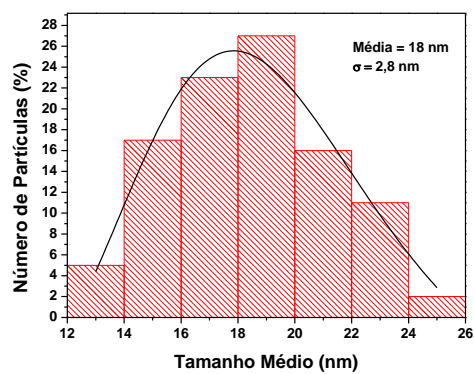
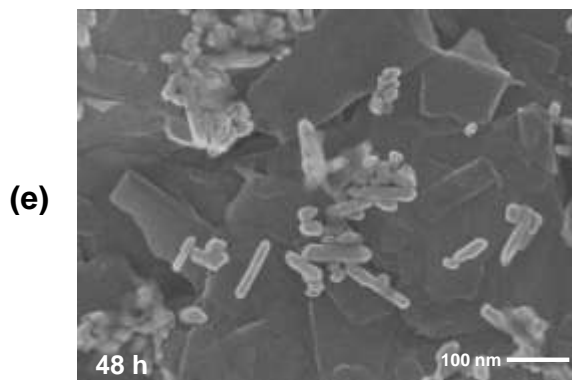
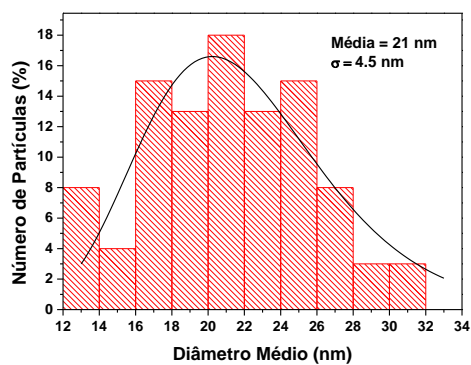
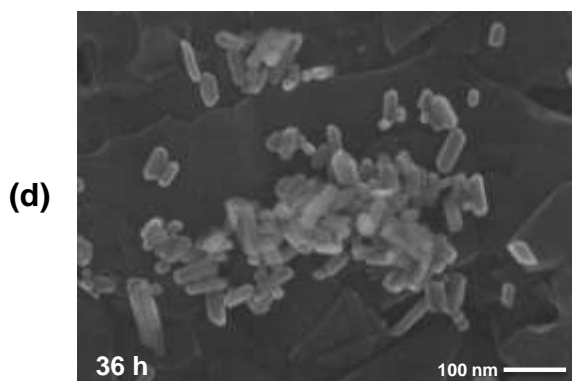
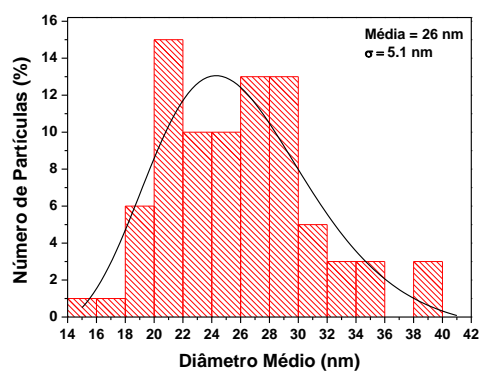
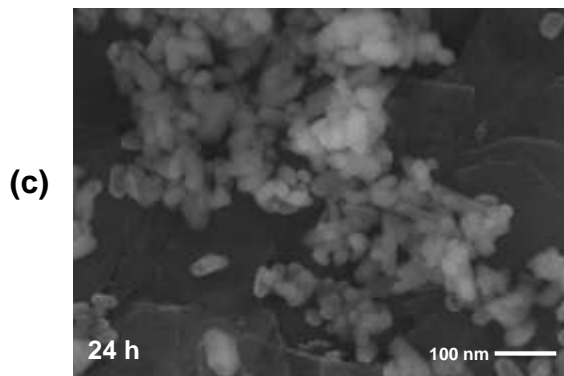
## 4. Resultados e Discussão

### 4.1. Caracterização das nanopartículas de hidroxiapatita

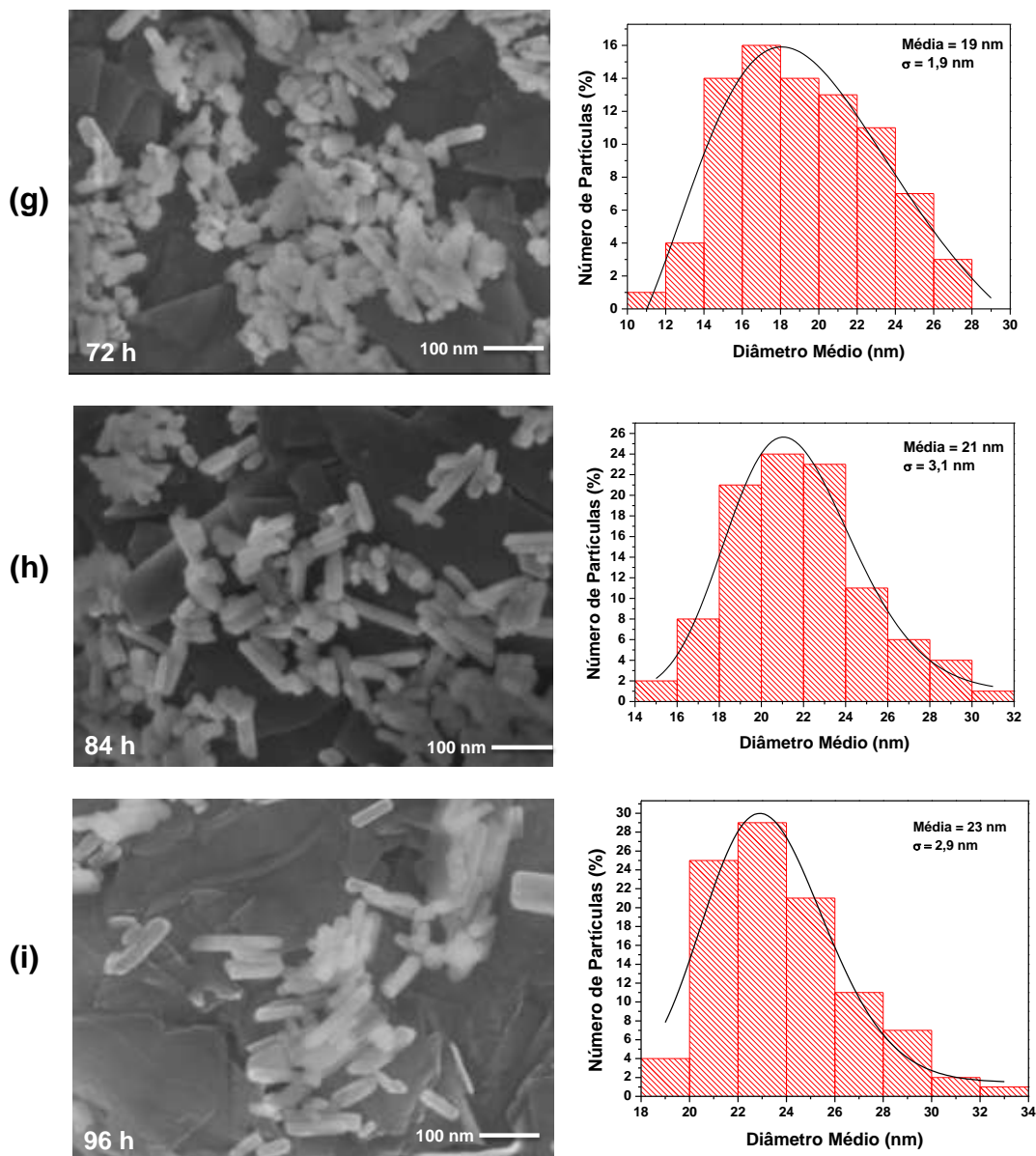
#### 4.1.2. Microscopia Eletrônica de Varredura com Fonte de Emissão de Campo (MEV-FEG)

As nanopartículas de hidroxiapatita sintetizadas à temperatura ambiente e hidrotermalizadas a 150°C, de 12 a 96 h, foram caracterizadas quanto à forma e tamanho pela técnica de MEV-FEG. As imagens obtidas assim como os histogramas de distribuição de tamanhos estão representados nas Figuras 9a-i. O material lamelar observado no plano de fundo das imagens corresponde à tinta de carbono empregada no preparo das amostras. Analisando-se as imagens apresentadas nestas figuras, pôde-se observar a presença de aglomerados de bastonetes nanoestruturados em todas as amostras com diâmetros que variam de 12 a 26 nm. Estes dados estão de acordo com os encontrados na literatura por Liu *et al.* [27], que reportaram a obtenção de bastonetes de HAP com diâmetro médio entre 8 a 20 nm, após a síntese das nanopartículas pelo método de coprecipitação seguida por tratamento hidrotérmico à 140°C por 24 h.









**Figura 9.** Imagens obtidas por microscopia eletrônica das amostras de HAP na forma de pós e a respectiva distribuição do diâmetro médio de partículas. Os tempos de hidrottermalização foram de a) 0, b) 12, c) 24, d) 36, e) 48, f) 60, g) 72, h) 84 e i) 96 h.

Considerando-se o desvio padrão nos histogramas de distribuição de tamanho de partículas obtidos a partir das imagens de microscopia foi possível observar um comportamento linear entre o tamanho das partículas e o período de hidrottermalização. Por intermédio da análise comparativa das nanopartículas sem tratamento hidrottermal (Figura 9a) com as hidrottermalizadas por 12 h (Figura 9b), pode-se observar uma duplicação do diâmetro médio das partículas

hidrotermalizadas. Para tempos de tratamento hidrotermal superiores a 24 h (Figuras 9c-g), observam-se pequenas oscilações (aumento e diminuição) nos diâmetros médios das partículas, cujo comportamento pode ser atribuído às diversas etapas de ressolubilização/recristalização ocorridas no reator hidrotermal devido ao longo tempo de tratamento [48]. Observa-se também que os valores de desvio padrão (2,2 - 5,4 nm) são elevados para todas as amostras, indicando que a distribuição de tamanho não é homogênea. Este comportamento pode ser associado ao fato do processo de nucleação e crescimento de partículas durante as etapas de coprecipitação e ressolubilização/recristalização não terem ocorrido homogeneamente.

Analisando-se as imagens de microscopia também pode-se observar que os menores diâmetros de partículas foram obtidos para as nanopartículas de HAP que não foram submetidas ao processo de hidrotermalização, variando entre 7 e 17 nm. Já as amostras hidrotermalizadas possuem diâmetros entre 10 a 40 nm, indicando que o tratamento hidrotermal favoreceu o crescimento de partículas. Este resultado está de acordo com os dados reportados por Andre *et al.* [88] que obtiveram nanopartículas de HAP dopadas com európio pelo mesmo método empregado neste trabalho seguido por tratamento hidrotérmico assistido por micro-ondas. Os autores obtiveram nanopartículas com diâmetro médio entre 9 e 26 nm e verificaram que o aumento do tempo de tratamento hidrotermal resultou em um aumento do diâmetro médio das partículas.

#### **4.1.3. Método de Brunner-Emmett-Teller (BET) e Potencial Zeta.**

Com o intuito de avaliar a área superficial e a estabilidade coloidal das nanopartículas sintetizadas, submetidas, ou não, ao processo hidrotermal, foram realizados estudos utilizando-se a técnica de adsorção/dessorção de N<sub>2</sub> (BET) e de potencial Zeta. Analisando-se os resultados obtidos (Tabela 3) verificou-se que, como esperado, a amostra com menor diâmetro médio apresentou maior valor de área superficial (92,3 m<sup>2</sup>g<sup>-1</sup>).

