



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

**DESENVOLVIMENTO DE ADSORVEDORES DE DNA/CORANTES A
BASE DE FIBRAS POLIMÉRICAS ELETROFIADAS**

JADERSON DE ARAUJO BARROS BARBOSA

Recife/PE

Agosto/2018



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

**DESENVOLVIMENTO DE ADSORVEDORES DE DNA/CORANTES A
BASE DE FIBRAS POLIMÉRICAS ELETROFIADAS**

JADERSON DE ARAUJO BARROS BARBOSA

TESE APRESENTADA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA – RENORBIO, DA UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO COMO EXIGÊNCIA PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE DOUTOR EM BIOTECNOLOGIA.

Orientador: Prof. Dr. Helinando Pequeno de Oliveira

Área de Concentração: Biotecnologia em Saúde

Recife/PE

Agosto/2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

B238d Barbosa, Jaderson de Araujo Barros
 Desenvolvimento de adsorvedores de DNA/corantes a
base de fibras poliméricas eletrofiadas / Jaderson de Araujo
Barros Barbosa. – 2018.
 130 f. : il.

 Orientador: Helinando Pequeno de Oliveira.
 Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em
Biotecnologia – RENORBIO, Recife, BR-PE, 2018.
 Ponto focal em Pernambuco – Universidade Federal Rural
de Pernambuco.
 Inclui referências e apêndice(s).

 1. Adsorção 2. Nanotecnologia 3. Polímeros 4. Corantes
5. DNA 6. Biotecnologia 7. Engenharia genética I. Oliveira,
Helinando Pequeno de, orient. II. Título

CDD 620.8

TERMO DE APROVAÇÃO

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA
RENORBIO

TESE DE DOUTORADO ELABORADA POR:

JADERSON DE ARAUJO BARROS BARBOSA

**Desenvolvimento de adsorvedores de DNA/corantes à base de
fibras poliméricas eletrofiadas**

TESE JULGADA ADEQUADA PARA
OBTENÇÃO DO TÍTULO DE
DOUTOR EM BIOTECNOLOGIA.
DEFENDIDA E APROVADA EM
27/08/2018 PELA SEGUINTE
BANCA EXAMINADORA.

Orientador: _____

Prof. Dr. Helinando Pequeno de Oliveira
Universidade Federal do Vale do São Francisco

Examinadores: _____

Profª. Dra. Beate Seagesser Santos
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. João José de Simoni Gouveia
Universidade Federal do Vale do São Francisco

Profª. Dra. Maria Helena Tavares de Matos
Universidade Federal do Vale do São Francisco

Prof. Dr. Nikifor Rakov Gomez
Universidade Federal do Vale do São Francisco

*Dedico este trabalho aos meus pais: Cícero Crispim
Barbosa e Maria Helena de Araujo Barros Barbosa e a
minha esposa Ana Paula da Silva*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por ter me dado força e saúde, que me permitiram a realização desse trabalho e pelas incontáveis graças que tem me concedido.

Aos meus pais *Cícero Crispim Barbosa e Maria Helena de Araujo Barros Barbosa*, pelo amor incondicional, paciência, e dedicação em todos os momentos de minha vida.

A minha belíssima esposa *Ana Paula da Silva*, pelo amor, compreensão e apoio ao longo de toda a realização deste trabalho.

Aos meus irmãos: *Jeanderson de A. B. Barbosa, Julianderson de A. B. Barbosa e Jessica Maria de A. Barbosa*, que sempre estiveram ao meu lado dando apoio.

A toda minha família, em especial a minha avó materna *Maria Eremita de Araujo Barros* que ainda se encontra viva e com bastante saúde, junto da família.

Aos meus sobrinhos, *Victor Gabriel, João Miguel, Bianca Letícia, Lorenzo e Laura Sophia* por todo amor.

Ao meu orientador, *Prof. Dr. Helinando Pequeno de Oliveira*, por toda competência, apoio, interesse, dedicação, paciência e disponibilidade que mostrou ao longo deste trabalho.

Aos meus amigos, cunhados(as), ao meu sogro *Severino Bezerra*, minha sogra *Irandi Bezerra*, pelo carinho e apoio.

Aos meus amigos de laboratório: *Ercleiton, Fernando, Marcelo, Ariadne, Jarib, Ravi, Juliana, Judá, Jorge, Evando, Clisman e Ginetton* por todos os momentos no laboratório e a *Dona Geruza* pelo apoio e conversas.

Ao Prof^o *Mateus Matiuzzi e Chirles França*, que contribuíram com as pesquisas e experimentos com os materiais biológicos.

A UNIVASF que me deu a oportunidade de poder realizar uma grande parte deste trabalho com 100% de dedicação ao doutorado.

Ao IPCM pela disponibilidade no uso dos laboratórios para realização dos experimentos.

A todos que contribuíram de forma direta ou indireta na concretização deste trabalho.

*Desconfie do destino e acredite em você.
Gaste mais horas realizando que sonhando, fazendo que
planejando, vivendo que esperando porque, embora quem
quase morre esteja vivo, quem quase vive já morreu.*

(Sarah Westphal)

RESUMO

As fibras eletrofiadas são potenciais candidatas para uso como adsorventes de corantes iônicos, bem como para o uso na remoção de DNA. Com o objetivo de obter fibras de baixo custo, o processo de eletrofiação destaca-se como sendo um método simples na produção de nanofibras e por apresentar elevada relação superfície/volume. Este trabalho tem como objetivo explorar as variáveis de processamento aplicadas na otimização da produção de fibras eletrofiadas de Eudragit® L100 e sua aplicação na adsorção de corantes, e a aplicação destas fibras eletrofiadas de Eudragit® E100 com Óxido de Polietileno (PEO) no processo de remoção de DNA. Os estudos realizados com as fibras eletrofiadas de Eudragit® L100 nos mostrou que a capacidade de adsorção (mensurada em função da concentração de corante, pH e o tempo de contato) das fibras está diretamente relacionada ao seu diâmetro. Os resultados da adsorção revelam que a isoterma de Lagmuir é a mais adequada no ajuste dos dados e os dados cinéticos são melhor associados ao modelo de pseudo-segunda ordem, confirmando que o processo de sorção física prevalece e a distribuição homogênea de sítios ativos nas fibras. A aplicação das fibras eletrofiadas de Eudragit® E100/PEO para a rápida recuperação da cadeia dupla de DNA apresenta-se como um processo bastante rápido e eficiente, sem degradar o material genético no processo de amplificação. Os resultados do ensaio de adsorção revelam que o processo de sorção é físico e com uma distribuição homogênea dos sítios ativos livres. Com isso, é possível associar que o mecanismo de adsorção do corante e do DNA baseia-se na interação eletrostática entre o adsorvente e o adsorbato. Como resultado, as fibras de Eudragit® L100 (caráter aniônico) adsorvem os corantes catiônicos e as fibras de Eudragit® E100/PEO adsorvem material genético. A comparação com a capacidade de adsorção de corantes de sistemas experimentais na literatura revela que as fibras eletrofiadas de Eudragit® L100 (com capacidade de adsorção de 135,37 mg.g⁻¹) e Eudragit® E100/PEO (com capacidade de adsorção de 44,31 mg.g⁻¹) representam novos sistemas promissores e eficientes para remoção de corantes aniônicos e identificação da presença de materiais genéticos.

Palavras-chave: Adsorventes, nanofibras poliméricas, eletrofiação, corantes iônicos, adsorção iônica, remoção de DNA.

ABSTRACT

Electrospun fibers are potential candidates for use as ionic dyes adsorbents, as well as for the use in DNA extraction. With the aim to obtain low-cost fibers, the electrospinning process stands out as a simple method applied in the production of nanofibers due to its high surface/volume ratio. This work explores the influence of processing variables in the optimization of the production of electrospun fibers prepared using Eudragit® L100 and its application in the of dyes, and the application of these Eudragit® E100 with Polyethylene Oxide (PEO) fibers electrospun in the process of DNA extraction. The studies involving the Eudragit® L100 electrospun fibers have shown that corresponding fiber adsorption (measured as a function of dye concentration, pH and contact time) capacity is directly related to its diameter. The adsorption fits the Lagmuir isotherm and the kinetics data are better described by the pseudo-second order model, confirming that the physical sorption prevails, with the homogeneous distribution of active sites in fibers. The application of Eudragit® E100/PEO electrospun fibers for the fast retrieval of the DNA extraction is a very fast and efficient process without degrading the genetic material in the amplification process. The results of the adsorption test show that the sorption process is physical and with a homogeneous distribution of free active sites. Thus, it is possible to associate that the mechanism of adsorption of dye and DNA is based on the electrostatic interaction between the adsorbent and the adsorbate. As a result, Eudragit® L100 fibers (anionic character) adsorb cationic dyes and Eudragit® E100/PEO fibers adsorption genetic material. Comparison with the dye adsorption capacity of experimental systems in the literature shows that Eudragit® L100 (with adsorption capacity of 135.37 mg.g^{-1}) and Eudragit® E100/PEO (with adsorption capacity of $44,31 \text{ mg.g}^{-1}$) represent new promising and efficient systems for the removal of anionic dyes and identification of the presence of genetic materials.

Keywords: Adsorbents, polymeric nanofibers, electrospinning, ionic dyes, ionic adsorption, DNA extraction.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Esquema ilustrativo do processo de eletrofição.	5
Figura 2: Exemplo de mecanismo de interação covalente entre o grupo reativo do corante e a hidroxila da fibra.	13
Figura 3: Exemplo do mecanismo de interação de hidrogênio entre o corante e a fibra.	14
Figura 4: Representação da estrutura do nucleotídeo.	18
Figura 5: Representação da cadeia dupla helicoidal do DNA e as estruturas químicas dos nucleotídeos.	19
Figura 6: Estrutura química do polímero Eudragit® L100.	20
Figura 7: Estrutura química do polímero Eudragit® E100.	22
Figura 8: Estrutura química do polímero PEO.	23
Figura 9: Esquema representativo dos tipos de isotermas.	29
Figura 10: Funcionamento da Reação em cadeia da polimerase.	38
Figura 11: Eletroforese em gel horizontal: (a) aplicação das amostras no gel, (b) migração dos fragmentos do DNA por tamanho molecular.	39
Figura 12: Diagrama de níveis de energia Stokes e anti-Stokes.	42
Figura 13: Processo de extração de DNA da solução polimérica e análise de UV-Vis.	47
Figura 14: Processo para análise do DNA removido da solução.	48
Figura 15: MEV das fibras eletrofiadas de Eudragit® L100 com concentrações variáveis (na vertical) de 166 g.L ⁻¹ , 183 g.L ⁻¹ , 200 g.L ⁻¹ , 217 g.L ⁻¹ , 233 g.L ⁻¹ e 250 g.L ⁻¹ . a) a f) taxa de 0,05 mL.min ⁻¹ , g) a l) taxa de 0,1 mL.min ⁻¹ e m) a r) taxa de 0,6 mL.min ⁻¹ . (Barra de escala de 100 μm).....	52
Figura 16: Distribuição dos valores correspondentes a área livre relativa por imagem.	53
Figura 17: Distribuição do diâmetro das fibras em função da taxa de infusão e da concentração da solução polimérica.	55
Figura 18: Espectro Raman das fibras eletrofiadas de Eudragit® L100.	57
Figura 19: Espectro UV-Vis da mistura de corantes catiônico/aniônico em solução aquosa como função do tempo de contato do adsorvente ([Violeta de metila] ₀ = 20mg.L ⁻¹ , [Amaranjado de metila] ₀ = 20mg.L ⁻¹ e massa da fibra eletrofiada = 10mg).	58

Figura 20: Esquema de remoção seletiva de corantes catiônico de um sistema binário pela fibra aniônica de Eudragit® L100.	59
Figura 21: Processo de interação eletrostática entre o grupo carboxílico da fibras com o grupo amina do corante	61
Figura 22: Adsorção da rodamina B em solução aquosa pelas fibras eletrofiadas de Eudragit® L100 em função do pH.	62
Figura 23: Eficiência na remoção da rodamina em função do tempo.....	63
Figura 24: Influência da concentração do polímero e da taxa de infusão na eficiência de remoção da rodamina B.	64
Figura 25: Imagem das fibras eletrofiadas de Eudragit® L100 em concentrações diferentes após 180 min de interação.	65
Figura 26: Variação do diâmetro das fibras em função da taxa de infusão.	66
Figura 27: Influência do tempo de contato e da concentração inicial na adsorção do corante violeta de metila pelas fibras eletrofiadas de Eudragit® L100.	67
Figura 28: Gráficos de todas as concentrações do corante violeta de metila para o (a) modelo de Pseudo-primeira ordem e (b) Pseudo-segunda ordem.....	69
Figura 29: Gráficos para a concentração de 200 mg.L^{-1} do corante violeta de metila para o (a) modelo Pseudo-primeira ordem e (b) Pseudo-segunda ordem.	70
Figura 30: Isotermas de adsorção do violeta de metila pelas fibras eletrofiadas de Eudragit® L100.	71
Figura 31: Eficiência de remoção de corante pelo adsorvente em função do número de ciclos de reuso.	74
Figura 32: Imagens MEV e distribuição do diâmetro de (a) fibras eletrofiadas de Eudragit® E100 e (b) fibras eletrofiadas de Eudragit® E100/PEO.....	75
Figura 33: Espectro Raman dos pós de Eudragit® E100, PEO e das fibras eletrofiadas de Eudragit® E100/PEO.	76
Figura 34: Espectro de absorção de solução de DNA residual em função do tempo de reação.	77
Figura 35: Dependência do grau de adsorção (em %) do DNA em fibras eletrofiadas em função do tempo de reação.....	79
Figura 36: Dependência do grau de adsorção e da capacidade de adsorção com a concentração do DNA.	80
Figura 37: Comparação das curvas de Langmuir e Freundlich com os dados experimentais da adsorção.	82

Figura 38: Eletroforese em gel de agarose a 2%. (a) marcador molecular (Ludwig); (b) DNA intacto (100 ng/uL); (c) DNA intacto (200 ng/uL); (d) DNA adsorvido pelas fibras eletrofiadas (100 ng/uL); (e) DNA adsorvido pelas fibras eletrofiadas (200 ng/uL); (f) fibras eletrofiadas livres de DNA; (g) controle positivo e (h) controle negativo.
.....84

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Morfologia resultante no processo de eletrofição a depender da concentração do polímero utilizada.....	8
Tabela 2: Estrutura molecular e comprimento de onda específico dos corantes.	16
Tabela 3: Comparação entre adsorção física e adsorção química (adaptado (Ruthven, 1984; Masel, 1996)).	26
Tabela 4: Condições utilizadas na PCR.....	50
Tabela 5: Influência da concentração do polímero Eudragit® L100 e da taxa de infusão no diâmetro da fibra.	56
Tabela 6: Parâmetros cinéticos de adsorção do violeta de metila pela Eudragit® L100 a partir dos gráficos do modelo de pseudo-primeira ordem e pseudo-segunda ordem.	68
Tabela 7: Parâmetros isotérmicos para a adsorção do violeta de metila pelas fibras eletrofiadas do Eudragit® L100.....	71
Tabela 8: Comparação da capacidade de adsorção de diferentes adsorventes para o violeta de metila.	73
Tabela 9: Parâmetros termodinâmicos para o violeta de metila obtidos a partir das isotermas de adsorção.	73
Tabela 10: Parâmetros cinéticos de adsorção do DNA pelo Eudragit® E100/PEO a partir dos gráficos do modelo de pseudo-primeira ordem e pseudo-segunda ordem.	80
Tabela 11: Parâmetros isotérmicos para a adsorção do DNA pelas fibras eletrofiadas do Eudragit® E100/PEO.	81
Tabela 12: Comparação da capacidade e tempo de adsorção deste trabalho com dados correspondentes encontrados na literatura.	82

LISTA DE ABREVIATURAS

DNA	Ácido Desoxirribonucleico
dNTPs	Desoxyribonucleotídeos Fosfatados de Alta Qualidade
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
PCR	Reação em Cadeia de Polimerase
PEO	Óxido de Polietileno
TAE	Tris, ácido Acético e EDTA
TBE	Tris, ácido Bórico e EDTA

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	vi
RESUMO.....	viii
ABSTRACT	ix
LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE TABELAS	xiii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xiv
1 INTRODUÇÃO.....	1
1.1 OBJETIVOS.....	4
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	5
2.1. ELETROFIAÇÃO	5
2.1.1 Técnica de eletrofiação	5
2.1.2 Influência de parâmetros de preparação sobre a morfologia de fibras eletrofiadas.....	7
2.2 CORANTES – CONTAMINANTES AMBIENTAIS.....	11
2.2.1 Interações entre corante e material adsorvente	12
2.2.2 Classificação dos corantes.....	14
2.3 ÁCIDO NUCLEICO: DNA.....	17
2.4 POLÍMEROS.....	20
2.4.1 Eudragit® L100	20
2.4.2 Eudragit® E100	22
2.4.3 Óxido de Polietileno.....	23
2.5 ESTUDO SOBRE ADSORÇÃO	24
2.5.1 Equilíbrio de adsorção.....	26
2.5.2 Termodinâmica de adsorção	31
2.5.3 Cinética de adsorção.....	32
2.6 REMOÇÃO E PURIFICAÇÃO DO DNA.....	35
2.7 PCR (Reação em Cadeia da Polimerase).....	36
2.8 ELETROFORESE	38
2.9 TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO	40
2.9.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	40
2.9.2 Espectroscopia de absorção no UV-Vis	41
2.9.3 Espectroscopia Raman	41

3	MATERIAIS E MÉTODOS	43
3.1	MATERIAIS	43
3.1	PREPARAÇÃO DAS SOLUÇÕES POLIMÉRICAS	43
3.2	PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS - ELETROFIAÇÃO	44
3.3	MÉTODOS DE CARACTERIZAÇÃO E TRATAMENTO DE DADOS	45
3.4	EXPERIMENTOS DE ADSORÇÃO DO CORANTE	45
3.5	TESTES DE ADSORÇÃO IÔNICA	46
3.6	EXPERIMENTOS DE DESSORÇÃO DO CORANTE	46
3.7	EXPERIMENTOS DE ADSORÇÃO DO DNA	46
3.7.1	Remoção e quantificação do DNA	46
3.7.2	Experimentos de adsorção do DNA	47
3.8	AMPLIFICAÇÃO E DETECÇÃO DO MATERIAL EXTRAÍDO	48
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	51
4.1	INFLUÊNCIA DA TAXA DE INFUSÃO E DA CONCENTRAÇÃO DA SOLUÇÃO NA MORFOLOGIA DAS FIBRAS DE EUDRAGIT® L100	51
4.2	EFEITO DA NATUREZA DO CORANTE ADSORVIDO	58
4.3	EFEITO DO pH DA SOLUÇÃO NO PROCESSO DE ADSORÇÃO	60
4.4	ENSAIOS DE ADSORÇÃO	63
4.4.1	Estudo da cinética de adsorção	66
4.4.2	Isotermas de adsorção	70
4.5	ENSAIOS TERMODINÂMICOS	73
4.6	REGENERAÇÃO DO ADSORVENTE	73
4.7	CARACTERIZAÇÃO DE FIBRAS FUNCIONAIS DE EUDRAGIT® E100/PEO	74
4.8	ESPECTROSCOPIA RAMAN	76
4.9	ENSAIOS DE ADSORÇÃO	77
4.9.1	Estudo da cinética de adsorção	77
4.9.2	Isoterma de adsorção	81
4.10	ENSAIOS DE PCR	83
5	CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	85
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	88
	APÊNDICE	115

1 INTRODUÇÃO

Com o aparecimento e avanço da nanotecnologia, foi possível desenvolver materiais com estruturas cada vez menores para diversas aplicações. A produção das fibras com diâmetro de micrometros a nanômetros, a partir da técnica de eletrofiação (Reneker e Chun, 1996), torna esta técnica uma candidata promissora para o desenvolvimento de produtos nanotecnológicos pela indústria especializada (Lin, 2011).

A eletrofiação é uma técnica simples e sua montagem experimental consiste de uma fonte de alta tensão, uma seringa com capilar metálico contendo uma solução polimérica e um coletor aterrado. A partir da fonte de alta tensão, uma força eletrostática é gerada entre o capilar e o coletor, formando as estruturas fibrilares que serão depositadas sobre o coletor metálico. As micro/nanofibras eletrofiadas apresentam uma grande área superficial/volume, característica que possibilita uma maior interação com o corante no processo de adsorção.

Na literatura, atualmente, nota-se uma grande variedade de estudos e aplicações, propiciados pelos avanços nas pesquisas de desenvolvimento e produção das fibras eletrofiadas (Aruna *et al.*, 2017; Cheng *et al.*, 2017; Drosou *et al.*, 2017; Hu *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2017). As potenciais aplicações vão desde a biotecnologia e indústria farmacêutica por meio de encapsulação e liberação controlada de fármacos, como a aplicação em filtração, adsorção, regeneração muscular, células solares, supercapacitores, bactericidas, entre outros.

A aplicação de copolímeros em bloco (família Eudragit) como suporte para eletrofiação tem sido relatada na literatura como um modelo promissor para diferentes aplicações (Balogh *et al.*, 2017; Frizzell *et al.*, 2017; Jia *et al.*, 2017). As propriedades químicas melhoradas das fibras eletrofiadas de Eudragit são tipicamente proporcionadas pela incorporação de aditivos poliméricos. O uso do óxido de polietileno como polímero auxiliar no processo de eletrofiação apresenta vantagens em relação à biocompatibilidade e biodegradabilidade. É relatado que as fibras eletrofiadas baseadas em óxido de polietileno apresentam distribuição bimodal de diâmetro (Zhou *et al.*, 2011) e fornecem reforço nas propriedades mecânicas das fibras mistas. A influência do óxido de polietileno no reforço das propriedades

mecânicas das fibras eletrostáticas é confirmada por Andersson et al. (Andersson et al., 2014).

Os polímeros entéricos Eudragit® L100 preparados pelo processo de eletrofição (Shen et al., 2009; Araújo et al., 2016), são relatados na literatura em sistemas de liberação de fármacos (Yu et al., 2014; Illangakoon, 2016) e também em excipientes de substâncias (Lauer et al., 2011; Naha et al., 2013), sendo amplamente utilizados em forma de microcápsulas, mas com uma aplicação inovadora para a adsorção de corantes iônicos.

Fibras eletrofiadas do polímero entérico Eudragit® E100, preparadas a partir da técnica de eletrofição, até o momento não foi relatado na literatura, bem como sua aplicação no processo de adsorção de material genético, tornando-se um material inovador, tanto em sua produção quanto em sua aplicação.

Neste contexto, a utilização destas fibras poliméricas eletrofiadas a partir de polímeros entéricos como matrizes adsortivas para a remoção de corantes e materiais genéticos, torna este material estruturado bastante promissor.

A remoção de corantes do corpo de água vem sendo explorada por diferentes métodos no tratamento de águas residuais, como a sedimentação (Cheremisinoff, 2001), filtração (Avlonitis et al., 2008), tratamento químico (Zhou et al., 2008), oxidação (Cui et al., 2012; Labiadh et al., 2015), tratamento eletroquímico (Faouzi et al., 2007; Gupta et al., 2007), processo (avançado) de oxidação (Bandala et al., 2008), nanofiltração (Liu et al., 2017) e tratamento biológico (Barragán et al., 2007). No entanto, devido à natureza seletiva na troca de íons, a escolha pelo processo de adsorção se dá, comparado com outros métodos para a remoção de corantes, pela presença de alguns fatores. Podemos citar alguns destes fatores: o baixo custo, a seletividade para compostos específicos e eficiência (Khan et al., 2014; Yan et al., 2015), tomando como base a redução de resíduos nocivos.

Atualmente, novos materiais estruturados que apresentem afinidades com as moléculas de DNA têm sido desenvolvidos com o intuito de melhorar o rendimento e a pureza do material extraído, bem como facilitar, automatizar e reduzir o tempo na extração. Podemos citar como novos materiais utilizados no processo de remoção de DNA os nanocompósitos magnéticos (Medina-Llamas et al., 2014) e as matrizes

sólidas compostas por membrana, como por exemplo a miniprep Sigma-Prep™ (kit para rápida purificação de DNA plasmídeo à partir de células de bactérias)(Aldrich, 2014) e cartões FTA® (papel filtro que preserva o DNA, utilizado para colheita, transporte, armazenamento e isolamento de ácidos nucleicos) (Healthcare, 2011), já disponíveis no mercado.

Este trabalho possui duas aplicações centrais para fibras eletrofiadas. A primeira visa explorar parâmetros na produção das fibras de Eudragit® L100 através da síntese e caracterização físico-química e estrutural, bem como o potencial das fibras como eficientes adsorventes seletivos para a remoção de corantes com caráter iônico presentes em soluções aquosas, descrevendo os efeitos dos diâmetros das fibras, a quantidade do adsorvente, a concentração do corante, o efeito do pH inicial da solução e a taxa de adsorção do corante. A segunda, visa o uso de fibras eletrofiadas de Eudragit® E100/PEO como material alternativo para os métodos de rápida recuperação da cadeia dupla de DNA utilizados atualmente. Para nosso conhecimento, a aplicação deste material no processo de adsorção, ainda não foi relatado na literatura, tornando este trabalho como único.

1.1 OBJETIVOS

Este trabalho consiste na produção de materiais poliméricos eletrofiados de Eudragit® L100 para aplicação na remoção de corantes iônicos de soluções aquosas e na produção de materiais poliméricos eletrofiados de Eudragit® E100/PEO para a remoção de DNA.

Os objetivos específicos são:

- Obter as fibras de Eudragit® L100;
- Obter as fibras de Eudragit® E100/PEO;
- Otimizar a produção das fibras de Eudragit® L100 com a variação dos parâmetros da solução para a obtenção das fibras eletrofiadas com diferentes diâmetros;
- Determinar a influência do diâmetros das fibras eletrofiadas de Eudragit® L100 na remoção dos corantes;
- Avaliar a morfologia das fibras eletrofiadas de Eudragit® L100 com diferentes diâmetros;
- Avaliar a capacidade de remoção seletiva de corantes iônicos pelas fibras eletrofiadas.
- Quantificar o material genético extraído pela membrana de Eudragit® E100/PEO;
- Analisar o material genético adsorvido pela membrana de Eudragit® E100/PEO;
- Avaliar o método de remoção de DNA, visando à amplificação do DNA pela técnica de PCR (reação em cadeia da polimerase);

2 REVISÃO DA LITERATURA

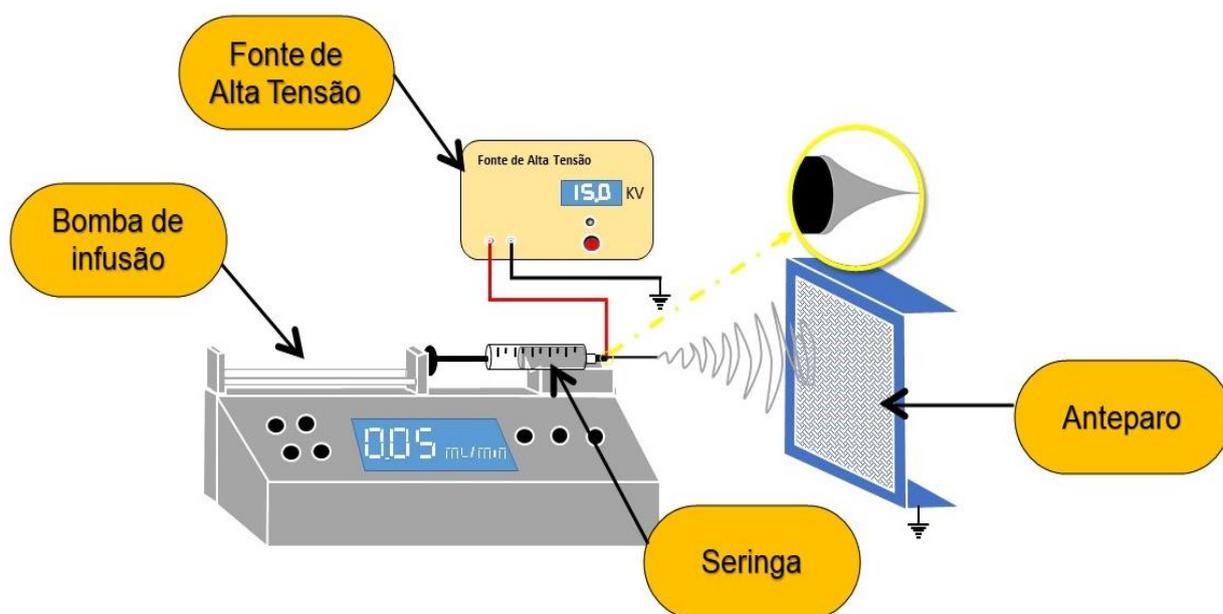
2.1. ELETROFIAÇÃO

2.1.1 Técnica de eletrofiação

A eletrofiação (*electrospinning*, em inglês) consiste em uma técnica simples e versátil desenvolvida entre os anos de 1934 e 1944 a partir de patentes de A. Formhals (Formhals, 1934; Formhals, 1939; Formhals, 1943; 1944), que permite a produção de fibras poliméricas com diâmetros que variam de micrometros a nanometros (Eichhorn e Sampson, 2005). Diversas técnicas são capazes de produzir filamentos poliméricos com diâmetros que variam a uma escala micrométrica, tais como fiação à seco (*dry spinning*), fiação fundida (*melt spinning*), fiação úmida (*wet spinning*), e fiação via gel (*gel spinning*) (Frenot e Chronakis, 2003; Huang *et al.*, 2003).

A técnica de eletrofiação é um processo bastante eficiente e inovador que permite produzir membranas poliméricas fibrilares, com diâmetros inferiores a 100 *nm* (Figura 1).

Figura 1: Esquema ilustrativo do processo de eletrofiação.



Fonte: Autoria própria.

O princípio de eletrofiação é baseado em um intenso campo elétrico (gerado por uma fonte de alta tensão, da ordem de dezenas de kV) aplicado sobre um capilar metálico (contendo uma solução polimérica). O material (solução polimérica) que se encontra na seringa é empurrado pelo êmbolo com o auxílio de uma bomba de infusão (ou por ação da gravidade), escoando pelo capilar metálico até formar uma gota na saída do capilar. Neste momento, as cargas elétricas são acumuladas na superfície da gota devido à presença do campo elétrico externo, provocando um processo de separação de cargas gerado pela competição entre a força eletrostática (ação repulsiva) e a tensão superficial da solução (ação coesiva); fazendo com que a gota sofra uma deformação para a forma de um cone, denominado cone de Taylor (Taylor, 1969; Meesters *et al.*, 1992; Hohman *et al.*, 2001).

A superfície do fluído na ponta do capilar metálico começa a alongar (conforme a intensidade do campo elétrico vai aumentando) e quando o campo elétrico atinge um valor crítico (o mínimo valor necessário para que a força eletrostática supere a força correspondente da tensão superficial), a solução passa a ser ejetada da ponta do capilar metálico e acelerada pelo campo elétrico em direção ao coletor aterrado. Durante esse percurso, o jato da solução polimérica será submetido a um processo de alongamento e instabilidade, possibilitando que as fibras formadas sejam delgadas e longas. Durante o alongamento do jato, o solvente é evaporado, possibilitando com que as fibras estejam secas ao serem depositadas (Huang *et al.*, 2003).

No processo de alongamento, o jato da solução polimérica passa por duas regiões diferentes: uma região estável e uma outra região instável. Na região estável, a superfície da solução polimérica interage com o campo elétrico possibilitando o alongamento uniforme do jato (região com baixa aceleração do jato). Já na região instável, o jato sofre um alongamento mais intenso, apresentando trajetória em forma de espiral, uma vez que esta é a zona de transição do polímero do estado líquido para o estado sólido (Rutledge *et al.*, 2000; Lam, 2004).

Durante a deformação da gota, a tensão superficial favorecerá a sua forma esférica, enquanto que a força eletrostática contribuirá para sua deformação e alongamento. Quando a força eletrostática superar a força decorrente da tensão superficial, um jato será ejetado e carregado até o coletor metálico.

2.1.2 Influência de parâmetros de preparação sobre a morfologia de fibras eletrofiadas

Os parâmetros envolvidos no processo de eletrofiação e que interferem na morfologia das estruturas eletrofiadas resultantes são muitos, sendo subdivididos em parâmetros da solução, do processo e ambientais. Cada parâmetro apresenta uma determinada influência sendo fundamental para o controle na estrutura e morfologia das fibras produzidas (Megelski *et al.*, 2002).

➤ Parâmetros da solução

Os parâmetros da solução que influenciam na morfologia das fibras correspondem à viscosidade, tensão superficial da solução polimérica, tipo de solvente, concentração da solução, pressão de vapor do solvente e peso molecular do polímero.

Viscosidade: O controle da viscosidade da solução polimérica é um parâmetro primordial para a produção de fibras eletrofiadas. O grau de emaranhamento entre as cadeias do polímero descreve a possibilidade de formação de fibras. Há uma faixa de viscosidade que determina se a solução é propícia ou não para a formação de fibras. Com uma viscosidade muito baixa, não é possível formar fibras contínuas e se a viscosidade for muito alta, não há a formação do jato para produção das fibras. A viscosidade da solução polimérica está intrinsecamente relacionada com a concentração da solução e com a massa molecular do polímero (Gupta *et al.*, 2005; Zhao *et al.*, 2005; Wang *et al.*, 2009).

Tensão superficial: A natureza do solvente afeta a tensão superficial da solução polimérica. A presença de contos em pequenas quantidades ou a ausência das mesmas pode ser determinada com a mudança do solvente ou com a redução da tensão superficial. A redução na tensão superficial pode suprir a necessidade de elevadas tensões elétricas durante o processo para a formação das fibras mais homogêneas. No entanto, se houver um aumento na tensão superficial, haverá a formação de gotículas ejetadas (como ocorre no *electrospray*) devido a formação de jatos instáveis durante o processo de eletrofiação (Lee *et al.*, 2003; Zuo *et al.*, 2005; Bhardwaj e Kundu, 2010).

Solvente: A natureza do solvente afeta a morfologia das fibras a partir de parâmetros tais como: taxa de evaporação, polaridade, tensão superficial, viscosidade, massa molar, graus de emaranhamento e condições ambientais. A taxa de evaporação do solvente provoca uma mudança dinâmica na distribuição de cargas e na forma ao longo do jato eletrofiado. Algumas fibras podem apresentar poros em sua estrutura obtida na eletrofiação provocadas pela evaporação do solvente, tornando-a termodinamicamente instável (Zhang *et al.*, 2002; Wannatong *et al.*, 2004).

Concentração: Há uma variação na concentração do soluto que favorece a formação de fibras contínuas e uniformes, existindo um limite mínimo para que seja possível a formação do cone de Taylor e, conseqüentemente, a formação das fibras. Não é possível definir em regra os valores mínimos por cada solução, tendo em vista a particularidade de cada solução. Os valores que definem a variação (máximo, intermediário e mínimo) da concentração ideal são diferentes para cada conjunto de soluto/solvente (Megelski *et al.*, 2002). Sendo assim, quando a solução encontra-se com uma baixa concentração, favorece a formação de contas (ou pérolas), estruturas em forma de gotas (ver Tabela 1). No entanto, à medida em que vai aumentando a concentração do soluto, as fibras serão mais uniformes e espessas, bem como mais porosas (Deitzel, J. M. *et al.*, 2001; Gupta *et al.*, 2005; He *et al.*, 2008; Essalhi e Khayet, 2014).

Tabela 1: Morfologia resultante no processo de eletrofiação a depender da concentração do polímero utilizada.

CONCENTRAÇÃO DO SOLUTO	MORFOLOGIA DAS ESTRUTURAS
Baixa	Esferas, partículas
Intermediária	Esferas, fios com contas e fios
Alta	Fios

Fonte: Autoria própria.

Pressão de vapor do solvente: A pressão de vapor de um líquido é uma grandeza que descreve o grau de volatilidade de um determinado solvente. Ao aferir a pressão do vapor de um líquido que se encontra em equilíbrio termodinâmico,

podemos atrelá-lo à volatilidade (maior a pressão, maior a volatilidade) (Swalin, 1972). A pressão de vapor de um solvente está intimamente ligado ao efeito de separação de fase entre o polímero e o solvente que determina a produção de poros nas fibras depositadas, resultantes do processo de eletrofição (Li *et al.*, 2014). Portanto, os “buracos” deixados na superfície do polímero são decorrentes da evaporação do solvente; quanto maior a volatilidade, mais rápida será a evaporação.

