

Universidade Federal De Pelotas
Centro de Desenvolvimento Tecnológico
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de
 Materiais

Tese de Doutorado



**Estabilidade de quitosana em ácido pirolenhoso destilado e
desenvolvimento de filmes com adição de mucilagem de ora-pro-
nóbis**

Fabiane Grecco da Silva Porto

Pelotas, 2023

Estabilidade de quitosana em ácido pirolenhoso destilado e desenvolvimento de filmes com adição de mucilagem de ora-pro-nóbis

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciência e Engenharia de Materiais.

Orientadora: Profa Dra Irene Teresinha Santos Garcia

Co-Orientadora: Dra Ângela Diniz Campos

Pelotas, 2023

Fabiane Grecco da Silva Porto

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

P839e Porto, Fabiane Grecco da Silva

Estabilidade de quitosana em ácido pirolenhoso destilado e desenvolvimento de filmes com adição de mucilagem de ora-pro-nóbis / Fabiane Grecco da Silva Porto ; Irene Teresinha Santos Garcia, orientadora ; Angela Diniz Campos, coorientadora. — Pelotas, 2023.

106 f. : il.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas, 2023.

1. Pereskiaaculeata. 2. Estabilidade coloidal. 3. Resistência mecânica. 4. Radiação ultravioleta. 5. Compostos fenólicos. I. Garcia, Irene Teresinha Santos, orient. II. Campos, Angela Diniz, coorient. III. Título.

CDD : 620.11063

Elaborada por Maria Inez Figueiredo Figs Machado CRB: 10/1612

Estabilidade de quitosana em ácido pirolenhoso destilado e desenvolvimento de filmes com adição de mucilagem de ora-pro-nóbis

Tese apresentada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Doutor em Ciência e Engenharia de Materiais, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa:

Banca examinadora:

.....
Prof. Dra. Irene Teresinha Santos Garcia (Orientadora)

Doutora em Ciência dos Materiais pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

.....
Prof. Dr. Omar Mertins

Doutor em Química pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

.....
Prof. Dr. Marcos Antônio Villetti

Doutor em Química pela Universidade Federal de Santa Catarina

.....
Prof. Dra. Henara Lillian Costa Murray

Doutora em Engenharia pela University of Cambridge

.....
Prof. Dr. Neftalí Lenin Villarreal Carreño

Doutor em Química pela Universidade Federal de São Carlos

Agradecimentos

À minha orientadora Prof^a Irene, que dedicou seu tempo me orientando, pelos ensinamentos durante o desenvolvimento deste trabalho, pela parceria, compreensão e amizade.

À minha coorientadora Dr^a Ângela, pelo incentivo, ensinamentos, parceria e compreensão.

Obrigada por me ensinarem tanto ao longo de todos esses anos de convívio. Vocês são inspiração e exemplo de grandes pesquisadoras!

Aos professores que aceitaram participar da banca, por suas valiosas contribuições para este trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Catálise e Química de Interfaces, ao Laboratório Multiusuário de Análise de Superfície e a Central Analítica da UFRGS, pelo apoio na realização das análises.

Aos colegas do Laboratório de Fisiologia Vegetal da Embrapa Clima Temperado, Renê e Elsa, pelo apoio e suporte nas análises e na estatística.

Ao Prof^o Neftalí, pela acolhida no Grupo de Pesquisa Novonano e aos colegas do laboratório, pelo auxílio nas análises.

À colega Thais do Laboratório de Lipidômica e Bio-orgânica da UFPel, pelo auxílio para realização das análises de FTIR e UV-Vis.

À Tatiana do Centro de Desenvolvimento e Controle de Biomateriais da UFPel, pelo auxílio nas análises de ângulo de contato.

Ao Prof^o Thiago e a colega Kelly da UFSM, pelas análises de AFM.

Aos colegas, funcionários e professores do PPGCEM da UFPel, pelo suporte durante o doutorado.

A minha família, por todo apoio e, em especial, a minha mãe, por me ensinar a perseverar, ao meu esposo, que sempre me apoiou e incentivou e realmente é um parceiro de vida, e ao meu filho amado, por todos os beijos e abraços que sempre renovam minhas forças.

A Deus, por me permitir seguir meus estudos com saúde e pelas pessoas maravilhosas que colocou em meu caminho, sem as quais este sonho não seria possível de se realizar.

Resumo

PORTO, Fabiane Grecco da Silva. Estabilidade de quitosana em ácido pirolenhoso destilado e desenvolvimento de filmes com adição de mucilagem de ora-pro-nóbis. Orientadora: Irene Teresinha Santos Garcia. 2023. 106f. Tese (Doutorado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2023.

O ácido pirolenhoso (APD), e a quitosana (Q) são produtos biodegradáveis obtidos de fontes renováveis. Apresentam atividades antimicrobiana e antioxidante e induzem resistência nas plantas, características que os habilitam para serem usados na formulação de insumos agrícolas. Em combinação, formam sistemas coloidais e filmes de alta absorção da radiação ultravioleta. Por outro lado, a mucilagem de ora-pro-nóbis (MOPN) é composta de proteína, carboidratos e metais, que podem ser utilizados como nutrientes para plantas; a arabinogalactana, o principal componente, é um polissacarídeo capaz de formar blendas poliméricas. Avaliamos a estabilidade de sistemas coloidais contendo 10 e 30 g·L⁻¹ de Q em APD por até 30 meses de armazenamento em temperatura ambiente (20 ± 5 °C), que apresentaram comportamento newtoniano. Posteriormente estes sistemas foram desestabilizados e seus precipitados continham compostos fenólicos oriundos do APD ligados à quitosana; a quantidade de fenóis totais ligados às cadeias poliméricas aumentou com o tempo de armazenamento. O sistema coloidal contendo 30 g·L⁻¹ de quitosana foi submetido a envelhecimento acelerado, a 60 °C por até 41 dias, tempo que, segundo as análises reológicas, foi equivalente a 14 meses de envelhecimento à temperatura ambiente. As propriedades fotoprotetoras e mecânicas dos filmes obtidos a partir desses sistemas foram influenciadas pelo tempo de armazenamento. Foi estudada a interação de MOPN com sistemas contendo 10 g·L⁻¹ de quitosana em APD e em solvente modelo do APD, contendo 0,1% (m/v) de hidroquinona e 2% (v/v) de ácido acético em água. A partir das folhas secas de *Pereskia aculeata* foi extraída a mucilagem e continha 41,16 ± 9,20% de carboidratos e 5,87 ± 0,22% de proteínas, além de K, Mg e Ca. Os sistemas apresentaram comportamento

newtoniano e a mucilagem foi responsável pelo decréscimo da viscosidade para valores próximos ao da mucilagem pura. Os filmes obtidos com a incorporação de mucilagem no sistema Q/APD apresentaram redução da absorção na região do UV, diminuição na dissipação de energia na superfície e solubilidade em água. A mucilagem interage com a quitosana impedindo a reticulação das cadeias promovidas pelos fenóis. O filme contendo apenas Q/APD liberou 6,28% de fenóis, sendo observado efeito Burst, ou seja, uma rápida liberação do composto da matriz polimérica. A adição da MOPN ao sistema Q/APD diminui a propriedade fotoprotetora do filme e potencializou propriedades relevantes para uso na agricultura, como a adição nutrientes e a redução na viscosidade dos sistemas.

Palavras-chave: *Pereskia aculeata*, estabilidade coloidal, fotoproteção, resistência mecânica, radiação ultravioleta, compostos fenólicos.

Abstract

Pyroligneous acid (APD) and chitosan (Q) are biodegradable products obtained from renewable sources. They present antimicrobial and antioxidant activities and induce resistance in plants, characteristics that enable them to be used in the formulation of agricultural inputs. In combination, they form colloidal systems and films with high absorption of ultraviolet radiation. On the other hand, mucilage of *ora-pro-nóbis* (MOPN) is composed of protein, carbohydrates and metals, which can be applied as nutrients for plants; arabinogalactan, the main component, is a polysaccharide capable of forming polymeric blends. We evaluated the stability of colloidal systems containing 10 and 30 g·L⁻¹ of Q in APD for up to 30 months of storage at room temperature (20 ± 5 °C), which showed Newtonian behavior. Posteriorly, those systems were destabilized and the precipitates showed phenolic compounds from APD linked to chitosan; the amount of total phenols bonded to the polymeric chains increased with storage time. The colloidal system containing 30 g·L⁻¹ chitosan was submitted to accelerated aging, at 60 °C for up to 41 days, which, according to the rheological analyses, was equivalent to 14 months-aging at room temperature. The photoprotective and mechanical properties of the films, obtained from those systems, were influenced by storage time. We investigated the interaction of MOPN with systems containing 10 g·L⁻¹ chitosan in APD and in a model APD solvent containing 0.1% (m/v) hydroquinone and 2% (v/v) acetic acid in water. Mucilage was extracted from dry leaves of *Pereskia aculeata* e contained 41.16 ± 9.20% of carbohydrates and 5.87 ± 0.22% of proteins, in addition to K, Mg, and Ca. The systems showed a Newtonian behavior and the mucilage decreased viscosity to values close to pure mucilage. The films obtained with the incorporation of mucilage in the Q/APD system showed a reduction in absorption in the UV region, decrease in surface energy dissipation and solubility in water. Mucilage interacts with the chitosan, preventing the crosslinking of chains promoted by phenols. The film containing only Q/APD released 6.28% of phenols, and the burst effect was observed, that is, a rapid release of the compound from the polymeric matrix. The addition of MOPN to the Q/APD system decreases the film photoprotection and potentiates relevant properties for use in agriculture, such as the addition of nutrients and viscosity reduction in the systems.

Keywords: *Pereskia aculeata*, colloidal stability, photoprotection, mechanical strength, ultraviolet radiation, phenolic compounds.

Lista de Figuras

Figura 1. Estrutura química da quitina (a) e da quitosana (b).....	21
Figura 2. Vista de um forno convencional de produção de carvão vegetal adaptado para a coleta de ácido pirolenhoso.	24
Figura 3. Ora-pro-nóbis, espécie <i>Pereskia aculeata</i>	26
Figura 4. Modelo de estrutura da arabinogalactana do tipo I. Cadeia principal β -D-galactopiranosose (1,4) e ramificações de β -D-galactopiranosose (1,6) e α -L-arabinofuranose.....	27
Figura 5. Fluxograma simplificado da metodologia utilizada no desenvolvimento do trabalho.	30
Figura 6. Processo de extração e purificação da mucilagem de ora-pro-nóbis (MOPN).	33
Figura 7. Esquema de preparo dos sistemas quitosana/mucilagem de ora-pro-nobis.....	39
Figura 8. a) Espectro de RMN ^1H da quitosana Polymar em $\text{D}_2\text{O}/\text{HCl}$ 1% v/v. b) Espectro de RMN ^1H da quitosana Sigma em $\text{D}_2\text{O}/\text{CD}_3\text{CO}_2\text{D}$ 2% v/v...	42
Figura 9. Imagem de microscopia eletrônica de varredura da MOPN. Em a) aumento de 50X e em b) de 3000x.	46
Figura 10. Espectro de FTIR da MOPN.	48
Figura 11. Espectro de RMN ^{13}C da MOPN.	49
Figura 12. Espectro de ^1H RMN da MOPN.	50
Figura 13. Tensão versus taxa de cisalhamento para os sistemas Q/APD, com concentração de $30 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, em diferentes tempos de armazenamento na temperatura de $20 \text{ }^\circ\text{C} \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$	52
Figura 14. RMN de estado sólido de ^{13}C da quitosana (Polymar) e dos polímeros Q/APD-0, Q/APD-4, Q/APD-14 e Q/APD-30.....	55
Figura 15. FTIR-DRIFT da quitosana (Polymar) e dos polímeros precipitados Q/APD-0, Q/APD-4, Q/APD-14 e Q/APD-30.	57
Figura 16. Espectro de ultravioleta do APD (diluído 200 vezes) e da quitosana e dos polímeros, Q/APD-0, Q/APD-4, Q-APD-14 e Q/APD-30, em tampão $0,3 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ de ácido acético e $0,2 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ de acetato de sódio na concentração de $0,1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$	58

Figura 17. Espectro 3-D de fluorescência da quitosana (Polymar) no estado sólido a 25 °C.....	59
Figura 18. Espectro 3-D de fluorescência da quitosana 2 g·L ⁻¹ , em tampão 0,3 mol·L ⁻¹ de ácido acético e 0,2 mol·L ⁻¹ de acetato de sódio a 25 °C.....	60
Figura 19. Espectro 3-D de fluorescência do ácido pirolenhoso destilado de <i>Eucalyptus grandis</i> , com λ de excitação variando de 250 a 700 nm e λ de emissão variando de 260 a 800 nm a 25 °C.....	61
Figura 20. Espectros de emissão obtidos na temperatura de 25 °C com comprimento de onda de excitação de 340 nm: do APD, do tampão, da quitosana e dos sistemas Q/APD que foram precipitados após diferentes tempos de armazenamento e redissolvidos em tampão 0,3 mol·L ⁻¹ de ácido acético e 0,2 mol·L ⁻¹ de acetato de sódio na concentração de 2 g·L ⁻¹ (Q/APD-0, Q/APD-4, Q/APD-14 e Q/APD-30).	62
Figura 21. Tensão versus taxa de cisalhamento para o sistema quitosana/APD, com concentração de 30 g·L ⁻¹ , após 41 dias de armazenamento a 60 °C.....	64
Figura 22 – Microscopia eletrônica de varredura de folha de soja a) sem filme e b) com filme, após aplicação de Q/APD; ampliação de 450 vezes.....	65
Figura 23. Absorbância na região do UV-Vis do filme obtido a partir do sistema Q/APD no início e no final do período de envelhecimento acelerado a 60 °C.....	66
Figura 24. Imagem de AFM a) tempo zero e b) tempo final (41 dias de envelhecimento acelerado).	66
Figura 25. Exemplo de curvas de aproximação e retração, em vermelho e azul, respectivamente. À direita são exibidas as diferentes regiões de interação entre a ponta e a amostra, com a respectiva deflexão do cantilever, rotuladas com as letras de A a E. Ao lado as propriedades mecânicas derivadas da curva força X distância.	68
Figura 26. Espectro de a) RMN de ¹ H e b) de ¹³ C da hidroquinona.	71
Figura 27. Espectro de ¹ H RMN comparando os materiais puros, quitosana (Sigma), MOPN e hidroquinona, com o sistema Q/MOPN/AA/HQ, com concentração de 1% (m/v) de quitosana e 0,05% (m/v) de MOPN.....	73

Figura 28. Espectro de ^{13}C RMN comparando os materiais puros, quitosana (Sigma), MOPN e hidroquinona, com o sistema Q/MOPN/AA/HQ, com concentração de 1% (m/v) de quitosana e 0,05% (m/v) de MOPN.....	75
Figura 29. Espectro de FTIR do filme obtido a partir do sistema Q/MOPN/AAHQ, com concentração de 1% (m/v) de quitosana e 0,05% (m/v) de MOPN e dos materiais precursores em pó, hidroquinona, mucilagem e quitosana.	76
Figura 30. Espectros de FTIR dos filmes obtidos a partir dos sistemas com 0,05% de MOPN e concentrações de quitosana de a) 1% (m/v); b) 0,5% (m/v); c) 0,3% (m/v); d) 0,1% (m/v).	77
Figura 31. Imagens de MEV dos filmes obtidos a partir dos sistemas com 0,05% de MOPN e concentrações de quitosana de a) 1% (m/v); b) 0,5% (m/v); c) 0,3% (m/v); d) 0,1% (m/v), com ampliação de 1000 vezes.....	78
Figura 32. Tensão versus taxa de cisalhamento para os sistemas Q/MOPN/AAHQ-1 e 2 e Q/MOPN/APD-1 e 2, a 25 °C.	80
Figura 33. Imagens obtidas por AFM dos filmes produzidos a partir dos sistemas: a) Q/AA/HQ; b) Q/MOPN/AA/HQ-1; c) Q/MOPN/AA/HQ-2; d) Q/APD; e) Q/MOPN/APD-1 e f) Q/MOPN/APD-2.	84
Figura 34. Varredura no espectro eletromagnético entre 190 e 800 nm de filmes obtidos a partir dos sistemas de quitosana pura e com adição de mucilagem, solvente modelo (a) e em APD (b). A região em destaque foi ampliada.	86
Figura 35. Experimentos contendo filmes autossuportados imersos em água, obtidos a partir dos sistemas: a) Q/MOPN/APD 20:1; b) Q/MOPN/APD 2:1; c) Q/APD, 30 minutos após imersão em água ultrapura. Em d) Q/APD, após 45 dias de imersão.....	87
Figura 36. Liberação de fenóis do filme Q/APD em água.....	88

Lista de Tabelas

Tabela 1. Percentagens atômicas de metais obtidas por XPS na MOPN.	45
Tabela 2. Dados da análise de GPC para a MOPN.....	46
Tabela 3. Parâmetros reológicos dos sistemas de Q/APD na temperatura de 25 °C.....	53
Tabela 4. Massa molar viscosimétrica e teor de compostos fenólicos do polímero Q/APD em função do tempo de armazenamento à temperatura ambiente.....	56
Tabela 5. Evolução da viscosidade (medida a 25 °C) do sistema Q/APD 30 g·L ⁻¹ em diferentes tempos de envelhecimento acelerado a 60 °C.....	63
Tabela 6. Comparação da viscosidade inicial e final do sistema Q/APD 30 g·L ⁻¹ nos dois experimentos de envelhecimento, armazenagem à temperatura ambiente (Exp1) e armazenagem em envelhecimento acelerado a 60 °C (Exp2).	64
Tabela 7. Propriedades mecânicas dos filmes obtidos a partir do sistema Q/APD 30 g·L ⁻¹ sem armazenamento (tempo 0 dias) e no final do período de envelhecimento acelerado (tempo 41 dias).....	69
Tabela 8. Deslocamentos químicos observados para os hidrogênios ligados aos carbonos do anel benzênico da hidroquinona sozinha e com os polímeros constituintes do sistema em estudo.....	72
Tabela 9. Deslocamentos químicos observados para os carbonos da hidroquinona sozinha e com os polímeros constituintes do sistema em estudo.	74
Tabela 10. Propriedades reológicas da mucilagem e da quitosana e dos sistemas Q/MOPN, em APD e em solvente modelo (AAHQ), a 25 °C.....	80
Tabela 11. Ângulo de contato, tensão superficial e trabalho de adesão entre folha de soja e os sistemas Q/MOPN, em APD e solvente modelo, comparados ao sistema sem a adição de mucilagem.....	82
Tabela 12. Propriedades nanomecânicas dos filmes obtidos a partir do sistema de quitosana sem e com adição de mucilagem (1-0,05% e 2-0,5%), em APD e em solvente modelo.....	84

Lista de abreviaturas

AA – ácido acético

AFM – microscopia de força atômica

APD – ácido pirolenhoso destilado

FTIR – infravermelho com transformada de Fourier

HQ – hidroquinona

m – massa

MEV – microscopia eletrônica de varredura

Mn – massa molar numérica

Mw – massa molar média ponderal

MOPN – mucilagem de ora-pro-nóbis purificada

Q – quitosana

RMN – ressonância magnética nuclear

rpm – rotações por minuto

T – temperatura

t – tempo

UV – radiação ultravioleta

v – volume

Vis – radiação visível

γ – taxa de cisalhamento

η – viscosidade

λ – comprimento de onda

τ – tensão de cisalhamento

Sumário

1	Introdução.....	17
2	Objetivos.....	19
2.1	Objetivo geral	19
2.2.	Objetivos específicos	19
3	Revisão da literatura	20
3.1	Quitosana.....	20
3.2	Ácido Pirolenhoso	23
3.3	Mucilagem de ora-pro-nóbis	25
4	Metodologia	29
4.1	Materiais de partida.....	30
4.1.1	Quitosana.....	30
4.1.2	Ácido pirolenhoso destilado.....	31
4.1.3	Mucilagem de ora-pro-nóbis	31
4.2	Avaliação da estabilidade do sistema quitosana/ácido pirolenhoso destilado à temperatura ambiente	34
4.2.1	Propriedades físico-químicas dos sistemas aquosos.....	35
4.2.2	Caracterização estrutural.....	35
4.3	Influência do tempo de armazenagem nas propriedades fotoprotetoras e mecânicas de filmes obtidos a partir do sistema Q/APD	37
4.4	Estudo dos sistemas compostos por quitosana e mucilagem de ora-pro-nóbis (MOPN)	38
5	Resultados e discussão	41
5.1	Caracterização estrutural dos materiais de partida.....	41
5.1.1	Quitosana.....	41
5.1.2	Ácido pirolenhoso destilado.....	43
5.1.3	Mucilagem de ora-pro-nóbis	43

5.1.3.1	Rendimento das extrações	43
5.1.3.2	Composição química da MOPN	44
5.1.3.3	Características físico-químicas da MOPN	46
5.2	Avaliação da estabilidade dos sistemas quitosana/APD	50
5.2.1	Influência do tempo de armazenamento, à temperatura ambiente, nas propriedades físico-químicas e estruturais dos sistemas Q/APD	51
5.2.2	Modificações estruturais dos sistemas Q/APD	54
5.2.3	Influência do tempo de armazenamento dos sistemas Q/APD nas propriedades fotoprotetoras e mecânicas dos filmes	62
5.3	Estudo da interação entre quitosana e mucilagem de ora-pro-nóbis em sistema solvente modelo	69
5.3.1	Estudo do sistema Q/MOPN no solvente modelo	70
5.3.2	Características dos filmes obtidos a partir do sistema Q/MOPN em solvente modelo	75
5.4	Comportamento físico-químico dos sistemas compostos por Q/MOPN em ácido pirolenhoso destilado e em sistema solvente modelo (AA/HQ)	78
5.4.1	Comportamento dos sistemas coloidais	79
5.4.1.1	Análises reológicas	79
5.4.1.2	Interação dos sistemas coloidais com folhas de soja ...	81
5.4.2	Avaliação dos sistemas na forma de filmes	83
5.4.2.1	Propriedades mecânicas	83
5.4.2.2	Propriedade fotoprotetora	85
5.4.2.3	Avaliação da liberação de fenóis do filme	86
6	Conclusões	88
7	Referências	90
	Anexos	105

1 Introdução

O crescimento da população mundial tem impulsionado o aumento da produção de alimentos. Para tanto, a agricultura faz uso de fertilizantes e agroquímicos que buscam, junto com outras práticas culturais, aumentar a produtividade e controlar pragas e doenças. Porém, o uso constante destes produtos químicos tem promovido o desenvolvimento de resistência de algumas pragas, diminuindo assim sua eficácia. Além disto, muitos destes produtos são responsáveis por problemas ambientais, como a contaminação da água e do solo, ainda estando relacionados a problemas de toxicidade para seres humanos e para organismos não alvos, como as abelhas, por exemplo. Nesse sentido o desenvolvimento de novos insumos para agricultura, ambientalmente amigáveis, tem se intensificado nos últimos anos, seja com o uso de controle biológico, através de inimigos naturais, seja com o uso de pesticidas derivados de produtos naturais biodegradáveis, com efeitos tóxicos reduzidos para humanos, animais e meio ambiente. (CAMPOS *et al.*, 2018; DA SILVA; RODRIGUES, 2014; MILANI *et al.*, 2017; OLIVEIRA *et al.*, 2018; XING *et al.*, 2015)

Um polímero promissor para o desenvolvimento de produtos agrícolas é a quitosana que, além de obtida a partir de um polímero natural, é abundante, biodegradável, biocompatível e não tóxica. Este polímero tem sido extensivamente estudado em diversas áreas por sua versatilidade, pois é capaz de formar filmes, hidrogéis, esqueletos (scaffolds), fibras e micro ou nanopartículas, capazes de transportar e entregar de forma controlada ingredientes ativos ou micronutrientes, protegendo estas moléculas de condições ambientais adversas como pH, temperatura e luz. (KASHYAP; XIANG; HEIDEN, 2015; MUJTABA *et al.*, 2020; PANDEY, 2018)

França e colaboradores (2018) desenvolveram microcápsulas e microesferas a partir de quitosana e argila para entrega controlada de fertilizantes. Em outro contexto, nanopartículas de quitosana e goma arábica foram utilizadas para encapsular geradiol e promover estabilidade e eficiência deste princípio ativo natural na atração de mosca-branca, indicando seu potencial para uso em armadilhas que possibilitem o manejo dessa praga. (OLIVEIRA *et al.*, 2018)

Além dos estudos envolvendo entrega e liberação controlada de moléculas, outras estratégias começam a despontar com a quitosana para a área agrícola. Uma cobertura para aplicação no solo à base de quitosana visando o controle de ervas daninhas foi desenvolvida por Giaccone (2018). López-Velázquez e colaboradores (2019) prepararam um hidrogel biodegradável à base de quitosana, gelatina e acetato de polivinila e inulina que, quando aplicado na base das raízes de plantas de pimentão, inoculadas com *Phytophthora capsici*, foi capaz de promover indução de resistência nas plantas, melhorando sua resposta contra este patógeno.

Para melhorar o desempenho físico e biológico de filmes de quitosana, produtos naturais podem ser adicionados à matriz deste polímero. Ácido gálico, um fenol ácido, metabólito secundário de plantas, conhecido por sua potente ação antimicrobiana e antioxidante, foi enxertado na matriz de filmes de quitosana para melhorar suas propriedades funcionais. Curcumina, um polifenólico natural, componente majoritário da *Curcuma longa*, aumentou a resistência e a ação antibacteriana de filmes de quitosana. (LIU *et al.*, 2016; WU *et al.*, 2016). O ácido pirolenhoso destilado de *Eucalyptus grandis* (APD), que foi patenteado como dispersante para quitosana para uso na agricultura em plantas e/ou frutos, apresenta propriedades fertilizantes, fitoprotetoras e promotoras de indução de resistência. (CAMPOS *et al.*, 2021)

A planta *Pereskia aculeata*, popularmente conhecida como ora-pro-nóbis (OPN) possui alto teor de mucilagem. A mucilagem desta planta é rica no polissacarídeo arabinogalactana, contendo ainda alto teor de proteínas e minerais e tem sido estudada principalmente para uso na indústria alimentícia por suas propriedades emulsificantes e estabilizantes. (AMARAL *et al.*, 2019; LIMA JUNIOR *et al.*, 2013) A partir desta mucilagem, Oliveira e colaboradores (2019) obtiveram filmes coesos, flexíveis e lisos para o desenvolvimento de embalagens fotoprotetoras.

Neste trabalho, investigamos a estabilidade ao longo do tempo da formulação de quitosana em ácido pirolenhoso destilado de *Eucalyptus Grandis* (APD) e como se comportam as propriedades mecânicas e de fotoproteção dos filmes obtidos a partir do sistema envelhecido. Investigamos também as características reológicas dos sistemas de quitosana e mucilagem de ora-pro-

nóbis (*Pereskia aculeata*) em APD e as propriedades dos filmes obtidos a partir destes sistemas.

Como hipótese temos que a incorporação de mucilagem de ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata*) à quitosana, em ácido pirolenhoso destilado de *Eucalyptus Grandis*, melhorará a processabilidade do sistema quitosana/APD, bem como as características dos filmes obtidos a partir deste sistema, que poderão ser usados como coberturas protetoras na agricultura. A adição de mucilagem poderá adicionar ainda nutrientes importantes para as plantas aos filmes obtidos.

No decorrer do trabalho serão apresentados no Capítulo 2 os objetivos, no Capítulo 3 uma revisão da literatura, no Capítulo 4 a metodologia desenvolvida, no Capítulo 5 os resultados e discussão e o Capítulo 6 trará as conclusões.

2 Objetivos

2.1 Objetivo geral

Estudar sistemas compostos de quitosana em ácido pirolenhoso destilado de *Eucalyptus Grandis* (APD), e a influência da adição da mucilagem de ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata*) nas suas propriedades físico-químicas, para aplicação na agricultura.

2.2. Objetivos específicos

São objetivos específicos deste trabalho:

- a) Estudar a estabilidade de formulações à base de quitosana e APD, à temperatura ambiente, ao longo do tempo de armazenamento e as propriedades de mecânicas e de fotoproteção dos filmes obtidos a partir do sistema envelhecido.
- b) Investigar as características reológicas dos sistemas à base de quitosana e mucilagem de ora-pro-nóbis em APD.
- c) Entender como as características estruturais dos sistemas quitosana/mucilagem/APD afetam o comportamento dos filmes e quais as possíveis consequências para uso na agricultura.