**Tabela 3.** Valores de diâmetro médio obtido por meio das imagens de FEG, valores de área superficial e valores do potencial Zeta para as diferentes amostras de HAP hidrotermalizadas a 150°C de 0 a 96 h.

Tempo de Hidrotermal (h)	DM (nm)*	AS (m <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )**	Potencial Zeta (mV)
0	12 (± 2,2)	92,3 (± 0,1)	-9,4
12	24 (± 5,4)	52,3 (± 0,1)	-8,4
24	26 (± 5,1)	41,3 (± 0,4)	-10,2
36	21 (± 4,5)	56,0 (± 0,7)	-9,7
48	18 (± 2,8)	44,9 (± 0,1)	-4,2
60	19 (± 5,1)	53,3 (± 0,1)	-9,7
72	19 (± 1,9)	61,5 (± 0,2)	-11,8
84	21 (± 3,1)	51,5 (± 0,2)	-11,0
96	23 (± 2,9)	46,8 (± 0,3)	-8,5

\*AS: Área superficial obtida por BET

\*\*DM: Diâmetro médio de partículas

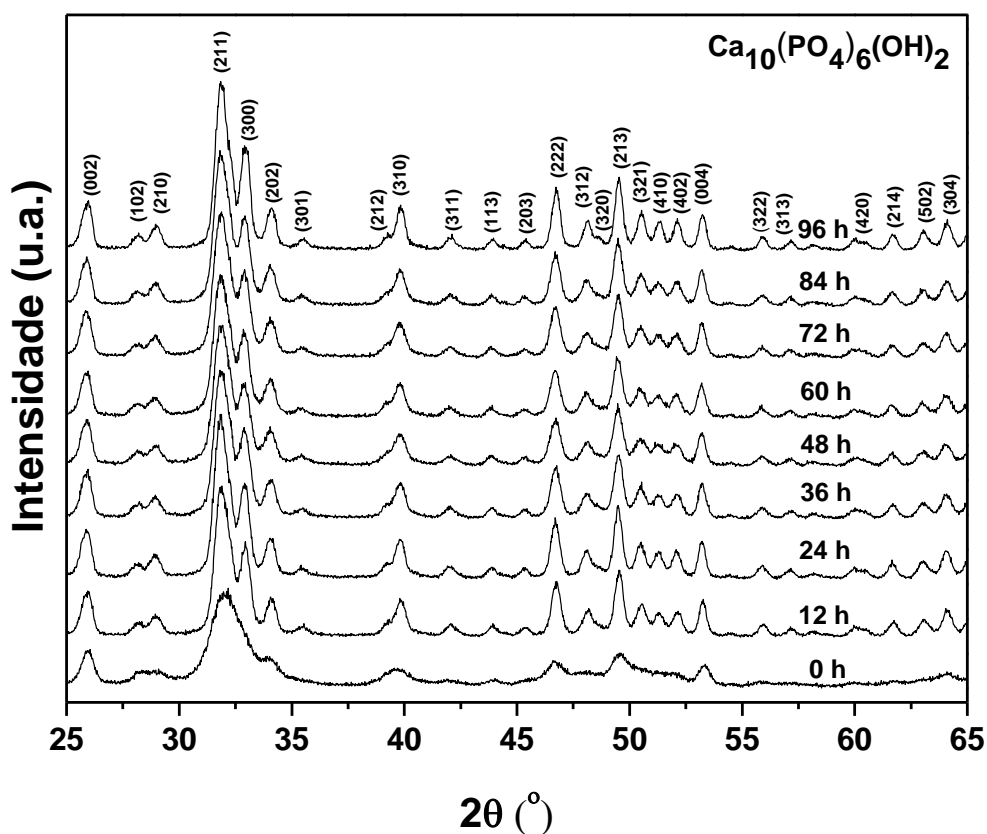
Observa-se uma diferença significativa no valor da área superficial para a amostra sem hidrotermalização (92,3 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>) em relação à amostra hidrotermalizada por 12 h (52,3 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>), corroborando com os valores referentes ao diâmetro médio das nanopartículas, que foram de 12 e 24 nm respectivamente. As oscilações observadas entre os valores obtidos de área superficial para as amostras hidrotermalizadas de 12 a 96 h podem ser atribuídas à aglomeração/agregação das partículas, como pode ser visualizado nas imagens de microscopia (Figuras 9a-i). A presença de agregados também pode ser confirmada com base nos baixos valores de potencial Zeta obtidos para as amostras, os quais variaram de - 4,2 a - 11,8 mV. Segundo Motskin *et al.* [89], partículas com altos valores de potencial Zeta, excedendo, em módulo, ±30 mV,

permanecem estáveis em suspensão, sendo consideradas, partículas coloidais. Em contrapartida, partículas com valores de potencial Zeta menores, em módulo, que  $\pm 30$  mV, são instáveis em suspensão e tendem a se aglomerar. Este fato está de acordo com os resultados obtidos por MEV-FEG (Figuras 9a-i) que ilustram aglomeração das nanopartículas para todos os tempos de hidrotermalização. A aglomeração/agregação é explicada pelo método de síntese empregado, no qual não foi utilizado nenhum tipo de surfactante para minimizar o efeito de interação entre as partículas em solução. O valor negativo está relacionado com a basicidade da superfície das nanopartículas de HAP, que é decorrente da metodologia de síntese empregada, uma vez que a mesma é realizada em pH igual a 11.

#### 4.1.4. Difração de raios X

A avaliação estrutural e de formação de fases das amostras de HAP na forma de pós foi realizada pela técnica de difração de raios X (DRX). A Figura 10 ilustra os difratogramas das nanopartículas obtidas à temperatura ambiente e hidrotermalizadas a 150°C por diferentes períodos. Analisando-se estes resultados, observa-se a formação de HAP monofásica com estrutura hexagonal e grupo espacial P63/m de acordo com a ficha *Joint Committee on Powder Diffraction Standards* (JCPDS) n° 09-0432. Fases secundárias concorrentes, tais como, carbonato de cálcio (CaCO<sub>3</sub>), não foram encontradas nas amostras (Figura 10).

Por meio da análise dos difratogramas (Figura 10) verificou-se que as nanopartículas obtidas em todas as condições são cristalinas e que há uma melhor definição dos picos difratados para as amostras submetidas à hidrotermalização, sugerindo maior cristalinidade das mesmas. Fato este que pode ser confirmado analisando-se, principalmente, os picos (211) e (300). Estes resultados corroboram com Mobasherpour *et al.* [25], que obtiveram HAP por coprecipitação seguida de sinterização, e observaram uma melhor definição dos picos associados às amostras submetidas ao tratamento térmico de 450 a 900°C, indicando uma maior cristalinidade das amostras tratadas termicamente.

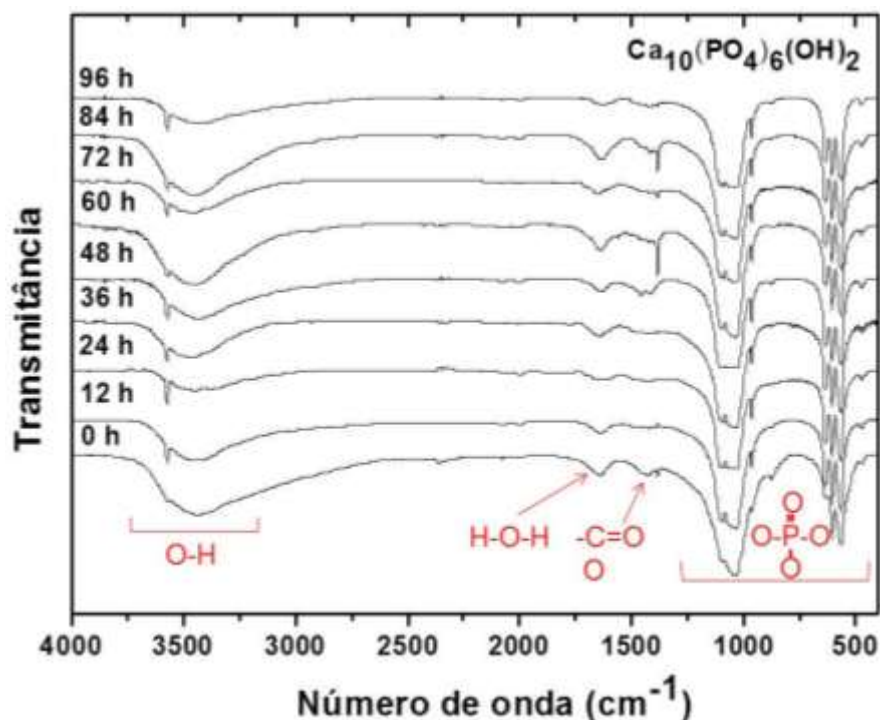


**Figura 10.** Difratoigramas de raios X das amostras de hidroxiapatita obtidas por coprecipitação e hidrotermalizadas a  $150^\circ\text{C}$  por 0, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 e 96 h.

#### 4.1.5. Espectroscopia na Região do Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Como ferramenta adicional à difração de raios X, para confirmar a formação da fase HAP, realizou-se a análise pela técnica de FTIR das nanopartículas sintetizadas. Os espectros obtidos para as amostras submetidas, ou não, ao processo hidrotermalização a  $150^\circ\text{C}$ , em diferentes períodos de tempo estão apresentados na Figura 11. Por intermédio da análise deste espectro verificou-se que todas as bandas características da HAP estão presentes de acordo com a literatura [90]. As bandas em  $469\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu_2$ , vibração angular simétrica), na região entre  $660$  e  $520\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu_4$ , vibração angular assimétrica), em  $964\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu_1$ , vibração axial simétrica) e na região entre  $1100$  e  $1022\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu_3$ , vibração axial assimétrica) são características do grupo  $\text{PO}_4^{3-}$  presente na HAP e

foram observadas em todos os espectros da Figura 11a-i. De acordo com a literatura [90], a presença de uma única banda em  $469\text{ cm}^{-1}$  e a presença de três “ombros” na vibração  $\nu_4$  é um indicativo da formação de hidroxiapatita pura.



**Figura 11.** Espectros na região do infravermelho (FTIR) das amostras de HAP em função do tempo de hidrotermalização a) 0, b) 12, c) 24, d) 36, e) 48, f) 60, g) 72, h) 84 e i) 96 h.

A banda em  $3571\text{ cm}^{-1}$  é característica da vibração de estiramento simétrico do grupo OH ( $\nu_L$ , modo de oscilação), confirmando a presença dos íons hidroxila na rede cristalina da apatita [25]. Na região compreendida entre  $3500\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$  pode-se observar a presença de bandas largas correspondentes aos modos de estiramento do grupo OH das moléculas de água ( $\nu_1$  e  $\nu_3$ ). A banda em torno de  $1728\text{ cm}^{-1}$  é correspondente ao modo de deformação das moléculas de água ( $\nu_2$ ). Este resultado está de acordo com o reportado por Slósarczyk *et al.* [91] que observaram uma banda larga de baixa intensidade no intervalo entre  $3400\text{-}3000$  e outra em  $1640\text{ cm}^{-1}$  referentes a vestígios de moléculas de água na estrutura da hidroxiapatita.