Massa molecular: A massa molecular do polímero representa um fator determinante na produção das fibras eletrofiadas por afetar diretamente a viscosidade, tensão superficial e condutividade da solução polimérica. Quando as soluções poliméricas possuem um baixo peso molecular, as fibras eletrofiadas tendem a apresentar a formação de contas, e quando as soluções possuem um alto peso molecular, as fibras eletrofiadas tendem a se formarem com uma maior uniformidade e com diâmetros maiores. Além disso, para uma concentração constante, quanto maior for a massa molecular do polímero, maior será o grau de emaranhamento entre as cadeias poliméricas e maior será a viscosidade da solução (Koski *et al.*, 2004; Gupta *et al.*, 2005; Bhardwaj e Kundu, 2010). Entretanto, podemos obter as mesmas estruturas se utilizarmos um polímero com alto valor da massa molecular com uma menor concentração, obtendo efeitos na eficiência e no custo de produção das fibras.

➤ Parâmetros de processo

Tratando-se dos parâmetros relacionados ao processo, destacam-se a tensão elétrica aplicada, o tipo de coletor, a distância do coletor ao capilar metálico e a taxa de injeção da solução.

Diferença de potencial: As tensões aplicadas entre capilar e coletor chegam a valores da ordem de dezenas de quilovolts e são determinantes na intensidade do campo elétrico aplicado entre os terminais da eletrofição. A indução de cargas elétricas na solução polimérica é o que viabiliza a formação do cone de Taylor e, conseqüentemente, a formação das fibras depositadas sobre o coletor. O aumento da tensão aplicada (mantendo-se os outros parâmetros experimentais constantes) provoca uma redução no diâmetro das fibras devido ao estiramento da solução, aumentando a probabilidade de formação de defeitos estruturais (Zuo *et al.*, 2005; Thompson *et al.*, 2007; Guerrini *et al.*, 2009).

Tipo de coletor: O tipo de coletor é um fator determinante na disposição das fibras sobre o coletor. O processo de coleta, dado pelo tipo de coletor, pode descrever uma certa ordem; em caso contrário, as mesmas cairiam sobre o coletor de forma desordenada (Shin *et al.*, 2001; Matthews *et al.*, 2002; Laurencin *et al.*, 2008). O coletor do tipo cilindro rotatório tem objetivo de obter fibras alinhadas através da tração fornecida pela velocidade de rotação do cilindro. A velocidade tangencial do cilindro e a velocidade de aceleração do jato de eletrofiação devem estar ajustados para que a fibra seja coletada e esticada ao redor do cilindro ao mesmo tempo (Huang *et al.*, 2003). No coletor do tipo eletrodos paralelos (barras espaçadas e aterradas), o campo elétrico é moldado de modo a prender o jato e focalizar sua deposição. Nessa configuração, as fibras apresentam-se bastante alinhadas (Li, D. *et al.*, 2003).

Distância de trabalho: A distância entre o capilar metálico e o coletor aterrado influencia diretamente no diâmetro e na morfologia das fibras. A menor distância de trabalho é definida pelo tempo mínimo necessário para que o solvente evapore até atingir o coletor. Essa distância mínima se torna necessária para que se obtenha fibras mais uniformes, sem a presença de contas em sua estrutura. Essa distância de trabalho é muito relativa, em que para alguns polímeros não se torna tão relevante em relação a outros fatores. No entanto, essa distância pode determinar se as fibras formadas apresentarão formas cilíndricas (normalmente para distâncias maiores) ou achatadas, como fitas (em casos de distâncias menores) (Ki *et al.*, 2005; Zhang *et al.*, 2005; Thompson *et al.*, 2007).

Taxa de injeção: A taxa de injeção da solução polimérica determina a quantidade de material que chega até a extremidade do capilar e na velocidade de ejeção desse material. Para uma taxa de injeção muito alta, as fibras ejetadas chegarão ao coletor ainda úmidas por não ter havido tempo suficiente para que o solvente pudesse ter evaporado totalmente, formando fibras de baixa qualidade. Contudo, quanto maior for a taxa de infusão, maior será o diâmetro das fibras formadas e maior porosidade nas fibras (Tan *et al.*, 2005; Zuo *et al.*, 2005).

➤ Parâmetros ambientais

Por fim, temos os parâmetros influenciados pelas condições ambientais, em que podemos descrever a temperatura e a umidade (Bhardwaj e Kundu, 2010; Costa *et al.*, 2012).

Temperatura: A influência da temperatura sobre o processo de formação das fibras está definida pelas ações contrárias exercidas pelas moléculas do meio sobre as moléculas da superfície do líquido. A tensão superficial da solução diminui com a temperatura, pois com o aumento da agitação térmica as forças de coesão diminuem. O diâmetro médio das fibras sofre alterações devido a temperatura interferir diretamente na taxa de evaporação do solvente e na viscosidade da solução polimérica. Portanto, quanto maior for a temperatura, maior será a taxa de evaporação e menor será a viscosidade da solução, produzindo assim fibras mais uniformes com menores diâmetros (Mit-Uppatham *et al.*, 2004; De Vrieze *et al.*, 2009).

Umidade: O aumento da umidade relativa também pode influenciar as fibras eletrofiadas, causando a formação de poros em sua superfície. A separação de fases (polímero-solvente) e a evaporação do solvente durante o processo de deposição pode descrever a formação dos poros (Thompson *et al.*, 2007). O aumento da umidade relativa retarda a evaporação do solvente e conseqüentemente deixa as fibras ainda úmidas formando um filme sobre o coletor. Dependendo da natureza química do polímero, o efeito da umidade pode representar um aumento ou redução no diâmetro médio das fibras (Casper *et al.*, 2004; De Vrieze *et al.*, 2009).

2.2 CORANTES – CONTAMINANTES AMBIENTAIS

A utilização de corantes naturais surgiu com as primeiras civilizações para o tingimento do corpo e de peles, demarcação de territórios e inscrições em rochas e árvores, e se perpetuou até meados do século XIX. O primeiro corante sintético, chamado de mauveína, foi sintetizado em 1856, dando início à produção em grande escala de corantes sintéticos (Huebner, 2006).

A contaminação das águas representa um grande problema para a sociedade atual (O'Neill *et al.*, 1999). O crescimento da população acompanhado do aumento nas atividades industriais são normalmente associados à degradação da condição ambiental. Este tipo de crescimento vem acompanhado de diversos tipos de problemas ambientais, tais como a poluição das águas (Yan *et al.*, 2015). O aumento

da atividade industrial resulta em uma contaminação progressiva das águas pluviais através do despejo de materiais diversos, tais como metais pesados e corantes orgânicos, caracterizando grandes riscos para as espécies vivas (Szlinder-Richert *et al.*, 2011; Hasan e Jhung, 2015; Yan *et al.*, 2015; Zhao *et al.*, 2015).

Com o desenvolvimento industrial, a utilização de corantes em diversos setores (tais como as indústrias de couro, papel, cosméticos, plásticos, automotiva, madeira, solvente e tintas, farmacêutica e, principalmente, a indústria têxtil) cresceu bastante, criando uma demanda que necessitava de uma maior variedade de corantes artificiais para atender às diversas necessidades. Os critérios para produção de corantes podem ser classificados como: a natureza do material a ser tingido (como, por exemplo, a fibra têxtil), custo econômico, estrutura do corante e da fibra, classificação e disponibilidade do corante para aplicação, propriedades de fixação, capacidade de absorver luz, dentre outras propriedades (Guaratini e Zanoni, 2000; Shahid e Mohammad, 2013).

A dispersão de corantes utilizados para tingimento solúveis em água nos efluentes reduz a transparência do corpo de água, provocando uma redução na transmissão de luz solar através da água, afetando a atividade fotossintética dos organismos aquáticos presentes naquele meio. A remoção destes resíduos orgânicos das águas e efluentes é cada vez mais importante e necessário para a preservação das espécies (Szlinder-Richert *et al.*, 2011; Hasan e Jhung, 2015), pois os corantes sintéticos provocam modificação de ciclos biológicos (tais como os processos de fotossíntese), além de alguns serem mutagênicos e/ou carcinogênicos (García *et al.*, 2014; Chung, 2016; Li *et al.*, 2017) .

2.2.1 Interações entre corante e material adsorvente

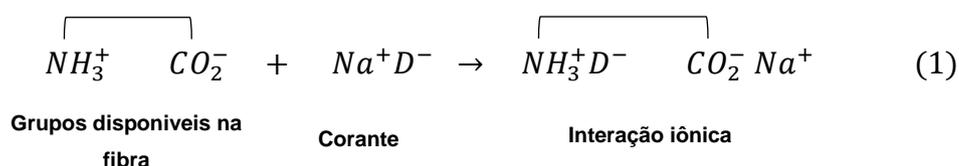
O processo de adsorção de corantes depende da natureza do corante, do tamanho dos sítios ativos do material adsorvente e da natureza e polaridade da superfície do adsorvente. Entretanto, a forma de fixação das moléculas no sólido presente na solução aquosa pode envolver fenômenos químicos, físicos e diferentes forças (Casey, 1952; Guaratini e Zanoni, 2000; Hao *et al.*, 2000; Timofei *et al.*, 2000).

➤ Penetração das moléculas do corante

Durante o processo de adsorção, a interação entre as moléculas do corante e a superfície do material adsorvente pode permitir a acessibilidade do corante à estrutura interna do material adsorvente caso as moléculas do corante possuam diâmetros menores que as regiões acessíveis do adsorvente. A penetração do corante no material adsorvente depende da dimensão, formato e área superficial do material adsorvente e da dimensão das moléculas do corante. Corantes básicos e ácidos, são facilmente dispersos em solução aquosa, tendo sua penetração na estrutura (ou nos sítios ativos) do adsorvente facilitada. Entretanto, alguns corantes formam aglomerados, necessitando de aquecimento para a dispersão e penetração no adsorbente.

➤ Interações iônicas

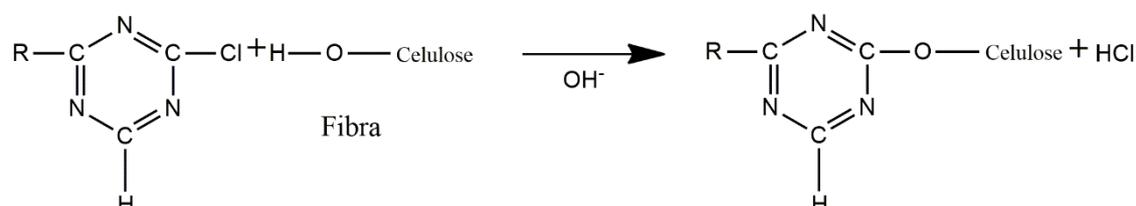
Interações mútuas entre os grupos carboxilatos e grupos amina presentes na estrutura do material adsorvente e a carga iônica da molécula do corante dependem da densidade de carga do corante e do adsorvente: quanto maior for a densidade de carga, mais forte será a interação. O mecanismo de interação iônica entre o grupo amina da fibra e o corante (D) pode ser observado na equação (1).



➤ Interações covalentes

Correspondem às interações originadas da ligação entre a molécula do corante e o grupo hidroxila, presentes na estrutura do material adsorvente. As ligações covalentes envolvem um compartilhamento de elétrons (Figura 2).

Figura 2: Exemplo de mecanismo de interação covalente entre o grupo reativo do corante e a hidroxila da fibra.



Fonte: Autoria própria.

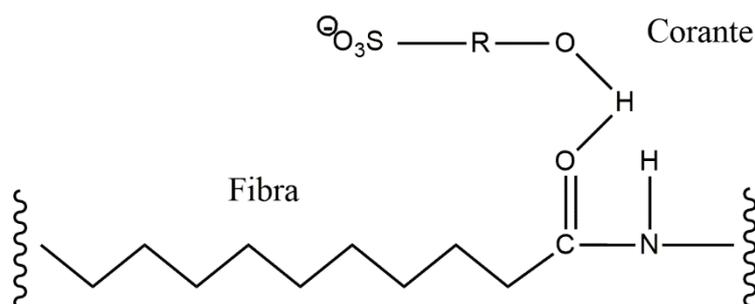
➤ Interações de van der Waals

A interação de van der Waals, similar a forças de coesão molecular, está intrinsecamente ligada a máxima aproximação entre a fibra e as moléculas do corante para que seja possível a atração das moléculas não carregadas eletrostaticamente.

➤ Interações de hidrogênio

São provenientes da interação entre os átomos de hidrogênio e um elemento altamente eletronegativo (como por exemplo o nitrogênio e o oxigênio) presente na estrutura no material adsorvente. As ligações de hidrogênio são mais fracas que as ligações covalentes e iônicas, e mais fortes que as ligações dipolo-dipolo (Figura 3).

Figura 3: Exemplo do mecanismo de interação de hidrogênio entre o corante e a fibra.



Fonte: Autoria própria.

2.2.2 Classificação dos corantes

Existem dois importantes componentes nos corantes: o cromóforo que é responsável por produzir a cor e o auxocromo que complementa o cromóforo e aumenta a afinidade entre o corante e as fibras (Gupta, 2009). Usualmente, a indústria têxtil utiliza corantes básicos, corantes ácidos, corantes reativos, corantes diretos, corantes azo, corantes dispersos e corantes de enxofre (Demirbas, 2009), podendo esses corantes serem classificados como aniônicos (compostos por corantes ácidos, diretos e reativos), catiônicos (corantes básicos) e não iônicos (corantes dispersos) (Mishra e Tripathy, 1993).

Os comprimentos de onda de absorção (λ) dos corantes aniônicos e catiônicos estudados são apresentados na Tabela 2, juntamente com suas estruturas químicas.

2.2.2.1 Corantes aniônicos

Os corantes aniônicos incluem muitos compostos das mais variadas classes de corantes com características diferentes em sua estrutura (como por exemplo antraquinona e trifenilmetano). Os corantes ácidos, diretos e reativos possuem caráter aniônico e grande parte dos corantes reativos interagem com o algodão e a lã para formar ligações covalentes devido à presença de um grupo eletrofílico, e possuem um baixo grau de fixação devido à hidrólise sofrida ao entrar em contato com soluções aquosas (Tabak *et al.*, 2009). Os corantes aniônicos ácidos possuem uma boa solubilidade em água, mas apresentam efeitos nocivos aos seres vivos por serem portadores de grupos sulfônicos (Attia *et al.*, 2006).

O corante aniônico alaranjado de metila é um corante estável, comumente utilizado como indicador de pH e como analisador de desempenho de fotocatalisadores visíveis e ultravioleta ativos, sendo nocivo aos seres vivos por oferecer grandes riscos à saúde. Devido a sua estabilidade, é amplamente utilizado na indústria têxtil, impressão e fotográfica.

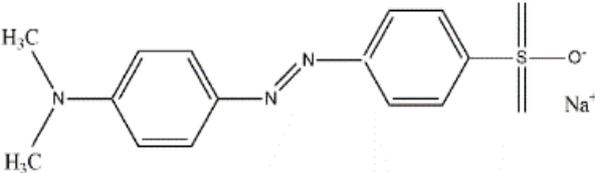
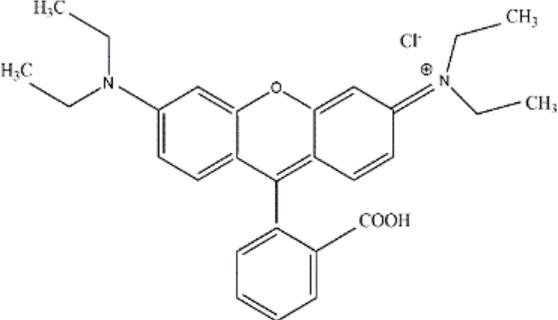
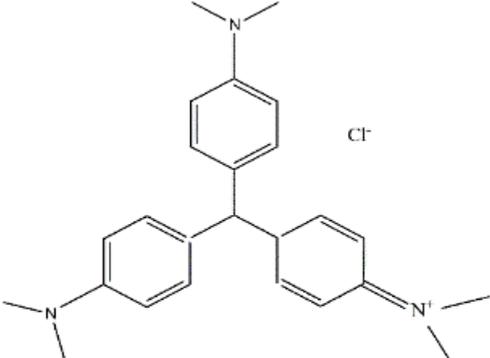
2.2.2.2 Corantes catiônicos

Os corantes catiônicos vêm sendo usados em diversas áreas, que seguem desde a indústria alimentícia até a medicina, alguns apresentando atividade bactericida (causam a morte de bactérias) e bacteriostática (inibem o crescimento das bactérias no meio) (Mohr, 2001; Floyd *et al.*, 2004). Os corantes catiônicos podem ser incorporados a outros materiais para estudos de fotodegradação, eletrocatalise, celulares solares e biosensores, com o intuito de compreender propriedades fotofísicas e fotoquímicas (Jana, 2000; Chatterjee e Mahata, 2001; Ensafi e Kazemzadeh, 2002). Estes corantes são extensivamente utilizados em tingimento de acrílico, lã, nylon e seda (Pimol *et al.*, 2008).

Dada a tendência característica de formar agregados termodinamicamente estáveis em soluções aquosas, novas bandas podem surgir no espectro de adsorção como consequência deste processo. Estas bandas podem apresentar comprimentos de onda maiores ou menores que a banda do monômero. Esta tendência, pode ser atribuída a diversas forças (forças de Van der Waals, ligação de hidrogênio, interações de dispersão, hidrofobia e de elétrons) (Ferreira, 1998).

O corante violeta de metila 2B (trifenilmetano) é largamente utilizado pelas indústrias têxtil e de papel, sendo um material bastante perigoso (mutagênico e venenoso mitótico), provocando problemas respiratórios e gastrointestinais ao ser inalado (Wu *et al.*, 2008; Dahri *et al.*, 2013; Bonetto *et al.*, 2015; Cho *et al.*, 2015). O corante rodamina B, corante orgânico solúvel em água, oferece grandes riscos à saúde humana e animal, por ser cancerígeno e pode apresentar graves consequências aos seres vivos se entrarem em contato com este corante, como por exemplo irritação na pele, vias respiratórias e olhos. Estes corantes são exaustivamente utilizados pela indústria, seja no tingimento de papel, tecidos ou couros e por isso, a remoção e tratamento destes contaminantes representa um passo fundamental para minimização das consequências causadas pelo descarte destes materiais no meio ambiente.

Tabela 2: Estrutura molecular e comprimento de onda específico dos corantes.

CORANTE	ESTRUTURA	λ
Alaranjado de metila		463 nm
Rodamina B		554 nm
Violeta de metila 2B		584 nm

Fonte: Autoria própria.

2.3 ÁCIDO NUCLEICO: DNA

Todos os organismos vivos possuem uma importante classe de macromoléculas biológicas cuja função é armazenar e transportar toda a informação genética de um organismo. O DNA (ácido desoxirribonucleico) e o RNA (ácido ribonucleico) representam esta classe de macromoléculas que detem as características de um ser vivo e o controle (direto e indireto) de todos os processos que ocorrem em um organismo (Brown, 2017). As moléculas de DNA estão presentes, na sua maioria, no núcleo das células ou na região nucleóide da célula. O recente desenvolvimento de técnicas baseadas na genômica com particular interesse na adsorção de ácidos nucléicos, amplificação (Zhao *et al.*, 2017) e análise afeta áreas relevantes como a produção animal e a saúde humana (Rothschild e Plastow, 2008). Este interesse vai desde áreas científicas quanto sociais, abrangendo áreas e aplicações distintas, tais como a genética (Branco *et al.*, 2015), medicina forense (Kasu e Shires, 2015), diagnósticos clínicos (Koontz *et al.*, 2015) e farmacológicos (Kieffer *et al.*, 1992). Em todos estes segmentos, o passo inicial corresponde à extração do DNA e é de fundamental importância a qualidade e a integridade das moléculas de DNA extraídos a partir de materiais como sangue, saliva, células epiteliais, fluídos, dentre outros, para o sucesso nas etapas posteriores (Costa e Moura, 2001).

O método padrão de triagem utilizado para a análise e detecção de ácido nucléico é a reação em cadeia da polimerase (PCR). Há, no entanto, uma grande necessidade de produzir sistemas portáteis de detecção materiais biológicos para o uso em pontos de atendimento (Cheung *et al.*, 2018). Em particular, o desenvolvimento de novas estratégias para um diagnóstico confiável, rápido e de baixo custo da febre amarela e da hepatite B e C (Escadafal *et al.*, 2014; Chevaliez e Pawlotsky, 2018), podem evitar milhares de mortes em áreas como a África e a América do Sul, devido o acesso limitado aos laboratórios biológicos.

O processo de isolamento das moléculas de DNA, a partir de uma dada amostra, pode seguir duas metodologias diferentes: extração por fase líquido-líquido ou por fase líquido-sólido (Tan e Yiap, 2009). O método que utiliza a fase líquido-líquido é baseado no uso de diversos solventes orgânicos utilizados nos processos de precipitação e centrifugação para a extração do DNA (Murray e Thompson, 1980). A

metodologia utilizada na fase líquido-sólido utiliza grânulos (Medina-Llamas *et al.*, 2014), colunas (Little, 1991) e monólitos compostos por sílica (Kendall *et al.*, 2014) para adsorver o DNA de uma solução aquosa. Estas metodologias padrões apresentam algumas desvantagens: complicados, demorados e passíveis de contaminação.

O DNA é considerado um polímero natural, uma molécula longa, formado por cadeias helicoidais, ligação de hidrogênio, dupla hélice e nucleotídeos (pentose + fosfato + base nitrogenada), semelhante a uma cadeia composta de subunidades chamadas de monômeros. A componente pentose é um açúcar que contém 5 carbonos, que pode ser a ribose ou desoxirribose. As bases nitrogenadas correspondem à duas classes denominadas púricas (Adenina e Guanina) e pirimidinas (Timina, Citosina e Uracila). Devido à presença de grupos fosfatos em sua estrutura, o DNA possui cargas negativas em cada nucleotídeo. A estrutura dos nucleotídeos pode ser visto na Figura 4.

Figura 4: Representação da estrutura do nucleotídeo.

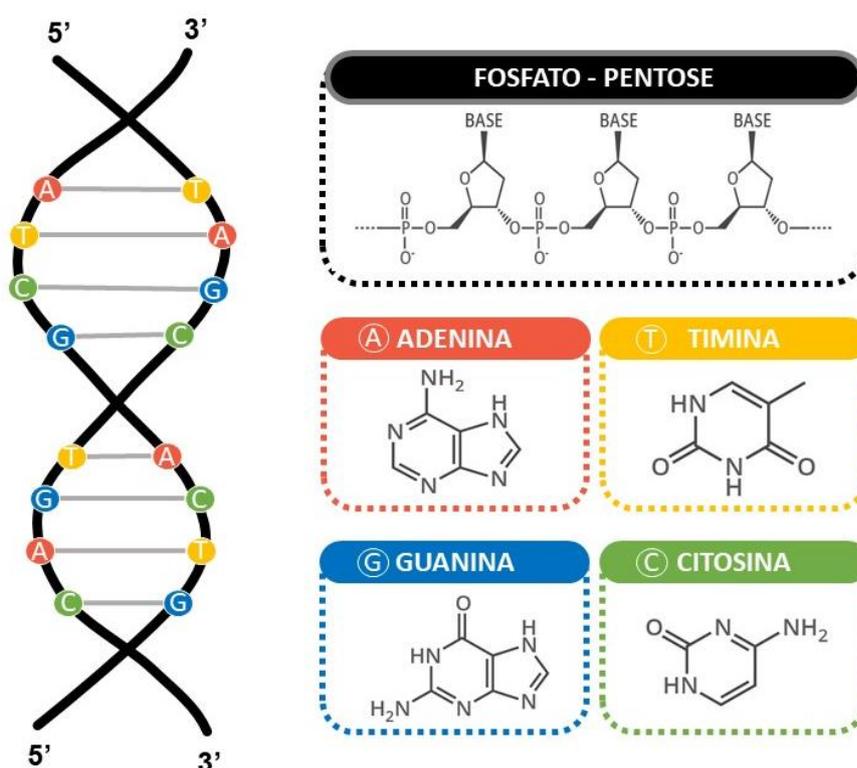


Fonte: Autoria própria.

As moléculas de DNA, nas células vivas, quase sempre contém dois polinucleotídeos (ligação de dois ou mais nucleotídeos através dos grupos fosfato formando um filamento) embrulhados um em torno do outro para formar a estrutura de dupla hélice (Watson e Crick, 1953). A estrutura de dupla hélice (Figura 5) é disposta de tal forma que o grupo fosfato e a componente pentose estão do lado de fora da hélice e suas bases nitrogenadas estão do lado de dentro, empilhadas umas em cima

das outras. Os dois polinucleotídeos correm em direções opostas (são antiparalelos); enquanto um filamento é orientado da direção 5' → 3', o outro terá a direção 3' → 5'. Os dois filamentos que constituem o DNA unem-se através de pontes de hidrogênio formando pares de bases; o fenômeno que descreve a junção das duas fitas é chamada de hibridização. Dentro de dupla hélice, ocorre o chamado pareamento de bases onde a base guanina só pode se unir à base citosina e a base timina só pode se unir à base adenina, devido às geometrias e as posições relativas dos átomos que são capazes de participar das ligações. O pareamento de bases entre a adenina e timina envolve duas ligações de hidrogênio, e que entre a guanina e citosina envolve três ligações de hidrogênio (Gould e Kollman, 1994).

Figura 5: Representação da cadeia dupla helicoidal do DNA e as estruturas químicas dos nucleotídeos.



Fonte: Autoria própria.

A dupla cadeia de DNA pode sofrer uma quebra de suas ligações de hidrogênio ao ser exposta a uma temperatura acima de 90°C, resultando em uma separação da fita dupla, fenômeno esse chamado de desnaturação. Para que as fitas se unam novamente, é necessário a redução da temperatura para valores próximos à 50°C,

permitindo a formação das pontes de hidrogênio, formando novamente uma hélice dupla (Regateiro, 2003; Purves *et al.*, 2006).

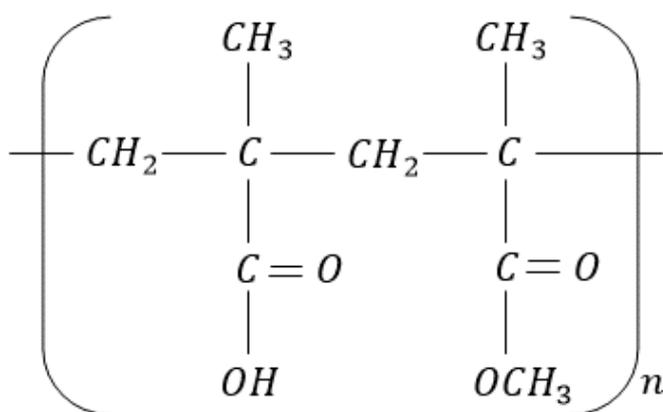
2.4 POLÍMEROS

2.4.1 Eudragit® L100

Os polímeros do tipo Eudragit® (Indústrias Evonik), representam uma classe de copolímeros entéricos não biodegradáveis, desenvolvido para uso em revestimento de desintegração rápida e de liberação sustentada. Novas aplicações vêm surgindo, tais como a liberação dependente do pH, revestimento entérico, biodisponibilidade, dentre outros, tornando-se um material bastante versátil (Patra *et al.*, 2017).

O Eudragit® L100 [poli(ácido metacrílico-b-metil metacrilato)] (Figura 6) é um copolímero de caráter aniônico composto pelo ácido metacrílico e pelo metil metacrilato, com razão molar 1:1 de grupos carboxílicos e ésteres livres (Lin *et al.*, 1995; Patra *et al.*, 2017) que proporciona uma solubilidade dependente do pH na água sendo tipicamente aplicada nos processos de liberação controlada. Este polímero, apresenta dissolução em pH de 6 a 7, e sua dependência no pH da solução aquosa, impede que em uma administração oral e de liberação controlada de fármaco, o componente bioativo deste fármaco seja liberado em pH próximo a 2. Dada a presença em sua estrutura de grupos de ácidos metacrílicos (metacrilatos), o polímero torna-se insolúvel em soluções ácidas ($\text{pH} < 3$) e solúvel em soluções alcalinas ou neutras ($6 < \text{pH} < 8$) (De Oliveira *et al.*, 2009).

Figura 6: Estrutura química do polímero Eudragit® L100.



Fonte: (Moustafine *et al.*, 2005).

O Eudragit® L100, tem sido sintetizado em varias formulações para diferentes aplicações (Morishita *et al.*, 1993; Cetin *et al.*, 2010; Hosny *et al.*, 2013; Elkasabgy *et al.*, 2014; Sareen *et al.*, 2014; Zhang, Y. *et al.*, 2014; Jiang *et al.*, 2015). No entanto, a utilização do Eudragit® L100 como uma matriz polimérica para produção de micro/nanofibras por eletrofiação tem sido pouco investigada (Zhang *et al.*, 2010; Shen *et al.*, 2011; Da Costa *et al.*, 2015). A característica de alta solubilidade do Eudragit® L100 apresenta vantagens importantes para a produção de nanofibras com base na técnica de eletrofiação (Balogh *et al.*, 2015; Illangakoon, 2016). As nanofibras de Eudragit® L100 preparadas pela técnica de eletrofiação (Shen *et al.*, 2009; Araújo *et al.*, 2016) são bastante utilizadas para sistemas de liberação de fármacos (Moustafine *et al.*, 2008; Yu *et al.*, 2014; Illangakoon, 2016) e como excipiente de substâncias (Lauer *et al.*, 2011; Naha *et al.*, 2013).

Devido o caráter iônico deste polímero, e que um dos grandes problemas ambientais corresponde aos corantes iônicos despejados nos efluentes, as micro/nanofibras poliméricas de Eudragit® L100 podem ser utilizadas como materiais adsorventes em soluções aquosas para a remoção desses corantes. A presença do ácido metacrílico (Arslan e Yiğitoğlu, 2008) como um grupo funcional na estrutura do Eudragit® L100 torna as fibras deste polímero um adsorvente seletivo de corantes devido à interação eletrostática entre os grupos após a dissociação química mediante imersão do polímero em solução aquosa.

Os materiais que apresentam capacidade de adsorção seletiva para certos corantes são escassos (Zhang *et al.*, 2012; Zhang, P. *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2016). Zhang *et al.* (Zhang *et al.*, 2012) relataram a possibilidade de adsorver seletivamente o corante violeta de metila em uma mistura com alaranjado de metila e rodamina B como corantes competitivos. Yan *et al.* (Yan *et al.*, 2014) descreveram a captura seletiva do corante catiônico azul de metileno a partir de uma mistura binária de azul de metileno e alaranjado de metila.

O uso do Eudragit® L100 como matriz para formação de fibras por eletrofiação, representa uma estratégia inovadora e interessante para o desenvolvimento de adsorventes mais eficientes, incorporando propriedades intrínsecas, como a estrutura porosa característica do polímero para a aplicações em liberação controlada (Illangakoon *et al.*, 2014; Illangakoon, 2016). Para efeito de conhecimento, a utilização

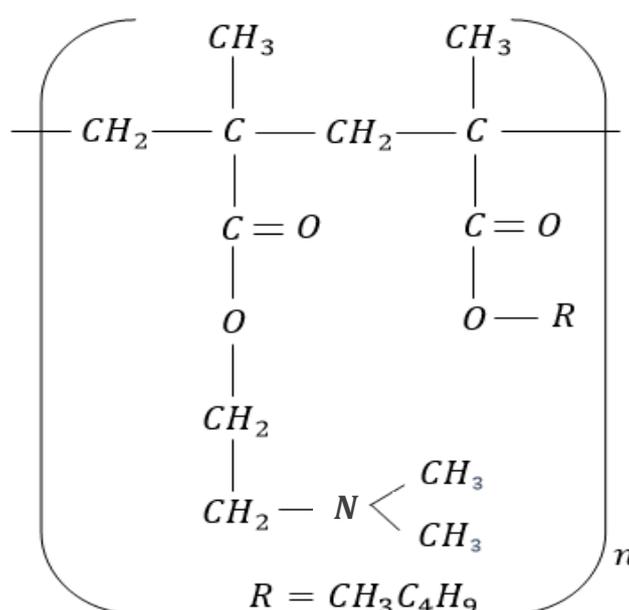
das fibras eletrofiadas de Eudragit® L100 para adsorção de corantes orgânicos não foi ainda mencionada na literatura.

O caráter iônico do Eudragit® L100 é bastante útil para diversas aplicações, como por exemplo: interação entre o polimetacrilato deste polímero (catiônico) com alguns fármacos (aniônico) (Quinteros *et al.*, 2008). Este caráter iônico surge como uma solução para grandes problemas ambientais correspondentes aos corantes iônicos que são despejados nos efluentes.

2.4.2 Eudragit® E100

O Eudragit® E100 [poli(butil metacrilato, 2-dimetilaminoetil metacrilato, metil metacrilato)] (Figura 7) é um copolímero de caráter catiônico composto pelo butil metacrilato, dimetilaminoetil metacrilato e metil metacrilato com razão molar 1:2:1, tendo como grupo funcional o dimetilaminoetil metacrilato, com baixa massa molecular e dependente do pH, sendo comumente usados no revestimento de filme, mascaramento de odor e sabor, proteção contra umidade e luz (Nikam *et al.*, 2011; Patra *et al.*, 2017). Este polímero, apresenta dissolução até pH 5 e acima, torna-se intumescida e permeável. Este polímero possui baixa viscosidade, alta capacidade de ligação de pigmento, excelente adesão e alta eficiência em revestimento fino (Industries, 2017).

Figura 7: Estrutura química do polímero Eudragit® E100.



Fonte: (Moustafine *et al.*, 2005).

De acordo com a literatura, o Eudragit® E100 tem sido utilizado em nanopartículas (Chandra Nandy e Mazumder, 2014), pulverização transdérmica (Paradkar *et al.*, 2015), solução oftálmica (Quinteros *et al.*, 2014), sistema flutuante de administração de fármacos (Punitha *et al.*, 2010), etc. Algumas pesquisas ainda mostram que o Eudragit® E100 tem sido incorporado em dispersões sólidas e em misturas físicas para melhorar a solubilidade e/ou dissolução de fármacos com pouca solubilidade em solução aquosa (Quinteros *et al.*, 2008).

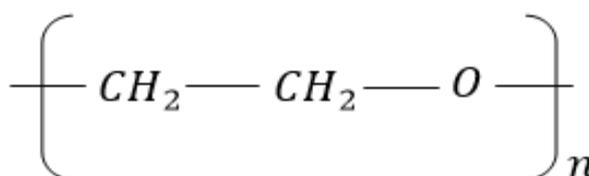
Micro/nanofibras poliméricas de Eudragit® E100 podem ser produzidas para serem utilizadas como materiais adsorventes em soluções aquosas para a remoção desses corantes. A presença do grupo funcional dimetilaminoetil metacrilato na estrutura do Eudragit® E100 torna estas fibras adsorventes seletivos de corantes, podendo interagir com corantes aniônicos, tais como alaranjado de metila, rosa de bengala e vermelho de metila.

A utilização do polímero Eudragit® E100 como matriz na produção de micro/nanofibras pelo método de eletrofiação, representa, desta forma, uma estratégia inovadora. Para o nosso conhecimento, a produção das fibras eletrofiadas de Eudragit® E100 não foi mencionada, na literatura, bem como a aplicação das mesmas para a aplicação na adsorção de corantes orgânicos.

2.4.3 Óxido de Polietileno

O óxido de polietileno (PEO) corresponde a um homopolímero, não iônico, solúvel em água, eletricamente neutro e altamente hidrofílico. Este polímero é amplamente utilizado na indústria farmacêutica e médica, por apresentar biocompatibilidade, sendo utilizado para liberação controlada de fármacos (Harris e Zalipsky, 1997). A estrutura química deste polímero é representado na Figura 8.

Figura 8: Estrutura química do polímero PEO.



Fonte: (Gosecki *et al.*, 2016).

O PEO apresenta diversas propriedades físicas que interessam a pesquisadores de inúmeras áreas (Li, J. *et al.*, 2003; Gillies *et al.*, 2005; Burgaz, 2011; Hansen *et al.*, 2016; Fernandes *et al.*, 2017). Diversas pesquisas encontradas na literatura apresentam que as cadeias do PEO fixadas na superfície do material, fisicamente ou quimicamente, formam uma camada superficial de hidratação que impede a adsorção de substâncias diferentes (Hower *et al.*, 2008).

O uso do PEO na técnica de eletrofição para produção de micro/nanofibras poliméricas tem sido amplamente estudado com ou sem a adição de outro polímero, dada suas propriedades que favorecem à eletrofição. (Fong *et al.*, 1999; Deitzel, J. *et al.*, 2001; Deitzel, J. M. *et al.*, 2001; Son *et al.*, 2004). A exploração do uso deste polímero vai desde o estudo dos parâmetros de eletrofição (Fong *et al.*, 1999; Huang *et al.*, 2003) até seu uso como polímero transportador de polissacarídeos (Lu *et al.*, 2006; Bonino *et al.*, 2011; Pakravan *et al.*, 2011).

