

Universidade Estadual de Campinas
Instituto de Química

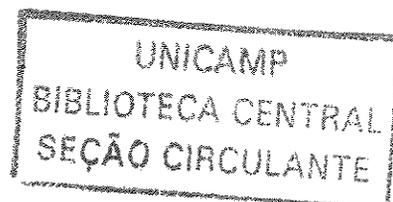
Tese de Doutorado

**INFLUÊNCIA DA GLUCANA NA ADESÃO ENTRE
CRISOTILA E SÓLIDOS**

Adriana de Andrade Fregonesi

Orientadora: Profa. Dra. Inés Joeques

Junho/ 2004



UNIDADE	BC
CHAMADA	J/UNICAMP
	F881i
EX	
IMBO BC	61789
IOC.	16-86-05
C	<input type="checkbox"/>
D	<input checked="" type="checkbox"/>
EÇO	11.00
TA	10-2-05
CPD	

Uf id 349411

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE QUÍMICA
UNICAMP

F881i	<p>Fregonesi, Adriana de Andrade. Influência da glucana na adesão entre crisotila e sólidos / Adriana de Andrade Fregonesi. -- Campinas, SP: [s.n], 2004.</p> <p>Orientadora: Inés Joeques.</p> <p>Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química.</p> <p>1. Polissacarídeos. 2. Argilo-minerais. 3. Interações interfaciais. 1. Joeques, Inés. II. Universidade Estadual de Campinas. III. Título.</p>
-------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

São muitos os que buscam o desconhecido,
a experiência insuspeitada, a surpresa da novidade,
a tensão escondida nas outras formas de ser,
sentir, agir, realizar, lutar, pensar ou imaginar.
Toda viagem se destina a ultrapassar fronteiras.

Octávio Ianni

*Ao meu querido Carlos,
por sua felicidade
a cada nova conquista...*

*Aos meus pais,
Laerte e Eufrázia,
que com amor
despertaram
meu gosto pela ciência*

*Aos meus queridos irmãos,
Érica e Rodrigo,
por acreditarem...*

*Ao Carlos e à Cidinha,
pelo apoio constante*

Agradeço.....

- ✿ à querida Inés.....só quem já viveu ao seu lado sabe como você é especial e inesquecível... Devo-lhe muito!
- ✿ à Nádia, minha amiga querida de todas as horas....ah, se todos vocês iguais a você que maravilha seria.....!!
- ✿ à Carol, a amiga das palavras de incentivo, da lua, dos brilhos das estrelas....
- ✿ ao Atílio, que me ensinou a ver a química de outra forma.....;
- ✿ à Carla por sua torcida e presença amiga e carinhosa;
- ✿ à Paula: existem poucos como você que defendem com entusiasmo a pós deste país;
- ✿ à Flávia pela força nos ensaios com os bichinhos ou com parte deles (!)...
- ✿ à Ana Luísa, a amiga que me faz acreditar, cada vez mais, que todo sonho é possível;
- ✿ à Rita pelas novas idéias;
- ✿ à Iara pela força neste finalzinho;
- ✿ à Chris pelo carinho;
- ✿ ao Bona pelos conhecimentos fotográficos;
- ✿ ao Willians pelo entusiasmo com o trabalho com crisotila;
- ✿ Karla, Cynthia, Elaine, Euler, Diego, Cris, Maria Alice, Nelson: com cada um de vocês aprendi um pouquinho.....
- ✿ ao Flávio pelos vários ensaios de ATR que realizou sempre com disposição;
- ✿ ao Drizi, meu amigo querido quando perto...a Torre dos Clérigos e quando longe sempre presente;
- ✿ à Di por todo o seu imenso auxílio;
- ✿ ao Prof Edvaldo e à Melissa pelos primeiros ângulos de contato;
- ✿ à Josi, ao Antenor e a Iarina... que tiveram um tempinho livre para me auxiliar;
- ✿ ao Zuca pelas idéias sempre interessantes e pelo fornecimento de glucana;
- ✿ à Val pela gentileza em me fornecer tudo o que eu necessitava: sílica, argila...
- ✿ ao laboratório de microscopia do IF/USP e a Flávia pelas micrografias;
- ✿ aos queridos que estiverem presentes em todos os momentos: Claudinha, Cláudio, Ritinha, Rita, Mika, Túria, os dois Renatos, Pilha, Ricardo e Rose;
- ✿ às minhas tias e sobrinhas e aos meus tios e cunhados que estiveram sempre ao meu lado;
- ✿ ao pessoal do IQ, em especial: Bel, Celi, Rodrigo e André da CPG, Fabi do TGA, Márcia do IV, Ricardo do HPLC, Paula e Judite do xerox e a todos da BIQ...que colaboraram muito!
- ✿ à Fundação Tropical André Tosello pelo fornecimento da levedura;
- ✿ à Sama pelo apoio à pesquisa;
- ✿ ao CNPq pelo auxílio fornecido.

Muito obrigada!

Adriana de Andrade Fregonesi

Súmula curricular

Formação Acadêmica:

- **Mestrado em Química:** Área de concentração: Físico-Química (1998).
"Adesão de Células de *Saccharomyces* sp. em Materiais Inorgânicos para a Produção de Etanol" sob orientação da Profa.Dra. Inés Joekes.
Instituto de Química- Universidade Estadual de Campinas
- **Bacharel em Química com atribuições tecnológicas** (1994).
Instituto de Química- Universidade Estadual de Campinas

Publicações e Participações:

- Wendhausen, R., Fregonesi, A., Moran, P.M.S, Joekes, I.; Rodrigues, J.A.R.; Tonella, E.; Althoff, K. "Continuous fermentation of sugar cane syrup using immobilized yeast cells". *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 91(1),48-52 (2001).
- Fregonesi, A; Cassiola, F; Joekes, I. "Influence of Carboxymethylated β -Glucan in the Adhesion of Silica on Chrysotile". 11^o International Conference on Surface and Colloid Science, Foz do Iguaçu, PR (2003).
- Filloy, P.H.; Fregonesi, A.; Joekes, I. "Activation of Brazilian Chrysotile Surface Using Gas Flow in Batch Reactors". International Conference on Advanced Materials Processing Technologies - AMPT '01, Madrid, Espanha (2001).
- Joekes, I.; Silveira, M.; Cassiola, F.M.; Fregonesi, A. A. "Caracterización de *Saccharomyces cerevisiae* adherida sobre crisotilo para fermentación de azúcar de caña." Reunión de la Sociedade Española de Catálisis, Actas, 141-142, Cádiz, Espanha (1999).
- Fregonesi, A. A.; Joekes, I. "Imobilização de células de *Saccharomyces* sp. em crisotila, crisotila lixiviada e montmorilonita para a produção de etanol". II Congresso de Engenharia de Processos do Mercosul, Livro de Resumos, 326-327, Florianópolis, SC (1999).
- Fregonesi, A.; Segre N. Seminário no 1^o Encontro de Usuários da Técnica de FT-IR organizado pela Perkin Elmer do Brasil, Centro Técnico Aeroespacial – CTA. "Uso da técnica de infravermelho em projetos de pesquisa aplicada" (2002).
- Fregonesi, A; Segre N, Seminário realizado no Laboratório de Microscopia Eletrônica do Instituto de Física da USP. "Uso da técnica de infravermelho em projetos de pesquisa aplicada" (2002).

Experiência em trabalhos de parceria com indústrias:

- Determinação de componentes presentes em condicionadores de cabelo (Unilever);
- Medidas de perda protéica, cor/brilho e determinação de alterações químicas em cabelos (Natura) (Allergisa);
- Determinação de hidroquinonas em cremes cosméticos (Natura);
- Análise de contaminantes em água mineral (Pégassus Consultoria);
- Identificação de diferentes materiais como polímeros e materiais suportados por IV;
- Determinação da pressão de vapor em óleos residuais (Nitrocarbono);
- Determinação de propriedades físicas e químicas de polietileno (Nitrocarbono).

INFLUÊNCIA DA GLUCANA NA ADESÃO ENTRE CRISOTILA E SÓLIDOS

Tese de doutorado

Adriana de Andrade Fregonesi

Orientadora: Profª. Dra. Inés Joeques

Instituto de Química- UNICAMP- Caixa Postal 6154 – Cep 13083-970

Campinas, São Paulo, Brasil

RESUMO

Estudos prévios de adesão de *Saccharomyces* sp. e crisotila mostraram enovelamento não usual das células pelas fibrilas de crisotila. O mecanismo proposto para este fenômeno baseou-se nas interações de van der Waals entre as fibrilas e os polissacarídeos da parede celular, interações estas dependentes do tamanho e da geometria das fibrilas e das células. Entretanto, esta interação não está totalmente entendida. Neste trabalho, estudou-se quantitativamente o efeito do polissacarídeo glucana, o principal componente da parede celular, na interação de sólidos com crisotila.

De isotermas de adesão de glucana carboximetilada em crisotila obteve-se $\Gamma_{\max} \cong 7\text{mg/g}$ nas três temperaturas estudadas: 2, 25 e 50 °C. Não foi possível determinar Γ_{\max} de glucana aderida em partículas de sílica com dimensões próximas às da levedura; análise por TGA mostrou que a sílica pré-tratada com glucana contém menos água fisissorvida. Isotermas de adesão apresentaram $\Gamma_{\max} \cong 0,4\text{g/g}$ para adesão da sílica e crisotila, aumentando para $\Gamma_{\max} > 1,0\text{g/g}$ quando a sílica foi pré-tratada com glucana. O mesmo tipo de enovelamento das fibrilas foi verificado por SEM para ambas adesões. A massa aderida não variou com a temperatura (0, 25 ou 50 °C) ou com a força iônica (de 5×10^{-4} a 1×10^{-1} mol/L com KCl). Isotermas de adesão de crisotila pré-tratada com glucana e sílica mostraram Γ_{\max} muito próximo do controle.

A massa de montmorilonita, agalmatolitos ou caulim aderida em crisotila não foi influenciada pelo pré-tratamento das argilas com glucana. A força de adesão, no entanto, é maior para agalmatolito e sílica quando pré-tratados. Após 16 minutos de ultrassonicação a 25KHz, a porcentagem de sílica dessorvida foi de 9% para sílica-glucana/crisotila e 18% para sílica/crisotila; a quantidade de agalmatolito dessorvida foi de 10% para agalmatolito-glucana/crisotila e de 21% para agalmatolito/crisotila.

Cálculos das energias interfaciais a partir de medidas de ângulos de contato mostram que a energia livre de interação entre sílica e crisotila é menor que entre sílica e glucana e entre crisotila e glucana, sendo as interações ácido-base as principais responsáveis pela interação de glucana com crisotila e com sílica.

INFLUENCE OF GLUCAN ON THE ADHESION BETWEEN CHRYSOTILE AND SOLIDS

Doctorate Thesis of Adriana de Andrade Fregonesi

Adviser: Profa. Dra. Inés Joekes

Instituto de Química- UNICAMP- Caixa Postal 6154 – Cep 13083-970

Campinas, São Paulo, Brazil

ABSTRACT

Previous adhesion studies of *Saccharomyces* sp. on chrysotile showed an unusual entrapment of the cells by the fibers. The proposed mechanism for this entrapment was based on van der Waals interactions between the fibrils and the cell wall polysaccharides. These interactions are dependent of the fibril flexibility and cell size and geometry. However, the interaction mechanism is not well described. In this work the effect of the main component of the cell wall, glucan, on the interaction of a number of solids with chrysotile, was studied quantitatively.

From adhesion isotherms of carboxymethylated glucan on chrysotile a $\Gamma_{\max} \cong 7\text{mg/g}$ was attained for the three temperatures studied: 2, 25 e 50 °C. The determination of Γ_{\max} for glucan adhered on silica particles with dimensions similar to the yeast cells was unattainable; TGA analysis showed that pre-treated silica particles had less physisorbed water. Adhesion isotherms showed $\Gamma_{\max} \cong 0.4\text{g/g}$ for the adhesion of the silica particles and chrysotile, Γ_{\max} being higher than 1.0g/g when the silica particles were pre-treated with glucan. Adhesion isotherms of chrysotile pre-treated with glucan on silica particles showed Γ_{\max} very similar to the control. The same fibril entrapment form was verified by SEM micrographs for both adhesion processes. The adhered mass was independent of the temperature (0, 25 or 50 °C) and ionic strength (from 5×10^{-4} to 1×10^{-1} mol/L with KCl) used.

The amount of chrysotile adhered on montmorillonite, agalmatolites or kaolin was not influenced by the pre-treatment of these clays with glucan. However, the adhesion strength is higher in the agalmatolite and silica when pre-treated. For example, after 16 minutes of 25KHz-ultrasound shaking the amount of desorbed silica was 9% for silica-glucan/chrysotile and 18% for silica/chrysotile; the amount of desorbed agalmatolite was 10% for agalmatolite-glucan/chrysotile and 21% for agalmatolite/chrysotile. Interfacial energy calculations from contact angle measurements showed that the interaction free energy between silica and chrysotile is lower than between silica and glucan and between chrysotile and glucan. The acid-base interactions are the main responsible for the interaction of glucan with chrysotile and with silica.

ÍNDICE

I	INTRODUÇÃO	1
I.1	GLUCANA	3
I.2	CRISOTILA	5
I.3	ADESÃO DE MACROMOLÉCULAS SOBRE SUPERFÍCIES SÓLIDAS	8
I.3.1	INTERAÇÕES INTERFACIAIS	10
II	OBJETIVOS	17
III	PARTE EXPERIMENTAL	19
III.1	MATERIAIS	20
III.2	ENSAIOS DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA	21
III.3	ANÁLISE NO INFRAVERMELHO	22
III.4	MEDIDAS DE ÂNGULOS DE CONTATO	23
III.5	ADESÃO DE CM-GLUCANA EM CRISOTILA	23
III.5.1	PREPARAÇÃO DA SOLUÇÃO DE CM-GLUCANA	23
III.5.2	DETERMINAÇÃO DE CM-GLUCANA EM SOLUÇÃO	24
III.5.3	REPRODUTIBILIDADE DE LEITURAS	24
III.5.4	REPRODUTIBILIDADE DOS EXPERIMENTOS	24
III.5.5	INFLUÊNCIA DA AGITAÇÃO NA ADESÃO	25
III.5.6	DETERMINAÇÃO DO TEMPO DE CONTATO	25
III.5.7	EFEITO DA VARIAÇÃO DA MASSA DE CRISOTILA	25
III.5.8	ISOTERMAS DE ADESÃO	25
III.6	ESCOLHA DO SÓLIDO A SER UTILIZADO NA INTERAÇÃO COM CRISOTILA	26
III.7	INTERAÇÃO ENTRE CM-GLUCANA E SÍLICA	27
III.7.1	DETERMINAÇÃO DA MASSA ADERIDA DE CM-GLUCANA EM SÍLICA	27
III.7.2	ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA DE SÍLICA	27
III.8	INTERAÇÃO ENTRE SÍLICA E CRISOTILA	27
III.8.1	INFLUÊNCIA DA AGITAÇÃO	27
III.8.2	DESSORÇÃO DA SÍLICA DE CRISOTILA	28

III.8.3	DETERMINAÇÃO DO TEMPO DE CONTATO	28
III.8.4	EFEITO DA VARIAÇÃO DE MASSA DE CRISOTILA	29
III.8.5	ISOTERMAS DE ADESÃO	29
III.9	INTERAÇÃO DE CM-GLUCANA COM MONTMORILONITA	30
III.10	INTERAÇÃO ENTRE MONTMORILONITA E CRISOTILA	30
III.11	INTERAÇÃO ENTRE CAULIM, AGALMATOLITOS E CRISOTILA	30
IV RESULTADOS		32
IV.1	MEV: CRISOTILA, CRISOTILA LIXIVIADA, CROCIDOLITA E SÍLICA	33
IV.2	INTERAÇÃO DE CM-GLUCANA COM CRISOTILA	44
IV.2.1	ANÁLISE NO INFRAVERMELHO	44
IV.2.2	INFLUÊNCIA DA AGITAÇÃO	45
IV.2.3	DETERMINAÇÃO DO TEMPO DE CONTATO	45
IV.2.4	EFEITO DA VARIAÇÃO DA MASSA DE CRISOTILA	45
IV.2.5	ISOTERMAS DE ADESÃO E LINEARIZAÇÕES	47
IV.3	INTERAÇÃO ENTRE CRISOTILA, ARGILAS E CM-GLUCANA	51
IV.4	INTERAÇÃO DE CM-GLUCANA E SÍLICA	53
IV.4.1	ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA DA SÍLICA	54
IV.5	INTERAÇÃO ENTRE CRISOTILA, SÍLICA E CM-GLUCANA	55
IV.5.1	INFLUÊNCIA DA AGITAÇÃO E VERIFICAÇÃO DA FORÇA DE ADESÃO	55
IV.5.2	DETERMINAÇÃO DO TEMPO DE CONTATO	56
IV.5.3	EFEITO DA VARIAÇÃO DA MASSA DE CRISOTILA	57
IV.5.4	INFLUÊNCIA DA ORDEM DO PRÉ-TRATAMENTO DOS SÓLIDOS	57
IV.5.5	EFEITO DA TEMPERATURA	59
IV.5.6	INFLUÊNCIA DA FORÇA IÔNICA	59
IV.5.7	LINEARIZAÇÕES DAS ISOTERMAS	62
IV.6	MEDIDAS DE ÂNGULOS DE CONTATO	66
V DISCUSSÃO		67
VI CONCLUSÕES		84

VII PERSPECTIVAS	87
<hr/>	
VIII ANEXOS	89
VIII.1 ADESÃO DE <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i> EM CRISOTILA	90
VIII.2 ANÁLISE QUANTITATIVA DE CM-GLUCANA NO INFRAVERMELHO	91
VIII.3 INTERAÇÃO DE LÁTEX DE POLIESTIRENO, CRISOTILA E CM-GLUCANA	92
IX REFERÊNCIAS	95

I INTRODUÇÃO

Trabalhos anteriores desenvolvidos em nosso grupo de pesquisa sobre produção de etanol utilizando microorganismos imobilizados mostraram que células de *Saccharomyces* sp., quando imobilizadas em crisotila, foram enoveladas pelo suporte sendo este um comportamento nãousual para microorganismos^{1,2,3,4}. Estas células apresentaram produtividades superiores de etanol e mantiveram a estabilidade por maior tempo em relação às células suspensas.

Há várias tentativas de se explicar o mecanismo de adesão de *Saccharomyces* sp. com a crisotila^{4,5,6,7,8}. A crisotila apresenta uma superfície com potencial zeta positivo e *Saccharomyces* sp. tem um potencial zeta negativo, facilitando a interação entre os dois materiais^{8,9}. As isothermas de adesão deste microorganismo com a crisotila são de alta afinidade⁸. Entretanto, o processo de adesão do microrganismo em crisotila não está totalmente entendido. Supõe-se que a β -glucana seja a responsável pela adesão, por ser o componente estrutural predominante da parede celular e possuir características adesivas^{10,11}.

A Figura 1 mostra células da cepa CCT 3174 aderidas em crisotila⁶. Nota-se que as células estão enoveladas pelas fibrilas de crisotila, o que pode estabilizar a interação célula/suporte.

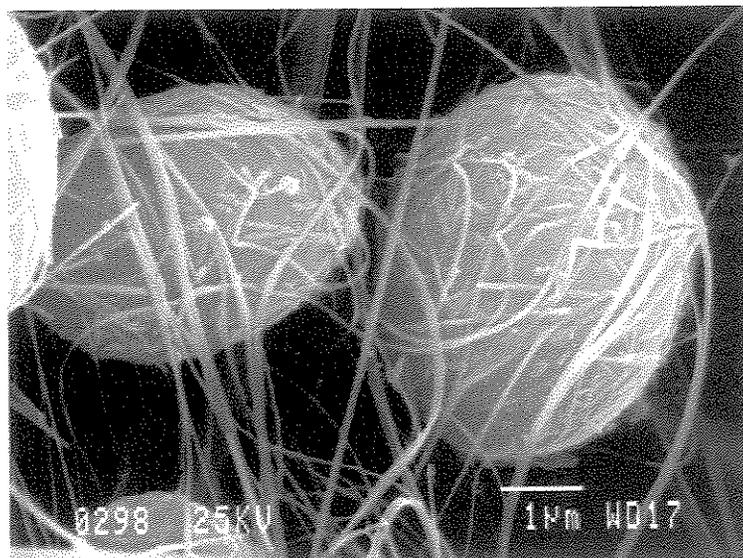


Figura 1: Micrografia eletrônica de varredura de células de *Saccharomyces* sp., linhagem CCT3174, imobilizada em crisotila⁶.

Há vários trabalhos que descrevem a interação dos microrganismos com superfícies sólidas em termos da energia e cargas superficiais^{12,13,14,15,16,17}. Mozes e colaboradores¹⁸ utilizaram linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* e *Acetobacter aceti* com superfícies hidrofílicas, estudaram a adesão destas células em suportes como vidro e polímeros e observaram que neste caso a interação é do tipo eletrostática. Entretanto, os autores notaram que com células hidrofóbicas a adesão ocorre preferencialmente em suportes hidrofóbicos e destacaram, nesse caso, a importância da energia interfacial. Van Haecht e colaboradores¹⁹ constataram que a adesão em vidro de células de *Saccharomyces* sp. tratadas com alumínio é caracterizada por interações eletrostáticas. Após o tratamento com o metal há uma diminuição no caráter negativo da superfície da levedura, o que permite a adesão desta em vidro. Kenji e colaboradores⁹ descrevem a importância da carga superficial de cristobalita para a adesão de microrganismos. Estes autores observaram que as forças eletrostáticas são necessárias para a adesão inicial do microrganismo e para evitar a dessorção. Deo e colaboradores²⁰ descrevem os mecanismos de adesão de *Paenibacillus polymyxa* sobre hematita, coríndon e quartzo. Os autores concluíram que as forças colombianas são as dominantes nas interações das células com a hematita e coríndon e, para o quartzo, as interações específicas são mais importantes.

Evidências experimentais do metabolismo das células de *Saccharomyces cerevisiae* imobilizadas em fermentação de glicose sugerem que o processo ou estado de imobilização do microrganismo afeta a bioquímica do crescimento celular e do processo fermentativo das células²¹. Estas modificações podem ser atribuídas aos distúrbios na multiplicação de células, na síntese de DNA, alteração dos componentes na parede celular, mudanças morfológicas das células e alterações na permeabilidade da membrana^{21,22,23,24}. Dentre estas modificações, Jirku²⁵ constatou um aumento de polissacarídeos na parede celular em microrganismos imobilizados.

O interesse no estudo da sorção de polissacarídeos sobre superfícies sólidas é devido ao fato destes serem, juntamente com as proteínas e lipídeos, os principais componentes das paredes celulares²⁶. Outro interesse está ligado ao desenvolvimento de compósitos contendo os polissacarídeos, os quais podem ser incorporados diretamente na matriz ou utilizados na superfície de materiais para propiciar a compatibilidade biológica do material com organismos vivos, por exemplo na sorção de proteínas. Estes trabalhos são

desenvolvidos no campo da medicina e indústria de biotecnologia^{18,27,28}.

I.1 GLUCANA

A parede celular dos fermentos é responsável por 15-25% do peso seco das células²⁹. Esta não é uma estrutura inerte mas sim uma organela viva com inúmeras funções: proteção física, estabilidade osmótica, suporte de enzimas e responsável pela ligação de compostos, adesão célula/célula, além de funcionar como uma barreira de permeabilidade seletiva. As paredes celulares são compostas principalmente de carboidratos, alguns dos quais covalentemente ligados a proteínas. Os carboidratos da parede celular compreendem: β -glucanas, quitinas, cadeias lineares de glucosamina N-acetil, manose, glicosilados, manana-proteínas^{26,30,31,32}.

A Figura 2 apresenta um esquema da estrutura da parede celular de *Saccharomyces cerevisiae*³³.

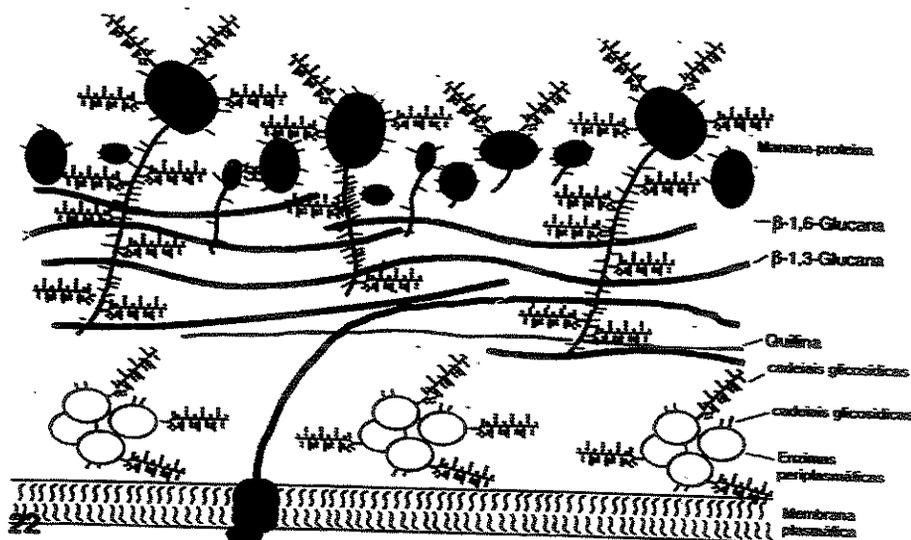


Figura 2. Estrutura da parede celular de *Saccharomyces cerevisiae*³³.

Osumi³³, em sua revisão sobre a ultraestrutura da levedura, descreve os resultados obtidos ao se estudar a estrutura do fermento de pão e a regeneração do protoplasma celular de *Candida albicans* através de microscopia eletrônica de varredura e de transmissão. Observou-se que os protoplasmas de *C. albicans* são regenerados para sintetizar

microfibrilas sobre suas superfícies. Estas estruturas fibrilares são cadeias de $\beta(1,3)$ glucana que são quebradas após tratamento com $\beta(1,3)$ glucanase. O diâmetro de uma fibrila elementar de β -glucana foi estimado em 2,8 nm.

Glucanas são polissacarídeos presentes na parede celular dos microorganismos e são encontradas também em cereais^{34,35}. Glucanas de fermentos e fungos são formadas de unidades de D-glucopiranosil consistindo de uma cadeia principal linear $\beta(1,3)$ nas quais ocasionalmente ocorre uma ramificação (1,6)^{30,31}. Kopecká³⁴, em 1974, identificou o componente álcali insolúvel β -glucana como o componente fibrilar da parede celular. Evidências experimentais sugerem que a solubilidade da β -glucana depende de sua ligação à proteína quitina. A β -glucana extraída da parede celular dos microorganismos é insolúvel em água mas, é convertida em glucana solúvel pela introdução de grupos fosfatos, sulfatos ou quando são carboximetiladas^{31,36}. Estas modificações não afetam a estrutura de tripla hélice da glucana, mantendo sua atividade química e biológica^{35,37}. A Figura 3 apresenta a representação esquemática das glucanas da parede celular e da glucana carboximetilada (cm-glucana)^{30,38}.

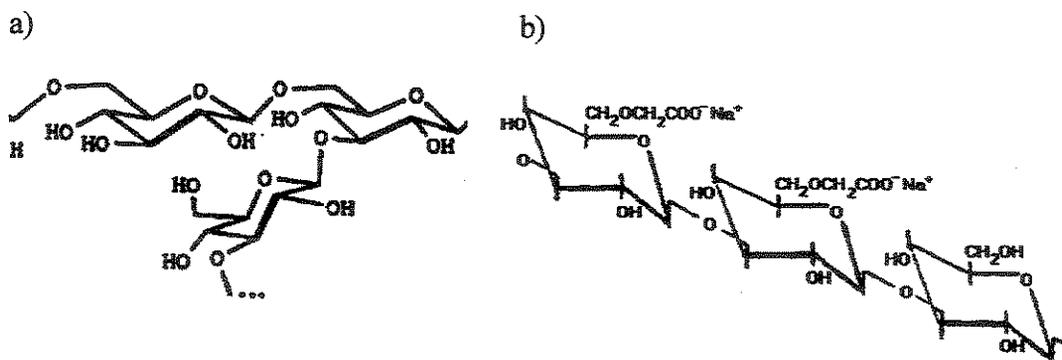


Figura 3: a) Representação esquemática de glucanas da parede celular $\beta(1,6)$ glucana com ramificações $\beta(1,3)$ b) glucana carboximetilada^{30,38}.

Este polissacarídeo é geralmente utilizado na área médica e apresenta resultados positivos quando usado como antitumoral, antibacteriano, anticoagulatório, entre outros^{35,37}.

Há trabalhos que descrevem a interação de glucanas com superfícies sólidas^{10,25}. Mishima e colaboradores¹⁰ estudaram a adesão de β -D-glucana em celulose. Vários tipos de β -D-glucana, retiradas de diversas fontes, mostraram adesão em celulose micronizada. Estes

resultados foram obtidos através de medidas de difração de raios-x, isotermas de Langmuir e cromatografia líquida. Para a “schizophyllan”, uma β -D-glucana retirada do fungo *Shizophyllum commune*, a capacidade de aderir em celulose depende da sua alta massa molar, na qual predomina a estrutura de tripla hélice. Entretanto, para os outros tipos de polissacarídeos testados a aderência em celulose foi independente da massa molar, sendo o mecanismo baseado na complementaridade de suas superfícies com a celulose.

JirKu²⁵ mostrou que para células de *Saccharomyces cerevisiae* imobilizadas covalentemente sobre polifenilenóxido, a imobilização foi acompanhada de interrupção da divisão celular e aumento nas massas de glucana e manana na parede celular. Tais modificações foram atribuídas a mudanças no meio ambiente externo das células. O autor afirma que estas mudanças podem afetar a rigidez da parede celular bem como as funções bioquímicas, as quais dependem do número de complexos de manana com proteína.

A glucana pode ser secretada extracelularmente pelo fungo ligninolítico quando este cresce em meio líquido, como observado por Barrasa e colaboradores³⁹. O revestimento da hifa, uma estrutura extracelular observada sobre a superfície de *Hyphae*, é constituído principalmente de polissacarídeos e tem um importante papel na fisiologia dos fungos, incluindo processos de adesão na parede celular de plantas e na imobilização de enzimas ligninolíticas. Os autores constataram através de microscopia de transmissão eletrônica e microscopia de fluorescência que *P. eryngii* produz um revestimento de hifas, constituído de uma fina camada de glucana, sob a palha do trigo durante a degradação deste material.

I.2 CRISOTILA

Crisotila é um silicato de magnésio hidratado de hábito fibroso. Apresenta a célula unitária: $Mg_6Si_4O_{10}(OH)_8$ com uma estrutura única e altamente organizada, constituída de bicamadas de brucita-silicato, enroladas coaxialmente, as quais formam uma fibrila⁴⁰. Cada bicamada é composta por uma lâmina ou folha tetraédrica de silicato e por uma lâmina octaédrica de brucita $Mg(OH)_2$. As fibras de crisotila são constituídas naturalmente por fibrilas cilíndricas agrupadas paralelamente e preenchidas por material não cristalino⁴⁰. A Figura 4 apresenta a estrutura da crisotila⁴⁰.

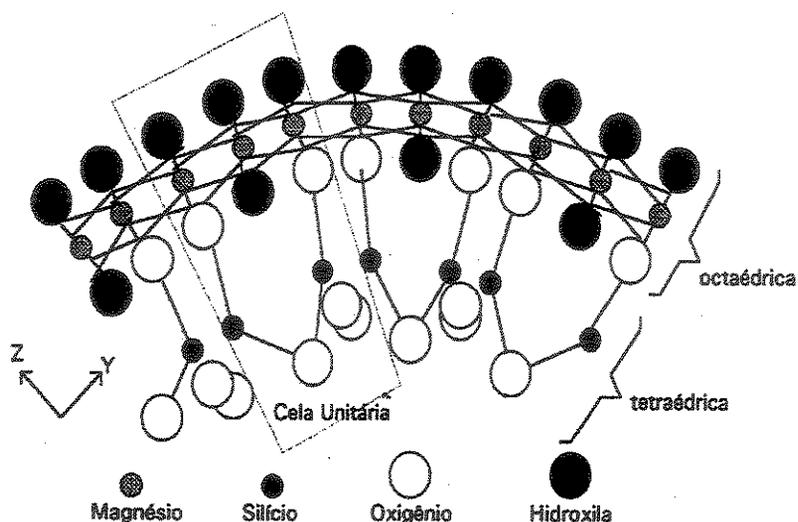


Figura 4: Estrutura esquemática da crisotila, apresentando a camada octaédrica de brucita $Mg(OH)_2$ e tetraédrica de tridimita SiO_2 ⁴⁰.