A banda em  $1340\text{ cm}^{-1}$ , melhor definida nas amostras hidrotermalizadas a 60 e 84 h, é característica da vibração axial simétrica ( $\nu_3$ ) do grupo  $\text{CO}_3^{2-}$  [91]. A presença desta banda indica a possibilidade do grupo  $\text{CO}_3^{2-}$  estar adsorvido na superfície das partículas, ou estar atuando como substituinte na rede da HAP. Liu *et al.* [27] sugeriram que a presença desta banda pode estar associada à adsorção de dióxido de carbono atmosférico durante a síntese, e em pequena quantidade pode substituir outros grupos presentes na estrutura da HAP como o grupo  $\text{PO}_4^{3-}$ .

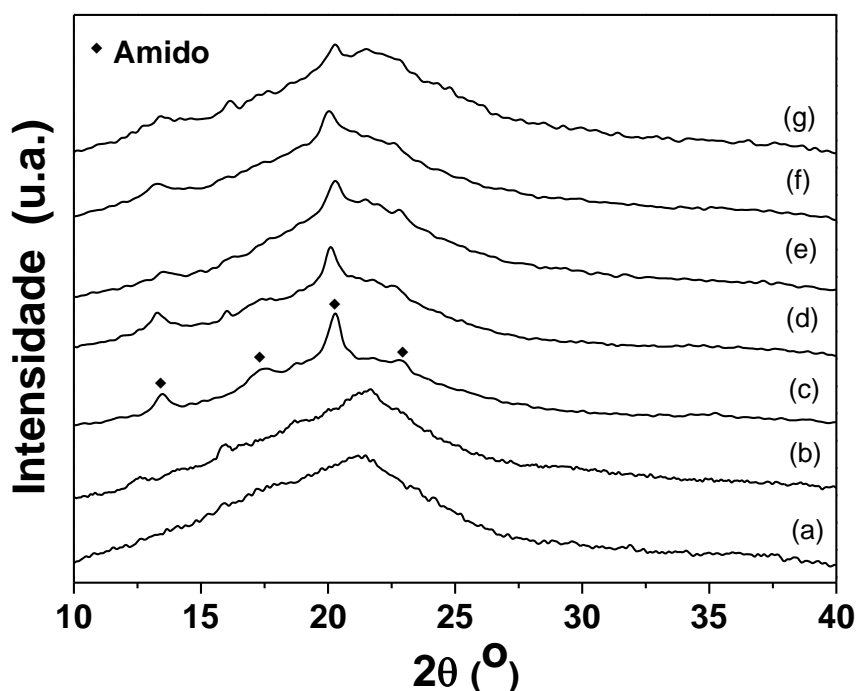
## 4.2. Caracterização das Blendas Poliméricas

### 4.2.1. Difração de raios X

Para avaliar a cristalinidade e identificar as fases presentes nas blendas poliméricas, foi realizado um estudo utilizando-se a técnica de difração de raios X destas amostras. A Figura 12 ilustra os difratogramas obtidos para diferentes concentrações de amido (TPS), pectina (PEC) e das blendas mistas de TPS:PEC. No difratograma referente à blenda formada por 100PEC:30G e 100PEC:40G (Figura 12a e b) foi possível observar uma banda larga em  $2\theta$  entre  $10$  e  $28^\circ$ , a qual indica a baixa cristalinidade da blenda composta por PEC. Em relação ao difratograma da blenda formada por 100TPS:40G (Figura 12c) foi possível observar quatro picos em  $13,3$ ,  $17$ ,  $20,4$  e  $22,7^\circ$  correspondentes a estrutura cristalina dos grãos de amido, atribuídas principalmente a presença da amilopectina na estrutura deste polímero [92]. Estes resultados estão de acordo com os obtidos por Corradini *et al.* [60] que observaram no difratograma de amido termoplástico picos em  $12,9$ ,  $16,8$ ,  $19,6$  e  $22,4^\circ$ , valores muito próximos aos observados nas Figuras 12c-e.

Além disso, pode-se verificar uma maior cristalinidade da blenda de 100TPS:40G (Figura 12c) em relação às blendas de 100PEC:30G e 100PEC:40G (Figura 12a-b). Este comportamento pode ser explicado devido ao fato da amilose e da amilopectina (componentes do amido) apresentarem estruturas cristalinas bem definidas após a conversão do amido *in natura* à TPS. De acordo com a literatura [60, 93] esta cristalinidade vai depender da razão amilose/amilopectina presentes na estrutura do amido. Os difratogramas obtidos para as blendas

mistas, formadas por TPS:PEC (Figuras 12d-g), foram similares, com picos em  $2\theta$  correspondentes aos observados no difratograma da blenda formada por 100% TPS, indicando que somente a fase cristalina do amido foi detectada. Verificou-se também que a intensidade dos picos na blenda mista foi proporcional à variação da massa de TPS na formulação. Desta forma, observou-se uma maior cristalinidade nas blends com maior percentagem de TPS e menor percentagem de glicerol (Figura 12c,d).



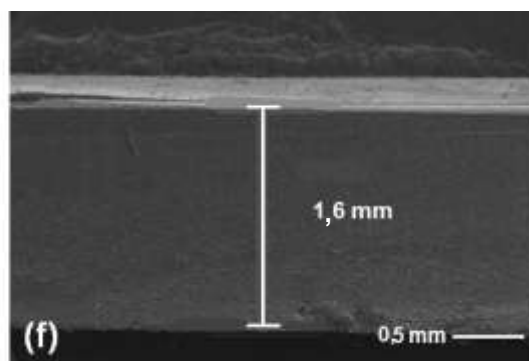
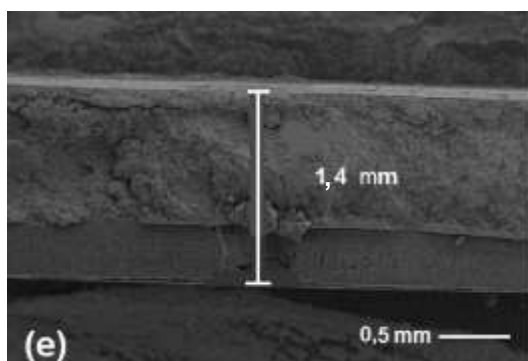
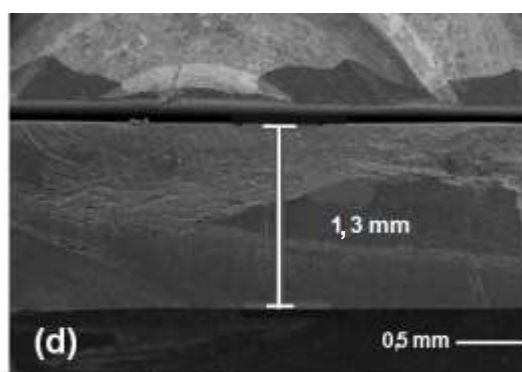
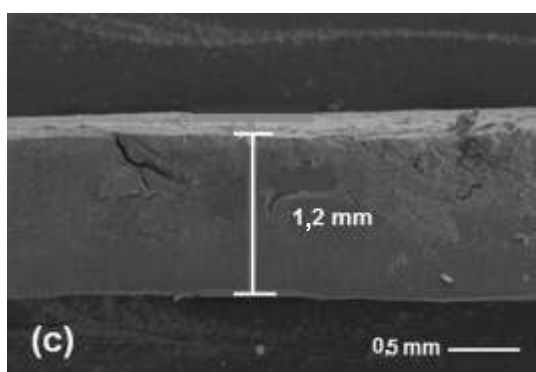
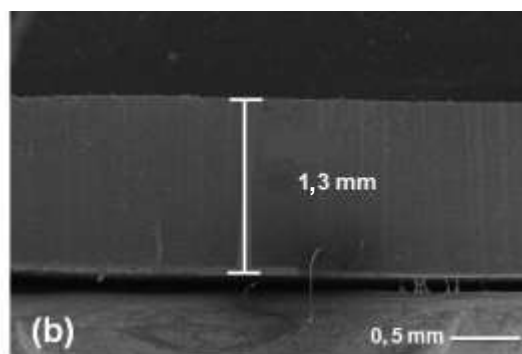
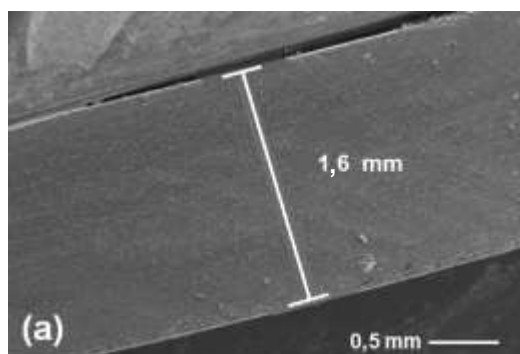
**Figura 12.** Difratogramas de raios X dos filmes das blends poliméricas, a) 100PEC:30G, b) 100PEC:40G, c) 100TPS:40G, d) 50TPS:50PEC:30G, e) 50TPS:50PEC:40G, f) 25TPS:75PEC:30G e g) 25TPS:75PEC:40G.

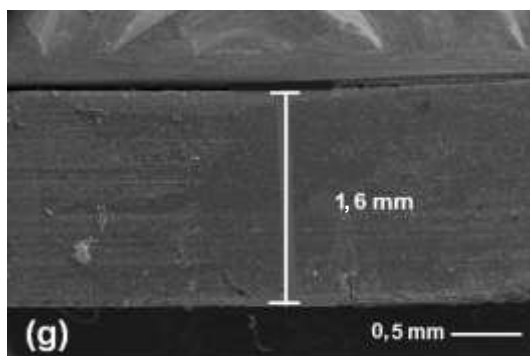
#### 4.2.2. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) dos filmes das blends poliméricas.

Com a finalidade de determinar a espessura média dos filmes das blends poliméricas de TPS:PEC para confecção dos sachês, obtivemos imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) da seção transversal das blends poliméricas (Figuras 13a-g). A partir destas imagens, determinamos a espessura média dos filmes, na faixa de 1,3 a 1,6 mm. Este intervalo de espessura



favoreceu o manuseio dos filmes para a obtenção dos sachês poliméricos, e foi mantido durante o processamento. As variações encontradas nas espessuras, de acordo com as formulações, podem ser atribuídas às irregularidades na etapa de processamento, principalmente durante a prensagem térmica a 130°C para obtenção dos filmes das blendas poliméricas. Para a verificação de algum evento de degradação ou instabilidade da blenda com a temperatura de processamento foi realizada análise termogravimétrica (TGA), como será mostrado a seguir.





**Figura 13.** Imagens obtidas por MEV das seções transversais dos filmes de blendas TPS:PEC: a) 100PEC:30G, b) 100PEC:40G, c) 100TPS:40G, d) 50TPS:50PEC:30G, e) 50TPS:50PEC:40G, f) 25TPS:75PEC:30G e g) 25TPS:75PEC:40G.