3 Revisão da literatura

Esta revisão abordará os materiais utilizados neste estudo, suas características estruturais e propriedades que os tornam elegíveis para aplicação na agricultura.

3.1 Quitosana

A quitosana é um polissacarídeo linear, formado por unidades repetidas de β -(1,4)-2-amino-2-deoxi-D-glicose e β -(1,4)-2-acetamida-2-deoxi-D-glicose. Este polímero pseudo natural tem sido extensivamente estudado em diversas áreas por sua versatilidade pois é atóxico, biodegradável, biocompatível, sendo obtido a partir da desacetilação da quitina. A quitina é extraída principalmente da carapaça de crustáceos e é o polímero natural mais abundante depois da celulose. . (AKYUZ *et al.*, 2018; LEONES *et al.*, 2017; MILANI *et al.*, 2017; MUJTABA *et al.*, 2020; XING *et al.*, 2015) A presença dos grupos hidroxila e amina ao longo da cadeia da quitosana possibilitam que diversas moléculas possam ser ligadas à sua cadeia principal. (MUJTABA *et al.*, 2020) A Figura 1 ilustra as estruturas da quitina (Figura 1-A) e da quitosana (Figura 1-B), onde n é o número de anéis substituídos com grupo acetamida e m é o número de anéis desacetilados.

Na agricultura, a quitosana possui comprovada ação antimicrobiana contra fungos, bactérias e vírus, apresentando ainda efeito elicitor do mecanismo de defesa das plantas, sendo utilizada nos últimos anos no desenvolvimento de insumos para pós-colheita, no tratamento de sementes, no desenvolvimento de sistemas transportadores de princípios ativos contra pragas e doenças ou, ainda, para a entrega controlada de nutrientes para as plantas (DIVYA *et al.*, 2019; DIVYA; SMITHA; JISHA, 2018; MILANI *et al.*, 2017; MORIN-CRINI *et al.*, 2019; MUJTABA *et al.*, 2019; OLIVEIRA *et al.*, 2018; SABBAH *et al.*, 2019)

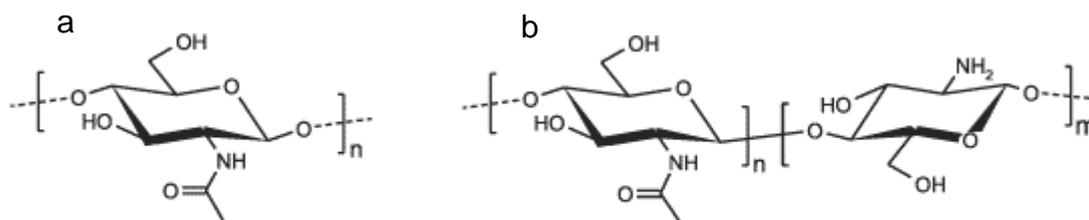


Figura 1. Estrutura química da quitina (a) e da quitosana (b).

Fonte: PORTO, 2011.

No desenvolvimento de novos insumos, a quitosana tem ganhado espaço, em associação com novas tecnologias, buscando aumentar a produtividade, reduzir custos e diminuir o impacto ambiental da atividade agrícola. Nanopartículas de quitosana, quando aplicadas em sementes de arroz, foram capazes de aumentar a capacidade de germinação. Microesfera de quitosana e argila montmorilonita se mostraram eficientes para a liberação de forma controlada de nitrato de potássio no solo proporcionando um aumento na eficiência do uso deste fertilizante e reduzindo efeitos negativos associados a sobredosagem. (DIVYA *et al.*, 2019; MESSA *et al.*, 2016; SANTOS *et al.*, 2015)

Liu e colaboradores (2016) obtiveram filmes para uso em armazenamento de produtos agrícolas ou embalagens de alimentos a partir de blendas de quitosana e curcumina, um polifenol natural. Este composto foi capaz de interagir com o polímero através de ligações de hidrogênio, resultando na obtenção de filmes com excelente resistência à tração e atividade antibacteriana.

As propriedades dos filmes à base de quitosana são influenciadas por vários fatores, como o grau de desacetilação e massa molar do polímero, condições de processamento e, também, a natureza do ácido utilizado na sua dissolução, sendo que os ácidos mais comuns utilizados para este fim são os acético, clorídrico e láctico. (XING *et al.*, 2016)

Porto e colaboradores (2019) estudaram o ácido pirolenhoso destilado obtido a partir de *Eucalyptus grandis* (APD) como solvente para a quitosana, bem como em filmes autossuportados obtidos a partir destes sistemas para uso como coberturas protetoras na agricultura. O APD demonstrou ser um bom solvente para a quitosana e os filmes obtidos apresentaram resistência a água, estabilidade térmica e bloqueio eficaz da radiação ultravioleta B e C. Essa

característica de fotoproteção se torna interessante na medida em que o comportamento das plantas tem sido afetado pela exposição excessiva a radiação UV causada pela alteração na camada de ozônio, que pode afetar a estrutura do DNA, proteínas e membranas das plantas, produzindo alterações fisiológicas significativas na fotossíntese, na transpiração e no seu desenvolvimento, levando por exemplo, à perda de produtividade. (BORNMAN *et al.*, 2019; GU *et al.*, 2010; KATARIA *et al.*, 2021; LIU *et al.*, 2013; MA *et al.*, 2018)

O filme fitoprotetor de quitosana e APD aumentou o crescimento, o rendimento e a resistência à antracnose quando aplicado em plantas de morango. (PEREIRA *et al.*, 2022) Quando aplicado em citrus, o produto se mostrou eficiente no controle de pulgões, cochonilhas e líquens, melhorando ainda o vigor das plantas. (CAMPOS *et al.*, 2020)

Devido à necessidade do meio ácido necessário para a solubilização da quitosana, um importante aspecto a ser considerado no desenvolvimento de produtos à base deste polímero é a degradação deste durante o armazenamento. Essa degradação das cadeias poliméricas é decorrente da hidrólise provocada pelo meio ácido e pode acarretar mudanças significativas nas propriedades físico-químicas dos sistemas. (LEONES *et al.*, 2017; NGUYEN *et al.*, 2008; OWCZARZ; ZIÓŁKOWSKI; DZIUBIŃSKI, 2018; SOARES *et al.*, 2017; SZYMAŃSKA; WINNICKA, 2015)

Nguyen e colaboradores (2008) estudaram a taxa de degradação de quitosana, com diferentes graus de desacetilação, em diferentes concentrações de ácido acético e de ácido fórmico, em diferentes temperaturas de armazenamento. Os autores observaram uma cinética de degradação de primeira ordem, independentemente do tipo de ácido avaliado, sendo que a taxa de degradação foi menor em ácido fórmico. Na temperatura de 60 °C, a taxa de degradação se mostrou de quatro a cinco vezes maior que na temperatura de 28 °C e foi cerca de 1,4 vezes maior na quitosana com grau de desacetilação de 88%, comparada com a quitosana com grau de desacetilação de 81%.

Algumas estratégias podem ser utilizadas para diminuir este processo de degradação, como a associação da quitosana com outros biopolímeros, como proteínas e polissacarídeos. (BOUYER *et al.*, 2012; CHEN *et al.*, 2009; DAVOVID *et al.*, 2020) Os biopolímeros podem estar associados por ligação

covalente ou interações eletrostáticas. Camadas alternadas com cargas opostas também podem ser formadas fornecendo estabilização eletrostática e estérica. (BOUYER *et al.*, 2012; CAMPELO *et al.*, 2017) Por exemplo, Lucyszyn e colaboradores (2016) utilizaram a mucilagem de *Pereskia aculeata* como aditivo em filmes de celulose bacteriana reconstituída visando melhorar suas propriedades mecânicas para o desenvolvimento de materiais para aplicações biomédicas.

3.2 Ácido Pirolenhoso

O ácido pirolenhoso, também chamado de licor pirolenhoso, extrato pirolenhoso ou vinagre de madeira, é obtido através da condensação da fumaça durante a queima de madeira para produção de carvão vegetal em fornos adaptados para este fim (Figura 2). O Brasil é um dos maiores produtores mundiais de carvão vegetal destinado, principalmente, para a indústria siderúrgica e para consumo doméstico. O maior problema associado a esta atividade são os gases de efeito estufa gerados durante a transformação da madeira em carvão, causando impacto social e ambiental negativo. Na região sul do país, especialmente no estado do Rio Grande do Sul, esta atividade está difundida, principalmente, entre milhares de pequenas propriedades, sendo considerada uma importante atividade de produção familiar. A coleta deste subproduto não só pode diminuir o impacto ambiental, por remover compostos orgânicos condensáveis da fumaça, como também agregar valor econômico a esta atividade. (ALMEIDA *et al.*, 2017; CAMPOS, 2018; FURTADO *et al.*, 2015; GREWAL; ABBEY; GUNUPURU, 2018; MATHEW; ZAKARIA, 2015; PIMENTA *et al.*, 2018; SOUZA *et al.*, 2018)



Figura 2. Vista de um forno convencional de produção de carvão vegetal adaptado para a coleta de ácido pirolenhoso.

Fonte: CAMPOS, 2018

Devido a sua natureza, o ácido pirolenhoso é uma solução aquosa complexa formada por diversos compostos orgânicos, incluindo ácidos carboxílicos, como ácido acético e fórmico, aldeídos, cetonas, compostos fenólicos, álcoois, ésteres, entre outras substâncias. Loo e colaboradores (2008) isolaram diversos compostos fenólicos do ácido pirolenhoso de *Rhizophora apiculata*, guaiacol, eugenol, vanilina, seringol, catecol, hidroquinona, fenol e derivados, entre outros. A composição do ácido pirolenhoso depende, principalmente, da temperatura de extração e do tipo de madeira utilizada na queima. (LOHRI *et al.*, 2017; LOO *et al.*, 2008; MATHEW; ZAKARIA, 2015)

Este ácido possui características antioxidantes e antimicrobianas e tem sido utilizado como conservante de produtos cosméticos e agente esterilizante, bem como para fins veterinários e na agricultura. Nas plantas ele tem efeito fertilizante e apresenta ação inseticida, bactericida, fungicida e nematicida, bem como promotora de crescimento, pois estimula o desenvolvimento das plantas, sendo uma alternativa sustentável para uso na agricultura. Sua atividade antimicrobiana tem sido atribuída aos ácidos orgânicos e aos compostos fenólicos presentes em sua composição. (ALMEIDA *et al.*, 2019; DE MELO *et al.*, 2017; SOUZA *et al.*, 2012; TOGORO *et al.*, 2014)

Para uso na agricultura é importante que a coleta do ácido pirolenhoso seja realizada de maneira adequada para evitar a alta concentração de alcatrão e outros compostos tóxicos como os benzopirenos. Durante a queima da madeira a temperatura 5 cm abaixo da chaminé do forno deve ser acompanhada e a coleta do condensado deve ser realizada quando a temperatura estiver entre 82 e 150 °C. Este líquido deve ser mantido de 3 a 6 meses em repouso para estabilização e decantação, e após este período, a fração decantada deve ser separada e desprezada. O ácido pirolenhoso obtido deve ser transparente e apresentar uma coloração avermelhada a amarelada. (CAMPOS, 2007)

3.3 Mucilagem de ora-pro-nóbis

Ora-pro-nóbis, também conhecido em alguns países como Barbados gooseberry, pertence à família Cactacea, subfamília Pereskioideae, gênero *Pereskia*. As espécies pertencentes a este gênero são nativas do continente americano e não se assemelham a cactos comuns, pois possuem folhas bem desenvolvidas e caules finos (Figura 3). (ALMEIDA *et al.*, 2012; DUARTE *et al.*, 2005; ROSA *et al.*, 2020; SILVA *et al.*, 2018)

Três das dezessete espécies conhecidas do gênero *Pereskia*, *Pereskia bleo* Kunth., *Pereskia grandifolia* Haw. e *Pereskia aculeata* Mill., são utilizadas para consumo direto ou para tratamento de doenças na medicina popular. (SHARIF *et al.*, 2013)

No Brasil são encontradas duas destas espécies, a *Pereskia aculeata* e a *Pereskia grandifolia*, difundidas do sul ao nordeste do país, sendo nativas da Floresta Atlântica Brasileira. Estas plantas receberam popularmente o nome de ora-pro-nóbis, que em latim significa “rogai por nós”, pois eram utilizadas para cercar igrejas no período colonial. (AGOSTINI-COSTA, 2020; GARCIA *et al.*, 2019; SILVA *et al.*, 2018)

A ora-pro-nóbis é considerada uma planta alimentícia não convencional, pois seu consumo é mais frequente próximo a regiões onde cresce naturalmente e ainda são poucas as informações na literatura sobre seu cultivo agrícola (ANDRADE *et al.*, 2019; CAVALCANTE *et al.*, 2019; MAZON *et al.*, 2020; MORAIS *et al.*, 2019)



Figura 3. Ora-pro-nóbis, espécie *Pereskia aculeata*.

O cultivo e a composição química da espécie *Pereskia aculeata* começaram a ser explorados no final do século passado e tem se intensificado nos últimos anos devido, principalmente, ao interesse das indústrias alimentícias e farmacêuticas nas suas propriedades nutricionais e biológicas. (BARBOSA *et al.*, 2015; CAMPOS *et al.*, 2017; CAVALCANTE *et al.*, 2019; GUIMARÃES *et al.*, 2019; PEREIRA *et al.*, 2019; SANTOS *et al.*, 2019; SILVA *et al.*, 2018; SOUZA *et al.*, 2016a, 2016c; VEGA *et al.*, 2020)

Dentre suas propriedades nutricionais destaca-se seu elevado teor de proteína, constituída principalmente de triptofano, o que faz com que a planta seja popularmente conhecida como “carne vegetal”. (DE OLIVEIRA *et al.*, 2019; TAKEITI *et al.*, 2009) Suas folhas ainda são ricas em fibras, vitaminas A, C e ácido fólico, além de minerais como ferro, fósforo, magnésio, manganês e cálcio. Além disto, possui outros compostos importantes, como terpenos, compostos fenólicos, carotenóides e carboidratos poliméricos. Devido à atividade biológica de alguns destes constituintes esta planta está associada a efeitos anti-inflamatórios, antimicrobianos, antioxidantes e anticancerígenos. (AGOSTINI-COSTA *et al.*, 2014; GARCIA *et al.*, 2019; MACIEL *et al.*, 2020; MARTIN *et al.*, 2017; MAZON *et al.*, 2020; NETO *et al.*, 2020; SOUZA *et al.*, 2016b; VIEIRA *et al.*, 2019)

A ora-pro-nóbis possui um elevado teor de mucilagem, termo genérico usado para os hidrocolóides de plantas. Os hidrocolóides são definidos como

polímeros de cadeia longa, alta massa molar e que incham em água. Estas características se devem à presença de uma grande quantidade de grupamentos hidroxila e carboxila, visto que sua estrutura é basicamente formada por polissacarídeos, contendo um ou mais tipos de monossacarídeos ou seus derivados, ligados e estruturados de inúmeras formas. Nas indústrias alimentícias e farmacêuticas os polissacarídeos são empregados por sua capacidade de modificar propriedades reológicas e promover ação estabilizante, emulsificante e/ou espessante o que desperta o interesse deste seguimento pelas mucilagens extraídas de plantas por serem uma fonte natural destes compostos. (AMARAL *et al.*, 2018, 2019; JUNQUEIRA *et al.*, 2018; MARTIN *et al.*, 2017; MAZON *et al.*, 2020; ZIEGLER *et al.*, 2020)

Segundo Martin (2017) a mucilagem obtida a partir de folhas de *Pereskia aculeata* é composta por polissacarídeos formados por β -D-galactose ligadas (1 \rightarrow 4) e substituídas em C-3 por unidades de arabinose, estando ainda presente na estrutura a ramnose, a fucose e o ácido galacturônico parcialmente esterificado. Parte da cadeia principal deste polissacarídeo complexo é ilustrada na Figura 4, sendo classificado como uma arabinogalactana do tipo I, encontrada em paredes celulares de plantas, frequentemente associada de forma covalente a proteínas. (MARTIN *et al.*, 2017; OLIVEIRA *et al.*, 2018; LIMA *et al.*, 2013; MERCÊ *et al.*, 2001; SIERAKOWSKI *et al.*, 1987)

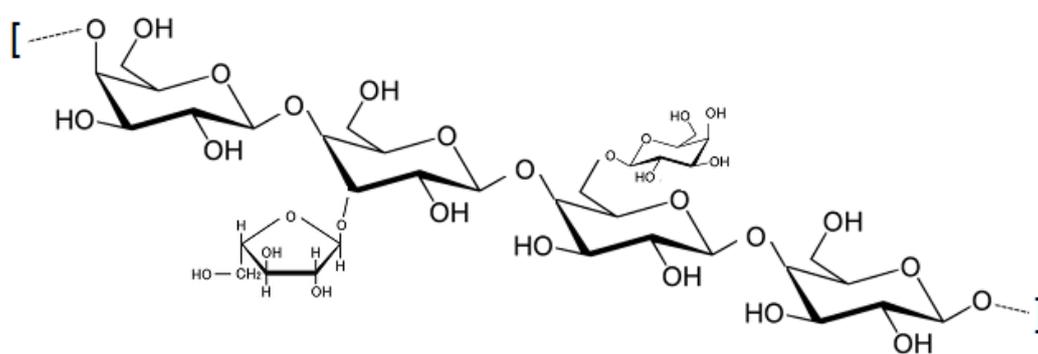


Figura 4. Modelo de estrutura da arabinogalactana do tipo I. Cadeia principal β -D-galactopirranose (1,4) e ramificações de β -D-galactopirranose (1,6) e α -L-arabinofuranose.

Um processo de extração da mucilagem de folhas de *Pereskia aculeata* foi desenvolvido por Lima e colaboradores (2013). Nesse processo, as folhas da planta são extraídas a quente em água, em seguida passam por uma etapa de filtração em leito de carvão ativado para remoção dos pigmentos e, em seguida, a mucilagem é precipitada com etanol. Os autores otimizaram parâmetros, como temperatura e relação matéria-prima/solvente; os melhores resultados foram obtidos quando foram utilizados 2,46 a 3,70 L de água por quilo de folhas e temperaturas entre 54,6 e 80 °C para extração.

Martin e colaboradores (2017) utilizaram, para extração da mucilagem, um processo prévio com etanol para remoção dos pigmentos das folhas de *Pereskia aculeata* e promoveram a extração aquosa da mucilagem à temperatura ambiente. O teor de ácido urônico na mucilagem obtida foi de 26% (m/m), superior ao observado por Lima e colaboradores (2013) na extração a quente, 0,44% (m/m). Na extração a quente, os grupos polissacarídeos podem sofrer auto hidrólise levando à diminuição no teor de ácido urônico, demonstrando que no método de extração à temperatura ambiente a estrutura original do polissacarídeo é preservada.

O crescente interesse na mucilagem das folhas de *Pereskia aculeata* se deve à potencialidade do seu uso para obtenção de novos materiais como complexos ou micropartículas. (PORTO *et al.* 2022). Neves e colaboradores (2020) desenvolveram e avaliaram a estabilidade de micropartículas, compostas por mucilagem de *Pereskia aculeata* com proteína isolada de soro de leite para encapsular alfa tocoferol. A encapsulação deste composto bioativo é de grande interesse nas áreas alimentícias, cosméticas e farmacêuticas devido à sua baixa solubilidade em meio aquoso. (NEVES *et al.*, 2020)

Blendas formadas por mucilagem de *Pereskia aculeata*, goma arábica e goma guar foram avaliadas para utilização em bebidas lácteas fermentadas, visando substituir gordura e manter a qualidade durante o prazo de validade. A melhor proporção de hidrocoloides foi composta por 70% de mucilagem de *Pereskia aculeata* e 30% de goma guar. Nesta proporção os hidrocoloides foram eficientes na emulsificação e estabilização de bebidas lácteas fermentadas e ainda aumentaram seu teor de proteínas. (AMARAL *et al.*, 2018)

Maciel e colaboradores (2020) desenvolveram partículas coloidais capazes de se associar ao ferro de forma a proteger, transportar e liberá-lo, para

que seja absorvido de forma adequada no organismo humano. Foram produzidas micropartículas a partir de quitosana e pectina, com extrato aquoso de folhas de *Pereskia aculeata* como fonte de ferro. (MACIEL *et al.*, 2020)

4 Metodologia

O trabalho experimental foi desenvolvido seguindo as etapas ilustradas na Figura 5. Inicialmente foram caracterizadas a quitosana (Q) e o ácido pirolenhoso destilado (APD) utilizados nestes estudos e na sequência foi estudada a estabilidade da quitosana neste ácido ao longo do tempo, parte deste trabalho foi publicada em artigo (PORTO *et al.*, 2021). A mucilagem de ora-pro-nóbis (MOPN) foi extraída de folhas de *Pereskia aculeata* e caracterizada. A interação entre a mucilagem e a quitosana (Q/MOPN) foi estudada em sistema solvente modelo, composto de solução de ácido acético 2% (v/v) com 0,1% de hidroquinona (m/v). Então o sistema Q/MOPN foi preparado em APD e estudado em meio aquoso. Os filmes obtidos a partir dos sistemas poliméricos foram caracterizados, visando seu potencial de aplicação na agricultura como coberturas protetoras de plantas.

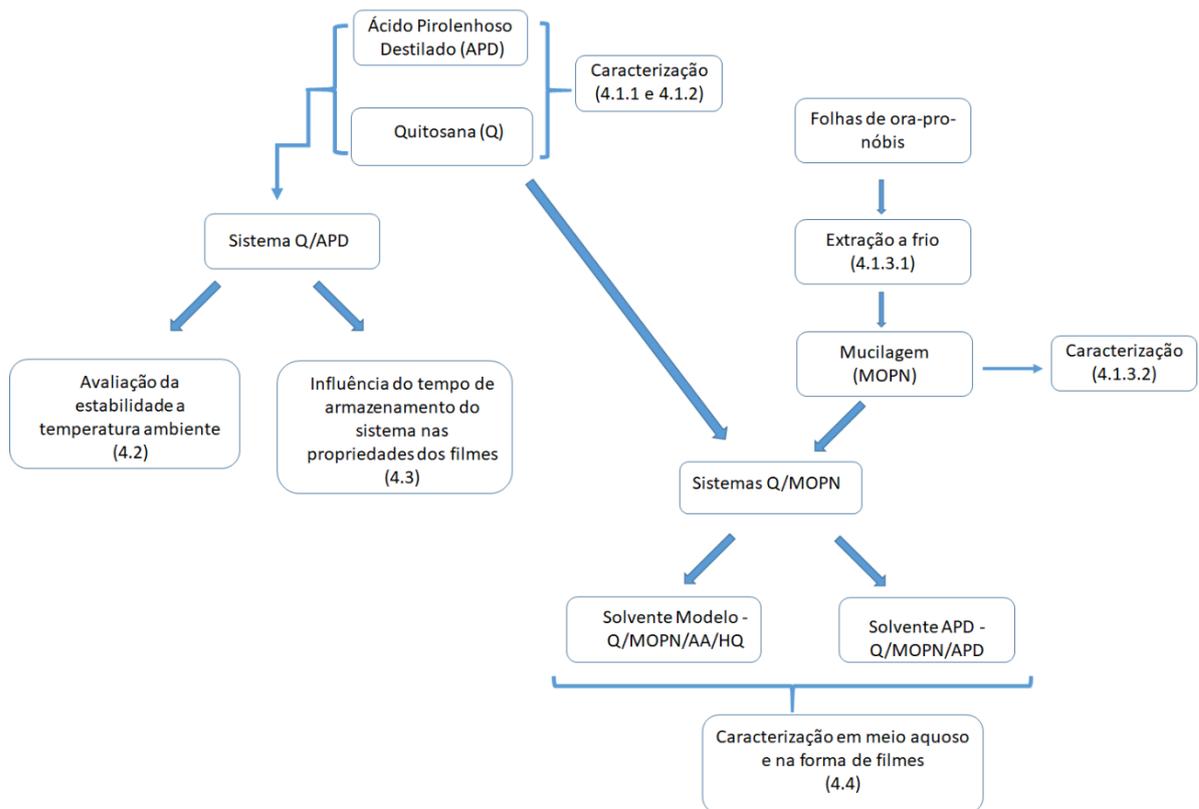


Figura 5. Fluxograma simplificado da metodologia utilizada no desenvolvimento do trabalho.

4.1 Materiais de partida

Os principais componentes dos sistemas em estudos serão detalhados nesta seção, bem como os procedimentos de caracterização.

4.1.1 Quitosana

Para avaliação da estabilidade da quitosana em ácido pirolenhoso destilado (APD) utilizou-se quitosana comercial produzida pela empresa Polymar S/A. O grau de desacetilação desta quitosana foi determinado por ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de H^1) em um equipamento Varian, modelo Innovate 300 MHz. Para tanto, a quitosana foi diluída em solução de ácido clorídrico a 1% (v/v) em água deuterada. A quitosana foi lavada com água deionizada, seguido de lavagem com etanol absoluto e acetona e secagem em dessecador para determinação da sua massa molar, realizada por viscosimetria,

em viscosímetro Canon Frenske, a 25 °C, em banho termostático Schott, modelo CT52, utilizando como solvente solução tampão 0,3 mol·L⁻¹ de ácido acético e 0,2 mol·L⁻¹ de acetato de sódio, na faixa de concentração de 0,1 a 2,0 g·L⁻¹.

Para os estudos envolvendo a adição de mucilagem de ora-pro-nóbis foi utilizada uma quitosana de alta pureza e baixo peso molecular, adquirida da Sigma. O grau de desacetilação desta quitosana foi determinado por RMN de ¹H, no mesmo equipamento descrito anteriormente, em ácido acético deuterado a 2% (v/v) em água deuterada.

4.1.2 Ácido pirolenhoso destilado

O ácido pirolenhoso de *Eucalyptus grandis* (APD) foi produzido em forno experimental, na Embrapa Clima Temperado, através da coleta da fumaça condensada durante a pirólise de madeira de *Eucalyptus grandis*, seguindo recomendações técnicas para obtenção de ácido pirolenhoso para uso agrícola. (CAMPOS, 2018) Posteriormente foi destilado a vácuo, em rotaevapor Buchi, modelo R-114, para uso nos experimentos (PORTO et al., 2019).

O APD foi caracterizado quanto ao pH, em equipamento Orion, modelo EA940, quanto à densidade, em densímetro de vidro, e quanto à concentração de fenóis totais pelo método de Folin Denis, utilizando ácido tânico da Sigma como padrão para curva de calibração, na faixa de concentração de 0,4 a 10 mg·L⁻¹. (AOAC, 1970)

4.1.3 Mucilagem de ora-pro-nóbis

As folhas de ora-pro-nóbis, cultivar *Pereskia aculeata*, foram colhidas entre março e maio de 2021 na Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS, para obtenção da mucilagem. As folhas foram secas em estufa com circulação de ar a 60 °C, moídas, em moinho de facas, e armazenadas em dessecador.

Os reagentes utilizados no processo de extração foram etanol absoluto e ácido acético, da marca Sigma. Nas análises posteriores foram utilizados água deuterada, ácido acético deuterado, ácido fosfórico e albumina bovina da marca Sigma, ácido sulfúrico e azul brilhante de Comassie G-250 da Vetec e fenol da Merck.

O processo de extração foi baseado nas metodologias descritas por Martin e colaboradores (2017) e Lima e colaboradores (2013). Seis gramas de folhas de ora-pró-nobis, secas e moídas, foram deixadas durante a noite em 100 mL de água ultrapura, entre 2 e 8 °C. No dia seguinte, o material foi agitado, em homogeneizador horizontal, por 1 hora e centrifugado, em centrífuga Sorvall, modelo RC-5B, durante 30 minutos a 15000 rpm entre 0 e 4 °C.

O sobrenadante foi reservado e o resíduo foi extraído novamente com 100 mL de água ultrapura, seguindo os mesmos passos da etapa anterior. Ao final do processo o resíduo foi descartado e o sobrenadante dos dois ciclos de extração foram misturados. A mucilagem bruta foi precipitada deste sobrenadante pela adição de volume equivalente a três partes de etanol absoluto. Foi deixado em repouso durante a noite, sob refrigeração, entre 2 e 8 °C, para completa precipitação da mucilagem do meio. A mucilagem bruta foi separada por filtração em membrana de nylon 0,45 µm e seca em estufa com circulação de ar (Shel Lab, modelo 1350FX) a 40 °C. O material foi moído em moinho de mão, IKA, modelo A11 basic, peneirado em peneira de 60 mesh, e acondicionado em dessecador.