2.5 ESTUDO SOBRE ADSORÇÃO

A adsorção corresponde a um processo de interação entre o *adsorbato* (componente em uma fase gasosa ou líquida) e o *adsorvente* (superfície sólida com grande área superficial e normalmente porosa). A interação que ocorre neste sistema descreve um processo de transferência das moléculas existentes no adsorbato para a superfície do adsorvente (Ruthven, 1984). O processo que ocorre no sentido inverso, retirar o material acumulado da superfície do sólido (adsorvente), é denominado dessorção.

No processo de adsorção todo o material presente na fase líquida é transferido para a superfície da fase sólida, devido à atração provocada pelas interações com a superfície do adsorvente. A migração das moléculas de uma fase para outra depende de condições experimentais, tais como concentração do adsorbato, estrutura química do adsorbato e do adsorvente, pH do meio, concentração do adsorbato na solução, tamanho da partícula do adsorvente e temperatura do sistema (Sanghi e Bhattacharya, 2002).

Alguns outros fatores são determinantes no processo de adsorção, tais como: a natureza do adsorvente (caracterizado por sua área superficial, tamanho do poro, densidade, grupos funcionais que se encontram na superfície do sólido e a

hidrofobicidade do material), a natureza do adsorbato (caracterizado pela polaridade, tamanho da molécula, da solubilidade e da acidez/basicidade) e as condições operacionais (temperatura, pH e natureza do solvente) (Cooney, 1998).

O processo de adsorção entre duas fases pode ser modelado conforme a Eq.(2) (Letterman, 1999):



onde A corresponde ao adsorbato e B corresponde ao adsorvente. O termo $A.B$ é o composto adsorvido no processo. A interação existente entre o adsorbato e o adsorvente, durante e após o processo, dá-se pela ação de forças químicas como ligações de hidrogênio, interação dipolo-dipolo e forças de van der Waals.

O processo de adsorção pode ocorrer de duas maneiras (física ou química) a depender do tipo de ligação que existe entre as moléculas do adsorbato e do adsorvente, sendo diferenciado pelas forças que causam este tipo de ligação. O processo de adsorção física, também chamada de físsorção, ocorre devido às forças de Van der Waals (similares às forças de coesão molecular) causado na superfície do adsorvente. Esta interação atrai e aprisiona as moléculas do adsorbato na superfície do adsorvente, descrevendo um processo rápido e reversível, decorrente das forças de atração intermolecular envolvidas. Entretanto, o processo de adsorção química, também conhecida por quimissorção, descreve a maneira que os átomos e moléculas se ligam ao adsorvente. Durante este processo, ocorre troca ou compartilhamento de elétrons entre as moléculas do adsorbato e o adsorvente por meio de ligações químicas que normalmente são covalentes, causando uma atração mútua que os mantém unidos (Mckay *et al.*, 1987; Masel, 1996; Srivastava e Eames, 1998). A Tabela 3 apresenta as diferenças entre a adsorção física e a adsorção química.

O processo de adsorção, em comparação a outros métodos, tem apresentado alta viabilidade dada sua eficiência no tratamento de efluentes. Entretanto, para que um material seja eficiente no processo de adsorção, este material adsorvente deve apresentar uma alta seletividade e capacidade de adsorção, bem como apresentar um baixo custo de produção (Mckay *et al.*, 1987).

Tabela 3: Comparação entre adsorção física e adsorção química (adaptado (Ruthven, 1984; Masel, 1996)).

ADSORÇÃO FÍSICA	ADSORÇÃO QUÍMICA
Forças de van der Waals	Comparáveis a ligações químicas
Não específica	Altamente específica
Adsorbato conserva sua espécie	Adsorbato transforma-se em uma espécie nova
Monocamadas ou multicamadas na superfície do adsorvente	Monocamadas na superfície do adsorvente
Rápido, reversível	Pode ser lento e irreversível
Baixo calor de adsorção	Alto calor de adsorção
A adsorção é limitada pela transferência de massa	Adsorção é baixa devido a barreira de ativação (associado à cinética química)

Fonte: Autoria própria.

2.5.1 Equilíbrio de adsorção

O processo de adsorção de uma determinada substância por um sólido adsorvente direciona o sistema para uma distribuição termodinâmica bem definida, obtida pelo equilíbrio estabelecido entre a concentração do adsorbato na solução aquosa e a concentração do adsorbato que foi adsorvido. Os dados experimentais obtidos podem ser representados em curvas dadas pela relação de equilíbrio entre as fases do adsorbato a uma temperatura constante - denominadas isotermas. As isotermas de adsorção são expressas pela concentração de equilíbrio do adsorvente *versus* concentração de equilíbrio do adsorbato (Mckay, 1995; Radecki, 1999).

Para se obter uma isoterma de adsorção, é necessário adicionar uma certa quantidade de massa de adsorvente em uma série de soluções, de volume (V) conhecido, com concentrações iniciais (C_0) diferentes e conhecidas. Durante o processo de adsorção, uma determinada concentração de adsorbato entra em contato com o adsorvente, promovendo a transferência de moléculas da solução aquosa para a superfície do sólido até o ponto em que o sistema entre em equilíbrio. Isto acontece quando as moléculas do adsorbato deixam de fluir do meio aquoso para a superfície

do adsorvente. Nesta situação, a concentração do adsorbato na fase líquida (C_e) permanece constante, pois o sistema entra em equilíbrio, podendo assim determinar a capacidade de adsorção do adsorvente (q_e). A relação de equilíbrio entre a concentração da solução e concentração do adsorvente é definida como isoterma de adsorção, podendo ser representada pelo gráfico q_e versus C_e , que determina o valor experimental da capacidade máxima de adsorção de um adsorvente (Mckay, 1995; Cooney, 1998).

A determinação do grau de remoção do corante foi estabelecida em termos da porcentagem de adsorção restante da amostra, o que corresponde à variação na concentração relativa de corante (Lei de Lambert-Beer) – de C_0 (concentração inicial de corante) para C_t (concentração de corante na solução aquosa no tempo t), calculado de acordo com a Eq.(3).

$$\%Adsorção = \frac{(C_0 - C_t)}{C_0} \times 100 \quad (3)$$

A capacidade de adsorção do adsorvente ou concentração de adsorbato adsorvida em função do tempo t , pode ser obtida pela Eq.(4):

$$q_t = \frac{(C_0 - C_t)V}{m} \quad (4)$$

Onde

- q_t Capacidade de adsorção ou quantidade adsorvida do adsorbato por unidade de massa do adsorvente no instante t , dado em $mg.g^{-1}$;
- C_0 Concentração inicial do adsorbato, dada em $mg.L^{-1}$;
- C_t Concentração de adsorbato no instante t , dada em $mg.L^{-1}$;
- V Volume da solução aquosa, dada em L ;
- m Massa de adsorvente, dada em g .

A capacidade de adsorção de equilíbrio é dado pela razão entre a quantidade de corante adsorvido em condições de equilíbrio pela massa do adsorvente, conforme Eq.(5).

$$q_e = \frac{(C_0 - C_e)V}{m} \quad (5)$$

Onde

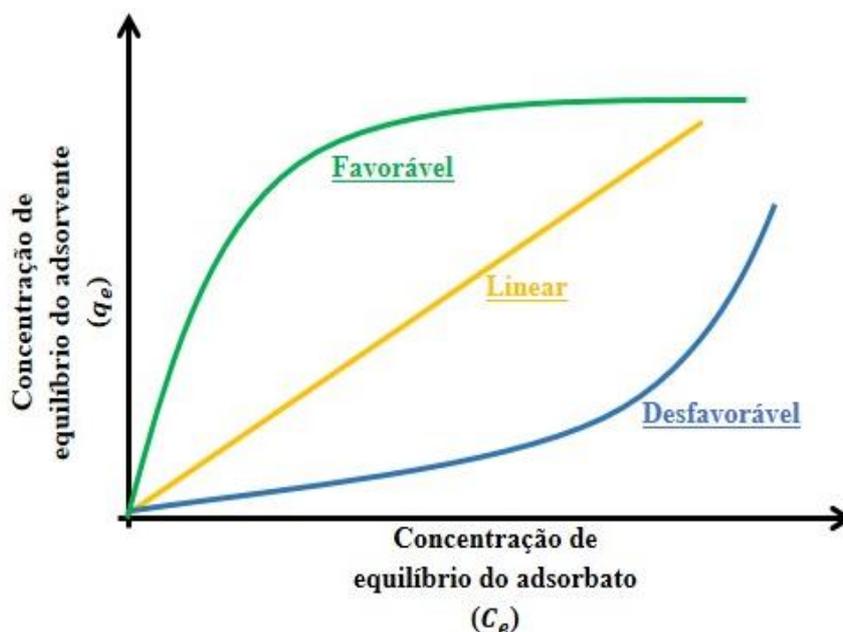
- q_e Capacidade de adsorção ou quantidade adsorvida do adsorbato por unidade de massa do adsorvente no equilíbrio, dada em $mg.g^{-1}$;
- C_0 Concentração inicial do adsorbato, dada em $mg.L^{-1}$;
- C_t Concentração de adsorbato em condições de equilíbrio, dada em $mg.L^{-1}$;
- V Volume da solução aquosa, dado em L ;
- m Massa de adsorvente, dada em g .

As isotermas de adsorção podem ser representadas por dois tipos: isotermas favoráveis e isotermas desfavoráveis, sendo a forma destas curvas definidas pela natureza do adsorvente e do adsorbato, como representado na Figura 9. As isotermas favoráveis, representadas por uma curva convexa, representam o aumento acentuado na concentração de equilíbrio do adsorvente (adsorbato na fase sólida). A isoterma desfavorável é representada por uma curva côncava, e descreve a baixa adsorção do adsorbato pelo adsorvente (o processo pouco eficiente). Quando a concentração de equilíbrio do adsorbato (fase líquida) aumenta linearmente com o aumento da concentração de equilíbrio do adsorvente (adsorbato na fase sólida), temos uma isoterma linear (McCabe et al., 1993; Radecki, 1999; Vilar, 2013).

Os modelos matemáticos desenvolvidos para descrever as isotermas de adsorção permitem o entendimento do que ocorre durante o processo de adsorção na interface líquido/sólido viabilizando parâmetros para o ajuste dos dados experimentais sobre a curva (Mckay, 1995). Diversos modelos são apresentados na literatura,

embora os mais comumente utilizados sejam as equações de *Langmuir* (Langmuir, 1916) e *Freundlich* (Freundlich, 1906).

Figura 9: Esquema representativo dos tipos de isotermas.



Fonte: Autoria própria.

2.5.1.1 Isoterma de Langmuir

Este modelo é o mais utilizado para descrever processos de adsorção. Contudo, este modelo tem como hipótese a existência de sítios livres de adsorção com energias equivalentes para que o fenômeno da adsorção seja homogêneo e que não haja interação entre as moléculas e o meio e nem entre si (Ruthven, 1984; Radecki, 1999). Este modelo é limitado às seguintes condições (Ruthven, 1984; Mckay, 1995):

- Cada espécie interage com um único sítio ativo na superfície;
- Não há interações entre os íons absorvidos;
- Limitada a adsorção em uma monocamada;
- A superfície do adsorvente é homogênea e possui um único tipo de sítio;
- A energia de adsorção sobre todos os pontos da superfície é igual e constante, independente das moléculas (adsorvidas) presentes na vizinhança.

A equação que descreve o modelo de Langmuir é definida como:

$$q_e = \frac{q_m K_L C_e}{1 + K_L C_e} \quad (6)$$

Onde,

- q_e Quantidade adsorvida do adsorbato por unidade de massa do adsorvente no equilíbrio, dada em $mg \cdot g^{-1}$;
- q_m Quantidade máxima adsorvida do adsorbato por unidade de massa do adsorvente no equilíbrio, dada em $mg \cdot g^{-1}$;
- C_e Concentração de equilíbrio do adsorbato na solução, dada em $mg \cdot L^{-1}$;
- K_L Contante de equilíbrio de Langmuir, dada em $L \cdot mg^{-1}$.

2.5.1.2 Isoterma de Freundlich

Este modelo descreve uma relação empírica entre a quantidade de material adsorvido com a concentração do material na solução, podendo ser aplicado a sistemas não ideais, superfícies heterogêneas e processos de adsorção em multicamadas (Mckay, 1995). Tendo em vista que o sólido é heterogêneo, considera que os variados tipos de sítios de adsorção presente na superfície com diferentes energias adsortivas (Febrianto *et al.*, 2009).

A expressão matemática que representa o modelo de Freundlich é dada por:

$$q_e = K_F C_e^{1/n} \quad (7)$$

Onde,

- q_e Quantidade adsorvida do adsorbato por unidade de massa do adsorvente no equilíbrio, dada em $mg \cdot g^{-1}$;
- C_e Concentração de equilíbrio do adsorbato na solução, dada em $mg \cdot L^{-1}$;

K_F Contante de equilíbrio de Freundlich, dada em $L.mg^{-1}$;

$1/n$ Contante relacionada a heterogeneidade da superfície, adimensional

Os parâmetros K_F e $1/n$ serão determinados a partir do gráfico de q versus $\log C_e$, onde será fornecido a inclinação de $1/n$ e um intercepto $\log K_F$ (Febrianto *et al.*, 2009). A Eq.(7) mostra que o valor de q pode aumentar à medida que C_e aumenta. Entretanto, é possível analisar que elevados valores de C_e não são bem ajustados à equação de Freundlich (Cooney, 1998). Ainda de acordo com Cooney (1999), as distribuições de energia entre os sítios de adsorção não sejam extritamente exponenciais. Alguns sítios podem apresentar altos níveis de energia com uma forte ligação do soluto adsorvido, e outros sítios podem apresentar baixos níveis de energia e, conseqüentemente, uma fraca ligação do soluto adsorvido.

A adsorção favorável apresenta um valor de n (constante de Freundlich) entre 1 e 10. Quanto maior for a interação entre o adsorvato e adsorvente, maior será o valor de n . Quando o valor de n for igual a 1, indica que a adsorção é linear (os sítios de adsorção possuem o mesmo nível de energia).

2.5.2 Termodinâmica de adsorção

A termodinâmica corresponde a parte da física que examina as variações energéticas associadas às transformações (caracterizadas pelo estado de movimento) da matéria. Tais transformações podem estar associadas ao fluxo de energia que ocorre entre o sistema e sua vizinhança. O critério associado a esta transição pode ser definida como espontânea ($\Delta G < 0$), quando a energia deixa o sistema (denominado exotérmico) ou não espontânea ($\Delta G > 0$), quando a energia entra no sistema (denominado endotérmico) (Do Nascimento *et al.*, 2014).

Para uma dada temperatura, podemos expressar ΔG_{ads} como:

$$\Delta G_{ads} = \Delta H_{ads} - T\Delta S_{ads} \quad (8)$$

Onde,

ΔG_{ads}	variação da energia livre de Gibbs relativa ao processo de adsorção, dada em $J.mol^{-1}$;
ΔH_{ads}	variação da entalpia de adsorção, dada em $J.mol^{-1}$;
ΔS_{ads}	variação da entropia de adsorção, dada em $J.mol^{-1}.K^{-1}$;
T	temperatura da solução no processo, dada em K ;

Ao atingir o estado de equilíbrio termodinâmico (não há tendência do sistema se deslocar para o produto ou para o reagente), o sistema assume $\Delta G_{ads} = 0$.

No processo de adsorção, a variação da entalpia (ΔH_{ads}) corresponde ao parâmetro responsável pela informação sobre o tipo de interação molecular dominante nesse processo, seja ele físico ou químico. Indica-se que a interação molecular existente no processo é uma Adsorção física quando $\Delta H_{ads} < 25 kJ.mol^{-1}$, e quando a interação corresponde a uma adsorção química quando $\Delta H_{ads} < -40 kJ.mol^{-1}$, valor suficiente para indicar o rompimento e a formação de ligações químicas (Ruthven, 1984; Kara *et al.*, 2003).

A variação da energia livre de Gibbs (ΔG_{ads}) pode ser obtida por:

$$\Delta G_{ads} = -RT \ln K_L \quad (9)$$

Onde,

ΔG_{ads}	variação da energia livre de Gibbs relativa ao processo de adsorção, dada em $J.mol^{-1}$;
R	constante dos gases ideais, dada em $J.mol^{-1}.K^{-1}$;
T	temperatura da solução no processo, dada em K ;
K_L	constante de equilíbrio de Langmuir, dada em $L.mg^{-1}$.

2.5.3 Cinética de adsorção

A cinética de adsorção é definida pela velocidade com que o adsorbato é removido da solução aquosa pelo adsorvente, descrevendo uma transferência de

massa (de um ou mais elementos presentes no sistema) da solução para o adsorvente. O processo envolvendo a cinética de adsorção pode ocorrer pela transferência de moléculas da solução aquosa para a superfície do sólido adsorvente, pela difusão de moléculas do fluido para o interior dos sítios ativos ou pela difusão das moléculas adsorvidas e distribuindo-se ao longo da superfície do poro (Vilar, 2013).

A caracterização do processo de adsorção requer a determinação de duas informações essenciais para determinar a eficiência adsorvente de um material: a quantidade de material adsorvida e a velocidade de adsorção (Crini e Badot, 2008), que podem ser determinadas a partir do estudo da cinética de adsorção. No entanto, calcular e compreender os parâmetros cinéticos fornecidos para avaliar a natureza das etapas para determinar a interação adsorvente/adsorbato é importante no processo de adsorção, pois permite calcular a velocidade de adsorção, determina o tempo para remoção total do contaminante e a quantidade removida da solução aquosa. Estes fatores dependem da concentração do adsorbato (quanto maior a concentração do adsorbato, maior a difusão das moléculas do mesmo para a superfície do adsorvente) e da agitação da solução (maior agitação, maior interação sólido/líquido) (Ho e Mckay, 1999; Vilar, 2013).

Alguns fatores podem afetar a velocidade de adsorção, tais como: temperatura, pH, concentração inicial do adsorbato, força iônica, tamanho das partículas do adsorbato, agitação do sistema e natureza do adsorvente (Ruthven, 1984). Entretanto, um parâmetro essencial para a introdução dos estudos da cinética de adsorção refere-se à capacidade de adsorção do adsorvente (Marcal *et al.*, 2010; García *et al.*, 2014).

A cinética de adsorção pode ser definida por equações empíricas, chamadas de modelos cinéticos, que estejam em concordância com os resultados experimentais obtidos, permitindo entender a influência de diferentes fatores na cinética de adsorção. Diversos modelos cinéticos são citados na literatura com a finalidade de descrever a cinética de adsorção. Entretanto, as mais usadas são a de *pseudo-primeira ordem* (Lagergren, Svenska, 1898; Yuh-Shan, 2004) e *pseudo-segunda ordem* (Ho, 1995; Ho e Mckay, 1999).

Estes modelos que representam a cinética do processo de adsorção e a diferença entre as concentrações da fase sólida em qualquer momento e no equilíbrio é definida como o agente responsável pela adsorção (Ho e Mckay, 1998). A determinação da aplicabilidade de um modelo, satisfatória ou não, é determinada através da análise do coeficiente de correlação da reta (R^2), que tem como satisfatório o valor mais próximo possível de 1.

2.5.3.1 Cinética de pseudo-primeira ordem

O modelo cinético proposto por Lagergren (Lagergren, S, 1898), conhecido por pseudo-primeira ordem, baseada na capacidade dos sólidos, tem sido abundantemente usado para descrever a adsorção de adsorbatos em soluções aquosas (Ho e Mckay, 1998), e dada pela Eq.(10):

$$q_t = q_1(1 - \exp(-k_1 t)) \quad (10)$$

Onde,

- q_t Quantidade adsorvida do adsorbato por unidade de massa do adsorvente no instante t , dada em $mg.g^{-1}$;
- q_e Quantidade adsorvida do adsorbato por unidade de massa do adsorvente em equilíbrio, dada em $mg.g^{-1}$;
- t Tempo do experimento, dado em min ;
- k_1 Constante de adsorção de pseudo-primeira ordem, dada em min^{-1} .

2.5.3.2 Cinética de pseudo-segunda ordem

O modelo cinético de pseudo-segunda ordem é fundamentado na capacidade de adsorção do adsorvente no equilíbrio. Este modelo é descrito pela Eq.(11):

$$q_t = \frac{t}{\left(\frac{1}{k_2 q_e^2}\right) + (t/q_e)} \quad (11)$$

Onde,

- q_t Quantidade adsorvida do adsorbato por unidade de massa do adsorvente no instante t , dada em $mg.g^{-1}$;
- q_e Quantidade adsorvida do adsorbato por unidade de massa do adsorvente em equilíbrio, dada em $mg.g^{-1}$;
- t Tempo do experimento, dado em min ;
- k_2 Constante de adsorção de pseudo-segunda ordem, dada em $g.mg^{-1}.min^{-1}$.

Por meio de parâmetros cinéticos e da Eq.(12), é possível determinar a velocidade de adsorção inicial, h ($mg.g^{-1}.min^{-1}$), realizando alguns ajustes não lineares (Ho e Mckay, 1998):

$$h = k_2 \cdot q_e^2 \quad (12)$$

2.6 REMOÇÃO E PURIFICAÇÃO DO DNA

O processo de remoção e purificação das moléculas de DNA descrevem a etapa inicial e fundamental em laboratórios de biotecnologia e em diversas práticas clínicas. Inicialmente, é realizada a coleta do material biológico (como sangue, saliva, tecidos ou fios de cabelo), e em seguida, no laboratório, é necessário realizar um procedimento para liberar todos os componentes da célula, tais como proteínas, DNA e RNA, dentre outros. Nas últimas décadas, diversos processos e tecnologias para remoção de DNA tem sido desenvolvidos. Tais métodos, classificados como fase líquida e fase sólida, são executados a partir de um procedimento conhecido como lise celular, que ocorre em uma sucessão de etapas (Corkill e Rapley, 2008; Tan e Yiap, 2009):

1. Ruptura da membrana celular para liberação dos componentes presentes no interior da célula.
2. Desnaturação de complexos nucleoproteicos. A separação das proteínas dos ácidos nucleicos pode ser realizada com o uso da proteinase K ou outros componentes.
3. Inativação do DNA para a extração de RNA (usa-se a enzima DNase) e a inativação do RNA para a extração do DNA (usa-se a enzima RNase).

4. Purificação de ácidos nucleicos (precipitação dos mesmos).

2.6.1 Extração por fase líquido-líquido

O método de extração de DNA por fase líquida, envolve a adição em série de diversos solventes orgânicos. Este método, geralmente, utiliza uma mistura de fenol-clorofórmio que é adicionada para separar a proteína do DNA (Chomczynski e Sacchi, 1987; Butler, 2009).

Este é um método muito eficiente, entretanto apresenta um tempo longo para finalização do processo (podendo variar de 1,5 h a 2 h), além disso há o uso de solventes tóxicos que são bastante prejudiciais à saúde humana, ao ecossistema, sem contar que pode contaminar o DNA extraído (Uzma *et al.*, 2008; Corthell, 2014).

2.6.2 Extração por fase líquido-sólido

O método de extração de DNA por fase sólida é o mais utilizado atualmente. Este método, comparado ao método da fase líquida, descreve um processo mais rápido, mais eficiente e livre de contaminantes, pois normalmente não se utiliza solventes orgânicos em sua purificação (Hawkins *et al.*, 1994; Wolfe *et al.*, 2002).

Neste processo, utiliza-se um tubo com um material sólido (que pode ser a sílica, partículas magnéticas ou material polimérico) na parte interna, que será responsável pela adsorção do ácido nucleico. Existem atualmente diversos kits comerciais de extração de DNA que oferecem o melhor protocolo para isolar os ácidos nucleicos das amostras. No entanto, a escolha correta do kit de extração passa por uma série de fatores que devem ser ponderados.

2.7 PCR (REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE)

A técnica de PCR apresenta uma grande diversidade de aplicações dentro de diversos ramos da pesquisa científica. O objetivo deste processo é permitir que qualquer organismo tenha um pedaço do seu genoma (único segmento específico do DNA) multiplicado em milhões de cópias idênticas, facilitando o estudo genético e possibilitando o avanço no descobrimento de técnicas de diagnóstico mais específicas e eficientes, comparadas às técnicas utilizadas tradicionalmente. Apesar da técnica de PCR ser bastante atrativa por fornecer uma facilidade na sua execução, alta

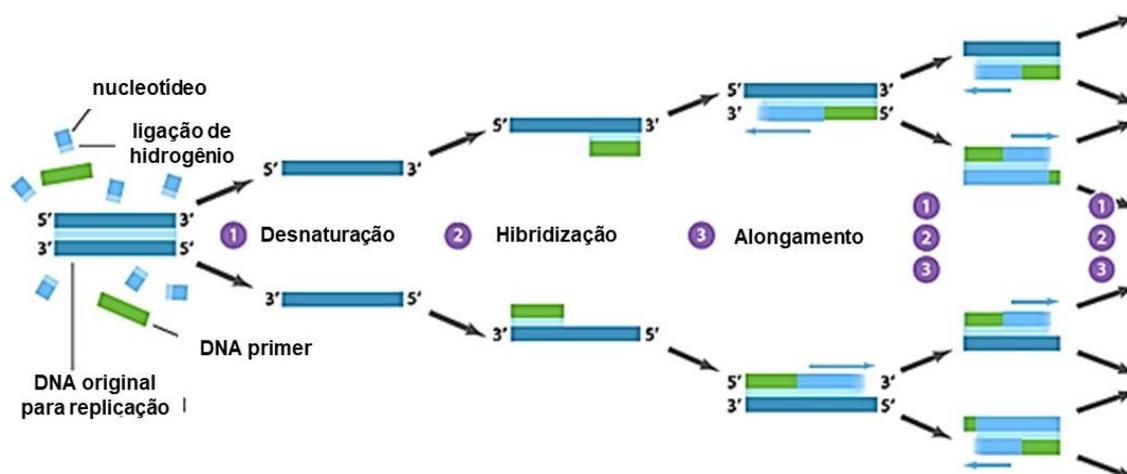
sensibilidade, estudo simultâneo de um grande número de amostras e especificidade, esta técnica é limitada pela necessidade do conhecimento das partes finais das sequências analisadas do segmento de DNA (Oliveira *et al.*, 2007).

O processo de reação da PCR necessita de componentes para realizar o processo de replicação. Os componentes que compõem o processo de PCR, são:

- i) A amostra DNA com o segmento a ser amplificado;
- ii) Nucleotídeos necessários para a composição das novas fitas de DNA (dNTPs);
- iii) A enzima responsável pela síntese das novas fitas de DNA (taq-DNA-polimerase);
- iv) O cloreto de magnésio, co-fator da reação;
- v) Os *primers* (ou iniciadores), que delimitam e complementam a região-alvo a ser amplificada.

A solução a ser preparada para realizar o processo de PCR, normalmente, utiliza-se um volume total de 25 μL (20 μL solução com os componentes da reação de PCR + 5 μL da amostra de DNA). A sequência acontece em ciclos, sendo que a quantidade de ciclos depende da quantidade de cópias de interesse (Pelt-Verkuil *et al.*, 2008).

Cada ciclo possui 3 etapas. Na primeira etapa, a amostra é aquecida (até aproximadamente 94°C) para quebrar as ligações de hidrogênio e desnaturar o DNA (formando duas fitas simples de DNA). Na segunda etapa, a temperatura é reduzida (ficando entre 40° e 65°C) para os iniciadores se ligarem a fita de DNA simples (chamado de hibridização). Na terceira etapa, a temperatura será aumentada para cerca de 72°C, para que a enzima inicie uma síntese complementar com os nucleotídeos presentes na solução, gerando a fita dupla de DNA. As três etapas serão repetidas n vezes em ciclos contínuos, gerando assim 2^n cópias idênticas do DNA que foi utilizado inicialmente. A Figura 10 mostra as etapas do processo de PCR.

Figura 10: Funcionamento da Reação em cadeia da polimerase.

Fonte: Adaptado (Level, 2016).

2.8 ELETROFORESE

A técnica de eletroforese em gel é um método simples e eficiente, utilizado para separar, identificar e purificar os fragmentos de proteínas e ácidos nucleicos. Esta metodologia consiste na migração de moléculas ionizadas pelo interior de um gel, devido a presença de um campo elétrico (Reddy e Raju, 2012). As moléculas irão migrar no sentido oposto à sua carga quando exposta à ação de um campo elétrico.

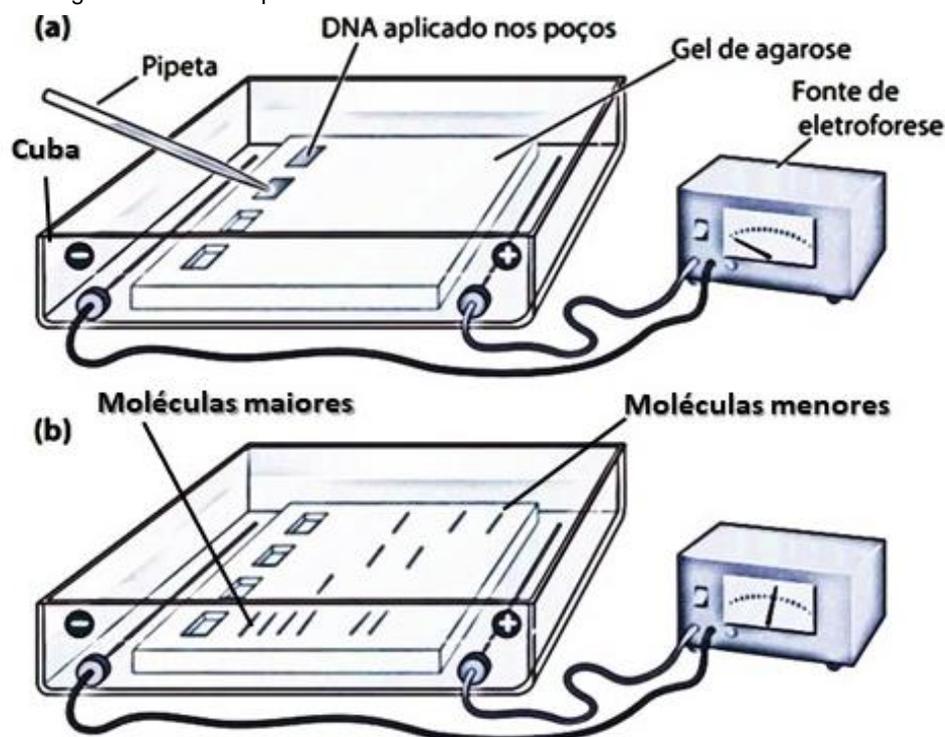
As moléculas do DNA que possuem carga líquida negativo (devido a presença de grupos fosfatos dos nucleotídeos) ao ser submetido a um campo elétrico, irão migrar do polo negativo (cátodo) para o polo positivo (ânodo) (Karp, 2011). O deslocamento das moléculas do DNA dependerá do seu tamanho, ou seja, quanto maior a quantidade de nucleotídeos, menor será o seu deslocamento e, desse modo, irá percorrer uma menor distância no gel. A região na qual as moléculas se concentram é chamada de banda (Bruno, 2017).

A eletroforese em gel pode ser realizada na vertical ou na horizontal. O tipo de gel (de agarose ou de poliacrilamida) a ser utilizado, depende do tamanho do fragmento de interesse. O gel de agarose, normalmente, é utilizado para fragmentos que variam de 200 a 50 000 pares de base devido sua alta porosidade. O gel de poliacrilamida, apresenta uma maior sensibilidade em relação aos géis de agarose e

por isso é frequentemente utilizado para fragmentos de até 1 000 pares de base (Corrêa e Possik, 2016).

A eletroforese com géis de agarose horizontal (Figura 11) é normalmente utilizada para visualizar fragmentos de DNA derivado de extrações ou ampliações, e a eletroforese com géis de poliacrilamida utilizada para as análises de microssatélites e sequenciamento de DNA (Bruno, 2017).

Figura 11: Eletroforese em gel horizontal: (a) aplicação das amostras no gel, (b) migração dos fragmentos do DNA por tamanho molecular.



Fonte: Adaptado de (Watson *et al.*, 2009).

A execução da eletroforese em gel de agarose é realizada a partir da mistura entre um tampão (as mais utilizadas são a TBE e a TAE) e a agarose. A quantidade de agarose utilizada depende da concentração desejada do gel. Para facilitar a visualização do resultado da eletroforese, é adicionado ao gel uma certa quantidade de corantes fluorescentes (brometo de etídio, GelRed, GelGreen e SybrGreen) intercalantes de DNA. O brometo de etídio, apesar de ser uma substância mutagênica, é o mais utilizado. O brometo é intercalado às bases do DNA, que emite fluorescência (vermelho-alaranjado) quando iluminado com luz ultravioleta, possibilitando a visualização/detecção das bandas, correspondente aos fragmentos maiores e menores da amostra de DNA. Após a preparação do gel, o mesmo será adicionado

em um reservatório para a formar os poços onde serão depositados as amostras e, em seguida, será transferido para a cuba de eletroforese. A solução tampão da cuba eletrolítica será adicionada imergindo o gel solidificado com os poços formados. As amostras de DNA serão adicionadas, cuidadosamente, nos poços juntamente com um corante que aumenta sua densidade, com a finalidade de mantê-las dentro dos poços. Prontamente, a fonte da eletroforese é ligada a uma tensão que varia de 1 a 5 V/cm permitindo que o DNA saia dos poços e penetre nos poros do gel, separando os fragmentos por tamanho. Os fragmentos com menores tamanhos terão mais facilidade para se mover pelos poros do gel em direção ao polo positivo. Após desligar a fonte de alimentação, o gel será colocado em um transluminador para visualizar as regiões onde as moléculas se concentraram (Corrêa e Possik, 2016).

2.9 TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO

Neste trabalho, as técnicas utilizadas para caracterização das amostras foram: microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia de absorção no UV-VIS e espectroscopia Raman.

2.9.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV) descreve o escaneamento de uma superfície focalizada para criar uma imagem. A interação entre o feixe de elétrons e a superfície da amostra irá produzir diversos sinais que irão fornecer informações sobre a topografia e composição da superfície focalizada, possibilitando a observação e caracterização de materiais orgânicos e inorgânicos heterogêneos (Hawkes e Spence, 2008; Goldstein *et al.*, 2012).

Os elétrons que estão sendo acelerados no MEV carregando quantidades significativas de energia cinética sofrerão uma desaceleração ao incidirem sobre a amostra, dissipando essa energia em uma infinidade de sinais, tais como fótons (raios-X característicos para análise elementar), elétrons secundários (produzem as imagens), elétrons retrodispersos e retrodispersos difratados (determinam as estruturas do cristal e as orientações dos minerais), luz visível (catodoluminescência) e calor (Egerton, 2005; Goldstein *et al.*, 2012).

2.9.2 Espectroscopia de absorção no UV-Vis

A técnica de espectroscopia UV-Vis é um método analítico utilizado para medir a absorvância de uma dada substância na região espectral do ultravioleta (100-400nm) ao visível (400-800nm). Esta técnica é bastante eficaz para análises qualitativas e quantitativas de compostos inorgânicos, tomando como base o princípio de Lambert-Bear que afirma que a absorvância de uma determinada solução (A) é diretamente proporcional ao percurso óptico da radiação (l , ou espessura da camada do meio absorvente) e da concentração da espécie presente no meio absorvente (c) (Perkampus e Grinter, 1992).

$$A = \alpha \cdot l \cdot c \quad (13)$$

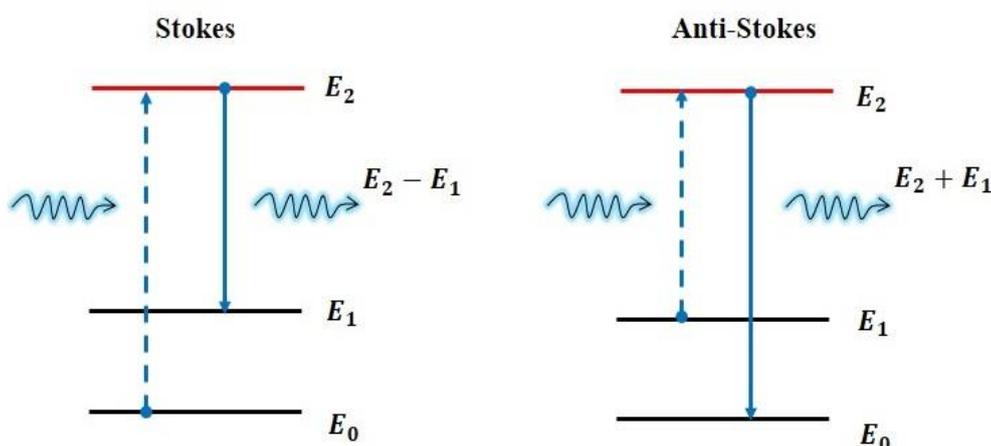
A absorção da radiação por parte das moléculas, átomos ou íons presentes na solução, ocorre quando o meio absorvente interage com a radiação eletromagnética, promovendo um elétron para um nível energético mais elevado. A radiação absorvida é detectada e transformada de sinal luminoso pulso elétrico no espectrofotômetro, que em seguida irá transmitir este pulso para um computador onde será convertido em um espectro da intensidade do sinal transmitido em função do comprimento de onda (Silverstein, 2006).