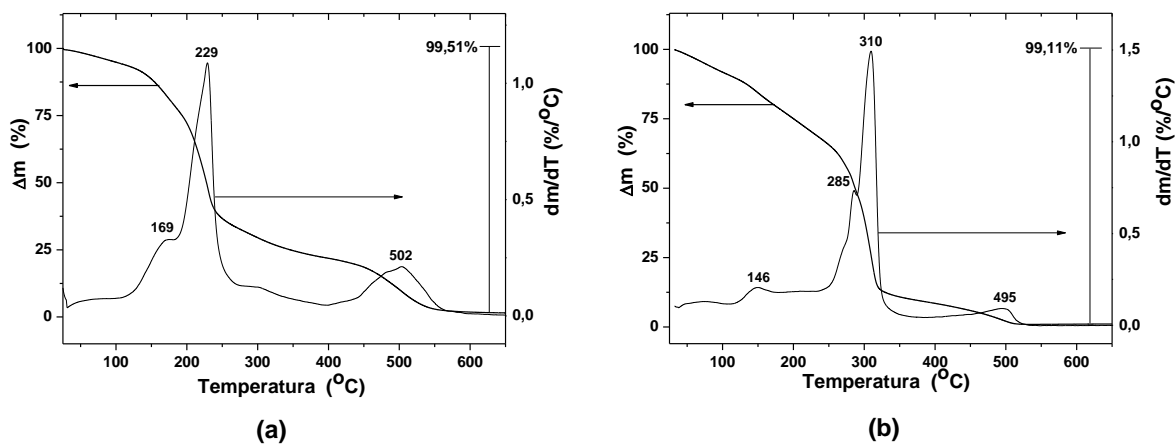
#### 4.2.3. Análise Termogravimétrica

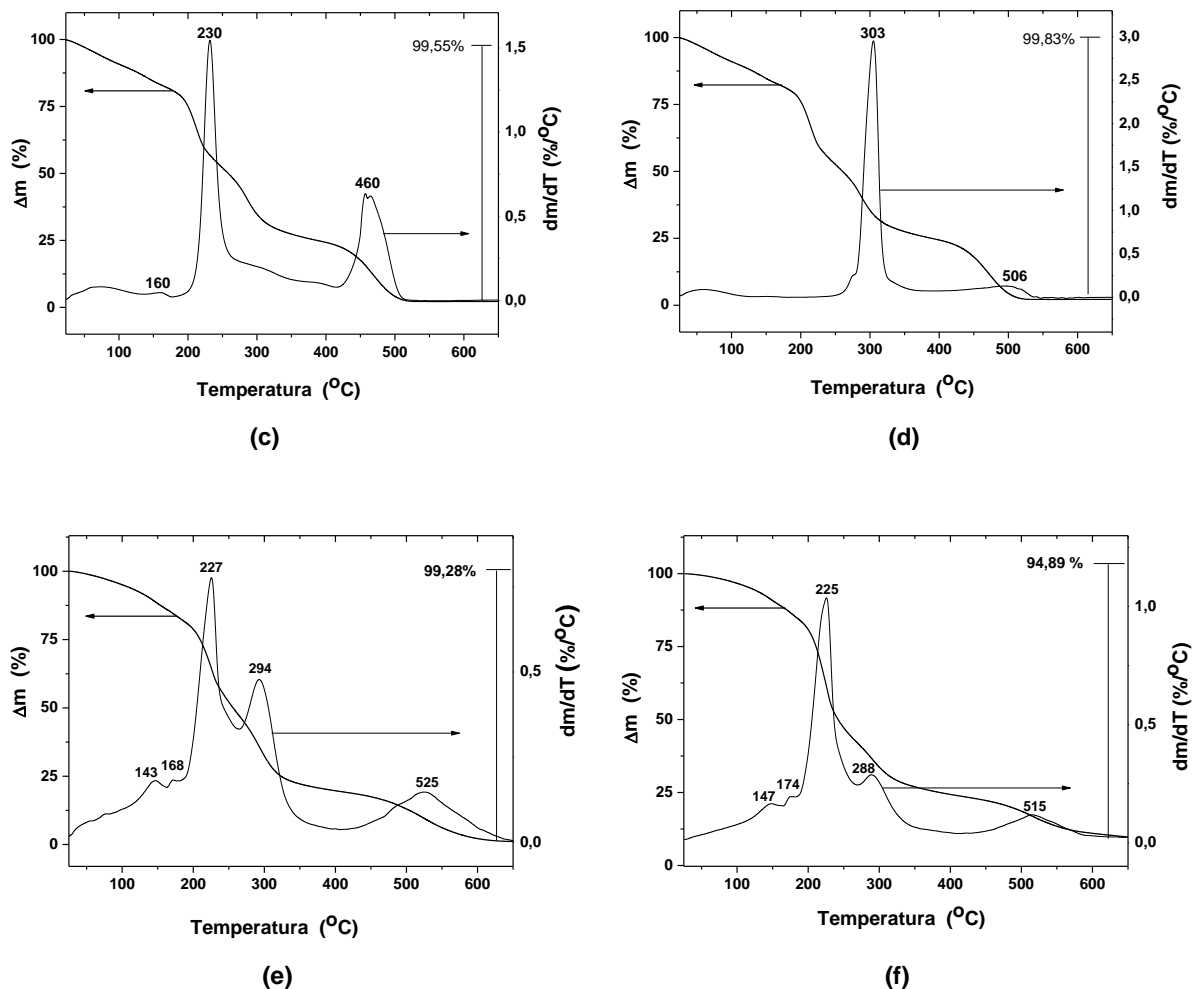
A Figura 14 apresenta os perfis de degradação térmica das blendas TPS, PEC e TPS:PEC determinados por análise termogravimétrica (TGA) e a respectiva derivada (DTG). Para todos os filmes verificou-se que a completa decomposição do material ocorreu em temperaturas inferiores a 750°C. Os primeiros eventos de perda de massa ocorreram a temperaturas entre 143 a 174°C que podem estar relacionados à eliminação de água quimicamente ligada e à perda de voláteis de baixa massa molar, incluindo o glicerol empregado como plastificante [94]. A blenda 100PEC:40G (Figura 14a) apresenta dois principais eventos de perda de massa, nas temperaturas de 229 e 502°C. No caso da blenda 100TPS:40G (Figura 14b), observa-se uma perda de massa acentuada em 310°C. Como esperado, estes eventos ocorrem em temperaturas próximas aos observados para os polímeros sem adição de glicerol (Figuras 14c e d) e estão de acordo aos reportados por Moreira *et al.* [70].

Para as blendas mistas TPS:PEC foram observados dois eventos principais de perda de massa. Para a blenda 50TPS:50PEC:40G (Figura 14e) estes processos ocorreram nas temperaturas de 227 e 294°C e para o filme composto por 25TPS:75PEC:40G (Figura 14f) nas temperaturas de 225 e 288°C. Comparando-se estes resultados com os obtidos para os filmes puros (Figuras 14a e b), pode-se associar que o primeiro evento (~230°C) refere-se à perda de

massa da PEC, uma vez que não foi observada alteração significativa nos valores de temperatura nas condições estudadas. Realizando-se uma análise comparativa da variação da temperatura para o segundo evento principal, verifica-se que houve uma variação de 6 e 22°C nas Figuras 14e e f, respectivamente, quando comparada à Figura 14b. Esta variação observada pode estar associada à influência da PEC na região de degradação do TPS. Além disto, observa-se que a perda de massa do segundo evento principal é proporcional à composição do TPS na blenda. Estes resultados indicam que não ocorreu a miscibilidade completa entre os polímeros TPS e PEC para a formação da blenda. Esta separação de fase indicada pelos resultados não era esperada, uma vez que os dois polímeros apresentam estruturas químicas muito semelhantes (Figuras 2 e 3) e, os vários grupamentos hidroxila presentes nas mesmas poderiam formar ligações de hidrogênio, o que contribuiria para miscibilidade dos polímeros. Contudo, nossos resultados estão de acordo com os resultados obtidos Moreira *et al.* [70], que observaram a separação das fases na blenda amido/pectina pela técnica de Microscopia de Força Atômica (AFM). Desta maneira, pode-se atribuir a falta de miscibilidade obtida ao processamento empregado no presente trabalho.

Por meio dos resultados discutidos acima, verificou-se que não ocorreu nenhum evento significativo de perda de massa na temperatura de 130°C que é a temperatura empregada no presente projeto para o processamento dos filmes.



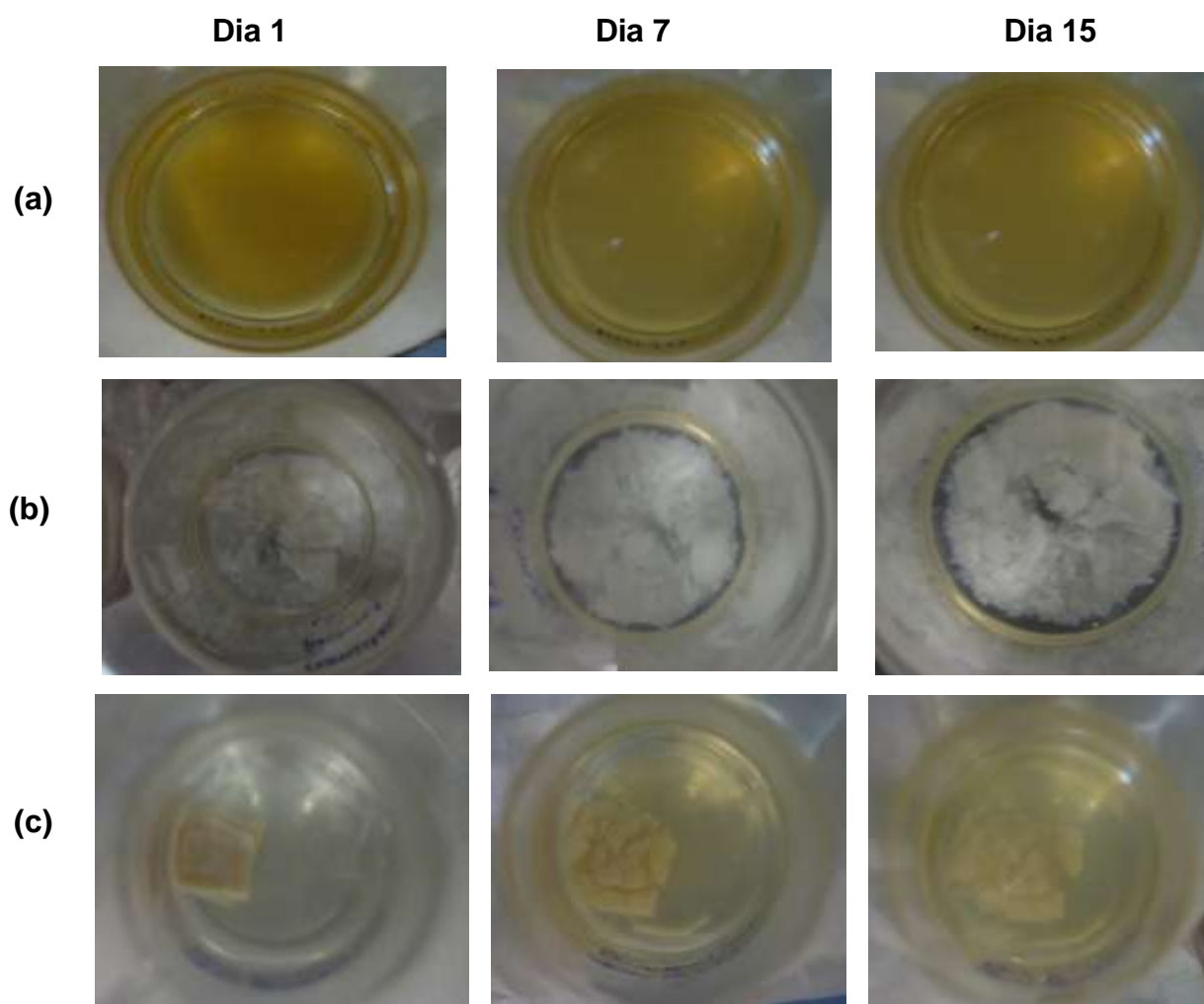


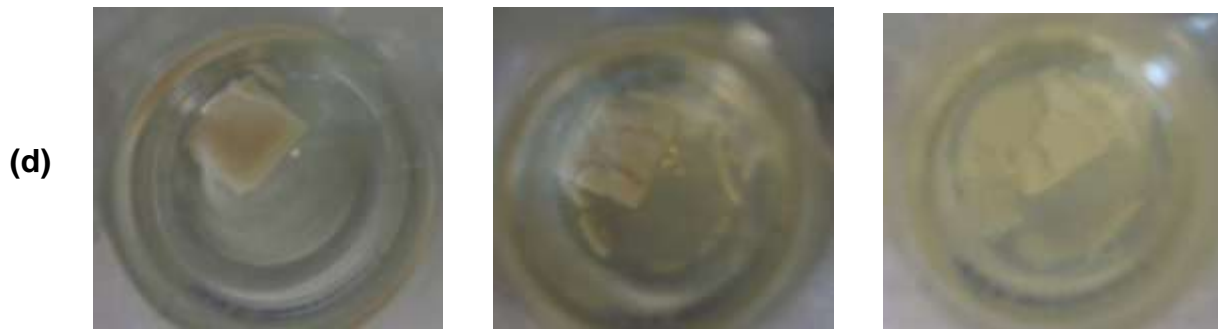
**Figura 14.** Curva TGA e DTG para a blenda TPS/PEC: a) 100PEC:40G, b)100TPS:40G, c) 100PEC:0G, d) 100TPS:0G, e) 50TPS:50PEC:40G e f) 25TPS:75PEC:40G.