De acordo com Martin e colaboradores (2017) a mucilagem obtida por este processo de extração apresenta alguns materiais insolúveis como fibras. A fim de eliminá-los, a mucilagem bruta foi diluída em água ultrapura sob agitação e aquecimento até temperatura máxima 40 °C, por 1 hora. O material não solúvel foi removido do meio por centrifugação a 15000 rpm entre 0 e 4 °C, por 30 minutos, de forma que apenas a fração solúvel em água, mucilagem de ora-pró-nóbis purificada (MOPN), foi utilizada para todos os experimentos neste trabalho. O processo está ilustrado simplificadamente na Figura 6.

A solução contendo a MOPN foi acidificada com ácido acético, na concentração final de 2 % (v/v), para prevenir a ocorrência de fungos. Foi preparada uma solução mãe com concentração de MOPN de 5% (m/v) para uso nos estudos posteriores. Para as análises de caracterização realizadas em material sólido, a MOPN foi precipitada desta solução por adição de etanol absoluto, seguido de filtração, secagem e moagem conforme descrito anteriormente.

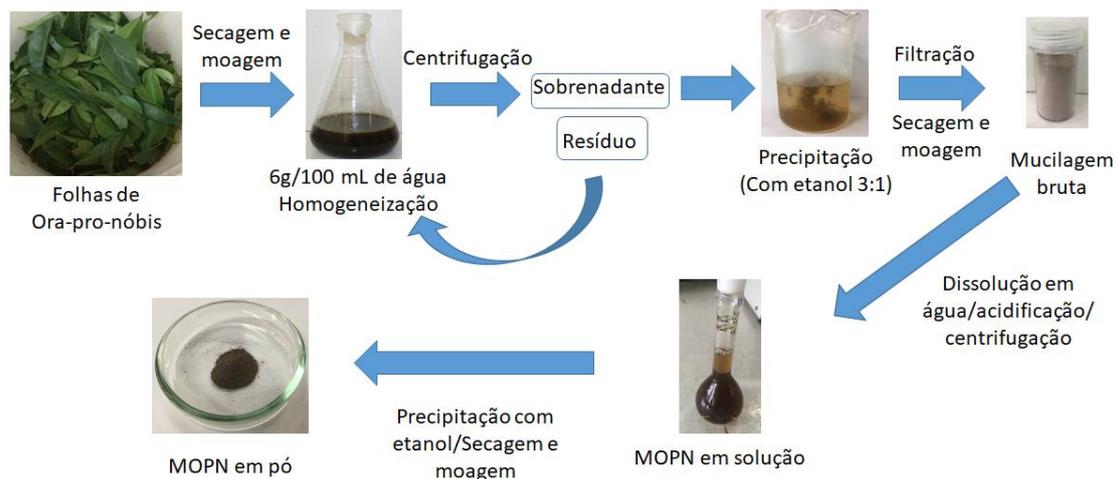


Figura 6. Processo de extração e purificação da mucilagem de ora-pro-nóbis (MOPN).

Os carboidratos totais presentes na MOPN foram dosados pelo método do Fenol-ácido. (DUBOIS *et al.*, 1956). O método utiliza ácido sulfúrico para promover a desidratação dos açúcares que, na sequência, formam complexos com o fenol, sendo dosados de acordo com a absorbância da amostra em comprimento de onda de 490 nm, contra uma curva padrão de glicose na faixa de concentração de 1 a 20 mg·L⁻¹.

O teor de proteína foi determinado pelo método de Bradford (1976), no qual o corante azul brilhante de Comassie G-250 se liga às proteínas da amostra formando um complexo colorido com máximo de absorção em 595 nm. A concentração de proteína foi determinada contra uma curva padrão de albumina bovina na faixa de concentração de 0,25 a 10 mg·L⁻¹.

A composição de carbono, nitrogênio e hidrogênio foi realizada em Analisador Elementar (CHNS) da Perkin Elmer, modelo 2400SeriesII.

O teor de cinzas na MOPN foi dosado pelo método gravimétrico, em forno Mufla a 550 °C. A presença de minerais foi investigada por Espectroscopia de fotoelétrons por Raios-X (XPS), realizada em um analisador Omicron (Concentric Hemispherical Analyzer - CHA), utilizando radiação Al/Kα com energia de 1486,6 eV. As amostras foram depositadas sobre fita de cobre em porta amostras de molibdênio e transferidas sob atmosfera para a pré-câmara. A câmara foi operada a 1×10⁻⁹ mbar. O espectro de varredura (Survey) foi obtido com uma

energia de passagem de 50 eV e passo de 1 eV e as regiões específicas de interesse em uma resolução maior, energia de passagem de 10 eV e passo de 0,1 eV. A calibração da energia de ligação XPS foi realizada utilizando o pico C1s em 284,8 eV como referência. Os espectros foram tratados com o Software Casa XPS.

A massa molar polimérica da MOPN foi obtida por Cromatografia por Exclusão de Tamanho (GPC) em equipamento Viscotek, com módulo GPCMax VE-2001 e detector de índice de refração, em sistema aquoso, NaNO₃ 0,1 M, com fluxo de 0,5 mL·min⁻¹ e de temperatura de 35 °C. Sua morfologia foi avaliada por Microscopia Eletrônica de Varredura em equipamento Shimadzu, Superscan SSX-550, com voltagem de 15 kV. Para tanto a MOPN foi suspensa em acetona e gotejada sobre substrato de silício que foi fixado, com fita de carbono, ao porta amostra, sendo recoberto com uma fina camada de ouro.

A estrutura química da MOPN foi caracterizada por Espectroscopia de Infravermelho (FTIR) em equipamento da Shimadzu, modelo IRspirit, em pastilha de KBr, e por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ¹H e RMN de ¹³C em equipamento Bruker, com campo de 7,5 Tesla. Para as análises de RMN as amostras foram diluídas em água deuterada, contendo ácido acético deuterado 2% (v/v).

4.2 Avaliação da estabilidade do sistema quitosana/ácido pirolenhoso destilado à temperatura ambiente

A avaliação da estabilidade do sistema Q/APD em solução fornece informações importantes para determinar se as características apropriadas para aplicação deste sistema em plantas são mantidas ao longo do tempo de armazenagem.

Os sistemas Q/APD foram obtidos por agitação até completa dissolução do polímero no APD puro, conforme descrito na patente do processo de obtenção de formulação com capacidade fertilizante e fitoprotetora, formadora de filmes e indutora de resistência em plantas. (CAMPOS *et al.*, 2021) As concentrações finais de quitosana, 10 e 30 g·L⁻¹, foram estabelecidas com base nos resultados obtidos por Porto e colaboradores (2019). Os sistemas foram

armazenados por 4, 14 ou 30 meses, em frasco âmbar, ao abrigo da luz, em temperatura ambiente, $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Para comparação, foram também obtidos sistemas de mesma concentração no momento de realização das análises, denominados 0 (zero) mês.

Os sistemas Q/APD, após os diferentes tempos de armazenamento, foram caracterizados quanto às suas propriedades físico-químicas, através de determinação de condutividade, pH, análises reológicas, e estabilidade estrutural, através de determinação de massa molar do polímero, determinação dos compostos fenólicos, bem como por espectroscopias de ressonância magnética nuclear de ^{13}C em estado sólido, infravermelho, ultravioleta-visível e fluorescência.

4.2.1 Propriedades físico-químicas dos sistemas aquosos

A caracterização físico-química dos sistemas coloidais ocorreu por meio de medidas de condutividade, pH e análise reológica dos sistemas aquosos. As medidas de condutividade foram realizadas em condutímetro Ion, modelo DDS-120W. O pH do APD e dos sistemas coloidais foram determinados em pHmetro Orion, modelo EA940. A análise reológica dos sistemas foi realizada em um viscosímetro Brookfield modelo DVII+Pro com um spindle SC4-18. Todas as medidas foram realizadas a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$.

4.2.2 Caracterização estrutural

Para avaliar as alterações estruturais da quitosana, após contato com o APD, foram realizadas precipitações do polímero a partir de alíquotas obtidas dos sistemas de $30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, com diferentes períodos de armazenamento. A precipitação ocorreu por adição de hidróxido de amônio até pH 9,0, seguido de filtração, lavagem até pH neutro e posterior secagem em dessecador até o material atingir peso constante. Os polímeros precipitados obtidos a partir dos sistemas Q/APD foram identificados como Q/APD-0, Q/APD-4, Q/APD-14 e Q/APD-30, sendo o número referente aos meses de armazenamento do sistema coloidal original.

Nos polímeros precipitados e na quitosana pura foi realizada análise de ressonância magnética nuclear de carbono em estado sólido (RMN de ^{13}C) em um espectrômetro de banda larga Varian 400, com polarização cruzada e rotação da amostra segundo ângulo mágico (RMN ^{13}C CP/MAS) com sonda de estado sólido.

A determinação da massa molar dos polímeros precipitados foi realizada por viscosimetria, em viscosímetro Cannon Frenske, a 25 °C, em banho termostático Schott, modelo CT52, utilizando como solvente solução tampão 0,3 mol·L⁻¹ de ácido acético e 0,2 mol·L⁻¹ de acetato de sódio, na faixa de concentração de 0,1 a 5,0 g·L⁻¹.

Os teores de fenóis totais nos precipitados foram doseados conforme descrito para o APD, dissolvidos em solução tampão (0,3 mol·L⁻¹ de ácido acético e 0,2 mol·L⁻¹ de acetato de sódio) na concentração de 5,0 g·L⁻¹.

A quitosana e os precipitados foram avaliados no estado sólido por espectroscopia no infravermelho por reflectância difusa (FTIR-DRIFT) em equipamento BOMEM MB-series, Hartmann & Braun Michelson. As medidas foram obtidas com 64 varreduras numa região de 500 a 4000 cm⁻¹.

Soluções da quitosana e dos precipitados, dissolvidos em tampão, na concentração de 0,1 g·L⁻¹, foram analisadas em espectrofotômetro Shimadzu, modelo UV-1601PC, na faixa de comprimento de onda de 190 a 800 nm.

A espectroscopia de fluorescência foi realizada para acompanhar a interação entre APD e quitosana. Foram avaliados a quitosana e os precipitados, dissolvidos em tampão na concentração de 2 g·L⁻¹, e o APD puro. Os espectros 3-D foram obtidos em um Fluoromax-4 (Horiba, Jobin Yvon) com comprimento de onda (λ) de excitação variando de 250 a 700 nm, com incremento de 10 nm, e λ de emissão variando de 260 a 800 nm, com incremento de 2 nm, a 25 ° C. Após determinar a intensidade máxima, os espectros 2-D foram obtidos para cada sistema.

4.3 Influência do tempo de armazenagem nas propriedades fotoprotetoras e mecânicas de filmes obtidos a partir do sistema Q/APD

Para estudar a influência do tempo de armazenamento dos sistemas nas propriedades físico-químicas do filme, foi conduzido um ensaio de envelhecimento acelerado. O sistema Q/APD na concentração de 30 g·L⁻¹ foi preparado por agitação até completa dissolução do polímero, acondicionado em frasco âmbar e colocado em estufa com circulação forçada de ar a 60 °C. Em diferentes tempos, foram retiradas amostras deste sistema nas quais foram determinadas as propriedades reológicas a fim de se obter comparação com os tempos de armazenamento do experimento anterior (a temperatura ambiente). Para a amostra equivalente ao tempo de 14 meses de armazenamento a temperatura ambiente foram preparados filmes por *casting* para avaliar o efeito do envelhecimento do sistema nas propriedades mecânicas e fotoprotetoras, propriedades importantes para o uso do filme como cobertura de plantas. Para comparação, também foi preparado filme a partir do sistema sem envelhecimento.

Para exemplificar a formação da cobertura protetora em plantas, plantas de soja foram pulverizadas com o sistema Q/APD, conforme recomendação descrita por Pereira e colaboradores (2022). As folhas foram coletadas e passaram por processo de fixação com vapor de ósmio conforme descrito por Kitajima & Leite (1999). Após foram fixadas com fita de carbono no porta amostras e recobertas com uma fina camada de ouro, em equipamento Sanyu Electron, modelo SC-701, operando com corrente de 10 mA por 2 minutos. A análise por MEV ocorreu em microscópio eletrônico Shimadzu SS550, com voltagem de 15 kV.

Para análise das propriedades fotoprotetoras os filmes foram depositados por *casting* na lateral interna de uma cubeta de quartzo e avaliados no ultravioleta e visível, na faixa de comprimento de onda de 190 a 800 nm, em espectrofotômetro Bel, modelo UV-M51.

Para as análises de topografia e propriedades mecânicas por microscopia de força atômica (AFM), foram preparados filmes finos por *casting* sobre substrato de silício. Para estas determinações foi utilizado um microscópio Park,

modelo NX10, equipado com o software SmartScan versão 1.0.RTM13c2020-1. As imagens topográficas e os dados de energia de adesão, força de adesão e energia de dissipação foram adquiridos simultaneamente utilizando o modo PinPoint Nanomecânico. As medidas nanomecânicas foram conduzidas utilizando uma ponteira de silício de alta frequência (TAP300-G Budget Sensors), com frequência de ressonância nominal de 300 kHz e constante de força de 40 N/m. O módulo de Young foi obtido a partir da análise de 5 regiões diferentes de cada filme. Todas as medidas foram feitas em temperatura ambiente de 21 ± 5 °C e umidade relativa de $55 \pm 10\%$. As imagens foram tratadas off-line utilizando o software XEI versão 4.3.4Build22.RTM1.

4.4 Estudo dos sistemas compostos por quitosana e mucilagem de ora-pro-nóbis (MOPN)

O sistema solvente proposto para este estudo, ácido pirolenhoso destilado (APD), é uma solução aquosa ácida, complexa, rica em compostos fenólicos (PORTO et al., 2019). Para avaliar as possíveis interações deste sistema com a mucilagem de ora-pro-nóbis, foram primeiramente estudadas as interações entre a quitosana e a mucilagem em sistema solvente modelo, de menor complexidade, composto por solução de ácido acético (AA) 2% (v/v) em água, com hidroquinona (HQ), um dos compostos fenólicos presente no APD, na concentração de 0,1% (m/v), semelhante ao teor de fenóis totais deste ácido. A hidroquinona e o ácido acético p.a. foram adquiridos da Sigma. O esquema de obtenção dos sistemas Q/MOPN em solvente modelo (AA/HQ) ou em APD é ilustrado na Figura 7.

As interações químicas entre as espécies constituintes do sistema foram avaliadas por RMN de ^{13}C e RMN de ^1H . Foram preparadas soluções contendo MOPN e hidroquinona; quitosana e hidroquinona; quitosana, MOPN e hidroquinona; bem como cada constituinte isolado, em D_2O contendo 2% (v/v) de ácido acético deuterado.

Para o estudo em solvente modelo (AA/HQ), foi preparada uma solução mãe de quitosana 2% (m/v) e foram preparados sistemas com concentrações de 1%, 0,5%; 0,3% e 0,1% (m/v) de quitosana, com concentração fixada em 0,05% (m/v) de MOPN. As concentrações reais das soluções mãe de quitosana e

MOPN foram determinadas a fim de que a exata concentração dos polímeros fosse mantida em cada sistema. Para tanto uma alíquota de solução foi seca a 60 °C em estufa até peso constante e a massa do polímero na solução foi determinada. A adição de MOPN à solução de quitosana ocorreu lentamente sob agitação constante, após o sistema permaneceu em agitação por 15 minutos. Os filmes foram obtidos por *casting* vertendo 25 mL dos sistemas, em placas de polietileno de 24 cm². Os filmes foram analisados por FTIR, em equipamento da Shimadzu, modelo IRspirit, em pastilha de KBr para verificar interações entre os polímeros. A morfologia da superfície dos filmes foi avaliada por MEV em Microscópio Eletrônico de Varredura JEOL JSM 6060 com voltagem de 15 kV. As amostras foram previamente recobertas com uma fina camada de ouro em equipamento Sanyu Electron, modelo SC-701, operando com corrente de 10 mA por 2 minutos.



Figura 7. Esquema de preparo dos sistemas quitosana/mucilagem de ora-pro-nobis.

Os sistemas coloidais com quitosana e mucilagem em APD (Q/MOPN/APD) foram preparados como descrito anteriormente para estudo em solvente modelo, utilizando o ácido pirolenhoso destilado puro como solvente. A concentração de quitosana foi fixada em 1% (m/v) e a concentração de MOPN adicionada foi de 0,05% ou 0,5% (m/v). Em paralelo com as avaliações do sistema Q/MOPN em APD foram realizadas avaliações, nas mesmas condições e concentrações, em solvente modelo (Q/MOPN/AA/HQ) para comparação. As propriedades reológicas dos sistemas, a 25 °C, foram avaliadas em viscosímetro LV DV-II+Pro Brookfeild, com spindle SC4-28.

O ângulo de contato destes sistemas em relação à folha de soja foi determinado a 25 °C. Para tanto uma parte da folha foi fixada em lâmina de vidro, com fita dupla face. Para as medidas 9 µL de amostra foi pingado sobre a folha e o ângulo de contato foi medido durante 60 segundos, em tensiômetro Attension com câmera de captura de imagens a 20 Frames por segundo. O resultado é expresso como a média e desvio padrão das medidas ao longo do tempo de análise.

Foi determinada a tensão superficial destes sistemas através do método do peso da gota adaptado conforme proposto por Behring e colaboradores (2004). Foi utilizado uma bureta acoplada a um erlenmeyer para determinar a massa de 10 gotas amostra, a 20 °C. A massa de 10 gotas de água foi determinada como referência para efetuar os cálculos de tensão superficial das amostras. O intervalo entre as gotas foi fixo e as medidas foram realizadas em triplicata. (BEHRING *et al*, 2004; NETO *et al*, 2009)

Para investigar as propriedades fotoprotetoras dos filmes obtidos a partir dos sistemas coloidais compostos por quitosana e mucilagem os mesmos foram depositados por *casting*, diretamente na lateral interna da cubeta de quartzo. Para avaliação da topografia e das propriedades mecânicas por AFM, os sistemas coloidais foram depositados sobre substrato de silício. Estas análises foram realizadas conforme detalhado na seção 4.3.

Para avaliar a liberação de fenóis, foram obtidos filmes autosuportados por *casting* a partir de sistemas com concentração determinada de compostos fenólicos. Pequenos pedaços do filme foram pesados e imersos em 5 mL de água ultrapura e a liberação de fenóis da matriz polimérica foi avaliada através da intensidade de absorbância em 270 nm em intervalos de tempo de até 460 minutos. O teor total de fenóis liberado foi dosado no final do experimento segundo a metodologia de Folin-Denis já descrita anteriormente.

A comparação dos resultados quantitativos durante o trabalho, apresentados como média e desvio padrão, foi realizada através da análise de variância (ANOVA) e teste de médias (Tukey), a 5% de significância, com auxílio do software Sisvar (FERREIRA, 1999).

5 Resultados e discussão

5.1 Caracterização estrutural dos materiais de partida

Serão apresentadas a seguir os resultados da caracterização das matérias-primas utilizada nesta tese.

5.1.1 Quitosana

A massa molar e o grau de desacetilação da quitosana variam de acordo com a fonte da quitina e com o processo utilizado para sua obtenção. (MUJTABA *et al.*, 2019; SOARES *et al.*, 2017)

A partir da análise de RMN de ^1H é possível calcular o grau de desacetilação (GD) da quitosana de acordo com a equação: (LEE *et al.*, 2013)

$$GD = 100 \times \left[1 - \frac{(I_{Hg}/3)}{(I_{Hb-Hf}/6)} \right] \quad (1)$$

onde I_{Hg} corresponde ao valor da integral dos hidrogênios do grupo acetamida (CH_3), em 1,9 ppm, e I_{Hb-Hf} é a soma das integrais dos picos na região de 4,0 a 3,3 ppm, correspondendo aos hidrogênios *c, d, e, f* e do pico em 2,9 ppm que corresponde ao hidrogênio *b* do anel glucosamino. O pico referente ao hidrogênio da posição *a* está em 4,6 ppm, parcialmente encoberto pelo pico da água. O grau de desacetilação calculado foi de 92% para quitosana da Polymar (Figura 8 a) o que implica em elevada interação entre cadeias, em estado sólido. Para a quitosana da Sigma (Figura 8 b) o valor foi de 84% de grau de desacetilação, o que está de acordo com o informado pelo fabricante, $\geq 75\%$.

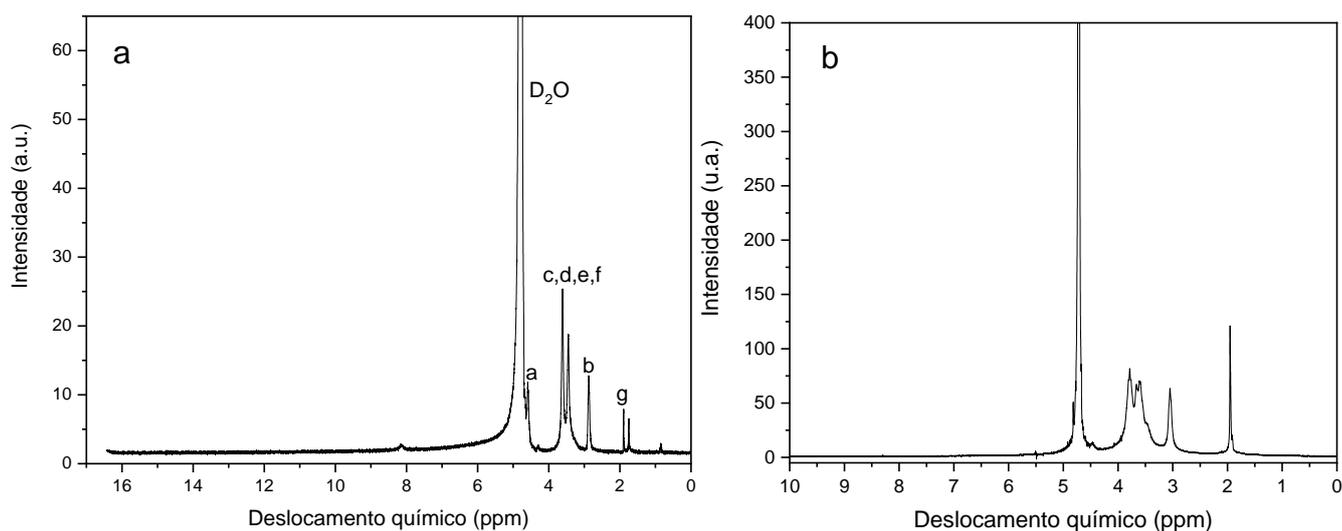


Figura 8. a) Espectro de RMN ¹H da quitosana Polymar em D₂O/HCl 1% v/v. b) Espectro de RMN ¹H da quitosana Sigma em D₂O/CD₃CO₂D 2% v/v.

A quitosana da Polymar, utilizada nos experimentos descritos em 4.2 e 4.3, teve sua massa molar determinada por medidas de viscosidade em soluções com diferentes concentrações do polímero. Por extrapolação da viscosidade reduzida para concentração zero, foi possível obter a viscosidade intrínseca, a partir da qual se pode calcular a massa molar através da equação de Mark-Houwink-Sakurada: (KASAAI, 2007)

$$[\eta] = KM^a \quad (2)$$

onde $[\eta]$ é a viscosidade intrínseca e K e a são constantes viscosimétricas, que para as condições do experimento, são $76 \cdot 10^{-5} \text{ dL} \cdot \text{g}^{-1}$ e 0,76, respectivamente. (KASAAI, 2007) A massa molar média determinada para a quitosana da Polymar foi $14,64 \pm 0,02 \text{ kDa}$, sendo considerada de baixa massa molar, por estar na faixa de até 150 kDa. (WONG, 2009) A quitosana da Sigma adquirida para os experimentos com a mucilagem também é de baixa massa molar, entre 50 e 190 kDa, segundo o fabricante. A utilização de quitosana com essa faixa de massa molar permite a obtenção de sistemas menos viscosos e de fácil aplicação.

5.1.2 Ácido pirolenhoso destilado

O ácido pirolenhoso coletado durante a queima da madeira para produção de carvão vegetal, para ser utilizado com segurança e maior eficiência na agricultura, deve obedecer a critérios de coleta e produção específicos para esta finalidade. Dentre os parâmetros de controle de qualidade recomendados, o pH deve estar na faixa de 2,0 a 3,7 e a densidade a 20 °C deve ser superior a 1,005 g·mL⁻¹. (CAMPOS, 2018)

O ácido pirolenhoso de *Eucalyptus grandis* obtido na unidade experimental da Embrapa Clima Temperado, após sua destilação, apresentou pH de 2,73 e densidade a 20 °C de 1,003 g·mL⁻¹, atendendo às recomendações de Campos (2018). A densidade pouco abaixo do recomendado se deve ao processo de destilação realizado que leva à perda de uma parte dos compostos orgânicos constituintes do ácido pirolenhoso. Os principais compostos presentes no ácido pirolenhoso de *Eucalyptus grandis* destilado (APD) são compostos fenólicos. (PORTO *et al.*, 2019)

O conteúdo de fenóis totais do APD foi de 1255 ± 29 mg·L⁻¹, expresso em equivalentes de ácido tânico. Os fenóis estão entre os compostos do ácido pirolenhoso responsáveis por suas propriedades antioxidantes, antimicrobianas e de promoção de crescimento das plantas. (GREWAL *et al.*, 2018) Além do tipo de madeira utilizada na queima, o processo de pirólise também influencia na composição química e nas características do ácido pirolenhoso. (ZHAI *et al.*, 2015)

5.1.3 Mucilagem de ora-pro-nóbis

5.1.3.1 Rendimento das extrações

Com o método de extração descrito neste trabalho obteve-se um rendimento de 7,25% ± 0,2% (m/m) de mucilagem bruta a partir de folhas secas de ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata*). Após a etapa de purificação da mucilagem, foi recuperado 59% em massa, logo, o rendimento de MOPN final foi em torno de 4,28% (m/m).

Lima Jr (2011) obteve um rendimento de 0,65 % no processo de extração de mucilagem usando folhas frescas e extração a quente, seguido de purificação em leite de carvão ativado. Já Martin (2015) usou um método de purificação prévio das folhas verdes para remoção de pigmentos e lipídeos, seguido de extração à temperatura ambiente e a mucilagem foi purificada por dissolução, separação da fração insolúvel e precipitação com etanol, obtendo um rendimento de 1,6 % (m/m).

Neste trabalho utilizou-se etapa de purificação, após a extração da mucilagem, semelhante a Martin (2015) e optou-se por utilizar as folhas secas para extração pela maior facilidade de estocagem da matéria prima. Lucca (2017) também utilizou folhas secas para extração da mucilagem de ora-pro-nóbis e obteve rendimento de 0,50% (m/m), com processo de extração similar ao de Lima Jr (2011), porém utilizando purificação com peróxido de hidrogênio ao invés de carvão ativado. As diferenças no processo de extração e purificação podem ser responsáveis pelo maior rendimento observado no nosso trabalho. Aliado a isto, o tempo que as folhas secas e moídas foram deixadas em contato com o solvente, antes da extração, pode ter promovido uma melhor hidratação das cadeias poliméricas e conseqüentemente maior liberação da mucilagem.

5.1.3.2 Composição química da MOPN

A MOPN obtida neste trabalho apresentou teor de umidade de 6% (m/m), sendo o teor de carboidratos totais de $41,16 \pm 9,20\%$ (m/m), de proteína de $5,87 \pm 0,22\%$ (m/m) e de cinzas de $17,88 \pm 4,04\%$ (m/m), expressos em base seca. A mucilagem de *Pereskia aculeata* obtida por Lima e colaboradores (2013) apresentou 13,45% de umidade, 46,88% (m/m) de carboidratos totais e 10,47% (m/m) de proteína, 42,54% de cinzas e presença de minerais como Ca, K, P, Mg, S e Fe. Martin e colaboradores (2017) obtiveram um teor de umidade de 9%, 48,3 % (m/m) de carboidratos totais, 18,8 % (m/m) de proteína, 16% de cinzas e valores que variaram entre 0,001 e 2 % (m/m) de zinco, fosforo, manganês, ferro, cálcio, potássio, magnésio e sódio, na mucilagem obtida a partir de folhas verdes de ora-pro-nóbis. Sendo todas as porcentagens expressas em base seca, exceto o teor de umidade. As diferenças encontradas na literatura para a composição da mucilagem podem ser atribuídas a diferentes fatores como as condições de

cultivo, a época diferente de colheita ou mesmo a região de cultivo da planta, que podem influenciar na composição química das folhas e, conseqüentemente, da mucilagem extraída. As diferenças no processo de obtenção e purificação da mucilagem também podem influenciar na sua composição química. (CONCEIÇÃO *et al.*, 2014; OLIVEIRA *et al.*, 2019)

A quantificação dos metais presentes na MOPN obtida neste trabalho foi realizada através da análise de XPS, com a conseqüente quantificação dos picos encontrados no Survey, levando-se em consideração as áreas dos picos e seus fatores de sensibilidade atômica. Foi possível identificar a presença de cálcio, potássio e magnésio. Os picos utilizados na quantificação foram o 2p para cálcio e potássio e o 2s para o magnésio. As porcentagens atômicas são apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Percentagens atômicas de metais obtidas por XPS na MOPN.