2.9.3 Espectroscopia Raman

A espectroscopia Raman é uma técnica espectroscópica vibracional que permite fornecer informações características das amostras sobre as vibrações moleculares e estruturais. Esta técnica, de alta resolução, utiliza uma fonte de luz excitadora que ao ser irradiada sobre a amostra, gera uma luz dispersiva com um padrão característico da amostra obtido no espectro Raman. A luz espalhada pela amostra pode conter energia igual (espalhamento elástico) ou diferente (espalhamento inelástico) da incidente. A energia dispersa com frequência diferente da incidente é chamada de dispersão Raman, ou efeito Raman, onde se é possível identificar diversas informações acerca da composição química do material (Clark e Dines, 1986; Long, 2002; Colthup, 2012).

A dispersão Raman pode ser descrita por dois tipos: espalhamento Stokes e o espalhamento anti-Stokes (ver Figura 12). O processo de espalhamento Stokes é definido quando um elétron em seu estado fundamental (E_0) é excitado por uma luz incidente e ao decair para um outro estado vibracional (E_1), emite um fóton com energia menor do que a luz incidente. Em contrapartida, o processo de espalhamento anti-Stokes é definido quando um elétron já em um estado vibracional é excitado por uma luz incidente, levando-o a um estado vibracional maior, decai para o estado fundamental emitindo um fóton com energia maior que a luz incidente (Long e Long, 1977; Rodrigues e Galzerani, 2012).

Figura 12: Diagrama de níveis de energia Stokes e anti-Stokes.



Fonte: Autoria própria.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

A preparação das fibras eletrofiadas utilizadas neste trabalho, bem como o estudo sobre a adsorção de corantes foi realizado no Laboratório de Espectroscopia de Impedância e Materiais Orgânicos – LEIMO (Instituto de Pesquisa em Ciência dos Materiais). Os ensaios envolvendo a adsorção e análise do DNA de esperma de salmão foi realizado no Laboratório de Microbiologia e Imunologia Animal, da Universidade Federal do Vale do São Francisco.

3.1 MATERIAIS

Os reagentes utilizados nas etapas experimentais deste trabalho foram o Eudragit® L100 (Industrias Evonik®), Eudragit® E100 (Industrias Evonik®), óxido de polietileno (Sigma Aldrich®), alaranjado de metila (Vetec®), rodamina B (Vetec®), violeta de metila (Synth®), etanol 99,7% (Ciclo Farma®), DNA de esperma de salmão (Sigma Aldrich®), cloreto de magnésio (Ludwing Biotec), solução tampão (pH 8,0) (Ludwing Biotec), dNTP's (Ludwing Biotec), primer ITS1 (Invitron) e primer ITS4 (Invitron). Todos os reagentes apresentados foram utilizados da forma em que foram recebidos. Utilizamos em todos os experimentos água ultrapura.

3.1 PREPARAÇÃO DAS SOLUÇÕES POLIMÉRICAS

O processo de preparação das soluções poliméricas para produção de fibras pela técnica de eletrofiação pode determinar propriedades e características finais das fibras que favoreçam a uma determinada aplicação de interesse.

O processo de solubilização do polímero entérico Eudragit® L100 puro e dos polímeros Eudragit® E100 com óxido de polietileno são descritos a seguir:

➤ Eudragit® L100

As soluções poliméricas de Eudragit® L100, foram preparadas em várias concentrações (166 g.L⁻¹, 183 g.L⁻¹, 200 g.L⁻¹, 217 g.L⁻¹, 233 g.L⁻¹ e 250 g.L⁻¹) solubilizados em etanol, sob intensa agitação com o uso de um agitador magnético. Para cada concentração, o material polimérico foi adicionado em um becker de 10 mL contendo 6 mL de álcool e colocado sob intensa agitação magnética para solubilizar

o polímero. Após toda a solubilização do polímero, a solução apresentará um aspecto incolor e com boa viscosidade.

➤ Eudragit® E100/PEO

Para a preparação das soluções poliméricas de Eudragit® E100/PEO foram utilizados 0,75 g do polímero Eudragit® E100 e 0,10 g do polímero óxido de polietileno, que foram dispersos em uma mistura de etanol (4,0 mL) e água (0,5 mL). A solução permaneceu sob intensa agitação por 45 min até a total solubilização do polímero na solução (Barbosa *et al.*, 2016).

3.2 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS - ELETROFIAÇÃO

➤ Fibras de Eudragit® L100

A solução resultante da dispersão do polímero foi disposta em uma seringa de 5 mL que foi conectada a uma bomba de infusão (Modelo 101 – KdScientific®) que forneceu uma taxa de infusão controlada de 0,05 mL.min⁻¹, 0,1 mL.min⁻¹ e 0,6 mL.min⁻¹. A agulha metálica estava conectada a uma fonte que forneceu uma tensão de 15 kV, gerando um campo elétrico entre a ponta da agulha e o coletor, disposto a 20 cm de distância. Sobre o coletor foi colocado uma folha de papel alumínio para a deposição das fibras sobre a mesma. As amostras adsorventes eletrofiadas, resultantes do processo de eletrofiação, foram cortadas em tamanhos de 4 cm². A otimização dos parâmetros de tensão e distância da ponta da agulha até o coletor foram previamente explorados, mantendo fixo o massa molecular do polímero Eudragit® L100, para se obter uma produção maciça de estruturas sem grânulos.

➤ Fibras de Eudragit® E100/PEO

Após a dispersão dos polímeros (Eudragit® E100 e óxido de polietileno), a solução resultante foi disposta em uma seringa de 5 mL, conectada a uma bomba de infusão (Modelo 101 – KdScientific) que fornece uma taxa de infusão controlada de 0,1 mL.min⁻¹. A agulha metálica é conectada a uma fonte de alta tensão que fornece uma tensão de 12 kV, gerando um campo elétrico entre a ponta da agulha e o coletor, disposto a 20 cm de distância. As amostras resultantes foram cortadas em discos com 2 cm de diâmetro para aplicação nos ensaios de adsorção.

3.3 MÉTODOS DE CARACTERIZAÇÃO E TRATAMENTO DE DADOS

A identificação do grau de adsorção foi obtido a partir da medição da absorbância da solução residual, usando um espectrofotômetro UV-vis Hach DR5000 na faixa de 350 nm a 700 nm com passo de 1 nm para as análises com os corantes e uma faixa de 200 nm a 400 nm para as análises com o DNA. As micrografias foram obtidas a partir de um MEV Hitachi TM1000 e um FEG SEM MIRA 3 LM (Tescan) usando uma tensão de aceleração de 15 kV. As amostras foram previamente tratadas com a deposição de uma camada fina de ouro de 20 nm.

Utilizando grupos de diferentes imagens do MEV foi possível realizar a análise do diâmetro médio das fibras com ajuda dos softwares Minitab 18 e Image J (programa de processamento de imagens de domínio público desenvolvido no National Institutes of Health), e análise da superfície disponível para a adsorção através do software Image J.

O espectro Raman foi realizado utilizando um espectrofotômetro Raman HORIBA Jobin-Yvon, equipado com um laser de 532 nm (potência do laser de 2,5 mW). Para medição, uma camada de fibras eletrofiadas de 1 cm² foi disposta na frente da fonte de laser incidente.

3.4 EXPERIMENTOS DE ADSORÇÃO DO CORANTE

Foram utilizadas soluções mãe (500 mg.L⁻¹) de violeta de metila, alaranjado de metila e rodamina B para realização das experiências de adsorção (os experimentos de controle com todos os corantes foram realizadas sob as mesmas condições) com variação na concentração do corante (5, 20, 40, 80, 100 e 200 mg.L⁻¹), pH da solução (variando de 2 a 8), concentração do polímero (166, 183, 217, 233 e 250 g.L⁻¹) e taxa de infusão.

Os ensaios de adsorção foram conduzidos com a inclusão das fibras eletrofiadas em um reator (béquer de 50 mL) contendo 10 mL da solução de corante. A agitação foi proporcionada por uma mesa agitadora e a isoterma de equilíbrio de adsorção foi realizada a 25°C com diferentes concentrações de corantes (5 mg.L⁻¹ a 200 mg.L⁻¹).

O grau de remoção do corante foi estabelecido utilizando a Eq.(3), a capacidade de adsorção em função do tempo pela Eq.(4) e a capacidade de adsorção em equilíbrio pela Eq.(5).

3.5 TESTES DE ADSORÇÃO IÔNICA

Para os testes de adsorção de corantes com um único caráter iônico, foram selecionados os corantes catiônicos violeta de metila e rodamina B, e para os corantes aniônicos, o corante o alaranjado de metila. Todos os corantes utilizados neste trabalho estavam a uma concentração de 20 mg.L⁻¹.

O desempenho da adsorção foi estudado em sistemas individuais e binários. Neste processo, inseriu-se 10 mg do adsorvente na solução (concentração de 10 mg.L⁻¹) contendo o corante relacionado, bem como as respectivas misturas catiônicas/aniônicas. A absorvância dos corantes é monitorada pelo espectrofotômetro UV-Vis em intervalos de tempo pré-estabelecidos.

3.6 EXPERIMENTOS DE DESSORÇÃO DO CORANTE

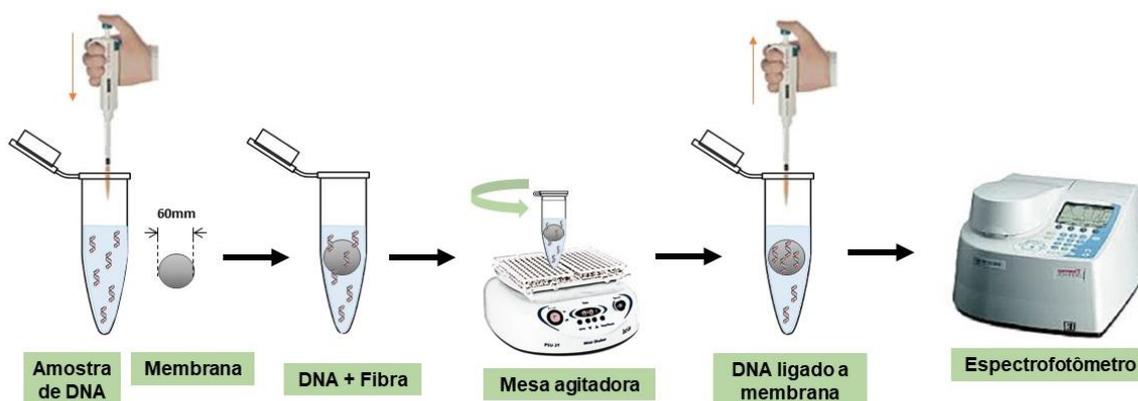
O processo de dessorção é uma etapa do sistema de adsorção que descreve a remoção do adsorbato presente no adsorvente, ou seja, descreve a transferência de massa da superfície do adsorvente para a solução aquosa.

Os experimento de dessorção para reutilização das fibras poliméricas de Eudragit® L100 foi realizado sob condições ácidas – pH 2. Após realizar o processo de adsorção dos corantes iônicos, as fibras eletrofiadas de Eudragit® L100 foram colocadas (sob agitação moderada) por aproximadamente 3 min em um recipiente com a solução ácida. Em seguida, foi possível a reutilização destas fibras para realizar uma nova adsorção.

3.7 EXPERIMENTOS DE ADSORÇÃO DO DNA

3.7.1 Remoção e quantificação do DNA

O procedimento de remoção e quantificação do DNA de uma solução aquosa realizadas com o uso da membrana polimérica de Eudragit E100/PEO é apresentado na Figura 13.

Figura 13: Processo de extração de DNA da solução polimérica e análise de UV-Vis.

Fonte: Autoria própria.

Para realização dos testes de adsorção do DNA de esperma de salmão, preparamos inicialmente uma solução mãe (400 mg.L^{-1}) de DNA solubilizando 40 mg de DNA em 100 mL de água ultrapura. Um volume de 10 mL da solução de DNA é adicionado em um recipiente de 25 mL e em seguida é imerso uma membrana de Eudragit® E100/PEO em forma de disco com diâmetro de 2 cm, para realizar os experimentos de adsorção. O recipiente é colocado em uma mesa agitadora (tipo shaker), operando com aproximadamente 100 rpm por um tempo de 30 min. Em seguida, a solução é retirada para determinar a concentração resultante de DNA através da espectroscopia UV-Vis. De acordo com a lei de Lambert-Beer, podemos determinar a concentração do DNA utilizando a equação abaixo, dada por:

$$C = \frac{Abs}{b \times e} \quad (14)$$

onde C corresponde a concentração do DNA em $\text{ng. } \mu\text{L}^{-1}$, Abs é a absorvância medida em 260 nm (pico característico do DNA), e é o coeficiente de extinção (para DNA de hélice dupla corresponde a $50 \text{ ng.cm.}\mu\text{L}^{-1}$) e b é o caminho óptico da solução (espessura da cubeta – 1 cm) (Gallagher e Desjardins, 2006).

3.7.2 Experimentos de adsorção do DNA

Os experimentos de adsorção do DNA foram realizados com o auxílio de um agitador mecânico operando a uma rotação de aproximadamente 100 rpm em diferentes tempos: 5, 10, 20, 30, 60, 90, 120, 180, 240 e 300 min, e concentrações do

DNA: 1,90, 6,15, 25,60, 36,65, 56,60, 84,90 e 148,55 mg.L⁻¹, todos à temperatura ambiente.

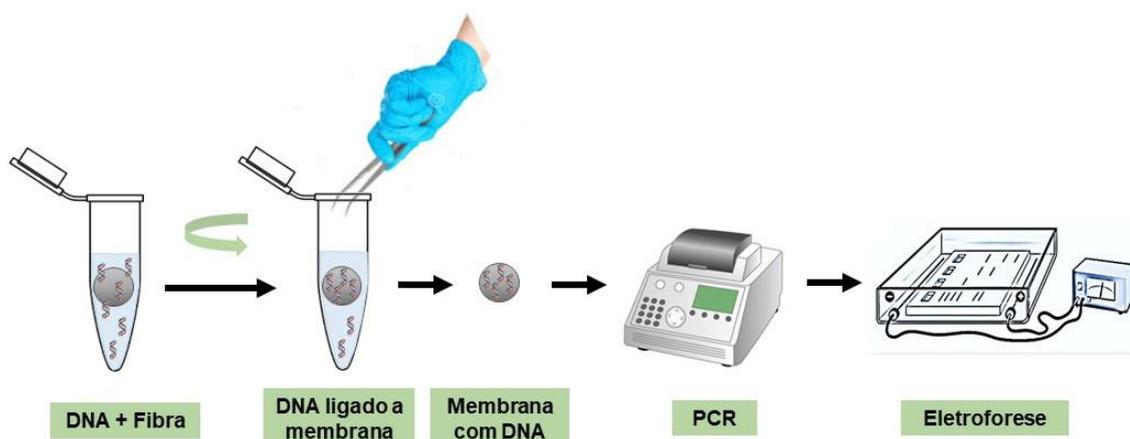
Os ensaios foram conduzidos com a inclusão da fibra eletrofiada em um recipiente de 25 mL contendo 10 mL da solução de DNA. A agitação foi proporcionada por uma mesa agitadora. Uma alíquota da solução de DNA é retirada e colocada em um espectrofotômetro para medir a adsorbância da solução em 260 nm.

O grau de remoção do DNA foi estabelecido utilizando a Eq.(3), a capacidade de adsorção em função do tempo pela Eq.(4) e a capacidade de adsorção em equilíbrio pela Eq.(5).

3.8 AMPLIFICAÇÃO E DETECÇÃO DO MATERIAL EXTRAÍDO

A amplificação da fita dupla de DNA irá ocorrer após a realização da etapa de adsorção do material genético presente na solução. Após a confirmação da remoção do DNA da solução através do UV-Vis, e supondo que a membrana adsorveu o material genético, a membrana é levada para realizar a amplificação do material genético (PCR) (ver Figura 14).

Figura 14: Processo para análise do DNA removido da solução.



Fonte: Autoria própria.

Com o auxílio de um agitador mecânico operando a uma rotação de 100 rpm, após 30 min de interação, as membranas são removidas e colocadas na PCR para realização da amplificação das cadeias duplas de DNA presentes na membrana. Após BARBOSA, J. A. B.

a amplificação, o material é colocado em uma cuba para realizar a eletroforese em gel para separar e identificar os fragmentos de ácido nucleico.

A reação de PCR foi realizada em solução de 20 μL contendo 12,3 μL de água milli-Q, solução tampão enzimática 1X, MgCl_2 2 mmol.L^{-1} , 0,5 mmol.L^{-1} de cada primer (R - reverso e F - forward), 0,2 mmol.L^{-1} de dNTP, 2,5 U de Taq e 2 μL de DNA. A cada reação de amplificação, foram incluídas um controle negativo e um controle positivo.

A reação em cadeia de polimerase do DNA de esperma de salmão segue uma sequência de etapas e condições. A amostra inicialmente é aquecida a 95°C e mantida a esta temperatura por 5 min. Em seguida, a amostra entra em um ciclo que irá preparar a amostra para a sua amplificação. Este processo está resumido a seguir:

- I. Inicialmente, a solução contendo a amostra de DNA sofre um processo de desnaturação ao ser aquecida a 94°C. Neste momento, as ligações de hidrogênio presentes entre a fita dupla de DNA serão quebradas a fim de formar duas fitas simples de DNA;
- II. Em seguida, a temperatura será reduzida a 58°C para que os iniciadores (segmentos de ácidos nucleicos) emparelhados se liguem as cadeias simples do DNA (processo denominado hibridização) para iniciar a replicação do DNA.
- III. No passo seguinte, a amostra será aquecida a 72°C para que a enzima do DNA polimerase utilize os nucleotídeos da solução para iniciar o processo para complementar o DNA, resultando no DNA de fita dupla.

O processo de amplificação do DNA, requer a repetição de n vezes das etapas descritas acima (como observado na Tabela 4). Uma extensão final é realizada a uma temperatura de 72°C por 10 min. A reação em cadeia da polimerase foi realizada usando o fragmento de 137 pb e o gene 18S considerando os primers 18S rRNA-F e 18S rRNA-R com sequências 5'- TTTAGTGAGGTCCTCGGATCA - 3' e 5' - GATCCTTCCGCAGGTTTAC - 3, respectivamente.

Tabela 4: Condições utilizadas na PCR.

TEMPO (min)	TEMPERATURA (°C)	Nº CICLOS
5	95	1x
1	94	
2	58	35x
2	72	
10	72	1x
∞	4	∞

Fonte: Autoria própria.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 INFLUÊNCIA DA TAXA DE INFUSÃO E DA CONCENTRAÇÃO DA SOLUÇÃO NA MORFOLOGIA DAS FIBRAS DE EUDRAGIT® L100

O estudo do comportamento morfológico das fibras quando se propõe a variar parâmetros importantes na sua produção, tais como a taxa de infusão e a concentração da solução, descreve o quanto cada parâmetro pode modificar as fibras resultantes no processo de eletrofiação. A cada parâmetro modificado, obtém-se uma estrutura diferente (distribuição, formação superficial e diâmetro).

A morfologia das fibras eletrofiadas de Eudragit® L100 resultantes do processo de eletrofiação foram caracterizadas por MEV. As imagens resultantes estão apresentadas na Figura 15.

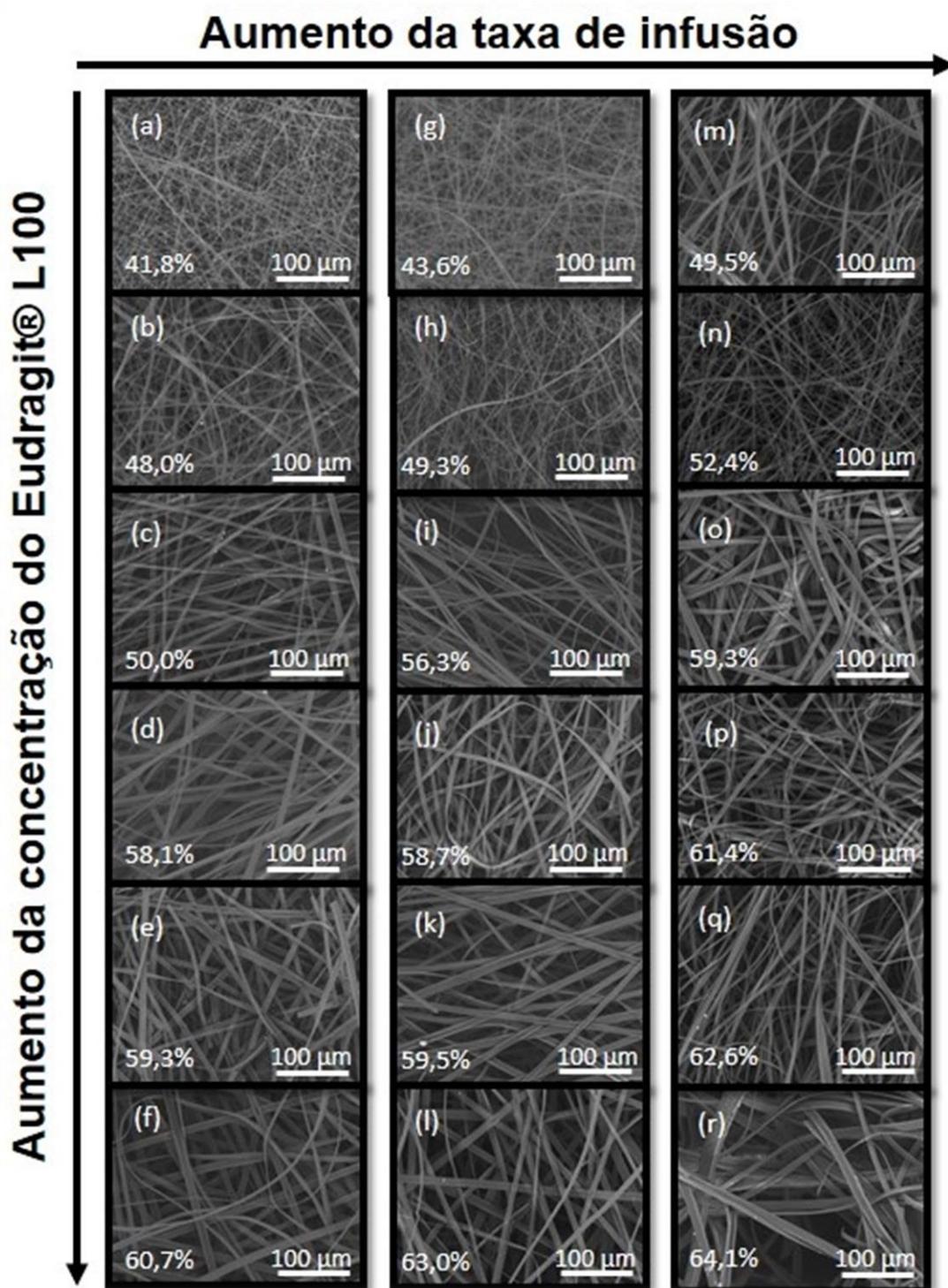
Na produção de fibras, uma baixa concentração da solução polimérica representa uma baixa tensão superficial característica que inibe a deposição das fibras, prevalecendo a formação de gotas. Quando a concentração do polímero está acima do limite inferior, concentração crítica do polímero, os produtos resultantes são fibras irregulares com morfologia ondulada e uma ampla dispersão de diâmetro. Por outro lado, a alta concentração da solução polimérica dificulta o controle da vazão da solução na extremidade da agulha devido a alta viscosidade. Devido a alta concentração do polímero utilizada, diversos fenômenos podem surgir, como a distribuição bimodal de fibras (Subbiah *et al.*, 2005).

As fibras eletrofiadas com concentrações intermediárias (dentro da faixa de processamento) apresentam uma distribuição tipicamente regular e uniforme em diâmetro. O aumento na concentração da solução polimérica resulta no aumento do diâmetro da fibra, sendo considerada uma relação típica entre o diâmetro da fibra e a concentração da solução polimérica de diversos polímeros, como o poliestireno (Deitzel, J. M. *et al.*, 2001; Fridrikh *et al.*, 2003).

Um importante requisito para o controle da produção de fibras sem a presença de pérolas (imperfeições na matriz) é dado pelo controle da taxa de escoamento da solução polimérica na ponta da agulha, determinando o tempo crítico (exposição) para a polimerização das gotículas. O aumento na taxa de infusão reduz o tempo para o

processo de secagem do jato provocando a presença de grânulos e uma distribuição de fibras mais espessas (Subbiah *et al.*, 2005; Park *et al.*, 2008; Cadafalch Gazquez *et al.*, 2017).

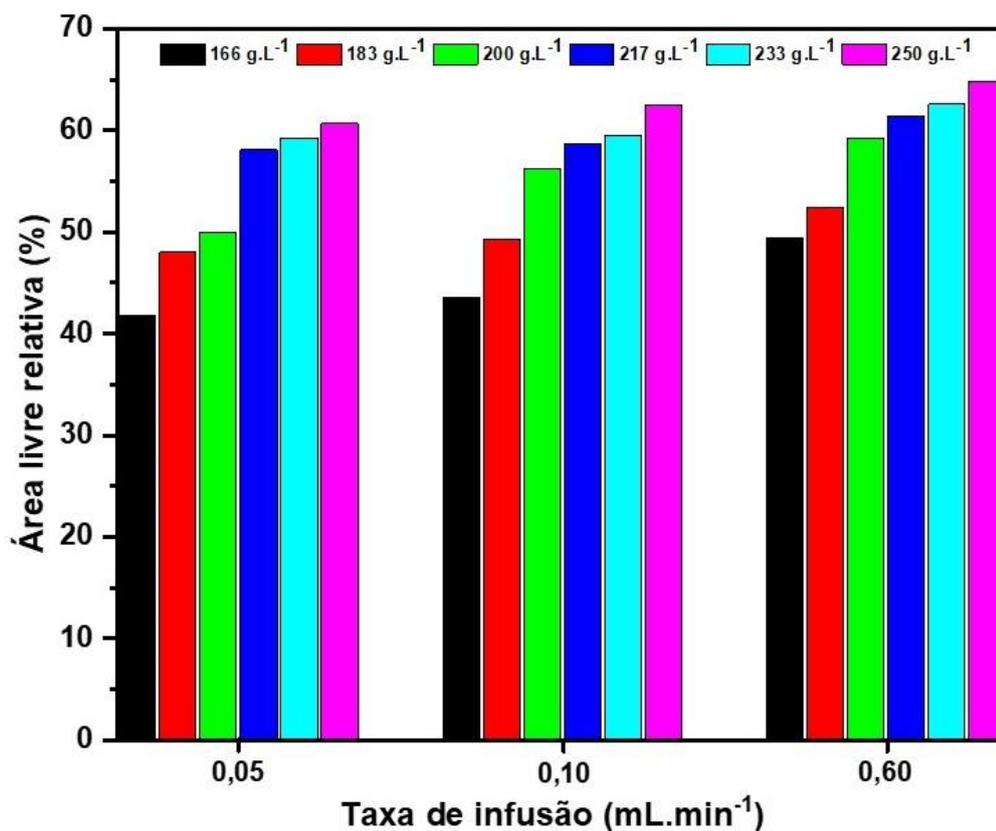
Figura 15: MEV das fibras eletrofiadas de Eudragit® L100 com concentrações variáveis (na vertical) de 166 g.L⁻¹, 183 g.L⁻¹, 200 g.L⁻¹, 217 g.L⁻¹, 233 g.L⁻¹ e 250 g.L⁻¹. a) a f) taxa de 0,05 mL.min⁻¹, g) a l) taxa de 0,1 mL.min⁻¹ e m) a r) taxa de 0,6 mL.min⁻¹. (Barra de escala de 100 μm).



Fonte: Autoria própria.

Ao analisar a influência da taxa de infusão e da concentração da solução polimérica na morfologia das fibras resultantes, é possível estimar as melhores variáveis de processamento para a produção de adsorventes de alto desempenho preparadas pelo processo de eletrofiação, tomando como base os valores correspondentes a área livre relativa por imagem, como apresentado na Figura 16.

Figura 16: Distribuição dos valores correspondentes a área livre relativa por imagem.



Fonte: Autoria própria.

Uma importante relação entre o adsorvente e o adsorbato, que define a quantidade de moléculas que o adsorvente consegue remover do adsorbato, está limitado à quantidade de locais ativos presentes na amostra. De acordo com a Figura 16, é possível notar que há uma redução de área disponível para a interação com a solução na medida em que o diâmetro da fibra está aumentando. A proporção de área livre (sem a presença das fibras) em relação a área total por imagem (ver no canto esquerdo inferior de cada imagem da Figura 16) revela que as amostras com menor diâmetro possuem uma maior quantidade de locais ativos; ou seja, as amostras que

apresentam uma menor concentração de polímero e uma menor taxa de infusão apresentam uma menor quantidade de área livre em relação a área total da imagem.

Nota-se que as fibras depositadas sobre o coletor em forma de fitas planas apresentam estruturas sem grânulos em toda a faixa de concentração e taxa de fluxo estudado. A morfologia de fitas planas obtidas pelo processo de eletrofiação é um fenômeno comum (Scalia *et al.*, 2013), e se deve ao desequilíbrio entre a evaporação do solvente na superfície do polímero e a difusão do líquido através do polímero. O solvente presente na superfície evapora antes do solvente que se encontra difundido no interior do jato eletrofiado, fornecendo a solidificação da superfície do polímeros antes do seu interior, resultando em uma fita plana após a deposição.

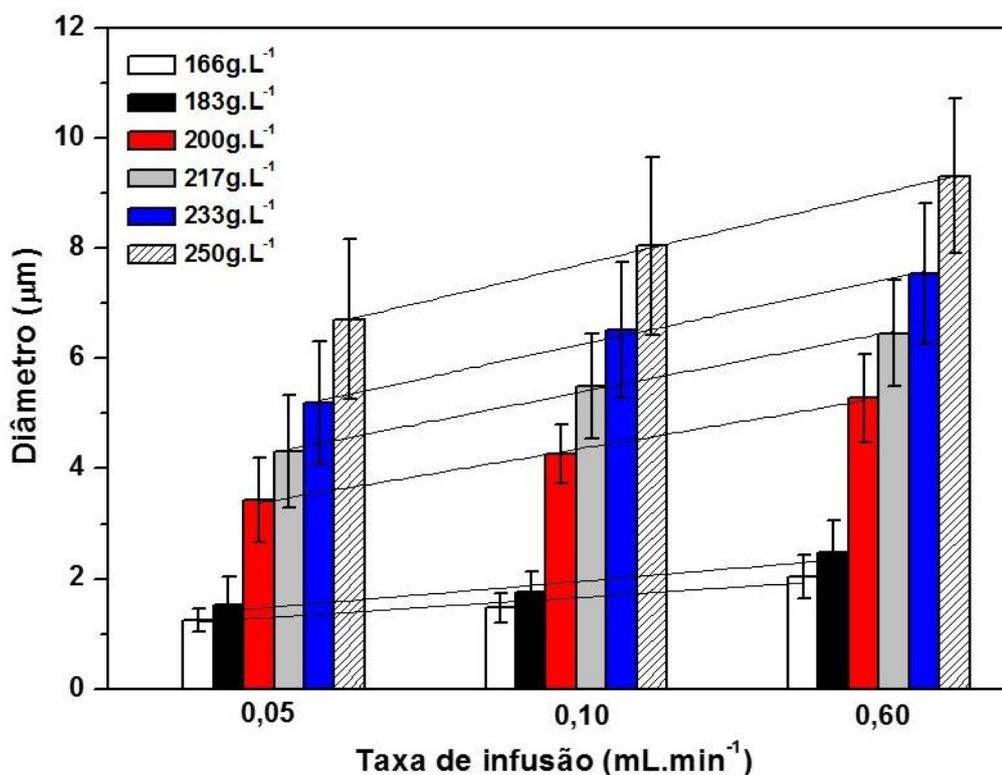
É possível observar na Figura 15 que o aumento na concentração do polímero resulta em fibras mais espessas. A taxa de infusão acelera a quantidade de solução ejetada em direção ao alvo e resulta em uma ligeira modificação no diâmetro da fibra, preservando a morfologia (estabelecida pela concentração do polímero).

A Figura 17 descreve a relação entre o valor calculado para o diâmetro da fibra em função da taxa de fluxo e da concentração do polímero. É possível notar que ocorre um forte aumento no diâmetro da fibra (na ordem de aproximadamente 7x) quando a concentração do polímero está alta, acima de 200 g.L⁻¹. A taxa de infusão contribui com uma pequena parcela na variação no diâmetro da fibra, caracterizando duas condições extremas – ao valor limite inferior atribuído à taxa de infusão e à concentração do polímero Eudragit® L100, as fibras resultantes apresentam-se com diâmetros inferiores àquelas produzidas com maior taxa de infusão e maior concentração do polímero.

A Tabela 5 apresenta os dados obtidos da condutividade elétrica da solução polimérica em relação à concentração do polímero, bem como os dados dos diâmetros obtidos (e o desvio padrão) em relação à concentração da solução polimérica e a taxa de infusão utilizada. De acordo com os dados obtidos, o aumento da concentração do polímero Eudragit® L100 reduz a condutividade resultante da solução polimérica. A solução polimérica com densidade de massa reduzida favorece o acúmulo de cargas que pode gerar uma consequência direta no diâmetro das fibras, gerando fibras com diâmetros menores. A acumulação de densidade de carga na solução tende a alongar

o jato eletrofiado devido à interação gerada pelo campo elétrico resultante sobre a solução.

Figura 17: Distribuição do diâmetro das fibras em função da taxa de infusão e da concentração da solução polimérica.



Fonte: Autoria própria.

Vale ressaltar que a relação superfície/volume varia fortemente com estes dois parâmetros, caracterizando uma combinação crítica em que a eficiência de adsorção tende a ser fortemente afetada, uma vez que o aumento do diâmetro da fibra é realizado por dependência progressiva com efeitos volumosos. Conseqüentemente, a adsorção tende a ser um processo de duas etapas mais complexas: inicia-se com a adsorção superficial de espécies na superfície da fibra, seguida por uma migração (difusão) subsequente de moléculas de corante em direção ao interior das fibras. A dependência com o grau de porosidade das fibras e da redução da relação superfície/volume, tende a elevar o tempo de adsorção característico, apresentando possíveis desvantagens para as fibras preparadas com o aumento da concentração do polímero.

Tabela 5: Influência da concentração do polímero Eudragit® L100 e da taxa de infusão no diâmetro da fibra.

Concentração do polímero ($g. L^{-1}$)	Condutividade ($mS. cm^{-1}$)	Taxa de infusão ($mL. min^{-1}$)	Diâmetro médio (μm)	Desvio Padrão (μm)
166		0,05	1,25	0,21
166	8,47	0,10	1,48	0,26
166		0,60	2,04	0,40
183		0,05	1,53	0,51
183	5,94	0,10	1,77	0,37
183		0,60	2,48	0,57
200		0,05	3,43	0,76
200	5,39	0,10	4,26	0,53
200		0,60	5,28	0,79
217		0,05	4,13	1,02
217	4,71	0,10	5,51	0,95
217		0,60	6,46	0,95
233		0,05	5,20	1,12
233	3,49	0,10	6,52	1,23
233		0,60	7,54	1,28
250		0,05	6,71	1,45
250	2,89	0,10	8,04	1,60
250		0,60	9,31	1,40

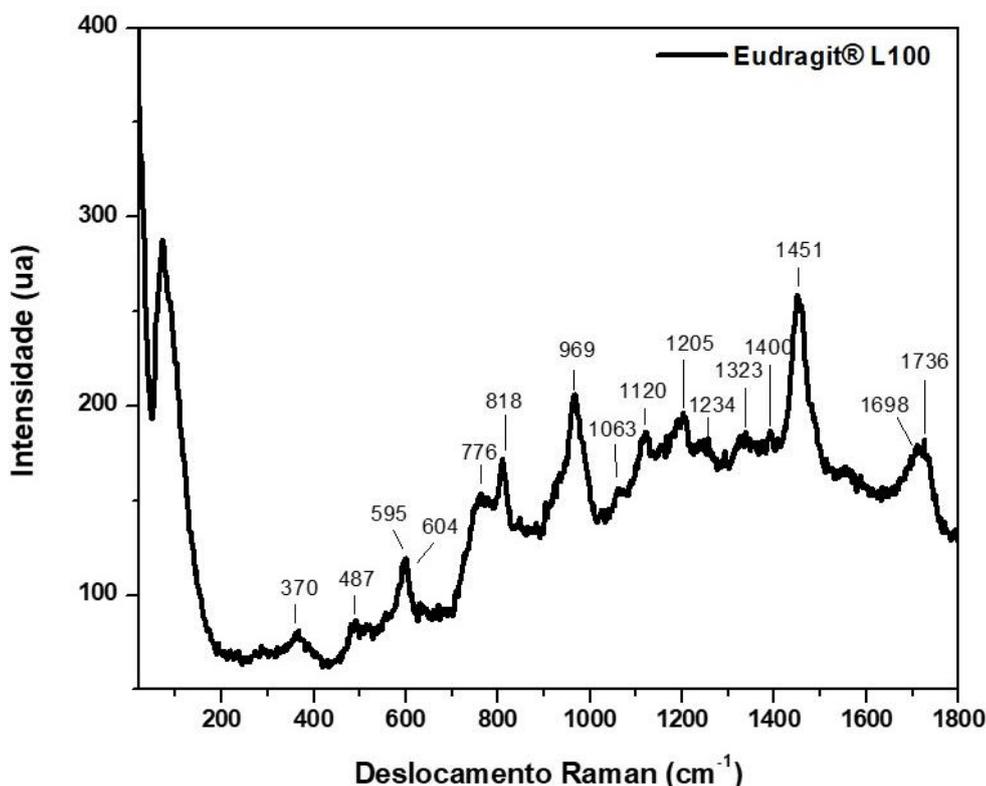
Fonte: Autoria própria.