#### 4.2.4. Solubilização dos Sachês TPS:PEC

As Figuras 15a-d mostram fotos (vista superior) dos sachês das blends poliméricas TPS:PEC contidos em béqueres de água. As imagens ilustram os sachês sendo solubilizados em função do tempo de permanência em água. Estes ensaios foram realizados para determinar a composição do sachê que apresentava o tempo desejado para a degradação em água, visando à utilização dos mesmos para armazenamento das nanopartículas de HAP. Verifica-se pelas imagens obtidas que os sachês com formulações compostas por maior

quantidade de TPS apresentaram mais rápida degradação comparada aos demais, devido à elevada taxa de degradabilidade do amido em água. Desta forma, optou-se em utilizar o sachê 25TPS:75PEC:40G (Figura 15d), pois, além de apresentar o tempo apropriado para a degradação em água (em torno de 15 dias), apresentou a melhor maleabilidade decorrente da maior concentração de glicerol (40%). Esta maleabilidade é desejável para o manuseio do sachê no armazenamento das nanopartículas de hidroxiapatita.

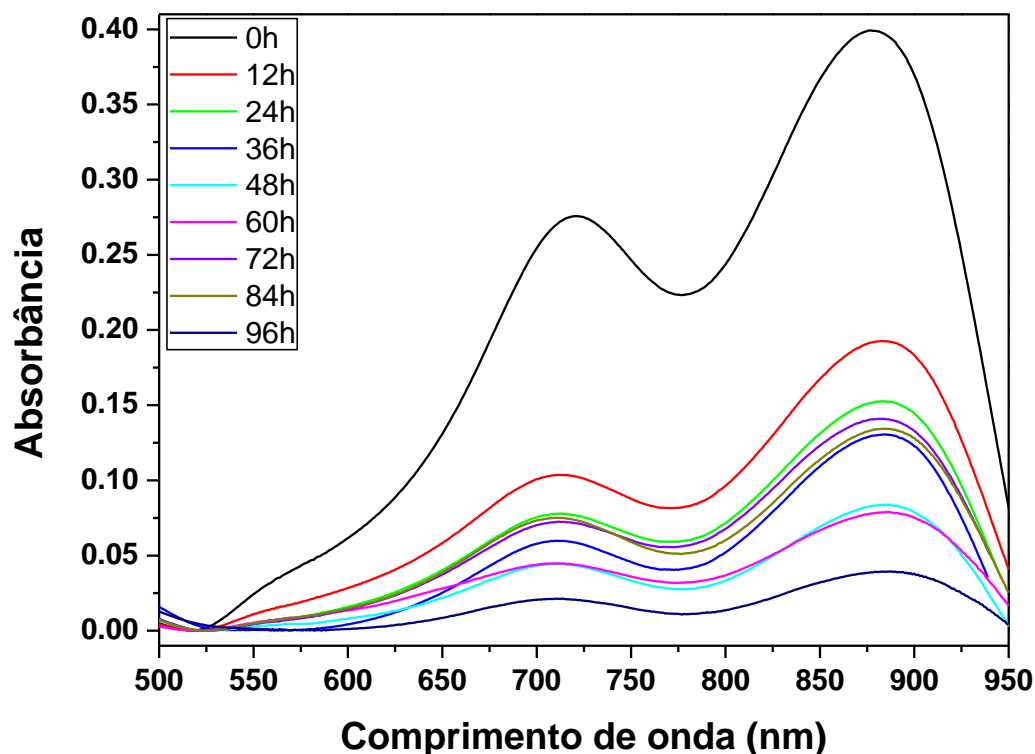




**Figura 15.** Fotos (vista superior) dos sachês das blendas poliméricas TPS:PEC contidos em béqueres de água, evidenciando sua solubilização com o tempo. a) 100PEC:40G, b) 100TPS:40G, c) 50TPS:50PEC:40G e d) 25TPS:75PEC:40G.

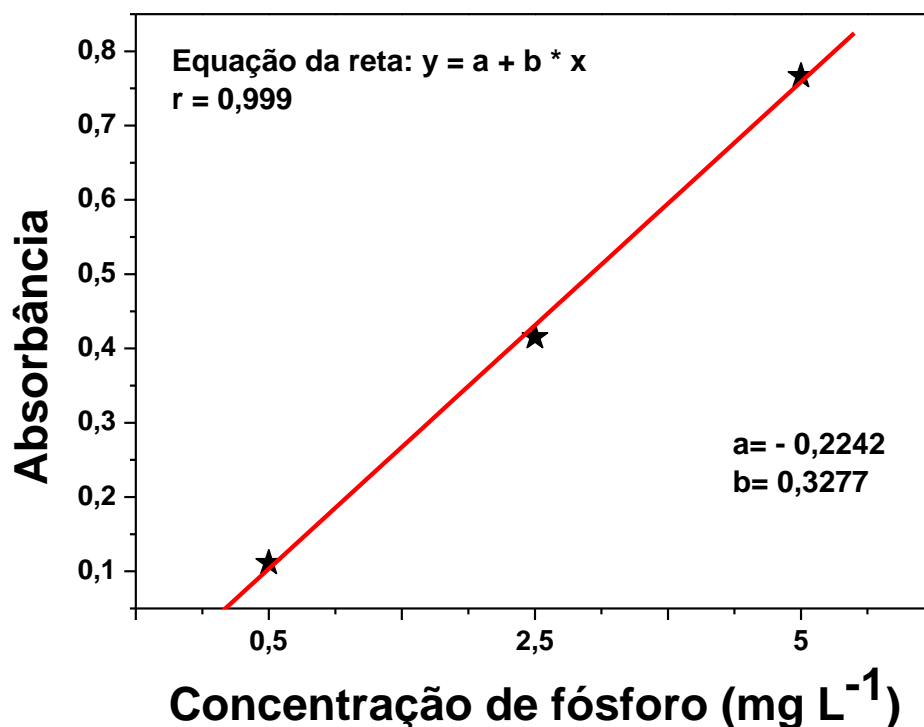
#### 4.3. Determinação da concentração de fósforo

Objetivando avaliar a solubilidade da HAP em meio aquoso a concentração de fósforo foi determinada através da técnica de espectroscopia na região do UV-Vis, utilizando a metodologia do azul de molibdênio. Os espectros das soluções resultantes da solubilização em água das amostras de HAP hidrotermalizadas por 0, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 e 96 h, após a obtenção do complexo fosfomolibdato estão apresentados na Figura 16. Observa-se nestes espectros duas bandas de absorção nas regiões de 713 e 880 nm, correspondentes às transições eletrônicas  $d-d$  do íon  $\text{Mo}^{5+}$ . Este resultado está de acordo com a literatura [95] que propõe que quando o ácido ascórbico reduz os íons  $\text{Mo}^{6+}$  a  $\text{Mo}^{5+}$ , formando um complexo de coloração azul, a absorvância ocorre fortemente na região de 880 nm e mais fracamente em 700 nm. Além disto, verifica-se também que não houve deslocamento significativo das bandas com o aumento do tempo de hidrotermalização.



**Figura 16.** Espectro de absorção na região do UV-Vis das amostras de HAP hidrotérmalizadas por 0, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 e 96 h após a solubilização e obtenção do complexo fosfomolibdato.

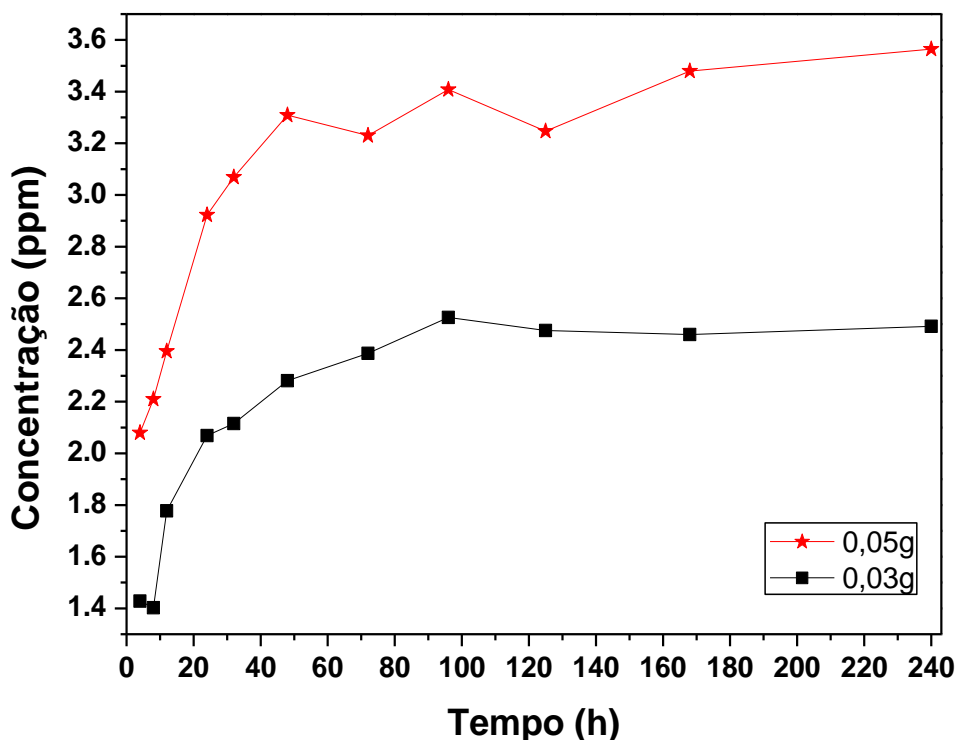
O máximo de absorbância, em torno do comprimento de onda em 880 nm, foi selecionado para a construção da curva analítica utilizada para a determinação da concentração de fósforo presente nas amostras hidrotérmalizadas e não hidrotérmalizadas. A Figura 17 apresenta a curva analítica (absorbância) obtida a partir das soluções padrão de fósforo em diferentes concentrações. Esta curva analítica é descrita pela equação da reta  $y = (-0,2242) + (0,3277) x$ , apresentando um coeficiente de correlação linear ( $r$ ) de 0,999, o qual indica ótima linearidade na faixa de concentração de  $0,5 - 5 \text{ mg L}^{-1}$ , e portanto confiabilidade para a obtenção dos resultados de concentração.