Composto	Percentagem atômica (%)
Cálcio	1,26
Potássio	2,61
Magnésio	6,09

A análise elementar da MOPN, por CHN, revelou 27,97% de carbono, 4,61% de hidrogênio e 0,9% de nitrogênio em massa, uma proporção de aproximadamente 1 carbonos para 2 hidrogênios, o que é consistente com uma cadeia de polissacarídeos, estrutura genérica $C_n(H_2O)_n$. A porcentagem de nitrogênio é coerente com o teor determinado de proteína, visto que para a maioria dos alimentos o nitrogênio representa aproximadamente 16% da proteína; também reforça a presença deste composto na estrutura do polissacarídeo, o que está de acordo com a descrição de mucilagem desta planta encontrada na literatura. (MORAES *et al.*, 2019) Oliveira (2019) também encontrou para a mucilagem extraída de ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata*) a mesma proporção entre carbonos e hidrogênios observada neste experimento, porém com uma proporção maior de nitrogênio, o dobro da observada neste trabalho.

A morfologia da MOPN (Figura 9) apresenta partículas homogêneas parcialmente cristalinas e de tamanho regular. Oliveira (2019) observou uma

estrutura semelhante, compacta, praticamente sem poros ou rugosidade, para a mucilagem extraída desta planta.

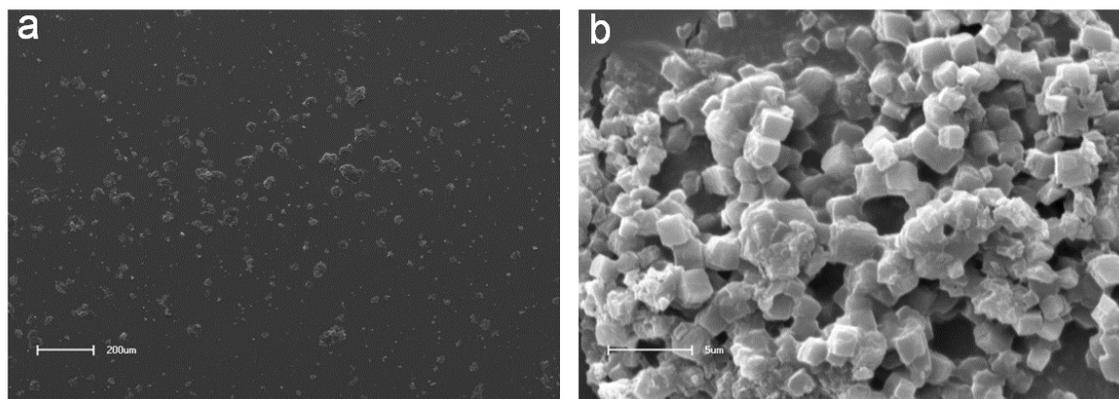


Figura 9. Imagem de microscopia eletrônica de varredura da MOPN. Em a) aumento de 50X e em b) de 3000x.

5.1.3.3 Características físico-químicas da MOPN

A massa molar da MOPN foi determinada por GPC. Os dados de massa molar ponderal média (M_w) e massa molar numérica média (M_n) são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Dados da análise de GPC para a MOPN.

Pico	M_w (Da)	M_n (Da)	M_w/M_n
1	33.630	15.009	2,2
2	840	758	1,1
3	145	139	1,0

Observa-se a presença de três picos identificados em tempos de eluição diferentes. O primeiro pico observado pode ser atribuído a mucilagem extraída, complexo arabinogalactana-proteína de massa molar ponderal média 33,63 KDa, visto que os dados de composição química demonstram a presença de proteína além de carboidrato na composição da MOPN. Os outros picos observados podem ser atribuídos a frações de polissacarídeos. (PAULA & RODRIGUES, 1995) A relação entre a massa molar ponderal e a massa molar numérica em torno de 2 indica que a mucilagem obtida é polidispersa. Martin

(2015) também obteve mucilagem de ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata*) com características similares, porém com massa molar ponderal média de $7,6 \cdot 10^5$ Da, maior do que a encontrada neste trabalho. O complexo arabinogalactana-proteína, extraído de plantas, pode apresentar uma ampla faixa de massa molar de 10^3 a 10^7 g·mol⁻¹. Isto ocorre devido a variações na composição química das folhas das plantas que dependem de fatores de cultivo, bem como diferenças nos métodos de extração deste complexo. (SAEIDY *et al.*, 2021; MARTIN, 2015)

No espectro de FTIR da MOPN (Figura 10) são observadas bandas semelhantes às descritas na literatura. (CONCEIÇÃO, 2013; MERCE, 2001) Em 3396 cm⁻¹ observa-se deformações axiais do estiramento da ligação O-H dos monossacarídeos que constituem a arabinogalactana. A deformação axial de N-H também ocorre nesta região ficando encoberta, visto que a análise de proteínas indica a presença destes compostos na mucilagem. Em 2938 cm⁻¹ temos a presença de banda do estiramento assimétrico C-H, do grupo CH₂. As bandas de amida, características de proteínas, ocorrem na região de 1700 a 1500 cm⁻¹ e devem estar sobrepostas à banda da carboxila de ácidos urônicos que podem estar presentes na estrutura da mucilagem. Os ácidos urônicos apresentam picos característicos ao redor de 1658 cm⁻¹, associado à ocorrência de uma banda em aproximadamente 1440 cm⁻¹, das vibrações C-OH e C-CH, característico de mucilagens vegetais. As vibrações de estiramento do anel piranose, presente na estrutura da arabinogalactana, ocorrem entre 1300 e 1000 cm⁻¹. Sobreposta a essas bandas, ao redor de 1050 cm⁻¹, ocorre a banda atribuída ao estiramento da ligação C-O, de C-O-C, característica de glicosídeos. (BRANCO *et al.*, 2011; CONCEIÇÃO *et al.*, 2013; MERCE *et al.*, 2001)

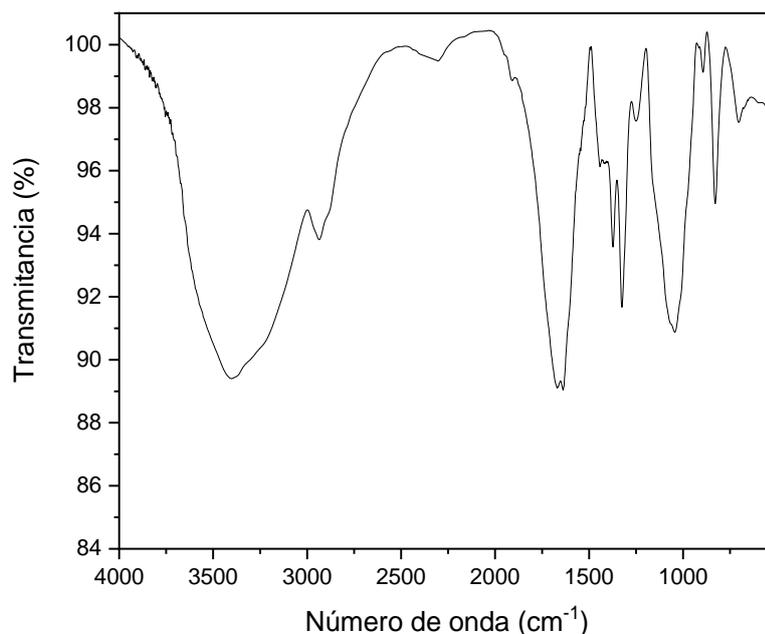


Figura 10. Espectro de FTIR da MOPN.

No espectro de ^{13}C RMN (Figura 11) observamos picos na região entre 60 e 110 ppm, típicos das ligações glicosídicas. Segundo Martin (2015), os picos observados em 104,2, 72,8, 74,6, 78,1, 76,8 e 60,6 ppm podem ser atribuídos, respectivamente, aos carbonos 1; 2; 3; 4; 5 e 6 (Figura 11) de 1,4- β -galactopiranosose, principal monossacarídeo da cadeia da arabinogalactana. A visualização de outros picos, como os carbonos de outros monossacarídeos, presentes em menor proporção, ficou dificultada pela proximidade de sinais e pela baixa razão sinal/ruído. Em 167,3 ppm pode ser observado deslocamento do grupo COO de ácido galacturônico, indicando sua presença na estrutura da mucilagem obtida. (MARTIN, 2015) Os deslocamentos observados em 176,7 e 19,5 ppm são referentes ao ácido acético deuterado utilizado no preparo da amostra.

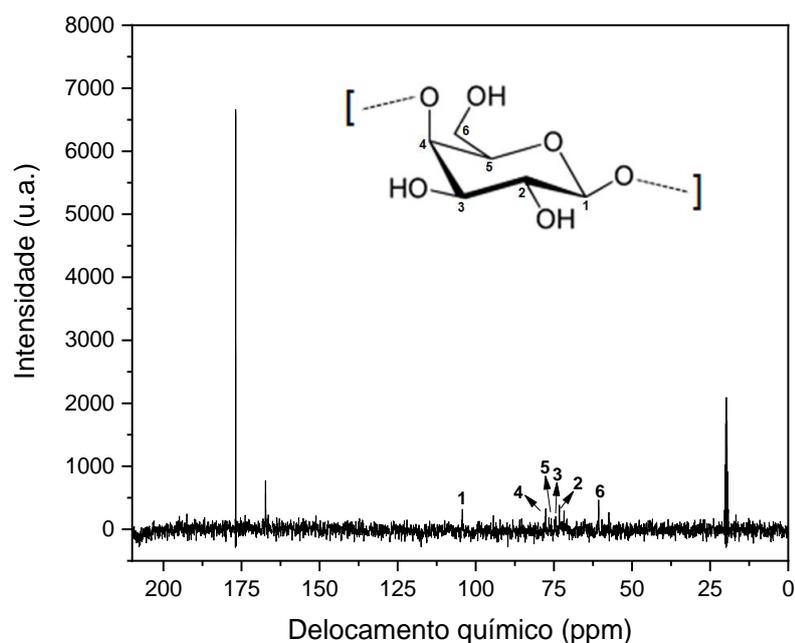


Figura 11. Espectro de RMN ^{13}C da MOPN.

No espectro de ^1H RMN da MOPN, apresentado na Figura 12, observa-se na região de 3,5 a 3,8 ppm picos característicos de H de anéis glicosídicos dos carbonos nas posições 2, 3, 5 e 6 da galactopiranosose. Em 4,5 ppm observa-se o pico do hidrogênio ligado ao carbono da posição 1 e, em 4,1 ppm, do hidrogênio ligado ao carbono na posição 4. O pico em 2 ppm pode ser atribuído ao grupo acetil do ácido α -D-galacturônico. (MARTIN, 2015) Os picos observados em 1,1 ppm e 8,2 ppm podem ser atribuídos, respectivamente, aos hidrogênios de cadeias saturadas e hidrogênios ligados a nitrogênio de amidas de proteínas presentes na estrutura da mucilagem. (SILVERSTEIN & WEBSTER, 2000)

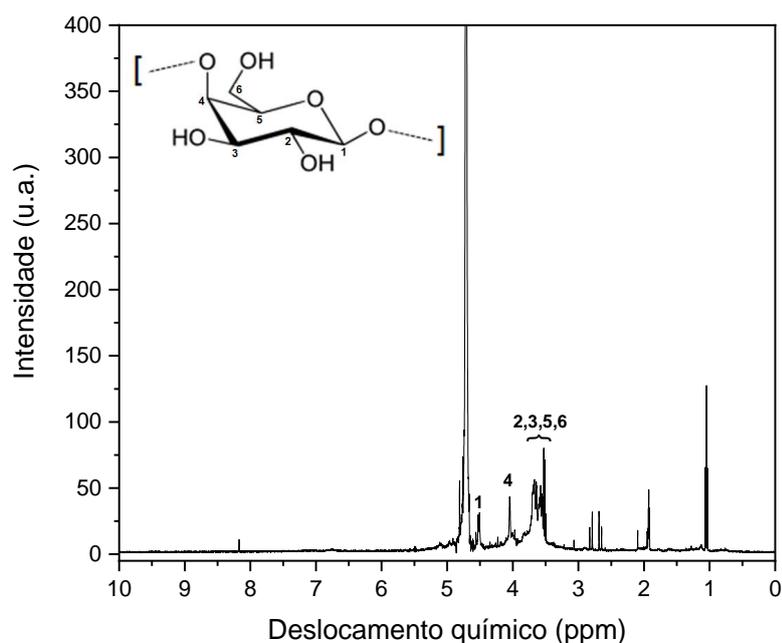


Figura 12. Espectro de ^1H RMN da MOPN.

Os resultados obtidos na análise de composição química e na caracterização estrutural indicam que a mucilagem extraída neste trabalho é similar à descrita na literatura para o ora-pro-nóbis, espécie *Pereskia aculeata*, majoritariamente composta por polissacarídeo, arabinogalactana tipo I, com a presença de proteína e de minerais em sua estrutura.

5.2 Avaliação da estabilidade dos sistemas quitosana/APD

Neste capítulo serão discutidas as mudanças nas propriedades físico-químicas dos sistemas aquosos contendo Q/APD, submetidos a diferentes tempos de armazenamento à temperatura ambiente, bem como as características mecânicas dos filmes formados a partir desse sistema, após seu envelhecimento acelerado.

5.2.1 Influência do tempo de armazenamento, à temperatura ambiente, nas propriedades físico-químicas e estruturais dos sistemas Q/APD

O pH dos sistemas Q/APD ficou estável durante o período de armazenamento estudado, em comparação com o tempo inicial de preparo, estando entre 3,55 e 3,52 (a 25 °C), para a concentração de 10 g·L⁻¹ de quitosana, e na faixa de 4,18 a 4,16, para 30 g·L⁻¹. A condutividade dos sistemas de menor concentração ficou entre 2,42 e 2,04 mS·cm⁻¹ (a 25 °C) e, para os de maior concentração, esteve entre 5,98 e 5,34 mS·cm⁻¹ durante todo período estudado. Foi observada a diminuição nos valores de condutividade com o aumento do tempo de armazenamento, que pode ser atribuída à agregação das espécies iônicas presentes, formando estruturas complexas. A interação entre os grupos +NH₃ e os grupamentos OH dos compostos fenólicos presentes no APD reduz a mobilidade iônica. Nossos resultados vão ao encontro dos resultados obtidos por Liudvinaviciute e colaboradores (2019) para interação entre quitosana e ácidos fenólicos. (LEONES *et al.*, 2017; LIUDVINAVICIUTE *et al.*, 2019)

O comportamento reológico para os sistemas com 30 g·L⁻¹ de quitosana em APD, após diferentes tempos de armazenamento, à temperatura ambiente (20 °C ± 5 °C), é apresentado na Figura 13. Observa-se a redução da inclinação da reta com o tempo de armazenamento. Outro aspecto interessante é que as curvas de carga e descarga se sobrepõem, ou seja, os sistemas não apresentam histerese, demonstrando um comportamento independente do tempo. Nossos resultados diferem de Owczarz e colaboradores (2018), que descreveram o comportamento das soluções aquosas de quitosana como tixotrópico. Entretanto nossos resultados são semelhantes ao observado por Soares e colaboradores (2017) em soluções formuladas com quitosana e ácido láctico. (OWCZARZ *et al.*, 2018; SOARES *et al.*, 2017)

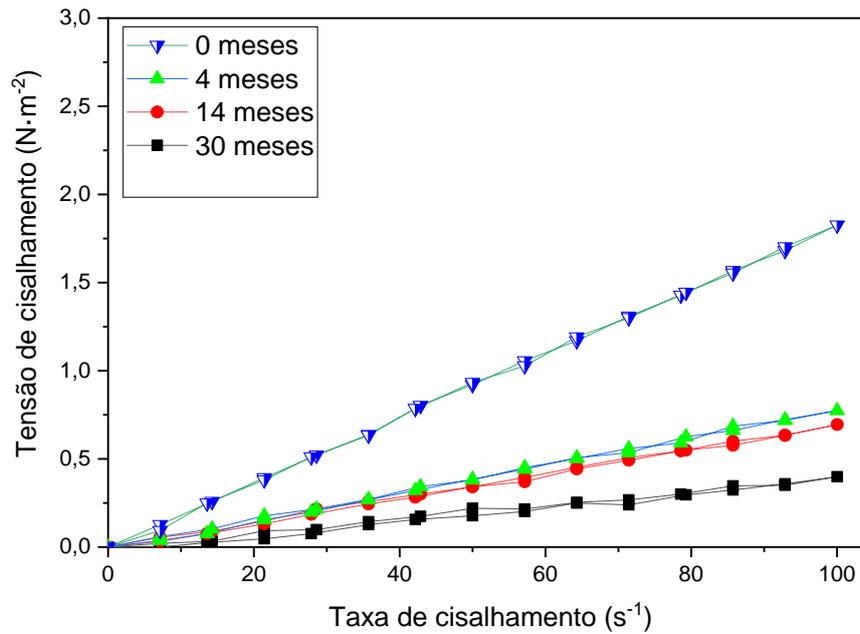


Figura 13. Tensão versus taxa de cisalhamento para os sistemas Q/APD, com concentração de 30 g·L⁻¹, em diferentes tempos de armazenamento na temperatura de 20 °C ± 5 °C.

As curvas foram analisadas ajustando-se os dados com a equação de Herschel (equação geral da reologia): (WU *et al.*, 2016)

$$\sigma = \sigma_0 + K \cdot \gamma^n \quad (3)$$

onde σ é a tensão de cisalhamento, σ_0 é a tensão inicial de cisalhamento, γ é a taxa de cisalhamento, K é o índice de consistência (relacionado com a estrutura do material) e n é o índice de comportamento do fluido ou índice de escoamento (relacionado com a estabilidade mecânica). (WU *et al.*, 2016) Os valores de K e n para o sistema Q/APD são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Parâmetros reológicos dos sistemas de Q/APD na temperatura de 25 °C.

Concentração (g·L ⁻¹)	Tempo de armazenamento (meses)	<i>K</i> (mPa·s)	<i>n</i>	R ²
10	0	7,43 ± 2,38	0,90 ± 0,06	0,99
10	4	1,48 ± 0,72	1,14 ± 0,10	0,99
10	14	1,12 ± 0,93	1,18 ± 0,17	0,98
10	30	1,55 ± 1,13	1,04 ± 0,15	0,98
30	0	18,70 ± 1,60	0,99 ± 0,02	1,00
30	4	7,72 ± 1,60	1,00 ± 0,04	1,00
30	14	7,56 ± 1,43	0,98 ± 0,04	1,00
30	30	3,80 ± 2,10	1,01 ± 0,11	0,99

Os sistemas Q/APD não apresentam tensão inicial de cisalhamento ($\sigma_0 = 0$) e os valores de *n* ficam próximos de 1, indicando um comportamento de fluido newtoniano, que não se altera durante o período de armazenamento estudado. A comparação entre sistemas Q/APD envelhecidos, em ambas as concentrações, mostra que a variação de *K* é significativa ($\alpha=0.05$) a partir de 4 meses de armazenamento, em relação às amostras recém preparadas, o que deve estar associado a modificações na interação do polímero com o solvente, pois a massa molar, determinada em solução tampão, não se altera significativamente neste período. As alterações estruturais serão discutidas na seção 5.2.2. Após 4 meses, não há variação significativa entre os valores de *K* ($\alpha=0,05$) para os sistemas com concentração de 10 g·L⁻¹, porém as viscosidades obtidas para estes sistemas estão próximas ao limite de detecção da sonda (*spindle*) utilizada (1,5 mPa·s). Para os sistemas com concentração de 30 g·L⁻¹, não se observa variação significativa entre 4 e 14 meses, porém aos 30 meses *K* diminui significativamente. A queda no valor da viscosidade com o tempo pode ser atribuída a modificações na interação com o solvente (APD) e/ou à hidrólise da quitosana em meio ácido. (CHEN *et al.*, 2009)

Deve-se considerar ainda que nos sistemas mais concentrados o maior número de macromoléculas do polímero em solução, que interagem entre si, pode levar a uma menor queda na viscosidade observada entre 4 e 14 meses de armazenamento ou, ainda, o fato de que a maior concentração de polímero favorece a interação entre fragmentos de cadeia o que competiria com processos de degradação. (CHEN *et al.*, 2009; WU *et al.*, 2016)

Por outro lado, a viscosidade dos sistemas de quitosana não é influenciada apenas pela concentração do polímero, mas também pela concentração e natureza da solução ácida utilizada na sua solubilização; a interação entre quitosana e os componentes do sistema solvente atuam sobre a densidade de carga do polímero, influenciando nas interações inter e intramoleculares pré-existentes e conseqüentemente na viscosidade. (LAKEHAL *et al.*, 2019; NGUYEN *et al.*, 2008)

5.2.2 Modificações estruturais dos sistemas Q/APD

Para avaliar as alterações sofridas pela quitosana, causadas pelos componentes do solvente (APD) ao longo do tempo, os sistemas coloidais correspondentes aos diferentes tempos de armazenamento foram desestabilizados com solução de hidróxido de amônio de modo que o polímero separasse do meio solvente.

O espectro de RMN de ^{13}C de estado sólido da quitosana purificada, com seus picos característicos, é mostrado na Figura 14; os deslocamentos químicos dos carbonos *a*, *b*, *c*, *d*, *e*, *f* das unidades glicosídicas encontram-se na região entre 50 e 110 ppm. Pode-se observar a desacetilação incompleta da quitosana pela presença dos picos em 22,7 ppm correspondente ao carbono da metila do grupo acetamida (*h*) e do pico em 173,5 ppm da carbonila do grupo acetila (*g*). (CHEN *et al.*, 2017) Nos polímeros precipitados a partir dos sistemas Q/APD nos diferentes tempos de armazenamento (Q/APD-0, Q/APD-4, Q/APD-14 e Q/APD-30), observa-se um deslocamento do sinal referente à metila do grupo acetamida para menores valores, que pode estar relacionado à maior blindagem deste carbono pela presença de compostos na sua vizinhança. O sinal referente a compostos fenólicos do APD é esperado na região entre 110 e 175 ppm. Nos sistemas precipitados observa-se nessa região um alargamento do pico, que

pode corresponder ao sinal de carbono de fenóis junto ao grupamento carbonila do grupo acetil do polímero.

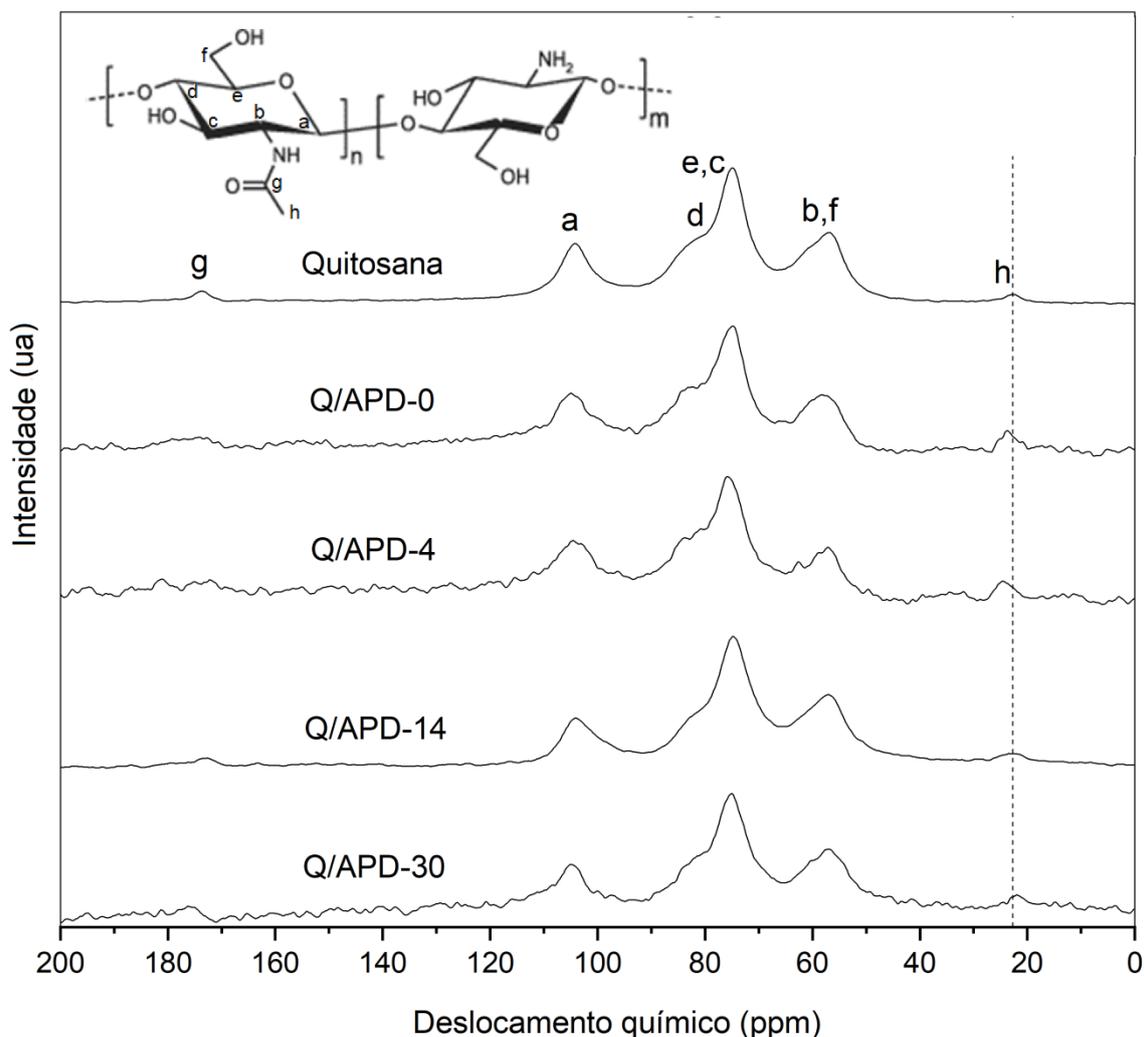


Figura 14. RMN de estado sólido de ^{13}C da quitosana (Polymar) e dos polímeros Q/APD-0, Q/APD-4, Q/APD-14 e Q/APD-30.

A massa molar dos polímeros precipitados a partir dos sistemas após os diferentes tempos de armazenamento (Q/APD-0, Q/APD-4, Q/APD-14 e Q/APD-30) foi determinada por viscosimetria da mesma forma que para a quitosana pura, em solução tampão $0,3 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ de ácido acético e $0,2 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ de acetato de sódio. Os valores de massa molar viscosimétrica obtidos estão descritos na Tabela 4.

Comparado com a massa molar viscosimétrica da quitosana pura (14,64 kDa), a massa molar viscosimétrica do polímero recuperado do sistema sem armazenamento (Q/APD-0) aumenta. Isto pode ocorrer devido às ligações intermoleculares e/ou formações de complexos que podem ser promovidas pelo APD. (LIUDVINAVICIUTE *et al.*, 2019; WANG *et al.*, 1991)

O teor dos compostos fenólicos ligados à quitosana (Tabela 4) aumenta com o tempo de armazenamento provavelmente pelo aumento do tempo de contato entre a quitosana e o APD. Os compostos fenólicos são importantes por agregarem propriedades funcionais ao polímero, pois são antioxidantes e antimicrobianos. (MA *et al.*, 2011; SOUZA *et al.*, 2018) Wu e colaboradores (2016) ligaram covalentemente ácido gálico à cadeia da quitosana para obter filmes com propriedades antioxidantes e antimicrobianas para uso em embalagens de alimentos. (KADAM *et al.*, 2018; LIUDVINAVICIUTE *et al.*, 2019; WU *et al.*, 2016)

A variação da massa molar do polímero não é significativa ($\alpha=0,05$) até 4 meses de armazenamento. A partir de 14 meses, há uma diminuição significativa da massa molar, atribuída à hidrólise da quitosana promovida pelo meio ácido. (CHEN *et al.*, 2009) Por outro lado, a quantidade de fenóis incorporados à matriz polimérica aumenta significativamente, já a partir do quarto mês de deposição. Apesar da redução de massa molar no período de 4 para 14 meses a estabilidade observada para a viscosidade, neste mesmo período, pode ser resultante das interações inter e intramoleculares devido à formação de estruturas complexas entre a quitosana e os compostos fenólicos do APD.