A espectroscopia Raman foi realizada no intervalo de 100 a 1800 cm^{-1} e o espectro obtido pode ser verificado na Figura 18. Os espectros Raman são dominados por modos esqueléticos do polímero. O alongamento e deformação da ligação $C - C$, são razoavelmente atribuídos à espinha dorsal do polímero e apresentam intensidades médias ou fracas nos espectros Raman. Estes modos vibracionais do polímero, de modo geral, apresentam-se fortemente no espectro Raman nos modos

de alongamento simétrico do grupo éster e de forma fraca nos modos de alongamento assimétrico (Willis *et al.*, 1969).

O espectro Raman (Figura 18) revela a presença de copolímeros de ácido metacrílico e metacrilato de metila na estrutura das fibras eletrofiadas. Suas ligações normalmente observadas são o alongamento e a deformação do $C-H$ e a ligação $C-C$. As frequências de vibração da ligação $C-H$ nos grupos metil e metileno apresentam-se em intervalos estreitos pra hidrocarbonetos saturados. Quando os átomos estão ligados a $-CH_3$ e $-CH_2$, as frequências de absorção podem sofrer mudanças relativamente grandes, alterando a frequência de absorção da ligação $C-H$ (Socrates, 2001).

Figura 18: Espectro Raman das fibras eletrofiadas de Eudragit® L100.



Fonte: Autoria própria.

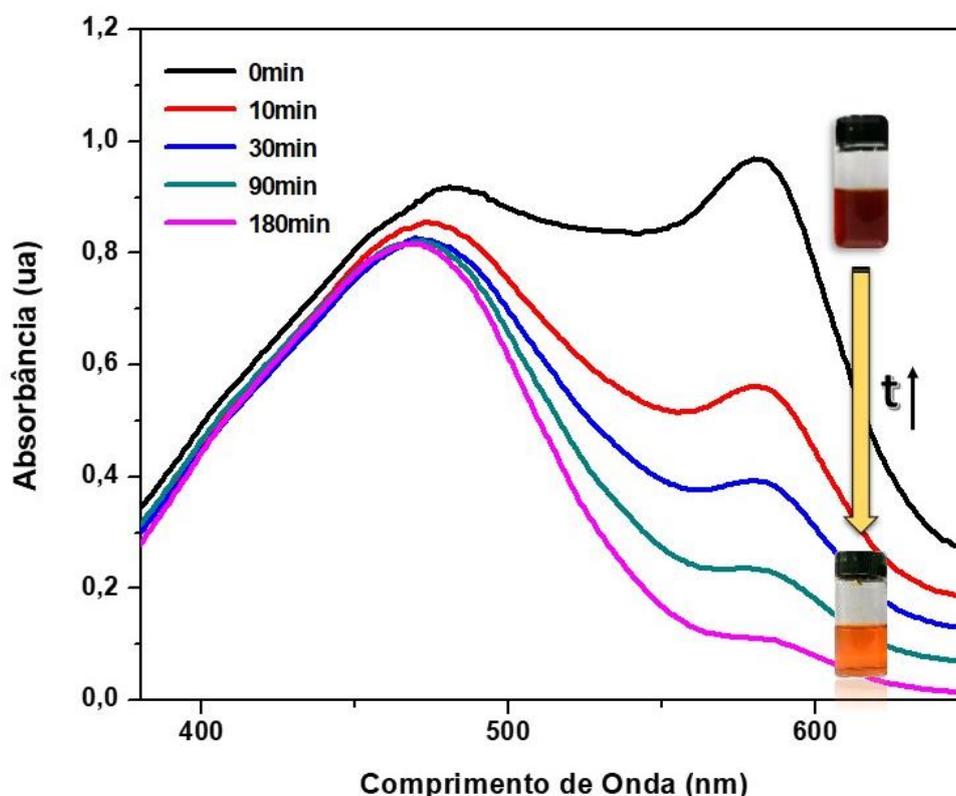
As bandas características do metacrilato de metila (370, 487, 604, 818, 969, 1120, 1234, 1400, 1451 e 1736 cm^{-1}) identificados no espectro estão de acordo com os relatados na literatura (Willis *et al.*, 1969). Os picos 604 e 370 cm^{-1} são atribuídos às bandas polarizadas de baixa frequência, e o pico de 487 cm^{-1} atribuída à banda despolarizada, provenientes de uma série de acrilatos e monômeros de metacrilato. Além disso, a presença de ácido metacrílico é confirmada pelos picos 595, 776, 969,

1120, 1205, 1323 e 1698 cm^{-1} (Lando *et al.*, 1973). Observando o espectro Raman, podemos ver o pico atribuído ao modo vibracional de estiramento $C = O$ em 1730 cm^{-1} e o pico atribuído às vibrações angulares (modo tesoura ou dobramento angular $-CH_2-$) em 1451 cm^{-1} . Os picos adicionais como 1205, 1120, 969 e 812 cm^{-1} são atribuídos aos modos vibracionais de $C - H$ e $C - C$ (Rizi *et al.*, 2011).

4.2 EFEITO DA NATUREZA DO CORANTE ADSORVIDO

Exploramos a seletividade (remoção de moléculas catiônicas) das fibras eletrofiadas verificando seu grau de interação com uma solução aquosa composta pela mistura do corante violeta de metila e do corante alaranjado de metila na proporção de 1:1. A característica de cada corante e a remoção correspondente podem ser facilmente identificados a partir do grau de adsorção dos picos característicos em 464 nm e 590 nm, respectivamente (Figura 19).

Figura 19: Espectro UV-Vis da mistura de corantes catiônico/aniônico em solução aquosa como função do tempo de contato do adsorvente ($[\text{Violeta de metila}]_0 = 20\text{mg.L}^{-1}$, $[\text{Aranjado de metila}]_0 = 20\text{mg.L}^{-1}$ e massa da fibra eletrofiada = 10mg)



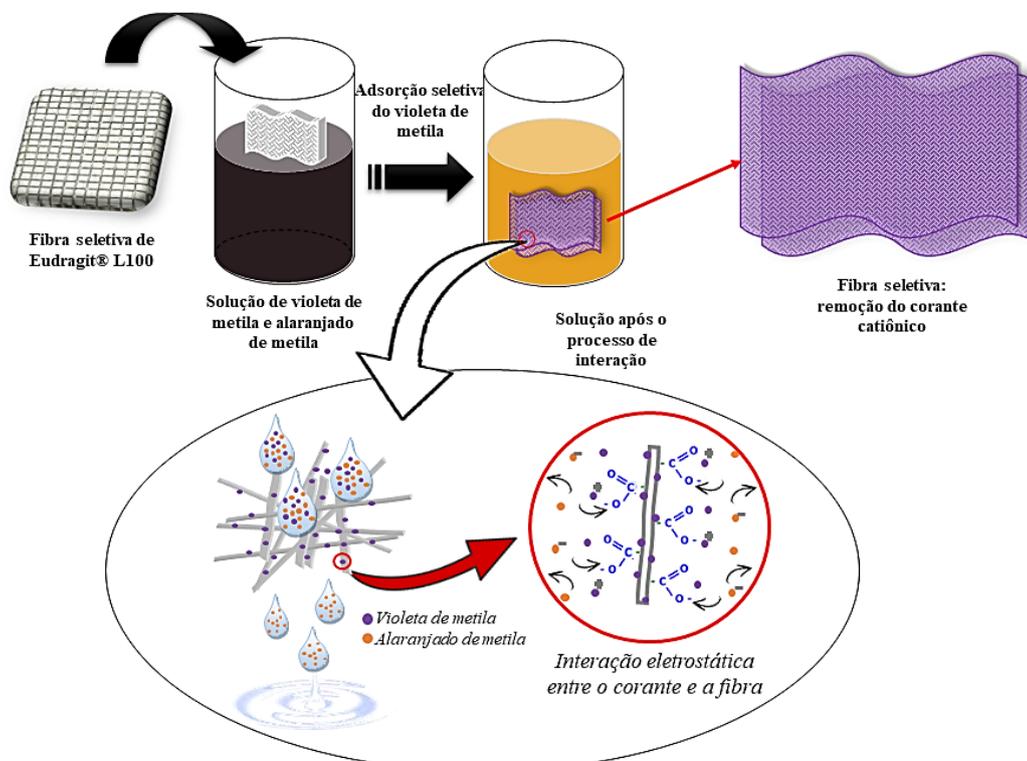
Fonte: Autoria própria.

Nota-se que devido a interação do corante (catiônico) com a superfície das fibras eletrofiadas, as moléculas carregadas positivamente serão adsorvidas refletindo

em uma forte variação na adsorbância do corante catiônico. Como consequência, a intensidade do pico característico do corante aniônico é ligeiramente afetado, indicando que as moléculas do corante catiônico são adsorvidos na superfície das fibras, como esperado, devido o caráter aniônico das fibras eletrofiadas de Eudragit® L100.

O uso de fibras eletrofiadas aplicadas na remoção de corantes de soluções aquosas utiliza propriedades importantes, tais como a estrutura porosa característica do polímero que favorece a difusão da água ao longo da estrutura. A penetração de moléculas de corantes na matriz do polímero depende da interação específica com as cadeias do polímero, que depende do grau de ionização de grupos específicos, como os ácidos carboxílicos, por exemplo. Devido ao caráter iônico da substância presente na solução aquosa e dos grupos específicos que compõem o material adsorvente, as polaridades opostas destes grupos geram uma interação eletrostática que possibilita a adsorção das moléculas do corante pelas fibras eletrofiadas resultantes.

Figura 20: Esquema de remoção seletiva de corantes catiônico de um sistema binário pela fibra aniônica de Eudragit® L100. .



Fonte: Autoria própria.

No processo de remoção seletiva de corantes (sistema binário), dois corantes de polaridades opostas são misturados, tornando-se uma única solução (Figura 20).

As fibras de Eudragit® L100 são imersas na solução, e após 180 min são retiradas. A solução apresenta uma tonalidade alaranjada que mostra que o corante violeta de metila foi eficientemente removido da solução.

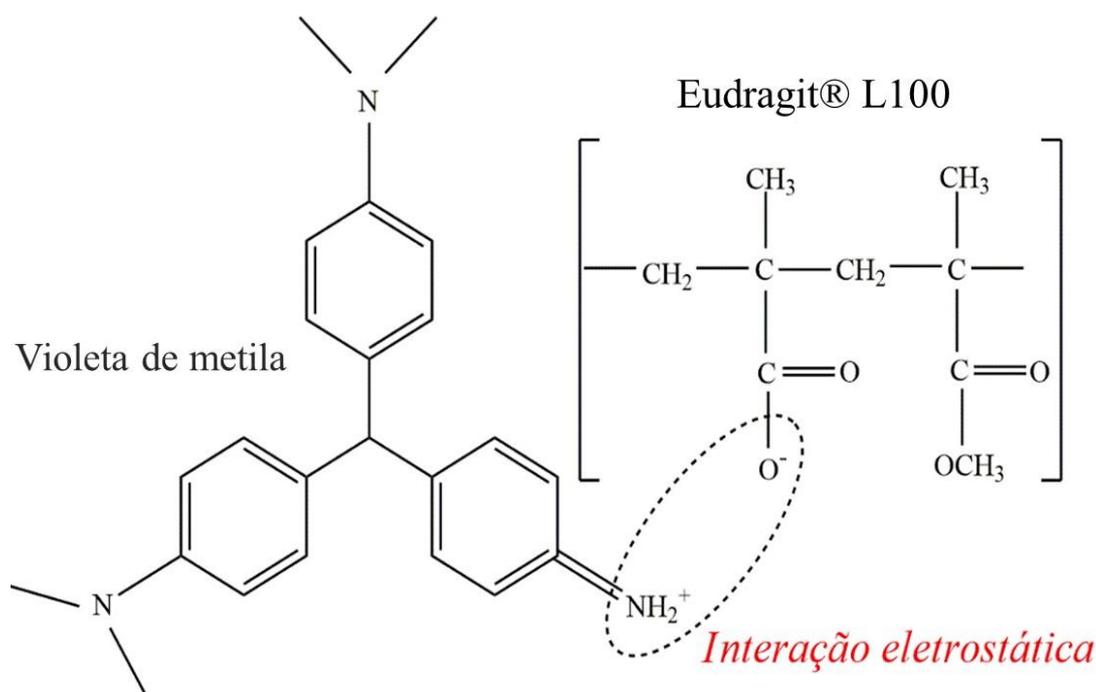
4.3 EFEITO DO PH DA SOLUÇÃO NO PROCESSO DE ADSORÇÃO

O pH da solução para os ensaios de adsorção, representa um parâmetro crítico aplicado no controle do grau de interações existentes entre o corante e o polímero. Esta interação é definida pelo mecanismo de adsorção do corante pelas fibras eletrofiadas. A presença de carga ao longo da cadeia polimérica é um fator determinante na eficiência de adsorção. Para o caso da adsorção dos corantes catiônicos pelo polímero aniônico, podemos descrever o processo de interação entre o corante violeta de metila e o polímero Eudragit® L100. A interação presente, neste caso, corresponde à ligação de hidrogênio entre o grupo reativo $-OH$ ou os grupos carboxílicos $-COOH$ presentes na superfície da fibra com os grupos amina $-NH_2$ do corante (Wang *et al.*, 2010), como mostra a Figura 21. Dependendo do pH, estes grupos são dissociados em $-COO^-$, o que favorece a interação eletrostática entre o corante e a estrutura do polímero que resulta na formação de complexos iônicos (pares de grupos específicos do corante catiônico e do polímero), resultando em uma interação catiônico-aniônica (Şolpan *et al.*, 2003; Paulino *et al.*, 2006; Bajpai *et al.*, 2012a). No caso em que a interação ocorre entre um corante aniônico e um polímero catiônico, o mecanismo de adsorção ocorre de forma similar, entre os grupos funcionais do corante e do polímero.

Em solução aquosa, os polímeros podem sofrer alterações em sua reologia devido ao volume que uma solução de macromoléculas pode ocupar entre as estruturas do polímero. Em geral, um polímero com uma alta densidade de carga e uma cadeia hidrofóbica de pobre interação, provoca uma conformação estendida das moléculas. Por outro lado, quanto menor a densidade de carga e maior a interação entre a solução e a cadeia hidrofóbica, mais compacta será a conformação do polímero. Quanto mais compacta for a conformação do polímero, mais apolar será a cadeia e maior será o efeito hidrofóbico.

Os grupos carboxílicos presentes no polímero Eudragit® L100 são responsáveis pelo espessamento da cadeia polimérica e por conferir a carga do polímero. No entanto, a alteração do pH provoca a ionização dos grupos carboxílicos e ocorre a hidratação das moléculas do polímero. A partir de então, as cadeias começam a se expandir devido à repulsão eletrostática provocada pela ionização dos grupos ácidos (resultantes da dissolução). A dimensão da cadeia polimérica aumenta, impulsionando as forças intramoleculares (Shay, 1989; Kaffashi *et al.*, 2005).

Figura 21: Processo de interação eletrostática entre o grupo carboxílico da fibras com o grupo amina do corante

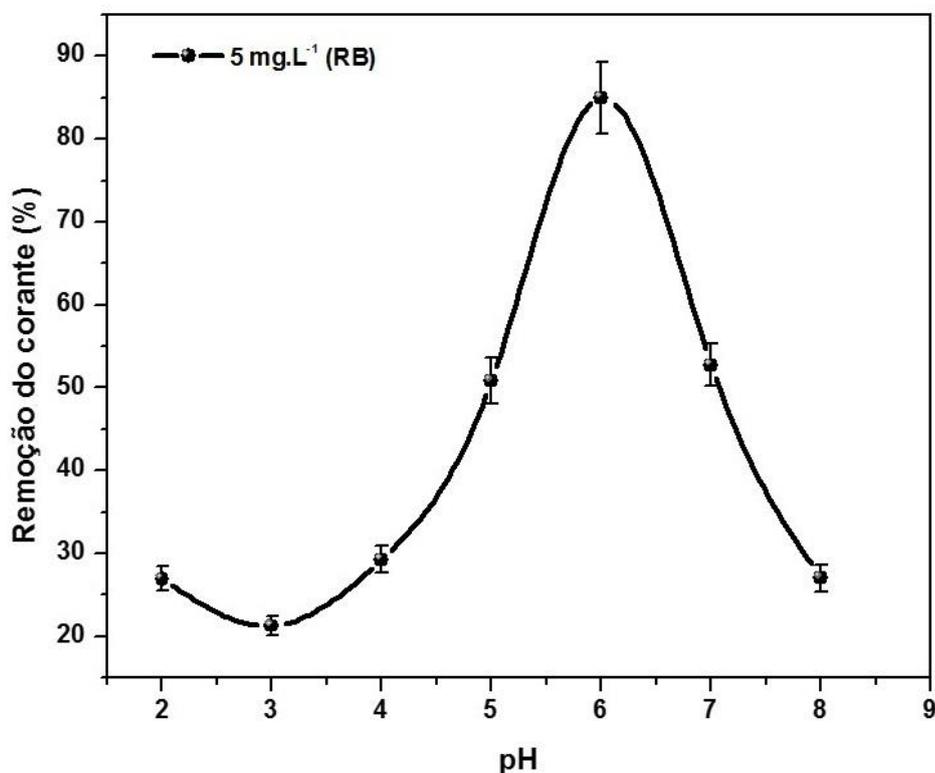


Fonte: Autoria própria.

Sob condição de uso em meio ácido, uma estrutura compacta de fibras de Eudragit® L100 evita a interação de fibras e corantes catiônicos (Bajpai *et al.*, 2012b). Por outro lado, o aumento do pH provoca um aumento de volume na estrutura do polímero disponibilizando locais ativos para que os grupos carboxílicos possam atuar como centros de atração e remoção de corantes catiônicos (Arslan e Yiğitoğlu, 2008). É importante mencionar que a utilização do polímero Eudragit® L100 como polímero entérico é devido à repulsão característica estabelecida entre os grupos carboxílicos no aumento do pH na estrutura do polímero.

Para a identificação do pH ideal para operação, exploramos a rodamina B como uma molécula de sonda (em uma concentração de 5 mg.L^{-1} e volume 10 mL de solução aquosa) e 10 mg de fibras preparadas a uma taxa de infusão de $0,05 \text{ mL.min}^{-1}$ e 166 g.L^{-1} da concentração do Eudragit® L100. Os resultados apresentados na Figura 22 indicam que o pH baixo como esperado, as fibras apresentam o pior desempenho na adsorção de corante. Nessa condição, as espécies não ionizadas (grupos carboxílicos) tendem a se compactar. Por outro lado, o aumento do pH provoca a ionização progressiva de grupos carboxílicos, que afeta a conformação resultante das fibras, que está sendo expandida devido à repulsão entre as espécies carregadas negativamente. Observe que, após certo valor de pH, a adsorção retorna a diminuir em resposta à dispersão de fibras na solução. Como resultado, em um pH intermediário, o grau de adsorção atinge um máximo, indicando que o pH 6 representa o pH ideal para ensaios utilizando fibras eletrofiadas de Eudragit® L100. Em todas as experiências a seguir, utilizou-se o pH 6 para avaliar as melhores variáveis de processamento aplicadas nas fibras adsorventes à base de eletrofiação.

Figura 22: Adsorção da rodamina B em solução aquosa pelas fibras eletrofiadas de Eudragit® L100 em função do pH.



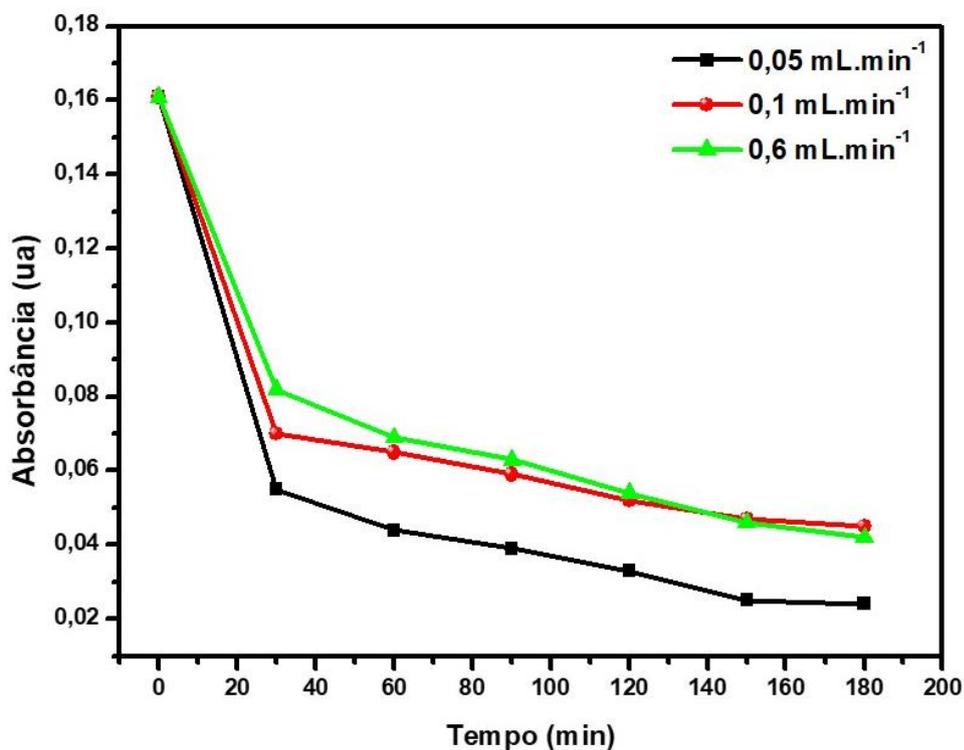
Fonte: Autoria própria.

4.4 ENSAIOS DE ADSORÇÃO

Os ensaios de adsorção foram realizados, com o corante rodamina B (concentração de 5 mg.L^{-1}) em solução aquosa com pH 6, para cada fibra em função tempo de contato, da variação da concentração do polímero Eudragit® L100 e da taxa de infusão.

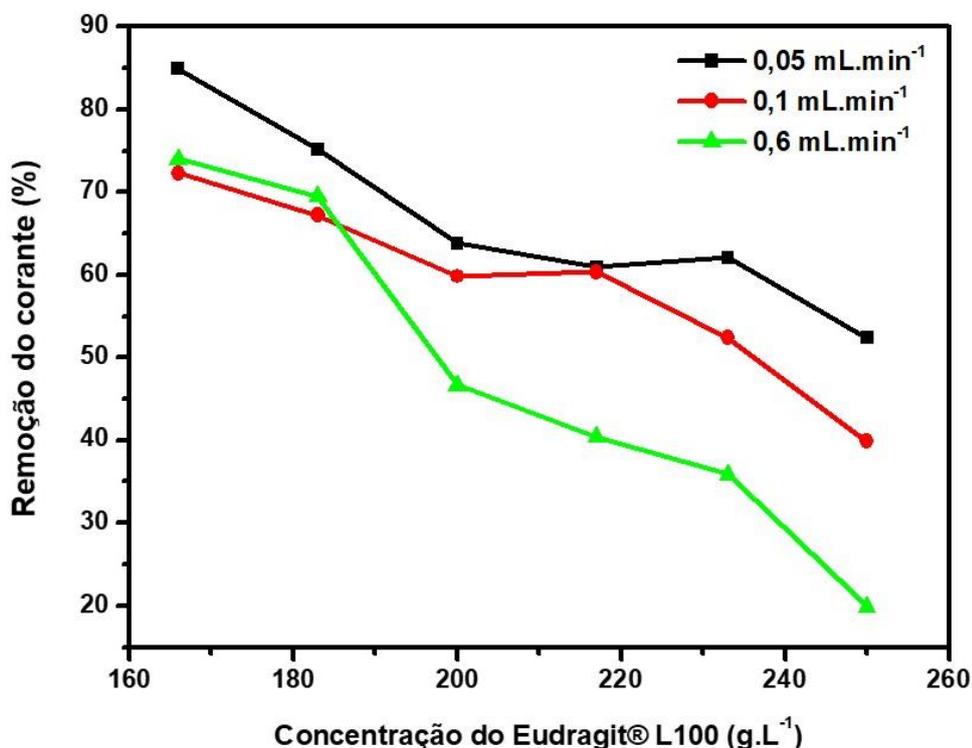
De acordo com a Figura 23, os testes de adsorção em função do tempo mostram que após uma interação de 180 min entre as fibras e o corante, houve uma saturação na adsorção do corante. A taxa de adsorção do corante para cada uma das fibras preparadas com uma taxa de infusão de $0,05 \text{ mL.min}^{-1}$, $0,1 \text{ mL.min}^{-1}$ e $0,6 \text{ mL.min}^{-1}$ é similar. No entanto, a fibra preparada com a menor taxa de infusão ($0,05 \text{ mL.min}^{-1}$) apresenta uma maior eficiência na adsorção do corante, em relação às outras duas taxas.

Figura 23: Eficiência na remoção da rodamina em função do tempo



Fonte: Autoria própria.

Figura 24: Influência da concentração do polímero e da taxa de infusão na eficiência de remoção da rodamina B.

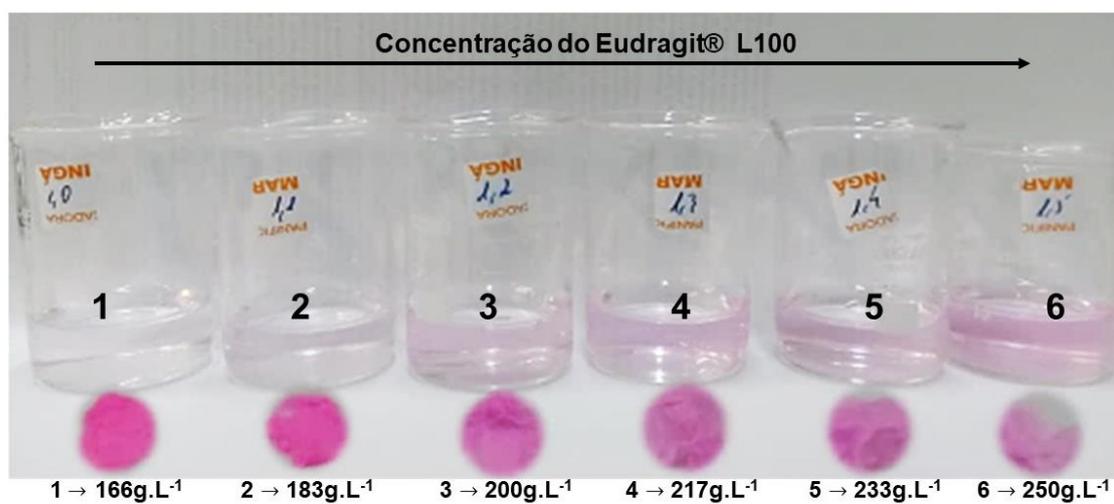


Fonte: Autoria própria.

Os resultados apresentados na Figura 24 indicam que há uma grande variação na remoção do corante pelas fibras resultantes (de 20% a 85%) em resposta à variação na concentração do polímero Eudragit® L100 (como ilustrado na Figura 25). Esperava-se, teoricamente, que o aumento do grau de adsorção fosse ocorrer juntamente com o aumento da concentração do Eudragit® L100, devido o aumento do número de sítios ativos para remoção do corante. No entanto, com o aumento da concentração do polímero, a disposição da matriz polimérica com estruturas cilíndricas apresenta-se cada vez mais empacotada e com um diâmetro crescente (como identificado nas imagens MEV-Figura 15). O aumento da concentração do polímero ainda gera a redução na relação superfície/volume e como consequência à redução da exposição dos locais ativos. Portanto, a diminuição da concentração do Eudragit® L100 (166 g.L⁻¹) resulta em uma alta concentração de fibras de baixo diâmetro, indicando que a superfície disponível para a captura de corantes é otimizada (esse valor caracteriza o limite inferior da janela de processamento). Na mesma direção, a taxa de fluxo crescente afeta ligeiramente o diâmetro das fibras (dados apresentados na Figura 17) fornecendo fibras mais espessas que,

consequentemente, possuem uma menor eficiência de remoção. Com base nesses resultados, é possível identificar duas condições extremas – a pior eficiência é obtida em alta concentração de Eudragit® L100 e alta taxa de infusão – remoção inferior a 20% e a melhor eficiência é obtida em baixa concentração de Eudragit® L100 e baixa taxa de infusão – eficiência de remoção superior 80%.

Figura 25: Imagem das fibras eletrofiadas de Eudragit® L100 em concentrações diferentes após 180 min de interação.



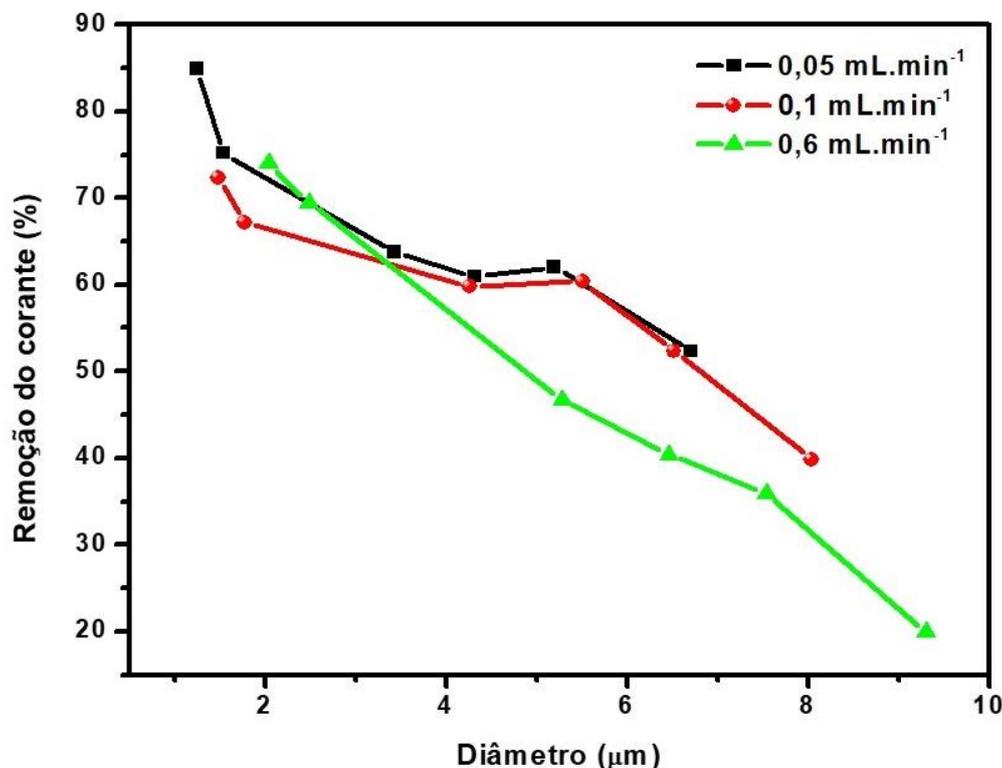
Fonte: Autoria própria.

Isto se deve ao fato de que a fibra com menor concentração (166 g.L⁻¹) e menor taxa de infusão (0,05 mL.min⁻¹) exibem menor diâmetro e maior área superficial (a intensidade de adsorção é proporcional à área superficial específica, uma vez que a adsorção é um fenômeno superficial), aumentando o contato da matriz polimérica com o corante e, assim, aumenta a interação de grupos funcionais, facilitando a atração eletrostática. Por outro lado, as fibras com alta concentração (250 g.L⁻¹) e alta taxa de infusão (0,6 mL.min⁻¹) exibem o maior diâmetro e menor área superficial, diminuindo consideravelmente a interação entre a matriz polimérica e o corante.

A fim de elucidar a relação entre esses dados e os diâmetros das fibras, é indicada na Figura 26 uma representação alternativa de dados em que o eixo x é substituído por valores correspondentes de diâmetros de fibra (consequência direta da variação na concentração do Eudragit® L100). Nota-se que a relação entre a eficiência de remoção de corantes e o diâmetro da fibra se dá de forma inversa – um maior desempenho é atribuído à distribuição de fibras de menor diâmetro,

confirmando que os fenômenos superficiais são mais efetivos para remoção de corantes.

Figura 26: Variação do diâmetro das fibras em função da taxa de infusão.



Fonte: Autoria própria.

Com base nestes resultados podemos definir as condições de preparação adequadas para análise da eficiência de remoção da rodamina B:

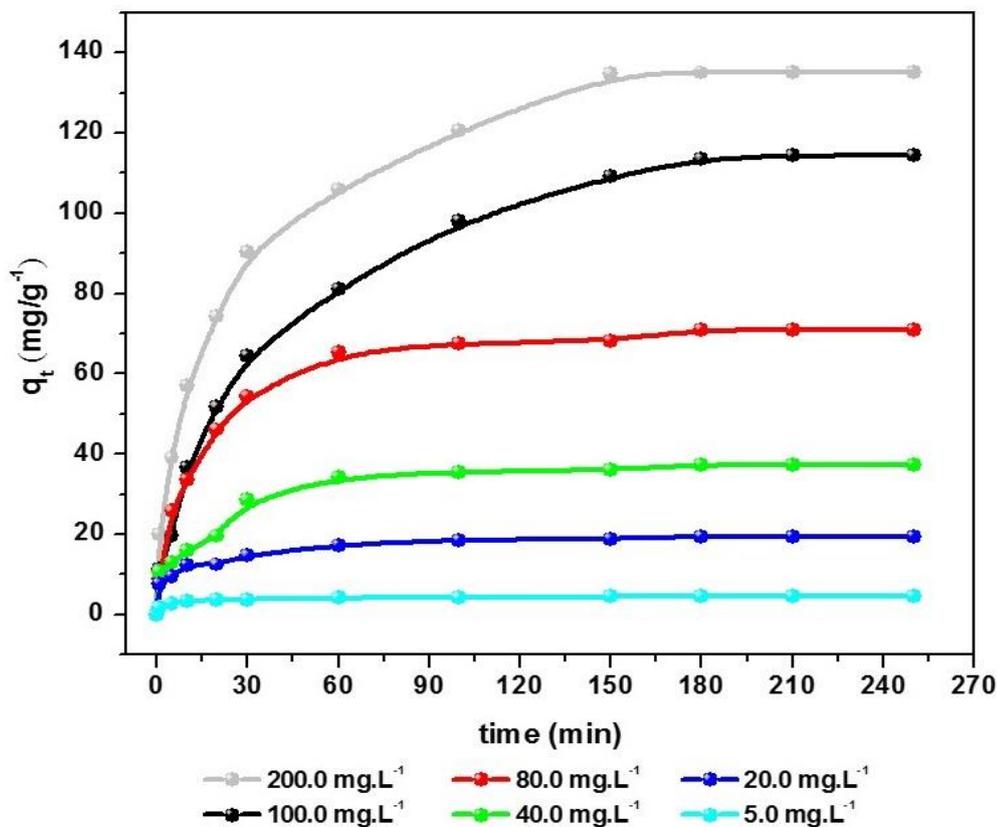
- Concentração do polímero: 166 g.L⁻¹;
- Taxa de infusão: 0,05 mL.min⁻¹.

4.4.1 Estudo da cinética de adsorção

A resposta das fibras eletrofiadas na adsorção do corante violeta de metila 2B foi analisada com uma variação na concentração do corante de 5 mg.L⁻¹ a 200 mg.L⁻¹ e o tempo de contato de 250 min.