A crisotila é considerada um material de boa resistência química e estabilidade térmica. Tem um excepcional poder de adsorção, existe em grande abundância na natureza, tem um custo baixo e possibilita o reaproveitamento⁴¹. Sua aplicação principal é na produção de compósitos de cimento e amianto. É utilizada também na fabricação de produtos têxteis, isolantes térmicos e revestimentos de pisos.

Os primeiros trabalhos publicados sobre as propriedades químicas da crisotila datam de 1940. Turkevich e colaboradores⁴² em um estudo sobre microscopia eletrônica de sistemas coloidais publicaram a primeira microscopia eletrônica de crisotila. Pundsack^{43,44,45} publicou três artigos descrevendo a crisotila como sistema coloidal, comparando a superfície das suspensões de crisotila com suspensões de hidróxido de magnésio. Martinez e Zucker⁴⁶ obtiveram a curva de potencial zeta em função do pH e observaram um potencial zeta positivo entre pH 3 e 12 da ordem de 100 mV e ponto isoelétrico em pH 11,8. Bonneau e colaboradores⁴⁷ estudaram os sítios ativos da superfície da crisotila. A investigação da presença de sítios ácidos foi realizada através da adsorção de piridina na crisotila, que foi observada por espectroscopia no infravermelho. Os resultados indicaram que nenhuma das bandas caracterizava uma adsorção nos sítios ácidos. O número de sítios superficiais calculados a partir das dimensões da cela unitária da crisotila foi de $1,2 \cdot 10^{19}$ OH/m². Esta

grande massa de sítios doadores de prótons, $\text{Mg}(\text{OH})_2$, confere a este material propriedades catalíticas e adsorptivas.

Segundo Zucchetti⁷, a crisotila, após tratada e ativada com solução equimolar de ácido acético/acetato de sódio, apresenta uma área superficial específica de $14 \text{ m}^2/\text{g}$. Na reação da crisotila com ácidos fortes (lixiviação) é destruída a camada de $\text{Mg}(\text{OH})_2$, restando somente a sílica⁴⁸. Parizotto⁴⁸, através de medidas de área superficial específica por BET, observou que esta crisotila lixiviada apresenta áreas superficiais maiores que as obtidas para a crisotila lavada e ativada.

Este grupo de pesquisa desenvolve há quase vinte anos projetos com aplicações nobres da crisotila brasileira. A crisotila foi estudada em nosso grupo de pesquisa, na obtenção de filtros de profundidade e no estudo da ativação da sua superfície e caracterização dos sítios superficiais^{8,48,49,50}. Também foi investigada a degradação de dodecilbenzenosulfonato de sódio utilizando a crisotila como catalisador e na aplicação das reduções de álcoois^{7,51}. As patentes obtidas são referentes à obtenção de crisotila com alta atividade superficial e do seu uso na produção de etanol^{41,52}. Como adsorptiva, os estudos da crisotila referem-se à imobilização de biocatalisadores, à adsorção de espécies quirais, à sua interação com TiO_2 e como suporte para catalisadores inorgânicos e de enzimas^{2,7,8,53,54,55,56}.

Há vários estudos sobre a adsorção de materiais biológicos em crisotila, principalmente na área médica, devido à importância em se observar as reações deste suporte com membranas celulares pulmonares. Berkheisen⁵⁷ verificou a adsorção de ácido esteárico sobre crisotila através de isotermas de adsorção e espectroscopia no infravermelho. O autor constatou a formação do complexo Mg-estearato, confirmado pela presença de bandas em 1560 e 1410 cm^{-1} em concordância com as bandas que aparecerem no espectro deste complexo sintetizado. Ozeki e colaboradores⁵⁸ investigaram a interação entre poli-L-lisina (PLL) e crisotila sintética utilizando medidas de potencial zeta, isotermas de adsorção e dicroísmo circular. Os autores constataram que as interações eletrostáticas entre a crisotila e as moléculas de PLL não são as predominantes. A adsorção de PLL sobre crisotila ocorre principalmente através da formação de ligação de hidrogênio entre um grupo amina da PLL e os grupos OH da superfície da crisotila.

Valerio e colaboradores⁵⁹ constataram que há adsorção de proteínas (albumina de

soro humano) sobre crisotila e crocidolita. Os autores afirmaram que a proteína adere por dois mecanismos. O primeiro é reversível, não específico e relativamente independente das propriedades da superfície e da proteína. O segundo envolve interações eletrostáticas entre as fibras e as proteínas, dependendo da carga superficial e composição química dos materiais envolvidos. Em outro trabalho, Valerio e colaboradores⁶⁰ investigaram o papel da massa molar e da densidade de carga neste mesmo processo de adsorção. Os autores afirmam que a adsorção é pouco influenciada pela massa molar das proteínas e por interações eletrostáticas. Sugerem interações hidrofóbicas das proteínas com as fibrilas de crisotila e crocidolita devido à mudanças conformacionais da proteína.

I.3 ADESÃO DE MACROMOLÉCULAS SOBRE SUPERFÍCIES SÓLIDAS

Adesão de macromoléculas sobre sólidos a partir de soluções é importante por influenciar uma variedade de processos interfaciais tais como flotação, floculação e auto-organização de sistemas⁶¹. A adesão resulta em uma interação energeticamente favorável entre o sólido adsorvente e as espécies do soluto. Frequentemente este é um processo complexo que é influenciado pelo material a ser aderido, pelo soluto e pelas moléculas do solvente^{62,63}. Muitas interações tais como atração eletrostática, ligação covalente, ligação de hidrogênio ou interações não polares e interações laterais podem contribuir para este processo. As interações podem ser químicas ou físicas, dependendo das forças envolvidas; em meio aquoso, estas interações podem ser fortemente afetadas pelo pH, força iônica e natureza do material polimérico^{63,64,65}. Efeitos da superfície dos sólidos podem interferir na adesão como a presença de microrugosidades que podem impedir este processo. A pré-cobertura da superfície com polímeros ou proteínas pode alterar as propriedades de adesão devido, por exemplo, ao aumento da hidrofiliabilidade dos sólidos quando inicialmente hidrofóbicos⁶⁶.

A caracterização de macromoléculas aderidas em sólidos pode ser estudada utilizando-se técnicas tais como: microscopia de fluorescência, ressonância magnética nuclear, Raman, elipsometria, espectroscopia no infravermelho, potencial zeta, microscopia de força atômica e ângulo de contato. Estas técnicas têm sido utilizadas para investigar

detalhes estruturais das cadeias de polímeros adsorvidos, energia livre de interação, forças superficiais de interação, entre outras propriedades envolvidas na interação com a superfície^{63,66,67, 68,69,70}

Isotermas de adsorção são geralmente utilizadas para descrever os processos de adsorção que relacionam a concentração de adsorbato na interface e sua concentração de equilíbrio na fase líquida. Geralmente são utilizadas as aproximações de Langmuir, que inicialmente foram descritas para um processo sólido-vapor, e são baseadas em um modelo cinético de adsorção/dessorção. A aproximação de Langmuir se baseia na adsorção em monocamadas, na interação específica entre o adsorbato e adsorvente e na independência da quantidade de material adsorvido no calor de adsorção. O modelo clássico de isotermas de adsorção em monocamadas de Langmuir pode ser descrito da seguinte forma^{63,71,72,73}:

$$k_a C(1-\theta) = k_d \theta \quad \text{equação 1}$$

onde o termo à esquerda é a taxa de adsorção e o à direita é a taxa de dessorção, C é a concentração de equilíbrio do adsorvente, θ é a fração da superfície coberta pelo adsorvente e k é uma constante.

O equilíbrio é dado por:

$$\theta = (1-\theta)KC \quad \text{equação 2}$$

onde K é a constante de equilíbrio ($= k_a/k_d$), com $K = \left(\frac{\theta}{C}\right)_{c \rightarrow 0}$

Valores baixos de K indicam uma fraca adsorção enquanto que valores altos de K indicam uma forte adsorção.

A fração de cobertura da superfície pode ser descrita:

$$\Gamma_{\max} \theta = \Gamma \quad \text{equação 3}$$

onde Γ é a massa adsorvida no sólido e Γ_{\max} é a massa máxima adsorvida. A equação 3 pode ser combinada com a equação 2 obtendo-se:

$$\Gamma^{-1} = K^{-1} \cdot \Gamma_{\max}^{-1} \cdot C^{-1} + \Gamma_{\max}^{-1} \quad \text{equação 4}$$

Obtendo-se a curva de C/Γ em função de C obtém-se uma relação linear. Os valores de Γ_{\max} e K podem ser determinados a partir dos dados, respectivamente, do coeficiente angular e linear da equação da reta. A constante de equilíbrio de Langmuir, K ,

pode representar a afinidade do adsorbato por uma determinada superfície. Isto pode ser representado pela energia livre padrão de adsorção, ΔG_{ads}° , obtida a partir da expressão:

$$\Delta G_{ads}^{\circ} = -RT \ln K \quad \text{equação 5}$$

onde R é a constante universal dos gases e T é a temperatura.

I.3.1 INTERAÇÕES INTERFACIAIS

Segundo van Oss^{66,74}, em sistemas de fase condensada, os quais podem ser polares, quatro classes distintas de interações primárias podem ser consideradas:

a) Eletrodinâmica, ou forças de interações de van der Waals-London (dispersões), van der Waals-Debye (indução) e van der Waals-Keesom (orientação) e em escala macroscópica estas três interações podem ser consideradas juntas pois há um decaimento em uma mesma taxa em função da distância. Estas interações são consideradas como interações de Lifshitz-van der Waals (LW). A constante macroscópica de Hamaker, A, que é utilizada para descrever a energia de interação atrativa entre dois corpos separados por uma certa distância, é proporcional ao componente apolar da tensão superficial, γ^{LW} , valor que pode ser obtido através de medidas de ângulos de contato com um líquido apolar. Estas forças são dependentes da geometria e das propriedades físicas e químicas dos corpos.

b) Interações eletrostáticas: sólidos imersos em líquidos, principalmente água, mostram uma tendência a adquirir carga elétrica. A aquisição de cargas pela superfície promove uma redistribuição dos íons em solução. Os íons de carga oposta, os contra-íons, serão atraídos pela superfície enquanto os íons de mesmo sinal de carga serão repelidos. Este efeito cria uma dupla camada elétrica na proximidade da superfície. Quando dois sólidos de mesmo sinal de carga aproximam-se um do outro, a interpenetração das duplas camadas elétricas levará a uma repulsão. A dupla camada elétrica se divide em duas partes, separadas por um plano (plano de Stern). Desta forma os íons podem ficar adsorvidos na superfície da partícula, antes do plano de Stern. Após o plano de Stern há a superfície de cisalhamento e os íons localizados além deste plano constituem a parte difusa da dupla camada. Devido à dificuldade de se medir o potencial superficial, em todos os cálculos estes são trocados pelos valores do potencial eletrocinético ou potencial zeta, que é o potencial na superfície de

cisalhamento. O potencial zeta de pequenas partículas é facilmente obtidos por medidas electrocinéticas tais como eletroforese e eletrosmose^{71,74,75,76}.

Quando pelo menos um dos materiais de fase condensada consiste de moléculas ou partículas que apresentam uma superfície com carga elétrica, esta deve ser levada em consideração na determinação da energia total de interação. Interações eletrostáticas tem a subscrição EL e decaem exponencialmente com a distância, influenciadas pela espessura da dupla camada elétrica $(1/\kappa)^{74}$.

c) Interações que envolvem doação e recebimento de elétrons ou interações ácido-base de Lewis (AB), as quais compreendem as interações que envolvem a transferência de próton, ou interações AB de Bronsted e interações provenientes das ligações de hidrogênio. Neste termo incluem-se também as interações provenientes dos elétrons π , interações hidrofóbicas e estéricas. As forças AB decaem exponencialmente com a distância. Estas forças, baseadas nas interações ácido-base, são geralmente responsáveis por todas as anomalias encontradas na interpretação teórica das interações interfaciais em meio polar (água por exemplo), porque estas podem superar as forças de DLVO por duas ordens decimais de grandeza⁷⁴.

Contrariamente às interações LW, mas similares às interações EL, estas interações (AB), quando entre materiais idênticos, podem ser repulsivas para materiais hidrofílicos. Entre materiais hidrofóbicos imersos em água estas interações são fortemente atrativas e tendem a ser mais fortes que as interações LW ou EL.

d) Interações de movimentos brownianos: Cada partícula imersa em um meio líquido está dotada de energia de movimentos brownianos: $+3/2 kT$ para três graus de liberdade. Para moléculas de polímeros e partículas muito pequenas esta energia repulsiva pode ter um importante papel. Forças Br decaem exponencialmente com a distância, com um decaimento proporcional ao raio de giração das moléculas do polímero ou de pequenas partículas. Para polímeros com valores altos no raio de giração o decaimento é extremamente lento⁷⁴.

A físico-química das interfaces origina duas aproximações que descrevem a

interação das partículas com a superfície^{17,71,74,75}. Uma delas é do modelo denominado DLVO (Deryagin-Landau-Verwey-Overbeek) que considera as interações envolvidas na aproximação dos sólidos. As forças atrativas de van der Waals (V_A) e as provenientes da dupla camada elétrica (V_R), sendo estas atrativas ou repulsivas, são estudadas de acordo com a teoria de DLVO⁷⁴. Entretanto, as forças descritas neste modelo são suficientes para descrever a adesão. A outra aproximação é baseada em considerações termodinâmicas envolvendo a energia livre de Gibbs: adesão por unidade de área. Desta forma, em adição às forças de DLVO incluem-se as forças de curto alcance que podem ser atribuídas às ligações de hidrogênio, iônicas, dipolares e covalentes^{66,75,77}.

Na teoria de DLVO as forças repulsivas são originadas devido à sobreposição da dupla camada elétrica. A energia potencial devido à interpenetração das duplas camadas elétricas depende da geometria dos corpos, através do raio das partículas (R), do potencial elétrico superficial (Ψ), da permitividade elétrica do meio (ϵ) e da espessura da dupla camada elétrica (κ) de acordo com a equação⁷⁶:

$$V_R = \frac{B\epsilon\kappa^2 T^2 R \gamma^2}{z^2} \exp[-\kappa H] \quad \text{equação 6}$$

onde $\gamma = \frac{\exp[ze\Psi/2kT]-1}{\exp[ze\Psi/2kT]+1}$, H é a distância entre os corpos, B é uma constante ($4,36 \cdot 10^{20} \text{ A}^{-2} \text{ s}^{-2}$), e é a carga do elétron e z é a carga do íon oposto.

As forças atrativas de van der Waals são dependentes da geometria, raio dos corpos (R), distância de separação (H) e da natureza do material que constitui as partículas, através da constante de Hamaker (A). Para uma interação esfera-placa a equação que descreve a energia de atração é mostrada na equação⁷¹:

$$V_A = - \frac{AR}{6H} \quad \text{equação 7}$$

Obtém-se a energia total de interação entre os corpos em função da distância de separação entre eles somando-se as energias de atração e repulsão que está apresentada na Figura 5⁷⁸. Por convenção, as forças atrativas são negativas, decrescendo inversamente com a distância, e as forças repulsivas são positivas, sendo caracterizadas por uma função

exponencial da distância que separa as partículas. Para distâncias muito pequenas ou grandes entre as partículas predominará a atração. É possível falar em altura da barreira de energia e profundidade do mínimo. De acordo com esta teoria a interação entre os sólidos atingirá o máximo de estabilidade no mínimo primário de energia. A existência de um segundo mínimo, à distâncias maiores de interações entre os corpos, permite a explicação de uma adsorção reversível^{71,76}.

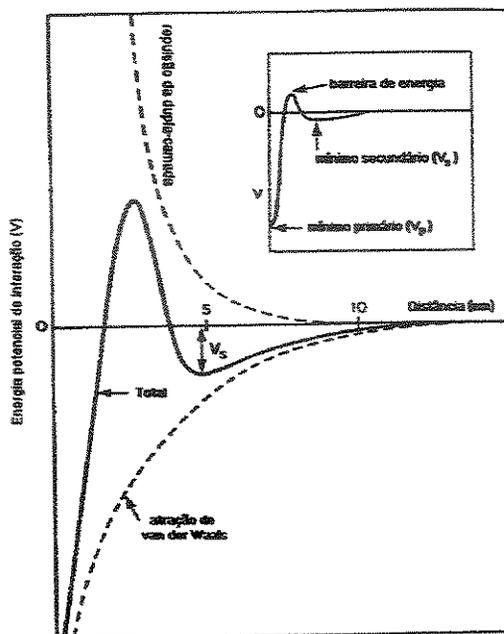


Figura 5: Energia total de interação em função das distâncias entre as partículas, obtidas da somatória das curvas de atração com as curvas de repulsão⁷⁸.

A DLVO estendida, segundo o modelo de van Oss, Good e Chaudhury^{79,80,81} propõe para o estudo de interações interfaciais entre várias superfícies a inclusão do termo referentes às interações ácido-base ΔG^{AB} na somatória dos valores das energias envolvidas na adesão. As interações ácido-base, AB, descrevem as interações entre dois materiais sólidos em termos das tensões interfaciais.

Há estudos de adsorção de polissacarídeos sobre superfícies sólidas em termos de aproximações termodinâmicas e teoria DLVO^{66,82}. Vários destes estudos de adsorção de polissacarídeos são comparados com o processo de adsorção de proteínas e/ou polímeros

(polieletrólitos)⁸³. Prince e Dickinson⁸⁴ estudaram a força e a cinética de adesão de linhagens de *Staphylococcus* que apresentam ou não cápsulas externas, as quais são formadas por polissacarídeos. Os autores constataram que a adesão das bactérias, contendo a cápsula externa, em lamínulas de vidro foi maior e mais rápida em relação às das não encapsuladas. Como os autores não observaram diferenças nas cargas superficiais, nem na hidrofobicidade entre as duas linhagens, atribuíram que a diferença observada é devida à presença de forças de repulsões estéricas de longo-alcance, devidas às cadeias dos polissacarídeos. Rath e colaboradores⁸⁵ estudaram a adsorção de dextrina e goma-guar sobre talco e verificaram a influência de vários fatores neste processo. Os autores afirmam que a adsorção é independente do pH e dependente da conformação das macromoléculas e dos sítios magnésio do talco. Desta forma, os autores concluem que o processo é governado por interações químicas e ligações de hidrogênio.

Energias de interações entre sólidos

A tensão superficial (γ) de uma dada substância pode ser decomposta em dois componentes: um é devido às interações não polares de Lifshitz-van der Waals, (γ^{LW}), e outro (γ^{AB}) é devido à interação polar tipo acceptor de elétrons (γ^+) - doador de elétrons (γ^-), incluindo neste termo as interações de transferência de hidrogênio, ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas^{74,86}. A tensão interfacial γ_{12} entre dois sólidos 1 e 2 é um conceito muito utilizado no estudo de superfícies, o qual permite quantificar a energia livre interfacial entre estes sólidos ou a interação intermolecular em sistemas de fase condensada⁶⁶.

A equação de Young descreve o balanço das forças superficiais, através das tensões superficiais, em um sistema no qual uma gota de um líquido é depositada sob uma superfície sólida. A Figura 6 mostra, para um sistema de três fases: líquido, sólido e ar, o ângulo de contato no equilíbrio (θ), a tensão superficial do sólido (γ_s), do líquido (γ_L), e a tensão interfacial entre o sólido e o líquido (γ_{SL})^{72,71,87,88}. Quanto maior a interação do líquido com o sólido, mais ele se espalha e, conseqüentemente, θ se aproxima de zero.

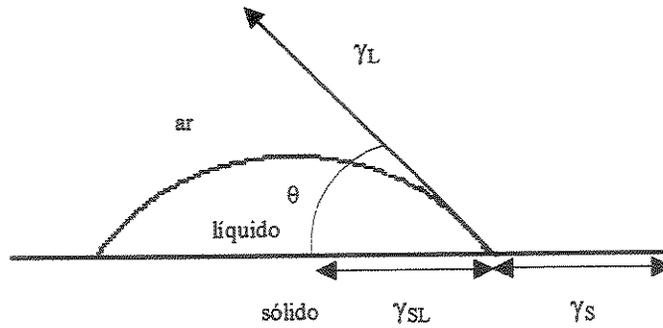


Figura 6: Ângulo de contato (θ) formado entre a gota de um líquido e uma superfície sólida em contato com o ar. As tensões superficiais ou interfaciais representadas são: γ_L do líquido com o ar, γ_S do sólido com o ar e γ_{SL} do sólido com o líquido⁷¹.

Os componentes horizontais destas tensões podem ser expressos através da equação de Young^{71,76}:

$$\gamma_L \cos \theta = \gamma_S - \gamma_{SL} \quad \text{equação 8}$$

A equação de Dupré expressa a relação do trabalho de adesão entre o sólido (S) e o líquido (L)^{71,74,76}:

$$\Delta G_{SL} = \gamma_{SL} - \gamma_S - \gamma_L \quad \text{equação 9}$$

As equações 8 e 9 originam a equação de Young-Dupré:

$$-\Delta G_{SL} = \gamma_L (1 + \cos \theta) \quad \text{equação 10}$$

A energia total interfacial, ΔG^{IF} , entre dois sólidos 1 e 2 pode ser dada por :

$$\Delta G_{12}^{IF} = \Delta G_{12}^{LW} + \Delta G_{12}^{AB} \quad \text{equação 11}$$

onde ΔG^{LW} se refere à variação da energia livre Lifshitz-van der Waals e ΔG^{AB} às interações ácido-base.

Utilizando a equação 9, os termos ΔG^{LW} e ΔG^{AB} para dois sólidos 1 e 2 podem ser descritos como :

$$\Delta G_{12}^{LW} = \gamma_{12}^{LW} - \gamma_1^{LW} - \gamma_2^{LW} \quad \text{equação 12}$$

e,

$$\Delta G_{12}^{AB} = \gamma_{12}^{AB} - \gamma_1^{AB} - \gamma_2^{AB} \quad \text{equação 13}$$

sendo segundo van Oss⁷⁴:

$$\gamma_{12} = ((\gamma_1)^{1/2} - (\gamma_2)^{1/2})^2 \quad \text{equação 14}$$

$$\gamma_1^{AB} = 2 (\gamma_1^+ \cdot \gamma_1^-)^{1/2} \quad \text{idem para o sólido 2} \quad \text{equação 15}$$

$$\gamma_1 = \gamma_1^{LW} + \gamma_1^{AB} \quad \text{idem para o sólido 2} \quad \text{equação 16}$$

Combinando as equações 12-16, a equação de Young-Dupré (equação 10) torna-se:

$$\gamma_L (\cos \theta + 1) = 2 (\gamma_s^{LW} \cdot \gamma_L^{LW})^{1/2} + 2 (\gamma_s^+ \cdot \gamma_L^-)^{1/2} + 2 (\gamma_s^- \cdot \gamma_L^+)^{1/2} \quad \text{equação 17}$$

onde os componentes da tensão superficial do sólido γ_s^{LW} , γ_s^+ e γ_s^- podem ser determinados por um sistema de três equações a partir dos valores de ângulos de contato formados entre o sólido e pelo menos três líquidos diferentes (com os componentes das tensões superficiais, γ_L^{LW} , γ_L^- e γ_L^+ , conhecidos).

Desta forma, sabendo-se os valores dos componentes da tensão superficial do sólido, pode-se calcular as variações de energia livre envolvidas na interação entre, por exemplo, dois sólidos 1 e 2 (equações 12 e 13). Segundo o modelo van Oss, Good e Chaudhury^{79,80,81} a energia total de interação fica sendo então :

$$\Delta G_{12}^{Total} = \Delta G_{12}^{LW} + \Delta G_{12}^{EL} + \Delta G_{12}^{AB} + \Delta G_{12}^{BR} \quad \text{equação 18}$$

Assim, se ΔG^{LW} , ΔG^{EL} , e ΔG^{AB} são medidos separadamente, deve-se adicionar $+1\kappa T$ para ΔG^{BR} para sistemas com dois graus de liberdade. Entretanto, se a ΔG^{Total} foi medida como um todo através de medidas de tensão interfacial ou através de constante de equilíbrio, o valor de ΔG^{BR} já está incluído neste termo.

II OBJETIVOS

Constatou-se que células de *Saccharomyces* sp. aderem em crisotila sendo enoveladas pelo suporte, um comportamento não-usual para microorganismos. O professor Paulo Moran (IQ-Unicamp) nos sugeriu que a adesão poderia ser provocada pelo polissacarídeo glucana presente na parede celular da *Saccharomyces* sp. Sabe-se que a glucana tem propriedades adesivas e é a principal componente da parede celular, mas não é a única. Cassiola⁵⁴, em sua tese de doutorado, sugere que esta adesão de células de leveduras em crisotila é provocada por interações tipo van der Waals entre os sítios ativos da fibrila ($Mg(OH)_2$) e os grupos hidroxilas e carbonilas dos polissacarídeos da parede celular. No entanto, a autora não faz uma investigação mais aprofundada sobre esta suposta interação. Se esta suposição é correta, as geometrias e as dimensões dos corpos utilizados são importantes. Nenhum ensaio quantitativo foi realizado para verificar qual a influência deste polissacarídeo em processos de adesão utilizando a crisotila.

Desta forma, os objetivos deste trabalho são:

- Verificar a interação de glucana com crisotila, através de isotermas de adsorção;
- Aderir a glucana em sólido com dimensões similares à levedura e investigar quantitativa e topograficamente a interação entre este sólido pré-tratado e crisotila e compará-la com a interação do sólido sem tratamento. Desta forma, simular-se-á a interação da crisotila com uma levedura que contém um só componente na sua superfície externa (a glucana), evitando a influência dos outros constituintes da parede celular;
- Modelar as interações entre glucana-crisotila, com base nas forças de longo e curto-alcance.

III PARTE EXPERIMENTAL

Neste trabalho, inicialmente estudou-se a interação de glucana carboximetilada (cm-glucana) com crisotila. A partir do conhecimento deste sistema, escolheu-se um sólido (sílica) com dimensões similares a uma célula de *Saccharomyces* sp, tratou-se este material com cm-glucana e investigou-se quantitativa e topograficamente a adesão deste em crisotila. Foi também investigada a interação de cm-glucana com outros materiais, tais como argilas e látex.

III.1 MATERIAIS

- Glucanas carboximetiladas (cm-glucanas): Glucare S da Cosmoferm com massa molar não determinada e Glucan J com 2.106 Dalton da Miebelle. A Figura 7 mostra o espectro no infravermelho, por pastilha de KBr, da amostra de Glucare S e de Glucan J. Na TABELA 1 estão descritas as frequências das bandas para as cm-glucanas^{89,90,91}
- Sílicas: 1- sílica gel micronizada, Syloid tipo SP-54, da Grace Brasil, denominada neste trabalho de sílica A e 2- Syloid 244, da Grace Brasil, denominada neste trabalho como sílica B, com diâmetro médio de partículas de 5,8 µm (fornecido pelo fabricante) e área BET 300m²/g.
- Crisotila tipo 5R da Sama Mineração de Amianto Ltda. A crisotila foi lavada com água e a seguir foi colocada em um reator com água (2%/m) com fluxo de ar por 1 hora, para a retirada de material particulado como descrito por Paula Hanao Filloy⁵⁰. A seguir, foi seca em estufa a 100°C por uma noite. Amostras de crisotila, também foram lixiviadas com HCl concentrado por 8 horas denominadas neste trabalho de crisotila lixiviada. A seguir, estas amostras foram lavadas com água e secas a 100 °C por 1 noite.
- Crocidolita, doada pela Sama Mineração de Amianto Ltda, originária da África do Sul. Jateadas com água por 10 minutos para a retirada de pó de rocha, e a seguir foram secas a 100 °C por 1 noite.
- Argilas: Montmorilonita K10 da Aldrich, (Na, Ca (Al, Mg)₂Si₄O₁₀(OH)₂.nH₂O) e os silicatos de alumínio hidratados: caulim da Engelhard com diâmetro de partícula de 0,4 µm e agalmatolitos da Lamil com diâmetros de partículas menores do que 2 µm.

➤ Demais reagentes de grau analítico.

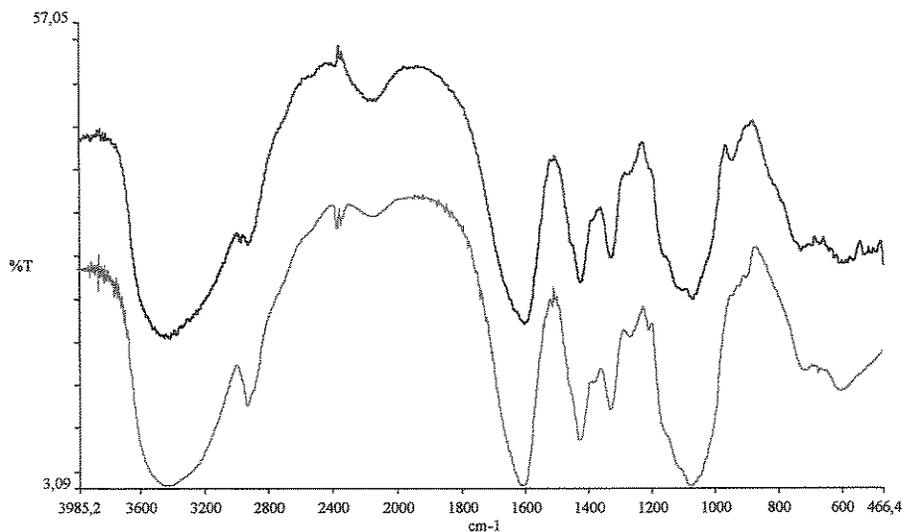


Figura 7: Espectros na região do infravermelho A) Glucare S (azul) e Glucan J (preto) pelo método de pastilha de KBr.

TABELA 1: Frequência das bandas das glucanas

Frequência (cm ⁻¹)	Atribuições ^{89,90,91}
3420	v(OH)
1600	v _{ass} (COO ⁻)
1420	v _s (COO ⁻)
1325	v(CH) de O-CH-O
1262 e 1215	-
1070	v _{ass} (COC) v(CC)

III.2 ENSAIOS DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

A adesão de sílica em crisotila ou crisotila lixiviada ou crocidolita foi investigada por microscopia eletrônica de varredura. Quatro séries de experimentos foram preparadas para a identificação do material aderido:

- Primeira série: sistemas foram preparados misturando-se sílica A com crisotila ou crocidolita ou crisotila lixiviada (g/g) pré-tratadas ou não com glucana. A sílica e a crisotila foram pré-tratadas separadamente com uma solução de 0,1 g/L de glucana por 2 horas a 28°C. A seguir, a sílica foi separada da dispersão por centrifugação e a crisotila por filtração em peneira Tyler de 250 mesh. A sílica pré-tratada foi adicionada à crisotila e a crisotila pré-tratada foi adicionada à sílica, em tampão fosfato pH 7,2. Estes sistemas foram mantidos em incubadora a 28°C sob agitação de 150 rpm por 2 horas. Os controles sílica/crisotila foram preparados da mesma forma. A seguir, estas dispersões foram filtradas em peneira de 250 mesh e o material retido foi seco a 60°C por uma noite.
- Segunda série: os sistemas com sílica A (pré-tratada ou não com cm-glucana) aderida em crisotila foram repetidos utilizando-se, entretanto, água ao invés do tampão a fim de verificar se o tampão tem alguma influência neste processo.
- Terceira série: sílica B (pré-tratada ou não com cm-glucana) foi misturada à crisotila em meio aquoso, a 25 °C sob agitação de 200rpm.
- Quarta série: repetição do experimento da terceira série, mas sem agitação, a fim de verificar a influência da agitação neste processo de adesão.

As amostras foram fixadas no porta amostra com fita adesiva e foram recobertas por um filme de ouro, pelo processo de sputtering. Estes experimentos foram realizados em conjunto com Flávia Maria Cassiola, durante seu trabalho de doutorado, a qual caracterizou os sistemas por microscopia eletrônica de varredura em equipamento JEOL JSM 840A, no Instituto de Física da USP.