Tabela 4. Massa molar viscosimétrica e teor de compostos fenólicos do polímero Q/APD em função do tempo de armazenamento à temperatura ambiente.

Amostra	Massa Molar (kDa)	Fenóis (mg/100mg)
Q/APD-0	28,77 ± 2,10	0,29 ± 0,03
Q/APD-4	25,39 ± 1,54	0,78 ± 0,02
Q/APD-14	10,96 ± 0,43	1,79 ± 0,05
Q/APD-30	8,61 ± 0,30	2,29 ± 0,05

O espectro de FTIR-DRIFT da quitosana (Figura 15) apresenta bandas características do polímero; na região de 3500 cm^{-1} observa-se uma banda alargada da deformação axial de grupos amino e OH sobrepostos. Em 2890 cm^{-1} têm-se deformações axiais de C-H alifático. Em 1650 cm^{-1} observa-se a deformação axial do grupo carbonila da amida e, em 1600 cm^{-1} , as deformações angulares da ligação N-H. A banda em 1408 cm^{-1} é atribuída à deformação angular da ligação NC e a em 1100 cm^{-1} à deformação angular da ligação CO. (CHEN *et al.*, 2017) Nos espectros dos precipitados dos sistemas Q/APD, nos diferentes tempos de armazenamento (Figura 15), nota-se que o APD promoveu o estreitamento da banda na região de 3500 cm^{-1} da quitosana sugerindo a formação de ligações entre a quitosana e os grupos OH fenólicos do APD. Colabora para este fato, o aparecimento nos polímeros Q/APD de uma banda em 790 cm^{-1} , que pode ser atribuída a compostos aromáticos substituídos. (WU *et al.*, 2016; ZHU *et al.*, 2019)

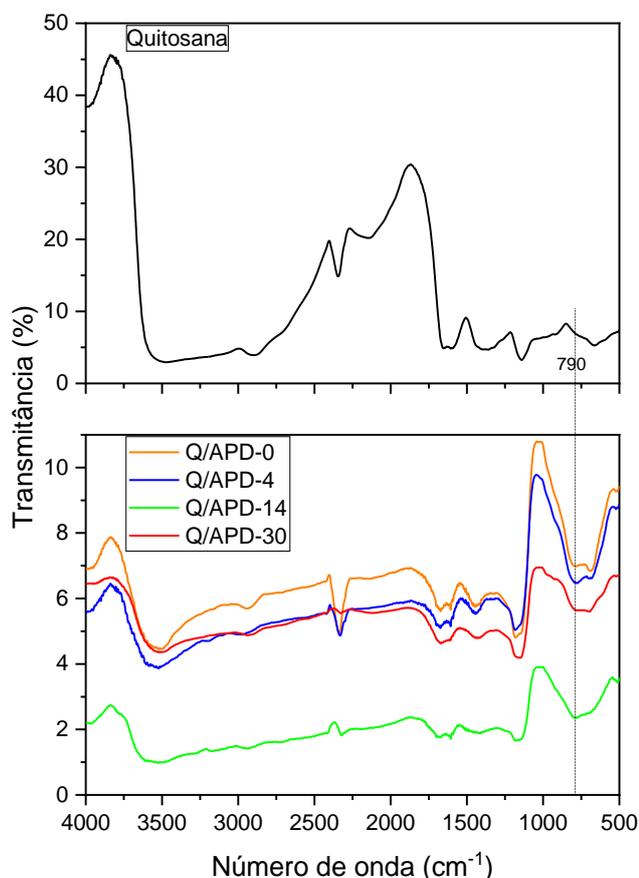


Figura 15. FTIR-DRIFT da quitosana (Polymar) e dos polímeros precipitados Q/APD-0, Q/APD-4, Q/APD-14 e Q/APD-30.

Os espectros na região do ultravioleta-visível (UV-Vis) dos materiais de partida, bem como do material sólido, recuperado após diferentes tempos de armazenamento, e dissolvido na solução tampão de ácido acético/acetato de sódio, são apresentados na Figura 16. A banda de absorção em 275 nm é observada no APD e, no entanto, não aparece na quitosana pura. Essa banda é atribuída aos fenóis presentes no APD. Os fenóis apresentam duas bandas características nas regiões de 210 e 270 nm, devido às transições eletrônicas $\pi-\pi^*$ e $n-\pi^*$, respectivamente. Os materiais precipitados a partir de Q/APD, e dissolvidos em solução tampão, mostram a mesma banda característica observada no APD puro, devido aos compostos fenólicos do APD que se ligaram à quitosana. Wu et al. (2016) relataram uma situação análoga, estes autores observaram a inserção do ácido gálico nas cadeias de quitosana pelo aparecimento de uma banda a 267 nm, que atribuíram às transições do grupo cromóforo C=O deste composto. (WU et al., 2016)

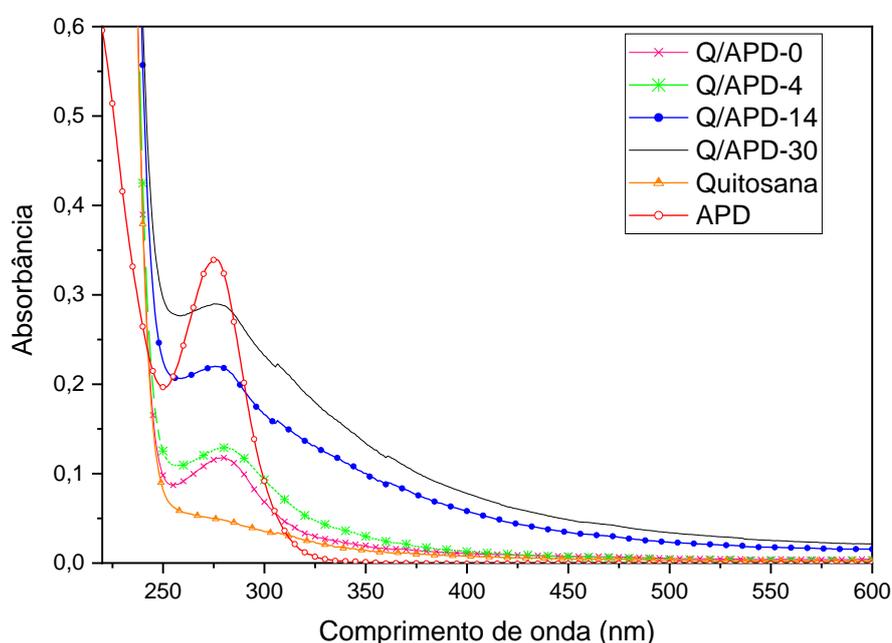


Figura 16. Espectro de ultravioleta do APD (diluído 200 vezes) e da quitosana e dos polímeros, Q/APD-0, Q/APD-4, Q-APD-14 e Q/APD-30, em tampão $0,3 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ de ácido acético e $0,2 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ de acetato de sódio na concentração de $0,1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$.

A interação entre os compostos fenólicos e a quitosana explica as propriedades fotoprotetoras na região ultravioleta (baixa transmitância entre 200 e 320 nm) observadas em filmes obtidos por casting a partir do sistema Q/APD em nosso trabalho prévio. (PORTO *et al.*, 2019)

A espectroscopia de fluorescência tridimensional é uma excelente ferramenta para avaliar interações efetivas entre APD e quitosana, ou seja, interações que contribuem para a remoção de componentes do meio solvente pelo polímero, permitindo verificar se a interação desses compostos com a quitosana causa variação na intensidade de fluorescência e alterações nos comprimentos de onda de excitação e emissão.

A quitosana, quando excitada a um comprimento de onda próximo a 340 nm, apresenta uma emissão máxima a 425 nm, mas com baixo rendimento de fluorescência. As principais transições observadas na quitosana são devidas ao decaimento $\sigma^* \rightarrow n$, característico dos grupos NH_2 e OH . As Figuras 17 e 18 mostram os espectros 3-D para a quitosana sólida pura e dissolvida em tampão ácido acético/acetato de sódio, foto-inativo, respectivamente.

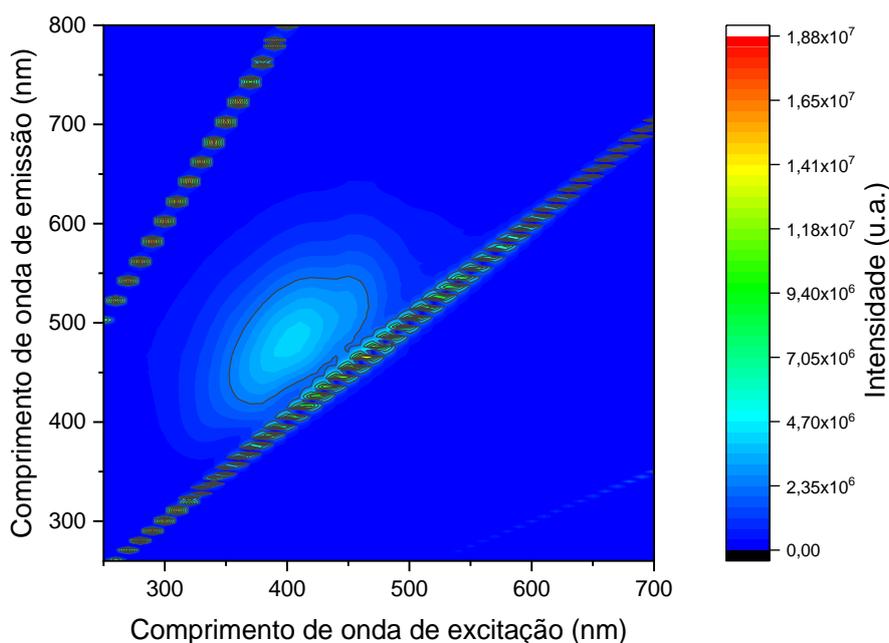


Figura 17. Espectro 3-D de fluorescência da quitosana (Polymar) no estado sólido a 25 °C.

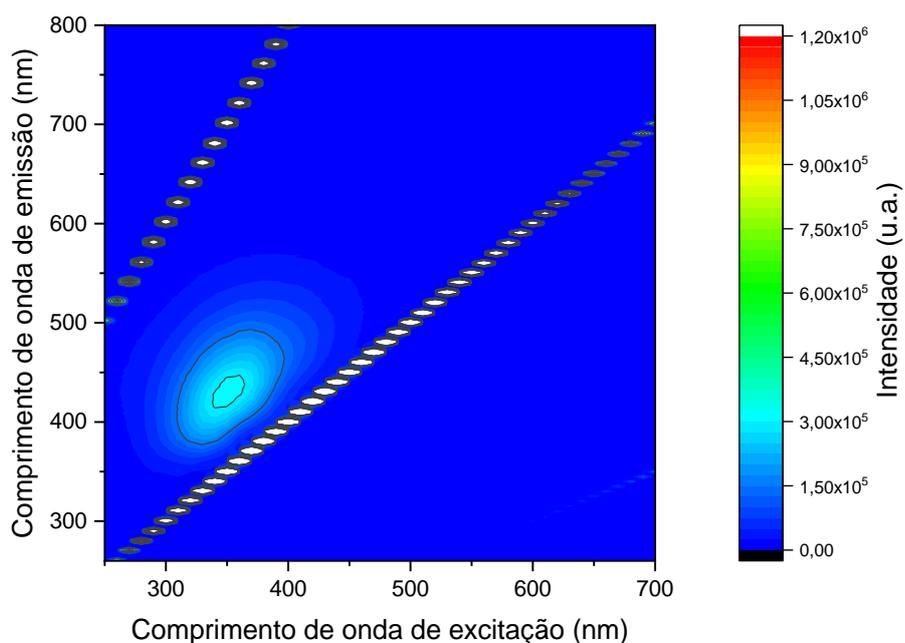


Figura 18. Espectro 3-D de fluorescência da quitosana $2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, em tampão $0,3 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ de ácido acético e $0,2 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ de acetato de sódio a $25 \text{ }^\circ\text{C}$.

Na Figura 19 observamos o espectro 3-D de fluorescência do APD que é excitado entre 325 e 350 nm e emite entre 390 e 450 nm. A intensidade máxima de emissão ocorreu a 420 nm, quando excitado a 340 nm. Esse comportamento está de acordo com a presença de compostos fenólicos. Os compostos fenólicos e seus derivados mostram fluorescência característica nesta região do espectro eletromagnético. (TCHAIKOVSKAYA *et al.*, 2000)

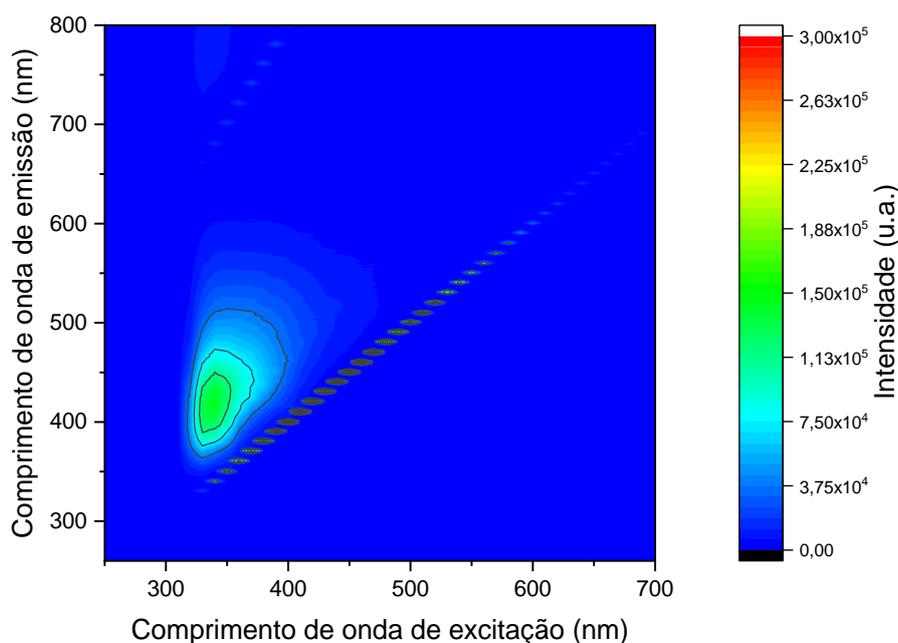


Figura 19. Espectro 3-D de fluorescência do ácido pirolenhoso destilado de *Eucalyptus grandis*, com λ de excitação variando de 250 a 700 nm e λ de emissão variando de 260 a 800 nm a 25 °C.

A Figura 20 apresenta comparativamente os espectros 2D de emissão, no comprimento de onda de excitação de 340 nm, do APD (puro) e da quitosana e dos polímeros Q/APD (nos diferentes períodos de armazenamento) solubilizados em tampão foto inativo ácido acético/acetato de sódio.

As intensidades máximas de emissão mudam para comprimentos de onda mais longos com o aumento do tempo de armazenamento, indicando uma interação entre os componentes do APD e a quitosana. (MI, 2005) Esse deslocamento para regiões de valores mais altos está de acordo com as transições $\pi-\pi^*$ e $n-\pi^*$ que ocorrem em compostos fenólicos e com sua possível reação com os grupos NH_2 e OH de quitosana. A intensidade dos picos de emissão de fluorescência aumenta com o aumento do tempo de armazenamento, o que é consistente com a incorporação sucessiva de fenóis nas cadeias poliméricas. Esta observação está de acordo com o aumento da quantidade de compostos fenólicos ligados à quitosana, observado no material obtido a partir dos sistemas Q/APD após precipitação (Tabela 4).

O material precipitado do sistema Q/APD no trigésimo mês de armazenamento mostra uma redução na intensidade de emissão, o que pode ser explicado pelo aumento da complexidade do meio coloidal. A incorporação sucessiva de compostos fenólicos aumenta a conjugação, deslocando a absorção de radiação para comprimentos de onda mais altos, assim, a excitação máxima também muda. Sendo que a diminuição da intensidade de fluorescência no 30º mês pode ser devida à reabsorção da radiação emitida pelo polímero, no sistema ou, também ao espalhamento da luz incidente pelo sistema coloidal.

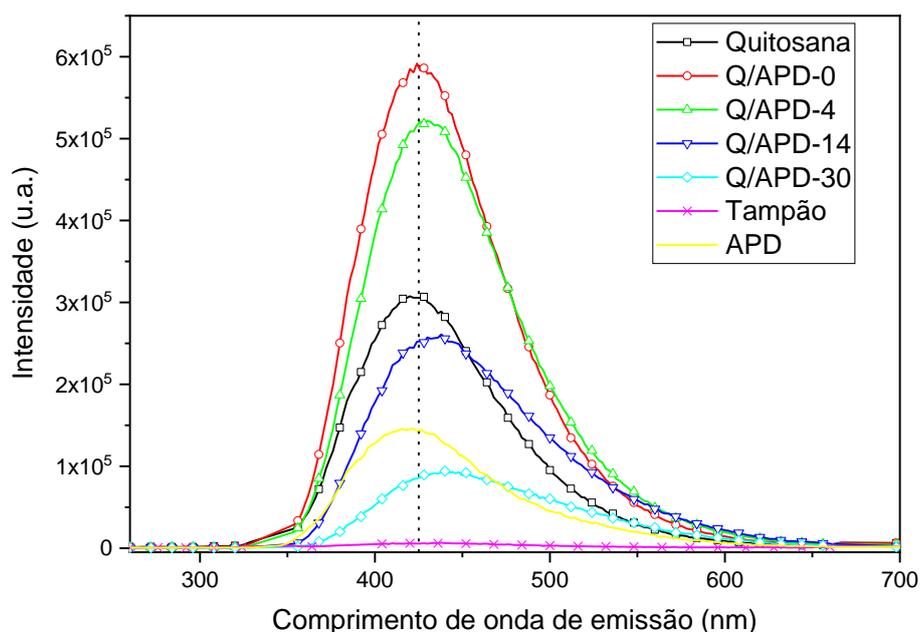


Figura 20. Espectros de emissão obtidos na temperatura de 25 °C com comprimento de onda de excitação de 340 nm: do APD, do tampão, da quitosana e dos sistemas Q/APD que foram precipitados após diferentes tempos de armazenamento e redissolvidos em tampão 0,3 mol·L⁻¹ de ácido acético e 0,2 mol·L⁻¹ de acetato de sódio na concentração de 2 g·L⁻¹ (Q/APD-0, Q/APD-4, Q/APD-14 e Q/APD-30).

5.2.3 Influência do tempo de armazenamento dos sistemas Q/APD nas propriedades fotoprotetoras e mecânicas dos filmes

Para avaliar a influência do tempo de armazenamento dos sistemas nas propriedades fotoprotetoras e mecânicas dos filmes obtidos, o sistema Q/APD, na concentração de 30 g·L⁻¹, foi submetido a envelhecimento acelerado à

temperatura de 60 °C, por até 41 dias. Ao longo deste tempo, o comportamento reológico do sistema foi avaliado visando obter a condição equivalente ao tempo de armazenagem de 14 meses à temperatura ambiente, ou seja, tempo para o qual foi observada o mesmo comportamento reológico dos sistemas na etapa anterior. Os valores de viscosidade são apresentados na Tabela 5 e foram calculados de acordo com a equação de Newton: (AMARAL *et al.*, 2018)

$$\sigma = \mu \cdot \gamma \quad (4)$$

onde σ é a tensão de cisalhamento, γ é a taxa de cisalhamento e μ é a viscosidade.

Tabela 5. Evolução da viscosidade (medida a 25 °C) do sistema Q/APD 30 g·L⁻¹ em diferentes tempos de envelhecimento acelerado a 60 °C.

Tempo de envelhecimento (dias)	μ (mPa·s)	R ²
0	18,92 ± 0,10	1,00
1	17,34 ± 0,08	1,00
4	15,43 ± 0,07	1,00
8	14,20 ± 0,05	1,00
14	13,14 ± 0,04	1,00
20	11,77 ± 0,05	1,00
34	9,39 ± 0,05	1,00
41	8,30 ± 0,09	1,00

Os valores de viscosidade diminuem à medida que aumenta o tempo de envelhecimento do sistema. O valor de viscosidade observado após 41 dias a 60 °C (envelhecimento acelerado) foi comparado estatisticamente com o auxílio do programa Sisvar, ao valor obtido para o tempo de armazenamento de 14 meses (420 dias) a temperatura ambiente (Tabela 6).

Tabela 6. Comparação da viscosidade inicial e final do sistema Q/APD 30 g·L⁻¹ nos dois experimentos de envelhecimento, armazenagem à temperatura ambiente (Exp1) e armazenagem em envelhecimento acelerado a 60 °C (Exp2).

Tempo	μ (mPa·s)
Exp1 – tempo zero	18,92 ± 0,10 a*
Exp1 – 420 dias	8,30 ± 0,09 b
Exp2 - tempo zero	18,70 ± 1,60 a
Exp2 – 41 dias	7,56 ± 1,43 b

* Valores seguidos de letras iguais não diferem entre si a nível de significância de 0,05 pelo teste de Tukey.

Na Figura 21 observamos o comportamento reológico do sistema após o envelhecimento acelerado por 41 dias. Pode-se notar que o comportamento é semelhante ao do sistema envelhecido à temperatura ambiente, já discutido na sessão anterior, fluido newtoniano independente do tempo.

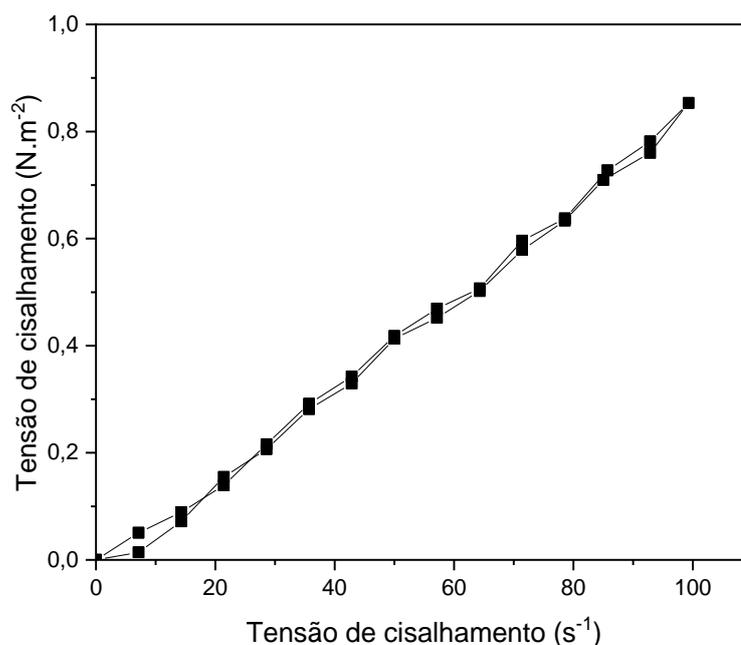


Figura 21. Tensão versus taxa de cisalhamento para o sistema quitosana/APD, com concentração de 30 g·L⁻¹, após 41 dias de armazenamento a 60 °C.

A degradação do sistema Q/APD a 60 °C foi em torno de 10 vezes maior que à temperatura ambiente, pois a viscosidade que antes se obtinha em 420 dias de armazenamento (14 meses), no envelhecimento acelerado, foi obtida em apenas 41 dias. O envelhecimento acelerado permite obtermos em menor tempo informações sobre o sistema, sendo utilizado neste caso para determinar se o envelhecimento dos sistemas coloidais influencia em características importantes para aplicação do filme obtido a partir dele na agricultura, como suas propriedades fotoprotetoras e mecânicas. A Figura 22 ilustra a aplicação do sistema Q/APD em plantas. Nesta figura, obtida por microscopia eletrônica de varredura, observamos a formação do filme sobre folhas de soja, a partir da aplicação do sistema Q/APD conforme orientações de uso descritas por Pereira e colaboradores (2022).

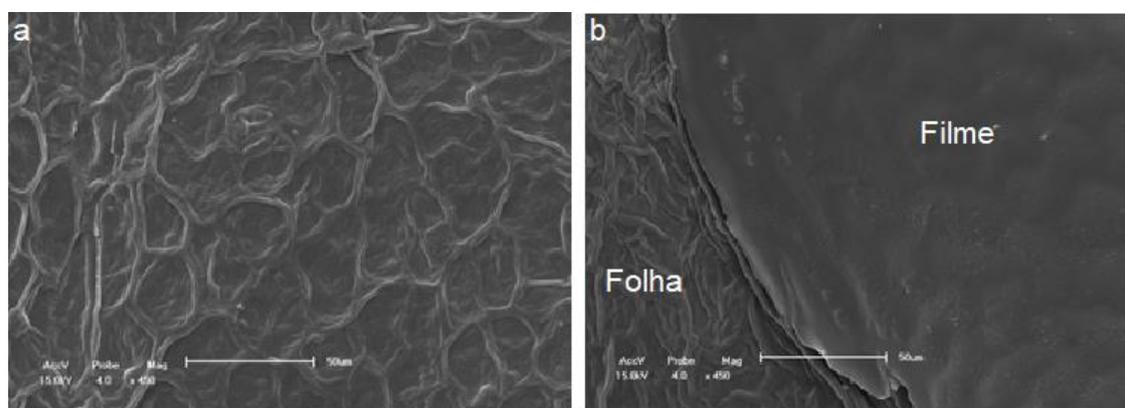


Figura 22 – Microscopia eletrônica de varredura de folha de soja a) sem filme e b) com filme, após aplicação de Q/APD; ampliação de 450 vezes.

Os perfis de absorção da radiação UV/Vis dos filmes obtidos por *casting* a partir do sistema sem envelhecimento e a partir do sistema após o seu envelhecimento acelerado são apresentados na Figura 23. O comportamento de absorção é semelhante ao observado para os precipitados obtidos a partir do sistema Q/APD no experimento de armazenamento à temperatura ambiente. O filme obtido a partir do sistema envelhecido aumentou a absorção na região de 200 a 320 nm, quando comparado ao filme obtido a partir do sistema Q/APD antes do envelhecimento. Portanto, o aumento do teor de fenóis na matriz polimérica, observado anteriormente para os sistemas envelhecidos, melhora a propriedade de fotoproteção na região do ultravioleta dos filmes obtidos. (WU *et al.*, 2016)

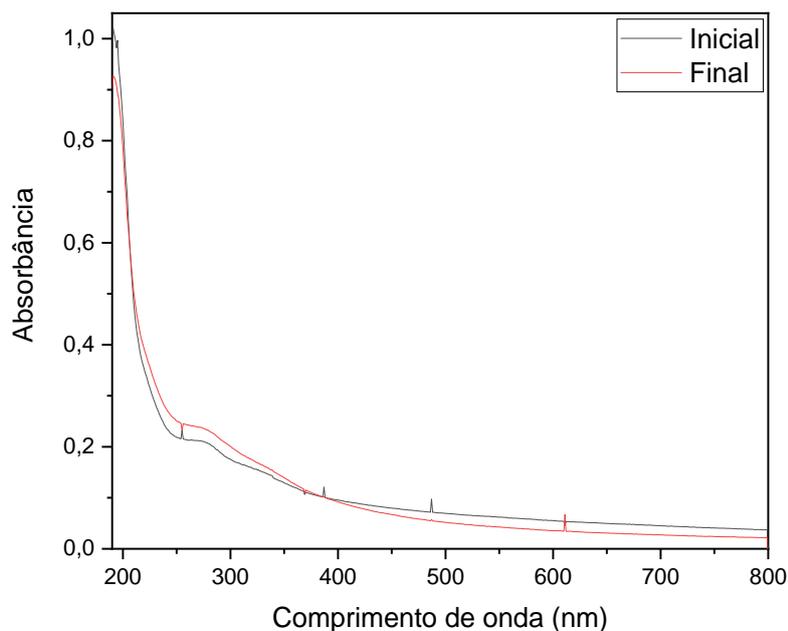


Figura 23. Absorbância na região do UV-Vis do filme obtido a partir do sistema Q/APD no início e no final do período de envelhecimento acelerado a 60 °C.

