

## UTILIZAÇÃO DO ACETATO DE CELULOSE PRODUZIDO A PARTIR DA CELULOSE EXTRAÍDA DO CAROÇO DE MANGA COMO MATRIZ PARA PRODUÇÃO DE SISTEMAS MICROPARTICULADOS

**Alisson Costa da Cruz, Carla da Silva Meireles, Sabrina Dias Ribeiro e Guimes Rodrigues Filho**

Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia, Campus Santa Mônica, Av. João Naves de Ávila, 2121, 38400-902 Uberlândia - MG, Brasil

**Rosana Maria Nascimento de Assunção\***

Faculdade de Ciências Integradas do Pontal, Universidade Federal de Uberlândia, Campus do Pontal, Av. José João Dib, 2545, 38302-000 Ituiutaba - MG, Brasil

**Daniel Alves Cerqueira**

Instituto de Ciências Ambientais e Desenvolvimento Sustentável, Universidade Federal da Bahia, Rua Prof. José Seabra, s/n, 47805-100 Barreira - BA, Brasil

**Mara Zeni e Patrícia Poletto**

Departamento de Física e Química, Universidade de Caxias do Sul, Rua Francisco Getúlio Vargas, 1130, 95001-970 Caxias do Sul - RS, Brasil

Recebido em 25/3/10; aceito em 24/9/10; publicado na web em 7/1/11

UTILIZATION OF CELLULOSE ACETATE PRODUCED FROM MANGO SEED CELLULOSE AS MATRIX FOR PRODUCTION OF MICROPARTICLES SYSTEMS. Cellulose acetate produced from mango seed fibers cellulose was used as a matrix for preparation of microparticles empty and load with acetaminophen (Paracetamol) in order to evaluate the incorporation of an active agent during the formation of microparticles. The microparticles are characterized by Fourier Transformed Infrared spectroscopy (FTIR), Differential Scanning Calorimetry (DSC) and Scanning Electron Microscopy (SEM). The incorporation of paracetamol can be confirmed by the change in value of glass transition temperature ( $T_g$ ). The formation of microparticles spherical was observed by SEM and showed an average diameter of 1.010 and 0.950  $\mu\text{m}$  for empty and load microparticles respectively.

Keywords: mango seed cellulose; cellulose acetate; microparticles.

### INTRODUÇÃO

Vários polímeros vêm sendo investigados como matrizes para produção de micropartículas visando a liberação controlada de fármacos.<sup>1</sup> Aspectos como a escolha da matriz polimérica e o processamento são de fundamental importância em relação à capacidade de incorporação da substância bioativa, cinética de liberação e produção de sistemas de tamanho reduzido com maior área superficial. Estes sistemas permitem a liberação do fármaco no sítio alvo com aumento dos benefícios terapêuticos e diminuição dos efeitos colaterais. Existem vários métodos de produção de micropartículas a partir do polímero pré-formado, com destaque para o método de evaporação por solvente. Neste método, o polímero é dissolvido em um solvente imiscível em água (fase orgânica) e a espécie bioativa dispersa ou dissolvida na solução polimérica. A dispersão resultante é, então, emulsificada em uma fase aquosa contendo um agente emulsificante como o polietilenoglicol (PEG) ou álcool polivinílico (PVA) para formar gotas discretas. As micropartículas são formadas por evaporação do solvente na interface água/ar.<sup>2</sup> Neste caso, onde o fármaco é solúvel na mesma fase do polímero, uma emulsão óleo (solvente orgânico-polímero-fármaco)/água (água e emulsificante) (O/A) é produzida. Para a dispersão de fármacos solúveis em água são produzidas duas emulsões: água (solução aquosa do fármaco/óleo (solução polimérica) e, posteriormente, a adição destas misturas à fase aquosa com o emulsificante dissolvido formado uma emulsão água/óleo/água (A/O/A).<sup>2</sup>

Os ésteres de celulose têm um papel vital no desenvolvimento destes sistemas por apresentarem propriedades, tais como baixa toxicidade, boa estabilidade, elevada permeação à água, elevada temperatura de transição vítrea  $T_g$ , produção de filmes resistentes, compatibilidade com uma série de agentes ativos e habilidade para a formação de micro e nanopartículas.<sup>3</sup> Entre os ésteres de celulose, o acetato de celulose tem um grande apelo comercial por ser um polímero que pode ser produzido facilmente a partir de reações de acetilação da celulose pela rota homogênea ou heterogênea usando ácido acético como solvente, ácido sulfúrico como catalisador e anidrido acético como agente acetilante. Na rota heterogênea o tolueno é empregado durante a síntese como agente não inchante.<sup>4,5</sup> Outros aspectos responsáveis pelo apelo comercial do acetato de celulose são a fácil processabilidade a partir de soluções produzidas com solventes orgânicos e a biodegradabilidade, dependendo do grau de substituição.<sup>6</sup>