III.3 ANÁLISE NO INFRAVERMELHO

Foram obtidos espectros na região do infravermelho das cm-glucanas, da crisotila, crisotila com cm-glucana. As amostras de cm-glucana foram preparadas pelo método de pastilha de KBr e lidas por transmitância normal em um equipamento Perkin Elmer 1600. Utilizando-se o acessório de ATR foram obtidos espectros das amostras de crisotila e crisotila/glucana. A crisotila foi pré-tratada adicionando-se 300 mg de crisotila em solução de glucana (200mg/L) permanecendo em contato por 1 hora a 25 °C. A seguir, esta

dispersão foi filtrada em peneira de 250 mesh e o material retido foi seco a 60°C por uma noite. Os espectros por ATR foram obtidos por Flávio Aparecido Rodrigues na Universidade de Mogi das Cruzes acoplado-se este acessório a um espectrofotômetro Perkin Elmer modelo spectrum one.

III.4 MEDIDAS DE ÂNGULOS DE CONTATO

As medidas de ângulos de contato foram obtidas em superfície de crisotila e de cm-glucana. Para as medidas em cm-glucana, inicialmente trataram-se lamínulas de vidro com sulfonítrica por 1 hora, a seguir foram lavadas e colocadas em solução 10% (m/v) de KOH em álcool etílico por 1 hora e depois foram deixadas estabilizando por mais 1 hora em uma solução de bicarbonato de sódio 30%. Após secas, as lamínulas foram deixadas em uma solução de cm-glucana (1g/L) por 1 noite. Após este tempo, estas lamínulas pré-tratadas foram secas a temperatura ambiente. Novamente foram deixadas em contato com solução de cm-glucana (1g/L) por 1 hora e a seguir foram secas à temperatura ambiente (este procedimento foi repetido mais três vezes). As amostras de crisotila foram preparadas prensando-se 10 mg de crisotila previamente lavadas como descrito no item III.1 em pastilhador revestido de filme plástico de PVC. As medidas de ângulo de contato foram realizadas pelo método da gota, no qual é colocada uma gota do líquido escolhido sobre a superfície a ser analisada e verifica-se o ângulo formado entre a superfície e a gota^{72,76}. Os líquidos escolhidos foram etilenoglicol, glicerina e silicone. As imagens foram obtidas com uma câmera fotográfica digital Nikon D-100, com lente Sigma 105 mm macro e os ângulos foram medidos utilizando-se o programa UTHSCSA- Image Tool for Windows.

III.5 ADESÃO DE CM-GLUCANA EM CRISOTILA

A cm-glucana utilizada nestes experimentos é o Glucare S.

III.5.1 PREPARAÇÃO DA SOLUÇÃO DE CM-GLUCANA

O Glucare S é carboximetilado a 2% produzindo uma glucana solúvel.

Entretanto, o que se pode observar é que a solução não é completamente límpida, sendo isto um fator relevante para os experimentos. A solução, utilizada para a construção das isotermas, foi previamente preparada adicionando-se uma massa de cm-glucana em água deionizada e aquecendo-se esta mistura por 1 hora a 50°C. O volume foi completado para o preparo de uma solução 1g/L e a seguir, foi colocada no ultra-som por 1h 30min. Esta solução permaneceu em repouso por 1 dia antes de ser utilizada.

III.5.2 DETERMINAÇÃO DE CM-GLUCANA EM SOLUÇÃO

A determinação de cm-glucana em solução foi feita colorimetricamente pelo método descrito por Dubois⁹². Preparam-se soluções reagindo-se 1 mL de solução contendo cm-glucana, 1 mL de solução de fenol a 5% em água e 5 mL de ácido sulfúrico concentrado. Após 15 minutos são feitas as leituras de absorvâncias destas soluções em espectrofotômetro UV/vis a 489 nm. Previamente foi realizada uma curva de calibração (absorvância x concentração de cm-glucana) no intervalo de 25 mg/L a 250 mg/L de solução de glucana.

III.5.3 REPRODUTIBILIDADE DE LEITURAS

Para a verificação da reprodutibilidade das leituras foram preparadas reações colorimétricas, como descritas no item III.5.2, com uma solução de cm-glucana 250mg/L em sextuplicatas. Com os resultados obtidos das absorvâncias lidas a 489nm, observou-se que este sistema apresentou uma média de leitura de 1,005 em unidades de absorvância e uma estimativa de desvio padrão de 0,025.

III.5.4 REPRODUTIBILIDADE DOS EXPERIMENTOS

Oito sistemas foram preparados adicionando-se 300mg de crisotila em 20ml de solução de cm-glucana 100mg/L. Estes sistemas permaneceram em incubadora a 25°C com agitação de 200 rpm por 1 hora. Retiraram-se alíquotas dos sobrenadantes, e foram feitas reações colorimétricas, como descritas no item III.5.2 e a seguir foram medidas as absorvâncias destes sistemas a 489nm. Estes sistemas apresentaram uma média de 4,5 (mg de glucana/g crisotila) e uma estimativa de desvio padrão de 0,32.

III.5.5 INFLUÊNCIA DA AGITAÇÃO NA ADESÃO

Sistemas foram preparados adicionando-se 300mg de crisotila em 20 mL de solução de cm-glucana (50, 100, 200) mg/L. Estes materiais permaneceram em contato a 25 °C, sem agitação ou com agitação de 200 rpm. A seguir a dispersão foi filtrada em peneira Tyler de 250 mesh e a concentração de glucana presente no sobrenadante foi determinada através de reação colorimétrica, como descrita no item III.5.2.

III.5.6 DETERMINAÇÃO DO TEMPO DE CONTATO

A curva de adesão de cm-glucana (100 mg/L) em 100 mg de crisotila foi obtida até o tempo máximo de 82 minutos a 25°C e 200 rpm. Após o tempo desejado, a dispersão foi filtrada em peneira Tyler de 250 mesh e a concentração de glucana no sobrenadante foi determinada colorimetricamente, como descrita no item III.5.2.

III.5.7 EFEITO DA VARIAÇÃO DA MASSA DE CRISOTILA

Adicionou-se à solução de cm-glucana (100 mg/L) 50 mg de crisotila. Este sistema permaneceu em incubadora com agitação orbital (200 rpm) por 1 hora a 25°C. Após este tempo, a dispersão foi filtrada em peneira Tyler de 250 mesh. Foi determinada a concentração de glucana no sobrenadante colorimetricamente, como descrito no III.5.2. Este procedimento foi realizado em duplicata e repetido para as massas 100, 300 e 500 mg de crisotila.

III.5.8 ISOTERMAS DE ADESÃO

As isotermas foram obtidas adicionando-se 300 mg de crisotila em erlenmeyers contendo 20 mL de solução de glucana (40, 70, 100, 200, 300 e 400 mg/L) os quais foram previamente estabilizados na temperatura desejada por aproximadamente 30 minutos. Estes sistemas foram mantidos em incubadora com agitação orbital (200 rpm) a 25 °C por 1 hora. A seguir, a dispersão foi filtrada e a massa glucana presente no sobrenadante foi determinada através de reação colorimétrica, como descrita no item III.5.2. Este experimento foi realizado em duplicata e foi repetido para as temperaturas de 2 °C e 50 °C.

III.6 ESCOLHA DO SÓLIDO A SER UTILIZADO NA INTERAÇÃO COM CRISOTILA

Nestes experimentos foram utilizados além do Glucare S, o Glucan J.

O primeiro passo para este experimento foi escolher um material que tivesse dimensões de uma célula de *Saccharomyces* sp., que a seguir seria tratado com cm-glucana e depois se verificaria a interação deste com a crisotila. Além das dimensões, outro fator relevante para a escolha do material era de que a massa de cm-glucana aderida a este material pudesse ser determinada. Para a obtenção de isothermas de adesão deste sólido, pré-tratado com glucana, em crisotila era necessário que a parte não aderida em crisotila pudesse ser separada da parte aderida.

A preparação das partículas de látex foi realizada juntamente com Atilio de Oliveira Cardoso, aluno de doutorado do IQ-UNICAMP. Imagens de microscópio revelaram a obtenção de partículas de látex com tamanho razoável, 1 μ m, para simular uma levedura. Alguns ensaios (apresentados no anexo) foram realizados com o látex, entretanto, este decantava muito rapidamente, impossibilitando a determinação da massa remanescente de látex no sobrenadante (em uma dispersão de látex com crisotila). Não foram realizados mais ensaios com este material. A seguir, fez-se a adesão de crisotila em lamínulas de vidro revestidas com Teflon (pré-tratadas ou não com glucana). Entretanto, não se observaram diferenças, utilizando um estéreo-microscópio Leica MZ12.5, entre o sistema controle e a amostra. A seguir, foram utilizadas lamínulas de vidro. Sistemas foram preparados com 20 mL de solução de glucana (120 mg/L) e 1, 5 e 10 unidades de lamínulas de vidro (18 mm x 18 mm). Estes sistemas permaneceram a 25 °C e a 200 rpm em incubadora com agitação orbital por 1 dia. A seguir, os sistemas foram filtrados em peneira Tyler de 250 mesh e a massa de glucana presente no sobrenadante foi determinada colorimetricamente. Constatou-se que não houve variação na massa de glucana aderida nas três diferentes massas de lamínulas, provavelmente devido à pequena área superficial do material. A seguir, foram testadas esferas de vidro com diâmetro de 2mm, Schott, que apresentam uma área superficial maior do que as lamínulas. Amostras de esferas de vidro somente lavadas, ou em contato com crisotila e glucana foram observadas em um estéreo-microscópio. Observou-se uma pequena alteração entre estas duas amostras, o que inviabilizava uma determinação da massa

aderida de crisotila neste material. Os experimentos se seguiram utilizando-se sílica B, com tamanho médio de partícula de 5,8 μ m, e argilas e estes ensaios estão descritos nos próximos itens.

III.7 INTERAÇÃO ENTRE CM-GLUCANA E SÍLICA

III.7.1 DETERMINAÇÃO DA MASSA ADERIDA DE CM-GLUCANA EM SÍLICA

Sistemas foram preparados adicionando-se 500 mg de sílica em 10 mL Glucan J (80mg/L), os quais permaneceram em contato por 1 hora ou por 1 noite, a 25°C, com ou sem agitação de 200rpm. Após este tempo, estas dispersões foram centrifugadas e foi lida a absorbância do sobrenadante a 489 nm após a reação colorimétrica como descrito no item III.5.2. Este resultado foi comparado com a leitura de absorbância da solução inicial de glucana. A força iônica foi controlada a 10⁻³ mol/L de KCl. Estes experimentos foram realizados com Sílica B.

III.7.2 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA DE SÍLICA

As amostras foram preparadas adicionando-se 0,18g de sílica B em 10 mL de solução de Glucan J (200mg/L) a 10⁻³ mol/L de KCl, por 1,5 h em temperatura ambiente. O controle foi preparado utilizando a mesma massa de sílica em água deionizada. A seguir, a sílica foi separada da dispersão por centrifugação por 10 minutos. As amostras foram secas por 1 noite em estufa a vácuo a 25°C. As medidas de TGA foram realizadas em um equipamento Hi-Res TGA 2950 da TA instruments, sob atmosfera inerte e com aquecimento de 10°C/minuto. Estes experimentos foram realizados com Sílica B.

III.8 INTERAÇÃO ENTRE SÍLICA E CRISOTILA

Estes experimentos foram realizados com Sílica B

III.8.1 INFLUÊNCIA DA AGITAÇÃO

A sílica foi pré-tratada adicionando-se 1g de sílica em 33mL de solução de

glucana (200 mg/l) a 10^{-3} mol/L de KCl e esta dispersão foi mantida por 1 hora, a 25°C. A sílica foi retirada da dispersão por centrifugação e a seguir foi seca a 60 °C por 1 noite. Foram preparados sistemas contendo 300 mg de sílica, pré-tratadas ou não com glucana, e 300 mg de crisotila em 20 mL H₂O, $5 \cdot 10^{-4}$ mol/L de KCl, a 25°C. Esta dispersão foi agitada com uma bagueta por 1 minuto e os sistemas foram mantidos por 15 min sob agitação (200 rpm) ou sem agitação. Após estes tempos, a dispersão foi filtrada em peneira Tyler de 250 mesh e o material retido na peneira foi seco a 70 °C por 1 noite e a seguir foi pesado. Alguns destes sistemas foram submetidos à dessorção: 16 minutos a 25 KHz, como descrito no item III.8.2. Foram obtidas quintuplicatas de amostras para os sistemas com agitação e triplicatas para os sistemas sem agitação.

III.8.2 DESSORÇÃO DA SÍLICA DE CRISOTILA

A sílica aderida na crisotila foi retirada desta por processo de sonicação. O sistema sílica/crisotila foi colocado sobre uma peneira de 250 mesh que foi inserida em uma cuba contendo água destilada. A cuba foi colocada em ultra-som, 25 KHz, por 16, 18 min ou 4,5 h. A seguir, os materiais retidos na peneira foram secos por 1 noite a aproximadamente 70 °C e depois foram pesados.

III.8.3 DETERMINAÇÃO DO TEMPO DE CONTATO

Para a determinação do tempo necessário para o sistema sílica/crisotila atingir o equilíbrio, inicialmente tratou-se a sílica. Adicionaram-se 300 mg de sílica a 10 mL Glucan J (200mg/L) que permaneceram em contato por 1 hora a 25°C. A sílica foi retirada da solução por centrifugação e foi lavada com aproximadamente 100 mL de água e a seguir foi seca por 1 noite a 60°C. Foram preparados sistemas colocando-se 300 mg da sílica pré-tratada em 10 mL de H₂O deionizada contendo 300mg de crisotila. A dispersão foi agitada com uma bagueta por 1 minuto e os sistemas permaneceram por 0, 5, 30 e 60 minutos a 25°C e 200 rpm. A força iônica foi controlada em 10^{-3} mol/L de KCl. Os materiais resultantes foram secos por 1 noite a aproximadamente 70 °C. Alguns sistemas foram submetidos ao processo de dessorção de sílica da crisotila, colocando-os por 16 minutos no ultra-som como descrito no item III.8.2.

III.8.4 EFEITO DA VARIAÇÃO DE MASSA DE CRISOTILA

A erlenmeyers contendo 100, 300, 400 mg de crisotila, 20 mL de água destilada, em $5 \cdot 10^{-4}$ mol/L de KCl, foram adicionados 300 mg de sílica pré-tratados com 20 mL de glucana (200mg/L) por 1 hora a $1 \cdot 10^{-3}$ mol/L de KCl. A dispersão foi agitada por 1 minuto com bagueta e os sistemas foram mantidos por 15 minutos a 25 °C sem agitação. A seguir, esta dispersão foi filtrada e o material retido foi seco a 70 °C por 1 noite e a seguir foram pesados. Duplicatas de experimentos foram realizadas.

III.8.5 ISOTERMAS DE ADESÃO

Para a obtenção destas isotermas, a sílica e a crisotila foram pré-tratadas com cm-glucana colocando-se separadamente 300 mg destes materiais em 20 mL glucana de (200mg/L). Esta dispersão foi mantida por 1 hora a 25 °C em incubadora. A crisotila foi retirada da solução por filtragem, em peneira Tyler de 250 mesh, e a sílica foi retirada da solução por centrifugação por 10 minutos. Estes materiais foram lavados com aproximadamente 100 mL de água e a seguir foram secos por 1 noite a 60°C. A crisotila pré-tratada com glucana foi adicionada à dispersão de 300 mg de sílica (seca e previamente lavada com água) e 20 mL de água deionizada com força iônica controlada. A sílica pré-tratada com glucana foi adicionada à dispersão de 20mL de água deionizada, com força iônica controlada e 300mg de crisotila. Estas dispersões foram agitadas por 1 minuto com auxílio de uma bagueta e foram mantidas por 15 minutos na temperatura desejada. O controle foi preparado com 300mg de crisotila e 300mg de sílica (somente lavada com água) em 20 mL de água deionizada e foram mantidos nas mesmas condições dos outros sistemas. Estes sistemas foram filtrados em peneira Tyler de 250 mesh e lavados com aproximadamente 250 mL de água. Foram secos por 1 noite a aproximadamente 70°C e a seguir foram pesados. Estes ensaios foram realizados em três temperaturas: 0°C, 25°C e 50°C e em três forças iônicas: 10^{-1} , 10^{-2} e $5 \cdot 10^{-4}$ mol/L de KCl. Crisotila, sílica, solução de glucana e água foram estabilizados previamente por 1 hora nas temperaturas de 0°C e 50°C. Alguns sistemas foram submetidos ao processo de dessorção de sílica da crisotila como descrito no item III.8.2.

III.9 INTERAÇÃO DE CM-GLUCANA COM MONTMORILONITA

Foram adicionados 500 mg de montmorilonita a 10mL de solução de Glucan J (100mg/L) e este sistema foi mantido por 1 dia em repouso. O controle foi preparado com montmorilonita em água por 1 dia. A seguir, estes sistemas foram centrifugados e os sobrenadantes destas amostras e a solução inicial de glucana foram submetidos à reação colorimétrica como descrito no item III.5.2. Não foi lida a absorbância destas soluções, mas visualmente observou-se que o sobrenadante da amostra montmorilonita com cm-glucana apresentou-se ligeiramente alaranjado, a solução inicial de glucana apresentou-se com forte cor alaranjada e nenhuma coloração foi observada no sobrenadante montmorilonita/água. Estes resultados indicam que a glucana foi parcialmente sorvida pela montmorilonita.

III.10 INTERAÇÃO ENTRE MONTMORILONITA E CRISOTILA

Foram adicionados 500 mg de montmorilonita a 10 mL de solução de glucana (200mg/L ou 1000mg/L) os quais permaneceram por 1 dia em repouso à temperatura ambiente. O controle foi preparado utilizando-se a mesma massa de argila em água. A seguir, estas dispersões foram centrifugadas e a montmorilonita foi ligeiramente lavada com água e a seguir foi seca a 60°C por 1 noite. Prepararam-se sistemas com 500mg de crisotila, 100 mg de montmorilonita, tratadas ou não com solução de glucana (200m/L ou 1000mg/L) em 15 mL de água deionizada (10^{-3} mol/L de KCl). Estes sistemas permaneceram por 18 minutos a 25 °C em incubadora orbital (200rpm). Alguns destes sistemas foram submetidos a sonicação para a retirada da montmorilonita da crisotila, da mesma forma como descrito no item III.8.2 para a dessorção da sílica da crisotila.

III.11 INTERAÇÃO ENTRE CAULIM, AGALMATOLITOS E CRISOTILA

Foram colocados 500 mg de caulim, ou agalmatolitos, a 5mL de solução de glucana 1000mg/L. Estas dispersões permaneceram em repouso por 1 dia a temperatura ambiente. O controle foi preparado utilizando-se a mesma massa de argila em água. Após

este tempo, estas dispersões foram centrifugadas e as argilas foram ligeiramente lavadas com água destilada e a seguir foram secas. Prepararam-se sistemas adicionando-se 500mg de crisotila, 100 mg de argilas, pré-tratadas ou não com glucana, e 15 mL de água deionizada com força iônica de 10^{-3} mol/L de KCl. Estes sistemas permaneceram por 20 minutos em banho maria tipo Dubnoff com agitação a 25°C. Alguns destes sistemas foram submetidos à sonicação para a retirada da argila da crisotila, da mesma forma como descrita no item III.8.2 para a dessorção da sílica da crisotila.

IV RESULTADOS

Para os resultados apresentados, utiliza-se a nomenclatura sólido1-glucana/sólido 2 quando o sólido1 (podendo ser qualquer um dos utilizados neste trabalho) foi pré-tratado com glucana e só depois foi colocado em contato com o outro, o sólido 2 (novamente qualquer um dos utilizados neste trabalho). A nomenclatura sólido1/sólido2 ou sólido/glucana refere-se, respectivamente, ao estudo da interação do sólido 1 com o sólido 2 ou do sólido com glucana. Neste trabalho será utilizado o termo adesão para caracterizar as interações entre os sólidos e o polissarídeo. O termo adsorção será mantido quando a literatura consultada assim se referir.

IV.1 MEV: CRISOTILA, CRISOTILA LIXIVIADA, CROCIDOLITA E SÍLICA

Neste ensaio observou-se a interação entre sílica, crisotila, crisotila lixiviada e crocidolita e glucana por MEV. As partículas de sílica simularam células de leveduras contendo um só componente na sua superfície externa (glucana). A crisotila lixiviada foi utilizada nestes ensaios, pois em trabalhos anteriores de adsorção de células de *Saccharomyces* sp em crisotila lixiviada foram constatadas muitas partículas de crisotila lixiviada sobre a superfície das células². A crisotila quando é lixiviada com ácidos fortes, perde a camada de brucita, restando somente a camada de tridimita (SiO_2), devendo apresentar potencial zeta negativo⁴⁸. Desta forma, pôde-se comparar a adesão de partículas de sílica (pré-tratadas ou não com glucana) em material negativo (crisotila lixiviada) com a adesão de sílica em material positivo (crisotila). A crocidolita foi utilizada por ser um tipo de amianto como a crisotila, apresentando, entretanto, fibras mais longas, espessas, rígidas e menos flexíveis do que a crisotila. A crocidolita apresenta potencial isoelétrico em pH 4 e acima deste valor é negativa⁵⁹. Cassiola⁵⁴ observou que a interação de crocidolita com células de leveduras não foi eficiente como observado para a crisotila. Neste trabalho, foi investigado se este mesmo comportamento observado com crocidolita e as células de leveduras seria repetido com crocidolita e as partículas de sílica (pré-tratada ou não com glucana). Investigou-se a presença de fibras de crocidolita aderidas ou até mesmo encurvadas sobre as partículas de sílica e este resultado foi também comparado com a adesão de sílica em crisotila. As Figuras 8-15 apresentam as micrografias obtidas destas interações.

As Figuras 8a, que se refere ao sistema sílicaB-glucana/crisotila, e a 8b, de sílicaB/crisotila, mostram que para estes dois sistemas há presença de muitas partículas de sílica sobre as fibras de crisotila e não é possível notar diferenças entre estes dois sistemas. A adesão de fibras de crisotila sobre uma única partícula de sílica é vista nas Figuras 9a e 9b, tanto para os sistemas nos quais a sílica foi pré-tratada com glucana como para o sistema controle. Na Figura 10a observa-se uma partícula de sílica com tamanho muito maior do que a média das partículas. As fibras estão aderidas e encurvadas sobre esta partícula de forma parecida com o enovelamento observado com as células de *Saccharomyces* sp./crisotila (Figura 1). Tanto na Figura 10a como na Figura 10b, observa-se que as fibrilas acompanham as irregularidades da partícula. Na Figura 11 vê-se as fibrilas de crisotila sobre a superfície da sílica e observa-se a presença de maior número de fibrilas de crisotila sobre a sílica previamente tratada (11a) com glucana em relação à sílica controle (11b). Estas fibrilas podem aprisionar as partículas de sílica, impedindo-as de se desprenderem do suporte, aumentando assim a força de adesão entre eles.

A interação de partículas de sílica com crisotila lixiviada são apresentadas nas Figuras 12 e 13. Na Figura 12 vê-se que tanto para o sistema controle (12b) como para sistema contendo sílica pré-tratada com cm-glucana (12a) há a presença de crisotila lixiviada sobre a sílica. As Figuras 13a e 13b mostram em detalhe esta interação. Nota-se um aglomerado de partículas de crisotila lixiviada sobre a superfície da sílica quando esta foi pré-tratada com cm-glucana. Estas mesmas interações observadas para o sistema sílica/crisotila lixiviada também foram observadas para células de *Saccharomyces* sp. e crisotila lixiviada². O mesmo sinal de carga entre os materiais, sílica e crisotila lixiviada, não impediu que ocorresse a adesão entre eles, sugerindo que as interações eletrostáticas não são as dominantes deste processo .

Diferentemente do observado por Cassiola⁵⁴ em seu estudo sobre a adesão de células de *Saccharomyces* sp. em crocidolita, há adesão de crocidolita sobre as partículas de sílica como visto nas Figuras 14 e 15. Na Figura 14a nota-se uma partícula de sílica praticamente toda enovelada pelas fibras de crocidolita e isto não foi notado no sistema controle (Figura 14b). A Figura 15 mostra em detalhes estas interações. Nota-se que tanto para o sistema em que a sílica foi previamente tratada com glucana (15a) como no sistema

controle (15b) há a presença de crocidolita sobre as partículas de sílica. Na Figura 15a vê-se que as fibrilas da crocidolita acompanham as irregularidades das partículas e nota-se a presença de um adesivo entre as fibrilas e a superfície da sílica (indicada pela seta). Para o sistema controle (15b) as fibrilas estão sobre as partículas de sílica mas, não se observa uma adesão como a observada para o sistema contendo glucana. Estes resultados diferem dos discutidos por Cassiola⁵⁴, provavelmente porque para os sistemas *Saccharomyces* sp e crocidolita as interações eletrostáticas devem prevalecer e, como as duas superfícies apresentam cargas negativas, a interação é desfavorável. Para os sistemas sílica-glucana e crocidolita, as interações eletrostáticas não são as dominantes no processo de adesão, sendo este processo influenciado pela glucana que propicia outros tipos de interações entre os materiais. Provavelmente as partículas de sílica apresentam maior quantidade de glucana do que a observada na parede celular das leveduras.

Estes experimentos foram realizados em conjunto com Flávia Maria Cassiola durante seu trabalho de doutorado no IQ-UNICAMP.

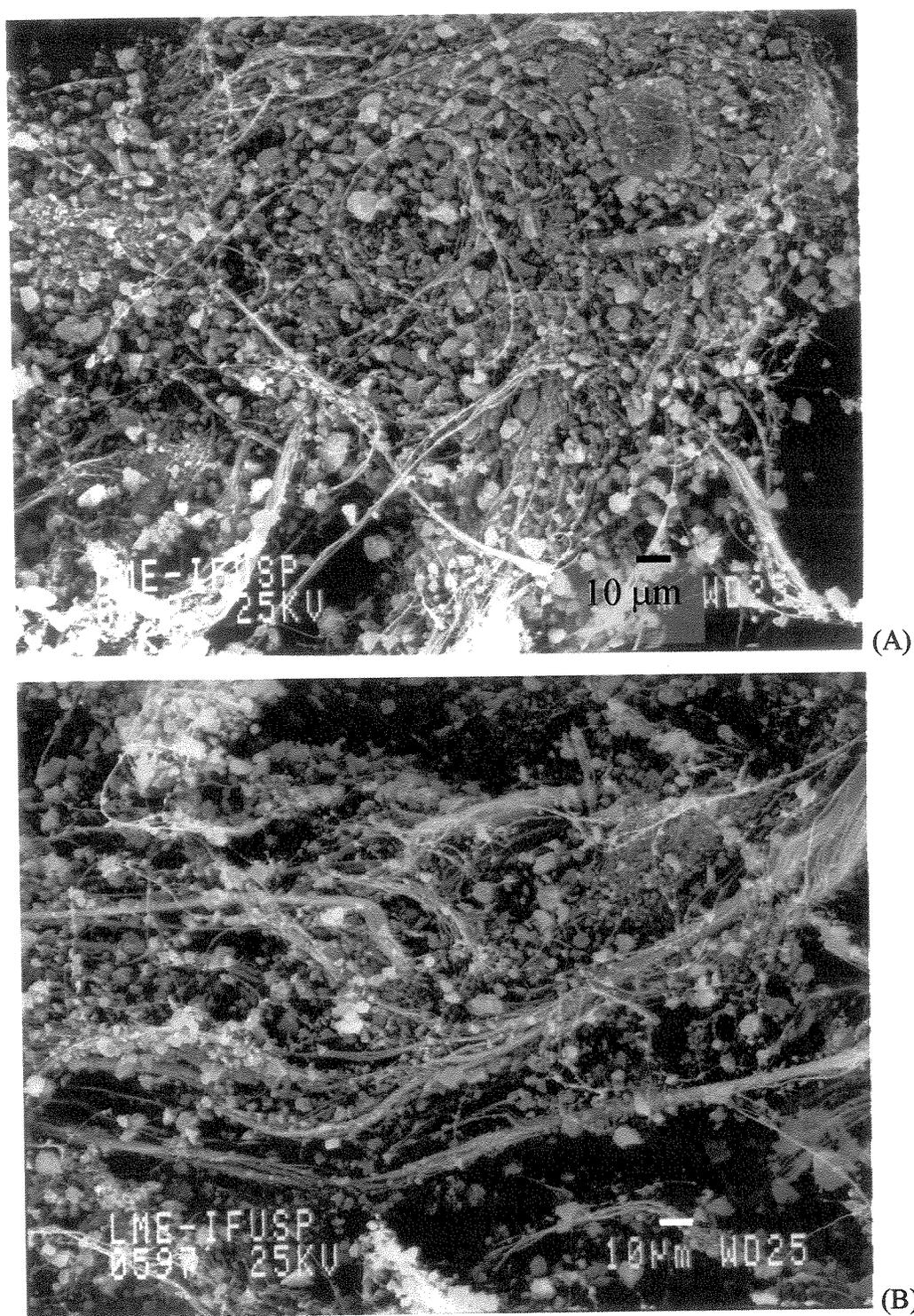


Figura 8: Sistemas preparados em água sem agitação a) Sílica B-glucana/crisotila b) Sílica B-crisotila.

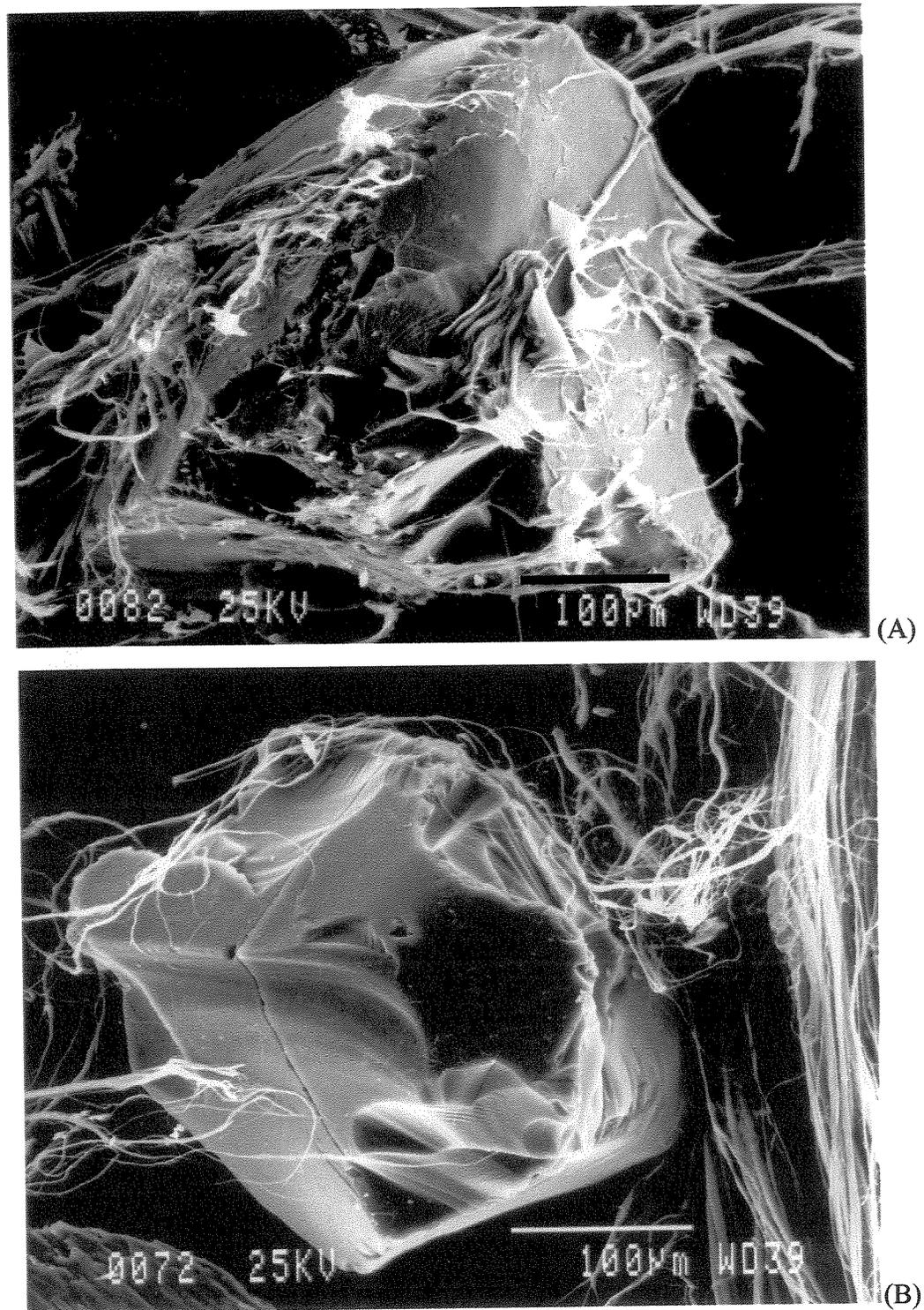


Figura 9: Sistemas preparados em meio tamponado com agitação de 200 rpm a) Sílica A-glucana/crisotila b) Sílica A/crisotila.