A topografia da superfície dos filmes obtidos a partir dos sistemas Q/APD foi avaliada por AFM. O filme do sistema sem envelhecimento (tempo 0 dias) se mostrou mais irregular que do filme obtido a partir do sistema após o envelhecimento acelerado (41 dias) como observado na Figura 24.

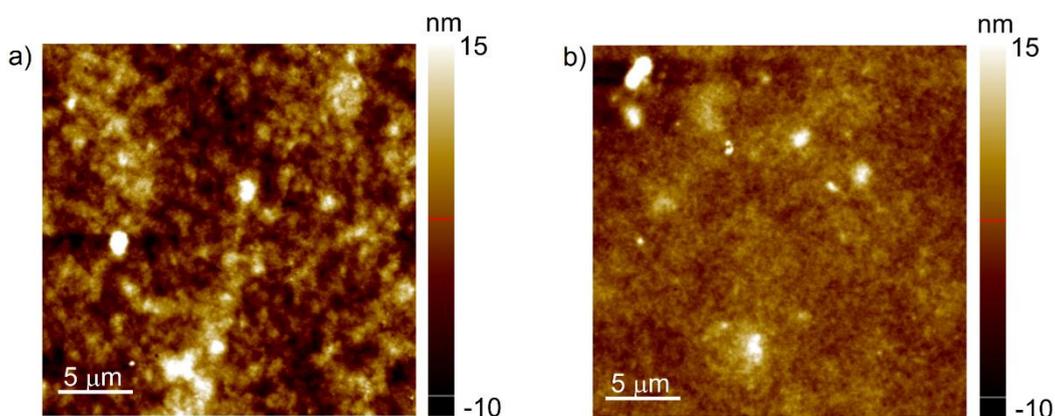
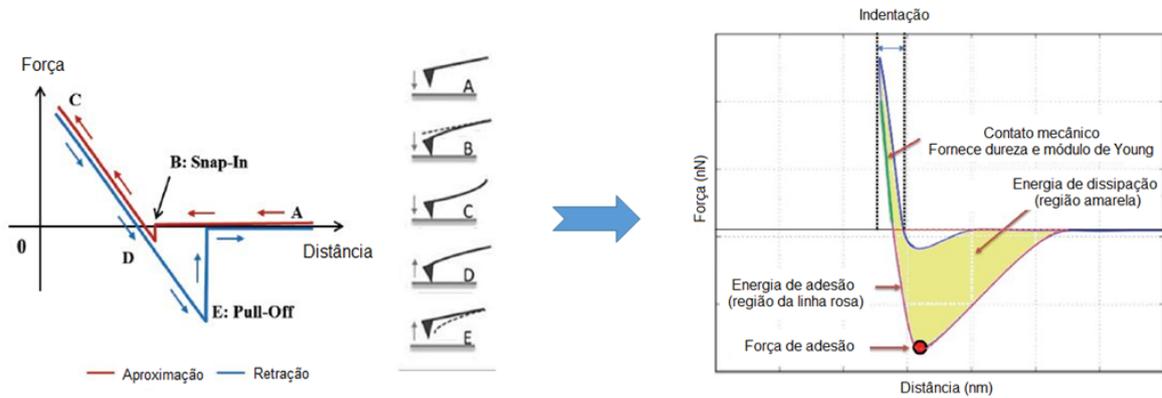


Figura 24. Imagem de AFM a) tempo zero e b) tempo final (41 dias de envelhecimento acelerado).

A técnica de microscopia de força atômica (AFM) é muitas vezes subestimada, sendo utilizada apenas para a obtenção de dados topográficos do material. Através desta técnica é possível também obter outras informações, como propriedades nanomecânicas, com o uso de imagens de contraste de fase e curvas força-distância, por exemplo. (BURGO *et al.*, 2022) A espectroscopia de distância de força (FD) é uma técnica direta e confiável para estudar quantitativamente as propriedades nanomecânicas. O cantilever é usado como um sensor de força e as propriedades nanomecânicas da amostra são medidas monitorando a interação ponta-amostra por meio da deflexão vertical do cantilever em um único ponto de contato. As curvas de aproximação e retração versus o movimento do scanner podem ser convertidas em curvas FD que contêm informações sobre deformação, módulo de Young e força de adesão em um determinado local. A Figura 26 ilustra uma medição de espectroscopia FD com as diferentes regiões de interação. Na região *A*, a ponta do cantilever está longe da superfície, resultando em nenhuma interação ponta-amostra mensurável. A região *B* marca o contato instantâneo causado. O encaixe da ponta na superfície da amostra (*snap-in*), ocorre quando o gradiente de força atrativa excede a constante de mola do cantilever. À medida que o scanner *Z* se estende ainda mais em direção à superfície da amostra, a força repulsiva dominante continua a aumentar até que o ponto de ajuste de força pré-determinado na região *C* seja alcançado, no qual o scanner retrai a ponta da superfície da amostra. Abaixo de um certo limite de força na região *D*, o cantilever se dobra em direção à superfície da amostra devido às forças adesivas. Na região *E*, quando o cantilever se desprende da superfície, à medida que o scanner se retrai, a constante de mola do cantilever supera a força de adesão da ponta com a amostra (*pull-off*). A deflexão do cantilever é medida com um fotodetector sensível à posição (BURGO *et al.*, 2022; KAMAN *et al.*, 2015).

O módulo de Young pode ser obtido considerando a geometria do contato ponta-amostra aplicando um dos modelos de mecânica de contato (por exemplo, modelos de Hertz, DMT ou JKR), dependendo da geometria da ponta (KAMAN, 2015). A força de adesão pode ser medida como a força negativa máxima na curva de retração e a energia de adesão é a área entre a curva de retração e a distância (área delimitada pela linha rosa na Figura 25). Por fim, a energia de

dissipação, que representa a perda de energia causada por um processo irreversível, é determinada pela histerese entre aproximação e retração (área sombreada em amarelo na Figura 25).



Fonte: Adaptado de Burgo e colaboradores (2022) e Kaman (2015).

Figura 25. Exemplo de curvas de aproximação e retração, em vermelho e azul, respectivamente. À direita são exibidas as diferentes regiões de interação entre a ponta e a amostra, com a respectiva deflexão do cantilever, rotuladas com as letras de A a E. Ao lado as propriedades mecânicas derivadas da curva força X distância.

Os valores de módulo de Young, energia de adesão, força de adesão e energia de dissipação, obtidos a partir da avaliação nanomecânica dos filmes preparados com o sistema Q/APD, antes e após seu envelhecimento, são apresentados na Tabela 7.

Tabela 7. Propriedades mecânicas dos filmes obtidos a partir do sistema Q/APD 30 g·L⁻¹ sem armazenamento (tempo 0 dias) e no final do período de envelhecimento acelerado (tempo 41 dias).

Tempo	Módulo de Young (GPa)	Energia de adesão (fJ)	Força de adesão (μN)	Energia de dissipação (fJ)
0 dias	2,50 ± 0,18 a*	13,93 ± 3,27 a	0,29 ± 0,02 a	80,98 ± 6,89 a
41 dias	3,06 ± 0,42 a	1,62 ± 0,04 b	0,20 ± 0,01 b	50,52 ± 0,78 b

* Valores seguidos de letras iguais não diferem entre si a nível de significância de 0,05 pelo teste de Tukey. O teste estatístico se refere a análise dentro da coluna, para a mesma variável.

O módulo de Young não se alterou significativamente com o envelhecimento do sistema. Os demais parâmetros analisados demonstraram uma diminuição significativa, demonstrando que o envelhecimento acelerado por 41 dias do sistema precursor do filme influenciou nas suas propriedades mecânicas. A energia e força de adesão diminuíram, porém, deve-se observar que estas se referem à atração do filme pela ponteira de silício do cantilever. Quanto a energia de dissipação, em princípio, o resultado observado, diminuição com o aumento do tempo de envelhecimento, conflita com os valores obtidos por medidas reológicas, que mostravam uma diminuição da viscosidade com o aumento do tempo de armazenamento, o que sugeria quebra de cadeias. A redução de massa molar, implica em maior mobilidade do sistema, conseqüentemente, espera-se um aumento no módulo de dissipação. (KAMAN, 2015) Todavia, o teor de fenóis ligado a quitosana aumenta com o tempo de armazenamento e a presença de fenóis interagindo com as cadeias de quitosana no sistema, uma vez removido o solvente, pode contribuir para que o filme se torne mais rígido.

5.3 Estudo da interação entre quitosana e mucilagem de ora-pro-nóbis em sistema solvente modelo

Primeiramente será discutida a interação entre a quitosana e mucilagem em um solvente modelo, composto de ácido acético 2% (v/v) e hidroquinona

0,1% (m/v). A escolha desse sistema modelo se deve a complexidade apresentada pelo APD e está baseada na sua composição. Serão apresentados nesta seção os resultados do estudo dos sistemas aquosos, e também na forma de filmes, compostos por quitosana e mucilagem de ora-pro-nóbis em solvente modelo.

5.3.1 Estudo do sistema Q/MOPN no solvente modelo

As interações do meio coloidal foram avaliadas através das análises de RMN de hidrogênio e carbono. Os espectros da hidroquinona (HQ) apresentaram picos característicos da estrutura deste fenol. No espectro de ^1H RMN (Figura 26a), em 6,59 ppm, observamos o pico referente aos hidrogênios ligados aos carbonos nas posições 2, 3, 5 e 6 do anel benzênico; o pico referente ao H da hidroxila fica encoberto pelo pico em 4,7 ppm correspondente ao deslocamento químico do hidrogênio da água. Na Figura 26b, temos o espectro de ^{13}C RMN deste fenol: 148,79 ppm observamos o deslocamento referente aos carbonos 1 e 4 do anel benzênico, ligados ao grupo OH; em 116,20 ppm, o deslocamento referente aos outros carbonos do anel, nas posições 2, 3, 5 e 6. Os deslocamentos observados em 19,42 ppm e 176,57 ppm são referentes, respectivamente, ao carbono do grupo CH_3 e ao carbono da carboxila do ácido acético deuterado utilizado na solubilização dos sistemas. (SILVERSTEIN & WEBSTER, 2000)

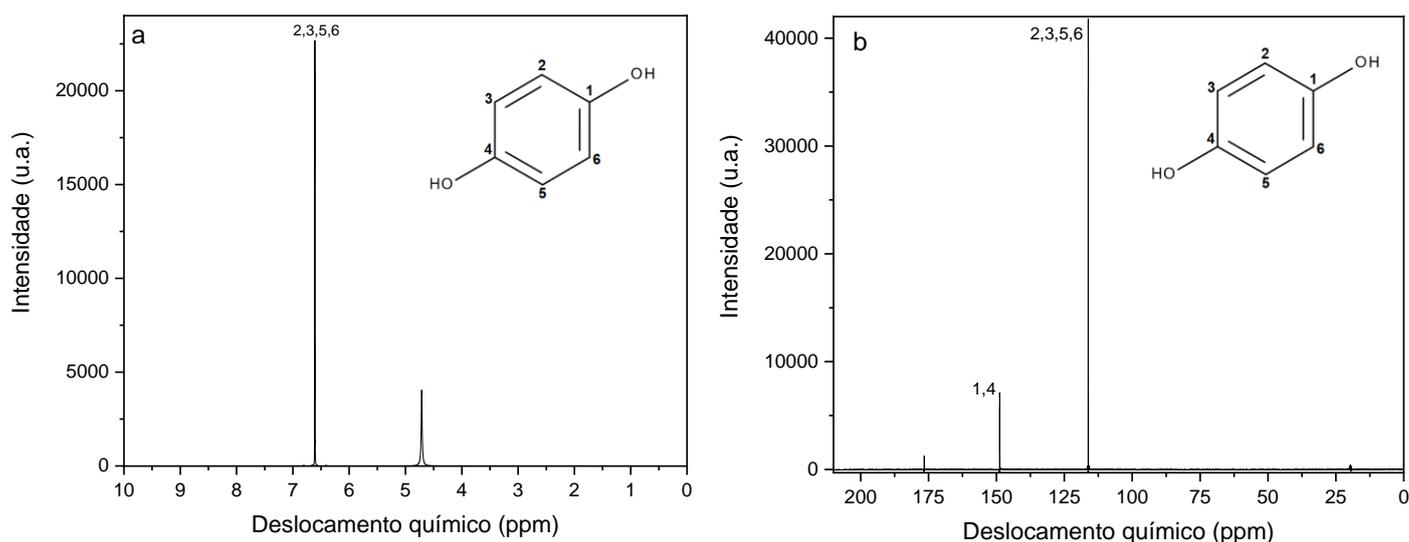


Figura 26. Espectro de a) RMN de ¹H e b) de ¹³C da hidroquinona.

O espectro de ¹H RMN da quitosana foi discutido na seção 5.1.1 e o da mucilagem purificada (MOPN) na seção 5.1.3.3. Os polímeros foram analisados primeiramente em separado com a hidroquinona: solução com quitosana e hidroquinona e solução com mucilagem e hidroquinona, em ácido acético deuterado 2% (v/v). Foi observada modificação na posição do pico correspondente ao deslocamento dos hidrogênios ligados ao anel benzênico da hidroquinona, os valores dos deslocamentos são apresentados na Tabela 8. A hidroquinona interage tanto com a quitosana quanto com a mucilagem o que faz com que os hidrogênios ligados aos carbonos do anel benzênico, nas posições 2, 3, 5 e 6, fiquem mais desblindados, com menor densidade eletrônica, levando a um valor mais alto para o deslocamento químico. (SILVERSTEIN & WEBSTER, 2000)

Tabela 8. Deslocamentos químicos observados para os hidrogênios ligados aos carbonos do anel benzênico da hidroquinona sozinha e com os polímeros constituintes do sistema em estudo.

Sistema	Deslocamento químico (ppm)
Hidroquinona pura (HQ)	6,59
MOPN e HQ	6,70
Quitosana e HQ	6,70

O espectro de ^1H RMN para o sistema contendo os dois polímeros, no meio solvente modelo com a hidroquinona, Q/MOPN/AA/HQ, é apresentado na Figura 27 comparado aos materiais precursores puros. Os espectros dos polissacarídeos, quitosana e mucilagem, são similares apresentando várias bandas em comum, características de ligações glicosídicas, na região de 2 a 4 ppm, já discutidas anteriormente, que também são observadas no sistema Q/MOPN/AA/HQ, como estes picos ocorrem em regiões muito próximas dificulta a visualização de pequenas alterações nos deslocamentos químicos. Entretanto pode-se observar claramente que o sistema passa a exibir o pico característico dos hidrogênios ligados ao anel aromático da hidroquinona, porém em 6,70 ppm, deslocado em relação ao pico observado para a hidroquinona pura, indicando interação entre as espécies constituintes do sistema.

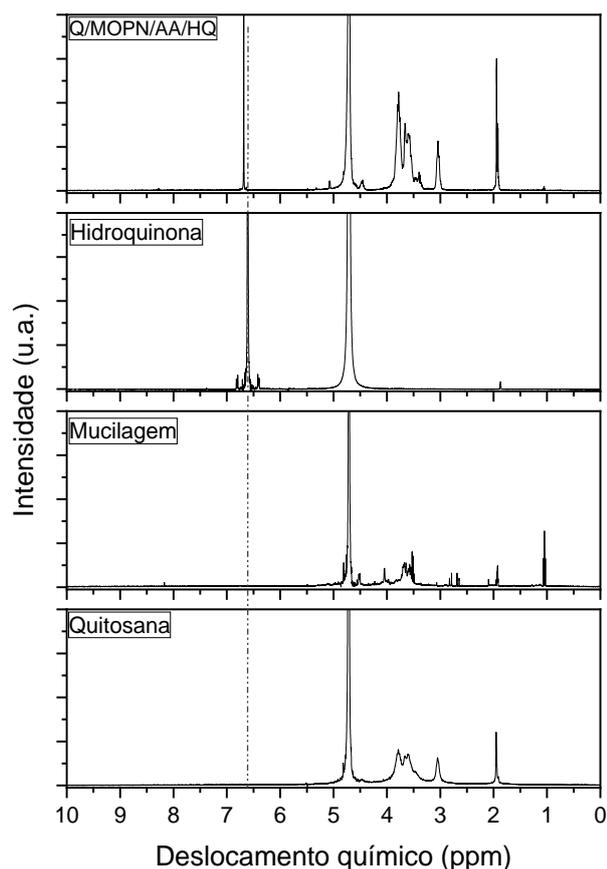


Figura 27. Espectro de ¹H RMN comparando os materiais puros, quitosana (Sigma), MOPN e hidroquinona, com o sistema Q/MOPN/AA/HQ, com concentração de 1% (m/v) de quitosana e 0,05% (m/v) de MOPN.

Da mesma forma que para a ressonância magnética de hidrogênio, foi avaliada a interação entre a hidroquinona e os polímeros, MOPN e quitosana, separadamente através do espectro de ¹³C RMN. Os dados obtidos para os deslocamentos dos carbonos ligados ao oxigênio da hidroxila (C1 e C4) e para os carbonos do anel benzênico (C2, C3, C5 e C6) são apresentados na Tabela 9. Aqui também é possível observar a desblindagem dos átomos de carbono da estrutura da hidroquinona devido a sua interação com as cadeias poliméricas.

Tabela 9. Deslocamentos químicos observados para os carbonos da hidroquinona sozinha e com os polímeros constituintes do sistema em estudo.

Sistema	Deslocamento químico (ppm) de C1 e C4	Deslocamento químico (ppm) de C2, C3, C5 e C6
Hidroquinona pura (HQ)	148,79	116,20
MOPN e HQ	148,88	116,29
Quitosana e HQ	148,88	116,29

Os espectros de ^{13}C RMN da hidroquinona e da mucilagem já foram discutidos. No espectro de ^{13}C RMN da quitosana (Figura 28) observamos os picos típicos das ligações glicosídicas na região de 50 a 100 ppm. Os picos referentes ao ácido acético deuterado, utilizado como solvente, ficam sobrepostos aos picos do carbono do grupo CH_3 da acetamida, em 20,3 ppm, e ao pico referente ao deslocamento da carbonila do grupo acetila da quitosana em 177,9 ppm. Da mesma forma podemos observar na Figura 28 que o espectro de RMN de ^{13}C para o sistema Q/MOPN/AA/HQ exibe todos os picos característicos dos materiais precursores com as mesmas alterações já discutidas para o RMN de hidrogênio. Os picos referentes aos deslocamentos químicos dos carbonos da hidroquinona sofrem pequeno deslocamento para valores maiores de deslocamento químico indicando desblindagem desses carbonos no sistema Q/MOPN/AA/HQ.

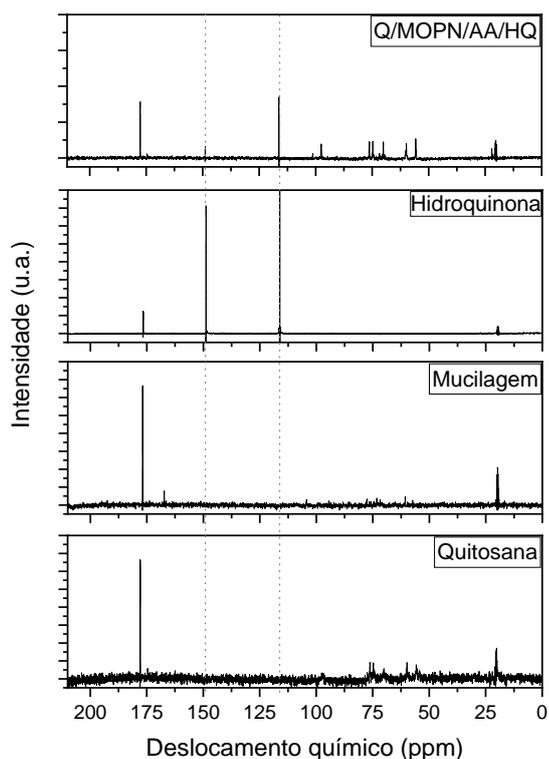


Figura 28. Espectro de ¹³C RMN comparando os materiais puros, quitosana (Sigma), MOPN e hidroquinona, com o sistema Q/MOPN/AA/HQ, com concentração de 1% (m/v) de quitosana e 0,05% (m/v) de MOPN.

5.3.2 Características dos filmes obtidos a partir do sistema Q/MOPN em solvente modelo

Na Figura 29 são apresentados os espectros de FTIR dos materiais precursores e do filme Q/MOPN/AA/HQ para comparação. O espectro de FTIR da MOPN foi discutido na seção 5.1.3.3. A quitosana apresenta as bandas características relatadas para este polímero: na região de 3300-3500 cm⁻¹ a banda de absorção característica dos grupos amino está sobreposta a banda de absorção larga do grupo OH; em 2915 e 2884 cm⁻¹ é observada a deformação axial simétrica e assimétrica de CH alifático. Em 1658 cm⁻¹ aparece a banda de deformação angular da ligação NH e em 1426 cm⁻¹ e 1379 cm⁻¹, a banda de deformação angular do grupo NC; as deformações das ligações CO são observadas na região de 1100 cm⁻¹ (PORTO *et al.*, 2019). A hidroquinona

apresenta a banda larga da deformação da ligação OH na região de 3250 cm^{-1} e em 2718 , 2588 e 2451 cm^{-1} as bandas das deformações axiais dos grupos CH_2 e a região de impressão digital da hidroquinona é observada na região de 1000 a 500 cm^{-1} .

Comparando o espectro de FTIR do filme Q/MOPN/AA/HQ com os espectros da quitosana, mucilagem e hidroquinona puras (Figura 30), observamos a interação entre os componentes do sistema pelo alargamento da banda em 3396 cm^{-1} (região de deformação axial da ligação OH) e diminuição de intensidade das bandas na região de 1800 a 1000 cm^{-1} , em relação aos constituintes em isolado. Kadam e colaboradores (2018) também observaram deslocamento na banda de deformação axial da ligação OH em filmes obtidos de quitosana com ácido tânico, um fenol, devido a formação de ligações de H promovendo interações inter e intra moleculares.

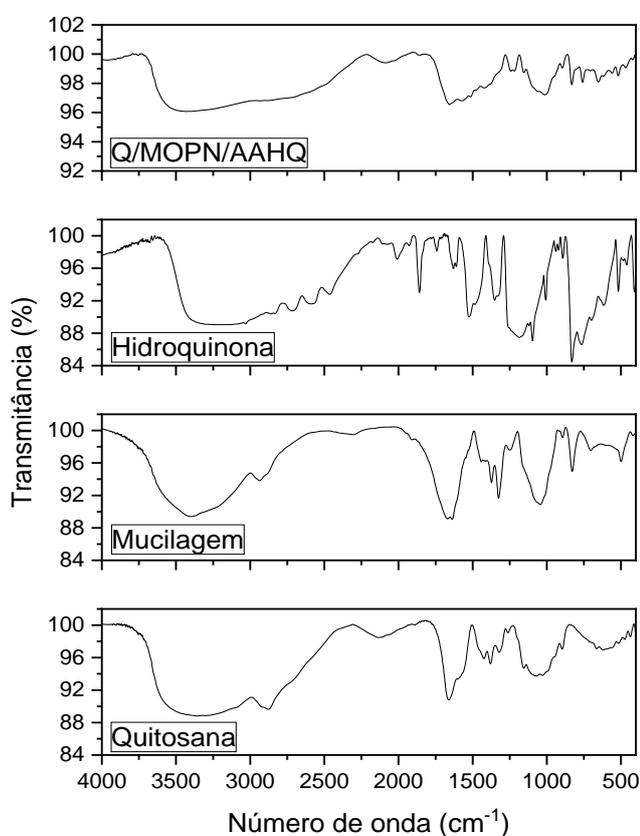


Figura 29. Espectro de FTIR do filme obtido a partir do sistema Q/MOPN/AAHQ, com concentração de 1% (m/v) de quitosana e 0,05% (m/v) de

MOPN e dos materiais precursores em pó, hidroquinona, mucilagem e quitosana.

A Figura 30 compara os espectros de FTIR dos filmes obtidos em solvente modelo a partir dos sistemas com concentração de MOPN de 0,05% (m/v), variando a concentração de quitosana de 1,0; 0,5; 0,3 e 0,1 % (m/v). Pode-se observar no sistema com menor concentração de quitosana, 0,1% (m/v), Figura 30d, as bandas correspondentes as deformações dos grupos CH₂ da hidroquinona na região entre 2780 e 2450 cm⁻¹, essas bandas deixam de ser visíveis quanto maior a concentração de quitosana no sistema indicando melhor interação entre os seus constituintes para concentrações mais altas deste polímero.

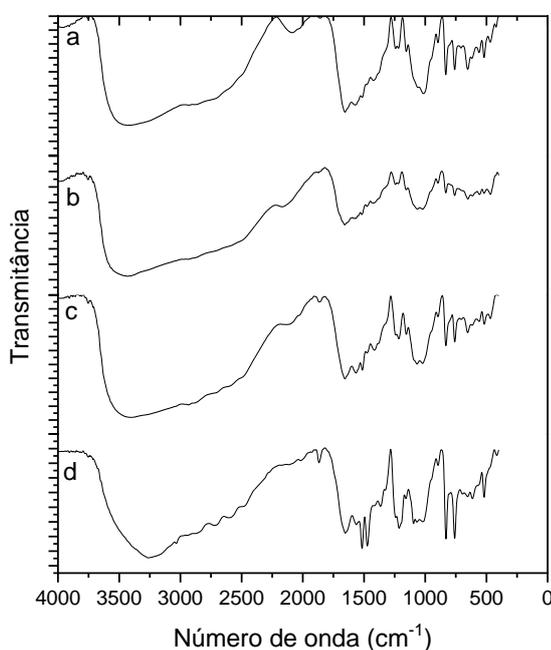


Figura 30. Espectros de FTIR dos filmes obtidos a partir dos sistemas com 0,05% de MOPN e concentrações de quitosana de a) 1% (m/v); b) 0,5% (m/v); c) 0,3% (m/v); d) 0,1% (m/v).

A morfologia dos filmes (Figura 31) corrobora com as observações do FTIR pois no filme obtido a partir do sistema com 0,1% (m/v) de quitosana foi observada separação de fases. Os filmes obtidos a partir dos sistemas com

concentração de quitosana de 1,0; 0,5 e 0,3% (m/v) apresentaram superfície homogênea.

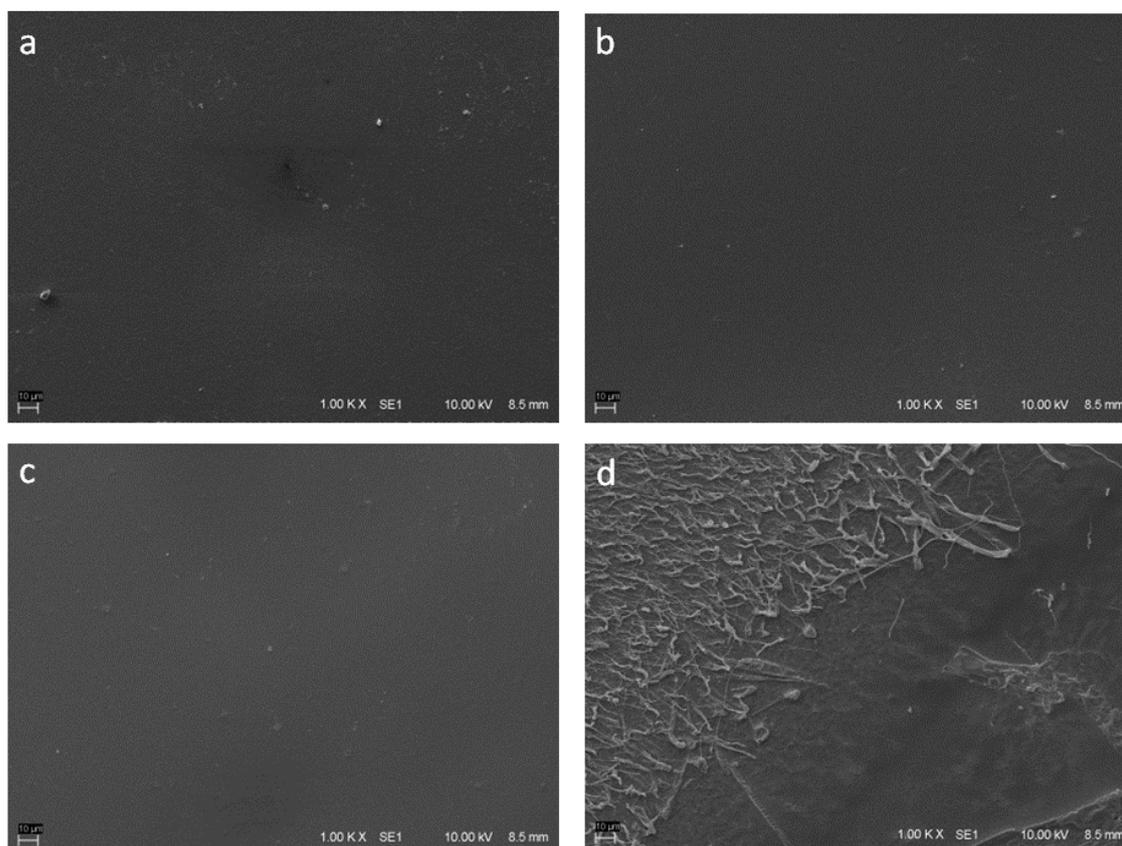


Figura 31. Imagens de MEV dos filmes obtidos a partir dos sistemas com 0,05% de MOPN e concentrações de quitosana de a) 1% (m/v); b) 0,5% (m/v); c) 0,3% (m/v); d) 0,1% (m/v), com ampliação de 1000 vezes.