O Grupo de Reciclagem de Polímeros do IQUFU vem demonstrando ao longo dos anos a viabilidade de se transformar resíduos agroindustriais, como o bagaço de cana-de-açúcar, em derivados celulósicos, como o acetato de celulose e a metilcelulose.<sup>4,5,7-9</sup> Em trabalho recente, o acetato de celulose produzido a partir do bagaço de cana-de-açúcar foi utilizado como membranas para o aprisionamento e posterior liberação controlada do antibiótico doxícilina.<sup>10</sup> A dispersão do fármaco através da matriz ocorre de forma homogênea quando este é dissolvido junto à solução polimérica antes da formação da membrana, com uma incorporação de 90% da doxícilina adicionada. Um dos aspectos importantes em relação ao uso do acetato de celulose produzido a partir da celulose do bagaço de cana como matriz, neste estudo, é a não toxicidade do polímero verificada em ensaios de citotoxicidade.<sup>11</sup>

\*e-mail: rosanassuncao@gmail.com

Recentemente, a celulose do caroço de manga foi utilizada como fonte alternativa na produção de acetato de celulose para confecção de membranas.<sup>12</sup> Este resíduo da indústria de sucos tem sido descartado ou queimado, recebendo até então pouco interesse do ponto de vista do seu aproveitamento. O Brasil é hoje o terceiro maior produtor mundial de frutas atingindo cerca de 1,3 milhões de toneladas de manga, sendo que para cada tonelada de manga 40% são de caroço.

Considerando estes aspectos, neste trabalho o acetato de celulose produzido a partir da celulose extraída do caroço de manga será utilizado como matriz para produção de micropartículas vazias e carregadas com paracetamol. Os materiais de partida, caroço de manga e celulose, foram caracterizados através de análises quanto ao conteúdo de celulose e lignina, além da espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). O acetato de celulose foi avaliado quanto ao grau de substituição. As micropartículas produzidas foram caracterizadas em relação ao tamanho e regularidade, através da análise das microscopias eletrônicas de varredura (MEV), e em relação à dispersão e interação do fármaco na matriz polimérica, através da avaliação dos espectros na região do infravermelho, calorimetria exploratória diferencial (DSC) e análise termogravimétrica (TGA).

## PARTE EXPERIMENTAL

### Purificação e caracterização do caroço de manga

A purificação do caroço de manga foi realizada segundo Rodrigues Filho *et al.*,<sup>7</sup> com modificações conforme descrito a seguir. O caroço lavado, seco e moído foi colocado em refluxo com 3 porções sucessivas de uma mistura 20% v/v de ácido nítrico e etanol. A cada hora a mistura reacional foi trocada e o material lavado com água destilada. Após 3 h de refluxo a mistura foi filtrada e lavada com água destilada, até que a solução da lavagem estivesse incolor. Em seguida, o material foi colocado em uma solução de NaOH 1 mol L<sup>-1</sup> por 24 h, após este período a mistura foi novamente lavada e neutralizada com uma solução de ácido acético 10%. O caroço foi colocado para secar em estufa a 105 °C durante 3 h. Depois de seco, foi triturado em um liquidificador.

A caracterização do caroço de manga original e após a purificação foi realizada pela determinação do teor de celulose e lignina Klason, conforme procedimento descrito por Vieira.<sup>8</sup>

A massa molecular da celulose foi determinada por viscosimetria norma técnica brasileira NBR 7730.<sup>13</sup>

### Síntese do acetato de celulose

A reação de acetilação foi realizada usando como solvente ácido acético, como agente acetilante o anidrido acético e catalisador o ácido sulfúrico, conforme descrito por Meireles *et al.*<sup>12</sup> O grau de substituição foi determinado por uma reação de saponificação.<sup>7</sup>