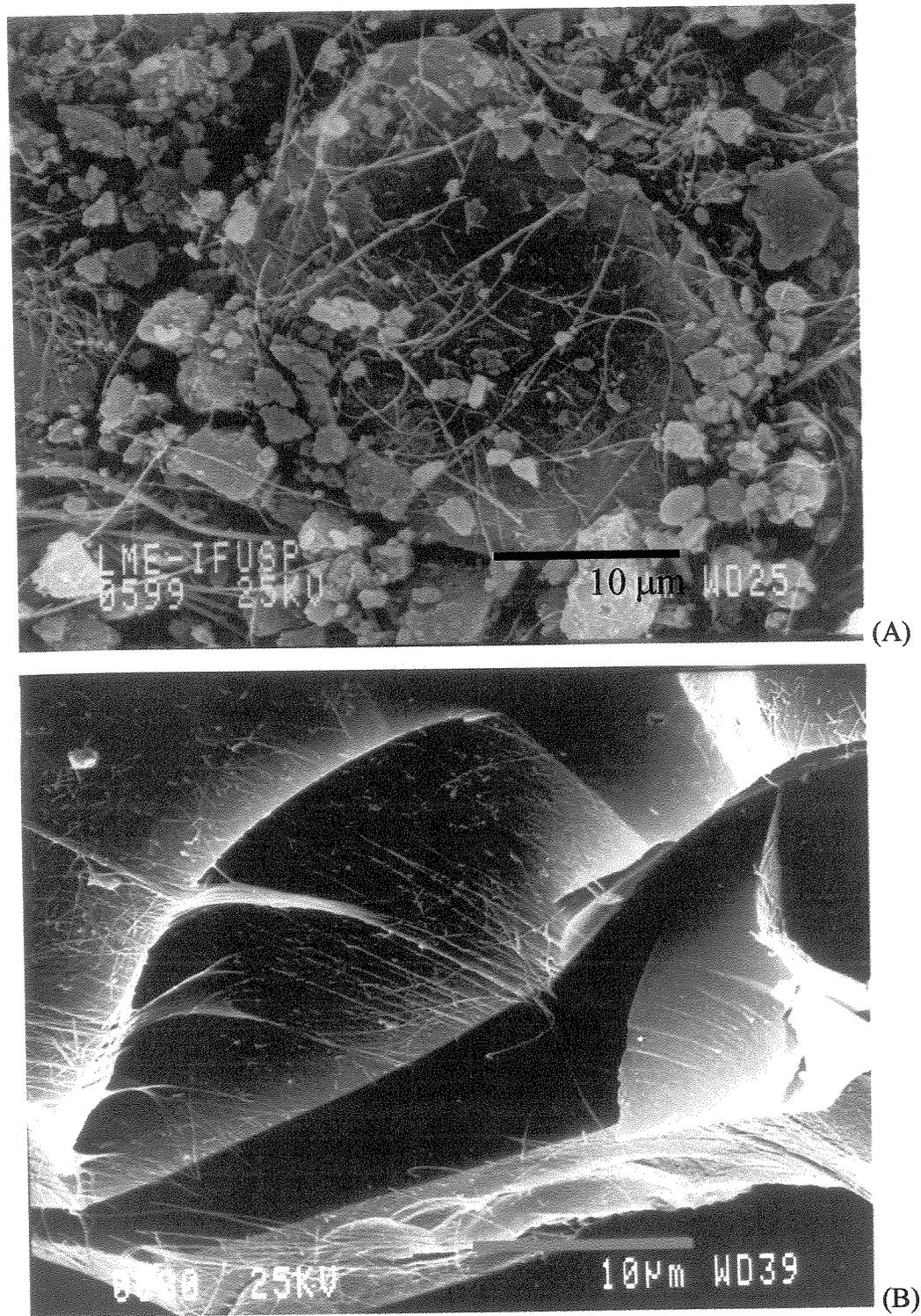


Figura 10: a) Sílica B-glucana/crisotila preparados em água, sem agitação b) Sílica A-glucana/crisotila preparados em meio tamponado com agitação de 200 rpm.

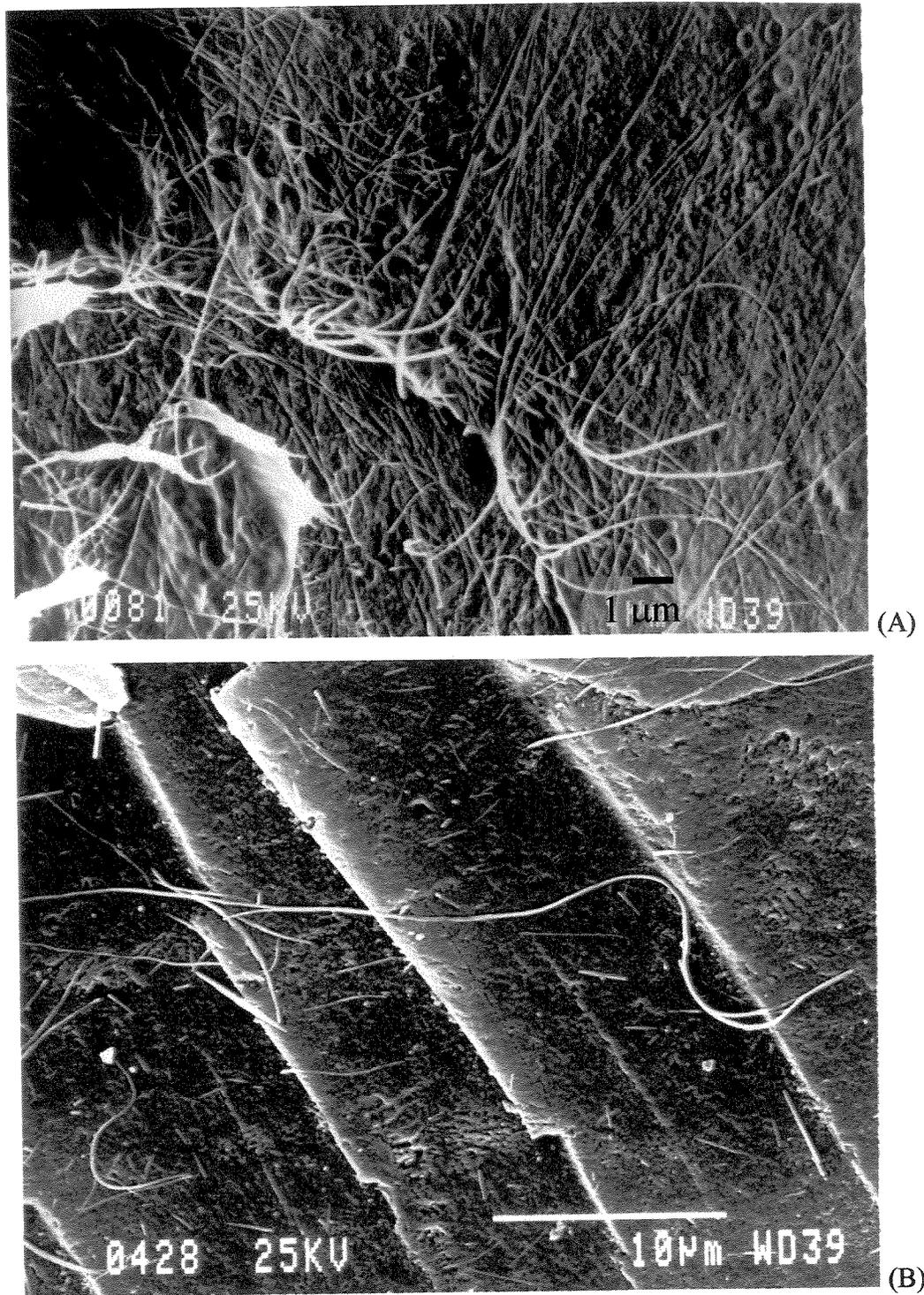


Figura 11: a) Sílica A-glucana/crisotila preparados em meio tamponado com agitação de 200 rpm b) Sílica A/crisotila preparados em água com agitação de 200 rpm.

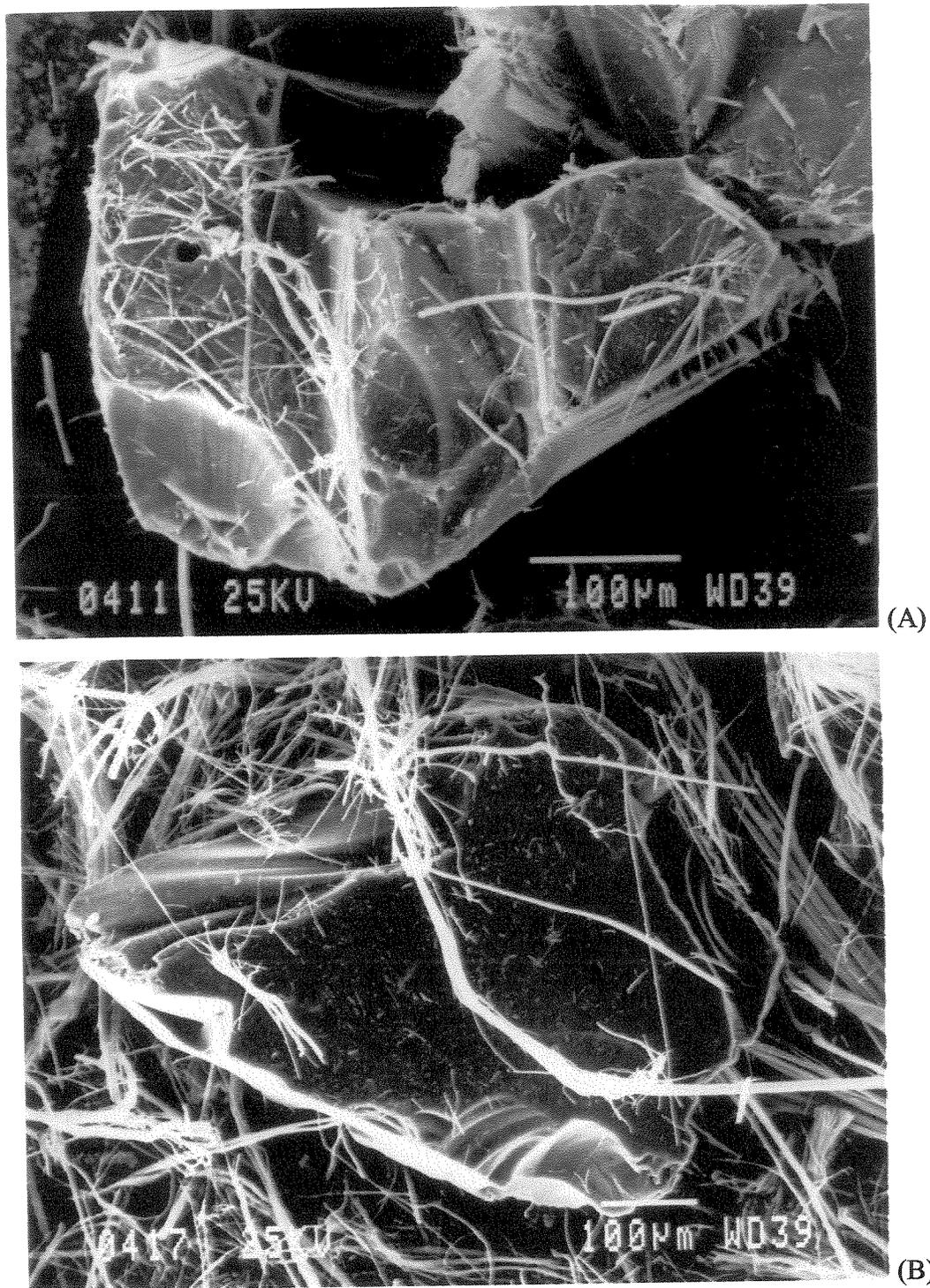


Figura 12: Sistemas preparados em água com agitação de 200 rpm a) Sílica A-glucana/crisotila lixiviada b) Sílica A/crisotila lixiviada.

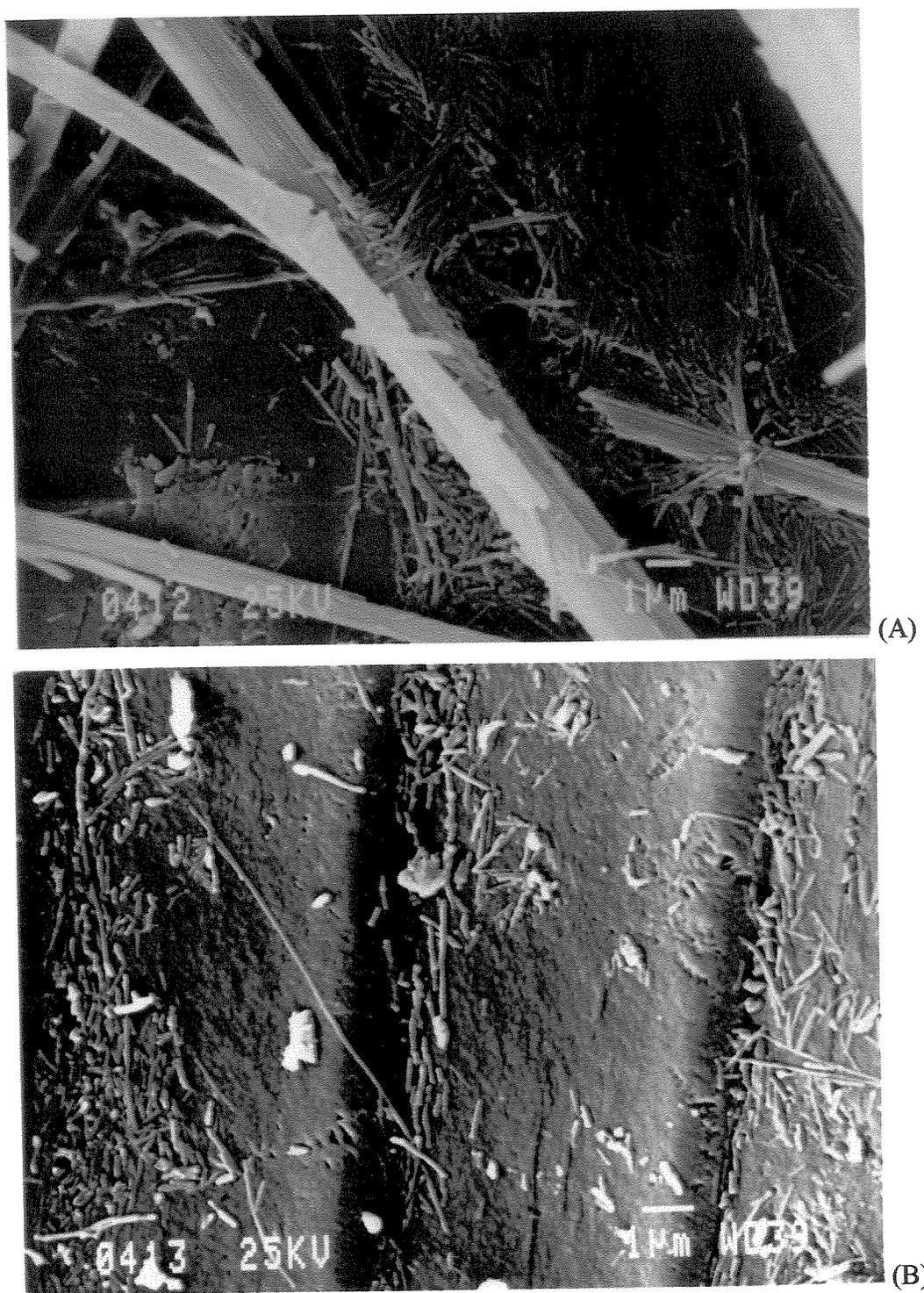


Figura 13: Sistemas preparados em água com agitação de 200 rpm a) Sílica A-glucana/crisotila lixiviada b) Sílica A/crisotila lixiviada.

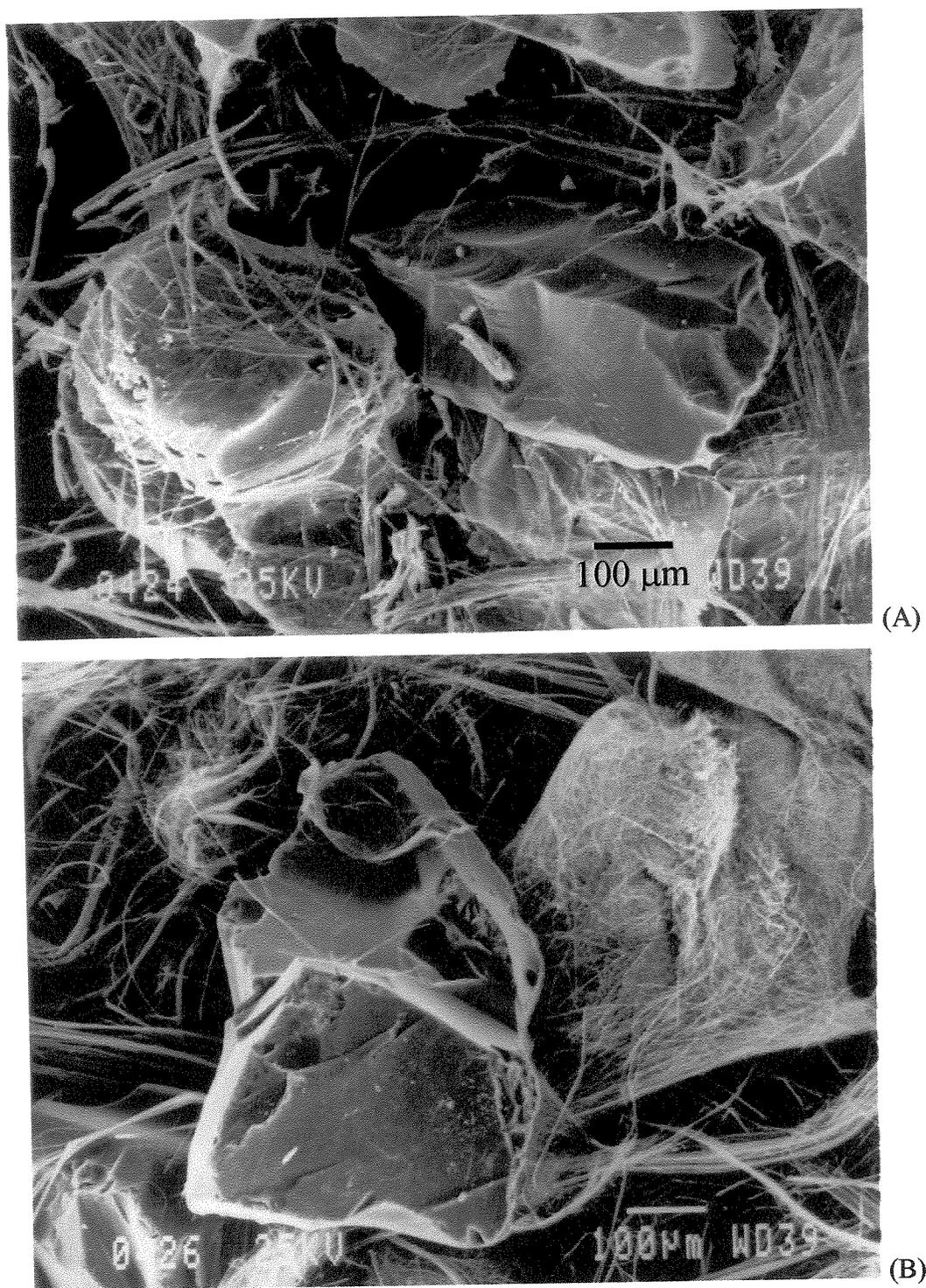


Figura 14: Sistema preparados em água com agitação de 200 rpm a) Sílica A-glucana/crocidolita b) Sílica A/crocidolita.

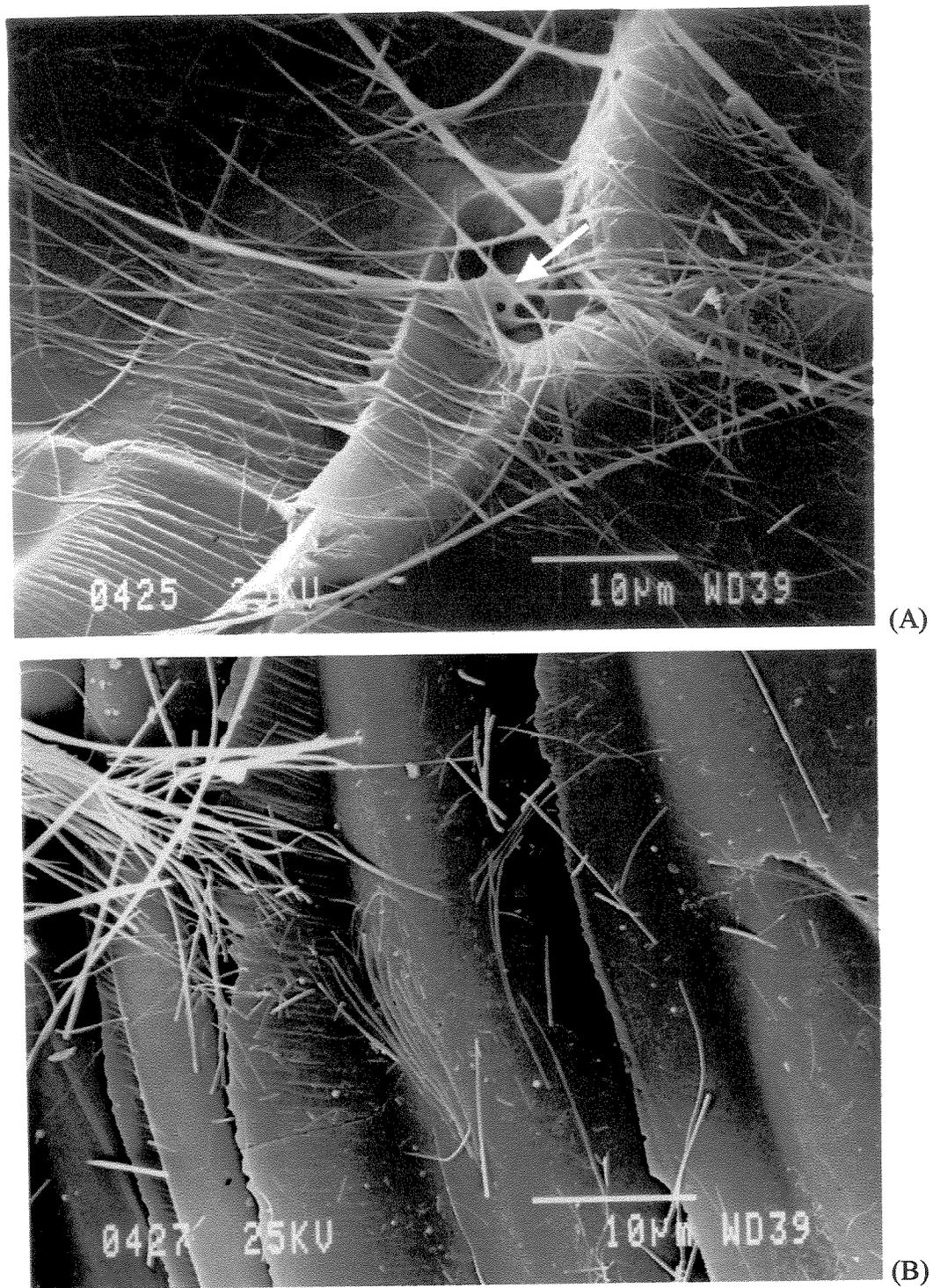


Figura 15: Sistema preparados em água com agitação de 200 rpm a) Sílica A-glucana/crocidolita b) Sílica A/crocidolita.

IV.2 INTERAÇÃO DE CM-GLUCANA COM CRISOTILA

Quando não especificado, a cm-glucana utilizada foi o Glucare S.

IV.2.1 ANÁLISE NO INFRAVERMELHO

O objetivo deste experimento foi verificar a presença de glucana na superfície de crisotila. A Figura 16 mostra os espectros no infravermelho de crisotila, cm-glucana e crisotila pré-tratada com glucana. As TABELA 2 apresenta as atribuições das bandas do espectro de crisotila mostrado na Figura 16, as atribuições das bandas da glucana já foram apresentadas na TABELA 1. Nota-se a presença dos picos em 1600 e em 1420 cm^{-1} no espectro referente a crisotila pré-tratada com glucana, indicando a presença deste material na superfície da crisotila^{56,90}.

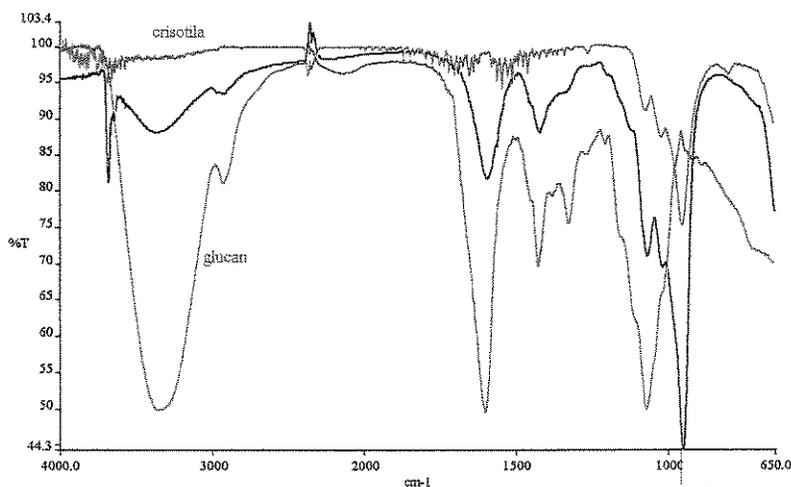
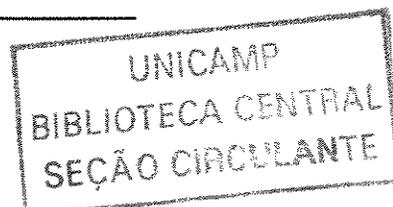


Figura 16: Espectros na região do infravermelho de crisotila (azul), cm-glucana (vermelho) e crisotila/glucana (preto) utilizando o acessório de ATR.

TABELA 2: Frequências e atribuições das bandas do espectro na região do infravermelho de crisotila

Frequências (cm^{-1})	Atribuições ^{56,90}
1070 e 1020	ν (SiO) de Si-O-Si
990/950	ν (SiOH)



IV.2.2 INFLUÊNCIA DA AGITAÇÃO

O objetivo deste experimento foi verificar se havia diferença na massa aderida de cm-glucana em crisotila entre os sistemas que foram agitados a 200rpm e os que não foram agitados. Os resultados são apresentados na TABELA 3. Observa-se que a agitação não interfere neste processo. Todos os experimentos de adesão de cm-glucana em crisotila foram realizados sob agitação.

TABELA 3: Adesão de cm-glucana em crisotila: 300 mg de crisotila. 1 hora, 25°C, 200 rpm (para sistemas com agitação). Duplicatas de experimentos.

Concentração inicial de glucana (mg/L)	Massa aderida em crisotila (g/g)	
	sem agitação	com agitação
50	0,8 ± 0,0	0,8 ± 0,0
100	3,1 ± 0,2	3,0 ± 0,2
200	9,4 ± 2,0	8,3 ± 2,0

IV.2.3 DETERMINAÇÃO DO TEMPO DE CONTATO

Neste experimento determinou-se o tempo necessário para a cm-glucana saturar a superfície de crisotila. A Figura 17 apresenta este resultado. Observa-se que após 5 minutos já é atingido um pseudo-patamar.

IV.2.4 EFEITO DA VARIAÇÃO DA MASSA DE CRISOTILA

Este experimento teve como objetivo constatar a dependência da massa do suporte na adesão⁹³. A Figura 18 apresenta a massa de cm-glucana aderida em diferentes massas de crisotila. Observa-se que não há uma relação de reciprocidade entre o aumento da massa de crisotila e a adesão de cm-glucana. A proporção massa de cm-glucana/ massa de crisotila é praticamente a mesma, independente da massa de crisotila utilizada. Este resultado indica que o equilíbrio foi atingido.

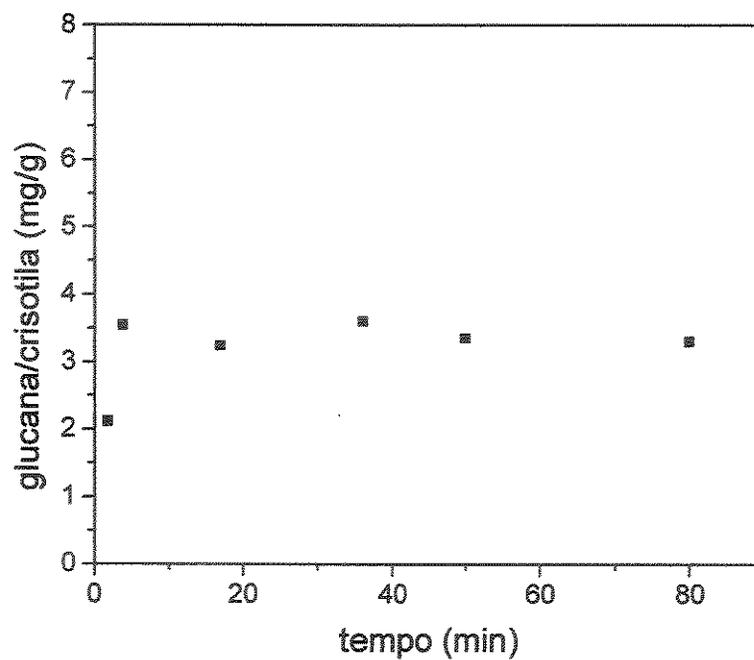


Figura 17: Massa de cm-glucana aderida em crisotila em função do tempo de contato entre os dois materiais. Glucare S (100mg/L), 100mg de crisotila, 25 °C, 200 rpm.

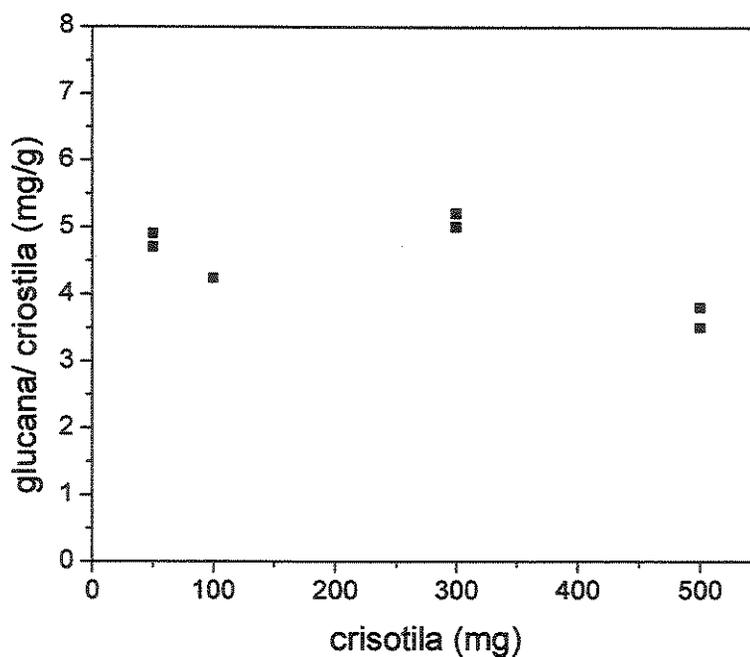


Figura 18: Massa de cm-glucana aderida em 50, 100, 300 e 500 mg de crisotila. Glucare S (100 mg/L). Tempo de contato: 1 hora a 200 rpm. Duplicata de experimentos.

IV.2.5 ISOTERMAS DE ADESÃO E LINEARIZAÇÕES

O objetivo deste experimento foi investigar se ocorreriam alterações na massa aderida de cm-glucana em crisotila quando se alterava a temperatura. A Figura 19 apresenta os resultados obtidos para a adesão de cm-glucana em crisotila nas temperaturas 2 °C, 25°C e 50°C. Observa-se que para os sistemas crisotila/glucana a temperatura não altera de modo significativo a massa de glucana aderida. As isotermas de adesão de cm-glucana em crisotila apresentadas neste trabalho exibem um comportamento de Langmuir.