Conforme mostrado na Figura 27, a taxa de adsorção do corante foi mais rápida na etapa inicial do processo sendo mais lento no tempo crescente, até a condição de equilíbrio.

Figura 27: Influência do tempo de contato e da concentração inicial na adsorção do corante violeta de metila pelas fibras eletrofiadas de Eudragit® L100.



Fonte: Autoria própria.

Analisando os resultados experimentais, nota-se que a capacidade de adsorção de equilíbrio depende da concentração inicial da solução. Com o aumento da concentração de 5 para 200 mg.L⁻¹, a capacidade de adsorção no equilíbrio sofreu uma grande variação, obtendo altos níveis de adsorção.

Para diferentes concentrações de corante, observou-se que um equilíbrio mais rápido é alcançado com o menor teor de corante disperso. Isso pode ser explicado por um processo aplicado no mecanismo de adsorção, em que as moléculas do adsorvato são eletricamente atraídas para os locais disponíveis na superfície da fibra. A difusão de corantes é estabelecida a partir da migração de moléculas, em massa, em direção às fibras através dos sítios ativos. Como consequência, é necessário um tempo mais longo para o processo contínuo de adsorção. Se uma menor concentração de corante for usada, o uso de uma grande quantidade de adsorvente pode ser insignificante devido à saturação – numerosos sítios ativos de adsorção disponível na superfície da fibra desocupados.

A fim de avaliar o modelo mais apropriado para explicar a cinética de sorção (modelo de pseudo-primeira ordem ou modelo de pseudo-segunda ordem), podemos explorar os dados em termos das equações (10) e (11). Foram traçados gráficos correspondentes para cada concentração (como apresentado na Figura 28), a fim de indicar o grau de linearidade mais adequado com diferentes modelos de cinética de sorção. A Figura 29 mostra os gráficos para a concentração de 200 mg.L⁻¹. As regressões lineares para cada dado correspondente, retornaram valores de k_1 , k_2 e q_e , como apresentado na Tabela 6.

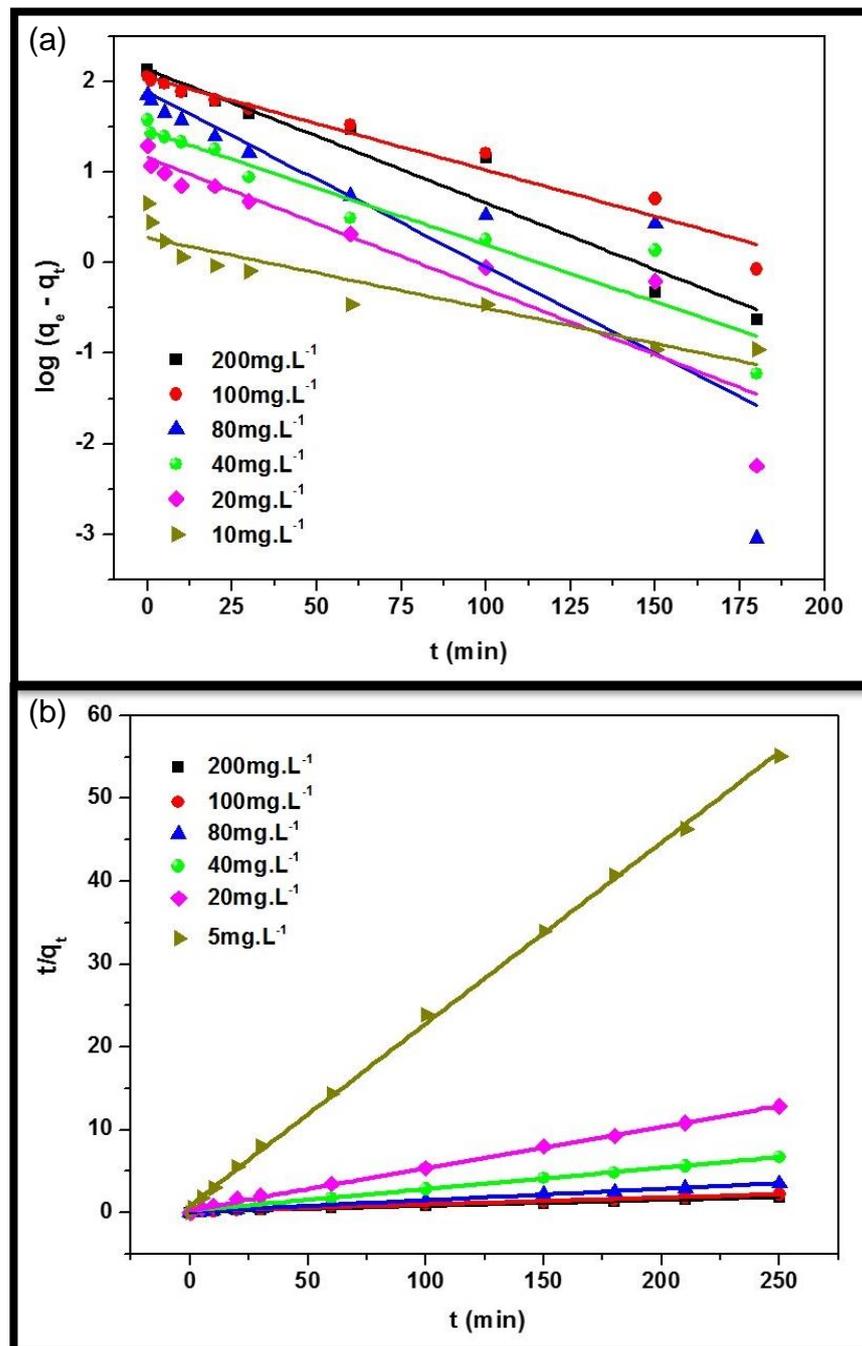
Tabela 6: Parâmetros cinéticos de adsorção do violeta de metila pela Eudragit® L100 a partir dos gráficos do modelo de pseudo-primeira ordem e pseudo-segunda ordem.

Corante	C_o (mg.L ⁻¹)	$q_{e,exp}$ (mg.g ⁻¹)	Pseudo-primeira ordem			Pseudo-segunda ordem		
			$q_{e,cal}$ (mg.g ⁻¹)	k_1 (min ⁻¹)	R^2	$q_{e,cal}$ (mg.g ⁻¹)	k_2 (g.mg ⁻¹ min ⁻¹)	R^2
Violeta de metila	200	135,37	137.80	0.033	0.950	142.24	0.000	0.995
	100	114.32	111.93	0.023	0.956	121.50	0.000	0.991
	80	70.88	75.79	0.044	0.727	73.31	0.001	0.998
	40	37.31	28.61	0.028	0.903	38.74	0.002	0.997
	20	19.43	14.48	0.033	0.835	19.86	0.008	0.998
	5	4.53	1.89	0.017	0.856	4.56	0.053	0.999

Fonte: Autoria própria.

Os gráficos apresentados na Figura 28(a) não apresentam boa linearidade para as concentrações do corante utilizados neste experimento. O maior valor de R^2 foi de 0,956 correspondente a concentração de 100 mg.L⁻¹, isto torna este modelo inadequado para o processo em estudo. Ao analisar a Figura 28(b), nota-se que este modelo cinético pseudo-segunda ordem é a que melhor se adapta aos dados experimentais em relação ao modelo cinético de pseudo-primeira ordem por apresentar uma maior linearidade, apresentando coeficiente de correlação de, no mínimo, 0,991 e, no máximo, 0,999, dentre as concentrações iniciais do corante. Este resultado confirma o bom acordo entre o valor de q_e calculado e o valor de q_e experimental, indicando que o modelo de pseudo-segunda ordem é mais adequado para descrever este sistema.

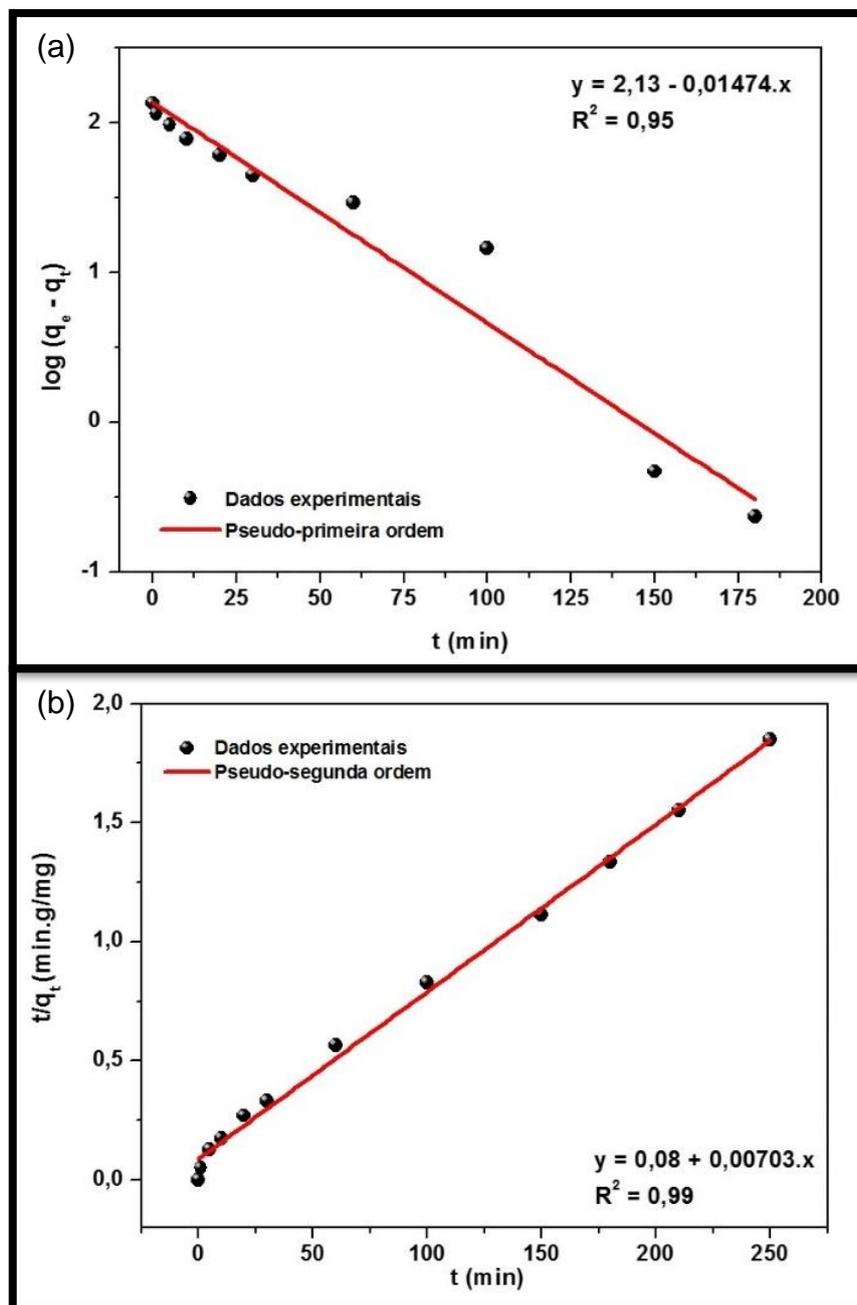
Figura 28: Gráficos de todas as concentrações do corante violeta de metila para o (a) modelo de Pseudo-primeira ordem e (b) Pseudo-segunda ordem.



Fonte: Autoria própria.

Como consequência desse aspecto limitante, a cinética de sorção é favorecida pela distribuição de fibras com maior relação superfície/volume – mais locais disponíveis na superfície. Além da modelagem da cinética de sorção, mais informações quantitativas estão disponíveis a partir das condições de equilíbrio medidas nas isotérmicas de adsorção.

Figura 29: Gráficos para a concentração de 200 mg. L^{-1} do corante violeta de metila para o (a) modelo Pseudo-primeira ordem e (b) Pseudo-segunda ordem.



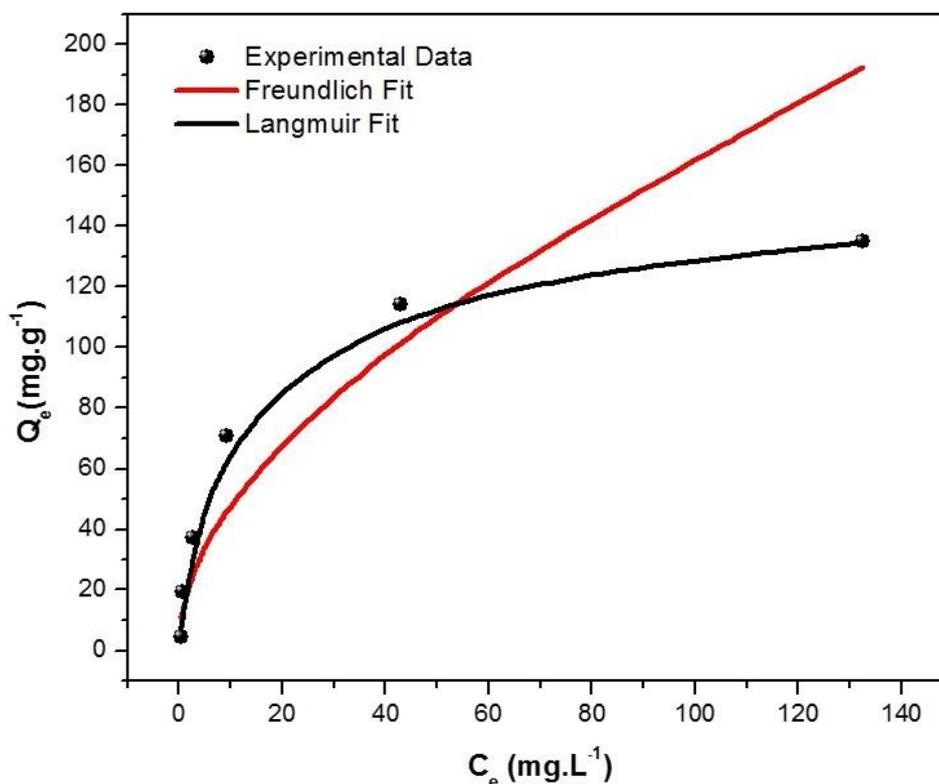
Fonte: Autoria própria.

4.4.2 Isotermas de adsorção

A isoterma de adsorção fornece algumas informações sobre como um sistema de adsorção se comporta, indicando como as moléculas do soluto interagem com o adsorvente (Ng *et al.*, 2002). A isoterma de adsorção do violeta de metila e os gráficos correspondentes de Lagmuir e Freundlich são mostrados na Figura 30. As formas

lineares de ambos os modelos e os ajustes de retorno correspondentes estão resumidos na Tabela 7.

Figura 30: Isotermas de adsorção do violeta de metila pelas fibras eletrofiadas de Eudragit® L100.



Fonte: Autoria própria.

O modelo de Langmuir estima que a superfície do adsorvente é homogênea, que os sítios de adsorção possuem um número fixo e localizados e equivalentes, cada sítio armazena uma única molécula e que as moléculas adsorvidas não interagem. A partir do gráfico apresentado na Figura 30, os valores de q_{max} e b foram calculados a partir da inclinação e interceptação da linha que representa este modelo (Tabela 7). O coeficiente de correlação (R^2) para o modelo de Langmuir é de 0,994, indicando que este processo de adsorção pode ser adequadamente descrito por este modelo.

Tabela 7: Parâmetros isotérmicos para a adsorção do violeta de metila pelas fibras eletrofiadas do Eudragit® L100.

Adsorvente	Corante	Langmuir			Freundlich		
		$q_{m\acute{a}x}$ (mg.g ⁻¹)	b (L.mg ⁻¹)	R^2	k_F (mg.g ⁻¹ .(L.mg ⁻¹) ^{1/n})	$1/n$	R^2
Eudragit® L100	Violeta de metila	143,88	0,11	0,99	16,08	0,51	0,79

Fonte: Autoria própria.

No entanto, o modelo de Freundlich descreve que o processo de adsorção entre o soluto e o adsorvente assume diferentes sítios com energias de adsorção diferentes, estimando que a superfície do adsorvente é heterogênea. O coeficiente de correlação obtido por este modelo foi de 0,79. Este resultado é inferior ao obtido no modelo de Langmuir, podendo descrever que o modelo de Langmuir é o melhor modelo para descrever este processo de adsorção.

Ao considerar as estimativas básicas desse modelo, o equilíbrio é alcançado em correspondência a distribuição de moléculas em monocamadas contínuas no adsorvente, na qual os locais disponíveis para a captura de moléculas estão distribuídas aleatoriamente. Aplicando esses aspectos no sistema experimental, é possível associar esses locais de ligação com a distribuição homogênea dos grupos carboxílicos disponíveis na superfície das fibras. Esses resultados confirmam que as fibras eletrofiadas de Eudragit® L100 (preparadas com baixa concentração de polímero e baixa taxa de infusão) oferecem uma superfície com distribuição homogênea de locais ativos para a captura efetiva de moléculas dos corantes.

Para comparação, introduzimos na Tabela 8 os dados correspondentes da capacidade de adsorção para diferentes sistemas experimentais, aplicados na remoção do corante violeta de metila. De acordo com o dados apresentados na Tabela 8, o uso das fibras eletrofiadas de Eudragit® L100 para remoção de corantes representa uma aplicação promissora para este sistema, devido ao bom valor apresentado da capacidade de adsorção ($135,37 \text{ mg.g}^{-1}$) em um tempo razoável de reação (na ordem de 180 min) apenas superado pelo polígorsquite (mineral de silicato fibroso que apresenta riscos de mesotelioma maligno, tão prejudicial como o amianto) (Larson *et al.*, 2016). Se comparado com os valores correspondentes para o carvão ativado granular – um adsorvente típico – (95 mg.g^{-1} por 20 min), é possível observar a forte atividade e potencial aplicação de fibras eletrofiadas aniônicas como um eficiente sistema para a remoção de corantes. O composto HNT- Fe_3O_4 , formado por magnetita e Halloysite que é um mineral de argila de aluminossilicato, possui uma baixa capacidade de adsorção (120 mg.L^{-1}) em um tempo de reação de 120 min se comparada ao adsorvente apresentado neste estudo.

Tabela 8: Comparação da capacidade de adsorção de diferentes adsorventes para o violeta de metila.

Adsorvente	q ($mg \cdot g^{-1}$)	Tempo de adsorção (min)	Referências
Compósito HNT- Fe_3O_4	20,04	120	(Bonetto <i>et al.</i> , 2015)
Dextran derivado de N-benziltriazol	95,24	120	(Cho <i>et al.</i> , 2015)
CSAC	135,14	180	(Özdemir <i>et al.</i> , 2016)
Nanotubos de Halloysite	113,64	60	(Liu <i>et al.</i> , 2011)
Paligorsquite	156,05	120	(Tian <i>et al.</i> , 2016)
Carvão ativado granular	95,00	200	(Azizian <i>et al.</i> , 2009)
Eudragit® L100	135,37	180	Este estudo

Fonte: Autoria própria.

4.5 ENSAIOS TERMODINÂMICOS

Os ensaios termodinâmicos revelaram que a adsorção do corante aumenta com o aumento da temperatura, como consequência da possível formação de novos sítios ativos na superfície do adsorvente. Os resultados apresentados na Tabela 9 indicam um valor negativo para ΔH^0 (-23,11 $kJ \cdot mol^{-1}$) caracterizando um típico processo de adsorção física exotérmica e espontânea ($\Delta H^0 < 40 \text{ kJ} \cdot mol^{-1}$ e $\Delta G^0 < 0$) com grau característico do grau de aleatoriedade ($\Delta S^0 > 0$).

Tabela 9: Parâmetros termodinâmicos para o violeta de metila obtidos a partir das isotermas de adsorção.

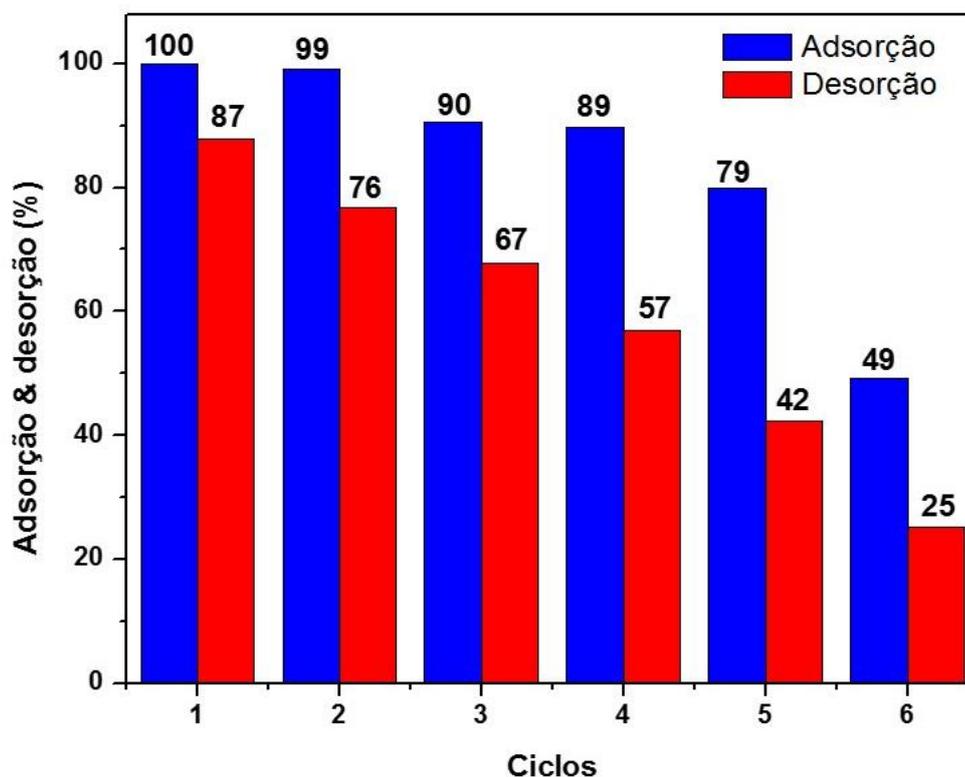
T (K)	K_c ($L \cdot g^{-1}$)	ΔH ($KJ \cdot mol^{-1}$)	ΔS ($J \cdot mol^{-1} \cdot K^{-1}$)	ΔG ($J \cdot mol^{-1}$)
298	1,02			-51,0
308	1,33			-737,2
318	1,75	-23,11	77,56	-1485,2
328	2,41			-2396,7

Fonte: Autoria própria.

4.6 REGENERAÇÃO DO ADSORVENTE

A reutilização das fibras eletrofiadas resultantes foram exploradas em seis ciclos sucessivos envolvendo adsorção e desorção do violeta de metila (Figura 31).

Figura 31: Eficiência de remoção de corante pelo adsorvente em função do número de ciclos de reuso.



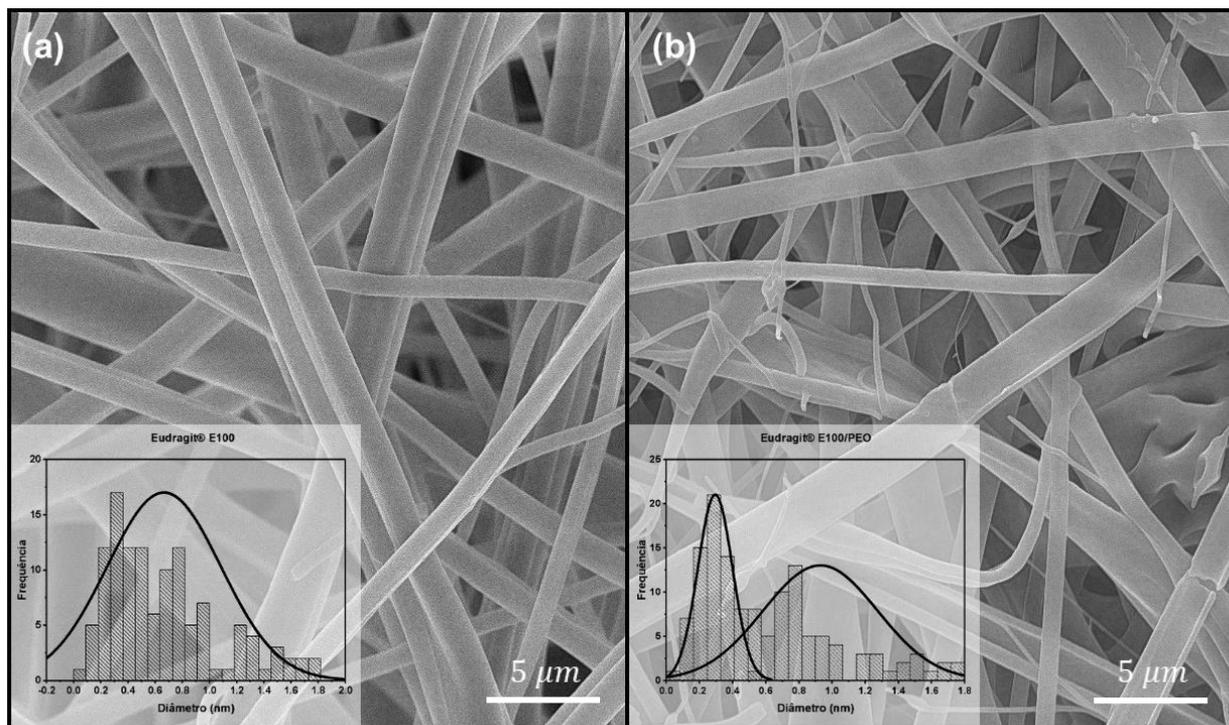
Fonte: Autoria própria.

Verificou-se que a eficiência de remoção diminui lentamente com o aumento do número de tempos de regeneração, caracterizando uma vantagem importante para este sistema – a eficiência de adsorção residual ainda acima de 50% após seis ciclos. Este processo de desorção para o Eudragit® L100 apresentou um rápido efeito quando realizado em condições ácidas – pH 2. Em condições com pH menos ácido, nota-se um processo mais lento e com uma menor eficiência. Em condições básicas, praticamente não foi possível remover as moléculas do corante da superfície das fibras.

4.7 CARACTERIZAÇÃO DE FIBRAS FUNCIONAIS DE EUDRAGIT® E100/PEO

A morfologia das fibras intactas de Eudragit® E100 é representada nas imagens de MEV na Figura 32a, enquanto o compósito de Eudragit® E100/PEO retorna fibras eletricamente mostradas na Figura 32b.

Figura 32: Imagens MEV e distribuição do diâmetro de (a) fibras eletrofiadas de Eudragit® E100 e (b) fibras eletrofiadas de Eudragit® E100/PEO.



Fonte: Autoria própria.

Para ambas as composições, é possível observar a deposição de fibras regulares e a ausência de grânulos. Além das nanofibras arredondadas, algumas fitas foram observadas nas fibras de eletrofiadas, provavelmente devido à fina camada de fibras que facilitam o escape do solvente durante o tempo de voo.

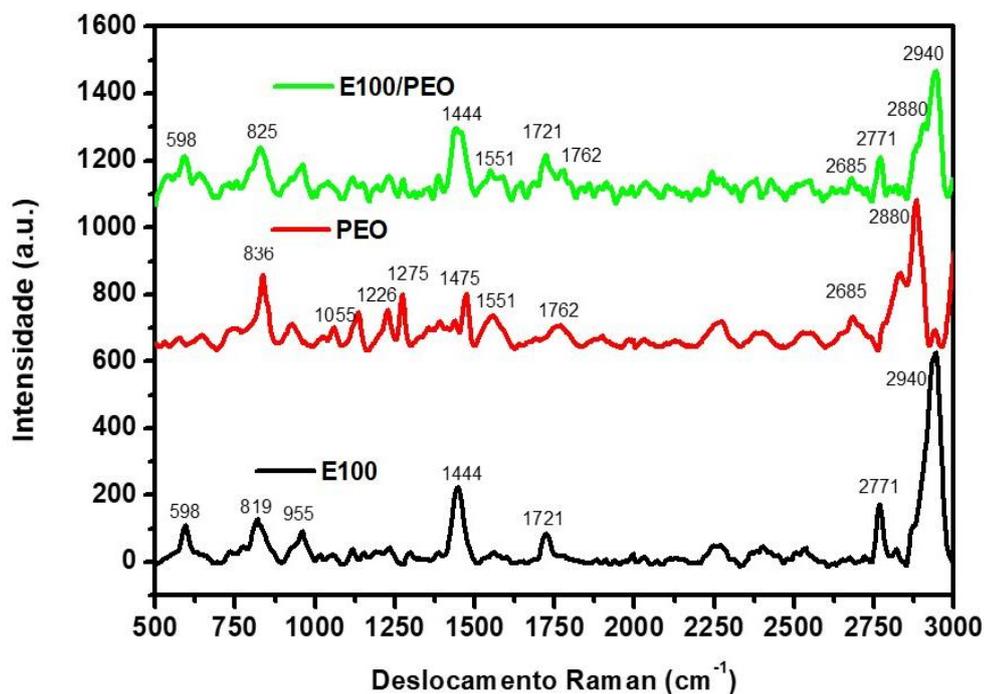
A influência do óxido de polietileno nas fibras é claramente identificada a partir das imagens. As fibras eletrostáticas do Eudragit® E100 são caracterizadas por fibras com distribuição regular de diâmetros em torno de 0,732 μm, enquanto uma distribuição bimodal de diâmetros é observada para fibras de Eudragit® E100/PEO. A imagem MEV na Figura 32b revela duas distribuições de diâmetros para fibras - fibras mais espessas com diâmetro de 0,9 μm e outras com distribuição de diâmetro centrada em 0,3 μm, como mostrado na micrografia. A distribuição bimodal de diâmetros previamente relatados (Zhou *et al.*, 2011), é criticamente importante para o desenvolvimento de fibras reforçadas com boas propriedades mecânicas. Como resultado, a estabilidade das fibras de Eudragit® E100/PEO na água foi melhorada pela adição de óxido de polietileno, fornecendo estrutura adequada para ensaios de adsorção de longa duração.

4.8 ESPECTROSCOPIA RAMAN

A estrutura do adsorvente Eudragit® E100/PEO foi analisada por espectroscopia Raman. As bandas características de fibras eletrofiadas de Eudragit® E100/PEO foram comparadas com o espectro correspondente de pós de componentes originais (Eudragit® E100 e PEO) (Figura 33).

Em relação ao Eudragit® E100, assinaturas características de grupos de copolímeros em bloco foram identificadas em 598 cm^{-1} (vibração de estiramento entre C-N) e 819 cm^{-1} (vibração de alongamento entre C-C). A banda 1444 cm^{-1} é atribuída ao modo terousa de $-\text{CH}_2$. A vibração de estiramento do éster C=O pode ser identificada em 1721 cm^{-1} , enquanto os grupos dimetilamina são identificados a partir da banda a 2771 cm^{-1} . Bandas adicionais de 2940 cm^{-1} e 955 cm^{-1} são atribuídas às vibrações de alongamento C-H e C-C, respectivamente (De Veij *et al.*, 2009).

Figura 33: Espectro Raman dos pós de Eudragit® E100, PEO e das fibras eletrofiadas de Eudragit® E100/PEO.



Fonte: Autoria própria.

Os picos característicos do óxido de polietileno foram observados em 1475 cm^{-1} (relacionados com a vibração do grupo em fase de CH_2), as bandas de 1226 e 1275 cm^{-1} foram atribuídas a torção fora de fase do grupo C-H, a banda de 1055 cm^{-1} é atribuída ao modo de estiramento do grupo C-O, enquanto a banda a 836 cm^{-1} é

identificada como a resposta dos grupos finais de hidroxila (Maxfield e Shepherd, 1975; Elashmawi e Gaabour, 2015).

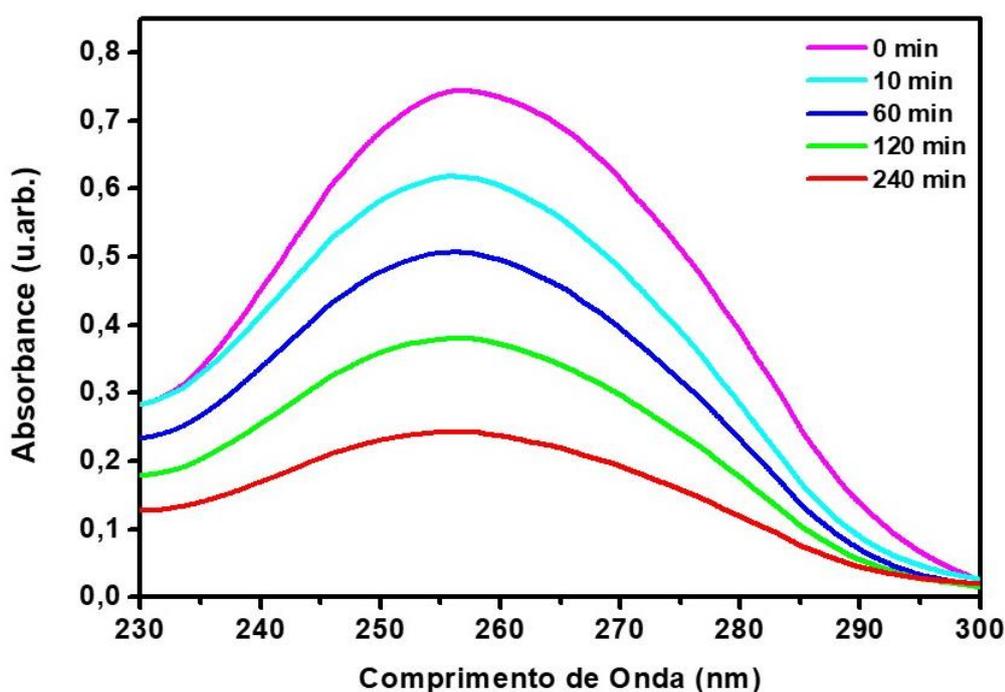
A comparação da distribuição de bandas em compostos primitivos (como pó) e o espectro Raman resultante de fibras de Eudragit® E100/PEO permitiram a identificação de bandas de ambos os polímeros e revelaram a incorporação adequada do óxido de polietileno em fibras de Eudragit® E100.

4.9 ENSAIOS DE ADSORÇÃO

4.9.1 Estudo da cinética de adsorção

O processo de adsorção do DNA nas fibras eletrofiadas pode ser observado a partir do DNA residual presente no adsorbato (a adsorção progressiva do DNA nas fibras é refletida na redução da concentração de DNA na solução aquosa). Os resultados na Figura 34 - absorvância no UV-vis do adsorbato (solução aquosa de DNA) - confirmam que a concentração residual de DNA em solução tende a ser reduzida com o aumento do tempo de adsorção - a intensidade do pico característico do DNA diminui com o tempo de reação.

Figura 34: Espectro de absorção de solução de DNA residual em função do tempo de reação.



Fonte: Autoria própria.

A curva da Figura 35 mostra o comportamento típico de adsorção no qual a saturação (condição de equilíbrio) é atingida pelo tempo na ordem de 240 min. O comportamento padrão na curva de adsorção é observado com a absorção mais rápida do DNA no período inicial de adsorção sendo progressivamente mais lenta até o limite em que a condição de equilíbrio ocorre (saturação na adsorção de espécies biológicas).

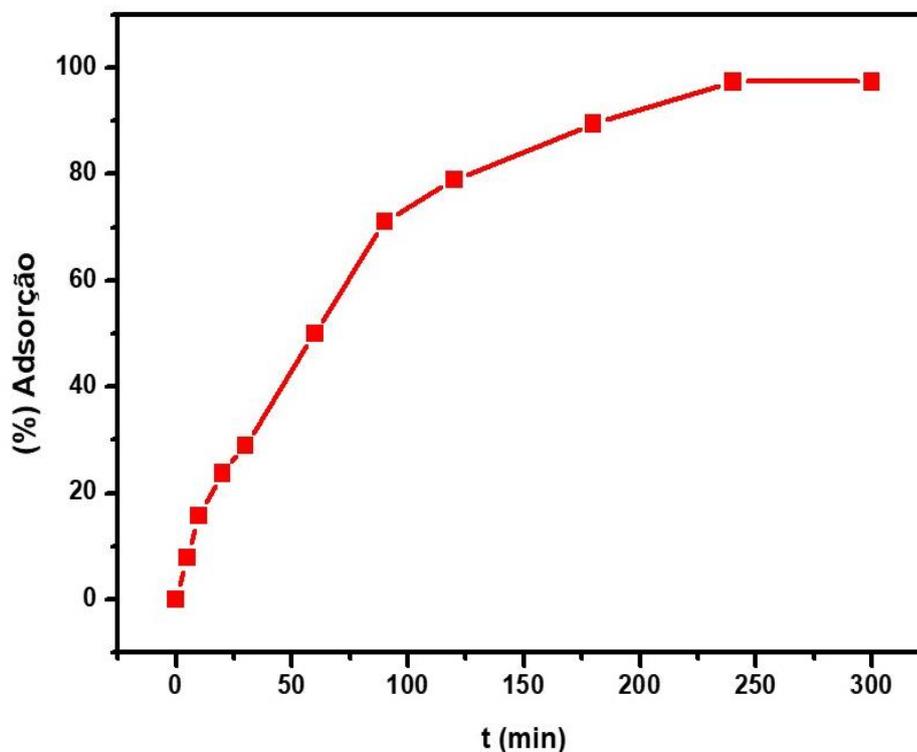
A incorporação superficial do DNA é favorecida no início do processo de adsorção devido à abundância de locais disponíveis para a incorporação de moléculas (adsorção mais rápida). Após esta etapa, ocorre a adsorção a granel (é necessário mais tempo para a difusão do DNA para os locais disponíveis na superfície da membrana), provocando uma diminuição progressiva na inclinação das espécies adsorvidas em função do processo global de adsorção.