**Figura 17.** Curva analítica das soluções padrão de fósforo nas concentrações de 0,5, 2,5 e 5 mg L<sup>-1</sup>.

A Figura 18 mostra a variação da solubilidade das partículas de HAP não hidrotermalizadas em função do tempo. Para este ensaio, foram retiradas alíquotas das amostras mantidas em estufa por 10 dias a uma temperatura de 40°C. Pode-se observar, como esperado, que a solução contendo 0,05 g de HAP apresentou uma maior concentração de fósforo, quando comparada à amostra que continham 0,03 g. É importante evidenciar que a concentração de 1 g L<sup>-1</sup> foi avaliada, porém não foi possível determinar a concentração de fósforo devido à mesma ultrapassar o limite máximo de detecção do equipamento. Portanto, optou-se por trabalhar com massa de 0,5 mg do pó de HAP para incorporação nos sachês poliméricos. Neste estudo, também foi possível verificar que a solubilidade das nanopartículas manteve-se aproximadamente constante após um período de 96 h, sendo que, no final do experimento o material não estava completamente solubilizado, havendo ainda pó de HAP depositado no fundo do recipiente contendo a solução aquosa.

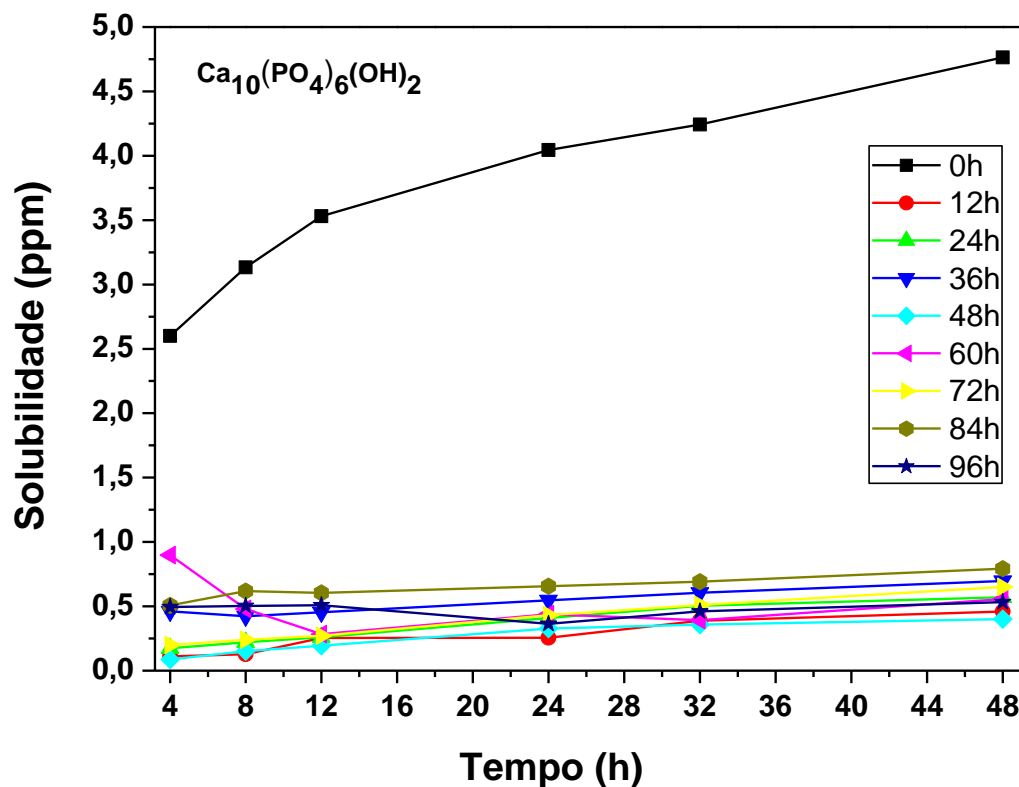




**Figura 18.** Curvas da variação da concentração de fosfato nas suspensões, com diferentes massas da HAP não hidrotermalizada, em função do tempo de retirada das alíquotas.

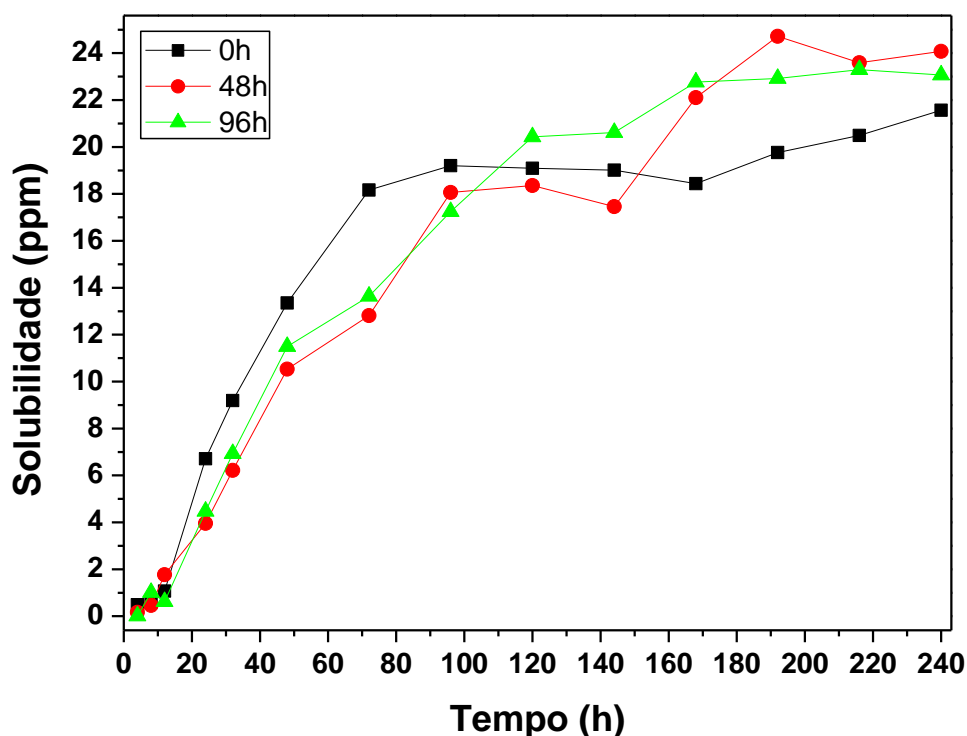
Após os ensaios para a determinação da massa que seria empregada para o armazenamento nos sachês poliméricos foram feitos estudos para avaliar a solubilidade das nanopartículas obtidas por coprecipitação e hidrotermalização de 0 a 96 h, mostrados na Figura 19. Observa-se da Figura 19 que a HAP não hidrotermalizada (0 h) apresentou maior solubilidade quando comparada às amostras hidrotermalizadas de 12 a 96 h. Este resultado está de acordo com o observado na Figura 16, na qual se pode verificar um maior valor de absorvância em 880 nm, indicando uma maior concentração de íons fosfato para esta amostra. Este fato está relacionado com o menor tamanho de partículas da amostra não hidrotermalizada e à sua menor cristalinidade, como observado nos resultados de microscopia eletrônica (Figura 9a) e DRX (Figura 10a), respectivamente. Este resultado é corroborado com dados reportados na literatura [29, 96] que demonstram um aumento da solubilidade, quando há diminuição do tamanho de partículas e do grau de cristalinidade. Além disso, observa-se na Figura 19 que o valor da concentração de fósforo em solução é similar para as amostras

hidrotermalizadas de 12 a 96 h, não sendo possível diferenciá-las por meio desta técnica espectrofotométrica. Este fato está associado ao crescimento das partículas observado por MEV-FEG (Figura 9) e ao aumento da cristalinidade da HAP verificado por DRX (Figura 10) para as amostras hidrotermalizadas.



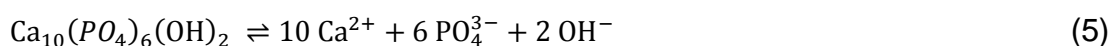
**Figura 19.** Curva de solubilidade da HAP em função do tempo de retirada de alíquotas para as amostras hidrotermalizadas a 0, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 e 96 h. Concentração de HAP igual a  $0,05 \text{ g mL}^{-1}$ .

A variação da solubilidade das nanopartículas de HAP, armazenadas nos sachês poliméricos TPS:PEC, em função do tempo de retirada de alíquotas para as amostras hidrotermalizadas a 0, 48 e 96 h estão representadas na Figura 20.



**Figura 20.** Curva de solubilidade da HAP armazenada nos sachês poliméricos TPS:PEC em função do tempo de retirada de alíquotas para as amostras hidrotermalizadas a 0, 48 e 96 h. Massa de HAP igual a  $0,05 \text{ g mL}^{-1}$ .

Analisando-se esta figura, observa-se que após o armazenamento nos sachês poliméricos TPS:PEC a solubilidade em função do tempo apresentou um comportamento muito distinto do observado na Figura 19. Após a inserção das nanopartículas nos sachês, verificou-se que as amostras hidrotermalizadas apresentaram solubilidade similar à apresentada pela amostra sem hidrotermalização. Além disso, observou-se que os valores de solubilidade aumentaram consideravelmente para um mesmo período de coleta de alíquota. Estas alterações na solubilidade da HAP observadas durante a degradação dos sachês poliméricos podem ser decorrentes da diminuição do pH da solução aquosa, que inicialmente estava em torno de 7, e após a degradação dos mesmos ficou próximo a 4. A maior solubilidade da HAP observada em meio ácido pode ser explicada por intermédio do equilíbrio de solubilidade da HAP representado pela Equação 5:



De acordo com esta equação, o consumo de íons  $\text{OH}^-$  pelos íons  $\text{H}_3\text{O}^+$  provenientes do meio ácido da solução, e que são resultantes da degradação dos sachês, provoca um deslocamento do equilíbrio favorecendo a dissolução da HAP.

Desse modo, verifica-se que o emprego dos sachês amido/pectina, além de promoverem um fornecimento de fósforo controlado para o solo e favorecerem a fixação das partículas sobre a superfície dos mesmos, minimizando os efeitos da lixiviação, promovem uma maior solubilização das partículas por intermédio da diminuição do pH do meio, com o consequente aumento da eficiência da liberação de fósforo, como desejado. Assim, verifica-se que o emprego de nanopartículas de HAP armazenadas com este tipo de material no solo, pode ser uma eficiente via para o fornecimento de fósforo, desde que haja uma avaliação prévia da influência da alteração do pH do solo durante o plantio.

## **5. Conclusões**

Os resultados obtidos neste trabalho permitem concluir que o tamanho e a cristalinidade das nanopartículas de HAP, obtidas por coprecipitação seguida de hidrotermalização, influenciou diretamente a solubilidade das mesmas em meio aquoso. A determinação da concentração de fósforo presente na solução aquosa indicou que as nanopartículas de HAP, sem tratamento hidrotérmico, apresentaram maior solubilidade quando comparada às hidrotermalizadas devido ao menor tamanho de partículas e à menor cristalinidade. Além disso, verificou-se que a degradabilidade e a maleabilidade das blends poliméricas utilizadas na fabricação dos sachês podem ser controladas por meio de alterações na proporção de seus componentes, e que a melhor composição encontrada para aplicação como sachês, para o armazenamento da HAP, foi a de 25% TPS : 75% PEC : 40% G. Observou-se também que, após o armazenamento das nanopartículas no interior de sachês poliméricos, as nanopartículas hidrotermalizadas por diferentes períodos de tempo apresentaram solubilidade similar às nanopartículas não hidrotermalizadas. Este aumento está relacionado com a acidificação do meio devido à degradação dos sachês poliméricos TPS:PEC. Estes resultados mostram a viabilidade da utilização estratégica de nanopartículas de HAP armazenadas em sachês poliméricos de amido:pectina para ser utilizado como fertilizante mineral com liberação controlada de fósforo para o solo, minimizando ainda os efeitos de lixiviação.