### Preparação de micropartículas de acetato de celulose usando o método de evaporação de solvente<sup>2</sup>

Devido à elevada solubilidade do paracetamol em água, a produção das micropartículas foi realizada em 2 estágios. No primeiro, 0,01 g de paracetamol foram dissolvidos em 2,0 mL de água destilada. Esta solução foi adicionada lentamente sobre uma solução de 0,1000 g de triacetato de celulose em 15 mL de diclorometano. A fase orgânica estava sob vigorosa agitação, o que permitiu a formação de uma emulsão A/O. Esta emulsão foi adicionada lentamente, sob vigorosa agitação, a 100,0 mL de solução aquosa contendo 1,5% de álcool polivinílico (PVA), com a produção de uma nova emulsão (A/O/A). Após a emulsificação, a solução foi submetida à agitação

(placa agitação magnética) até a total evaporação do diclorometano e a precipitação de glóbulos de finas partículas fármaco/polímero.

### Caracterização dos materiais originais e micropartículas produzidas

#### Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR)

As análises foram realizadas utilizando-se um equipamento IR Prestige-Shimadzu com resolução de 4 cm<sup>-1</sup>. Foram feitas 20 varreduras em pastilhas de KBr (1/100 m/m).

#### Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

As análises foram realizadas em um equipamento Q-20, TA Instruments. Utilizaram-se painéis de alumínio seladas com cerca de 10 mg de amostra. A velocidade de aquecimento utilizada foi 10 °C min<sup>-1</sup> em atmosfera de nitrogênio a 50 cm<sup>3</sup> min<sup>-1</sup>.

#### Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Uma suspensão com as micropartículas produzidas foi gotejada sobre o porta-amostras e posteriormente armazenada em um dessecador até evaporação do solvente. Após a secagem do solvente o sistema foi metalizado com ouro. A morfologia da superfície das partículas foi avaliada em um microscópio eletrônico de varredura modelo SSX-550 Shimadzu operando a 10 kV. Este experimento foi realizado no laboratório de microscopia da Universidade de Caxias do Sul.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Caracterização do material de partida

Neste trabalho, o acetato de celulose produzido a partir da acetilação da celulose obtida das fibras do caroço de manga foi utilizado como matéria-prima na confecção de micropartículas. Recentemente,<sup>10</sup> o mesmo polímero produzido a partir da celulose do bagaço de cana-de-açúcar foi utilizado com sucesso na incorporação do fármaco doxíciclina em membranas. Um aspecto fundamental no uso da celulose de fontes alternativas para produção de derivados de celulose é a qualidade da matéria-prima do ponto de vista da pureza; neste sentido, o teor de celulose deve ser superior a 85% com remoção o mais eficiente possível da lignina, sem redução elevada da massa molecular da celulose durante o processo de extração. Considerando estes aspectos a fibra do caroço de manga foi caracterizada quanto ao teor de celulose, lignina e massa molecular viscosimétrica média; os resultados estão resumidos na Tabela 1.

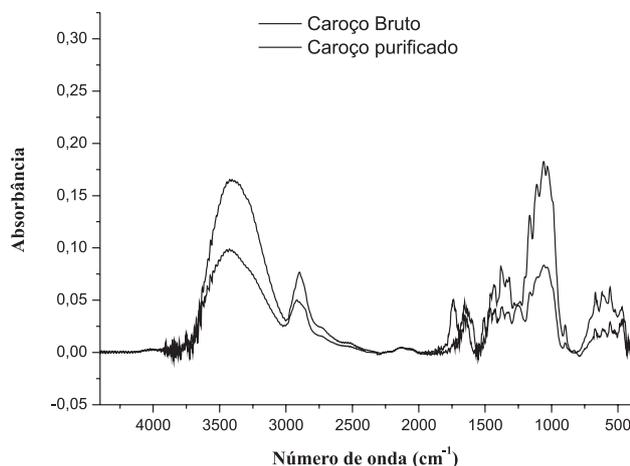
**Tabela 1.** Porcentagem de celulose e lignina presentes na fibra do caroço de manga bruta e deslignificada

Amostra	(%) Celulose	(%) Lignina
Caroço original	59,98 ± 0,1	26,6 ± 1,0
Caroço purificado	97,83 ± 0,50	0,2 ± 0,03
Massa molecular da celulose do caroço purificado	98.000 g mol <sup>-1</sup>	

O teor de celulose para a fibra do caroço original, de cerca de 60%, é superior aos encontrados para outros resíduos agroindustriais, como o bagaço de cana-de-açúcar (cerca de 40% de celulose), sabugo de milho (cerca de 30% de celulose), palha de arroz (43% de celulose) entre outros, sendo ainda superior ou igual à porcentagem de celulose na madeira (cerca de 50%).<sup>14</sup> Após a realização do processo de deslignificação além do elevado teor de celulose, a fibra deslignificada apresenta massa molecular viscosimétrica média de 98.000 g mol<sup>-1</sup>. Devido à hidrólise parcial da celulose durante as reações de aceti-

lação, é importante que a celulose apresente uma massa molecular de moderada a elevada, que permita que as reações de acetilação ocorram sem degradação excessiva da celulose durante o processo.