Outro parâmetro importante a ser analisado refere-se à influência do adsorvato no processo de adsorção. A influência da quantidade de DNA no grau de adsorção por fibras eletrofiadas é resumida na Figura 36. Como mostrado, o grau de adsorção (em %) varia inversamente com a concentração de DNA, como esperado. É uma consequência do aumento da quantidade de moléculas de DNA presentes na solução para uma quantidade fixa de locais ativos no adsorvente em condições de equilíbrio. O aumento na adsorção do DNA representa uma maior transferência de massa do adsorvato para o adsorvente provocado pela força motriz de adsorção que é determinada pela diferença entre a concentração do soluto no adsorvente e o soluto na fase fluída (Javadian *et al.*, 2013). Em concentrações mais elevadas, há uma maior transferência de massa do adsorvato para o adsorvente devido o aumento da força motriz.

Por outro lado, a capacidade de adsorção aumenta com a concentração de DNA, atingindo um valor máximo de 44.10 mg.g^{-1} na condição de equilíbrio (tempo na ordem de 250 minutos). Com o crescimento da concentração, é possível notar um crescimento na capacidade de adsorção, isto nos informa que a massa do adsorvato retida por unidade de massa do adsorvente é alta para uma baixa concentração de equilíbrio do adsorvato na fase líquida. O crescimento na concentração de DNA pode afetar o grau de adsorção provocando forte decréscimo na porcentagem de adsorção

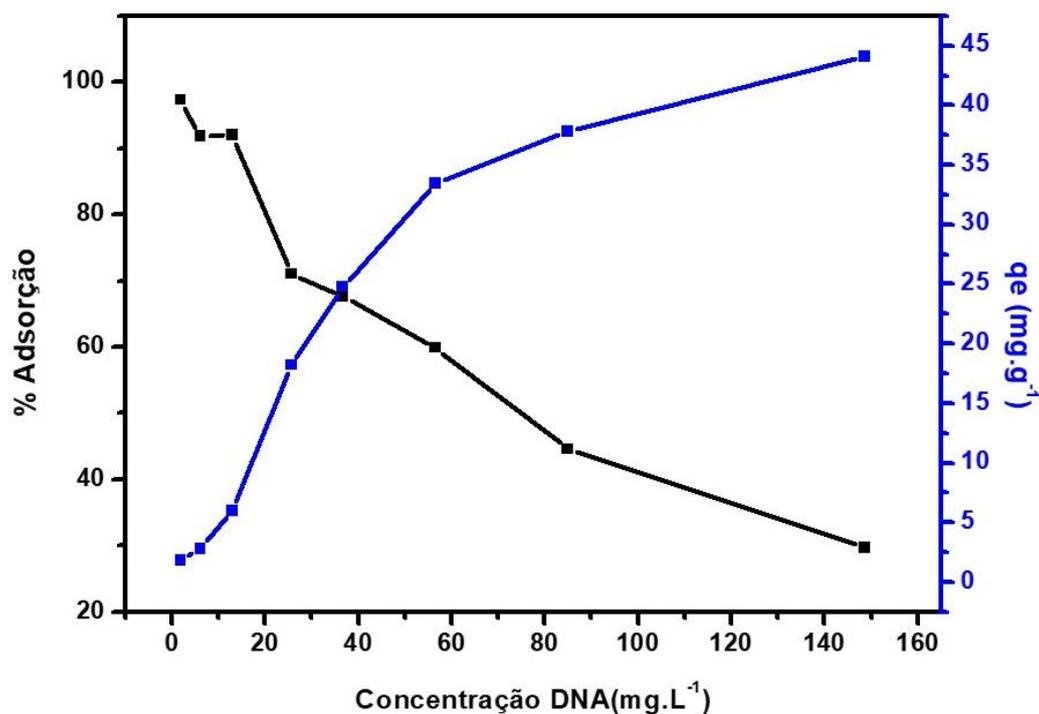
e resulta na diminuição do valor de q_e , determinando a melhor concentração de adsorbato para adsorção mais efetiva.

Figura 35: Dependência do grau de adsorção (em %) do DNA em fibras eletrofiadas em função do tempo de reação.



Fonte: Autoria própria.

Para avaliar os parâmetros que envolvem o processo de adsorção, a importância de processos volumosos nos mecanismos de adsorção foram explorados a partir da comparação de formas lineares de modelos cinéticos de pseudo-primeira ordem e pseudo-segunda-primeira ordem (com equações lineares descritas nas equações (10) e (11), respectivamente). A Tabela 10 mostra os valores para K_1 , K_2 e q_e previstos por cada modelo e o coeficiente de correlação para cada um. Como podemos ver, a ordem pseudo-segunda ajusta-se melhor aos dados experimentais (coeficiente de correlação mínimo de 0,971), enquanto o modelo de pseudo-primeira ordem foi mal ajustado aos dados experimentais correspondentes. Isso significa que a adsorção é estabelecida na interface líquido/sólido e que a etapa de controle da taxa de adsorção é estabelecida por reações nas interfaces antes da difusão das moléculas em direção às fibras eletrostáticas. Os grupos funcionais carregados em ambos os polímeros fornecem locais específicos para ligação química com moléculas de DNA.

Figura 36: Dependência do grau de adsorção e da capacidade de adsorção com a concentração do DNA.

Fonte: Autoria própria.

Tabela 10: Parâmetros cinéticos de adsorção do DNA pelo Eudragit® E100/PEO a partir dos gráficos do modelo de pseudo-primeira ordem e pseudo-segunda ordem.

C_o (mg.L ⁻¹)	$q_{e,exp}$ (mg.g ⁻¹)	Pseudo-primeira ordem			Pseudo-segunda ordem		
		$q_{e,cal}$ (mg.g ⁻¹)	k_1 (min ⁻¹)	R^2	$q_{e,cal}$ (mg.g ⁻¹)	k_2 (g.mg ⁻¹ min ⁻¹)	R^2
148.55	44.10	42.98	0.342	0.797	52.73	0.003	0.996
84.90	37.85	36.78	0.328	0.771	43.62	0.005	0.998
56.60	33.45	32.25	0.308	0.619	37.42	0.009	0.995
36.65	24.80	23.95	0.310	0.703	27.51	0.012	0.999
25.60	18.20	17.72	0.336	0,803	21.29	0.009	0.991
13.05	6.02	5.72	0.709	0.778	13.89	0.017	0.989
6.15	2.82	2.70	0.722	0.886	6.71	0.024	0.971
1.90	1.85	1.83	0.726	0,843	4.72	0.025	0.987

Fonte: Autoria própria.

4.9.2 Isoterma de adsorção

As isotermas de adsorção foram realizadas para avaliação nos mecanismos de interação entre as moléculas de DNA e adsorvente. A distribuição dos pontos experimentais na curva de Q_e versus C_e foi ajustada de acordo com as equações. (6) e (7) - curvas mostradas na Figura 37. Como podemos ver, a curva mais adequada que se ajusta aos dados experimentais é o modelo de Langmuir (com coeficiente de correlação - $R^2 = 0,99$) em comparação com o modelo de Freundlich ($R^2 = 0,95$) - ver Tabela 11.

Tabela 11: Parâmetros isotérmicos para a adsorção do DNA pelas fibras eletrofiadas do Eudragit® E100/PEO.

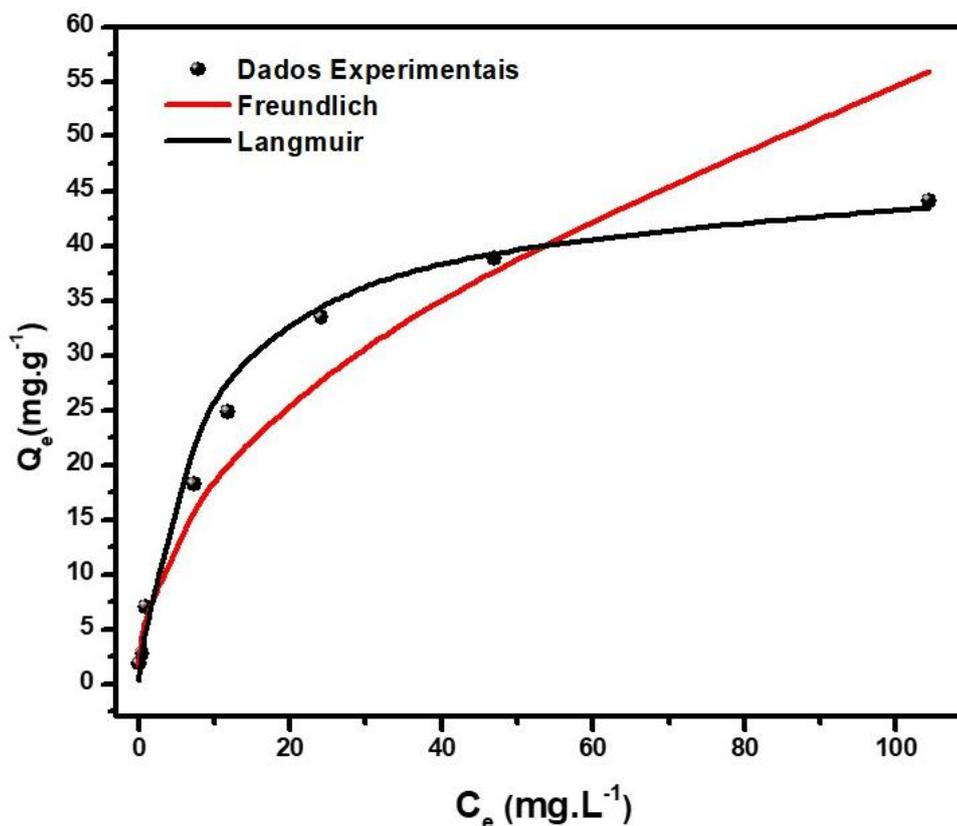
Adsorvente	Langmuir			Freundlich		
	$q_{máx}$ ($mg.g^{-1}$)	b ($L.mg^{-1}$)	R^2	k_F ($mg.g^{-1}.(L.mg^{-1})^{1/n}$)	$1/n$	R^2
Eudragit® E100/PEO	46,72	7,68	0,99	6,39	0,467	0,95

Fonte: Autoria própria.

Com base nesses resultados, a descrição dos dados em condição de não-equilíbrio do modelo de pseudo-segunda ordem e as isotermas do modelo de Langmuir revelam que a adsorção é uma etapa de controle de taxa, enquanto os sítios ativos de adsorção são homoganeamente distribuídos em fibras elétricas favorecendo o grau de cobertura das fibras por moléculas de DNA.

A comparação das propriedades de adsorção das fibras eletrofiadas de Eudragit® E100/PEO com sistemas relatados na literatura está resumida na Tabela 12. Como mostrado, a capacidade de adsorção dessas fibras é superior aos valores relatados para sílica mesoporosa (Solberg e Landry, 2006), microesferas de polianilina (Gai *et al.*, 2013) e partículas magnéticas revestidas com sílica (Sun *et al.*, 2014). O tempo característico para a reação é mais rápido do que o relatado em Refs (Solberg e Landry, 2006; Li *et al.*, 2011) caracterizando o Eudragit® E100/PEO como candidato promissor para adsorvente que associa razoável nível de adsorção com rápido processo de remoção de material biológico de solução aquosa.

Figura 37: Comparação das curvas de Langmuir e Freundlich com os dados experimentais da adsorção.



Fonte: Autoria própria.

Tabela 12: Comparação da capacidade e tempo de adsorção deste trabalho com dados correspondentes encontrados na literatura.

Adsorvente	q ($mg.g^{-1}$)	Tempo de adsorção (min)	Referências
γ -Fe ₂ O ₃ @ Quitosana@ Polianilina	49.50	60	(Maciel <i>et al.</i> , 2018)
Esferas de Alofano Nanocristalino	34.00	180	(Huang <i>et al.</i> , 2016)
MSN@TEOS	10.60	120	(Sun <i>et al.</i> , 2014)
MSP Fe₃O₄/SiO₂	121.00	1200	(Li <i>et al.</i> , 2011)
Fe₃O₄@PANI microesferas	2.10	40	(Gai <i>et al.</i> , 2013)
Sílica Mesoporosa preparada com Ácido	5.70	1440	(Solberg e Landry, 2006)
Fibras de Eudragit® E100/PEO	44.31	250	Este estudo

Fonte: Autoria própria.

4.10 ENSAIOS DE PCR

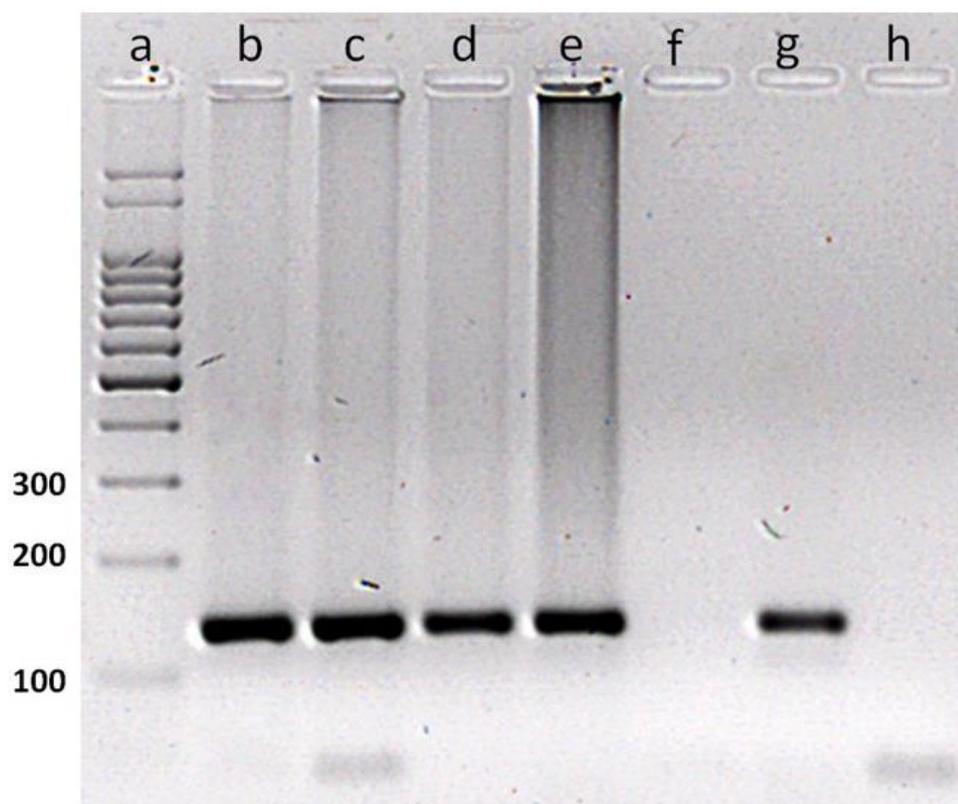
Processos de captura de moléculas biológicas preservadas (ausência de degradação do material biológico durante o processo) a partir de materiais adsorventes, são de fundamental importância para a análise do material capturado. Foi possível realizar a avaliação da integridade do DNA adsorvido realizando o processo de PCR com primers específicos (Pridgeon e Klesius, 2011) e com base na amplificação do fragmento do gene 18S. O processo de PCR foi realizado para as espécies adsorvidas em fibras eletrofiadas, seguido de um ensaio de eletroforese em gel de agarose, no qual a resposta foi comparada com o DNA padrão diluído em água.

A Figura 38 mostra o resultado obtido pela técnica de eletroforese em gel de agarose para verificar se o DNA foi danificado durante o processo de adsorção e/ou amplificação. No primeiro poço do gel (a), foi depositado o marcador molecular padrão. O DNA padrão em água (quantidade diferente - 100 ng/μL e 200 ng/μL) foi depositado no segundo (b) e terceiro (c) poços, consequentemente. As espécies de DNA adsorvidas e amplificadas foram depositadas no quarto poço (100 ng/μL(d)) e no quinto poço (200 ng/μL (e)) - cujas bandas apresentam maior intensidade em resposta a maior concentração de moléculas ativas. No sexto poço (f), foi adicionado membrana primitiva (antes da adsorção). Nos dois últimos poços, foram adicionados o controle positivo (g) - cDNA padrão de tilápia e o controle negativo (h). É possível observar a mesma amplificação de DNA na técnica de PCR e no controle. Em todos os casos a intensidade não muda, ou seja, o DNA não foi prejudicado após a adsorção pela membrana.

Estratégias alternativas para o desenvolvimento de dispositivos que reduzam o número de etapas para a remoção e amplificação de DNA são muito úteis em abordagens de diagnóstico de doenças rápidas e de baixo custo (Habyarimana *et al.*, 2018). Essas abordagens são exploradas a fim de desenvolver dispositivos de diagnósticos de fácil transporte e manipulação (Guo *et al.*, 2015).

Nossos resultados confirmam que o DNA adsorvido é de boa qualidade e livre de degradação, como indicado pela amplificação específica do DNA (Figura 38), mostrando excelente potencial para uso em plataformas de biologia molecular.

Figura 38: Eletroforese em gel de agarose a 2%. (a) marcador molecular (Ludwig); (b) DNA intacto (100 ng/uL); (c) DNA intacto (200 ng/uL); (d) DNA adsorvido pelas fibras eletrofiadas (100 ng/uL); (e) DNA adsorvido pelas fibras eletrofiadas (200 ng/uL); (f) fibras eletrofiadas livres de DNA; (g) controle positivo e (h) controle negativo.



Fonte: Autoria própria.

Podemos concluir então que o emprego das membranas poliméricas preparadas pela técnica de eletrofição, proporciona uma alta capacidade de adsorção das moléculas de corante (para as membranas do polímero entérico Eudragit® L100) e das moléculas de DNA (para as membranas do polímero entérico de Eudragit® E100 com o óxido de polietileno), apresentando ainda um baixo custo de produção. As vantagens encontradas no uso destas membranas são de fundamental importância e com bastante potencial para aplicação que vai desde a remediação ambiental até a abordagem de diagnóstico de doenças.

5 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Nesta pesquisa, foi avaliada a otimização na produção de fibras poliméricas pela técnica de eletrofiação para a aplicação no processo de adsorção seletiva de corantes iônicos (com as fibras eletrofiadas de Eudragit® L100) e para a aplicação na adsorção de DNA (com as fibras eletrofiadas de Eudragit® E100/PEO).

A otimização nas variáveis de processamento na produção de fibras eletrofiadas pela técnica de eletrofiação representa uma condição necessária para a melhoria no desempenho de fibras eletrofiadas aplicadas como materiais adsorventes. No que diz respeito à síntese, verificou-se que o diâmetro das fibras depende da concentração da solução polimérica e da taxa de deslocamento do líquido no capilar. Os diâmetros das fibras apresentaram-se mais espessas de acordo com o aumento progressivo da concentração da solução, bem como o aumento da taxa de injeção do líquido também propiciou um aumento no diâmetro das fibras resultantes.

Nota-se então que a taxa de injeção do fluido e a concentração relativa de polímero representam dois principais parâmetros críticos para otimização no diâmetro da fibra e na área superficial dos dispositivos resultantes, afetando a capacidade de adsorção dos materiais. Esta combinação adequada de parâmetros de processamento, proporcionou uma região adequada na janela de processamento em que apresenta uma alta relação superfície/volume, permitindo que os fenômenos de superfície predominem em comparação com a absorção de volume do corante.

Como consequência, esse processo favorece a dispersão homogênea de grupos carboxílicos na superfície das fibras, proporcionando uma dispersão homogênea de locais ativos para a adsorção de moléculas. O desenvolvimento de estruturas fibrilares com abundância de grupos funcionais para adsorção seletiva introduz um papel crítico neste processo.

A associação de menor concentração de Eudragit® L100 (166 g.L^{-1}) e menor taxa de infusão ($0,05 \text{ mL.min}^{-1}$) melhora significativamente a eficiência de adsorção do corante pelas fibras resultantes em valores que atinge 90% resultando em uma capacidade máxima de adsorção de $135,37 \text{ mg.g}^{-1}$. O modelo cinético que melhor define este processo é o modelo de Lagergren definindo que as moléculas são

distribuídas em monocamadas contínuas sobre a superfície do adsorvente. Os ensaios termodinâmicos revelaram que a adsorção é definida como um processo de fisissorção, exotérmico e espontâneo. Os ciclos de reutilização são favorecidos pelo alto grau de remoção em condições ácidas, devido à adesão superficial de contaminantes em fibras eletrofiadas.

A produção de fibras eletrofiadas de Eudragit® E100/PEO capazes de interagir com as moléculas de DNA representa uma alternativa importante para o processo de adsorção de materiais biológicos. A interação eletrostática entre as cargas negativas do DNA e as cargas positivas do adsorvente, resultam em uma alta capacidade de adsorção (44,31 mg.g⁻¹).

A membrana de Eudragit® E100/PEO preparada através da técnica de eletrofiação apresenta uma combinação de propriedades favoráveis, como a alta capacidade de adsorção, o baixo custo de produção, podem ser dispostas de formas diferentes (dobradas, recortadas ou empilhadas) sem sofrer danos à sua estrutura e preserva a integridade das cadeias do DNA no processo de adsorção. O uso das membranas eletrofiadas de Eudragit® E100/PEO como componentes ativos em kits de remoção de DNA (equivalente aos disponíveis atualmente) seria uma sugestão alternativa em diferentes aplicações biomédicas.

Os mecanismos de adsorção são estabelecidos pela distribuição homogênea de grupos carregados em fibras eletrofiadas, seguindo o modelo de Langmuir e o modelo de pseudo-segunda ordem, indicando que o processo é homogêneo e ocorre na interface líquido/sólido de difusão da adsorção. A redução no número de etapas para a remoção das moléculas de DNA da solução representa um passo importante para o desenvolvimento de adsorventes de DNA baseados em fibras eletrofiadas.

Como perspectiva, o aprimoramento da capacidade de adsorção das moléculas de DNA na superfície da membrana poderia ser realizada, por exemplo, com o aumento da área superficial. Como apresentado neste mesmo trabalho, as fibras de Eudragit® L100 apresentaram uma maior capacidade de adsorção quando as fibras apresentaram um menor diâmetro. Utilizando o mesmo princípio, seria possível aumentar a área superficial das fibras de Eudragit® E100/PEO ao reduzir o diâmetro das fibras variando os parâmetros de produção, tais como a taxa de infusão,

concentração da solução e a concentração dos polímeros Eudragit® E100 e Óxido de Polietileno na solução. As possíveis alterações propostas para a membrana de Eudragti® E100/PEO representam uma nova perspectiva para o estudo de materiais adsorventes aplicados à espécies biológicas.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALDRICH, S. GenElute™ Plasmid Miniprep Kit. 2014. Disponível em: < <https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigma-aldrich/docs/Sigma/Bulletin/pln70bul.pdf> >. Acesso em: 02/05/2018.

ANDERSSON, R. L. et al. Micromechanics of ultra-toughened electrospun PMMA/PEO fibres as revealed by in-situ tensile testing in an electron microscope. **Scientific reports**, v. 4, p. 6335, 2014.

ARAÚJO, E. S.; NASCIMENTO, M. L. F.; DE OLIVEIRA, H. P. Electrospinning of polymeric fibres: an unconventional view on the influence of surface tension on fibre diameter. **Fibres & Textiles in Eastern Europe**, n. 1 (115), p. 22--29, 2016.

ARSLAN, M.; YIĞITOĞLU, M. Use of methacrylic acid grafted poly (ethylene terephthalate) fibers for the removal of basic dyes from aqueous solutions. **Journal of applied polymer science**, v. 110, n. 1, p. 30-38, 2008.

ARUNA, S. et al. Electrospinning in solid oxide fuel cells—A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 67, p. 673-682, 2017.

ATTIA, A. A.; RASHWAN, W. E.; KHEDR, S. A. Capacity of activated carbon in the removal of acid dyes subsequent to its thermal treatment. **Dyes and Pigments**, v. 69, n. 3, p. 128-136, 2006.

AVLONITIS, S. et al. Simulated cotton dye effluents treatment and reuse by nanofiltration. **Desalination**, v. 221, n. 1-3, p. 259-267, 2008.

AZIZIAN, S.; HAERIFAR, M.; BASHIRI, H. Adsorption of methyl violet onto granular activated carbon: Equilibrium, kinetics and modeling. **Chemical Engineering Journal**, v. 146, n. 1, p. 36-41, 2009.

BAJPAI, S.; CHAND, N.; MAHENDRA, M. The adsorptive removal of cationic dye from aqueous solution using poly (methacrylic acid) hydrogels: part-I. Equilibrium studies. **Int J Environ Sci**, v. 2, n. 3, p. 1609-24, 2012a.

_____. The adsorptive removal of cationic dye from aqueous solution using poly (methacrylic acid) hydrogels: part-I. Equilibrium studies. **International Journal of Environmental Sciences**, v. 2, n. 3, p. 1609-1624, 2012b.

BALOGH, A. et al. Alternating current electrospinning for preparation of fibrous drug delivery systems. **International journal of pharmaceutics**, v. 495, n. 1, p. 75-80, 2015.

BALOGH, A. et al. Controlled-release solid dispersions of Eudragit® FS 100 and poorly soluble spironolactone prepared by electrospinning and melt extrusion. **European Polymer Journal**, v. 95, p. 406-417, 2017.

BANDALA, E. R. et al. Photocatalytic decolourisation of synthetic and real textile wastewater containing benzidine-based azo dyes. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, v. 47, n. 2, p. 169-176, 2008.

BARBOSA, J. D. A. B.; SANTOS, M. R. D.; OLIVEIRA, H. P. D. **Dispositivo adsorvedor de contaminantes baseado em matrizes poliméricas eletrofiadas** 2016.

BARRAGÁN, B. E.; COSTA, C.; MARQUEZ, M. C. Biodegradation of azo dyes by bacteria inoculated on solid media. **Dyes and Pigments**, v. 75, n. 1, p. 73-81, 2007.

BHARDWAJ, N.; KUNDU, S. C. Electrospinning: a fascinating fiber fabrication technique. **Biotechnology advances**, v. 28, n. 3, p. 325-347, 2010.

BONETTO, L. et al. Removal of methyl violet 2B dye from aqueous solution using a magnetic composite as an adsorbent. **Journal of Water Process Engineering**, v. 6, p. 11-20, 2015.

BONINO, C. A. et al. Electrospinning alginate-based nanofibers: From blends to crosslinked low molecular weight alginate-only systems. **Carbohydrate Polymers**, v. 85, n. 1, p. 111-119, 2011.

BRANCO, S. et al. Genetic isolation between two recently diverged populations of a symbiotic fungus. **Molecular ecology**, v. 24, n. 11, p. 2747-2758, 2015.

BROWN, T. A. **GENOMES 4**. 4^a. 2017. 524.

BRUNO, A. N. **Biotecnologia II: Aplicações e Tecnologias**. Artmed Editora, 2017. 238.

BURGAZ, E. Poly (ethylene-oxide)/clay/silica nanocomposites: Morphology and thermomechanical properties. **Polymer**, v. 52, n. 22, p. 5118-5126, 2011.

BUTLER, J. M. **Fundamentals of forensic DNA typing**. Academic Press, 2009.

CADAFALCH GAZQUEZ, G. et al. Influence of Solution Properties and Process Parameters on the Formation and Morphology of YSZ and NiO Ceramic Nanofibers by Electrospinning. **Nanomaterials**, v. 7, n. 1, p. 16, 2017.

CASEY, J. P. Pulp and paper. Chemistry and chemical technology. 1952.

CASPER, C. L. et al. Controlling surface morphology of electrospun polystyrene fibers: effect of humidity and molecular weight in the electrospinning process. **Macromolecules**, v. 37, n. 2, p. 573-578, 2004.

CETIN, M.; ATILA, A.; KADIOGLU, Y. Formulation and in vitro characterization of Eudragit® L100 and Eudragit® L100-PLGA nanoparticles containing diclofenac sodium. **Aaps Pharmscitech**, v. 11, n. 3, p. 1250-1256, 2010.

CHANDRA NANDY, B.; MAZUMDER, B. Formulation and characterizations of delayed release multi-particulates system of indomethacin: optimization by response surface methodology. **Current drug delivery**, v. 11, n. 1, p. 72-86, 2014.

CHATTERJEE, D.; MAHATA, A. Demineralization of organic pollutants on the dye modified TiO₂ semiconductor particulate system using visible light. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 33, n. 2, p. 119-125, 2001.

CHENG, J. et al. Electrospinning versus microfluidic spinning of functional fibers for biomedical applications. **Biomaterials**, v. 114, p. 121-143, 2017.

CHEREMISINOFF, N. P. **Handbook of water and wastewater treatment technologies**. Butterworth-Heinemann, 2001.

CHEUNG, S. F. et al. A one-pot, isothermal DNA sample preparation and amplification platform utilizing aqueous two-phase systems. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, p. 1-9, 2018.

CHEVALIEZ, S.; PAWLOTSKY, J.-M. New virological tools for screening, diagnosis and monitoring of hepatitis B and C in resource-limited settings. **Journal of hepatology**, 2018.

CHO, E. et al. Removal of methyl violet dye by adsorption onto N-benzyltriazole derivatized dextran. **RSC Advances**, v. 5, n. 43, p. 34327-34334, 2015.

CHOMCZYNSKI, P.; SACCHI, N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. **Analytical biochemistry**, v. 162, n. 1, p. 156-159, 1987.

CHUNG, K.-T. Azo dyes and human health: A review. **Journal of Environmental Science and Health, Part C**, v. 34, n. 4, p. 233-261, 2016.

CLARK, R. J.; DINES, T. J. Resonance Raman Spectroscopy, and Its Application to Inorganic Chemistry. New Analytical Methods (27). **Angewandte Chemie International Edition**, v. 25, n. 2, p. 131-158, 1986.

COLTHUP, N. **Introduction to infrared and Raman spectroscopy**. Elsevier, 2012.

COONEY, D. O. **Adsorption design for wastewater treatment**. CRC press, 1998.

CORKILL, G.; RAPLEY, R. **The Manipulation of Nucleic Acids- *Molecular Biomethods Handbook***: Springer, 2008. p.3-15.

CORRÊA, E. M.; POSSIK, P. A. A análise de DNA por eletroforese. 2016. Disponível em: <
http://www.ciencianews.com.br/arquivos/ACET/IMAGENS/biologia_molecular/testesgeneticos.pdf >. Acesso em: 09/05/2018.

CORTHELL, J. T. **Basic Molecular Protocols in Neuroscience: Tips, Tricks, and Pitfalls**. Academic Press, 2014.

COSTA, M.; MOURA, E. **Manual de extração de DNA**. Embrapa Amazônia Oriental, 2001.

COSTA, R. G. et al. Electrospinning of polymers in solution: part I: theoretical foundation. **Polímeros**, v. 22, n. 2, p. 170-177, 2012.

CRINI, G.; BADOT, P.-M. Application of chitosan, a natural aminopolysaccharide, for dye removal from aqueous solutions by adsorption processes using batch studies: a review of recent literature. **Progress in polymer science**, v. 33, n. 4, p. 399-447, 2008.

CUI, D. et al. Azo dye removal in a membrane-free up-flow biocatalyzed electrolysis reactor coupled with an aerobic bio-contact oxidation reactor. **Journal of hazardous materials**, v. 239, p. 257-264, 2012.

DA COSTA, F. F. et al. Electrospun fibers of enteric polymer for controlled drug delivery. **International Journal of Polymer Science**, v. 2015, 2015.

DAHRI, M. K.; KOOH, M. R. R.; LIM, L. B. Removal of methyl violet 2B from aqueous solution using *Casuarina equisetifolia* needle. **ISRN Environmental Chemistry**, v. 2013, 2013.

DE OLIVEIRA, H. et al. Physico-chemical analysis of metronidazole encapsulation processes in Eudragit copolymers and their blending with amphiphilic block copolymers. **International journal of pharmaceutics**, v. 380, n. 1, p. 55-61, 2009.

DE VEIJ, M. et al. Reference database of Raman spectra of pharmaceutical excipients. **Journal of Raman Spectroscopy**, v. 40, n. 3, p. 297-307, 2009.

DE VRIEZE, S. et al. The effect of temperature and humidity on electrospinning. **Journal of materials science**, v. 44, n. 5, p. 1357, 2009.

DEITZEL, J. et al. Controlled deposition of electrospun poly (ethylene oxide) fibers. **Polymer**, v. 42, n. 19, p. 8163-8170, 2001.

DEITZEL, J. M. et al. The effect of processing variables on the morphology of electrospun nanofibers and textiles. **Polymer**, v. 42, n. 1, p. 261-272, 2001.

DEMIRBAS, A. Agricultural based activated carbons for the removal of dyes from aqueous solutions: a review. **Journal of hazardous materials**, v. 167, n. 1, p. 1-9, 2009.

DO NASCIMENTO, R. F. et al. Adsorção: aspectos teóricos e aplicações ambientais. **Biblioteca de Ciências e Tecnologia**, 2014.

DROSOU, C. G.; KROKIDA, M. K.; BILIADERIS, C. G. Encapsulation of bioactive compounds through electrospinning/electrospraying and spray drying: A comparative assessment of food-related applications. **Drying Technology**, v. 35, n. 2, p. 139-162, 2017.

EGERTON, R. F. **Physical principles of electron microscopy**. Springer, 2005.

EICHHORN, S. J.; SAMPSON, W. W. Statistical geometry of pores and statistics of porous nanofibrous assemblies. **Journal of the royal society Interface**, v. 2, n. 4, p. 309-318, 2005.

BARBOSA, J. A. B.

ELASHMAWI, I.; GAABOUR, L. Raman, morphology and electrical behavior of nanocomposites based on PEO/PVDF with multi-walled carbon nanotubes. **Results in Physics**, v. 5, p. 105-110, 2015.

ELKASABGY, N. A.; ELSAYED, I.; ELSHAFEEY, A. H. Design of liposomes as a novel dual functioning nanocarrier for bioavailability enhancement of lacidipine: in-vitro and in-vivo characterization. **International journal of pharmaceutics**, v. 472, n. 1, p. 369-379, 2014.

ENSAFI, A. A.; KAZEMZADEH, A. Monitoring nitrite with optical sensing films. **Microchemical journal**, v. 72, n. 2, p. 193-199, 2002.

ESCADAFAL, C. et al. Rapid molecular assays for the detection of yellow fever virus in low-resource settings. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 8, n. 3, p. e2730, 2014.

ESSALHI, M.; KHAYET, M. Self-sustained webs of polyvinylidene fluoride electrospun nano-fibers: Effects of polymer concentration and desalination by direct contact membrane distillation. **Journal of Membrane Science**, v. 454, p. 133-143, 2014.

FAOUZI, A. M.; NASR, B.; ABDELLATIF, G. Electrochemical degradation of anthraquinone dye Alizarin Red S by anodic oxidation on boron-doped diamond. **Dyes and Pigments**, v. 73, n. 1, p. 86-89, 2007.

FEBRIANTO, J. et al. Equilibrium and kinetic studies in adsorption of heavy metals using biosorbent: a summary of recent studies. **Journal of hazardous materials**, v. 162, n. 2, p. 616-645, 2009.

FERNANDES, D. et al. Novel hydrogels containing Nafion and poly (ethylene oxide) based block copolymers. **Polymer**, v. 114, p. 73-78, 2017.

FERREIRA, J. A. **Estudo das interações entre surfactantes e partículas de argila em suspensão aquosa utilizando corantes catiônicos**. 1998. 118p. Dissertação

(mestrado) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

FLOYD, R. A.; SCHNEIDER, J. E.; DITTMER, D. P. Methylene blue photoinactivation of RNA viruses. **Antiviral research**, v. 61, n. 3, p. 141-151, 2004.

FONG, H.; CHUN, I.; RENEKER, D. Beaded nanofibers formed during electrospinning. **Polymer**, v. 40, n. 16, p. 4585-4592, 1999.

FORMHALS, A. US Patent 1975504. **US Pat**, v. 1975504, 1934.

FORMHALS, A. Method and apparatus for spinning. **US patent**, v. 2, n. 160, p. 962, 1939.

