



## **Filmes finos com nanopartículas metálicas para a desinfecção de efluentes industriais**

**Fabiana Zarpelon <sup>1</sup>, Janaina da Silva Crespo <sup>2</sup>, Marcelo Giovanela <sup>3</sup>**

<sup>1</sup> Universidade de Caxias do Sul (fabizarpelon@yahoo.com.br)

<sup>2</sup> Universidade de Caxias do Sul (jscrespo@ucs.br)

<sup>3</sup> Universidade de Caxias do Sul (mgiovan1@ucs.br)

### **Resumo**

Os recentes avanços em Nanotecnologia fizeram o campo da Nanociência uma das áreas mais promissoras nas últimas duas décadas, despertando o interesse de vários pesquisadores no âmbito das aplicações dos nanomateriais em questões relacionadas ao meio ambiente. Particularmente, o seu potencial para revolucionar processos convencionais de tratamento de água foi enunciado recentemente. Muitos estudos têm avaliado a eficiência bactericida de nanopartículas de prata (AgNPs) e nanopartículas de cobre (CuNPs), uma vez que ambas apresentam atividade inibitória contra uma ampla gama de micro-organismos. Neste contexto, sistemas automontados através da técnica layer-by-layer (LbL) são considerados um bom meio para a incorporação de nanopartículas metálicas. Assim, o presente trabalho teve por objetivo preparar e caracterizar filmes finos obtidos a partir de soluções de polieletrólitos fracos (hidroclorato de polialilamina – PAH, e poliácido acrílico – PAA) com AgNPs e CuNPs, e reticulados com glutaraldeído, visando o desenvolvimento de novos materiais que possam ser utilizados como agentes bactericidas na desinfecção de efluentes industriais. Os resultados preliminares mostraram que as AgNPs são mais eficientes do que as CuNPs na redução dos coliformes totais presentes na amostra de efluente industrial tratado.

Palavras-chave: Nanopartículas Metálicas. Filmes Finos. Desinfecção de Efluentes Industriais.

Área Temática: Águas residuais

## **Thin films with metallic nanoparticles in the disinfection of industrial wastewaters**

### **Abstract**

*The recent advances in Nanotechnology did the field of Nanoscience one of the most promising areas in the past two decades, attracting several researchers in the context of applications of nanomaterials on issues related to the environment. Particularly, the potential to revolutionize conventional treatment processes of water was recently stated. Many studies have evaluated the efficacy of antibacterial silver (AgNPs) and copper nanoparticles (CuNPs), since both nanoparticles show high inhibitory activity against a wide range of microorganisms. In this regard, systems using the layer-by-layer technique (LbL) are considered a good way of incorporating metal nanoparticles. Therefore, the present study aimed to prepare and characterize thin films obtained from solutions of weak polyelectrolytes (polyallylamine hydrochloride – PAH, and polyacid acrylic – PAA) with AgNPs e CuNPs, crosslinked with glutaraldehyde, aiming to develop new materials that could be used as a bactericidal agents in the disinfection of industrial wastewaters. Preliminary results showed that AgNPs are more efficient than CuNPs in the reduction of total coliform bacteria present in the treated industrial wastewater sample.*

*Keywords: Metallic Nanoparticles. Thin Films. Industrial Wastewater Disinfection.*

*Theme Area: Residual Waters*



## 1 Introdução

Atualmente, cerca de 780 milhões de pessoas estão sofrendo com a escassez de água e, de acordo com os especialistas, em 2025, estima-se que 1,8 bilhões de pessoas não terão acesso à água potável (QU et al., 2013). Em todo o mundo, o sistema de abastecimento de água se esforça para acompanhar o rápido crescimento da demanda, o que é agravado pelo crescimento da população, pelas mudanças climáticas e pela deterioração da qualidade dos corpos hídricos (QU et al., 2013). A maior parte dos reservatórios naturais de água está contaminada com bactérias patogênicas (OVES, et al., 2015) e essa é uma das principais causas para a transmissão de doenças em todo o mundo, o que tem representado uma grande ameaça para a saúde pública. Portanto, há uma necessidade urgente em se desenvolver tecnologias de tratamento de água de baixo custo e que sejam eficientes na remoção dessas bactérias (LIU et al., 2014). Aproximadamente 12 milhões de pessoas morrem anualmente, devido a doenças transmitidas pela água (WHO, 2012). Diferentes técnicas são utilizadas para a desinfecção da água, tais como a cloração (NOUTSOPOULOS et al., 2015), o tratamento por radiação ultravioleta (UV) (VAFERI, et al., 2014) e a ozonização (SZYMANSKA et al., 2014), mas essas técnicas têm, dentre outros problemas, limitações na implementação em larga escala.

Em pouco mais de 15 anos, a Nanotecnologia propiciou o desenvolvimento de uma vasta gama de novas tecnologias para aplicações domésticas e industriais, que vão desde a liberação controlada de medicamentos até novos métodos para o tratamento de águas contaminadas. A aplicação de materiais em escala nanométrica, por exemplo, permitiu melhorar os métodos de tratamento de resíduos, incluindo a redução ou eliminação de contaminantes presentes na água (OVES et al., 2015).

O interesse em nanopartículas metálicas como agentes antimicrobianos vem crescendo nas últimas décadas. O grande número de partículas que podem ser sintetizadas e a elevada área superficial permitem que as nanopartículas sejam extremamente eficientes em quantidades muito pequenas (SUNDARESAN et al., 2012). Nanopartículas de prata (AgNPs), por exemplo, têm sido amplamente utilizados na desinfecção microbiológica, uma vez que as mesmas apresentam ação bactericida contra uma ampla faixa de micro-organismos como bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, fungos e vírus (MARAMBIO-JONES & HOEK, 2010). As nanopartículas de cobre (CuNPs), por outro lado, apresentam baixa toxicidade para mamíferos, mas são tóxicas para diversos micro-organismos, o que implica em novas perspectivas para a desinfecção de águas contaminadas (ZAIN et al., 2014).