Os espectros na região do infravermelho, mostrados na Figura 1, apresentam o perfil típico esperado para materiais lignocelulósicos e confirmam os resultados apresentados na Tabela 1 quanto ao teor de lignina na celulose, uma vez que algumas bandas atribuídas à presença da lignina não aparecem ou têm sua intensidade muito reduzida, como as bandas em  $1728\text{ cm}^{-1}$  atribuída ao estiramento C=O não conjugado ao anel aromático,  $1515\text{ cm}^{-1}$  atribuída ao estiramento C-C de anéis aromáticos na lignina,  $1278$  e  $810\text{ cm}^{-1}$  atribuídas ao estiramento C-O de anéis guaiacilícos.<sup>15,16</sup> Este fato está de acordo com o baixo teor de lignina retido na celulose após purificação.



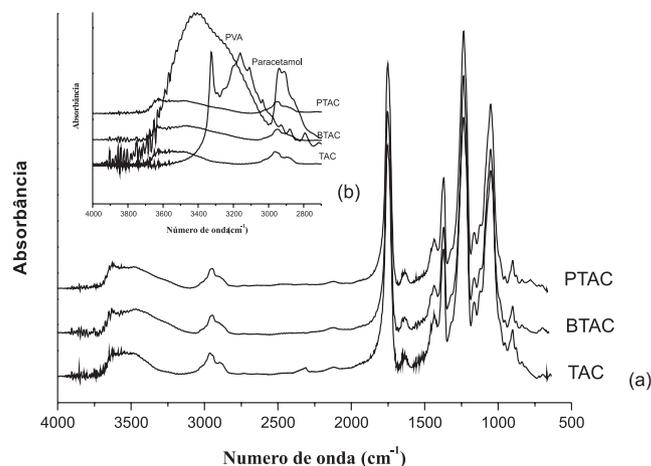
**Figura 1.** Espectro na região do infravermelho para caroço de manga original e celulose extraída do caroço

### Caracterização do acetato de celulose e das micropartículas produzidas

O acetato de celulose produzido a partir da celulose extraída do caroço de manga possui um grau de substituição (GS) de 2,87, valor característico de um triacetato de celulose, fato confirmado através do perfil típico do espectro na região do infravermelho apresentado na Figura 2a (TAC). As principais bandas que caracterizam a acetilação da celulose do caroço de manga e o grau de substituição do derivado são: a presença de conjunto de bandas de baixa intensidade na região de  $3700$  a  $3100\text{ cm}^{-1}$  atribuídas aos grupos hidroxilas remanescentes na estrutura do polímero, uma banda intensa em  $1750\text{ cm}^{-1}$  atribuída ao estiramento da ligação C=O do grupo éster e uma banda intensa em  $1230\text{ cm}^{-1}$  atribuída ao estiramento da ligação C-O.<sup>17</sup> O envelope da banda na região de  $3700$  a  $3100\text{ cm}^{-1}$  e sua baixa intensidade em relação à intensidade da banda atribuída ao grupo carbonila é uma confirmação qualitativa do grau de substituição do polímero.

A incorporação do fármaco foi avaliada qualitativamente a partir das técnicas de espectroscopia na região do infravermelho (FTIR) e calorimetria exploratória diferencial (DSC), uma vez que estas técnicas permitem confirmar a incorporação do fármaco assim como investigar a natureza da interação entre o fármaco e a matriz polimérica.<sup>1</sup>