FORMHALS, A. Apparatus for Producing Artificial Fibers from Fiber-forming Liquids by an "Electrical Spinning" Method. **US Patent**, v. 2, n. 323, p. 025, 1943.

_____. Method and apparatus for spinning (patent). **US Patent Specification**, v. 2349950, 1944.

FRENOT, A.; CHRONAKIS, I. S. Polymer nanofibers assembled by electrospinning. **Current opinion in colloid & interface science**, v. 8, n. 1, p. 64-75, 2003.

FREUNDLICH, H. Over the adsorption in solution. **J. Phys. Chem**, v. 57, n. 385, p. e470, 1906.

FRIDRIKH, S. V. et al. Controlling the fiber diameter during electrospinning. **Physical review letters**, v. 90, n. 14, p. 144502, 2003.

FRIZZELL, H.; OHLSEN, T. J.; WOODROW, K. A. Protein-loaded emulsion electrospun fibers optimized for bioactivity retention and pH-controlled release for peroral delivery of biologic therapeutics. **International journal of pharmaceuticals**, v. 533, n. 1, p. 99-110, 2017.

BARBOSA, J. A. B.

GAI, L. et al. Surfactant-free synthesis of Fe₃O₄@ PANI and Fe₃O₄@ PPy microspheres as adsorbents for isolation of PCR-ready DNA. **Dalton Transactions**, v. 42, n. 5, p. 1820-1826, 2013.

GALLAGHER, S. R.; DESJARDINS, P. R. Quantitation of DNA and RNA with absorption and fluorescence spectroscopy. **Current protocols in molecular biology**, v. 76, n. 1, p. A. 3D. 1-A. 3D. 21, 2006.

GARCÍA, E. R. et al. Adsorption of azo-dye orange II from aqueous solutions using a metal-organic framework material: iron-benzenetricarboxylate. **Materials**, v. 7, n. 12, p. 8037-8057, 2014.

GILLIES, E. R. et al. Biological evaluation of polyester dendrimer: poly (ethylene oxide)“bow-tie” hybrids with tunable molecular weight and architecture. **Molecular pharmaceutics**, v. 2, n. 2, p. 129-138, 2005.

GOLDSTEIN, J. et al. **Scanning electron microscopy and X-ray microanalysis: a text for biologists, materials scientists, and geologists**. Springer Science & Business Media, 2012.

GOSECKI, M. et al. Polyglycidol, its derivatives, and polyglycidol-containing copolymers—Synthesis and medical applications. **Polymers**, v. 8, n. 6, p. 227, 2016.

GOULD, I. R.; KOLLMAN, P. A. Theoretical investigation of the hydrogen bond strengths in guanine-cytosine and adenine-thymine base pairs. **Journal of the American Chemical Society**, v. 116, n. 6, p. 2493-2499, 1994.

GUARATINI, C. C.; ZANONI, M. V. B. Textile dyes. **Química Nova**, v. 23, n. 1, p. 71-78, 2000.

GUERRINI, L. M. et al. Thermal and structural characterization of nanofibers of poly (vinyl alcohol) produced by electrospinning. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 112, n. 3, p. 1680-1687, 2009.

GUO, Z. et al. An integrated microfluidic chip for the detection of bacteria—a proof of concept. **Molecular and cellular probes**, v. 29, n. 4, p. 223-227, 2015.

GUPTA, P. et al. Electrospinning of linear homopolymers of poly (methyl methacrylate): exploring relationships between fiber formation, viscosity, molecular weight and concentration in a good solvent. **Polymer**, v. 46, n. 13, p. 4799-4810, 2005.

GUPTA, V. Application of low-cost adsorbents for dye removal—A review. **Journal of environmental management**, v. 90, n. 8, p. 2313-2342, 2009.

GUPTA, V. K.; JAIN, R.; VARSHNEY, S. Electrochemical removal of the hazardous dye Reactofix Red 3 BFN from industrial effluents. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 312, n. 2, p. 292-296, 2007.

HABYARIMANA, T. et al. Detection of human papillomavirus DNA in tumors from Rwandese breast cancer patients. **Breast Cancer**, p. 1-7, 2018.

HANSEN, B.; HOCEVAR, M. A.; FERREIRA, C. A. A facile and simple polyaniline-poly (ethylene oxide) based glucose biosensor. **Synthetic Metals**, v. 222, p. 224-231, 2016.

HAO, O. J.; KIM, H.; CHIANG, P.-C. Decolorization of wastewater. **Critical reviews in environmental science and technology**, v. 30, n. 4, p. 449-505, 2000.

HARRIS, Z.; ZALIPSKY, S. **Poly(ethylene Glycol)- Chemistry and Biological Applications**. San Francisco: ACS, 1997.

HASAN, Z.; JHUNG, S. H. Removal of hazardous organics from water using metal-organic frameworks (MOFs): plausible mechanisms for selective adsorptions. **Journal of hazardous materials**, v. 283, p. 329-339, 2015.

HAWKES, P.; SPENCE, J. C. **Science of microscopy**. Springer Science & Business Media, 2008.

HAWKINS, T. L. et al. DNA purification and isolation using a solid-phase. **Nucleic acids research**, v. 22, n. 21, p. 4543, 1994.

HE, J.-H.; WAN, Y.-Q.; YU, J.-Y. Effect of concentration on electrospun polyacrylonitrile (PAN) nanofibers. **Fibers and Polymers**, v. 9, n. 2, p. 140-142, 2008.

HEALTHCARE, G. FTA™ cards. 2011. Disponível em: <
https://www.gelifesciences.co.jp/tech_support/manual/pdf/28984354%20AA_FTA%20CardsDataSheet.pdf>. Acesso em: 02/05/2018.

HO, Y.-S. **Absorption of heavy metals from waste streams by peat**. 1995. University of Birmingham

HO, Y.; MCKAY, G. A comparison of chemisorption kinetic models applied to pollutant removal on various sorbents. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 76, n. 4, p. 332-340, 1998.

HO, Y.; MCKAY, G. A kinetic study of dye sorption by biosorbent waste product pith. **Resources, conservation and recycling**, v. 25, n. 3, p. 171-193, 1999.

HOHMAN, M. M. et al. Electrospinning and electrically forced jets. I. Stability theory. **Physics of fluids**, v. 13, n. 8, p. 2201-2220, 2001.

HOSNY, K. M.; AHMED, O. A. A.; AL-ABDALI, R. T. Enteric-coated alendronate sodium nanoliposomes: a novel formula to overcome barriers for the treatment of osteoporosis. **Expert opinion on drug delivery**, v. 10, n. 6, p. 741-746, 2013.

HOWER, J. C. et al. Hydration of “nonfouling” functional groups. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 113, n. 1, p. 197-201, 2008.

HU, J. et al. Electrospinning of poly (glycerol sebacate)-based nanofibers for nerve tissue engineering. **Materials Science and Engineering: C**, v. 70, p. 1089-1094, 2017.

HUANG, Y.-T. et al. DNA adsorption by nanocrystalline allophane spherules and nanoaggregates, and implications for carbon sequestration in Andisols. **Applied Clay Science**, v. 120, p. 40-50, 2016.

HUANG, Z.-M. et al. A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites. **Composites science and technology**, v. 63, n. 15, p. 2223-2253, 2003.

HUEBNER, K. **History-150 Years of mauveine**: WILEY-V CH VERLAG GMBH PO BOX 10 11 61, D-69451 WEINHEIM, GERMANY 2006.

ILLANGAKOON, U. **Advanced drug delivery systems prepared by electrospinning**. 2016. UCL (University College London)

ILLANGAKOON, U. E. et al. Mebeverine-Loaded Electrospun Nanofibers: Physicochemical Characterization and Dissolution Studies. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 103, n. 1, p. 283-292, 2014.

INDUSTRIES, E. Eudragit® Setting benchmarks in oral solid dosage forms since 1954., 2017. Disponível em: <
http://healthcare.evonik.com/sites/lists/NC/DocumentsHC/Evonik-Eudragit_brochure.pdf>. Acesso em: 13 de setembro.

JANA, A. K. Solar cells based on dyes. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 132, n. 1, p. 1-17, 2000.

JAVADIAN, H.; VAHEDIAN, P.; TOOSI, M. Adsorption characteristics of Ni (II) from aqueous solution and industrial wastewater onto Polyaniline/HMS nanocomposite powder. **Applied surface science**, v. 284, p. 13-22, 2013.

JIA, D.; GAO, Y.; WILLIAMS, G. R. Core/shell poly (ethylene oxide)/Eudragit fibers for site-specific release. **International journal of pharmaceutics**, v. 523, n. 1, p. 376-385, 2017.

JIANG, H. et al. Formulation and evaluation of gastroretentive floating drug delivery system of dipyridamole. **Drug development and industrial pharmacy**, v. 41, n. 4, p. 674-680, 2015.

KAFFASHI, B.; BARMAR, M.; EYVANI, J. The steady state and dynamic rheological properties of telechelic associative polymer solutions. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 254, n. 1, p. 125-130, 2005.

KARA, M. et al. Adsorption of cobalt from aqueous solutions onto sepiolite. **Water research**, v. 37, n. 1, p. 224-232, 2003.

KARP, G. **Biologia celular y molecular: conceptos y experimentos (6a)**. McGraw Hill Mexico, 2011.

KASU, M.; SHIRES, K. The validation of forensic DNA extraction systems to utilize soil contaminated biological evidence. **Legal Medicine**, v. 17, n. 4, p. 232-238, 2015.

KENDALL, E. L.; WIENHOLD, E.; DEVOE, D. L. A chitosan coated monolith for nucleic acid capture in a thermoplastic microfluidic chip. **Biomicrofluidics**, v. 8, n. 4, p. 044109, 2014.

KHAN, M. A. et al. Synthesis, characterization, and biological applications of nanocomposites for the removal of heavy metals and dyes. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 54, n. 1, p. 76-82, 2014.

KI, C. S. et al. Characterization of gelatin nanofiber prepared from gelatin–formic acid solution. **Polymer**, v. 46, n. 14, p. 5094-5102, 2005.

KIEFFER, B. L. et al. The delta-opioid receptor: isolation of a cDNA by expression cloning and pharmacological characterization. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 89, n. 24, p. 12048-12052, 1992.

KOONTZ, D. et al. Evaluation of DNA extraction methods for the detection of Cytomegalovirus in dried blood spots. **Journal of Clinical Virology**, v. 66, p. 95-99, 2015.

BARBOSA, J. A. B.

KOSKI, A.; YIM, K.; SHIVKUMAR, S. Effect of molecular weight on fibrous PVA produced by electrospinning. **Materials Letters**, v. 58, n. 3, p. 493-497, 2004.

LABIADH, L. et al. Complete removal of AHPS synthetic dye from water using new electro-fenton oxidation catalyzed by natural pyrite as heterogeneous catalyst. **Journal of hazardous materials**, v. 297, p. 34-41, 2015.

LAGERGREN, S. About the theory of so-called adsorption of soluble substances. 1898.

LAGERGREN, S. Zur theorie der sogenannten adsorption gelöster stoffe. Bil. K. Svenska Vetenskapsakad, Handl. 24 as cited by Wasay et al., 1996. **Water Research**, v. 30, p. 1143-1148, 1898.

LAM, H. L. **Electrospinning of single wall carbon nanotube reinforced aligned fibrils and yarns**. 2004.

LANDO, J.; KOENIG, J.; SEMEN, J. Conformational studies of poly (methacrylic Acid). II. Laser-excited Raman studies of the conformational transition in aqueous solution. **Journal of Macromolecular Science, Part B: Physics**, v. 7, n. 2, p. 319-343, 1973.

LANGMUIR, I. THE CONSTITUTION AND FUNDAMENTAL PROPERTIES OF SOLIDS AND LIQUIDS. PART I. SOLIDS. **Journal of the American Chemical Society**, v. 38, n. 11, p. 2221-2295, 1916.

LARSON, D. et al. Investigating palygorskite's role in the development of mesothelioma in southern Nevada: Insights into fiber-induced carcinogenicity. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B**, v. 19, n. 5-6, p. 213-230, 2016.

LAUER, M. E. et al. Atomic force microscopy-based screening of drug-exipient miscibility and stability of solid dispersions. **Pharmaceutical research**, v. 28, n. 3, p. 572-584, 2011.

LAURENCIN, C. T. et al. Recent patents on electrospun biomedical nanostructures: an overview. **Recent patents on biomedical engineering**, v. 1, n. 1, p. 68-78, 2008.

LEE, K. et al. The change of bead morphology formed on electrospun polystyrene fibers. **Polymer**, v. 44, n. 14, p. 4029-4034, 2003.

LETTERMAN, R. D. **Water quality and treatment: a handbook of community water supplies**. McGraw-Hill Professional, 1999.

LEVEL, B. N. F. A. PCR e eletroforese em gel. 2016. Disponível em: <<http://biology4alevel.blogspot.com.br/2016/07/157-pcr-and-gel-electrophoresis.html>>. Acesso em: 21/05/2018.

LI, C.-P. et al. A nanoporous Ag (I) coordination polymer for selective adsorption of carcinogenic dye Acid Red 26. **Chemical Communications**, 2017.

LI, D.; WANG, Y.; XIA, Y. Electrospinning of polymeric and ceramic nanofibers as uniaxially aligned arrays. **Nano letters**, v. 3, n. 8, p. 1167-1171, 2003.

LI, J.; NI, X.; LEONG, K. W. Injectable drug-delivery systems based on supramolecular hydrogels formed by poly (ethylene oxide) s and α -cyclodextrin. **Journal of biomedical materials research Part A**, v. 65, n. 2, p. 196-202, 2003.

LI, L. et al. Hierarchically structured PMMA fibers fabricated by electrospinning. **RSC Advances**, v. 4, n. 95, p. 52973-52985, 2014.

LI, X.; ZHANG, J.; GU, H. Adsorption and desorption behaviors of DNA with magnetic mesoporous silica nanoparticles. **Langmuir**, v. 27, n. 10, p. 6099-6106, 2011.

LIN, S.-Y.; LIAO, C.-M.; HSIUE, G.-H. A reflectance FTIR/DSC microspectroscopic study of the nonisothermal kinetics of anhydride formation in Eudragit L-100 films. **Polymer degradation and stability**, v. 47, n. 2, p. 299-303, 1995.

LIN, T. **Nanofibers-production, properties and functional applications**. InTech, 2011.

LITTLE, M. C. **Process for the purification of DNA on diatomaceous earth**: Google Patents 1991.

LIU, M. et al. High efficient removal of dyes from aqueous solution through nanofiltration using diethanolamine-modified polyamide thin-film composite membrane. **Separation and Purification Technology**, v. 173, p. 135-143, 2017.

LIU, R. et al. Adsorption of methyl violet from aqueous solution by halloysite nanotubes. **Desalination**, v. 268, n. 1, p. 111-116, 2011.

LONG, D. A. The Raman effect: a unified treatment of the theory of Raman scattering by molecules. **West Sussex**, 2002.

LONG, D. A.; LONG, D. **Raman spectroscopy**. McGraw-Hill New York, 1977.

LU, J.-W. et al. Electrospinning of sodium alginate with poly (ethylene oxide). **Polymer**, v. 47, n. 23, p. 8026-8031, 2006.

MACIEL, B. G. et al. Magnetic extraction and purification of DNA from whole human blood using a γ -Fe₂O₃@ Chitosan@ Polyaniline hybrid nanocomposite. **Carbohydrate Polymers**, v. 197, p. 100-108, 2018.

MARCAL, L. et al. Amine-Functionalized Titanosilicates Prepared by the Sol- Gel Process as Adsorbents of the Azo-Dye Orange II. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 50, n. 1, p. 239-246, 2010.

MASEL, R. I. **Principles of adsorption and reaction on solid surfaces**. John Wiley & Sons, 1996.

MATTHEWS, J. A. et al. Electrospinning of collagen nanofibers. **Biomacromolecules**, v. 3, n. 2, p. 232-238, 2002.

MAXFIELD, J.; SHEPHERD, I. Conformation of poly (ethylene oxide) in the solid state, melt and solution measured by Raman scattering. **Polymer**, v. 16, n. 7, p. 505-509, 1975.

MCCABE, W. L.; SMITH, J. C.; HARRIOTT, P. **Unit operations of chemical engineering**. McGraw-Hill New York, 1993.

MCKAY, G. **Use of Adsorbents for the Removal of Pollutants from Wastewater**. CRC press, 1995.

MCKAY, G.; RAMPRASAD, G.; MOWLI, P. Desorption and regeneration of dye colours from low-cost materials. **Water Research**, v. 21, n. 3, p. 375-377, 1987.

MEDINA-LLAMAS, J. C. et al. Use of magnetic polyaniline/maghemite nanocomposite for DNA retrieval from aqueous solutions. **Journal of colloid and interface science**, v. 434, p. 167-174, 2014.

MEESTERS, G. et al. Generation of micron-sized droplets from the Taylor cone. **Journal of aerosol science**, v. 23, n. 1, p. 37-49, 1992.

MEGELSKI, S. et al. Micro-and nanostructured surface morphology on electrospun polymer fibers. **Macromolecules**, v. 35, n. 22, p. 8456-8466, 2002.

MISHRA, G.; TRIPATHY, M. A critical review of the treatments for decolourization of textile effluent. **Colourage**, v. 40, p. 35-35, 1993.

MIT-UPPATHAM, C.; NITHITANAKUL, M.; SUPAPHOL, P. Ultrafine electrospun polyamide-6 fibers: effect of solution conditions on morphology and average fiber diameter. **Macromolecular Chemistry and Physics**, v. 205, n. 17, p. 2327-2338, 2004.

MOHR, H. Methylene blue and thionine in pathogen inactivation of plasma and platelet concentrates. **Transfusion and Apheresis Science**, v. 25, n. 3, p. 183-184, 2001.

MORISHITA, I. et al. Enteral insulin delivery by microspheres in 3 different formulations using Eudragit L100 and S100. **International journal of pharmaceutics**, v. 91, n. 1, p. 29-37, 1993.

MOUSTAFINE, R. et al. Characteristics of interpolyelectrolyte complexes of Eudragit E100 with Eudragit L100. **Journal of Controlled Release**, v. 103, n. 1, p. 191-198, 2005.

MOUSTAFINE, R. I. et al. Comparative evaluation of interpolyelectrolyte complexes of chitosan with Eudragit® L100 and Eudragit® L100-55 as potential carriers for oral controlled drug delivery. **European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics**, v. 70, n. 1, p. 215-225, 2008.

MURRAY, M. G.; THOMPSON, W. F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. **Nucleic acids research**, v. 8, n. 19, p. 4321-4326, 1980.

NAHA, P. C.; BYRNE, H. J.; PANDA, A. K. Role of polymeric excipients on controlled release profile of Glipizide from PLGA and Eudragit RS 100 Nanoparticles. **Journal of Nanopharmaceutics and Drug Delivery**, v. 1, n. 1, p. 74-81, 2013.

NG, C. et al. Freundlich adsorption isotherms of agricultural by-product-based powdered activated carbons in a geosmin–water system. **Bioresource technology**, v. 85, n. 2, p. 131-135, 2002.

NIKAM, V. K. et al. Eudragit a versatile polymer: a review. **Pharmacologyonline**, v. 1, p. 152-164, 2011.

O'NEILL, C. et al. Colour in textile effluents—sources, measurement, discharge consents and simulation: a review. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 74, n. 11, p. 1009-1018, 1999.

OLIVEIRA, M. C. D. S. et al. Fundamentos teórico-práticos e protocolos de extração e de amplificação de DNA por meio da técnica de Reação em cadeia

da polimerase. 2007. Disponível em: <
<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/48295/1/LivroProtMolecular.pdf> >.
Acesso em: 17/05/2018.

ÖZDEMİR, M. et al. Removal of methylene blue, methyl violet, rhodamine B, alizarin red, and bromocresol green dyes from aqueous solutions on activated cotton stalks. **Desalination and Water Treatment**, v. 57, n. 38, p. 18038-18048, 2016.

PAKRAVAN, M.; HEUZEY, M.-C.; AJJI, A. A fundamental study of chitosan/PEO electrospinning. **Polymer**, v. 52, n. 21, p. 4813-4824, 2011.

PARADKAR, M. et al. Formulation and evaluation of clotrimazole transdermal spray. **Drug development and industrial pharmacy**, v. 41, n. 10, p. 1718-1725, 2015.

PARK, J. Y.; LEE, I. H.; BEA, G. N. Optimization of the electrospinning conditions for preparation of nanofibers from polyvinylacetate (PVAc) in ethanol solvent. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 14, n. 6, p. 707-713, 2008.

PATRA, C. N. et al. Pharmaceutical significance of Eudragit: A review. **Future Journal of Pharmaceutical Sciences**, 2017.

PAULINO, A. T. et al. Removal of methylene blue dye from an aqueous media using superabsorbent hydrogel supported on modified polysaccharide. **Journal of colloid and interface science**, v. 301, n. 1, p. 55-62, 2006.

PELT-VERKUIL, E. V.; BELKUM, A. V.; HAYS, J. P. **Principles and Technical Aspects of PCR Amplification**: Springer Science+ Business Media BV: Dordrecht: 330 p. 2008.

PERKAMPUS, H.-H.; GRINTER, H.-C. **UV-VIS Spectroscopy and its Applications**. Springer, 1992.

PIMOL, P.; KHANIDTHA, M.; PRASERT, P. Influence of particle size and salinity on adsorption of basic dyes by agricultural waste: dried Seagrass (*Caulerpa lentillifera*). **Journal of Environmental Sciences**, v. 20, n. 6, p. 760-768, 2008.

PRIDGEON, J. W.; KLESZIUS, P. H. Virulence of *Aeromonas hydrophila* to channel catfish *Ictalurus punctatus* fingerlings in the presence and absence of bacterial extracellular products. **Diseases of aquatic organisms**, v. 95, n. 3, p. 209-215, 2011.

PUNITHA, K. et al. Intragastric floating drug delivery system of ranitidine hydrochloride: Formulation and evaluation. **Int J Pharm Pharm Sci**, v. 2, n. 4, p. 105-8, 2010.

PURVES, W. et al. **Vida: a ciência da biologia. Volume I: Célula e Hereditariedade**: Porto Alegre: Artmed 2006.

QUINTEROS, D. A. et al. Interaction between a cationic polymethacrylate (Eudragit E100) and anionic drugs. **European journal of pharmaceutical sciences**, v. 33, n. 1, p. 72-79, 2008.

QUINTEROS, D. A. et al. Ocular Delivery of Flurbiprofen Based on Eudragit® E-Flurbiprofen Complex Dispersed in Aqueous Solution: Preparation, Characterization, In Vitro Corneal Penetration, and Ocular Irritation. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 103, n. 12, p. 3859-3868, 2014.

RADECKI, P. P. **Emerging Separation and Separative Reaction Technologies for Process Waste Reduction: Adsorption and Membrane Systems**. Amer Inst of Chemical Engineers, 1999.

REDDY, P. R.; RAJU, N. **Gel-electrophoresis and its applications- Gel Electrophoresis-Principles and Basics**: InTech, 2012.

REGATEIRO, F. J. Manual de genética médica. 2003.

RENEKER, D. H.; CHUN, I. Nanometre diameter fibres of polymer, produced by electrospinning. **Nanotechnology**, v. 7, n. 3, p. 216, 1996.

BARBOSA, J. A. B.

RIZI, K. et al. Mechanisms of burst release from pH-responsive polymeric microparticles. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 63, n. 9, p. 1141-1155, 2011.

RODRIGUES, A. D. G.; GALZERANI, J. C. Espectroscopias de infravermelho, Raman e de fotoluminescência: potencialidades e complementaridades. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, v. 34, n. 4, p. 4309-1, 2012.

ROTHSCHILD, M. F.; PLASTOW, G. S. Impact of genomics on animal agriculture and opportunities for animal health. **Trends in biotechnology**, v. 26, n. 1, p. 21-25, 2008.

RUTHVEN, D. M. **Principles of adsorption and adsorption processes**. John Wiley & Sons, 1984.

RUTLEDGE, G. C. et al. Electrostatic spinning and properties of ultrafine fibers. **National Textile Center, Technical Report**, n. M98-D01, 2000.

SANGHI, R.; BHATTACHARYA, B. Review on decolorisation of aqueous dye solutions by low cost adsorbents. **Coloration Technology**, v. 118, n. 5, p. 256-269, 2002.

SAREEN, R. et al. Curcumin loaded microsponges for colon targeting in inflammatory bowel disease: fabrication, optimization, and in vitro and pharmacodynamic evaluation. **BioMed research international**, v. 2014, 2014.

SCALIA, G. et al. Morphology and Core Continuity of Liquid-Crystal-Functionalized, Coaxially Electrospun Fiber Mats Tuned via the Polymer Sheath Solution. **Macromolecular Materials and Engineering**, v. 298, n. 5, p. 583-589, 2013.

SHAHID, M.; MOHAMMAD, F. Recent advancements in natural dye applications: a review. **Journal of Cleaner Production**, v. 53, p. 310-331, 2013.

SHAY, G. D. **Alkali-swellable and alkali-soluble thickener technology: a review**: ACS Publications, 1989.

BARBOSA, J. A. B.

SHEN, X.-X. et al. Preparation and characterization of ultrafine Eudragit L100 fibers via electrospinning. *Bioinformatics and Biomedical Engineering*, 2009. ICBBE 2009. 3rd International Conference on, 2009, IEEE. p.1-4.

SHEN, X. et al. Electrospun diclofenac sodium loaded Eudragit® L 100-55 nanofibers for colon-targeted drug delivery. **International journal of pharmaceutics**, v. 408, n. 1, p. 200-207, 2011.

SHIN, Y. et al. Experimental characterization of electrospinning: the electrically forced jet and instabilities. **Polymer**, v. 42, n. 25, p. 09955-09967, 2001.

SILVERSTEIN, R. M., WEBSTER, F., X., KIEMLE, D., J. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos, 7ed., Rio de Janeiro: LTC editora, 2006.**

SOCRATES, G. **Infrared and Raman characteristic group frequencies: tables and charts.** John Wiley & Sons, 2001.

SOLBERG, S. M.; LANDRY, C. C. Adsorption of DNA into mesoporous silica. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 110, n. 31, p. 15261-15268, 2006.

ŞOLPAN, D. et al. Adsorption of methyl violet in aqueous solutions by poly (acrylamide-co-acrylic acid) hydrogels. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 66, n. 2, p. 117-127, 2003.

SON, W. K. et al. The effects of solution properties and polyelectrolyte on electrospinning of ultrafine poly (ethylene oxide) fibers. **polymer**, v. 45, n. 9, p. 2959-2966, 2004.

SRIVASTAVA, N.; EAMES, I. A review of adsorbents and adsorbates in solid–vapour adsorption heat pump systems. **Applied thermal engineering**, v. 18, n. 9, p. 707-714, 1998.

SUBBIAH, T. et al. Electrospinning of nanofibers. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 96, n. 2, p. 557-569, 2005.

SUN, N. et al. Optimization of influencing factors of nucleic acid adsorption onto silica-coated magnetic particles: application to viral nucleic acid extraction from serum. **Journal of Chromatography A**, v. 1325, p. 31-39, 2014.

SWALIN, R. Thermodynamics of solids. **Wiley-Interscience, New York. 1972, 387, 1972.**

SZLINDER-RICHERT, J. et al. Marine and farmed fish on the Polish market: Comparison of the nutritive value and human exposure to PCDD/Fs and other contaminants. **Chemosphere**, v. 85, n. 11, p. 1725-1733, 2011.

TABAK, A. et al. Determination of adsorptive properties of a Turkish Sepiolite for removal of Reactive Blue 15 anionic dye from aqueous solutions. **Journal of Hazardous Materials**, v. 161, n. 2, p. 1087-1094, 2009.

TAN, S. et al. Systematic parameter study for ultra-fine fiber fabrication via electrospinning process. **Polymer**, v. 46, n. 16, p. 6128-6134, 2005.

TAN, S. C.; YIAP, B. C. DNA, RNA, and protein extraction: the past and the present. **BioMed Research International**, v. 2009, 2009.

TAYLOR, G. Electrically driven jets. Proceedings of the Royal Society of London A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences, 1969, The Royal Society. p.453-475.

THOMPSON, C. et al. Effects of parameters on nanofiber diameter determined from electrospinning model. **Polymer**, v. 48, n. 23, p. 6913-6922, 2007.

TIAN, G. et al. Ammonium sulfide-assisted hydrothermal activation of palygorskite for enhanced adsorption of methyl violet. **Journal of Environmental Sciences**, v. 41, p. 33-43, 2016.

TIMOFEI, S. et al. A review of QSAR for dye affinity for cellulose fibres. **Dyes and Pigments**, v. 47, n. 1, p. 5-16, 2000.

UZMA, N. et al. Impact of organic solvents and environmental pollutants on the physiological function in petrol filling workers. **International journal of environmental research and public health**, v. 5, n. 3, p. 139-146, 2008.

VILAR, V. J. P. Remoção de iões metálicos em solução aquosa por resíduos da indústria de extracção de agar. 2013.

WANG, C. et al. Correlation between processing parameters and microstructure of electrospun poly (D, L-lactic acid) nanofibers. **Polymer**, v. 50, n. 25, p. 6100-6110, 2009.

WANG, Y. et al. Removal of Methyl Violet from aqueous solutions using poly (acrylic acid-co-acrylamide)/attapulgite composite. **Journal of Environmental Sciences**, v. 22, n. 1, p. 7-14, 2010.

WANNATONG, L.; SIRIVAT, A.; SUPAPHOL, P. Effects of solvents on electrospun polymeric fibers: preliminary study on polystyrene. **Polymer International**, v. 53, n. 11, p. 1851-1859, 2004.

WATSON, J. D.; CRICK, F. H. Molecular structure of nucleic acids. **Nature**, v. 171, n. 4356, p. 737-738, 1953.

WATSON, J. D. et al. **DNA recombinante: genes e genomas**. 3. 2009. 474.

WILLIS, H.; ZICHY, V.; HENDRA, P. The laser-Raman and infra-red spectra of poly (methyl methacrylate). **Polymer**, v. 10, p. 737-746, 1969.

WOLFE, K. A. et al. Toward a microchip-based solid-phase extraction method for isolation of nucleic acids. **Electrophoresis**, v. 23, n. 5, p. 727-733, 2002.

WU, J.-S. et al. Removal of cationic dye methyl violet 2B from water by cation exchange membranes. **Journal of membrane science**, v. 309, n. 1, p. 239-245, 2008.

YAN, A. X. et al. Incorporating polyoxometalates into a porous MOF greatly improves its selective adsorption of cationic dyes. **Chemistry–A European Journal**, v. 20, n. 23, p. 6927-6933, 2014.

YAN, J. et al. Polydopamine-coated electrospun poly (vinyl alcohol)/poly (acrylic acid) membranes as efficient dye adsorbent with good recyclability. **Journal of hazardous materials**, v. 283, p. 730-739, 2015.

YU, D.-G. et al. Coaxial electrospinning with mixed solvents: from flat to round eudragit L100 nanofibers for better colon-targeted sustained drug release profiles. **Journal of Nanomaterials**, v. 2014, 2014.

YUH-SHAN, H. Citation review of Lagergren kinetic rate equation on adsorption reactions. **Scientometrics**, v. 59, n. 1, p. 171-177, 2004.

ZHANG, C. et al. Selective adsorption and separation of organic dyes in aqueous solutions by hydrolyzed PIM-1 microfibers. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 109, p. 76-85, 2016.

ZHANG, C. et al. Study on morphology of electrospun poly (vinyl alcohol) mats. **European polymer journal**, v. 41, n. 3, p. 423-432, 2005.

ZHANG, F. et al. Selective and effective adsorption of methyl blue by barium phosphate nano-flake. **Journal of colloid and interface science**, v. 386, n. 1, p. 277-284, 2012.

ZHANG, M. et al. Electrospinning design of functional nanostructures for biosensor applications. **Journal of Materials Chemistry B**, 2017.

ZHANG, P.; YIN, J.; JIANG, X. Hyperbranched Poly (ether amine)(hPEA)/Poly (vinyl alcohol)(PVA) Interpenetrating Network (IPN) for Selective Adsorption and Separation of Guest Homologues. **Langmuir**, v. 30, n. 48, p. 14597-14605, 2014.

ZHANG, Y. et al. Thiolated Eudragit-based Nanoparticles for Oral Insulin Delivery: Preparation, Characterization, and Evaluation Using Intestinal Epithelial Cells In Vitro. **Macromolecular bioscience**, v. 14, n. 6, p. 842-852, 2014.

ZHANG, Y. et al. Viscometric study of poly (vinyl chloride)/poly (vinyl acetate) blends in various solvents. **European polymer journal**, v. 38, n. 2, p. 333-337, 2002.

ZHANG, Y. et al. Artificial neural network-genetic algorithm based optimization for the immobilization of cellulase on the smart polymer Eudragit L-100. **Bioresource technology**, v. 101, n. 9, p. 3153-3158, 2010.

ZHAO, R. et al. Synthesis of β -cyclodextrin-based electrospun nanofiber membranes for highly efficient adsorption and separation of methylene blue. **ACS applied materials & interfaces**, v. 7, n. 48, p. 26649-26657, 2015.

ZHAO, T. et al. Nanopore biosensor for sensitive and label-free nucleic acid detection based on hybridization chain reaction amplification. **Talanta**, v. 175, p. 121-126, 2017.

ZHAO, Z. et al. Preparation and properties of electrospun poly (vinylidene fluoride) membranes. **Journal of applied polymer science**, v. 97, n. 2, p. 466-474, 2005.

ZHOU, C. et al. Electrospun polyethylene oxide/cellulose nanocrystal composite nanofibrous mats with homogeneous and heterogeneous microstructures. **Biomacromolecules**, v. 12, n. 7, p. 2617-2625, 2011.

ZHOU, Y.; LIANG, Z.; WANG, Y. Decolorization and COD removal of secondary yeast wastewater effluents by coagulation using aluminum sulfate. **Desalination**, v. 225, n. 1-3, p. 301-311, 2008.

ZUO, W. et al. Experimental study on relationship between jet instability and formation of beaded fibers during electrospinning. **Polymer Engineering & Science**, v. 45, n. 5, p. 704-709, 2005.

APÊNDICE

Artigos e patente desenvolvidos neste trabalho.

>> ARTIGO PUBLICADO

Fibers and Polymers 2018, Vol.19, No.1, 94-104
DOI 10.1007/s12221-018-7444-9

ISSN 1229-9197 (print version)
ISSN 1875-0052 (electronic version)

Electrospun Fibers of Copolymers for the Removal of Ionic Dyes: The Influence of Processing Variables

Jaderson de A. B. Barbosa, Marcelo R. dos Santos, and Helinando P. de Oliveira*

Institute of Materials Science, Federal University of Sao Francisco Valley, Juazeiro, BA 48920-310, Brazil

(Received May 19, 2017; Revised July 28, 2017; Accepted August 2, 2017)

Abstract: Polymer electrospun fibers are potential candidates for use as ionic dye adsorbents, due to its low cost and massive production provided by a simple nanofabrication method. The optimization in the processing variables for development of more efficient adsorbents revealed a strong dependence between the fiber diameter and the adsorption capacity of fibers, which was measured as a function of dye concentration, pH, adsorbent amount and contact time. The available active sites on electrospun fibers favor the efficient dye removal and easy desorption, allowing the successive reuse of electrospun fibers, preserving typical adsorption capacity of $135.37 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ in association with fast desorption at acidic condition, allowing successive reuses of adsorbents.

>> ARTIGO SUBMETIDO

Complete Manuscript

1 Eudragit E100/ polyethylene oxide electrospun fibers for DNA removal
2 from aqueous solution
3
4
5
6
7
8 Jaderson de A. B. Barbosa, Chirles A. de França, João José de S. Gouveia, Gisele V.
9 Gouveia, Mateus M. da Costa and Helinando P. de Oliveira*
10
11
12 Instituto de Pesquisa em Ciência dos Materiais, Universidade Federal do Vale do São
13 Francisco, 48920-310, Juazeiro, BA, Brazil.
14
15
16

>> PATENTE**“DISPOSITIVO ADSORVEDOR DE CONTAMINANTES BASEADO EM
MATRIZES POLIMÉRICAS ELETROFIADAS”**

O modelo de utilidade proposto (DISPOSITIVO ADSORVEDOR DE
5 CONTAMINANTES BASEADO EM MATRIZES POLIMÉRICAS ELETROFIADAS)
refere-se a um dispositivo à base de fibras poliméricas adsorventes de contaminantes
orgânicos, a partir de uma matriz composta por três polímeros dispersos em uma solução
de álcool e água e aplicadas no aparato de eletrofição para produção de filmes sólidos
adsorvedores.



Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de
Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT

Número do Processo: BR 20 2016 029580 2