A Figura 20 e a TABELA 4 apresentam os resultados obtidos das linearizações das isotermas que foram realizadas a partir dos dados de concentração de glucana no equilíbrio sobre a massa de glucana aderida em crisotila em função da concentração de equilíbrio de glucana. Nota-se que não há diferença no valor máximo de massa de glucana aderida em crisotila, Γ_{\max} , quando se varia a temperatura. Observa-se que os valores da constante de equilíbrio e de $\Delta G_{\text{ads}}^{\circ}$ são praticamente os mesmos para as três temperaturas estudadas. Os valores negativos observados para $\Delta G_{\text{ads}}^{\circ}$ indicam um sentido favorável da reação em direção aos produtos.

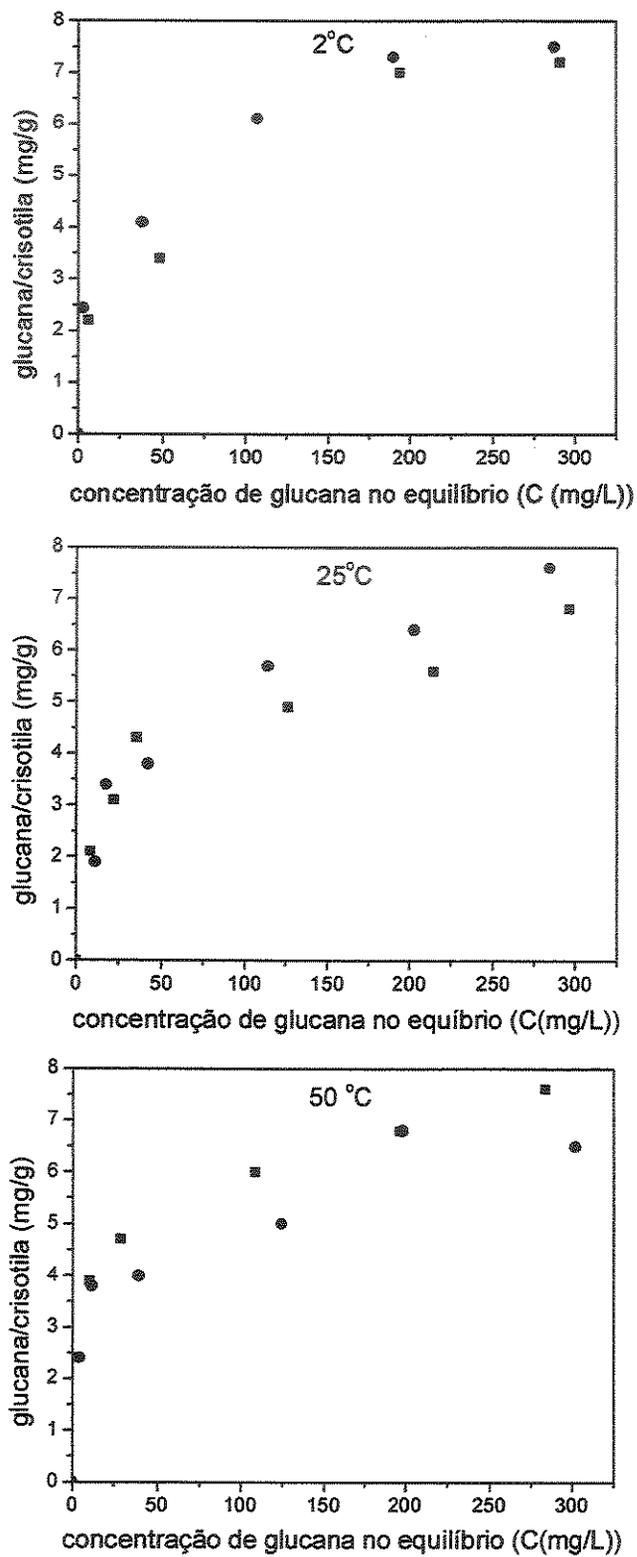


Figura 19: Adesão de cm-glucana em crisotila: 2 °C, 25°C, 50°C. 300 mg de crisotila, 1 hora. Duplicatas de experimentos.

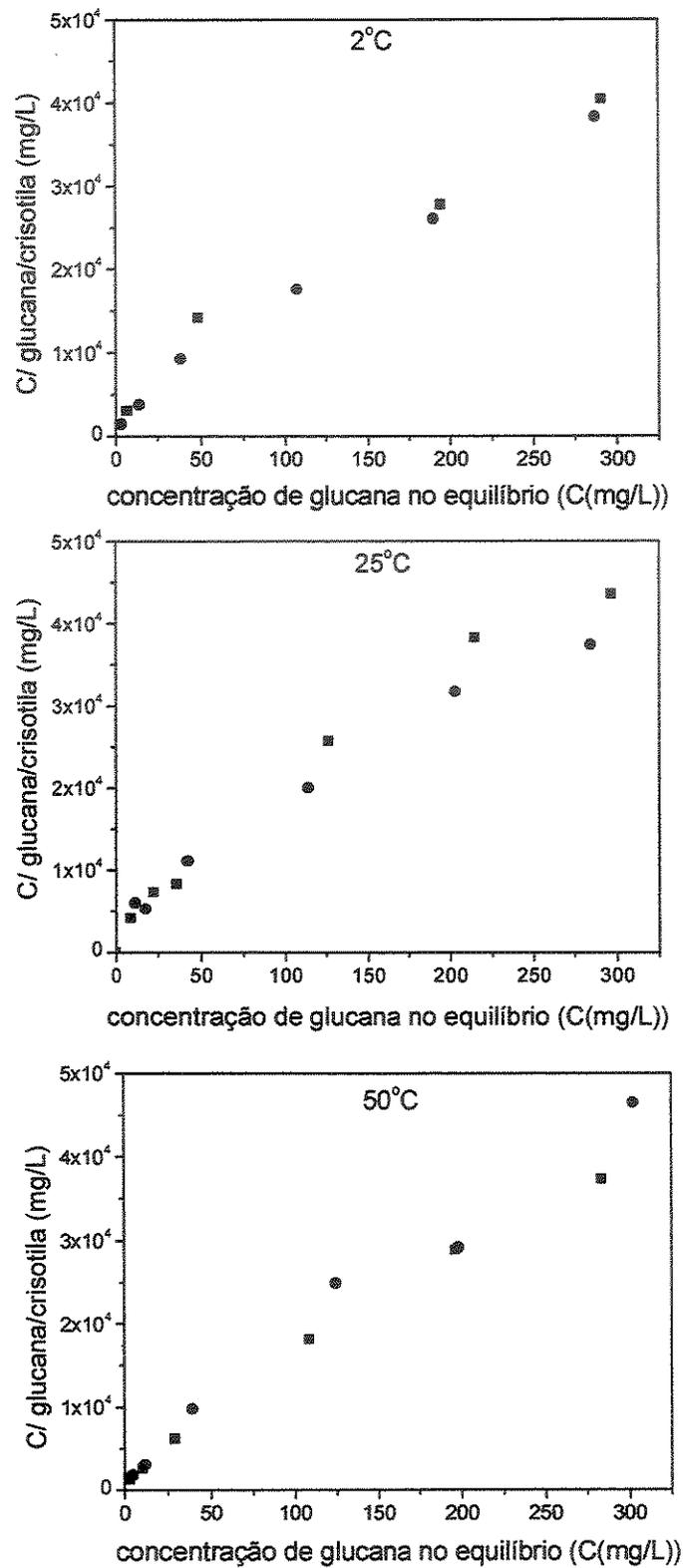


Figura 20: Linearizações das isothermas de adesão de cm-glucana em crisotila nas temperaturas 2 °C, 25°C, 50°C. 300 mg de crisotila, 1 hora. Duplicatas de experimentos.

TABELA 4: Linearizações das isotermas de cm-glucana aderida em crisotila. Dados da Figura 20. Duplicatas de experimentos.

Temperatura (K)	Γ_{\max} (mg/g)	K (mL/mg)	$\Delta G_{\text{ads}}^{\circ}$ (kJ/mol)
275	$7,7 \pm 0,1$	42 ± 18	$-8,5 \pm 3,6$
298	$7,3 \pm 0,8$	35 ± 13	$-8,8 \pm 3,3$
323	$7,1 \pm 0,6$	69 ± 35	$-11,4 \pm 5,6$

A mudança entálpica (ΔH°) e a mudança entrópica (ΔS°) para a adsorção de cm-glucana em crisotila podem ser estimadas em função da dependência da temperatura de $\Delta G_{\text{ads}}^{\circ}$. A partir da relação termodinâmica: $\Delta G_{\text{ads}}^{\circ} = \Delta H^{\circ} - T \Delta S^{\circ}$ pode-se construir um gráfico de ΔG° em função de T, obtendo-se uma reta, onde o valor de ΔH° corresponde ao coeficiente linear da reta e ΔS° ao coeficiente angular, assumindo-se que ambos são independentes da temperatura no intervalo estudado. O resultado é apresentado na Figura 21. Observa-se que os três pontos definem uma reta horizontal, indicando que o coeficiente angular é praticamente zero, o que nos levaria a afirmar que o processo seria governado por ΔH° . Entretanto, os valores de erro são bastante significativos, o que impossibilita inferir conclusões a respeito de ΔH° e ΔS° .

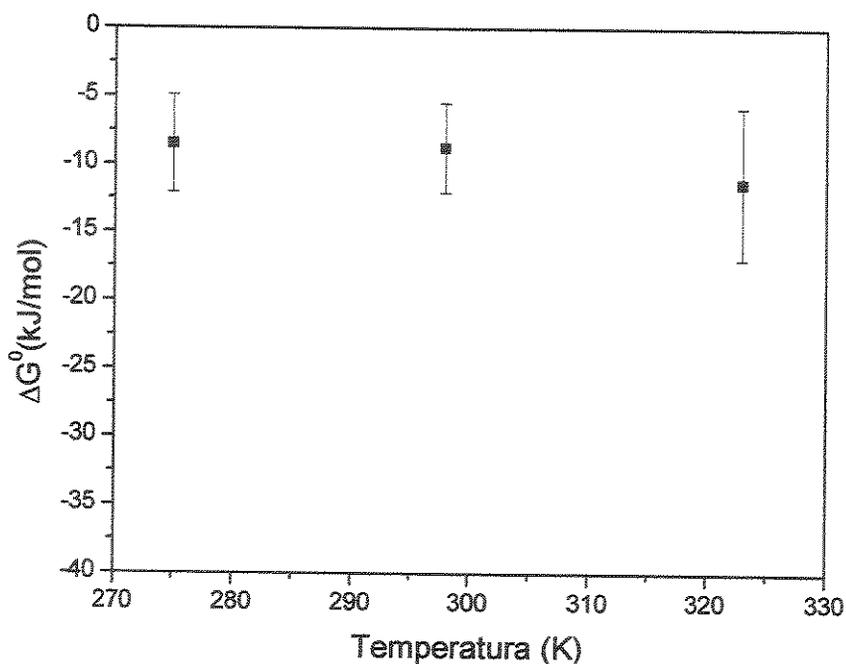


Figura 21: Adesão de cm-glucana em crisotila: variação de energia livre padrão, ΔG°_{ads} , com a temperatura.

IV.3 INTERAÇÃO ENTRE CRISOTILA, ARGILAS E CM-GLUCANA

O objetivo deste experimento foi de utilizar as argilas após tratamento com cm-glucana como modelo de levedura. Verificou-se a adesão destas argilas em crisotila. As argilas utilizadas foram a montmorilonita, o caulim e o agalmatolito. Nestes experimentos foi utilizado o Glucan J. A montmorilonita foi utilizada por ser um material inorgânico com cargas positivas na sua superfície o que permitiu avaliar se este sinal de carga influencia a adesão de glucana, a qual tem cargas negativas, em sólido inorgânico. Havendo maiores sorções de glucana na superfície deste sólido poderiam ser constatadas maiores diferenças na interação entre este sólido e crisotila em relação ao controle. O caulim foi utilizado por ser um silicato de alumínio como a montmorilonita, mas não possui cargas positivas. O agalmatolito foi utilizado por apresentar a mesma composição química do caulim mas com diâmetros de partículas próximos a de uma levedura.

A TABELA 5 apresenta os resultados da massa de argila aderida e da massa dessorvida de crisotila. Vê-se que a massa de argila aderida em crisotila é a mesma entre os sistemas que apresentam as argilas pré-tratadas e seus respectivos controles. No caso da montmorilonita, o resultado é independente da concentração de glucana utilizada para tratar a argila, 200 ou 1000 mg/L. Os ensaios de determinação de glucana no sobrenadante de uma dispersão de montmorilonita e glucana indicaram que a glucana foi sorvida pela argila. Entretanto, este resultado não foi suficiente para alterar a massa aderida de montmorilonita em crisotila em relação ao controle. A massa de montmorilonita dessorvida de crisotila é a mesma para os sistemas montmorilonita-glucana/crisotila e o controle. No entanto, é maior para as amostras nas quais a crisotila foi previamente tratada com glucana em relação aos outros sistemas. Isto ocorre porque agora os dois sólidos possuem o mesmo sinal de carga.

Para o agalmatolito, observa-se que a massa dessorvida de argila pré-tratada com glucana é menor que a do controle, mesmo sendo a massa de glucana presente na superfície desta argila muito pequena, já que praticamente não há diferença na massa aderida entre o agalmatolito-glucana/crisotila e o controle.

Como não foram constatadas diferenças nas interações entre as argilas pré-tratadas com glucana e o controle, não foram realizados outros ensaios com estes materiais.

TABELA 5: Massa de argila aderida em crisotila e massa dessorvida em relação à massa inicialmente aderida. 100mg de argila tratados ou não com cm-glucana (a concentração está descrita na tabela), 500mg de crisotila tratados ou não com solução de glucana 400mg/L (17 mL) em 15 mL água deionizada, 10^{-3} mol/L de KCl, 25°C, 200 rpm, 18 minutos. Dessorção: 18 minutos a 25 KHz.

Sistemas	argila/crisotila (g/g)	% dessorvida
Montmorilonita-glucana(200 mg/L)/crisotila	0,086 ± 0,004 ^a	25 ± 9
Montmorilonita-glucana(1000mg/L)/crisotila	0,088 ± 0,002 ^b	27 ± 0
Montmorilonita/crisotila-glucana	0,078 ± 0,009 ^b	53 ± 5
Montmorilonita/crisotila	0,082 ± 0,010	23 ± 5
Caulim-glucana/crisotila	0,180 ± 0,020 ^b	-
Caulim/crisotila	0,180 ± 0 ^b	-
Agalmatolitos-glucana/crisotila	0,140 ± 0,010 ^c	10 ± 1 ^c
Agalmatolitos/crisotila	0,130 ± 0 ^b	21 ± 2

a-quintuplicatas b-triplicatas c-duplicatas de experimentos

IV.4 INTERAÇÃO DE CM-GLUCANA E SÍLICA

Optou-se em utilizar como modelo de levedura partículas de sílica, as quais apresentavam tamanhos médios próximos aos destas células. Realizou-se este experimento com a finalidade de se determinar a massa de cm-glucana aderida em sílica, utilizando-se o método colorimétrico de Dubois⁹². Para isto, utilizou-se uma pequena concentração de glucana, ainda possível de ser determinada pelo método, e alta concentração de sílica para garantir maior área de contato para a adesão da glucana. A TABELA 6 apresenta os resultados das absorvâncias obtidas para os sistemas contendo soluções de cm-glucana e sílica. Observa-se que com este método não é possível notar diferenças nas absorvâncias entre as soluções de cm-glucana que permaneceram em contato com sílica, 1 hora ou 1 noite, e a solução inicial de glucana. Nestes experimentos utilizou-se somente a sílica B.

TABELA 6: Absorbância a 489 nm para os sistemas sílica-glucana e para a solução de glucana inicial (80mg/L). 500mg de sílica, 10 ml Glucan J (80mg/L), 25°C. Força iônica de 10^{-3} mol/L de KCl. Duplicatas de experimentos.

Sistemas e tempo de contato	Absorbâncias (489nm)
Sílica-glucana (1 hora)	0,19 ±1
Sílica-glucana (1 noite)	0,18 ±1
Solução inicial de glucana	0,19 ±1

IV.4.1 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA DA SÍLICA

O objetivo deste experimento foi verificar possíveis alterações na perda de massa entre a sílica tratada com glucana e o controle, resultantes de transformações químicas ou físicas em função da temperatura. Os termogramas obtidos estão apresentados na Figura 22.

Nota-se que até a região de 150 °C, região indicativa de perda de água, há uma tendência da amostra de sílica controle em perder mais água em relação à sílica pré-tratada com glucana ⁹⁴.

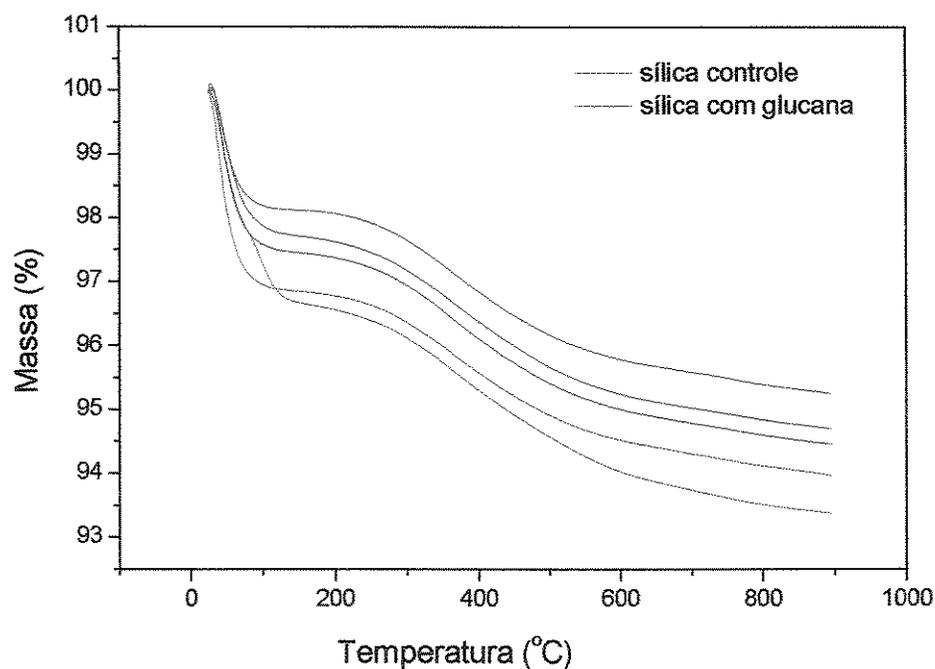


Figura 22: Curvas de TGA de sílica pré-tratada ou não com 200mg/L de glucana por 1,5 horas. Duplicatas de experimentos para sílica controle e triplicatas para sílica-glucana.

IV.5 INTERAÇÃO ENTRE CRISOTILA, SÍLICA E CM-GLUCANA

Nestes experimentos foi somente utilizada a sílica B. Quando não especificado a cm-glucana utilizada foi o Glucan J.

Mesmo não sendo possível quantificar o material aderido (item IV.4), foram realizados ensaios da interação desta sílica, pré-tratada com glucana, com crisotila. Foi possível notar diferenças entre os sistemas contendo sílica-glucana e o controle. Isto pode ser verificado no próximo item (IV.5.1), no qual mediu-se a massa aderida de sílica em crisotila e a massa desorvida deste material quando submetido a sonicação de 25 KHz.

IV.5.1 INFLUÊNCIA DA AGITAÇÃO E VERIFICAÇÃO DA FORÇA DE ADESÃO

A TABELA 7 apresenta os resultados da massa de sílica aderida em crisotila e a massa desorvida de sílica quando os sistemas foram agitados a 200 rpm e quando não foi utilizada a agitação. Nota-se que a massa aderida de sílica-glucana em crisotila é maior em relação ao controle para os sistemas sem agitação e este resultado não é observado para sistemas que foram agitados. Não há diferenças nos resultados da massa desorvida de sílica entre o sistema controle e sistemas contendo sílica-glucana quando estes não foram agitados. Entretanto, para os sistemas que foram agitados nos quais a massa aderida de sílica presente na crisotila é a mesma tanto para o sistema controle ($0,59 \pm 0,01$) como para aqueles contendo sílica pré-tratada com cm-glucana ($0,59 \pm 0,10$), observa-se que a massa desorvida foi ligeiramente maior para o sistema controle em relação ao sistema sílica-glucana/crisotila. Quando estes sistemas foram submetidos ao ultra-som por 4,5 horas a diferença na desorção foi ainda maior: 21 % para o sistema sílica-glucana/crisotila e 42 % para o controle. Provavelmente a agitação faz com que toda a sílica presente na superfície da crisotila fique de fato aderida à crisotila (interações sílica-crisotila), diminuindo as interações sílica-sílica que por ventura possam estar ocorrendo tanto nos sistemas contendo sílica pré-tratada com glucana como no controle. Assim, considerando-se que nos sistemas que foram agitados há somente interações sílica-crisotila, os ensaios de desorção permitem afirmar que a força de adesão entre a sílica-glucana /crisotila é maior do que sílica/crisotila.

TABELA 7: Sílica aderida em crisotila e % de sílica desorvida em relação à massa inicialmente aderida. 350 mg de sílica, tratados ou não com 20 mL cm-glucana (200mg/L) a 10^{-3} mol/L de KCl por 1 hora. Para a adesão: 300 mg de sílica, 300mg de crisotila em 20 mL H₂O, $5 \cdot 10^{-4}$ mol/L de KCl, a 25°C por 15 min. Dessorção de sílica da crisotila: 16 minutos de ultra-som a 25 KHz. Quintuplicata de amostras para os sistemas com agitação e triplicatas para os sistemas sem agitação.

Sistema	sílica/ crisotila (g/g)		%sílica desorvida	
	com agitação	sem agitação	com agitação	sem agitação
Sílica-glucana/crisotila	$0,59 \pm 0,10$	$0,84 \pm 0,03$	9 ± 1	16 ± 3
Sílica/crisotila	$0,59 \pm 0,01$	$0,43 \pm 0,03$	18 ± 3	11 ± 2

IV.5.2 DETERMINAÇÃO DO TEMPO DE CONTATO

O objetivo deste experimento foi verificar qual o tempo necessário para o sistema sílica e crisotila atingir o equilíbrio. Este resultado é apresentado na Figura 23. Nota-se que a adesão destes materiais ocorre quase que instantaneamente.

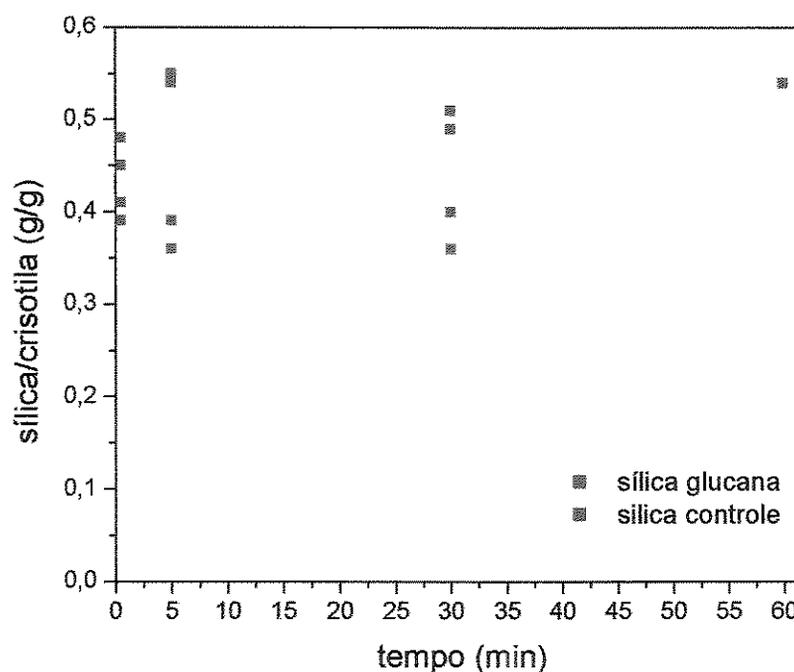


Figura 23: Massa de sílica aderida em crisotila em função do tempo de contato entre os dois materiais. 300 mg de crisotila, 300 mg de sílica tratados ou não com 20 mL glucana (200mg/L) por 1 hora a $1 \cdot 10^{-3}$ mol/L de KCl. Para a adesão: 20 mL H₂O, $5 \cdot 10^{-4}$ mol/L KCl, 15 minutos, 25 °C. Duplicatas de experimentos.

IV.5.3 EFEITO DA VARIAÇÃO DA MASSA DE CRISOTILA

O objetivo deste experimento foi verificar se a massa aderida de sílica em crisotila é influenciada por alterações na massa do suporte (Figura 24). Observa-se que a massa aderida (g/g) é praticamente a mesma para as três massas de crisotila testadas.

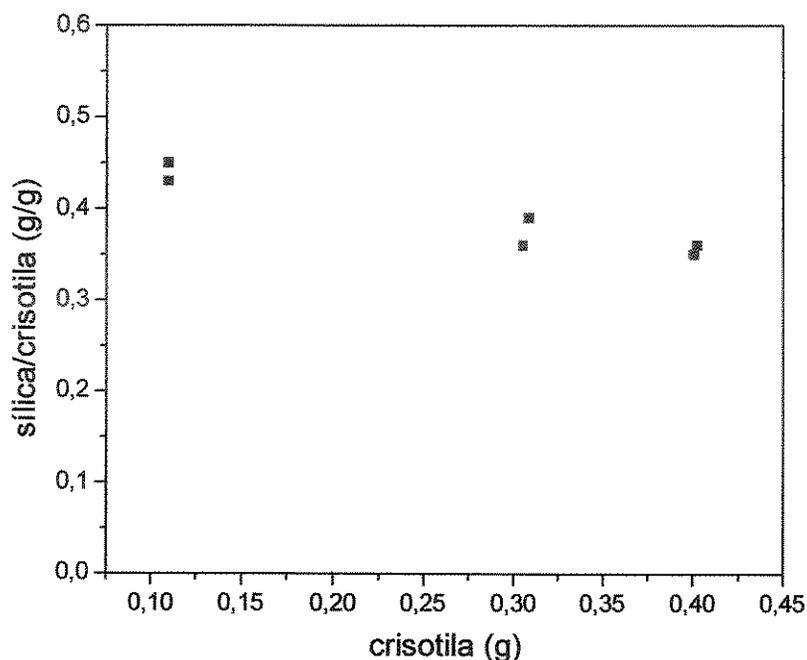


Figura 24: Massa de sílica aderida em 100, 300, 400 mg de crisotila. 300 mg de sílica. Para a adesão: 20 mL H₂O, 5.10⁻⁴ mol/L de KCl, 15 minutos, 25 °C. Duplicatas de experimentos.

IV.5.4 INFLUÊNCIA DA ORDEM DO PRÉ-TRATAMENTO DOS SÓLIDOS

Este ensaio permitiu avaliar possíveis diferenças na massa aderida e desorvida na interação entre sílica, glucana e crisotila quando, ao invés de se pré-tratar a sílica, tratou-se a crisotila. Outro objetivo foi verificar possíveis diferenças na utilização do Glucare S e do Glucan J.

A Figura 25 apresenta os resultados da massa de sílica aderida em crisotila para sistemas nos quais a sílica e a crisotila foram, ou não, pré-tratadas com glucana. Nota-se que os resultados são semelhantes para os sistemas nos quais a crisotila foi pré-tratada com glucana e para o sistema controle. Entretanto, para o sistema sílica-glucana/crisotila, a massa de sílica aderida em crisotila foi maior do que nos outros dois sistemas.

TABELA 8: Massa de sílica aderida em crisotila e % de sílica desorvida em relação à massa inicialmente aderida. 300 mg de crisotila ou 300 mg de sílica foram previamente tratados ou não com 20 mL glucana (200mg/L ou 500mg/L) por 1 hora 10^{-3} mol/L. Para a adesão: 350 mg de sílica, 300mg de crisotila em 20 mL H₂O, 5.10^{-4} mol/L de KCl, 25°C por 15 min. Dessorção de sílica da crisotila: 16 minutos a 25 KHz. Quintuplicata de amostras para os sistemas sílica-glucana/crisotila e para o controle e triplicata para os sistemas sílica/crisotila-glucana.

Sistemas	g sílica/g crisotila	% sílica desorvida
Sílica-Glucare S/ Crisotila	$0,81 \pm 0,04$	11 ± 2
Sílica-Glucan J/ Crisotila	$0,84 \pm 0,03$	16 ± 3
Sílica/ Crisotila-Glucan J (200mg/L)	$0,65 \pm 0,05$	38 ± 5
Sílica/Crisotila-Glucan J (500mg/L)	$0,56 \pm 0,05$	37 ± 6
Sílica/ Crisotila (controle)	$0,43 \pm 0,03$	11 ± 2

IV.5.5 EFEITO DA TEMPERATURA

A Figura 26 apresenta os resultados da massa de sílica aderida em crisotila em três temperaturas diferentes. Verifica-se que a alteração na temperatura não provoca modificações na massa aderida de sílica em crisotila para os sistemas controle e sílica-glucana/crisotila.

IV.5.6 INFLUÊNCIA DA FORÇA IÔNICA

O objetivo deste experimento foi verificar se a força iônica teria algum efeito na adesão de sílica em crisotila.

A Figura 27 apresenta os resultados de sílica aderida em crisotila quando se variou a força iônica do meio no qual ocorreu a adesão. Nota-se que tanto para os sistemas nos quais a sílica foi pré-tratada com glucana como para o sistema controle não há variação na massa aderida com alterações na força iônica.

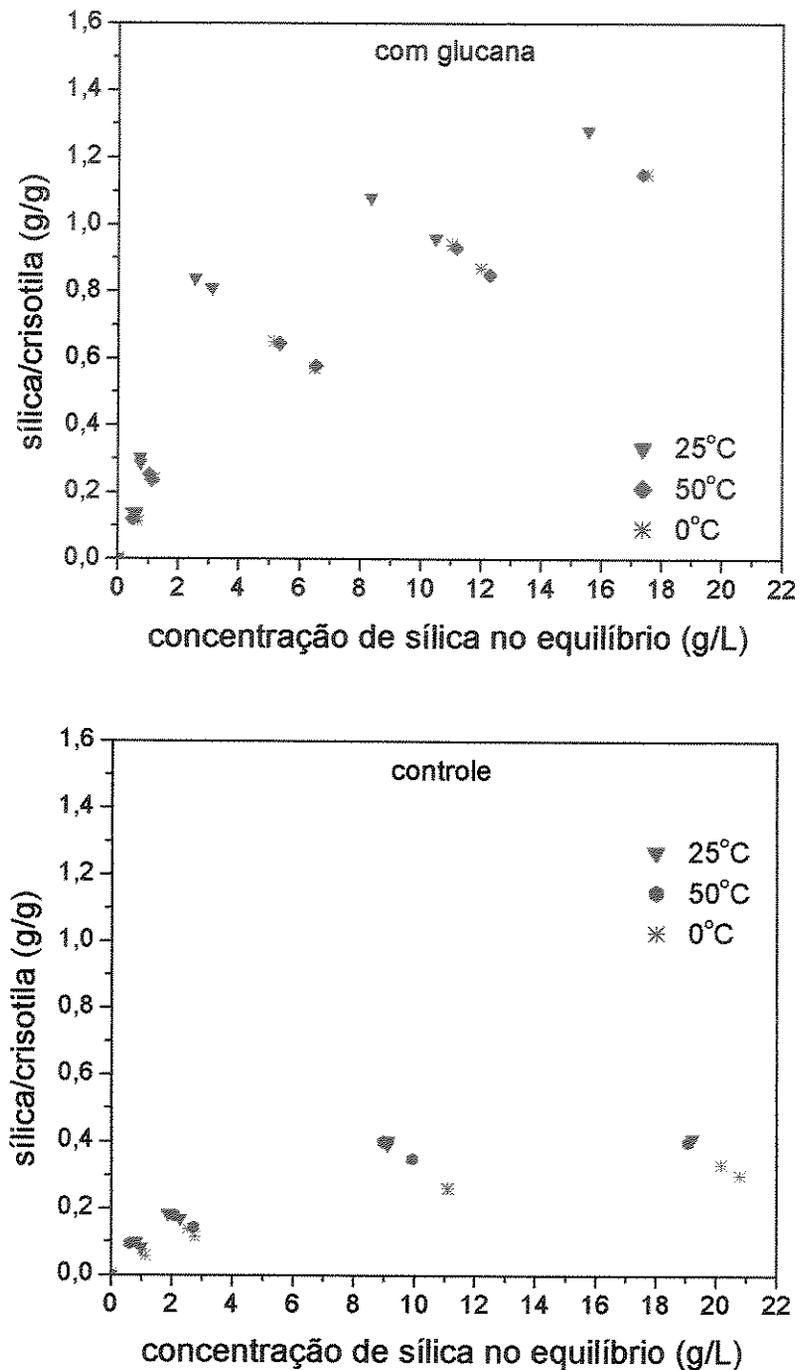


Figura 26: Isothermas de sílica/crisotila: 300 mg de crisotila, (50-700 mg) de sílica tratados ou não com 20 mL glucana (200mg/L) por 1 hora a 1.10^{-3} mol/L. Para a adesão: 20 mL H₂O, 5.10^{-4} mol/L KCl, 15 minutos, 0 °C, 25 °C e 50°C. Duplicatas de experimentos. Todos os pontos experimentais obtidos estão apresentados nesta figura.