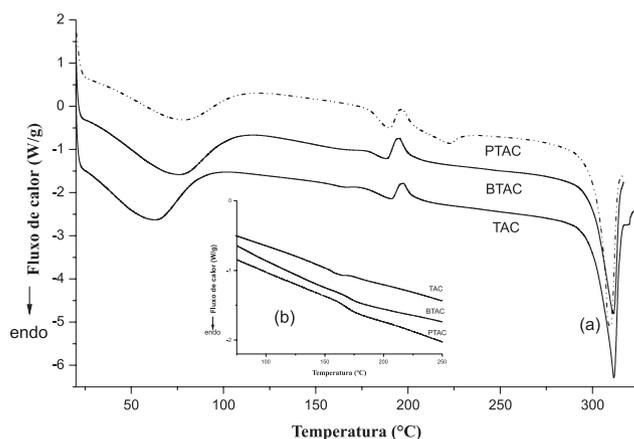
A Figura 2a apresenta ainda os espectros na região do infravermelho para as micropartículas vazias (BTAC) e carregadas (PTAC). Observa-se praticamente uma repetição do perfil do espectro do TAC em relação aos espectros das micropartículas, entretanto, uma pequena alteração pode ser observada na região de  $4000$  a  $2700\text{ cm}^{-1}$  (destaque Figura 2b), com aparecimento de um ombro próximo a  $3300\text{ cm}^{-1}$  nos espectros das micropartículas. Esta mudança no perfil da banda pode estar relacionada à retenção de PVA durante a preparação, embora as quantidades retidas



**Figura 2.** a) Espectros na região do infravermelho para o triacetato de celulose (TAC), micropartícula de TAC vazia (BTAC) e micropartícula carregada com paracetamol (PTAC); b) destaque da região de  $4.000$  a  $2.700\text{ cm}^{-1}$  para TAC, BTAC, PTAC, PVA e paracetamol

sejam residuais, uma vez que o PVA apresenta uma banda larga e intensa nesta região e não se observam aumentos significativos na intensidade das bandas analisadas nos espectros das micropartículas. O espectro do paracetamol apresenta duas bandas intensas atribuídas ao estiramento da ligação O-H em  $3324$  e  $3162\text{ cm}^{-1}$ .<sup>18</sup> Estas bandas podem aparecer como ombros ou um aumento na intensidade da banda de estiramento da ligação O-H do polímero indicando, neste caso, a presença do fármaco na matriz no caso da micropartícula (PTAC).

A Figura 3a (TAC) apresenta o termograma para o acetato de celulose. Os principais eventos térmicos observados são uma endoterma centrada em  $61\text{ °C}$  associada à desorção de água ligada à estrutura do derivado celulósico, um pico exotérmico por volta de  $196\text{ °C}$  que está associado à cristalização do polímero durante a varredura e uma endoterma em aproximadamente  $310\text{ °C}$  atribuída à fusão do TAC.<sup>19</sup>



**Figura 3.** Termogramas de DSC: triacetato de celulose (TAC), micropartícula de TAC vazia (BTAC) e micropartícula carregada com paracetamol (PTAC), (a) primeira varredura e (b) segunda varredura

A associação do fármaco com a matriz pôde ser confirmada a partir da análise dos termogramas de DSC, em primeira varredura, Figura 3a, e segunda varredura, Figura 3b, para o triacetato de celulose (TAC), micropartículas vazias (BTAC) e carregadas (PTAC). O perfil observado na primeira varredura, Figura 3a, é o mesmo para todas as amostras indicando qualitativamente que não existem alterações. Entretanto, quantitativamente é possível se observar diferenças em relação a alguns eventos térmicos, particularmente a temperatura de

**Tabela 2.** Dados obtidos a partir dos termogramas de DSC

Amostras	Parâmetros quantitativos		
	T H <sub>2</sub> O (°C)	ΔH fusão (kJ g <sup>-1</sup> )	Tg (°C)
TAC	62,51	30,17	155,56
BTAC	74,85	26,27	170,66
PTAC	77,34	26,54	166,93

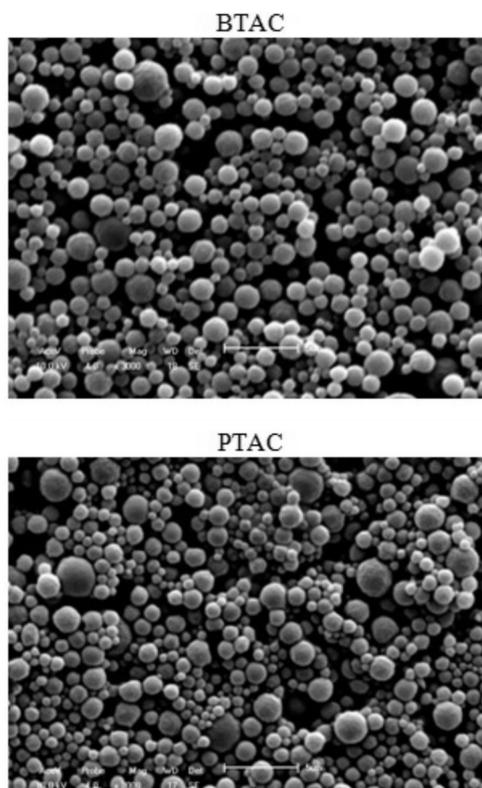
saída de água e a temperatura de transição vítrea, Tg, (Figura 3b), os dados estão resumidos na Tabela 2.