## **6. Sugestões para trabalho futuros**

- Investigar a concentração de íons de fósforo da HAP em solução aquosa por meio de técnicas adicionais, tais como, absorção atômica e/ou plasma acoplado por indução (ICP), para confirmar os dados obtidos pelo método UV-Vis;
- Avaliar a solubilidade da HAP em diferentes pHs e temperaturas, para uma melhor compreensão da cinética de liberação e fornecimento de P em condições reais no solo;
- Estudar diferentes composições poliméricas e/ou métodos de processamento para a obtenção de blendas uniformes, de modo a controlar e reproduzir o processo de degradação das mesmas;
- Avaliar a degradação da blenda polimérica TPS:PEC sob ação de luz ultravioleta-visível e em função da temperatura do solo;
- Realizar testes em diversos tipos de solo como: argiloso, arenoso, humoso e calcário;
- Ensaios agropecuários utilizando o sistema de adubação convencional e o sistema amido/pectina contendo nanopartículas de HAP, para verificar possível aumento de produtividade na lavoura, ocasionadas pela maior disponibilidade e retenção de fósforo no solo.

## 7. Referências Bibliográficas

1. Isherwood, K.F. *Mineral Fertilizer Use and the Environment*. 2000 [cited 2012 05.01]; 63]. Available from: [http://www.anda.org.br/multimidia/fertilizantes\\_meio\\_ambiente.pdf](http://www.anda.org.br/multimidia/fertilizantes_meio_ambiente.pdf).
2. Lopes, A.S.,Guilherme, L.R.G., *Fertilidade do solo e produtividade agrícola*, in *Fertilizantes: agroindústria e sustentabilidade*, Lapido-Loureiro, F.E.D.V., Melamed, R.,Neto, F., Editors. 2009, Cetem: Rio de Janeiro. p. 33-79.
3. Haygarth, P.M., Jarvis, S.C.,Donald, L.S., *Transfer of Phosphorus from Agricultural Soil*. *Adv. Agron.*, 1999. **66**: p. 195-249.
4. Chien, S.H.,Menon, R.G., *Factors affecting the agronomic effectiveness of phosphate rock for direct application*. *Fert. Res.*, 1995. **41**(3): p. 227-234.
5. Baillie, C., *Eco-Composites*. *Compos. Sci. Technol.*, 2003. **63**(9): p. 1223-1224.
6. Chandra, R.,Rustgi, R., *Biodegradable polymers*. *Prog. Polym. Sci.*, 1998. **23**(7): p. 1273-1335.
7. Gross, R.A.,Kalra, B., *Biodegradable polymers for the environment*. *Science*, 2002. **297**(5582): p. 803-807.
8. Lapido-Loureiro, F.E.V., Melamed, R.,Figueiredo Neto, J., *Fertilidade do solo e produtividade agrícola* *Fertilizantes: agroindústria e sustentabilidade*. 2009, Rio de Janeiro: .
9. Jarosiewicz, A.,Tomaszewska, M., *Controlled-release NPK fertilizer encapsulated by polymeric membranes*. *J. Agric. Food Chem.*, 2003. **51**(2): p. 413-417.
10. Bastos, A.L., Costa, J.P.V.d., Silva, I.d.F.d., Raposo, R.W.C., Oliveira, F.d.A.,Albuquerque, A.W.d., *Resposta do milho a doses de fósforo*. *Rev. Bras. Eng. Agríc. Ambiente.*, 2010. **14**(5): p. 485-491.
11. Ben Farhat, M., Farhat, A., Bejar, W., Kammoun, R., Bouchaala, K., Fourati, A., Antoun, H., Bejar, S.,Chouayekh, H., *Characterization of the mineral phosphate solubilizing activity of Serratia marcescens CTM 50650 isolated from the phosphate mine of Gafsa*. *Arch. Microbiol.*, 2009. **191**(11): p. 815-824.

12. McLaughlin, M.J., McBeath, T.M., Smernik, R., Stacey, S.P., Ajiboye, B., Guppy, C., *The chemical nature of P accumulation in agricultural soils-implications for fertiliser management and design: an Australian perspective*. Plant Soil, 2011. **349**(1-2): p. 69-87.
13. Malavolta, E., *Manual de Química Agrícola - Nutrição de plantas e fertilidade do solo*. Agronomica Séries, ed. Séries, A. 1976, São Paulo.
14. Petkova, V., Yaneva, V., *Thermal behavior and phase transformations of nanosized carbonate apatite (Syria)*. J. Therm Anal. Calorim. , 2009. **99**(1): p. 179-189.
15. Tõnsuaadu, K., Kaljuvee, T., Petkova, V., Traksmäa, R., Bender, V., Kirsimäe, K., *Impact of mechanical activation on physical and chemical properties of phosphorite concentrates*. Int. J. Miner. Process., 2011. **100**(3-4): p. 104-109.
16. Chaikina, M.V., Aman, S., *Fracture, grinding, mechanical activation and synthesis processes in solids under mechanical action*. Sci. Sinter., 2005. **37**(2): p. 93-105.
17. Toledo, M.C.M., Pereira, V.P., *A variabilidade de composição da apatita associada a carbonatitos*. Rev. Inst. Geol. , 2001. **22**(1/2): p. 27-64.
18. Dorozhkin, S.V., Epple, M., *Biological and medical significance of calcium phosphates*. Angew. Chem.-Int. Edit., 2002. **41**(17): p. 3130-3146.
19. Wopenka, B., Pasteris, J.D., *A mineralogical perspective on the apatite in bone*. Mater. Sci. Eng. C-Biomimetic Supramol. Syst., 2005. **25**(2): p. 131-143.
20. Santos, M.L., Florentino, A.O., Saeki, M.J., Aparecida, A.H., Lia Fook, M.V., C., G., *Synthesis of hydroxyapatite by sol-gel method using alternative precursors: calcium nitrate and phosphoric acid*. Ecl. Quím., 2005. **30**(3): p. 29-35.
21. Costa, A.C.F.M., Lima, M.G., M., L.L.H., Cordeiro, V.V., Viana, K.M.S., Souza, C.V., Lira, H.L., *Hidroxiapatita: Obtenção, caracterização e aplicações*. Remap, 2009. **v.4.3**: p. 29-38.
22. Posner, A.S., *Crystal chemistry of bone mineral*. Physiol. Rev., 1969. **49**(4): p. 760-792.



23. Elliott, J.C., *Structure and Chemistry of the Apatites and other Calcium Orthophosphates: Studies in Inorganic Chemistry*. Elsevier, 1994. **18**: p. 404.
24. Dorozhkin, S.V., *Bioceramics of calcium orthophosphates*. Biomaterials, 2010. **31**(7): p. 1465-1485.
25. Mobasherpour, I., Heshajin, M.S., Kazemzadeh, A., Zakeri, M., *Synthesis of nanocrystalline hydroxyapatite by using precipitation method*. J. Alloy. Compd., 2006. **430**(1-2): p. 330-333.
26. Lou, Z., Zeng, Q., Chu, X., Yang, F., He, D., Yang, M., Xiang, M., Zhang, X., Fan, H., *First-principles study of the adsorption of lysine on hydroxyapatite (100) surface*. Appl. Surf. Sci., 2012. **258**(11): p. 4911-4916.
27. Liu, J.B., Ye, X.Y., Wang, H., Zhu, M.K., Wang, B., Yan, H., *The influence of pH and temperature on the morphology of hydroxyapatite synthesized by hydrothermal method*. Ceram. Int., 2003. **29**(6): p. 629-633.
28. Byrappa, K., Ohachi, T., *Crystal Growth Technology*. 2003, New York: William Andrew Inc. 580.
29. Fulmer, M.T., Ison, I.C., Hankermayer, C.R., Constantz, B.R., Ross, J., *Measurements Of The Solubilities And Dissolution Rates Of Several Hydroxyapatites*. Biomaterials, 2001. **23**: p. 751-755.
30. Hench, L.L., Wilson, J., *Introduction to Bioceramics*. 1 ed. 1993, Singapore: Word Scientific 389.
31. Mayo, M.J., Seidensticker, J.R., Hague, D.C., Carim, A.H., *Surface chemistry effects on the processing and superplastic properties of nanocrystalline oxide ceramics*. Nanostruct Mater, 1999. **11**(2): p. 271-282.
32. Ishaaya, I., Nauen, R., Horowitz, A.R., *Insecticides Design Using Advanced Technologies*. Agronomia/Agricultura, ed. Ny, S.V. 2007, Nova York: Springer Verlag Ny.
33. Shellis, R.P., Lee, A.R., Wilson, R.M., *Observations on the apparent solubility of carbonate-apatites*. J. Colloid Interface Sci., 1999. **218**(2): p. 351-358.
34. Neuman, W.F., Neuman, M.W., *The Nature Of The Mineral Phase Of Bone*. Chem. Rev., 1953. **53**(1): p. 1-45.

35. Clark, J.S., *Solubility Criteria For The Existence Of Hydroxyapatite*. Can. J. Chem.-Rev. Can. Chim., 1955. **33**(11): p. 1696-1700.
36. Moreno, E.C., Gregory, T.M., Brown, W.E., *Preparation And Solubility Of Hydroxyapatite*. J. Res. Nbs. A Phys. Ch., 1968. **A 72**(6): p. 773.
37. Fulmera, M.T., Isona, I.C., Hankermayerb, C.R., Constantzb, B.R., Ross, J., *Measurements Of The Solubilities And Dissolution Rates Of Several Hydroxyapatites*. Biomaterials, 2001. **23**: p. 751-755.
38. Cunha, M.A., *Síntese e caracterização de Hidroxiapatita nanoestruturada obtidos por asperção de solução em chama*, in *Engenharia de Materiais*. 2010, Universidade Federal do Rio Grande do Sul: Porto Alegre. p. 60.
39. Klein, C.P.A.T., de Blicck-Hogemrst, J.M.A., Wolket, J.G.C., de Groot, K., *Studies of the solubility of different calcium phosphate ceramic particles in vitro*. Biomaterials, 1990. **11**(7): p. 509-512.
40. Skartsila, K., Spanos, N., *Surface characterization of hydroxyapatite: Potentiometric titrations coupled with solubility measurements*. J. Colloid Interf. Sci., 2007. **308**(2): p. 405-412.
41. Afshar, A., Ghorbani, M., Ehsani, N., Saeri, M.R., Sorrell, C.C., *Some important factors in the wet precipitation process of hydroxyapatite*. Mater. Des., 2003. **24**(3): p. 197-202.
42. Kweh, S.W.K., Khor, K.A., Cheang, P., *The production and characterization of hydroxyapatite (HA) powders*. J. Mater. Process. Tech., 1999. **90**(19): p. 373-377.
43. Liu, D.M., Troczynski, T., Tseng, W.J., *Water-based sol-gel synthesis of hydroxyapatite: process development*. Biomaterials, 2001. **22**(13): p. 1721-1730.
44. Neira, I.S., Guitián, F., Taniguchi, T., Watanabe, T., Yoshimura, M., *Hydrothermal synthesis of hydroxyapatite whiskers with sharp faceted hexagonal morphology*. J. Mater. Sci., 2008. **43**(7): p. 2171-2178.
45. Burda, C., Chen, X.B., Narayanan, R., El-Sayed, M.A., *Chemistry and properties of nanocrystals of different shapes*. Chem. Rev., 2005. **105**(4): p. 1025-1102.