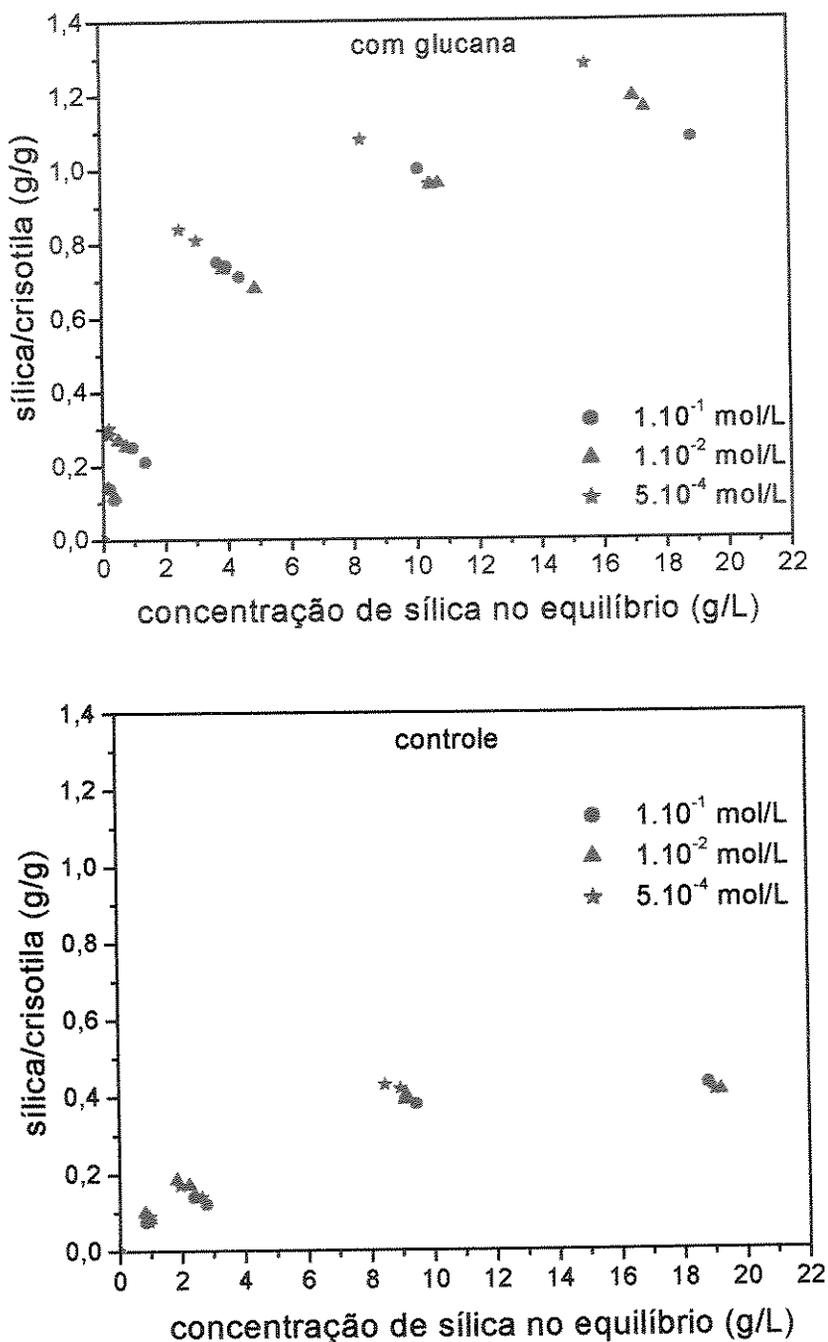


Figura 27: Isotermas de sílica/crisotila na temperatura de 25°C. 300 mg de crisotila, (50-700 mg) de sílica tratados ou não com 20 mL glucana (200mg/L) por 1 hora a 1.10^{-3} mol/L de KCl. Para a adesão: 20 mL H₂O, 5.10^{-4} , 10^{-2} e 10^{-3} mol/L de KCl, 15 minutos. Duplicatas de experimentos. Todos os pontos experimentais obtidos estão apresentados nesta figura.

IV.5.7 LINEARIZAÇÕES DAS ISOTERMAS

As linearizações das isotermas de sílica/crisotila estão apresentadas na Figura 28 e Figura 29. As linearizações foram realizadas a partir dos dados de concentração de sílica no equilíbrio sobre a massa de sílica aderida em crisotila em função desta mesma concentração. As Tabelas 9-12 apresentam os resultados obtidos para as linearizações das isotermas de sílica/crisotila. Nota-se que com a variação na força iônica e da temperatura, não há diferenças nas massas máximas aderidas, Γ_{\max} , tanto entre os sistemas controle como entre os sistemas contendo sílica pré-tratada com glucana. Os valores da constante aparente de adsorção K e de $\Delta G_{\text{ads}}^{\circ}$ estão muito dispersos. A Figura 30 apresenta os resultados dos valores de $\Delta G_{\text{ads}}^{\circ}$ em função da temperatura. Nota-se que todos os valores são pequenos e positivos. Para os sistemas controle o coeficiente angular é praticamente zero e para os sistemas contendo glucana há uma ligeira diminuição no valor de $\Delta G_{\text{ads}}^{\circ}$ na temperatura de 298 K. Entretanto, os valores a 273 e 323 K são praticamente os mesmos. Como observado nos sistemas crisotila/glucana, os valores dos erros são significativos impossibilitando de se inferir algo sobre os valores de ΔH° e ΔS° .

TABELA 9: Linearizações das isotermas de sílica aderida em crisotila. Dados da Figura 26 para os sistemas contendo sílica pré-tratada com cm-glucana. Duplicatas de experimentos.

Temperatura (K)	Γ_{\max} (g/g)	K (mL/mg)	$\Delta G_{\text{ads}}^{\circ}$ (kJ/mol)
275	$1,4 \pm 0,2$	$0,18 \pm 0,07$	$3,9 \pm 0,7$
298	$1,3 \pm 0,1$	$0,50 \pm 0,20$	$1,7 \pm 0,9$
323	$1,3 \pm 0,2$	$0,23 \pm 0,10$	$3,9 \pm 1,2$

TABELA 10: Linearizações das isotermas de sílica aderida em crisotila para o sistema controle. Dados da Figura 26. Duplicatas de experimentos.

Temperatura (K)	Γ_{\max} (g/g)	K (mL/mg)	$\Delta G_{\text{ads}}^{\circ}$ (kJ/mol)
275	$0,4 \pm 0,0$	$0,24 \pm 0,08$	$3,2 \pm 0,6$
298	$0,5 \pm 0,0$	$0,35 \pm 0,13$	$2,6 \pm 0,8$
323	$0,5 \pm 0,1$	$0,38 \pm 0,19$	$2,6 \pm 1,0$

TABELA 11: Linearizações das isotermas de sílica aderida em crisotila com variação na força iônica. Dados da Figura 27 para os sistemas contendo sílica pré-tratada com cm-glucana. Duplicatas de experimentos.

Força Iônica [KCl]mol/L	Γ_{\max} (g/g)	K (mL/mg)	$\Delta G_{\text{ads}}^{\circ}$ (kJ/mol)
$1 \cdot 10^{-1}$	$1,3 \pm 0,1$	$0,30 \pm 0,10$	$2,9 \pm 0,7$
$1 \cdot 10^{-2}$	$1,3 \pm 0,1$	$0,37 \pm 0,11$	$2,5 \pm 0,6$
$5 \cdot 10^{-4}$	$1,3 \pm 0,1$	$0,50 \pm 0,25$	$1,7 \pm 0,9$

TABELA 12: Linearizações das isotermas de sílica aderida em crisotila com variação na força iônica para os sistemas controle. Dados da Figura 27. Duplicatas de experimentos.

Força Iônica [KCl]mol/L	Γ_{\max} (g/g)	K (mL/mg)	$\Delta G_{\text{ads}}^{\circ}$ (kJ/mol)
$1 \cdot 10^{-1}$	$0,5 \pm 0,1$	$0,19 \pm 0,10$	$4,1 \pm 1,0$
$1 \cdot 10^{-2}$	$0,5 \pm 0,1$	$0,27 \pm 0,12$	$3,2 \pm 0,9$
$5 \cdot 10^{-4}$	$0,5 \pm 0,0$	$0,35 \pm 0,13$	$2,6 \pm 0,8$

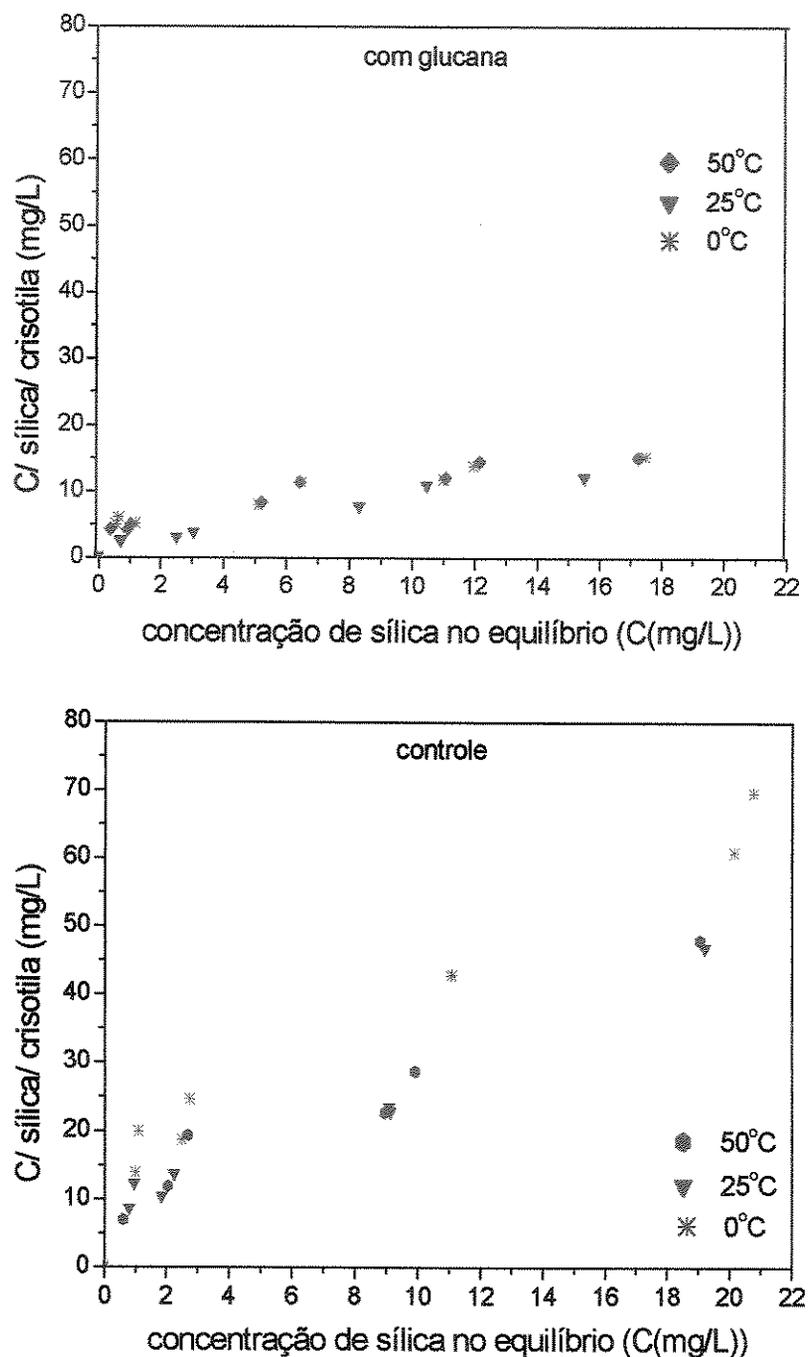


Figura 28: Linearizações das isothermas obtidas a partir 300 mg de crisotila, (50-700 mg) de sílica tratados ou não com 20 mL glucana (200mg/L) por 1 hora a 1.10^{-3} mol/L. Para a adesão: 20 mL H_2O , 5.10^{-4} mol/L KCl, 15 minutos, 0 °C, 25 °C e 50°C. Duplicatas de experimentos. Todos os pontos experimentais obtidos estão apresentados nesta figura.

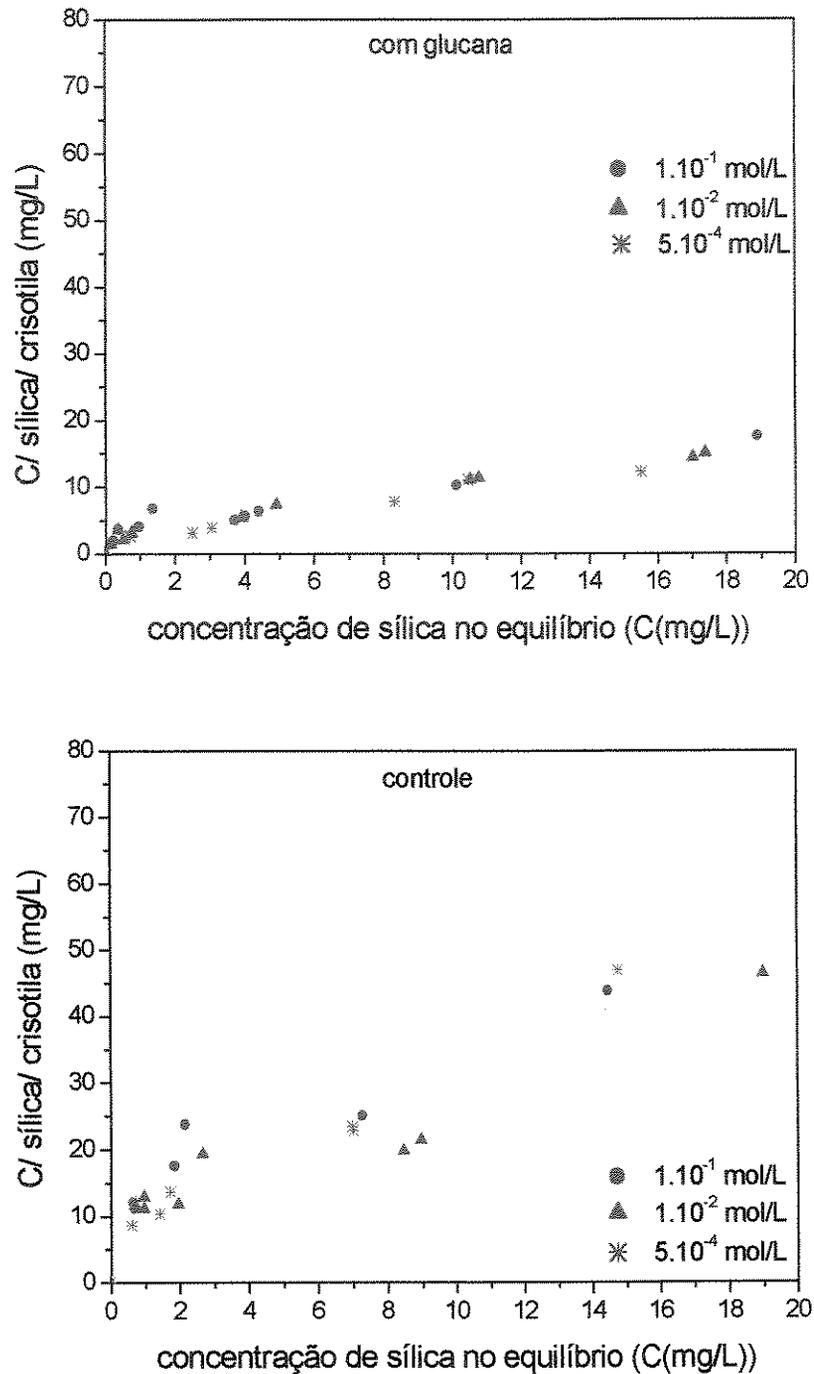


Figura 29: Linearizações das isothermas de sílica/cristotila na temperatura de 25°C. 300 mg de cristotila, (50-700 mg) de sílica tratados ou não com 20 mL glucana (200mg/L) por 1 hora a 1.10^{-3} mol/L. Para a adesão: 20 mL H₂O, 5.10^{-4} , 10^{-2} e 10^{-3} mol/L de KCl, 15 minutos. Duplicatas de experimentos. Todos os pontos experimentais obtidos estão apresentados nesta figura.

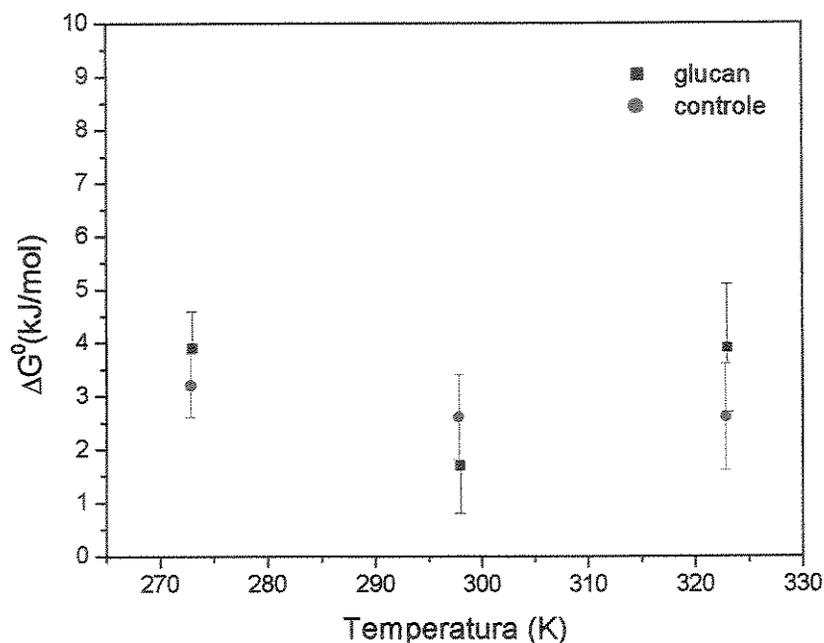


Figura 30: Variação na energia livre padrão de adsorção, $\Delta G^{\circ}_{\text{ads}}$, com a temperatura para os sistemas sílica-glucana/crisotila e controle.

IV.6 MEDIDAS DE ÂNGULOS DE CONTATO

O objetivo deste experimento foi medir os ângulos de contato formados entre dois líquidos com polaridades diferentes e a superfície de glucana ou de crisotila. A TABELA 13 apresenta os resultados. Vê-se que, como esperado, a glucana é mais hidrofóbica do que a crisotila.

TABELA 13: Medidas de ângulos de contato entre glicerina ou etilenoglicol ou silicone e glucana ou crisotila.

Materiais	θ° glicerina	θ° etilenoglicol	θ° silicone
glucana	90 ± 1	-	56 ± 1
crisotila	-	44 ± 4	67 ± 7

V DISCUSSÃO

Os objetivos deste trabalho foram verificar se as glucanas da parede celular de leveduras influenciavam positiva ou negativamente na interação com crisotila, e qual o processo envolvido nesta interação. Para isto, usamos cm-glucana e estudamos os sistemas: glucana/crisotila, glucana/sílica, sílica/crisotila sílica-glucana/crisotila, sílica/crisotila-glucana e argilas (montmorilonita, caulim ou agalmatolitos)-glucana/crisotila.

Simulamos a parede celular da levedura aderindo-se o polissacarídeo em partículas de sílica com diâmetros semelhantes ao da levedura. Verificamos que a quantidade aderida desta sílica tratada com glucana em crisotila foi três vezes maior do que sílica sem tratamento. Verificamos também que a força de adesão entre os materiais testados e crisotila, na presença de glucana, é maior do que para os sistemas sem glucana, tanto para a sílica como para os galmatolitos. Nesta discussão, serão enfocados majoritariamente os fenômenos envolvidos na interação de sílica, glucana e crisotila.

Simulação da parede celular de Saccharomyces sp. em sílica

A simulação da parede celular de levedura em material inorgânico permitiria:

1- Compreender qual a influência de um polissacarídeo específico, a glucana, no processo de adesão da levedura em crisotila, sem a interferência de outros componentes da parede celular tais como outros polissacarídeos, proteínas ou lipoproteínas, que podem mascarar o efeito da glucana neste processo de adesão.

2- Compreender quais as forças dominantes nesta interação. Cassiola⁵⁴, em sua tese de doutorado, afirma que o enovelamento de fibrilas de crisotila nas células de *Saccharomyces* sp é ocasionado primeiramente por uma interação eletrostática entre os dois materiais e a seguir, como a fibra de crisotila é flexível, ocorre o encurvamento da fibrila devido às interações de van der Waals. As principais forças atrativas entre partículas sólidas são devidas à estas interações⁷¹. As forças de van der Waals dependem das propriedades físicas e químicas e da geometria dos corpos. Para a interação levedura/crisotila pode ser considerada a geometria esfera-placa na determinação do valor de energia atrativa (V_a) que é determinada através da equação $V_a = -AR/6H$, onde A é a constante de Hamaker, H é a distância de separação entre os corpos e R é o raio da partícula esférica. Desta forma, com a

utilização de sílica com diâmetros de partículas semelhantes aos da levedura poderíamos manter a mesma geometria (esfera-placa) e tamanho das células de *Saccharomyces* sp. a fim de verificar se as interações de van der Waals seriam as responsáveis pelo envelhecimento das fibrilas sobre as partículas.

Vários artigos em literatura descrevem as interações entre microorganismos com superfícies sólidas em termos da aproximação coloidal DLVO¹²⁻¹⁹. Os microorganismos que apresentam diâmetros maiores do que 1 µm também são considerados como partículas coloidais. Geralmente são desprezadas as interações provenientes do movimento browniano dos microorganismos em solução .

Norde e Lyklema¹² estudaram a adesão de bactérias e proteínas sobre superfícies sólidas em termos da aproximação coloidal. Os microorganismos são considerados como partículas que têm uma superfície rígida. Segundo os autores, como as bactérias são organismos vivos, a adesão envolve interações biológicas específicas; entretanto, é possível descrever os passos iniciais da adesão pela teoria da estabilidade coloidal. Em um primeiro passo, a adesão ocorre em um mínimo primário de separação em 5-10 nm entre a superfície e a bactéria. Em um segundo passo, os autores afirmam que as células podem adaptar seu metabolismo liberando substâncias extracelulares que levam a uma adsorção específica e irreversível.

Os resultados apresentados em trabalho de pesquisa anterior² e no trabalho de Wendhausen⁴ mostraram que a massa de *Saccharomyces* sp aderida em crisotila é de aproximadamente 0,5 g por grama de crisotila. Este valor é praticamente o mesmo que o observado para a adesão de sílica em crisotila. Com base nestes resultados e nas afirmações de diversos autores sobre a adesão de microorganismos em suportes sólidos, afirmamos que é possível considerar a adesão de glucana em sílica um modelo aproximado para se estudar a influência da glucana no processo de adesão de *Saccharomyces* sp. em crisotila.

A razão do aumento da massa aderida de sílica em crisotila quando a sílica é pré-tratada com glucana.

Uma forma de descrever a adesão de macromoléculas em superfícies sólidas é

através das interações poliméricas e conformações que estes polímeros adotam na superfície^{63,65,95}.

Segundo Somasundaran⁶⁴, polímeros podem existir em diferentes conformações tanto em solução como no estado adsorvido. A adesão de materiais poliméricos sobre superfícies sólidas pode ser bastante diferente da de pequenas moléculas, e é influenciada por grupos multifuncionais. Na interface sólido-líquido, macromoléculas usualmente preferem a conformação que permite máximo contato superfície-segmento. A conformação interfacial consiste de seqüências de segmentos estendidos sobre a superfície alternando com seqüências tridimensionais não aderidas (alças), livres ao redor da superfície, e com cadeias terminais (caudas). Geralmente a adesão causa redução na entropia do polímero ($\Delta S < 0$) pois há um ordenamento no sistema. Portanto, para que a adesão ocorra, a variação de entalpia na interação segmento-superfície deve ser negativa ($\Delta H < 0$)⁶⁴.

As interações poliméricas foram investigadas por Jucker e colaboradores⁹⁶ no processo de adsorção de polissacarídeos da superfície de bactérias e de dextranas em TiO_2 , Al_2O_3 e SiO_2 . Segundo estes autores, 1 mg/m^2 de polissacarídeos da parede externa das bactérias seriam suficientes para recobrir as superfícies dos óxidos. Os valores de Γ_{max} sobre TiO_2 (de $2,1 \pm 0,1$ a $3,2 \pm 0,2 \text{ mg/m}^2$) correspondem a uma cobertura equivalente a duas ou três monocamadas. Como não se observa mais de um patamar nas isotermas de adsorção, os autores concluem que se trata da formação de alças sobre a superfície dos óxidos.

A influência da conformação de polímeros no processo de adsorção também foi investigada por Jenkins e Ralston⁹⁷ que estudaram a interação de polissacarídeos, goma-guar, e talco. O talco tem uma composição química muito semelhante à de crisotila, contendo uma face hidrofílica de $-\text{SiOH}$ e $-\text{MgOH}$ e uma face hidrofóbica composta de grupos siloxanos. Segundo os autores, o cálculo da área superficial efetiva ocupada por cadeia de polímero na superfície, σ^0 , obtida a partir de dados da massa molar do polímero e da quantidade aderida em função da área adsorvida, permite determinar a conformação que o polímero adota na superfície. Assim, σ^0 deve ser muito maior se o polímero adsorve na forma estendida (uma conformação na qual a maior parte do polímero está em contato com a superfície) do que se

o polímero adsorvesse em uma conformação com várias alças e caudas. Os autores calcularam o valor de σ° a partir de dados experimentais, $\sigma^{\circ}_{\text{exp t}}$. A porcentagem de segmentos do polímero na forma estendida foi calculada através da comparação de $\sigma^{\circ}_{\text{exp t}}$ com os valores obtidos por modelagem molecular, $\sigma^{\circ}_{\text{mm}}$. Constataram que se os polissacarídeos adsorvessem em toda a superfície do talco, tanto na face hidrofílica como na hidrofóbica, pelo menos 75% dos segmentos do guar estariam adsorvidos na forma “train”. Isto indica que o guar adota a conformação estendida sobre o talco (com a maioria das cadeias deste polímero totalmente aderida sob a superfície). A partir dos cálculos da densidade da camada adsorvida, e de acordo com os valores de $\Delta G^{\circ}_{\text{ads}}$, concluíram que as cadeias de manana da goma-guar são as que adsorvem sobre a superfície do talco, ficando as cadeias de galactose pendentes (alças).

Neste trabalho, a glucana pode aderir na superfície da sílica não somente na conformação estendida, mas também através da formação de alças e caudas como observado por Jucker e colaboradores⁹⁶. Estas duas últimas conformações do polímero podem permitir que as fibrilas de crisotila fiquem presas no polissacarídeo aderido na sílica, explicando a maior quantidade aderida de sílica na crisotila e a maior força de adesão neste sistema em relação ao controle.

Entretanto, quando pré-tratamos a crisotila com glucana, constatamos que a quantidade aderida de sílica nesta crisotila e a força de adesão são praticamente as mesmas que no controle. A adesão de glucana é mais favorável em crisotila do que em sílica e isto pode ser confirmado pelas medidas de massa aderida do glucana no suporte: em crisotila é de aproximadamente 7mg/g e em sílica fica abaixo do limite de detecção do método. Neste caso, o polissacarídeo pode aderir na superfície da crisotila na forma estendida, diminuindo a presença de alças e de caudas, impedindo que a sílica fique presa nestes segmentos do polissacarídeo. Esta forma de adesão do polissacarídeo em crisotila está de acordo com os resultados obtidos por Jenkins e Ralston⁹⁷ para a adsorção do polissacarídeo em talco, que apresenta composição química semelhante a da crisotila. O esquema das interações sílica/crisotila propostos estão descritos na Figura 31.

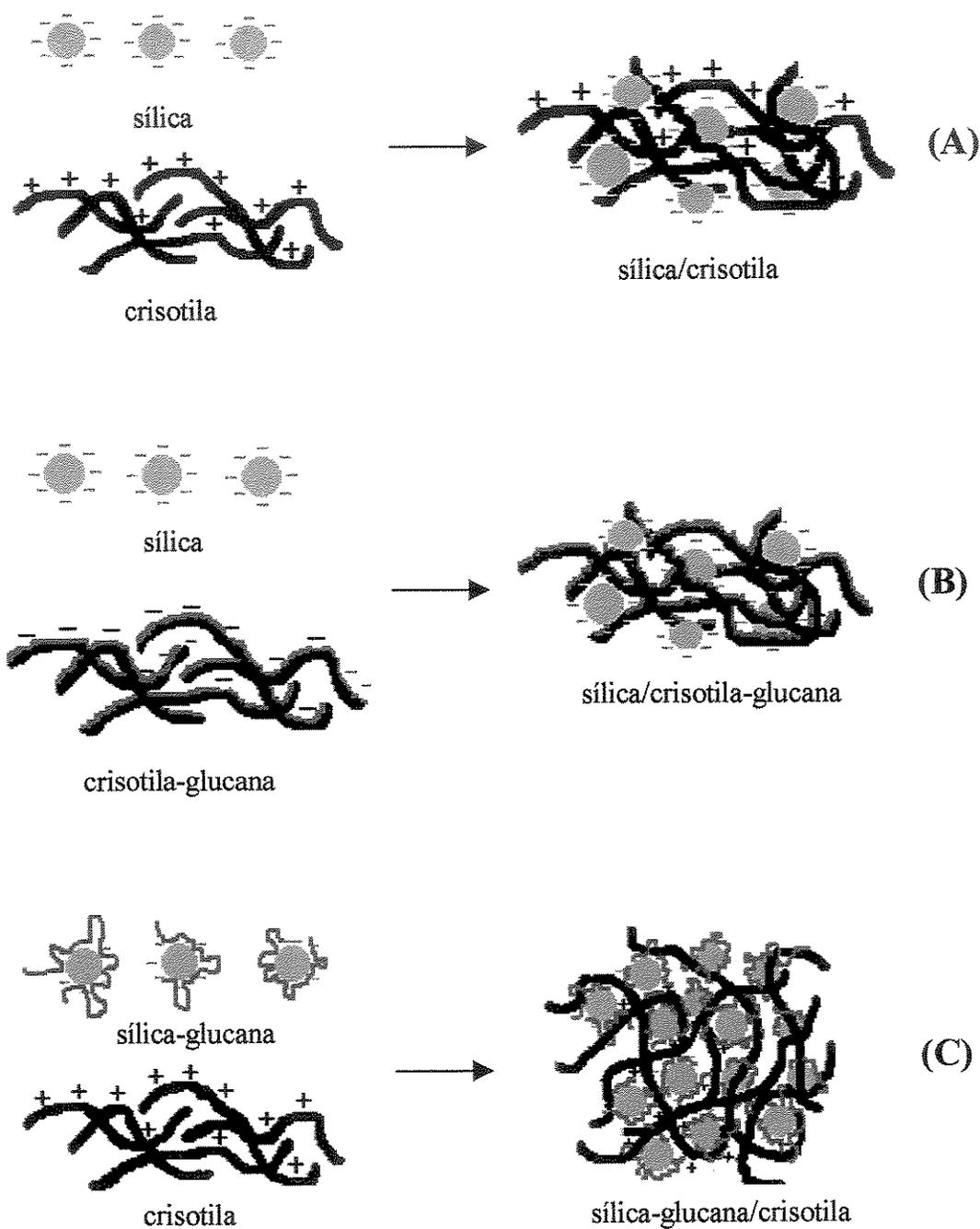


Figura 31: a) adesão de sílica em crisotila b) adesão de sílica em crisotila pré-tratada com glucana c) adesão de sílica pré-tratada com glucana em crisotila.