5.4 Comportamento físico-químico dos sistemas compostos por Q/MOPN em ácido pirolenhoso destilado e em sistema solvente modelo (AA/HQ)

Neste capítulo serão apresentadas as propriedades físico-químicas dos sistemas compostos por quitosana/mucilagem em APD, em meio coloidal, e dos filmes obtidos a partir desses sistemas. Com base no estudo anterior, optou-se por fixar a concentração de quitosana em 1% (m/v) para os estudos em APD. A concentração de mucilagem utilizada foi de 0,05% e 0,5% (m/v). Para

comparação, foram produzidos sistemas nas mesmas concentrações em solvente modelo (AA/HQ).

5.4.1 Comportamento dos sistemas coloidais

5.4.1.1 Análises reológicas

A análise do comportamento reológico após a adição de mucilagem foi avaliada nos sistemas com concentração de quitosana de 1% (m/v) que foram nomeados de acordo com as concentrações de MONP: Q/MOPN/APD-1, correspondendo a 0,05% (m/v) de MOPN, e Q/MOPN/APD-2, com 0,5% (m/v) de MOPN. Para comparação foi realizada a avaliação de sistemas com mesmas concentrações dos polímeros em solvente modelo (AA/HQ), denominados Q/MOPN/AA/HQ-1 e Q/MOPN/AA/HQ-2. Foram avaliadas também as soluções de MOPN a 0,5% (m/v), bem como a de quitosana a 1% (m/v) nos dois solventes, Q/APD e Q/AAHQ.

Os dados obtidos foram tratados com a equação de Herschell (equação 3), apresentada na seção 5.2.1, sendo observado taxa de cisalhamento inicial próxima de zero e valores de n próximos de 1, indicando comportamento newtoniano. Os dados foram então tratados com a equação de Newton (equação 4), apresentada na seção 5.2.3. Os melhores ajustes foram obtidos com a equação de Newton e os valores de viscosidade (μ) são apresentados na Tabela 10. Podemos observar que a viscosidade da quitosana no APD é maior que no sistema solvente modelo. A adição de MOPN, independente da concentração ou do solvente utilizado, reduziu drasticamente a viscosidade dos sistemas para valores iguais estatisticamente ao da mucilagem pura, não havendo diferença entre os sistemas solventes utilizados.

Tabela 10. Propriedades reológicas da mucilagem e da quitosana e dos sistemas Q/MOPN, em APD e em solvente modelo (AAHQ), a 25 °C.

Amostra	μ (mPa.s)	R ²
Q/AA/HQ	43,59 ± 0,23 b*	1,00
Q/APD	48,77 ± 0,80 a	1,00
MOPN	1,87 ± 0,04 c	0,99
Q/MOPN/AA/HQ-1	2,08 ± 0,04 c	1,00
Q/MOPN/AA/HQ-2	1,63 ± 0,04 c	0,99
Q/MOPN/APD-1	2,33 ± 0,06 c	0,99
Q/MOPN/APD-2	1,47 ± 0,03 c	0,99

* Resultados seguidos de letras iguais não diferem entre si a nível de significância de 0,05 pelo teste de Tukey.

Apesar da redução na viscosidade dos sistemas, as curvas de tensão versus taxa de cisalhamento (Figura 32) de carga e descarga coincidem, indicando um comportamento independente do tempo para todos os sistemas avaliados. A linearidade das curvas indica que o comportamento newtoniano dos sistemas de quitosana em APD é mantido após adição da mucilagem. O mesmo comportamento é observado no sistema solvente modelo.

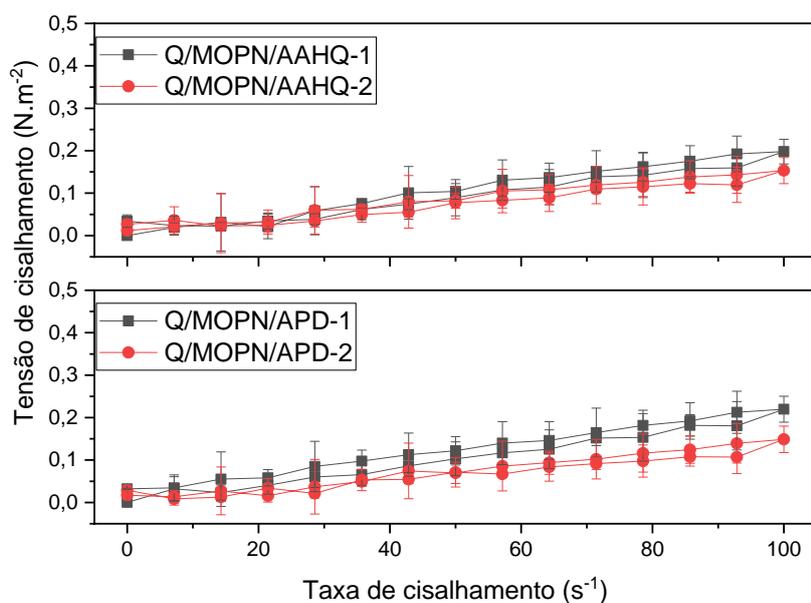


Figura 32. Tensão versus taxa de cisalhamento para os sistemas Q/MOPN/AAHQ-1 e 2 e Q/MOPN/APD-1 e 2, a 25 °C.

5.4.1.2 Interação dos sistemas coloidais com folhas de soja

O método utilizado para medidas de ângulo de contato foi o da gota séssil. Neste método, uma gota do líquido é depositada sobre a superfície sólida e uma fotografia da interface é tomada. Após o tratamento da imagem o valor do ângulo de contato é obtido. O ângulo de contato é definido como o ângulo entre a tangente da interface líquido-ar e a tangente entre a interface sólido-ar e depende da energia superficial da amostra e da tensão superficial do líquido. Através da avaliação do ângulo de contato é possível caracterizar a molhabilidade de uma superfície sólida, ou interação entre um líquido e um sólido. Quanto menor for o ângulo formado entre o líquido e o sólido maior é a interação entre as fases, ou seja, maior é a molhabilidade, portanto ângulos de contato próximos a 0° indicam que o líquido molha a superfície espontaneamente, quanto maior o ângulo de contato menor a molhabilidade, sendo que quando o ângulo for de 180° não ocorre molhabilidade da superfície. (SINDERSKI, 2020)

A partir da determinação do ângulo de contato, através da equação de Young (equação 5), também chamada de equação de Young-Dupré, pode ser calculado o trabalho de adesão, W_a (LUZ et al, 2008):

$$W_a = \gamma (\cos \theta + 1) \quad (5)$$

Onde γ é a tensão superficial do líquido e θ o ângulo de contato entre o líquido e a superfície.

A tensão superficial de cada sistema em estudo foi determinada através do método da massa da gota, no qual a massa da gota da amostra é determinada e a tensão superficial é calculada comparativamente à massa da gota de água, que tem tensão superficial conhecida. Nas condições do estudo, a 20 °C, a tensão superficial da água é de 72,87 mN·m⁻¹. (BEHRING *et al.*, 2004; NETO *et al.*, 2009) Os dados são apresentados na Tabela 11 juntamente com os valores obtidos para os ângulos de contato, entre a superfície da folha de soja e os sistemas Q/MOPN, em APD e em solvente modelo (AA/HQ). Os sistemas sem adição de mucilagem, Q/AA/HQ e Q/APD, também foram avaliados para observar de forma comparativa a influência da adição da mucilagem. O trabalho

de adesão dos sistemas sobre a folha de soja foi então calculado de acordo com a equação 5 e é apresentado na mesma tabela.

Tabela 11. Ângulo de contato, tensão superficial e trabalho de adesão entre folha de soja e os sistemas Q/MOPN, em APD e solvente modelo, comparados ao sistema sem a adição de mucilagem.

Sistema	Ângulo de contato com a folha de soja (°)	Tensão Superficial (mN·m ⁻¹)	Trabalho de adesão (mN·m)
Q/AA/HQ	136,6 ± 5,2 a	72,2 ± 3,8 b,c	19,71 ± 0,09 f
Q/MOPN/AA/HQ-1	127,5 ± 3,0 b,c	79,7 ± 2,2 a,b	31,17 ± 0,05 d
Q/MOPN/AA/HQ-2	122,1 ± 0,3 b,c	80,5 ± 0,9 a	37,75 ± 0,01 c
Q/APD	113,2 ± 0,7 d	70,3 ± 3,8 c	42,53 ± 0,06 b
Q/MOPN/APD-1	111,7 ± 0,5 d	73,9 ± 1,9 a,b,c	46,56 ± 0,03 a
Q/MOPN/APD-2	129,5 ± 3,7 a,b	75,3 ± 4,0 a,b,c	27,34 ± 0,08 e

* Resultados seguidos de letras iguais não diferem entre si a nível de significância de 0,05 pelo teste de Tukey. A comparação se refere a análise do parâmetro dentro da mesma coluna.

A folha de soja tem baixa energia de superfície e é hidrofóbica. A adição de MOPN agrega minerais aos sistemas levando a um aumento na tensão superficial. No sistema modelo, a adição de mucilagem aumenta significativamente a tensão superficial (sistemas Q/MOPN/AA/HQ) em relação ao sistema sem a mucilagem (Q/AA/HQ); observa-se também a diminuição do ângulo de contato observado em relação à folha de soja, aumentando o trabalho de adesão e a molhabilidade da superfície. Entretanto em APD, a adição de mucilagem não aumenta significativamente a tensão superficial dos sistemas Q/MOPN/APD, comparado ao sistema Q/APD. Para a concentração de 0,05 % (m/v) de mucilagem não há diferença significativa também para o valor do ângulo de contato em relação ao sistema Q/APD; no entanto, para maior concentração de mucilagem, de 0,5 % (m/v), o ângulo de contato com a folha de soja aumenta significativamente em relação ao sistema sem mucilagem (Q/APD), diminuindo significativamente a molhabilidade e o trabalho de adesão.

Contudo cabe observar que o trabalho de adesão obtido para o sistema Q/MOPN/APD-1 (com 0,05% de MOPN) é significativamente maior que os demais; para este sistema foi observado menor ângulo de contato, indicando que, entre os sistemas estudados, este foi o que apresentou maior molhabilidade em contato com folhas de soja. O APD é um sistema solvente complexo que, ao interagir com as cadeias poliméricas, melhora as interações destas cadeias com a superfície da folha.

5.4.2 Avaliação dos sistemas na forma de filmes

5.4.2.1 Propriedades mecânicas

As imagens de topografia para os filmes obtidos a partir dos sistemas de quitosana com e sem mucilagem podem ser observadas na Figura 33. A adição de MOPN à quitosana modifica a topografia do filme, que passa a ser mais irregular, independente do sistema utilizado para dispersão dos componentes. Dados semelhantes foram obtidos por Lucyszyn e colaboradores (2016) que observaram que a adição de arabinogalactana, obtida de *Pereskia aculeata*, a filmes de celulose bacteriana deixou a topografia dos filmes irregular.

Os parâmetros nanomecânicos, obtidos a partir da técnica de AFM estão apresentados na Tabela 12. O módulo de Young foi calculado a partir da análise de 5 regiões dos filmes e os dados de energia de adesão, força de adesão e energia de dissipação foram obtidos a partir da análise dos mapas apresentados no Anexo 1.

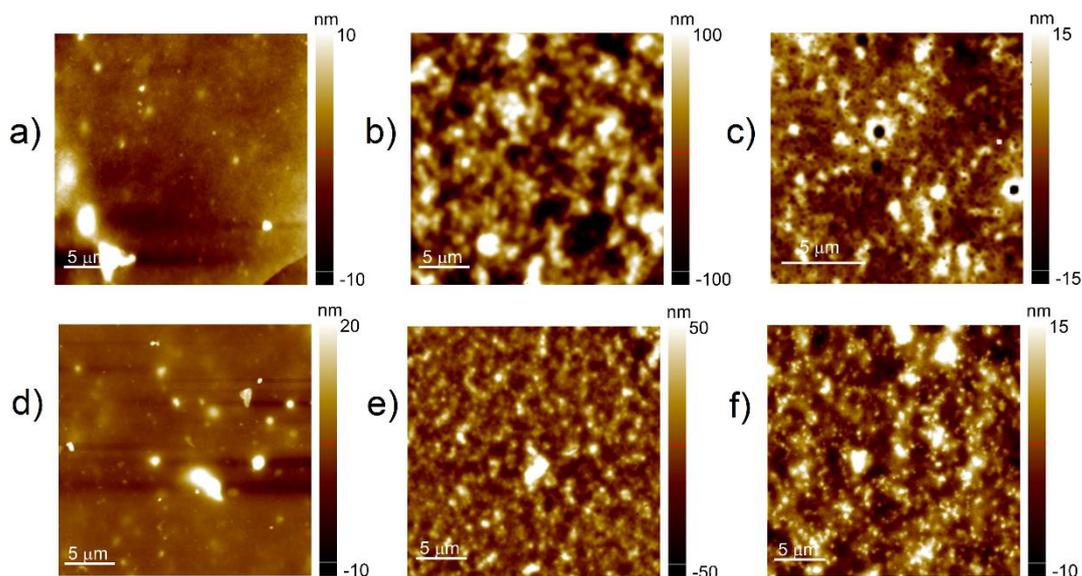


Figura 33. Imagens obtidas por AFM dos filmes produzidos a partir dos sistemas: a) Q/AA/HQ; b) Q/MOPN/AA/HQ-1; c) Q/MOPN/AA/HQ-2; d) Q/APD; e) Q/MOPN/APD-1 e f) Q/MOPN/APD-2.

Tabela 12. Propriedades nanomecânicas dos filmes obtidos a partir do sistema de quitosana sem e com adição de mucilagem (1-0,05% e 2-0,5%), em APD e em solvente modelo.

Amostra	Módulo de Young (GPa)	Energia de adesão (fJ)	Força de adesão (μN)	Energia de dissipação (fJ)
Q/AA/HQ	$3,17 \pm 0,20$ b*	$2,24 \pm 0,57$ a,b	$0,13 \pm 0,01$ b	$48,76 \pm 1,09$ a
Q/MOPN/AA/HQ-1	$2,60 \pm 0,25$ a	$2,28 \pm 0,83$ a,b	$0,14 \pm 0,01$ b	$27,65 \pm 6,82$ b
Q/MOPN/AA/HQ-2	$3,45 \pm 0,19$ b	$2,15 \pm 0,50$ a,b	$0,24 \pm 0,04$ a	$18,22 \pm 1,56$ d
Q/APD	$2,47 \pm 0,13$ a	$3,13 \pm 0,22$ a	$0,26 \pm 0,01$ a	$17,57 \pm 0,50$ d
Q/MOPN/APD-1	$2,42 \pm 0,18$ a	$1,61 \pm 0,22$ b	$0,14 \pm 0,01$ b	$23,31 \pm 0,36$ c
Q/MOPN/APD-2	$2,17 \pm 0,17$ a	$0,85 \pm 0,04$ c	$0,15 \pm 0,01$ b	$25,98 \pm 1,62$ c

* Resultados seguidos de letras iguais não diferem entre si a nível de significância de 0,05 pelo teste de Tukey. A comparação estatística se refere a análise do parâmetro, dentro da mesma coluna.

No sistema solvente modelo (AA/HQ), foi observada uma diminuição significativa no módulo de Young somente para o sistema Q/MOPN/AA/HQ-1,

quando foi adicionado 0,05% (m/v) de MOPN. Este parâmetro não se alterou significativamente com a adição de mucilagem quando o solvente foi o APD. Porém comparando-se os dois sistemas solvente os valores de módulo de Young para o sistema Q/MOPN/AA/HQ-1 são estatisticamente iguais aos obtidos para os filmes a partir dos sistemas em solvente APD. O menor valor de módulo de Young observado nos filmes obtidos de sistemas em APD, indica uma maior mobilidade das cadeias nos filmes obtidos a partir dos sistemas preparados neste solvente.

No sistema Q/MOPN/APD-2, que contém 0,5% de mucilagem, foi observada uma redução significativa na energia de adesão comparado aos demais sistemas, porém convém lembrar que os parâmetros de adesão são relativos à interação do filme com a ponteira de silício.

Quanto ao poder plastificante da MOPN, este difere consideravelmente nos sistemas obtidos através do dispersante modelo e do APD. Nos filmes obtidos com sistema modelo, a adição da MOPN aumenta a elasticidade do filme. Todavia, nos filmes obtidos com APD, houve aumento na energia dissipada, ou seja, a deformação passou a ser mais plástica com a adição da mucilagem no sistema Q/APD. A MOPN, pode ser utilizada como um aditivo plastificante nesses sistemas.

5.4.2.2 Propriedade fotoprotetora

Os filmes obtidos a partir dos sistemas Q/MOPN em AA/HQ e em APD, nas duas concentrações de mucilagem, foram avaliados quanto à absorção de luz na região do ultravioleta e visível. Na Figura 34a podemos observar que, para os filmes obtidos a partir dos polímeros no solvente modelo, a adição da mucilagem ao sistema, diminui a intensidade de absorção na região do ultravioleta. Quanto maior a concentração de mucilagem, menor a proteção na região UV apresentada pelo filme. O mesmo comportamento foi observado nos filmes obtidos a partir dos sistemas em APD (Figura 34b). A absorção da região do ultravioleta está fortemente ligada às transições eletrônicas. Aparentemente a diminuição da intensidade nesta região não é seguida do aumento em outras regiões do espectro de absorção, indicando que não deve ser atribuída às modificações estruturais. Todavia, o bloqueio à radiação UV também está ligado

à uma estrutura mais ou menos compacta dos filmes. Como observado nas imagens de AFM a mucilagem contribuir para a formação de filmes mais irregulares, mais porosos, explicando a maior transparência à radiação UV. De qualquer forma, esse fato torna problemático o uso da mucilagem em formulações fotoprotetoras.

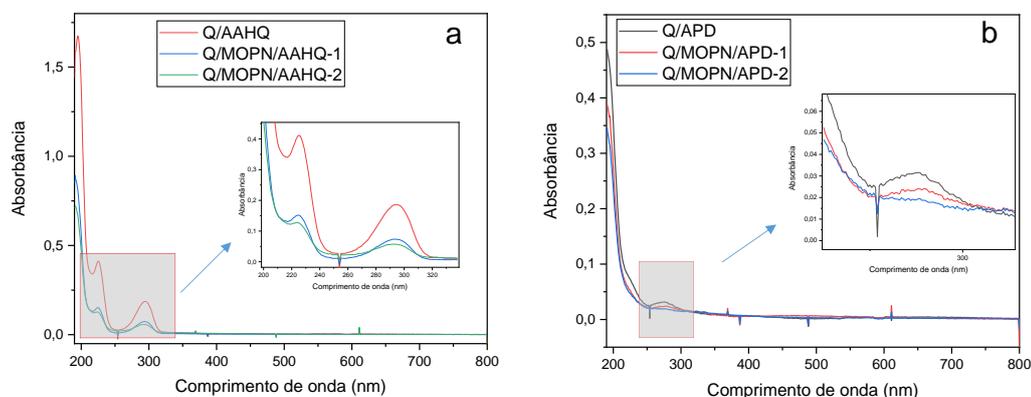


Figura 34. Varredura no espectro eletromagnético entre 190 e 800 nm de filmes obtidos a partir dos sistemas de quitosana pura e com adição de mucilagem, solvente modelo (a) e em APD (b). A região em destaque foi ampliada.

5.4.2.3 Avaliação da liberação de fenóis do filme

Os filmes autossuportados, obtidos a partir dos sistemas com e sem adição de mucilagem em AA/HQ (solvente modelo) e em APD, foram avaliados quanto à liberação de fenóis. A Figura 35 ilustra o experimento, com a imersão em água dos filmes produzidos a partir de Q e Q/MOPN em APD. Os filmes obtidos a partir dos sistemas em que foi adicionada a mucilagem dissolveram e não foi possível realizar o experimento de liberação de fenóis do filme (Figura 35a e 35b). Em trabalho prévio, obtido com a quitosana Polymar, havíamos observado que os filmes obtidos do sistema Q/APD absorviam até 300 % em água e não solubilizavam, quando imersos em água por até sete dias (PORTO *et al.*, 2019). Neste experimento, realizado com a quitosana da Sigma Aldrich, comprovamos essa observação, pois os filmes Q/APD foram mantidos sob

imersão após o término deste experimento por até 45 dias sem que fosse observada solubilização (Figura 35d).

Da mesma forma no sistema Q/AA/HQ também não foi observada a dissolução dos filmes, o que também é explicado pela presença da hidroquinona no meio, fenol que atua promovendo a ligação entre cadeias da quitosana. A hidroquinona tem dois grupos OH fenólicos em posição *para*, isso favorece a ligação com grupos amino em meio ácido na quitosana e, conseqüentemente, entre cadeias de quitosana. A dissolução só foi observada nos sistemas com adição de mucilagem, o que indica que a mucilagem adicionada passa a interagir com a matriz polimérica da quitosana impedindo a formação de reticulação entre cadeias deste polímero. Isso explica a formação de filmes mais rugosos e permeáveis à radiação UV, descritos anteriormente.

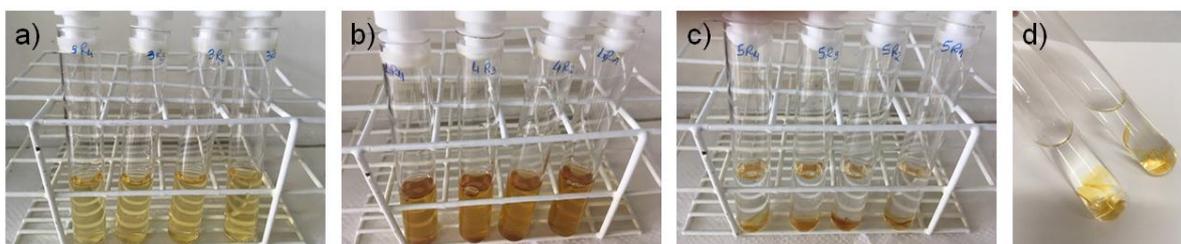


Figura 35. Experimentos contendo filmes autossuportados imersos em água, obtidos a partir dos sistemas: a) Q/MOPN/APD 20:1; b) Q/MOPN/APD 2:1; c) Q/APD, 30 minutos após imersão em água ultrapura. Em d) Q/APD, após 45 dias de imersão.

A liberação de fenóis da matriz dos filmes obtidos dos sistemas Q/APD e Q/AA/HQ foi acompanhada através da avaliação da intensidade de absorção da água de imersão dos filmes, em 270 nm, pico atribuído aos fenóis presentes no APD, ao longo do tempo. O comportamento dos dois filmes foi similar e a Figura 36 ilustra o resultado obtido para o filme Q/APD. Observa-se que ocorre uma liberação rápida dos fenóis da matriz polimérica, efeito *Burst*, que fica estável após 30 minutos de imersão do filme em água.

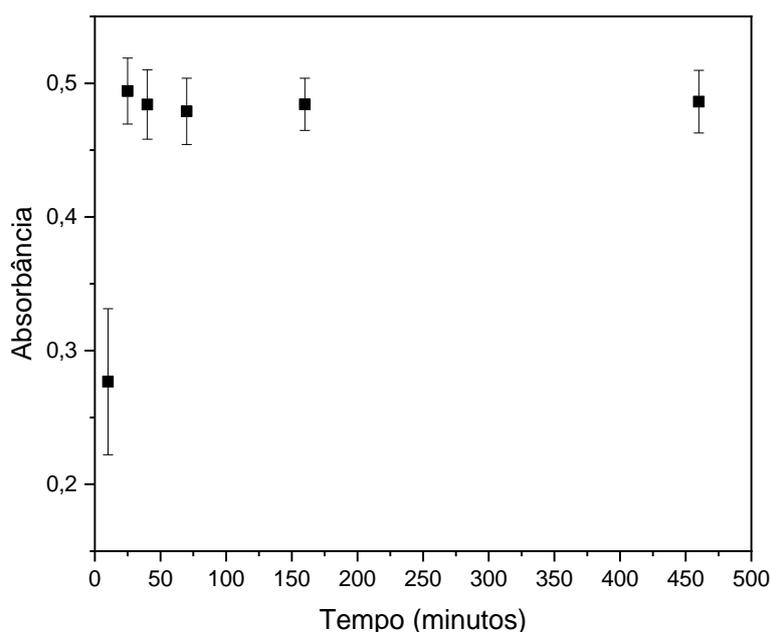


Figura 36. Liberação de fenóis do filme Q/APD em água.

O filme obtido a partir do sistema Q/APD liberou em torno de 6,8% (m/m) do teor de fenóis totais da matriz polimérica, após a imersão por 460 minutos. Enquanto o filme obtido a partir do sistema modelo, Q/AA/HQ, liberou cerca de 82,1% (m/m) dos fenóis da matriz do filme. A maior complexidade do solvente APD explica a melhor fixação desses compostos fenólicos na matriz polimérica da quitosana. A liberação de fenóis com a água sobre a superfície da folha é interessante, pois os fenóis são compostos antimicrobianos que atuam sobre fungos e bactérias patogênicos. Ao mesmo tempo que a presença deles fixados sob a folha, na forma de filme, pode ter efeito contra pragas mastigadoras de folhas como os insetos. (SOUZA *et al.*, 2018)

6 Conclusões

A estabilidade no período de armazenamento de até 30 meses, em temperatura ambiente (20 ± 5 °C) do sistema Q/APD foi avaliada. O comportamento reológico foi de fluido newtoniano durante todo o período de armazenamento estudado. A viscosidade do sistema Q/APD permaneceu

estável por período de 4 a 14 meses de armazenamento com redução na massa molar da quitosana durante este período.

O teor de compostos fenólicos ligados à estrutura da quitosana aumentou com o tempo de armazenamento, comprovado por espectroscopia de fluorescência 3-D e análise da concentração de fenóis.

Os filmes obtidos a partir do sistema Q/APD após o período de envelhecimento mostraram a capacidade de fotoproteção na região do ultravioleta levemente aumentada.

Não houve alteração significativa no módulo de Young do filme obtido a partir do sistema Q/APD envelhecido.

Após o envelhecimento do sistema Q/APD o filme tornou-se mais rígido em comparação ao filme obtido a partir do sistema sem envelhecimento.

O processo de extração da mucilagem de ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata*) apresentou rendimento superior neste estudo aos descritos na literatura.

A utilização de folhas previamente desidratadas facilitou a estocagem do material vegetal e a obtenção da mucilagem.

A composição da mucilagem foi de $41,16 \pm 9,20\%$ de carboidratos e $5,87 \pm 0,22\%$ de proteínas, além de K, Mg e Ca, o que agrega nutrientes importantes às formulações contendo a mucilagem.

Os sistemas coloidais com quitosana e mucilagem em solvente modelo e em APD apresentaram comportamento newtoniano e independente do tempo, com decréscimo da viscosidade dos sistemas com adição de mucilagem. A diminuição na viscosidade facilita a processabilidade da formulação.

A adição de MOPN a 0,05 % (m/v) a quitosana a 1 % (m/v) em APD melhora a molhabilidade do sistema sobre folhas de soja.

Os filmes obtidos com a incorporação de mucilagem, Q/APD/MOPN, apresentaram diminuição da absorção na região do ultravioleta atribuída ao aumento da irregularidade da superfície.

Os filmes Q/APD contendo MOPN foram solubilizados quando imersos em água.