Na Tabela 2, os valores de temperatura de saída de água das micropartículas são deslocados para temperaturas mais altas em relação ao polímero original. O aumento da temperatura indica que a água está mais fortemente retida na estrutura, o que pode ser explicado por um aumento de rigidez do sistema com a formação das micropartículas. Este dado está intimamente ligado ao processamento assim como a variação observada na entalpia de fusão das amostras. Observa-se uma diminuição de 12% na entalpia de fusão da matriz após a produção das micropartículas; esta diminuição indica que o processamento leva a um pequeno desordenamento do sistema. Esta diminuição na cristalinidade é um dos fatores que pode ser favorável à difusão de fármacos através da matriz e sua liberação no meio.

A incorporação do fármaco pode ser confirmada qualitativamente através da análise dos valores da temperatura de transição vítrea, Tg (segunda varredura, Figura 3b), apresentados na Tabela 2. O aumento no valor da Tg para as micropartículas confirma o aumento de rigidez da matriz. A incorporação do fármaco, no entanto, causa uma diminuição no valor da Tg das micropartículas em comparação às micropartículas vazias; este fato, além de confirmar a incorporação do fármaco, mostra a existência de interação fármaco – matriz que leva a um aumento de mobilidade do sistema em relação ao que se observou para as micropartículas vazias. Um aspecto importante que pode ser salientado é o fato de que não se observa nos termogramas de DSC um processo de fusão referente ao fármaco. Este fato indica que o fármaco está disperso na matriz de forma homogênea e que não existe a formação de agregados. Um dos fatores responsáveis por este resultado pode estar relacionado à baixa concentração de fármaco utilizada em relação à massa de polímero, 10%.

O triacetato de celulose é um polímero facilmente processável na forma de membranas através do espalhamento de soluções, com o uso de solventes como o diclorometano. Para produção de micropartículas a partir deste sistema o método mais adequado é o de evaporação de solvente, onde a fase orgânica (polímero+fármaco) é dispersa em pequenas gotículas sob uma solução aquosa de um agente emulsificante (álcool polivinílico e polietilenoglicol).<sup>2</sup> Após a evaporação do solvente, as gotículas dispersas resultam na formação de micropartículas. Como o paracetamol, fármaco utilizado como modelo, é pouco solúvel em solventes orgânicos uma emulsão água (solução aquosa de paracetamol)/óleo (fase orgânica formada pelo polímero + solvente) é produzida. Esta emulsão água/óleo (A/O) é, então, adicionada sob agitação a uma solução aquosa do álcool polivinílico. Após a evaporação do solvente, são formadas micropartículas vazias e carregadas, cuja morfologia pode ser observada nas microscopias eletrônicas de varredura (MEV) apresentadas na Figura 4.

Observa-se em ambos os casos a formação de micropartículas esféricas com diâmetro médio de 1,01 μm para as micropartículas vazias e de 0,95 μm para as micropartículas carregadas. Este fato demonstra que a matriz polimérica produzida a partir das fibras do caroço de manga e o processamento são eficazes na produção de sistemas carreadores miniaturizados.



**Figura 4.** Microscopias eletrônicas de varredura para as micropartículas produzidas: BTAC (micropartículas vazias) e PTAC (micropartículas com paracetamol) 3000X

## CONCLUSÃO

Foi possível produzir micropartículas de acetato de celulose produzida a partir da celulose extraída das fibras do caroço de manga. As micropartículas produzidas são esféricas, possuem um aspecto rígido e suas dimensões variam entre 0,5 a 1 μm (500 a 1000 nm). O processamento modifica algumas propriedades da matriz, com o aumento de rigidez do sistema observado através do aumento no valor da Tg em relação ao polímero original e diminuição da cristalinidade em cerca de 12,0%, fato que favorecerá o transporte do fármaco durante sua liberação. Na produção de micropartículas incorporadas com um fármaco teste, o paracetamol, sua incorporação foi confirmada através das mudanças das propriedades térmicas da matriz, com o fármaco atuando como um agente plastificante, diminuindo a temperatura de transição vítrea do polímero em relação à Tg observada para as micropartículas vazias, indicando claramente a incorporação do fármaco e sua interação com a matriz polimérica.

## AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pelo Projeto Casadinho UFU/UFG/UFMS (620181/2006-0), à CAPES pelo acesso ao “Portal Periódicos”, à Finep/Sebrae pelo projeto 0535/07 ref 3119/06. C. da S. Meireles agradece à CAPES pela bolsa de doutorado e S. D. Ribeiro agradece ao CNPq pela bolsa de Iniciação científica (PIBIC 0032/2008).

## REFERÊNCIAS

- Schaffazick, S. R.; Guterres, S. S.; Freitas, L. L.; Pohlmann, A. R.; *Quim. Nova* **2003**, *26*, 726.
- O'Donnell, P. B.; McGinity, J. W.; *Adv. Drug Delivery Rev.* **1997**, *28*, 25.

3. Edgar, K. J.; *Cellulose* **2007**, *14*, 49.
4. Cerqueira, D. A.; Rodrigues Filho, G.; Meireles, C. S.; *Carbohydr. Polym.* **2007**, *69*, 579.
5. Cerqueira, D. A.; Valente, A. J. M.; Rodrigues Filho, R.; Burrows, H. G.; *Carbohydr. Polym.* **2009**, *78*, 402.
6. Samios, E.; Dart, R. K.; Dawkins, J. V.; *Polymer* **1997**, *38*, 3045.
7. Rodrigues Filho, G.; Cruz, S. F.; Pasquini, D.; Cerqueira, D. A.; Prado, V. S.; Assunção, R. M. N.; *J. Memb. Sci.* **2000**, *177*, 225.
8. Vieira, R. G. P.; Rodrigues Filho, G.; Assunção, R. M. N.; Meireles, C. S.; Vieira, J. G.; Oliveira, G. S.; *Carbohydr. Polym.* **2007**, *67*, 182.
9. Rodrigues Filho, G.; Assunção, R. M. N.; Vieira, J. G.; Meireles, C. S.; Cerqueira, D. A.; Barud, H. S.; Ribeiro, S. J. L.; Messaddeq, Y.; *Polym. Degrad. Stab.* **2007**, *92*, 205.
10. Rodrigues Filho, G.; Toledo, L. C.; Silva, L. G.; Assunção, R. M. N.; Meireles, C. S.; Cerqueira, D. A.; Ruggiero, R.; *J. Appl. Polym. Sci.* **2009**, *113*, 3544.
11. Rodrigues Filho, G.; Toledo, L. C.; Cerqueira, D. A.; Assunção, R. M. N.; Meireles, C. da S.; Otaguro, H.; Rogero, S. O.; Lugão, A. B.; *Polym. Bull.* **2007**, *59*, 73.
12. Meireles, C. S.; Rodrigues Filho, G.; Ferreira Junior, M. F.; Cerqueira, D. A.; Assunção, R. M. N.; Ribeiro, E. A. M.; Poletto, P.; Zeni, M.; *Carbohydr. Polym.* **2010**, *80*, 954.
13. ABNT – *Associação Brasileira de Normas Técnicas; NBR 7730*.
14. Tamanini, C.; Haully, M. C. O.; *Semina: Ciências Agrárias, Londrina* **2004**, *25*, 315.
15. Pandey, K. K.; Pitman, A. I.; *Int. Biodet. Biodegr.* **2003**, *52*, 151.
16. Tejado, A.; Pena, C.; Labidi, J.; Echeverria, J. M.; Mondragon, I.; *Bioresour. Technol.* **2007**, *98*, 1655.
17. He, J.; Zhang, M.; Cui, S.; Wang, S. Y.; *J. Appl. Polym. Sci.* **2009**, *113*, 456.
18. Wang, S. L.; Lin, S. Y.; Wei, Y. S.; *Chem. Pharm. Bull.* **2002**, *50*, 153.
19. Shaikh, H. M.; Pandare, K. V.; Nair, G.; Varma, A. J.; *Carbohydr. Polym.* **2009**, *76*, 23.