Considerações energéticas

A interação de macromoléculas, incluindo os microorganismos, com superfícies sólidas pode ser explicada obtendo-se valores para parâmetros termodinâmicos, incluindo as variações de energia livre padrão, entalpia padrão e entropia padrão de adsorção.

A energia total de interação pode ser obtida através das isotermas de Langmuir, calculando-se os valores de K , que é a constante de equilíbrio de adsorção de Langmuir e Γ_{\max} que é o valor máximo de massa de adsorbato aderido no sólido. O valor de $\Delta G_{\text{ads}}^{\circ}$ pode ser obtido através da equação 5 ($\Delta G_{\text{ads}}^{\circ} = -RT \ln K$).

Novamente citando o trabalho de Jucker e colaboradores⁹⁶, estes autores obtiveram os valores de K e de Γ_{\max} para os sistemas estudados. Os valores de K para a adsorção em TiO_2 e Al_2O_3 foram respectivamente de: 10 a 60 (mL mg^{-1}) e 3,8 a 15,4 (mL mg^{-1}) para os polissacarídeos externos das bactérias e 3,9 a 82 (mL mg^{-1}) e 1,5 a 14,3 (mL mg^{-1}) para as dextranas (até $8 \cdot 10^4$ Dal). Os valores Γ_{\max} para a adsorção em TiO_2 e Al_2O_3 foram respectivamente de: 2,2 a 3,2 (mg m^{-2}) e 0,5 a 1,2 (mg m^{-2}) para os polissacarídeos e 0,51 a 0,93 (mg m^{-2}) e 0,13 a 0,28 (mg m^{-2}) para as dextranas.

Kanaani e colaboradores⁸³ estudaram a adsorção de polissacarídeo isolado do microorganismo *Porphyridium* sp. em caolinita, um silicato de alumínio, e encontraram valores de K de $0,062 \text{ mL mg}^{-1}$ em $\text{pH} = 6,3$. Este valor é bem menor do encontrado por Jucker e colaboradores⁹⁶ na adsorção de polissacarídeo sobre o óxido de alumínio, material inorgânico como a caolinita.

Neste trabalho, obtivemos as isotermas de Langmuir para os sistemas crisotila/glucana e sílica pré-tratada ou não com glucana e crisotila. Os valores de K de adsorção obtidos por Jucker e colaboradores⁹⁶ são de mesma ordem de grandeza dos nossos resultados de adesão de glucana em crisotila e, conseqüentemente, os valores de $\Delta G_{\text{ads}}^{\circ}$ também o são. Considerando o valor de $14 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ para a área superficial da crisotila, obtemos os valores do Γ_{\max} para a adesão de cm-glucana em crisotila de $0,55 \pm 0,01$; $0,52 \pm 0,20$ e $0,51 \pm 0,01 \text{ mg m}^{-2}$ respectivamente para as temperaturas de 275, 298 e 323 K que são próximos dos valores obtidos para as dextranas adsorvidas em TiO_2 e para os

polissacarídeos adsorvidos em Al_2O_3 . Estes valores são também maiores do que os observados por Kanaani e colaboradores⁸³.

As variações de entalpia (ΔH) e entropia (ΔS) determinam os valores de ΔG . Entretanto, é imprudente designar as interações como sendo governadas entálpica ou entrópicamente, sem determinar os valores de ΔG em pelo menos duas temperaturas diferentes. A influência da temperatura em processos de adsorção de polissacarídeos, goma-guar, e talco foi estudada por Jenkins e Raiston⁹⁷. Pouca diferença foi observada na massa aderida com a variação da temperatura. Entretanto, foi notado que $\Delta G_{\text{ads}}^{\circ}$ tornou-se ligeiramente negativo com o aumento da temperatura e, desta forma, foi possível calcular os valores de ΔH° e ΔS° . Os autores obtiveram os valores de $\Delta G_{\text{ads}}^{\circ}$ de -11,6; -12,5 e -12,9 kJ mol⁻¹ e para $-T\Delta S_{\text{ads}}^{\circ}$ de -11,2; -12,1 e -12,5 kJ mol⁻¹ respectivamente para as temperaturas de 25, 46 e 50 °C. Para $\Delta H_{\text{ads}}^{\circ}$ o valor encontrado foi de -0,4 kJ mol⁻¹ nas três temperaturas. Assim, segundo os autores, a adsorção é governada pelo efeito entrópico, causado pela desidratação de ambas as porções hidrofóbicas do goma-guar e da superfície do talco, e a subsequente adsorção do polissacarídeo sobre a superfície hidrofóbica.

O efeito da temperatura no processo de adsorção de polissacarídeos sobre materiais a base de silício foi investigado por Page e colaboradores⁹⁸. A quantidade adsorvida de xantana em areia foi a mesma a 20 e 50 °C e diminuiu com o aumento da temperatura de 50 a 90 °C. Neste caso, o efeito de carga, interação eletrostática e ligação de hidrogênio agem conjuntamente promovendo a adsorção. Os autores não obtiveram os valores dos parâmetros termodinâmicos deste processo.

Em geral, a literatura descreve que a massa de polissacarídeos aderida sobre materiais inorgânicos apresenta variação pequena quando se altera a temperatura. Estes resultados estão de acordo com os obtidos em nosso trabalho: não se pode afirmar que há uma variação de $\Delta G_{\text{ads}}^{\circ}$ com a temperatura, pois os desvios experimentais são grandes. Entretanto, podemos afirmar que se há variações, estas são pequenas.

Interação sílica, glucana e crisotila: forças de curto e longo alcance

A físico-química das interfaces fornece duas aproximações para descrever a adsorção de macromoléculas sobre superfície. Uma é a DLVO que envolve as interações entre dois sólidos aproximando-se um do outro: um termo atrativo devido às dispersões de London-van der Waals e um segundo termo devido às interações eletrostáticas (atrativas ou repulsivas) resultado de uma sobreposição das duplas camadas elétricas. Esta aproximação considera somente as forças de longo-alcance e negligencia as forças polares, que podem ser importantes em curtas distâncias: forças de van der Waals não dispersivas (dipolo-dipolo; dipolo-dipolo induzido), forças íon-dipolos e ligações de hidrogênio^{18,66}. Outra aproximação é fornecida pelas considerações termodinâmicas baseadas na energia livre de Gibbs de adesão por unidade e área^{18,66}.

Estudos sobre como as interações eletrostáticas e de van der Waals afetam os processos de adesão de microorganismos e polissacarídeos em materiais sólidos são encontrados em literatura^{83,96,97,99}.

Num destes trabalhos, o de Jucker e colaboradores⁹⁶, os autores assumem que os polissacarídeos externos das superfícies das bactérias possuem uma leve carga negativa e afirmam que dextranas apresentam potencial zeta próximo de zero. Os potenciais zetas dos minerais são -28,6 mV para o TiO_2 , +16,1 mV para Al_2O_3 e -25,4 mV para o SiO_2 . Desta forma, os autores afirmam que as interações eletrostáticas entre estes polissacarídeos e estes materiais são ligeiramente repulsivas para TiO_2 e SiO_2 e levemente atrativas para Al_2O_3 . Em relação às forças atrativas de van der Waals, os autores afirmam que as constantes de Hamaker, obtidas da literatura, necessárias para os cálculos de van der Waals são: 24,3 *KT* para os polissacarídeos e para os óxidos: 45,7 *KT* (TiO_2), 33,6 *KT* (Al_2O_3) e 15,1 *KT* (SiO_2). Desta forma, os autores afirmam que as forças de van der Waals são mais atrativas para a interação com TiO_2 seguida de Al_2O_3 e menor para SiO_2 . Entretanto, os autores não apresentam os valores de energia relacionados a estes dados.

Jenkins e Ralston⁹⁷ estudaram os efeitos do sinal de carga dos polissacarídeos na adsorção em talco através de isotermas de adsorção. Foram testados três tipos de goma-guar: uma neutra e outras duas com carga, das quais uma negativa e outra positiva. Os sistemas

apresentaram comportamento de Langmuir. Os valores de ΔG_{ads}° para as três gomas apresentaram os mesmos valores, dentro do erro experimental, e foram menores do que zero. Os autores constataram que a energia livre padrão de adsorção devido à contribuição eletrostática (ΔG_{EL}°) está abaixo de 1kJ/mol em todos os valores de potencial zeta entre -50 mV a +50 mV e isto corresponde a menos do que 10% da magnitude de ΔG_{ads}° . Estes resultados confirmam que as forças eletrostáticas não governam a termodinâmica de adsorção de goma-guar sobre talco como observado por Jucker e colaboradores⁹⁶.

As forças eletrostáticas também não foram as responsáveis pela adsorção do polietrólito polietilenoamida, PEI, sobre superfícies de sílica como observados por Mészáros e colaboradores¹⁰⁰. Estes autores constataram que a quantidade aderida aumentou com a força iônica em baixos valores de pH, no qual as moléculas de PEI são fortemente carregadas e a superfície de sílica é levemente positiva devido ao domínio das interações segmento/segmento do polímero. Entretanto, aumentando-se o pH o efeito da força iônica gradualmente diminuiu, indicando um aumento nas interações atrativas segmento/superfície. Os autores não discutem quais seriam estas interações atrativas.

A cm-glucana é um polissacarídeo com grupos OH, e COO⁻, este último proveniente da carboximetilação, tendo carga superficial negativa. A sílica apresenta caráter negativo (potencial zeta negativo a partir de pH 2) e a crisotila caráter positivo (potencial zeta positivo até pH 11,8)⁴⁷. Isto possibilitaria uma atração eletrostática entre a sílica e/ou polissacarídeo com a crisotila. Entretanto, esta interação eletrostática pouco deve contribuir para a variação total de energia livre, pois observamos que com a variação na força iônica nos sistemas contendo sílica (com ou sem glucana) e crisotila, a quantidade aderida não foi alterada. Acreditamos ainda que, mesmo não tendo sido obtidas isotermas de adesão de glucana com crisotila variando-se a força iônica, o resultado seria o mesmo do obtido com as isotermas sílica/crisotila, isto é, não haveria modificação na quantidade aderida. Estes resultados estão de acordo com os apresentados por Jenkins e Ralston⁹⁷ e por Mészáros e colaboradores¹⁰⁰ que adsorveram polieletrólitos em sílica. Jucker e colaboradores também não observaram a adsorção de polissacarídeos sobre SiO₂ utilizando o método de Dubois⁹², ficando abaixo do limite de detecção ($\Gamma \approx 0,01 \text{ mg.m}^{-2}$).

Em curtas distâncias de separações, as contribuições de van der Waals e eletrostáticas não são suficientes para descrever a interação total, daí a necessidade de alguns autores incluírem as interações interfaciais ácido-base de Lewis, ΔG^{AB} . A energia total de interação pode ser expressa de acordo com a teoria de DLVO estendida, proposta por van Oss e Good e Chaudhury⁸¹, que engloba as interações: eletrostáticas, ΔG^{EL} , Lifshitz-van der Waals, ΔG^{LW} , e incluem as interações ácido-base de Lewis, ΔG^{AB} , e do movimento browniano, ΔG^{BR} ^{74,77,79,80}. Segundo van Oss⁷⁴ a adesão entre dois materiais sólidos (1 e 2) imersos em água (w) é descrita pela equação 19:

$$\Delta G_{1w2}^{Total} = \Delta G_{1w2}^{LW} + \Delta G_{1w2}^{EL} + \Delta G_{1w2}^{AB} + \Delta G_{1w2}^{BR} \quad \text{equação 19}$$

onde, se aplicável, ΔG_{1w2}^{EL} é determinado por medidas eletrocinéticas, como medidas de potencial zeta dos materiais envolvidos na adesão, e a parte da energia interfacial é dada por:

$$\Delta G_{1w2}^{IF} = \Delta G_{1w2}^{LW} + \Delta G_{1w2}^{AB} \quad \text{equação 20}$$

Para a adesão ser favorecida ΔG_{1w2}^{Total} deve ser negativa.

Segundo os autores, as interações hidrofóbicas ou o efeito hidrofóbico definem a tendência de cadeias apolares, solutos ou partículas, de se agregarem quando imersas em água e devem ser tratadas juntas na somatória dos valores de energia. A palavra hidrofóbica no sentido de repelir água é um erro: compostos hidrofóbicos atraem água e estes compostos, por sua vez, se atraem não somente pelas forças de LW quando imersos em água. A principal força que governa as interações hidrofóbicas entre materiais hidrofóbicos quando imersos em água provem da forte energia polar (AB) de coesão entre as moléculas de água. Nos casos onde ΔG_{iwi} obtido entre duas partículas ou moléculas (i) imersas em água (w) apresenta valor negativo, uma rede de atração interfacial entre ii prevalece. As interações hidrofóbicas não são invariavelmente entrópicas, como geralmente é apresentado por alguns autores. Além disto, estas interações não podem ser consideradas como tipicamente entrópicas nem entálpicas, sendo dependente de cada caso estudado⁷⁴.

Na adsorção, com o deslocamento das moléculas de água, a desidratação de superfícies hidrofílicas leva a um aumento da energia livre. Entretanto, para superfícies

hidrofóbicas, a desidratação é termodinamicamente favorecida, principalmente por causa do grande aumento de entropia provocado pelo deslocamento de água. Assim, não é esperado que um componente com exterior hidrofílico torne-se aderido em uma superfície hidrofílica. No entanto, se uma das superfícies é hidrofílica e a outra hidrofóbica, o efeito favorável da desidratação hidrofóbica pode compensar a desfavorável desidratação hidrofílica. Se ambas as superfícies são hidrofóbicas a adesão ocorre devido à ligação hidrofóbica⁷⁴.

A interação de um sólido 1 com outro sólido 2 (podendo ser o mesmo sólido 1) em um meio líquido 3 pode ser determinada a partir de medidas de ângulos de contato utilizando-se dois solventes (L), com tensões superficiais conhecidas. Empregando duas vezes a equação 21 obtêm-se os componentes da tensão superficial para o sólido (s):

$$\gamma_L (\cos \theta + 1) = 2 (\gamma_s^{LW} \cdot \gamma_L^{LW})^{1/2} + 2 (\gamma_s^{AB} \cdot \gamma_s^{AB})^{1/2} \quad \text{equação 21}$$

onde γ^{LW} é o componente da tensão superficial das interações de Lifshitz-van der Waals, γ^{AB} é o componente da tensão ácido-base, s é o sólido (podendo ser 1 ou 2) e L o líquido.

A partir dos valores dos componentes das tensões superficiais, pode-se calcular a energia livre de interação ácido-base (ΔG_{1w2}^{AB}) e Lifshitz-van der Waals (ΔG_{1w2}^{LW}) entre dois materiais 1 e 2 imersos em água (w), proposta por van Oss e Good e Chaudhury⁸¹ de acordo com as equações 22-24:

$$\Delta G_{1w2}^{LW} = \gamma_{12}^{LW} - \gamma_{1w}^{LW} - \gamma_{2w}^{LW} \quad \text{equação 22}$$

$$\Delta G_{1w2}^{AB} = \gamma_{12}^{AB} - \gamma_{1w}^{AB} - \gamma_{2w}^{AB} \quad \text{equação 23}$$

$$\text{com} \quad \gamma_{12} = ((\gamma_1)^{1/2} - (\gamma_2)^{1/2})^2 \quad \text{equação 24}$$

assim, a energia total de interação interfacial é dada por:

$$\Delta G_{1w2}^{IF} = \Delta G_{1w2}^{LW} + \Delta G_{1w2}^{AB} \quad \text{equação 25}$$

Artigos da literatura^{67,88,96,97}, descrevem as interações entre polímeros, especificamente polieletrólitos e/ou polissacarídeos, com materiais inorgânicos, como sendo através de ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas representadas pelas interações ácido-base (AB).

Jucker e colaboradores⁹⁶, realizando medidas de ângulos de contato dos polissacarídeos com a água, θ^w , constataram que a dextrana tem $\theta^w = 4^\circ$ e TiO_2 tem $\theta^w = 12^\circ$ e os autores admitiram que o ângulo de contato para os polissacarídeos das bactérias era o mesmo da dextrana. Para SiO_2 e Al_2O_3 foram considerados que $\theta^w = 5^\circ$ sendo portanto mais hidrofílicos do que TiO_2 . Assim, os autores constataram que as interações ácido-base são altamente atrativas para as interações dos polissacarídeos com TiO_2 e repulsivas para as interações com Al_2O_3 e SiO_2 . Os espectros na região do infravermelho, utilizando o acessório de ATR, obtidos para os polissacarídeos suportados nos óxidos, indicaram que com o aumento na quantidade aderida dos polissacarídeos, as bandas OH da superfície dos óxidos e aquelas referentes à água fisissorvida nos sólidos (bandas entre 3600 e 2600 cm^{-1}) diminuíram. Segundo os autores, a diminuição na absorvância destas bandas indica a interação dos polissacarídeos com os grupos hidroxila dos sólidos e as moléculas de água quimissorvidas. Para a adsorção em TiO_2 , em um primeiro passo, os polissacarídeos interagem com as moléculas fisissorvidas de água através de ligações de hidrogênio e, num segundo passo, estas moléculas de água são deslocadas e os grupos hidroxila das superfícies dos óxidos interagem por ligações de hidrogênio com os polissacarídeos. Isto pode ser melhor verificado para TiO_2 do que para Al_2O_3 e SiO_2 . Assim, a alta afinidade dos polissacarídeos pelo TiO_2 corresponde a uma forte atração de van der Waals e ácido-base. Para o Al_2O_3 a forte repulsão ácido-base impede a aproximação dos polissacarídeos com a superfície. A baixa interação com o SiO_2 corresponde à forte e repulsiva interação ácido-base de Lewis.

Jenkins e Ralston⁹⁷ concluem que a adsorção de goma guar sobre talco é governada por interações hidrofóbicas. A discussão dos autores é baseada nos $\Delta G^\circ_{\text{hidrofóbico}}$ de transferência de um grupo $-\text{CH}_2$ da solução "bulk" do polissacarídeo para a superfície do talco. Neste caso, os autores acrescentam no valor de ΔG° um termo $\Delta G^\circ_{\text{hidrofóbico}}$ além do termo proveniente das ligações de hidrogênio, discordando de van Oss^{74,79}.

Evidências da formação de ligações de hidrogênio entre polímeros carboxilados e montmorilonita também foram observadas por Nazbzar e colaboradores¹⁰¹.

Kapsabelis e Prestidge¹⁰² estudaram a adsorção de etil(hidroxi)etilcelulose, um

polímero formado por unidades glicosídicas que apresentam grupos hidrofílicos e hidrofóbicos como a glucana, sobre partículas de sílica. Os autores constataram que a interação entre estes dois materiais foi estabelecida por ligações de hidrogênio entre os grupos OH da sílica e o OH do polímero e interações hidrofóbicas entre os grupos siloxano da sílica e o $-CH_2$ do polímero.

Neste trabalho, as medidas de ângulos de contato podem fornecer uma estimativa a respeito das interações interfaciais. Os valores dos componentes da tensão superficial dos líquidos escolhidos para os ensaios de ângulos de contato estão apresentados na TABELA 14. Os valores dos componentes da tensão superficial calculados para a glucana e para a crisotila estão apresentados na TABELA 15 e foram calculados de acordo com a equação 21, utilizando-se os valores de ângulos de contato apresentados na TABELA 13 e os componentes da tensão superficial dos líquidos da TABELA 14. Os valores para a sílica foram retirados da literatura e, segundo Bilinski e Holysz¹⁰³ por causa da similaridade dos materiais a base de silício, a utilização dos componentes da tensão interfacial de dados de literatura é bastante razoável. É sabido que para medidas de ângulos de contato vários fatores, como por exemplo rugosidades na superfície, interferem nas medidas. Portanto, estamos considerando que os valores obtidos neste trabalho são aproximados, permitindo inferir sobre uma tendência para o comportamento das interações.

TABELA 14: Valores dos componentes das tensões superficiais dos líquidos utilizados para as medidas de ângulos de contato.

líquidos	γ^{AB}	γ^{LW}	γ_L
glicerina	30	34	64
etilenoglicol	19	29	48
óleo de silicone	0	19	19

TABELA 15: Componentes da energia livre superficial de glucana, crisotila e sílica expressos em mJ/m^2

sólidos	γ^{LW}	γ^{AB}
glucana	11,54	4,93
crisotila	9,82	31,35
sílica ^a	31,6	41,7

a-referência 103

Os valores da energia livre total de interação, das interações ácido-base e Lifshitz–van der Waals estão apresentadas na TABELA 16 e foram obtidos de acordo com as equações 22-25. Os valores de $\Delta G_{1w2}^{\text{IF}}$ obtidos podem nos fornecer as diferenças existentes entre as interações de sílica com crisotila na presença ou ausência de glucana.

TABELA 16: Energia livre total interfacial de interação ($\Delta G_{1w2}^{\text{IF}}$), das interações ácido-base ($\Delta G_{1w2}^{\text{AB}}$) e Lifshitz–van der Waals ($\Delta G_{1w2}^{\text{LW}}$) entre dois materiais diferentes 1 e 2 (podendo ser sílica ou glucana ou crisotila) em água w. Valores em mJ/m^2 com $\pm 2 \text{ mJ/m}^2$

Sistemas	$\Delta G_{1w2}^{\text{LW}}$	$\Delta G_{1w2}^{\text{AB}}$	$\Delta G_{1w2}^{\text{IF}}$
sílica/glucana	+4,6	-15	-10,4
crisotila/glucana	-3,9	-15	-19,0
sílica/crisotila	+5,5	-4,7	≈ 0

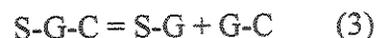
Os valores, em módulo, da variação de energia livre de interação entre os sistemas apresentados na TABELA 16 apresentam-se maiores para os componentes AB do que para os componentes LW para os sistemas crisotila/glucana e sílica/glucana. As interações AB são atrativas para os três sistemas estudados. A interação LW de glucana com sílica é fracamente repulsiva enquanto que para crisotila é atrativa. Nota-se que nem todos os sítios ativos da glucana que participam da interação com sílica participam da interação com crisotila. Já que a variação de energia livre está relacionada com o trabalho de adesão, os valores de $\Delta G_{1w2}^{\text{IF}}$ indicam que a interação de glucana por m^2 de crisotila é mais forte do que

a interação deste polissacarídeo por m^2 de sílica.

Neste trabalho, inicialmente a sílica (S) é pré-tratada com glucana (G) e depois é aderida em crisotila (C). Sabendo-se que há sítios ativos da glucana que não participam da interação com sílica e estão disponíveis para a interação com crisotila e, se considerarmos que o número de sítios ativos na adesão de sílica em crisotila por área é o mesmo do que para sílica-glucana em crisotila, podemos afirmar que:



onde,



De (3) temos que a variação de energia livre para sílica-glucana e crisotila é dada por:

$$\Delta G_{1w2}^{IF} = (-10,4) + (-19,0) = -29,4 \text{ mJ/m}^2$$

Como é considerado que o número de sítios ativos que participam da interação de sílica em crisotila por área é o mesmo do que para sílica-glucana em crisotila, podemos afirmar que o valor de ΔG_{1w2}^{IF} para sílica-glucana /crisotila ($-29,4 \text{ mJ/m}^2$) é maior, em módulo, do que o valor obtido para a interação de sílica com crisotila ($\approx 0 \text{ mJ/m}^2$), mostrando que a presença de glucana torna a interação entre estes dois sólidos mais favorável. Já que a variação de energia livre está relacionada com o trabalho de adesão, podemos afirmar que a força de adesão é maior entre sílica-glucana e crisotila do que no controle, confirmando os resultados obtidos no ensaio de dessorção.

Os valores de ΔG_{1w2}^{IF} obtidos para adesão de glucana em sílica e em crisotila são próximos aos encontrados por van Oss, Good e Chaudhury⁸¹ na adesão de albumina de soro humano (no estado não hidratado) em politetrafluoretileno em água, os quais foram: $-44,2 \text{ mJ.m}^{-2}$ para ΔG_{1w2}^{IF} , $-45,4 \text{ mJ.m}^{-2}$ para ΔG_{1w2}^{AB} e $+0,7 \text{ mJ.m}^{-2}$ para ΔG_{1w2}^{LW} .

Como já afirmado, a contribuição de curto alcance é devida às interações provenientes de recebimento e doação de prótons e/ou de elétrons, de interações hidrofóbicas

e ligações de hidrogênio.

Observamos pelos valores dos ângulos de contato apresentados na TABELA 13 que glucana é um material com características mais hidrofóbicas do que a crisotila. As curvas de TGA, obtidas para sílica controle e para sílica pré-tratada com glucana, indicam que na região até 150 °C, há uma tendência de que a sílica controle perca mais água em relação à sílica pré-tratada. Isto indica que a sílica pré-tratada com glucana apresenta menos água fisissorvida em sua superfície, sugerindo que a glucana torne esta sílica mais hidrofóbica do que a sem tratamento. Estes resultados indicam que podem estar ocorrendo interações hidrofóbicas nos sistemas sílica-glucana e crisotila.

De acordo com os resultados obtidos deste trabalho e com estudos de adsorção de polissacarídeos e polímeros sobre superfícies sólidas, que afirmam que as ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas são as principais responsáveis por estas adesões, podemos propor que: a interação entre sílica-glucana e a crisotila é favorável a longas distâncias com um alto potencial atrativo, pois a crisotila apresenta sinal de carga positivo e a glucana negativo. Em distâncias muito próximas as interações provenientes das ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas são predominantes. Para concluir, podemos propor que as seguintes interações, AB, podem estar ocorrendo:

➤ Crisotila/glucana

- Ligação de hidrogênio entre o MgOH da crisotila e o OH da cm-glucana;
- Ligação de hidrogênio entre o MgOH e o COO⁻ da cm-glucana;
- Interações entre a parte hidrofóbica da cm-glucana e a hidrofílica da crisotila.

➤ Sílica/glucana

- Ligações de hidrogênio entre os grupos OH, ou Si-O-Si da sílica e o OH da cm-glucana;
- Parte hidrofóbica da sílica, Si-O-Si, com parte hidrofóbica da cm-glucana.

➤ Sílica/crisotila

- Ligação de hidrogênio entre MgOH da crisotila e o OH da sílica.

VI CONCLUSÕES

- Cm-glucana tem influência positiva na adesão entre crisotila e os sólidos utilizados neste trabalho;
- Há adesão de cm-glucana em crisotila;
- A força de adesão entre crisotila e os sólidos estudados é maior quando estes últimos foram pré-tratados com cm-glucana em relação aos seus respectivos controles. A porcentagem de sólido dessorvido após 16 minutos de ultra-som a 25KHz foi para a sílica de 9 ± 1 % para sílica-glucana/crisotila e 18 ± 3 % para o sistema controle. Para o agalmatolito foi de 10 ± 1 % para o tratado com glucana e 21 ± 2 % para o controle. Para os sistemas contendo sílica e crisotila a diferença na dessorção é ainda maior quando estes sistemas foram submetidos ao ultra-som por 4,5 horas: 21 % para o sistema sílica-glucana/crisotila e 42 % para o controle;
- As micrografias eletrônicas de varredura indicam que há adesão tanto da sílica pré-tratada com glucana como da sílica controle em crisotila, em crisotila lixiviada e em crocidolita. Nota-se um enovelamento no sistema contendo sílica e crisotila quase parecido com o observado no sistema *Saccharomyces* sp e crisotila, apresentando muitas fibrilas de crisotila aderidas sobre a partícula de sílica com o encurvamento destas fibrilas sobre as partículas;
- A adesão de cm-glucana em crisotila é rápida e a massa de glucana/massa de crisotila é independente da massa de crisotila. Não há variação da massa aderida nas temperaturas de 2, 25 e 50°C, portanto os valores de ΔG_{ads}° são praticamente os mesmos nestas três temperaturas. Não há diferença na massa de glucana aderida em crisotila quando se utiliza ou não a agitação de 200rpm no processo de adesão;
- Para as argilas montmorilonita, caulim e agalmatolito a massa aderida em crisotila, quando pré-tratadas com glucana, é praticamente a mesma da sem tratamento;
- A adesão de sílica em crisotila é rápida e a massa de sílica/ massa de crisotila é independente da massa de crisotila. Esta adesão é dependente da agitação do sistema. A massa de sílica pré-tratada com glucana aderida em crisotila é maior em relação ao

sistema contendo a crisotila pré-tratada com glucana o qual apresenta o mesmo valor de massa aderida que o controle. As variações na temperatura e na força iônicas não alteram de maneira significativa a massa de sílica aderida em crisotila, tanto para os sistemas contendo a sílica pré-tratada com glucana como para o controle;

- A sílica pré-tratada com glucana apresenta menos água fisissorvida em suas superfícies;
- É possível utilizar sílica como modelo de levedura. A massa aderida de sílica pré-tratada com cm-glucana em crisotila é de 0,5g/g, que é a mesma obtida com *Sacharomyces* sp e crisotila²;
- A interação de sílica-glucana em crisotila a longas distâncias é devida às interações atrativas de van der Waals. Em curtas distâncias as interações ácido-base são as responsáveis. Dentre as interações AB propomos que as ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas são as maiores responsáveis por esta adesão.

VII PERSPECTIVAS

-
- Este estudo revelou a importância da glucana em processos de adesão utilizando-se a crisotila e poderá servir de modelo a ser aplicado na compreensão da adesão deste polissacarídeo em outros materiais sólidos. Muitas das propriedades deste polissacarídeo, como a estimulação do sistema imunológico, propriedades antitumorais, antivirais e antioxidantes, dependem da maneira como se ligam a centros receptores.
 - Modificações físico-químicas de materiais poderão ser investigadas para que estes adquiram características superficiais para favorecer, ou não, processos de adesão envolvendo células ou materiais que apresentem glucana ou substâncias semelhantes em suas composições.
 - Estudos envolvendo a utilização de microorganismos imobilizados para a produção de álcool podem apresentar resultados mais favoráveis, utilizando-se a tecnologia da engenharia genética no desenvolvimento de células com uma camada externa contendo mais glucana. Estas modificações genéticas beneficiariam o sistema *Saccharomyces/crisotila*, obtendo-se uma maior quantidade de células aderidas ao suporte e, conseqüentemente, um ganho maior na produtividade de etanol.

VIII ANEXOS

VIII.1 ADESÃO DE *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* EM CRISOTILA

O objetivo deste experimento foi verificar se a adesão de células de *Saccharomyces cerevisiae* em crisotila sofre efeito do pH e da temperatura. Utilizou-se a cepa CCT 3174 obtida da Fundação Tropical André Tosselo em Campinas. O crescimento celular desta levedura foi realizado em meio de cultura esterilizado (10g/L de D-glicose, 5g/L de peptona, 3g/L de extrato de malte e 3g/L de extrato de levedura)². As células permaneceram neste meio por um período de 2 dias sob agitação a 40 rpm e 30 °C. As células foram obtidas após a filtração em Buchner com papel de filtro. Determinou-se que a partir de 40 minutos de contato o sistema de células e crisotila atinge o equilíbrio. Verificou-se a influência do pH e da temperatura preparando-se sistemas contendo 100mg de células de *Saccharomyces cerevisiae* aderidas em 100 mg de crisotila (ativada em meio tamponado de ácido acético/acetato de sódio equimolar a $3,3 \cdot 10^{-2}$ mol/L) em tampão fosfato, com pH e temperatura controlados. Estes sistemas foram mantidos em incubadora com agitação de 200 rpm. Utilizou-se pH 3, 5, 7 e 9 e temperaturas de 13 °C, 20 °C, 30 °C e 50 °C.

A Figura 32 apresenta os resultados da massa de crisotila aderida em diferentes valores de pH e temperatura. Estes resultados indicam que há uma tendência de que as forças eletrostáticas e a temperatura contribuam para este processo de adesão. Para, esta afirmação é necessária a realização de um estudo sobre a influência do tampão fosfato nas interações destas células com crisotila.

Como a parede celular apresenta vários componentes não se pode afirmar quais deles sofrem os efeitos da força iônica e da temperatura, influenciando o processo de adesão em crisotila.