46. Cushing, B.L., Kolesnichenko, V.L., O'Connor, C.J., *Recent Advances in the Liquid-Phase Syntheses of Inorganic Nanoparticles*. Chem. Rev., 2004. **104**(9): p. 3893-3946.
47. Rigo, E.C.S., Gehrke, S.A., Carbonari, M., *Síntese e caracterização de hidroxiapatita obtida pelo método de coprecipitação*. Rev. Dental Press, 2007. **1**(3): p. 39-50.
48. Koutsopoulos, S., *Synthesis and characterization of hydroxyapatite crystals: A review study on the analytical methods*. J. Biomed. Mater. Res., 2002. **62**(4): p. 600-612.
49. Cunha, S.M., Lazar, D.R.R., Ussui, V., Lima, N.B., Bressiani, A.H., *Síntese de hidroxiapatita por precipitação homogênea*, in *XVI Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciências dos Materiais*. 2004: Porto Alegre.
50. Mamani, J.B., *Estrutura e Propriedades de Nanopartículas Preparadas via Sol-Gel* in *Instituto de Física*. 2009, Universidade de São Paulo: São Paulo. p. 184.
51. Gouveia, D.S., *Obtenção de pós-nanométricos de hidroxiapatita sintetizados com magnésio utilizando ultra-som*, in *Tecnologia Nuclear*. 2008, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - Associada à Universidade de São Paulo: São Paulo p. 129.
52. Demazeau, G., *Solvothermal and hydrothermal processes: the main physico-chemical factors involved and new trends*. Res. Chem. Intermed., 2011. **37**(2-5): p. 107-123.
53. Somiya, A., Hishinuma, K., Akiba, T., *A new materials processing - hydrothermal processing*. Bull. Mater.Sci, 1995. **18**(6): p. 811-818.
54. Shaviv, A., *Advances in controlled-release fertilizers*, in *Advances in Agronomy*. 2001, Academic Press. p. 1-49.
55. Chatzoudis, G.K., Rigas, F., *Macroreticular Hydrogel Effects on Dissolution Rate of Controlled-Release Fertilizers*. J. Am. Chem. Soc., 1998. **46**(7): p. 2830-2833.
56. Lucas, F.E., Soares, G.B., Monteiro, E., *Caracterização de Polímeros (Determinação de Peso Molecular e Análise Térmica)*. , ed. E-papers. 2001, Rio de Janeiro.

57. Schlemmer, D., Sales, M.J.A., *Preparação, Caracterização e Degradação de Blendas PS/TPS Usando Glicerol e Óleo de Buriti como Plastificantes*. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, 2010. **20**(1): p. 6 - 13.
58. Brito, G.F., Agrawal, P., Araújo, E.M., Mélo, T.J.A., *Biopolímeros, Polímeros Biodegradáveis e Polímeros Verdes*, in *Revista Eletrônica de Materiais e Processos*. 2011: Campina Grande - PB. p. 127 –139.
59. Yu, L., Dean, K., Li, L., *Polymer blends and composites from renewable resources*. *Prog. Polym. Sci.*, 2006. **31**(6): p. 576-602.
60. Corradini, E., Lotti, C., Medeiros, E.S., Carvalho, A.J.F., Curvelo, A.A.S., Mattoso, L.H.C., *Estudo Comparativo de Amidos Termoplásticos Derivados do Milho com Diferentes Teores de Amilose*. *Polímeros*, 2005. **15**(4): p. 268-273.
61. Jayakody, L., Hoover, R., Liu, Q., Donner, E., *Studies on tuber starches. II. Molecular structure, composition and physicochemical properties of yam (Dioscorea sp.) starches grown in Sri Lanka*. *Carbohydr. Polym.*, 2007. **69**(1): p. 148-163.
62. Mali, S., Grossmann, M.V.E., Yamashita, F., *Filmes de amido: produção, propriedades e potencial de utilização*. *Semina Cienc. agrar.*, 2010. **31**(1): p. 137-156.
63. Teixeira, E.M., *Utilização de amido de mandioca na preparação de novos materiais termoplásticos*, in *Instituto de Química de São Carlos*. 2007, Universidade de São Paulo: São Carlos.
64. Nelson, D.L., Cox, M.M., *Lehninger Principles of Biochemistry*, ed. 3. 2000, New York: Worth Publishers.
65. Ma, X., Yu, J., Kennedy, J.F., *Studies on the properties of natural fibers-reinforced thermoplastic starch composites*. *Carbohydr. Polym.*, 2005. **62**(1): p. 19-24.
66. Willats, W.G.T., Knox, P., Mikkelsen, J.D., *Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel*. *Trends Food Sci. Technol.*, 2006. **17**(3): p. 97-104.
67. Lofgren, C., Walkenstrom, P., Hermansson, A.M., *Microstructure and rheological behavior of pure and mixed pectin gels*. *Biomacromolecules*, 2002. **3**(6): p. 1144-1153.

68. Kasapis, S., *Viscoelasticity of oxidized starch/low methoxy pectin mixtures in the presence of glucose syrup*. 2002. **37**(4): p. 403-413.
69. Fishman, M.L., Coffin, D.R., Konstance, R.P., Onwulata, C.I., *Extrusion of pectin/starch blends plasticized with glycerol*. Carbohydr. Polym., 2000. **41**(4): p. 317-325.
70. Moreira, F.K.V., *Desenvolvimento de Nanocompósitos Poliméricos Biodegradáveis a partir de Pectina, Amido e Nanofibras de Celulose*, in *Engenharia de Materiais*. 2010, Universidade Federal de São Carlos: São Carlos.
71. Mariniello, L., Di Pierro, P., Esposito, C., Sorrentino, A., Masi, P., Porta, R., *Preparation and mechanical properties of edible pectin-soy flour films obtained in the absence or presence of transglutaminase*. J. Biotechnol., 2003. **102**(2): p. 191-198.
72. Aiji, A., Utracki, L.A., *Interphase and compatibilization of polymer blends*. Polym. Eng. Sci., 1996. **36**(12): p. 1574-1585.
73. Utracki, L.A., *Compatibilization of Polymer Blends*. Can. J. Chem. Eng., 2002. **80**(6): p. 1008-1016.
74. Koning, C., van Duin, M., Pagnouille, C., Jerome, R., *Strategies for compatibilization of polymer blends*. Prog. Polym. Sci., 1998. **23**(4): p. 707-757.
75. Ito, E.N., Pessan, L.A., Hage Jr, E., Covas, J.A., *Análise do desenvolvimento morfológico da blenda polimérica PBT/ABS durante as etapas de mistura por extrusão e moldagem por injeção*. Polímeros, 2004. **14**: p. 83-92.
76. Lim, L.T., Auras, R., Rubino, M., *Processing technologies for poly(lactic acid)*. Prog. Polym. Sci., 2008. **33**(8): p. 820-852.
77. Corradini, E., Teixeira, E.M., Agnelli, J.A.M., Mattoso, L.H.C., *Amido Termoplástico*. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Vol. 1. 2007, São Carlos: 1.
78. Marconcini, J.M., *Estudo da blenda poli(tereflato de etileno) reciclado e poliolefinas recicladas*, in *Departamento de Química*. 2005, UFSCar: São Carlos-SP.

79. Huneault, M.A., Li, H.B., *Morphology and properties of compatibilized polylactide/thermoplastic starch blends*. Polymer, 2007. **48**(1): p. 270-280.
80. Mourão, H.A.J.L., Mendonça, V.R.d., Malagutti, A.R., Ribeiro, C., *Nanoestruturas em fotocatalise: uma revisão sobre estratégias de síntese de fotocatalisadores em escala nanométrica*. Quím. Nova, 2009. **32**(8): p. 2181-2190.
81. Mahmoudi, M., Lynch, I., Ejtehadi, M.R., Monopoli, M.P., Bombelli, F.B., Laurent, S., *Protein-Nanoparticle Interactions: Opportunities and Challenges*. Chem. Rev., 2011. **111**(9): p. 5610-5637.
82. Skoog, D.A., Holler, F.J., Nieman, T.A., *Princípios de Análise Instrumental* ed. Bookman. Vol. 5. 2002, Porto Alegre Bookman.
83. Hanrahan, G., Salmassi, T.M., Khachikian, C.S., Foster, K.L., *Reduced inorganic phosphorus in the natural environment: significance, speciation and determination*. Talanta, 2005. **66**(2): p. 435-444.
84. Warwick, C., Guerreiro, A., Soares, A., *Sensing and analysis of soluble phosphates in environmental samples: A review*. Biosens. Bioelectron., 2012. **41**(0): p. 1-11.
85. Averous, L., Moro, L., Dole, P., Fringant, C., *Properties of thermoplastic blends: starch-polycaprolactone*. Polymer, 2000. **41**(11): p. 4157-4167.
86. Jarvie, H., Withers, J.A., Neal, C., *Review of robust measurement of phosphorus in river water: sampling, storage, fractionation and sensitivity*. Hydrol Earth Syst Sc, 2002. **6**(1): p. 113-131.
87. Santos, M.d.L.S., Muniz, K., Feitosa, F.A.d.N., Barros Neto, B.d., *Estudo das diferentes formas de fósforo nas águas da plataforma continental do Amazonas*. Quím. Nova, 2007. **30**(3): p. 569-573.
88. Andre, R.S., Paris, E.C., Gurgel, M.F.C., Rosa, I.L.V., Paiva-Santos, C.O., Li, M.S., Varela, J.A., Longo, E., *Structural evolution of Eu-doped hydroxyapatite nanorods monitored by photoluminescence emission*. J. Alloy. Compd., 2012. **531**: p. 50-54.
89. Motskin, M., Wright, D.M., Muller, K., Kyle, N., Gard, T.G., Porter, A.E., Skepper, J.N., *Hydroxyapatite nano and microparticles: Correlation of particle properties with cytotoxicity and biostability*. Biomaterials, 2009. **30**(19): p. 3307-3317.

90. Rehman, I., Bonfield, W., *Characterization of hydroxyapatite and carbonated apatite by photo acoustic FTIR spectroscopy*. J. Mater. Sci.-Mater. Med., 1997. **8**(1): p. 1-4.
91. Slószarczyk, A., Paszkiewicz, Z., Paluszkiewicz, C., *FTIR and XRD evaluation of carbonated hydroxyapatite powders synthesized by wet methods*. J. Mol. Struct., 2005. **744-747**(0): p. 657-661.
92. Moreira, F.K.V., Marconcini, J.M., Mattoso, L.H.C., *Analysis of the influence of composition and processing parameters on the mechanical properties of biodegradable starch/pectin blends*. Polym. Bull., 2012. **69**(5): p. 561-577.
93. van Soest, J.J.G., Hulleman, S.H.D., Wit, D.d., Vliegthart, J.F.G., *Crystallinity in starch bioplastics*. Ind. Crop. Prod., 1996. **5**(1): p. 11-22.
94. Campos, A., Marconcini, J.M., Imam, S.H., Klamczynski, A., Ortis, W.J., Wood, D.H., Williams, T.G., Martins-Franchetti, S.M., Mattoso, L.H.C., *Morphological, mechanical properties and biodegradability of biocomposite thermoplastic starch and polycaprolactone reinforced with sisal fibers*. J. Reinf. Plast. Comp., 2012. **31**(8): p. 573-581.
95. Mihajlovic, R.P., Ignjatovic, N.R., Todorovic, M.R., Hoclajtner-Antunovic, I., Kaljevic, V., *Spectrophotometric determination of phosphorus in coal and coal ash using bismuth-phosphomolybdate complex*. J. Serb. Chem. Soc., 2003. **68**(1): p. 65-73.
96. Villiers, M.M.d., Aramwit, P., Kwon, G.S., *Nanotechnology in drug delivery*, ed. Springer. 2009: Springer. 662