O filme obtido a partir do sistema Q/APD liberou 6,28% do teor de fenóis da matriz polimérica após imersão em água.

A adição da MOPN ao sistema Q/APD diminuiu a proteção UV e tornou o filme mais poroso, entretanto melhorou a processabilidade do sistema e a molhabilidade sobre folhas de soja.

7 Referências

AGOSTINI-COSTA, T. S. *et al.* Carotenoid composition of berries and leaves from a Cactaceae - *Pereskia* sp. **JOURNAL OF FUNCTIONAL FOODS**, v. 11, p. 178–184, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.09.015>

AGOSTINI-COSTA, T. S. Bioactive compounds and health benefits of Pereskioideae and Cactoideae: a review. **Food Chemistry**, p. 126961, 2020. Disponível em: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126961>

AKYUZ, L. *et al.* Supplementing capsaicin with chitosan-based films enhanced the anti-quorum sensing, antimicrobial, antioxidant, transparency, elasticity and hydrophobicity. **International Journal of Biological Macromolecules**, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.04.040>

ALMEIDA, M. E. F.; CORRÊA A. D. Utilização de cactáceas do gênero *Pereskia* na alimentação humana em um município de Minas Gerais. **Ciência Rural**, v. 42, p. 751–756, 2012. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782012000400029&lang=en

ALMEIDA, R. S. R. *et al.* Effect of Storage Time on the Chemical Characterization of Pyroligneous Liquor From Eucalyptus Wood. **Waste and Biomass Valorization**, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12649-017-0067-y>

ALMEIDA, R. S. R. *et al.* Potential of Pyroligneous Extract of Eucalyptus Wood as a Preservative of Cosmetic and Sanitizing Products. **Waste and Biomass Valorization**, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12649-017-0125-5>

AMARAL, T. N. *et al.* Blends of *Pereskia aculeata* Miller mucilage, guar gum, and gum Arabic added to fermented milk beverages. **FOOD HYDROCOLLOIDS**, v. 79, p. 331–342, 2018. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.01.009>

AMARAL, T. N. *et al.* Effects of salts and sucrose on the rheological behavior, thermal stability, and molecular structure of the *Pereskia aculeata* Miller mucilage. **INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOLOGICAL MACROMOLECULES**, v. 131, p. 218–229, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.03.063>

ANDRADE, R. R. de *et al.* Organic compost and irrigation on weight and protein content of *Pereskia aculeata* leaves. **Revista Agrogeoambiental**, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.18406/2316-1817v11n220191309>

Association of Official and Agricultural Chemists (AOAC) Official methods of analysis of the Association of official Analytical Chemists. 11.edn, Washington, p. 1015, 1970

BARBOSA, C. K. R.; FINGER, F. L.; CASALI, V. W. D. Handling and postharvest shelf life of ora-pro-nóbis leaves [Manejo e conservação pós-colheita de ora-pro-nóbis]. **Acta Scientiarum - Agronomy**, v. 37, p. 307–311, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v37i3.19510>

BEHRING, J. L. *et al.* Adaptação do Método do Peso da Gota para Determinação de Tensão Superficial: Um Método Simplificado para a Quantificação da CMC de Surfactantes no Ensino da Química. **Química Nova**, v. 27, p. 492-495, 2004

BORNMAN, J. F. *et al.* Linkages between stratospheric ozone, UV radiation and climate change and their implications for terrestrial ecosystems. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 18, p. 681, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/c8pp90061b>

BOUYER, E. *et al.* Proteins, polysaccharides, and their complexes used as stabilizers for emulsions: Alternatives to synthetic surfactants in the pharmaceutical field? **International Journal of Pharmaceutics**, v. 436, p. 359–378, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.06.052>

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)

BRANCO, Natália Bruzamarello Caon. Mucilagem do Cladódio de *Cereus Hildmaniannus* K. Schum: Caracterização Física, Química e Reológica. 2011.

95f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Faculdade de Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

BURGO, T. A. L. *et al.* AFM advanced modes for dental and biomedical applications. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, v. 136, p. 105475, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2022.105475>

CAMPELO, P. H. *et al.* Stability of lime essential oil emulsion prepared using biopolymers and ultrasound treatment. **International Journal of Food Properties**, v. 20, p. 564–579, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1303707>

CAMPOS, A. D. *et al.* **Processo de obtenção de formulação com capacidade fertilizante e fitoprotetora, formulação com capacidade fertilizante e fitoprotetora, uso da formulação com capacidade fertilizante e fitoprotetora**. Registro no Instituto Nacional de Propriedade Intelectual no Brasil (BR102012033149-7), nos Estados Unidos (US20150336854 A1) e na Alemanha (DE112013006230T5). Depositante: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária; Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Depósito: 26/12/2012. Concessão: 27/07/2021.

CAMPOS, A. D. Técnicas para Produção de Extrato Pirolenhoso para Uso Agrícola. **Circular Técnica da Embrapa**, n. 65, 2007

CAMPOS, A. D. Processo de coleta e produção de extrato pirolenhoso para uso agrícola. **Circular Técnica da Embrapa**, n 178, 2018.

CAMPOS, A. D. *et al.*, Eficiência do Filme Fitoprotetor à base de Quiotana e Extrato Pirolenhoso para Pulverização em Pomar de Citrus. **Circular Técnica da Embrapa**, n 211, 2020

CAMPOS, E. V. R. *et al.* Use of botanical insecticides for sustainable agriculture: Future perspectives. **Ecological Indicators**, v. 105, p. 483–495, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2018.04.038>

CAMPOS, J. A. *et al.* Shoot Growth Of Ora-Pro-Nóbis In Alternative Substrate Of Carbonized Rice Husk. **HOLOS**, v. 33, n. 7, p. 148–167, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.15628/holos.2017.6424>

CAVALCANTE, U. R. *et al.* Influence of different parts of cuttings and substrates on vegetative propagation of pereskia aculeata miller [Influência de diferentes partes de estacas e substratos na propagação vegetativa de pereskia aculeata miller]. **Bioscience Journal**, v. 35, n. 3, p. 691–699, 2019. Disponível

em: <https://doi.org/10.14393/BJ-v35n3a2019-40717>

CHEN, R. H. *et al.* Changes in the Mark-Houwink hydrodynamic volume of chitosan molecules in solutions of different organic acids, at different temperatures and ionic strengths. **Carbohydrate Polymers**, v. 78, p. 902–907, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.07.027>

CHEN, X. *et al.* Base-catalysed, one-step mechanochemical conversion of chitin and shrimp shells into low molecular weight chitosan. **Green Chemistry**, v. 19, p. 2699, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/c7gc00089h>

CHOW, P. S.; LANDHÄUSSER, S. M. A method for routine measurements of total sugar and starch content in woody plant tissues. **Tree Physiology**, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/treephys/24.10.1129>

CONCEIÇÃO, Márcia Cavalcante. Otimização do Processo de Extração e Caracterização da Mucilagem de Ora-pro-nóbis (*Pereskia Aculeata* Miller). 2013. 124f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Faculdade de Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Lavras.

CONCEIÇÃO, M. C. *et al.* Thermal and microstructural stability of a powdered gum derived from *Pereskia aculeata* Miller leaves. **Food Hydrocolloids**, v.40, p. 104, 2014. Disponível em <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.02.015>

DA SILVA, V. C.; RODRIGUES, C. M. Natural products: an extraordinary source of value-added compounds from diverse biomasses in Brazil. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, v. 1, n. 1, p. 1–6, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s40538-014-0014-0>

DAVOODI, S. *et al.* Development and Characterization of *Salvia macrosiphon*/Chitosan Edible Films. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, v. 8, p. 1487–1496, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.9b05894>

DE MELO, T. A. *et al.* Produtos naturais disponíveis comercialmente induzem o acúmulo de fitoalexinas em cotilédones de soja e mesocótilos de sorgo. **Summa Phytopathologica**, v. 43, p. 205-211, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0100-5405/167358>

DE OLIVEIRA, H. A. B. *et al.* Nutritional value of non-conventional vegetables prepared by family farmers in rural communities. **Ciencia Rural**, v. 49, n. 8, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20180918>

DIVYA, K. *et al.* Optimization of chitosan nanoparticle synthesis and its potential application as germination elicitor of *Oryza sativa* L. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 124, p. 1053–1059, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.11.185>

DIVYA, K.; SMITHA, V.; JISHA, M. S. Antifungal, antioxidant and cytotoxic activities of chitosan nanoparticles and its use as an edible coating on vegetables. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 114, p. 572–577, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.03.130>

DUARTE M.R., Hayashi S. S. Estudo anatômico de folha e caule de *Pereskia aculeata* Mill. (Cactaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, p. 103, 2005. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2005000200006&lang=em

DUBOIS, M. *et al.* Colorimetric Method form Determination of Sugars and Related Substances. **Nature**, v. 28, p. 350-356, 1956.

FERREIRA, D. F. (1999). Programa Sisvar.exe: Sistema de análise de variância. Versão 5.8. [Sisvar.exe Program: Analysis of variance system. Version 5.8] [Software]. Lavras: UFLA.

FRANÇA, D. *et al.* Chitosan spray-dried microcapsule and microsphere as fertilizer host for swellable – controlled release materials. **Carbohydrate Polymers**, v. 196, p. 47–55, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.05.014>

FURTADO, C. M. *et al.* Pyrolygneous liquor produced from *Acacia Mearnsii* de wild wood under controlled conditions as a renewable source of chemicals. **Quimica Nova**, v. 38, n. 8, p. 1068–1074, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20150120>

GARCIA, J. A. A. *et al.* Phytochemical profile and biological activities of ‘Ora-pro-nóbis’ leaves (*Pereskia aculeata* Miller), an underexploited superfood from the Brazilian Atlantic Forest. **Food Chemistry**, v. 294, p. 302–308, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.074>

GIACCONE, M. *et al.* Biodegradable mulching spray for weed control in the cultivation of containerized ornamental shrubs. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, v.5, p. 1-8, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s40538-018-0134-z>

GREWAL, Arshdeep; ABBEY, Lord; GUNUPURU, Lokanadha Rao. Production, prospects and potential application of pyroligneous acid in agriculture. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 135, p. 152–159, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2018.09.008>

GU, X. *et al.* UV-B induced changes in the secondary metabolites of *Morus alba* L. leaves. **Molecules**, v. 15, p. 2980-2993, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules15052980>

GUIMARÃES, J. R. A. *et al.* Agronomic performance and protein content of *Pereskia aculeata* Mill. Using organic chicken manure fertilizer. **Australian Journal of Crop Science**, v. 13, n. 2, p. 179–184, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.21475/ajcs.19.13.02.p868>

JUNQUEIRA, L. A. *et al.* Rheological behavior and stability of emulsions obtained from *Pereskia aculeata* Miller via different drying methods. **International Journal of Food Properties**, v. 21, n. 1, p. 36–50, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10942912.2018.1437177>

KADAM, D.; LELE, S. S. Cross-linking effect of polyphenolic extracts of *Lepidium sativum* seedcake on physicochemical properties of chitosan films. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 114, p. 1240–1247, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.04.018>

KAMAN, J. Young's Modulus and Energy Dissipation Determination Methods by AFM, with Particular Reference to a Chalcogenide Thin Film. **Periodica Polytechnica Electrical Engineering and Computer Science**, v. 59, p. 18-25, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3311/PPee.7865>

KASAAI, M. R. Calculation of Mark-Houwink-Sakurada (MHS) equation viscometric constants for chitosan in any solvent-temperature system using experimental reported viscometric constants data. **Carbohydrate Polymers**, v. 68, p. 477–488, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2006.11.006>

KASHYAP, P. L.; XIANG, X.; HEIDEN, P.. **Chitosan nanoparticle based delivery systems for sustainable agriculture**. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 77, p. 36–51, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.02.039>

KATARIA, S. *et al.* Static magnetic field treatment enhanced photosynthetic performance in soybean under supplemental ultraviolet-B

radiation. **Photosynthesis Research**, v. 150, p. 263, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11120-021-00850-2>

KITAJIMA E. W. & LEITE B. (1999) Curso introdutório de microscopia eletrônica de varredura. 2.ed. Piracicaba SP. NAP/MEPA. ESALQ, Universidade de São Paulo.

LAKEHAL, I. *et al.* Prilling and characterization of hydrogels and derived porous spheres from chitosan solutions with various organic acids. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 129, p. 68–77, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.01.216>

LEE, D. W. *et al.* Strong adhesion and cohesion of chitosan in aqueous solutions. **Langmuir**, v. 29, p. 14222–14229, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/la403124u>

LEONES, R. *et al.* Effect of storage time on the ionic conductivity of chitosan-solid polymer electrolytes incorporating cyano-based ionic liquids. **Electrochimica Acta**, v. 232, p. 22–29, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2017.02.053>

LIMA JUNIOR, Fausto Alvez. Desenvolvimento de Processos de Extração de Hidrocolóides do Ora-pro-nóbis (*Pereskia Aculeata* Miller). 2011. 130f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Faculdade de Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Lavras.

LIMA JUNIOR, F. A. *et al.* Response surface methodology for optimization of the mucilage extraction process from *Pereskia aculeata* Miller. **Food Hydrocolloids**, v. 33, n. 1, p. 38–47, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.02.012>

LIU, B. *et al.* Effects of enhanced UV-B radiation on seed growth characteristics and yield components in soybean. **Field Crops Research**, v. 154, p. 158, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fcr.2013.08.006>

LIU, Y. *et al.* Molecular interactions, characterization and antimicrobial activity of curcumin-chitosan blend films. **Food Hydrocolloids**, v. 57, p. 291-300, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.08.005>

LIUDVINAVICIUTE, D. *et al.* Thermogravimetric analysis of caffeic and rosmarinic acid containing chitosan complexes. **Carbohydrate Polymers**, v. 222, p. 115003, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115003>

LOHRI, C. R. *et al.* Treatment technologies for urban solid biowaste to create value products: a review with focus on low- and middle-income settings. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 16, p. 81–130, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11157-017-9422-5>

LOO A. Y.; JAIN K.; DARAH I. Antioxidant activity of compounds isolated from the pyrolytic acid, *Rhizophora apiculata*. **Food Chemistry**, v. 107, p. 1151-1160, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.09.044>

LÓPEZ-VELÁZQUEZ, J. C. *et al.* Gelatin–chitosan–PVA hydrogels and their application in agriculture. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 94, p. 3495–3504, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jctb.5961>

LUCYSZYN, N. *et al.* Physicochemical and in vitro biocompatibility of films combining reconstituted bacterial cellulose with arabinogalactan and xyloglucan. **Carbohydrate Polymers**, v. 151, p. 889–898, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.06.027>

LUZ, A. P.; RIBEIRO, S. V.; PANDOLFELLI, C. Artigo revisão: uso da molhabilidade na investigação do comportamento de corrosão de materiais refratários. **Cerâmica**, v. 54, p. 174-183, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0366-69132008000200007>

MA, M. *et al.* Effects of UV-B radiation on the isoflavone accumulation and physiological/biochemical changes of soybean during germination Physiological/biochemical change of germinated soybean induced by UV-B. **Food Chemistry**, v. 250, p. 259, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.051>

MA, X. *et al.* Isolation and bioactivities of organic acids and phenols from walnut shell pyrolytic acid. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 91, p. 338–343, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2011.03.009>

MACIEL, V. B. V *et al.* Iron-rich chitosan-pectin colloidal microparticles laden with ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Miller) extract. **Food Hydrocolloids**, v. 98, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105313>

MARTIN, Andressa. Características Físico-Químicas do Hidrocolóide de Folhas de *Pereskia aculeata*. 2015. 102 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

MARTIN, A. A. *et al.* Chemical structure and physical-chemical properties of mucilage from the leaves of *Pereskia aculeata*. **Food Hydrocolloids**, v. 70, p. 20–28, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.03.020>

MATHEW, S.; ZAKARIA, Z. A. Pyrolygneous acid—the smoky acidic liquid from plant biomass. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 99, n. 2, p. 611–622, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00253-014-6242-1>

MAZON S. *et al.* Exploring consumers' knowledge and perceptions of unconventional food plants: case study of addition of *Pereskia aculeata* Miller to ice cream. **Food Science and Technology**, v. 40, n. 1, p. 215–221, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/fst.39218>

Mercê A. L. R., *et al.* Complexes of arabinogalactan of *Pereskia aculeata* and Co^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} , and Ni^{2+} . **Bioresource Technology**, v. 76, p. 29–37, 2001.

MESSA, L. L. *et al.* Híbridos de quitosana-Argila para encapsulamento e liberação sustentada do fertilizante nitrato de potássio. **Quimica Nova**, v. 39, p. 1215-1220, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20160133>

MI, F. L.. Synthesis and characterization of a novel chitosan-gelatin bioconjugate with fluorescence emission. **Biomacromolecules**, v. 6, p. 975–987, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/bm049335p>

MILANI, P. *et al.* Polymers and its applications in agriculture. **Polimeros**, v. 27, n. 3, p. 256–266, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0104-1428.09316>

MORAES, L. C. *et al.* Protein recovery from Barbados gooseberry (*pereskia aculeata miller*) leaves by salting out and isoelectric precipitation. **Revista Mexicana de Ingeniera Quimica**, v. 18, n. 2, p. 419–430, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.24275/uam/izt/dcbi/revmexingquim/2019v18n2/Morais>

MORIN-CRINI, N. *et al.* Applications of chitosan in food, pharmaceuticals, medicine, cosmetics, agriculture, textiles, pulp and paper, biotechnology, and environmental chemistry. **Environmental Chemistry Letters**, v. 17, p. 1667–1692, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10311-019-00904-x>

MUJTABA, M. *et al.* Current advancements in chitosan-based film production for food technology; A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 121, p. 889–904, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.10.109>

MUJTABA, M. *et al.* Chitosan-based delivery systems for plants: A brief overview of recent advances and future directions. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 154, p. 683-697, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.03.128>

NETO, E. T.; MALTA, M. M.; SANTOS, R. G. Medidas de Tensão Superficial pelo Método de Contagem de Gotas: Descrição do Método e Experimentos com Tensoativos Não-iônicos Etoxilados. **Química Nova**, v. 32, p. 223-227, 2009.

NETO, J. A. R. *et al.* Exploring consumers' knowledge and perceptions of unconventional food plants: case study of addition of *Pereskia aculeata* Miller to ice cream. **Food Science and Technology**, v. 97, n. 1, p. 170–184, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/fst.39218>

NEVES, I. C. O. *et al.* Effect of carrier oil on α -tocopherol encapsulation in ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Miller) mucilage-whey protein isolate microparticles. **Food Hydrocolloids**, v. 105, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105716>

NGUYEN, T. T. B. *et al.* Molecular stability of chitosan in acid solutions stored at various conditions. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 107, p. 2588–2593, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/app.27376>

OLIVEIRA, J. L. *et al.* Geraniol Encapsulated in Chitosan/Gum Arabic Nanoparticles: A Promising System for Pest Management in Sustainable Agriculture. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, n. 21, p. 5325–5334, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b00331>

OLIVEIRA, N. L. *et al.* Development and characterization of biodegradable films based on *Pereskia aculeata* Miller mucilage. **Industrial Crops and Products**, v. 130, p. 499–510, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.01.014>

OWCZARZ, P.; ZIÓŁKOWSKI, P.; DZIUBIŃSKI, M. The application of small-angle light scattering for Rheo-Optical characterization of chitosan colloidal solutions. **Polymers**, v. 10, n. 431, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/polym10040431>

PANDEY, G. Challenges and future prospects of agri-nanotechnology for sustainable agriculture in India. **Environmental Technology & Innovation**, v. 11, p. 299-307, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.eti.2018.06.012>

PAULA, R. C. M.; RODRIGUES J. F. Composition and rheological properties of cashew tree gum, the exudate polysaccharide from *Anacardium occidentale* L. **Carbohydrate Polymers**, v. 26, p. 177-181, 1995

PEREIRA, B. S. G.; FONSECA, M. J. O.; CONEGLIAN, R. C. C. Postharvest conservation of *Pereskia aculeata* (Ora-pro-nóbis) leaves in different packages. **Acta Horticulturae**, v. 1256, p. 595–600, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2019.1256.85>

PEREIRA, I. S. *et al.* Phytoprotective film for resistance induction, growth, and yield of organic strawberries. *Advances in Horticulture Science*, v. 36, p. 4352, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.36253/ahsc-10449>

PIMENTA, A. S. *et al.* Chemical composition of pyroligneous acid obtained from eucalyptus GG100 clone. **Molecules**, v. 23, n. 2, p. 1–12, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules23020426>

PORTO, Fabiane Grecco da Silva. Caracterização de Quitosana em Ácido Pirolenhoso Destilado com Potencial Uso como Coberturas Protetoras. 2011. 61f. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Química e Geociências, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

PORTO, F. G. S.; CAMPOS, A. D.; GARCIA, I. T. S. Distilled pyroligneous liquor obtained from *Eucalyptus grandis* and chitosan: physicochemical properties of the solution and films. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, n. 1, p. 672–683, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3590-x>

PORTO, F. G. S. *et al.* Chitosan in *Eucalyptus grandis* Pyroligneous Liquor for Agricultural Application: Physicochemical and Structural Characterization During Storage. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 29, p. 1591–1599, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10924-020-01980-9>

PORTO, F. G. S. *et al.* *Pereskia aculeata* leaves: properties and potentialities for the development of new products. **Natural Product Research**, v. 36, p. 4821-4832, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/14786419.2021.2010070>

ROSA, L.; QUEIROZ, C. R. A. A.; MELO, C. M. T. Fresh leaves of ora-pro-nóbis in cakes prepared from commercial pre-mixture [Inclusão de folhas frescas de ora-pro-nóbis em bolos elaborados a partir de pré-mistura comercial]. **Bioscience Journal**, v. 36, n. 2, p. 376–382, 2020. Disponível em:

<https://doi.org/10.14393/BJ-v36n2a2020-42319>

SABBAH, M. *et al.* Development and properties of new chitosan-based films plasticized with spermidine and/or glycerol. **Food Hydrocolloids**, v. 87, p. 245–252, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.08.008>

SAEIDY S., *et al.* Plants arabinogalactans: From structures to physico-chemical and biological properties. **Biotechnology Advances**, v. 53, p. 107771, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2021.107771>

SANTOS C. C., *et al.* Metabolismo fotossintético em mudas de *Pereskia aculeata* Plum. propagadas por estaquia sob diferentes disponibilidades luminosas. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 42, p. 131–140, 2019. Disponível em: http://www.scielo.mec.pt/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0871-018X2019000300014&lang=en

SANTOS, B. R. *et al.* Chitosan-montmorillonite microspheres: A sustainable fertilizer delivery system. **Carbohydrate Polymers**, v. 127, p. 340–346, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.03.064>

SHARIF, K. M. *et al.* Pharmacological Relevance of Primitive Leafy Cactuses *Pereskia*. **Research Journal of Biotechnology**, v. 8, n. 12, p. 134–142, 2013.

SIERAKOWSKI M. R. *et al.* Some structural features of a heteropolysaccharide from the leaves of the cactus *Pereskia-aculeata*. **Phytochemistry**, v. 26, p. 1709–1713, 1987.

SILVA A. P. G., *et al.* Ripe Ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* miller) fruits express high contents of bioactive compounds and antioxidant capacity. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 40, n. 3, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0100-29452018749>

SILVA D. O., *et al.* Phenological and physicochemical properties of *Pereskia aculeata* during cultivation in south Brazil. **Horticultura Brasileira**, v. 36, n. 3, p. 325–329, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0102-053620180307>

SILVERSTEIN, R. M.; Webster, F. X. Identificação Espectrofotométrica de Compostos Orgânicos. ed 6. Rio de Janeiro: LTC, 2000.

SINDERSKI L. G. Z., Ângulo de Contato e Rugosidade de Madeiras, uma breve revisão. **Brazilian Journal of Wood Science**, v. 11, p. 1-11, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.12953/2177-6830/rcm.v11n1p1-11>

SOARES, L. S. *et al.* Rheological and Physicochemical Studies on Emulsions Formulated with Chitosan Previously Dispersed in Aqueous Solutions of Lactic Acid. **Food Biophysics**, v. 12, p. 109–118, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11483-017-9469-4>

SOUZA, J. L. S. *et al.* Antimicrobial potential of pyroligneous extracts – a systematic review and technological prospecting. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 49, p. 128-139, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2018.07.001>

SOUZA, J. B. G.; RÉ-POPPI, N.; RAPOSO, J. L. Characterization of pyroligneous acid used in agriculture by gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, p. 610-617, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s0103-50532012000400005>

SOUZA, L. F. *et al.* Temperature requirements for seed germination of *Pereskia aculeata* and *Pereskia grandifolia*. **Journal of Thermal biology**, v. 57, p. 6–10, 2016 a. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2016.01.009>

SOUZA, L. F. *et al.* *Pereskia aculeata* Muller (Cactaceae) Leaves: Chemical Composition and Biological Activities. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 9, 2016 b. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms17091478>

SOUZA, M. R. D. M. *et al.* Mineral, protein and nitrate contents in leaves of *pereskia aculeata* subjected to nitrogen fertilization. **Pesquisa Agropecuaria Tropical**, v. 46, n. 1, p. 43–50, 2016 c. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1983-40632016v4637959>

SZYMAŃSKA, E.; WINNICKA, K. Stability of chitosan - A challenge for pharmaceutical and biomedical applications. **Marine Drugs**, v. 13, n. 4, p. 1819–1846, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/md13041819>

TAKEITI, C. Y. *et al.* Nutritive evaluation of a non-conventional leafy vegetable (*Pereskia aculeata* Miller). **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 60, n. 1, p. 148–160, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/09637480802534509>

TCHAIKOVSKAYA, O. N. *et al.* Fluorescence investigations of phenol phototransformation in aqueous solutions. **Journal of Fluorescence**, v. 10, p. 403–408, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1023/A:1009486615346>

TOGORO, A. H.; SILVA, J. A. S.; CAZETTA, J. O. Chemical changes in

an oxisol treated with pyroligneous acid. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 38, p.113-121, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s1413-70542014000200002>

VEGA, C. F. P. *et al.* Ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Mill.) Nutrition as Related to Soil Chemical and Physical Attributes and Plant Growth-Promoting Microorganisms. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 20, p. 1637–1654, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s42729-020-00235-9>

VIEIRA, C. R. *et al.* Effect of *Pereskia aculeata* Mill. in vitro and in overweight humans: A randomized controlled trial. **Journal of Food Biochemistry**, v. 43, n. 7, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jfbc.12903>

WANG, W. *et al.* Determination of the Mark-Houwink equation for chitosans with different degrees of deacetylation. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 13, p. 281–285, 1991. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0141-8130\(91\)90027-R](https://doi.org/10.1016/0141-8130(91)90027-R)

WONG, T. Chitosan and Its Use in Design of Insulin Delivery System. **Recent Patents on Drug Delivery & Formulation**, v. 3, p. 8–25, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/187221109787158346>

WU, C. *et al.* Structural properties of films and rheology of film-forming solutions of chitosan gallate for food packaging. **Carbohydrate Polymers**, v. 146, p. 10–19, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.03.027>

XING, K. *et al.* Chitosan antimicrobial and eliciting properties for pest control in agriculture: a review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 35, n. 2, p. 569–588, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13593-014-0252-3>

XING, Y. *et al.* Chitosan-based coating with antimicrobial agents: Preparation, property, mechanism, and application effectiveness on fruits and vegetables. **International Journal of Polymer Science**, v. 2016, p. 1–24, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2016/4851730>

ZHAI, M. *et al.* Chemical compositions and biological activities of pyroligneous acids from walnut shell. **BioResources**, v. 10, n. 1, p. 1715–1729, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.15376/biores.10.1.1715-1729>

ZHU, X. *et al.* Chitosan/gallnut tannins composite fiber with improved tensile, antibacterial and fluorescence properties. **Carbohydrate Polymers**, v.

226, p. 115311, 2019. Disponível em:
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115311>

ZIEGLER V., *et al.* Nutritional enrichment of beef burgers by adding components of non-conventional food plants. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 23, 2020. Disponível em:
http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1981-67232020000100407&lang=en

Anexos

Anexo 1 – Mapas nanomecânicos para energia de adesão, força de adesão e energia de dissipação obtidos por AFM, dos filmes produzidos a partir dos sistemas: a) Q/AAHQ; b) Q/MOPN/AAHQ-1; c) Q/MOPN/AAHQ-2; d) Q/APD; e) Q/MOPN/APD-1 e f) Q/MOPN/APD-2.