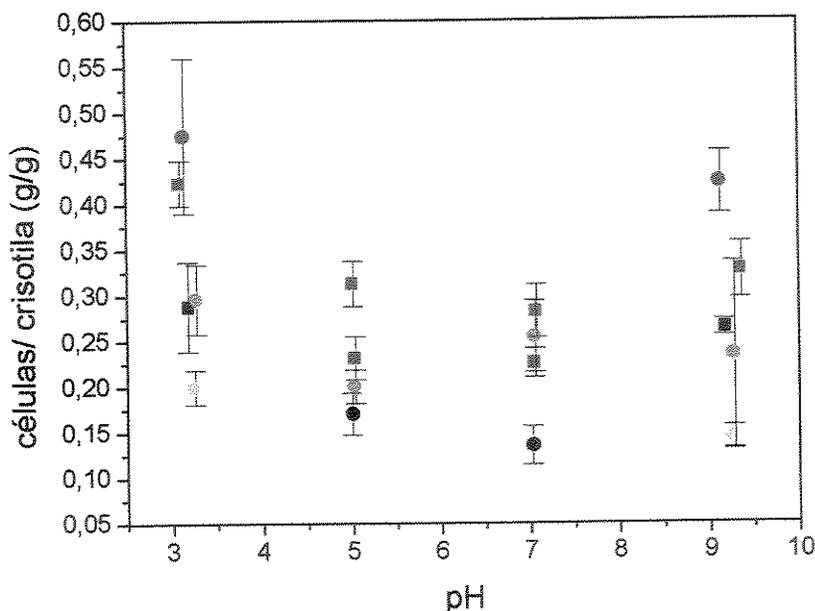


Figura 32: Células de *Saccharomyces cerevisiae* aderidas em crisotila em valores de pH (3, 5, 7, 9) utilizando tampão fosfato e temperaturas: 13 °C (vermelho), 20 °C (verde), 25 °C (azul-marinho), 30 °C (azul claro), 50 °C (preto). Médias de triplicatas.

VIII.2 ANÁLISE QUANTITATIVA DE CM-GLUCANA NO INFRAVERMELHO

A técnica de espectroscopia infravermelho, utilizando-se o acessório de ATR, foi utilizada para quantificar cm-glucana em solução. Os espectros foram obtidos por Flávio Aparecido Rodrigues na Universidade de Mogi das Cruzes-SP. A partir de uma solução de glucana (500mg/L), foram depositados diferentes volumes (1,0; 0,8; 0,6; 0,5 e 0,4 mL) sobre o suporte de ATR (ZnSe), a 45 graus, e aquecidos a aproximadamente 60°C até secagem. Após resfriamento, o suporte foi colocado no espectrofotômetro e foram obtidos os espectros. A Figura 33 apresenta os espectros obtidos.

A partir dos espectros obtidos, pode-se obter uma curva de calibração através da razão dos valores de área de dois picos do espectro em função da concentração de cm-glucana. Este ensaio pode ser útil na determinação da massa remanescente de glucana em solução, após o contato com um determinado sólido.

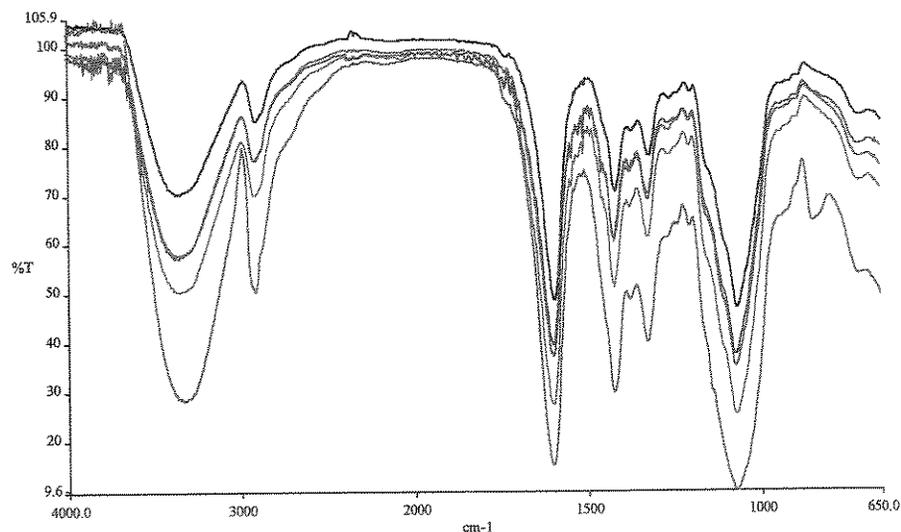


Figura 33: Espectros na região do infravermelho A) α -D-glucana (Glucare S), utilizando o acessório de ATR. Massa de α -D-glucana: 200 μ mg (preto), 250 μ mg (rosa), 300 μ mg (vermelho), 400 μ mg (azul) e 500 μ mg (marrom).

VIII.3 INTERAÇÃO DE LÁTEX DE POLIESTIRENO, CRISOTILA E CM-GLUCANA

O objetivo deste experimento foi produzir látex de poliestireno com cargas positivas e de tamanhos próximos à célula de *Saccharomyces cerevisiae*. Este látex seria utilizado como modelo para simular uma célula da levedura. Adicionaram-se 300mL de água, 10 mL de estireno e 0,3 g de AIBN, permanecendo por 3 horas a 70 °C. A seguir, adicionaram-se mais 5 ml de estireno e deixou-se a dispersão em contato por mais 2 horas nesta temperatura. A Figura 34 apresenta a fotomicrografia das partículas de látex produzidas que apresentaram forma esférica e tamanho médio de 0,5 μ m. Estas partículas foram então utilizadas para os ensaios de adesão em crisotila.

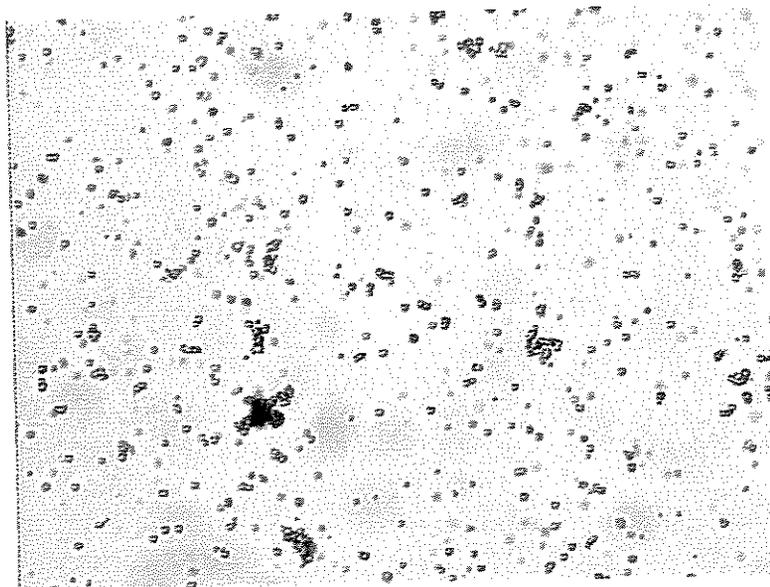


Figura 34: Fotomicrografia de partículas de látex de poliestireno com cargas positivas. Aumento de 600x.

A adesão de látex em crisotila em solução de glucana seria verificada a partir da diminuição da densidade ótica (550nm) na dispersão. Prepararam-se três sistemas: um com solução de cm-glucana (200mg/L), outro com solução de látex com a concentração diluída 50 vezes e solução de cm-glucana (200mg/L) sem crisotila e outro com 50 mg de crisotila. Os sistemas permaneceram a 25 °C sem agitação. Os resultados são apresentados na Figura 35. Nota-se que a solução de glucana não apresenta leitura de densidade ótica a 550nm até 1300 minutos. Há diminuição da densidade ótica com o tempo no sistema látex-glucana/crisotila, mas, o mesmo comportamento é verificado para o sistema látex-glucana, impedindo que a diminuição da densidade ótica no sistema látex-glucana/crisotila seja atribuída a adesão do látex na crisotila.

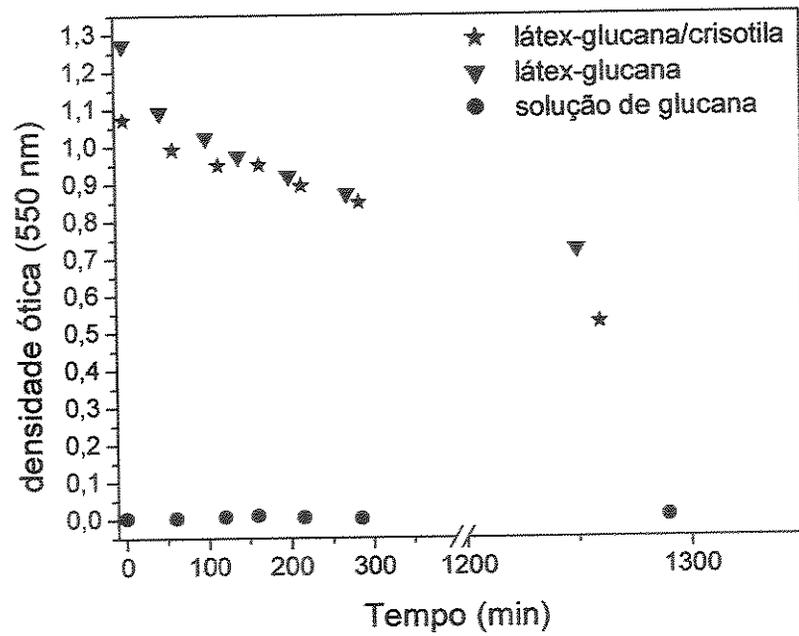


Figura 35: Densidade ótica de solução de glucana (200mg/L), látex de poliestireno em solução de glucana (200mg/L) com ou sem crisotila.

IX REFERÊNCIAS

- [1] Joekes, I.; Moran, P.J.S.; Rodrigues, J.A.R.; Wendhausen, R.; Tonella, E.; Cassiola, F. "Characterization of *Saccharomyces cerevisiae* Immobilized onto Chrysotile for Ethanol Production". *Journal Technology and Biotechnology*, 73, 54-58 (1998).
- [2] Fregonesi, A. "Adesão de Células de *Saccharomyces* sp. em Materiais Inorgânicos para a Produção de Etanol". Dissertação de Mestrado, Instituto de Química, Unicamp (1998).
- [3] Wendhausen Jr., R. "Estudo sobre Utilização de Crisotila como Suporte de Células de *Saccharomyces cerevisiae* para Uso em Processo Contínuo de Fermentação Alcoólica e Biorreduções". Tese de Doutorado, Instituto de Química, Unicamp (1998).
- [4] Wendhausen, R.; Fregonesi, A.; Moran, P.J.S.; Joekes, I.; Rodrigues, J.A.R.; Tonella, E.; Althoff, K. "Continuous Fermentation of Sugar Cane Syrup Using Immobilized Yeast Cells". *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 91 (1), 48-52 (2001).
- [5] Cassiola, F.; Silveira, M.; Jericó, S.; Joekes, I. "Interaction between *Saccharomyces cerevisiae* and Chrysotile". *European Cells and Materials*, 2, 30-35 (2001).
- [6] Cassiola, F.; Santos, H.S.; Joekes, I. "Saccharomyces cerevisiae Entrapped in Chrysotile Increases Life-span for up to 3 Years". *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 30, 283-289 (2003).
- [7] Zuchetti, R.A.M. "Crisotila Brasileira Como Suporte de Catalisadores. Aplicação na Oxidação de Alcoois com Radiação de Microondas". Tese de Doutorado, Instituto de Química, Unicamp (1994).
- [8] Parizotto, O. "Crisotilas Naturais Brasileiras: Ativação da Superfície e Aplicação na Imobilização de Biocatalisadores". Dissertação de Mestrado, Instituto de Química, Unicamp (1989).
- [9] Kenji, K.; Morimura, S.; Sonoda, Y.; Yanoh, T. "The Importance of the Surface Charge on Support Media for Microbial Adhesion". *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 73, 323, (1992).
- [10] Mishima, T.; Hisamatsu, M.; York, W.S.; Teranishi, K.; Yamada, T. "Adhesion of B-D-glucans to Cellulose". *Carbohydrate Research*, 308, 389-395 (1998).
- [11] Barrasa, J.M.; Gutiérrez, A.; Escaso, V.; Guillén, F.; Martínez, M.J.; Martínez, A.T. "Electron and Fluorescence Microscopy of Extracellular Glucan and Aryl-Alcohol Oxidase during Wheat-Straw Degradation by *Pleurotus eryngii*". *Applied and Environmental Microbiology*, 1(64), 325-332 (1998).
- [12] An H.Y.; Friedman, R.J. "Concise Review of Mechanisms of Bacterial Adhesion to Biomaterial Surfaces". *Journal of Biomedical Materials Research*, 43, 338-348 (1998).
- [13] Norde, W.; Lyklema, J. "Protein Adsorption and Bacterial Adhesion to Solid Surfaces". *Colloids and Surfaces*, 38, 1-13 (1989).
- [14] Gallardo-Moreno, A.M.; Garduno, E.; González-Martín, M.L.; Pérez-Giraldo, C.; Bruque, J.M.; Gómez-García, A.C. "Analysis of the Hydrophobic Behaviour of Different Strains of *Candida Parapsilosis* under Two Growth Temperatures". *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 28, 119-126 (2003).
- [15] Fonseca, A.P.; Granja, P.L.; Nogueira, J.A.; Oliveira, D.R.; Barbosa, M.A. "Staphylococcus epidermidis RP 62 Adhesion to Chemically Modified Cellulose Derivatives". *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 12, 543-548 (2001).
- [16] Lyklema, J.; Norde, W.; van Loosdrecht, M.C.M.; Zehnder, A.J.B. "Adhesion of Bacteria to Polystyrene Surfaces". *Colloids and Surfaces*, 39, 175-187 (1989).

- [17] Rijnaarts, H.H.M.; Norde, W.; Lyklema, J.; Zehnder, A.J.B. "DLVO and Steric Contributions to Bacterial Deposition in Media of Different Ionic Strengths". *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 14, 179-195 (1999).
- [18] Mozes, N.; Marchal, F.; Hermesse, M.P.; van Haechat, J.L.; Reuliaux, L.; Leonard, A.J.; Rouxhet, P.G. "Immobilization of Microorganisms by Adhesion: Interplay of Electrostatic and Nonelectrostatic Interactions". *Biotechnology and Bioengineering*, XXX, 439-450 (1987).
- [19] van Haechet, J.L.; Bolipombo, M. e Rouxhet, P. G. "Immobilization of *Saccharomyces cerevisiae* by Adhesion: Treatment of the Cells by Al Ions". *Biotechnology and Bioengineering*, XXVII, 217-224 (1985).
- [20] Deo, N.; Natarajan, K.A.; Somasundaran, P. "Mechanisms of Adhesion of *Paenibacillus polymyxa* onto Hematite, Corundum and Quartz". *International Journal of Mineral Processing*, 62, 27-39 (2001).
- [21] Doran, P.; Bailey, J. "Effects of Immobilization on Growth, Fermentation Properties, and Macromolecular Composition of *Saccharomyces cerevisiae* Attached to Gelatin". *Biotechnology and Bioengineering*, XXVIII, 73-87 (1986).
- [22] Dervakos, G.; Webb, C. "On the Merits of Viable-Cell Immobilisation". *Biotechnology Advances*, 9, 559-612 (1991).
- [23] Vives, C.; Casas, C.; Gòdia, F.; Solà, C. "Determination of the Intrinsic Fermentation Kinetics of *Saccharomyces cerevisiae* Cells Immobilized in Ca-Alginate Beads and Observations on their Growth". *Applied Microbiology and Biotechnology*, 38, 467-472 (1993).
- [24] Nassif, N.; Bouvet, O.; Rager, M.N.; Roux, C.; Coradin, T.; Livage, J. "Living Bacteria in Silica Gels". *Nature Materials*, 1 (2002).
- [25] Jirku, V. "Quantitative Changes of Wall Polysaccharides in an Immobilized Yeast". *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 14, 388-390 (1991).
- [26] Pastor, F.I.J.; Valentín, E.; Herrero, E.; Sentandreu, R. "Structure of the *Saccharomyces cerevisiae* Cell Wall". *Biochimica et Biophysica Acta*, 802, 292-300 (1984).
- [27] Bratskaya, S.Y.; Avramenko, V.A. "Sorption of Anionic Polysaccharides and Bovine Serum Albumin on a Macroporous Glass". *Colloid Journal*, 63 (2), 156-160 (2001).
- [28] Brash, J.L.; Wojciechowski, P.W. *Interfacial Phenomena and Bioproducts*, Marcel Dekker, Inc (1996).
- [29] Fleet, G.H.; Manners, D.J. "Isolation and Composition of Alkali-soluble Glucan from the Cell Walls of *Saccharomyces cerevisiae*". *Journal of General Microbiology*, 94, 180-192 (1976).
- [30] Krainer, E.; Stark, R.E.; Naider, F.; Alagramam, K.; Becker, J. "Direct Observation of Cell Wall Glucans in Whole Cells of *Saccharomyces cerevisiae* by Magic-Angle Spinning ¹³C-NMR". *Biopolymers*, 34, 1627-1635 (1994).
- [31] Stratford, M. "Another Brick in the Wall? Recent Developments Concerning the Yeast Cell Envelop." *Yeast*, 13 (10), 1741-1752 (1994).
- [32] Bacon, J.S.D.; Farmer, V.C.; Jones, D.; Taylor, I. "The Glucan Components of the Cell Wall of Baker's Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) Considered in Relation to its Ultrastructure". *Biochemical Journal*, 114, 557-567 (1969).
- [33] Osumi, M. "The Ultrastructure of Yeast: Cell Wall Structure and Formation". *Micron*, 2/3(19), 207-233 (1998).

- [34] Kopecká, M.; Phaff, H.J.; Fleet, G.H. "Demonstration of a Fibrillar Component in the Cell Wall of The Yeast *Saccharomyces cerevisiae* and its Chemical Nature". *The Journal of Cell Biology*, 62, 66-76 (1974).
- [35] Bohn, J.A.; BeMiller, J.N. "(1,3)-B-D-Glucans as Biological Response Modifiers: A Review of Structure-Functional Activity Relationships". *Carbohydrate Polymers*, 28, 3-14 (1995).
- [36] Machová, E.; Kogan, G.; Alfoldi, J.; Soltés, L.; Sandula, J. "Enzymatic and Ultrasonic Depolymerization of Carboxymethylated β -(1-3)-Glucan Derived from *Saccharomyces cerevisiae*". *Journal of Applied Polymer Science*, 55(5), 699-704 (1995).
- [37] Goldman, R.C. "Biological Response Modification by B-D-Glucans". *Annual Reports in Medicinal Chemistry*, chapter 14, 129-136 (1995).
- [38] Zulli, F.; Suter, F.; Biltz, H.; Nissen, H.P.; Birman, M. "Carboxymethylated β -(1-3)-Glucan". *Cosmetics & Toiletries Magazine*, 111, (1996).
- [39] Barrasa, J.M.; Gutiérrez, A.; Escaso, V.; Guillén, F.; Martínez, M.J.; Martínez, A.T. "Electron and Fluorescence Microscopy of Extracellular Glucan and Aryl-Alcohol Oxidase during Wheat-Straw Degradation by *Pleurotus eryngii*". *Applied and Environmental Microbiology*, 1(64), 325-332 (1998).
- [40] Santos, P.S. *Tecnologia das Argilas*. Edgard Blucher Ltda, vol 2 (1975).
- [41] Moran, P.J.S.; Wendhausen Jr., R.; Rodrigues, J.A.R.; Joekes, I. "Processo de Preparação de Etanol em Alto Rendimento em Regimes Contínuo e de Batelada Via Fermentação, Utilizando Células de *Saccharomyces cerevisiae* Suportadas em Minerais". PI 9700635 (1989).
- [42] Turkevich, J.; Hiller, J. "Electron Microscopy of Colloidal Systems". *Analytical Chemistry*, 21, 475-485 (1949).
- [43] Pundsack, F. "The Properties of Asbestos. I. The Colloidal and Surface Chemistry of Chrysotile". *Journal of Physical Chemistry*, 59, 892-895 (1955).
- [44] Pundsack, F. "The Properties of Asbestos. II. The Density and Structure of Chrysotile". *Journal of Physical Chemistry*, 60, 361-364 (1956).
- [45] Pundsack, F.; Reimschuessel, G. "The Properties of Asbestos. III. Basicity of Chrysotile Suspensions". *Journal of Physical Chemistry*, 60, 1218-1222 (1956).
- [46] Martinez, E.; Zucker, G. L. "Asbestos ore Body Mineral Studies by Zeta Potencial Measurements". *Journal of Physical Chemistry*, 64, 924 (1960).
- [47] Bonneau, L.; Suquet, H.; Malard, C.; Pezeart, H. "Studies on Surface Properties of Asbestos. I. Active Sites on Surface of Chrysotile and Amphiboles". *Environmental Research*, 41, 251-257 (1986).
- [48] Parizotto, O. "Crisotilas Brasileiras: Caracterização dos Sítios Superficiais por Cromatografia Inversa, Microscopia de Força Atômica e Espectroscopia no Infravermelho". Tese de Doutorado, Instituto de Química, Unicamp (1995).
- [49] Comerlato, M.H. "Obtenção e Caracterização de Filtros de Profundidade em Crisotilas Brasileiras". Dissertação de Mestrado, Instituto de Química, Unicamp (1989).
- [50] Filloy, P.H. "Ativação da Superfície da Crisotila Brasileira em Reatores de Batelada com Fluxo de Ar, CO₂ e Argônio - Utilização como Suporte de Células de *Saccharomyces cerevisiae*". Dissertação de Mestrado, Instituto de Química, UNICAMP (1999).

- [51] Fachini, A. "Crisotila na Degradação de Dodecilbenzenosulfonato de Sódio." Tese de Doutorado, Instituto de Química, Unicamp (1999).
- [52] Joekes, I.; Comerlato, M.H.; Parizotto, O.; Pedroso, P.R.; Moran, P.J.S.; Rodrigues, J.A.R.; De Carvalho, M. "Processo de Preparação de Crisotilas de Alta Superfície Específica e Crisotila Obtida". Proc. INPI 8.903.849 (1989).
- [53] Comerlato, M.H. "Imobilização de Enzimas no Suporte Crisotila". Tese de Doutorado, Instituto de Química, Unicamp (1995).
- [54] Cassiola, F.M. "Crisotila como Suporte para *Saccharomyces cerevisiae*: Origem Físico-Química da Preservação da Vitalidade". Tese de Doutorado, Instituto de Química, Unicamp (2001).
- [55] Canizares, E.M.P.N. "Estudo de Adsorção de Espécies Quirais em Crisotila Brasileira". Dissertação de Mestrado, Instituto de Química, Unicamp (2001).
- [56] Giongo, C.V.T. "Estudo da Deposição de TiO_2 sobre Crisotila Brasileira." Dissertação de Mestrado, Instituto de Química, Unicamp (1995).
- [57] Berkheiser, V. "Adsorption of Stearic Acid by Chrysotile". *Clays and Clays Minerals*, 30(2), 91-96 (1982).
- [58] Ozeki, S.; Oowaki, Y.; Kaneko, K. "Interaction between Poly-L-Lysine and Synthetic Chrysotile Asbestos". *Colloids and Surfaces*, 37 (1989).
- [59] Valerio, F.; Balducci, D.; Scarabelli, L. " Selective Adsorption of Serum Proteins by Chrysotile and Crocidolite". *Environmental Research*, 41, 432-439 (1986).
- [60] Valerio, F.; Balducci, D.; Lazzarotto, A. " Adsorption of Proteins by Chrysotile and Crocidolite: Role of Molecular Weight and Charge Density". *Environmental Research*, 44, 312-320 (1987).
- [61] Raju, G.B.; Holmgren, A.; Forsling, W. "Adsorption of Dextrin at Mineral /Water Interface". *Journal of Colloid and Interface Science*, 193, 215-222 (1997).
- [62] Ottewill, F.R.S.R.H.; Rochester, C.H.; Smith, A.L. *Adsorption from Solution*, Academic Press, (1983).
- [63] Jonson B.; Lindaman, B.; Homberg, K.; Kronber, B. *Surfactants and Polymers in Aqueous Solution*, John Wiley e Sons, (1998).
- [64] Somasundaran, P.; Krishnakumar, S. "Adsorption of Surfactants and Polymer at the Solid-Liquid Interface". *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 123/124, 491-513 (1997).
- [65] Vermohlen, K.; Lewandowski, H.; Narres, H.D.; Scwuger, M.J. "Adsorption of Polyelectrolytes onto Oxides- The Influence of Ionic Strength, Molar Mass, an Ca^{+2} Ions". *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 163, 45-53, (2000).
- [66] van Oss, C.J. *Interfacial Forces in Aqueous Media*, Marcel Dekker, Inc. New York (1994).
- [67] Arita, T.; Kanda, Y.; Higashitani, K. "In Situ Observation of Single Polymers Adsorbed onto Mica Surfaces in Water". *Journal of Colloid and Interface Science*, 273 (1), 102-105 (2004).
- [68] Frank, B.P.; Belfort, G. "Intermolecular Forces between Extracellular Polysaccharides Measured Using the Atomic Force Microscope". *Langmuir*, 13, 6234-6240 (1997).
- [69] Somasundaran, P.; Krishnakumar, S. "In Situ Spectroscopic Investigations of Adsorbed Surfactant and Polymer Layers in Aqueous and Non-Aqueous Systems". *Colloids and Surfaces, A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 93, 79-95 (1994).

- [70] Dilsiz, N.; Wightman, J.P. "Effect of Acid-Base Properties of Unsized and Sized Carbon Fibers on Fiber/Epoxy Matrix Adhesion". *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 164, 325-336 (2000).
- [71] Meyers, D. *Surfaces, Interfaces, and Colloids: Principles and Applications*, 2th ed., Wiley-VCH, (1999).
- [72] Adamson, A.W. *Physical Chemistry of Surfaces*, John Wiley & Sons, 5th ed. (1990).
- [73] Rosen, M. J. *Surfactants and Interfacial Phenomena*, 2th ed, John Wiley e Sons (1989)
- [74] van Oss, C.J. "Acid-Base Interfacial Interactions in Aqueous Media". *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 78, 1-49 (1993).
- [75] Oliveira, R. "Understanding Adhesion: A Means for Preventing Fouling". *Experimental Thermal and Fluid Science*, 14, 316-322 (1997).
- [76] Shaw, D. J. *Introduction to Colloid and Surface Chemistry*, 4th ed., Butterworth-Heinemann, (1992).
- [77] Good, R.; Islam, M.; Baier, R.E.; Meyer, A.E. "The Effect of Surface Hydrogen Bonding (Acid-Base Interaction) on the Hydrophobicity and Hydrophilicity of Copolymers : Variation of Contact Angles and Cell Adhesion and Growth With Composition". *Journal of Dispersion Science and Technology*, 19(6-7), 1163-1173 (1998).
- [78] Israelachvili, J.N. *Intermolecular and Surface Forces*. Academic Press (1989).
- [79] van Oss, C.J.; Arnold, K.; Good, R.J.; Gawrisch, K.; Ohki, S. "Interfacial Tension and the Osmotic Pressure of Solutions of Polar Polymers". *Journal of Macromolecular Science-Chemistry A*, 27(5), 563-580 (1990).
- [80] van Oss, C.J.; Good, R.J. " Prediction of the Solubility of Polar Polymers by Means of Interfacial Tension Combining Rules". *Langmuir*, 2877-2879 (1992).
- [81] van Oss, C.J.; Good, R.J.; Chaudhury, M.K. " The Role of van der Waals Forces and Hydrogen Bonds in Hydrophobic Interactions between Biopolymers and Low Energy Surfaces". *Journal of Colloid and Interface Science*, 111(2), 378-389 (1986).
- [82] Oliveira, R.; Melo, L.; Oliveira, A.; Salgueiro, R. "Polysaccharide Production and Biofilm Formation by *Pseudomonas Fluorescens*: Effect of pH and Surface Material". *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2, 41-46 (1994).
- [83] Kanaani, Y.M.; Adin, A.; Rav-Acha, Ch. "Biofilm Interactions in Water Reuse Systems: Adsorption of Polysaccharide to Kaolin." *Water Science and Technology*, 36 (3-4) (1992).
- [84] Prince, J.L.; Dickinson, R.B. "Kinetics and Forces of Adhesion for a Pair of Capsular Unencapsulated *Staphylococcus* Mutant Strains". *Langmuir*, 19, 154-159 (2003).
- [85] Rath, R.; Subramanian, S.; Laskowski, J.S. "Adsorption of Dextrin and Guar Gum onto Talc. A Comparative Study." *Langmuir*, 23 (13), 6260-6266 (1997).
- [86] Fowkes, F.M. "Additivity of Intermolecular Forces at Interfaces. I. Determination of The Contribution To Surface and Interfacial Tensions of Dispersion Forces in Various Liquids". *Journal of Physical Chemistry*, 67, 2538-2541 (1963).
- [87] Rankl, M.; Laib, S.; Seeger, S. "Surface Tension Properties of Surface-Coatings for Application in Biodiagnostics Determined by Contact Angle Measurements". *Colloid and Surfaces B: Biointerfaces*, 30, 177-186 (2003).

- [88] Gallardo-Moreno, A.M.; González-Martín M.L.; Bruque, J.M.; Pérez-Giraldo, C.; Gómez-García, A.C. "Temperature Influence on the Physicochemical Surface Properties and Adhesion Behaviour of *Enterococcus faecalis* to Glass and Silicone". *Journal of Adhesion Science Technology*, 16(9), 1215-1223 (2002).
- [89] Sandula, J.; Kogan, G.; Kacuráková, M.; Machova, E. "Microbial (1,3)- β -D-glucans, their Preparation, Physico-Chemical Characterization and Immunomodulatory Activity". *Carbohydrate Polymers*, 38, 247-253 (1999).
- [90] Lin-vien, D.; Colthrup, N.B.; Fately, W.G.; Grasseli, J.G. *The Handbook of Infrared and Raman Characteristic Frequencies of Organic Molecules*, Academic Press (1991).
- [91] Toda, S.; Sakai, A.; Kojima, Y. "On the Infrared Absorption Spectra of Zinc Stearate Complex". *Spectrochimica Acta*, 27A, 581-592 (1971).
- [92] Dubois, M.; Gilles, A.; Hamilton, J.K.; Rebers, P.A.; Smith, F. "Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances". *Analytical Chemistry*, 3 (28), 350-356 (1956).
- [93] Nagy, M. "The Close Analogy between the Preferential Solvation of Polymers in Mixed Solvents and Adsorption from Liquid Mixtures at Solid/Liquid Interfaces". *Langmuir*, 4, 93-96 (1988).
- [94] Dodd, J.W.; Tonge, K.H. *Thermal Methods. Analytical Chemistry by Open Learning*, John Wiley & Sons (1987).
- [95] Tsuneda, S.; Aikawa, H.; Hayashi, H.; Yuasa, A.; Hirata, A. "Extracellular Polymeric Substances Responsible for Bacterial Adhesion onto Solid Surface". *Fems Microbiology Letters*, 223, 287-292 (2003).
- [96] Jucker, B.A.; Harms, H.; Hug, S.J.; Zehnder, A.J.B. "Adsorption of Bacterial Surface Polysaccharides on Mineral Oxides is Mediated by Hydrogen Bonds". *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 9, 331-343 (1997).
- [97] Jenkins, P.; Ralston, J. "The Adsorption of a Polysaccharide at the Talc-Aqueous Solution Interface". *Colloids and Surfaces, A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 139, 27-40 (1998).
- [98] Page, M.; Lecourtier, J.; Noik, C. "Adsorption of Polyacrylamides and of Polysaccharides on Siliceous Materials and Kaolinite: Influence of Temperature". *Journal of Colloid and Interface Science*, 161, 45-454, (1993).
- [99] Sennerfors, T.; Solberg, D.; Tiberg, F. "Adsorption of Polyelectrolyte-Nanoparticle Systems on Silica: Influence of Ionic Strength". *Journal of Colloid and Interface Science*, 254, 222-226 (2002).
- [100] Mészáros, R.; Thompson, L.; Bos, M.Groot, P. "Adsorption and Electrokinetic Properties of Polyethylenimine on Silica Surfaces". *Langmuir*, 18, 6164-6169 (2002).
- [101] Nazbar, L. Pefferkorn, E.; Varoqui, R. "Polyacrylamide Sodium Kaolinite Interactions-Flocculation Behavior of Polymer Clay Suspensions". *Journal of Colloid and Interface Science*, 102(2), 380-388 (1984).
- [102] Kapsabelis, S.; Prestidge, C.A. "Adsorption of Ethyl(hydroxyethyl)cellulose onto Silica Particles: The Role of Surface Chemistry and Temperature". *Journal of Colloid and Interface Science*, 228, 297-305 (2000).
- [103] Bilinski, B.; Holysz, L. "Some Theoretical and Experimental Limitations in the Determination of Surface Free Energy of Siliceous Solids". *Powder Technology*, 102, 120-126 (1999).