Neste contexto, os filmes automontados com polieletrólitos de cargas opostas ganharam um considerável interesse científico, devido às suas inúmeras aplicações (FERREIRA et al., 2004; CHENG et al., 2005). Um dos métodos mais utilizados para a fabricação desses materiais baseia-se na automontagem de multicamadas poliméricas diferenciadas por meio da técnica de camada por camada (do inglês “*layer-by-layer*” – LbL). Esses sistemas automontados são considerados um bom meio para nanopartículas, devido à facilidade de controle das propriedades dos mesmos, possibilitando a produção de materiais com características diferentes.

Assim, o presente trabalho teve por objetivo preparar e caracterizar filmes finos obtidos a partir de soluções de polieletrólitos fracos (hidrocloro de polialilamina – PAH, e políacido acrílico – PAA) com AgNPs e CuNPs, e reticulados com glutaraldeído, visando o desenvolvimento de novos materiais que possam ser utilizados como agentes bactericidas na desinfecção de efluentes industriais.



## 2 Metodologia

### 2.1 Preparação dos Filmes Finos

As lâminas de vidro foram inicialmente imersas em uma solução aquosa de PAH  $1,0 \times 10^{-2}$  mol/L ( $M_w = 15\,000$  g/mol, Aldrich-Sigma) durante 15 min sendo, em seguida, retiradas da solução e lavadas por imersão em água deionizada durante 2, 1, e 1 min, consecutivamente. Na sequência, as lâminas foram imersas em outra solução aquosa de PAA de mesma concentração ( $M_w = 345\,000$  g/mol, Polysciences) durante 15 min, sendo lavados em água deionizada de maneira análoga ao que foi descrito anteriormente.

As multicamadas foram obtidas a partir de soluções aquosas compostas por  $(PAH_x/PAA_{4,0})_{21}$ , onde  $x$  e 4,0 são os valores de pH das soluções do polycation e do poliânion durante a montagem dos filmes, respectivamente; e 21 é o número de camadas. Os filmes foram preparados para duas combinações de experimentos:  $(PAH_{4,0}/PAA_{4,0})_{21}$  e  $(PAH_{8,0}/PAA_{4,0})_{21}$ . A escolha do pH das soluções e da quantidade de camadas foi feita com base no trabalho de Machado et al. (2011) em que se observou que para filmes produzidos com os mesmos polieletrólitos, e em condições semelhantes, nanopartículas de ouro concentravam-se preferencialmente na superfície dos mesmos.

### 2.2 Preparação das Soluções de Prata e Cobre com Citrato de Sódio para Irradiação na Luz UV

A solução aquosa utilizada para reduzir íons  $Ag^+$  em AgNPs através da irradiação com luz UV (254 nm) foi composta por 50 mL de nitrato de prata 0,2196 mmol/L e 40 mL de citrato de sódio 0,2745 mmol/L.

A solução aquosa utilizada para reduzir íons  $Cu^{2+}$  em CuNPs através da irradiação com luz UV (254 nm) foi composta por 50 mL de sulfato de cobre (II) pentaidratado 37,8 mmol/L e 40 mL de citrato de sódio 0,2745 mmol/L.

### 2.3 Formação das AgNPs e CuNPs nos Filmes

Os filmes  $(PAH_{4,0}/PAA_{4,0})_{21}$  e  $(PAH_{8,0}/PAA_{4,0})_{21}$  foram imersos durante 4 h em uma solução de nitrato de prata e sulfato de cobre (II) pentaidratado com citrato de sódio, respectivamente, sendo em seguida removidos e enxaguados por 30 s em água deionizada. A redução foi efetuada com o auxílio de uma lâmpada de UV com comprimento de onda de 254 nm (Ushio Inc., UER20-172 V) durante 24 h, o que propiciou a formação de AgNPs e CuNPs.

### 2.4 Reticulação dos Filmes com Glutaraldeído

Visando minimizar a solubilidade dos filmes em meio aquoso, os mesmos foram reticulados com o auxílio de uma solução aquosa de glutaraldeído 2,5% (v/v) por 30 min, à temperatura ambiente e ao abrigo da luz, sendo em seguida enxaguados em água deionizada durante 30 s e posteriormente secos por 24 h.

### 2.5 Caracterização dos Filmes com Nanopartículas

Os filmes contendo as nanopartículas foram inicialmente caracterizados por meio da técnica de espectroscopia de absorção molecular na região do UV-Vis em um espectrofotômetro Thermo Scientific Evolution 60 na faixa de comprimento de onda situada entre 200 e 800 nm. O branco foi medido com uma lâmina de vidro contendo apenas os filmes de PAH/PAA reticulados com glutaraldeído. As amostras foram identificadas com a sigla AB,



onde  $A$  e  $B$  representam os valores de pH das soluções de PAH e PAA durante a montagem dos filmes, respectivamente.

## 2.6 Desinfecção do Efluente Industrial

### 2.6.1 Contagem de *Escherichia coli* e Coliformes Totais

A contagem de coliformes totais foi realizada no Laboratório de Análise e Pesquisa em Alimentos (LAPA) da UCS, de acordo com o Método 991.14 por Petrifilm da AOAC 19ª edição (2012).

O método baseia-se na inoculação das diluições desejadas das amostras a 35° C por 24 h para leitura de coliformes totais e reincubação, na mesma temperatura, por mais 24 h para leitura de *Escherichia coli*.

### 2.6.2 Utilização dos Filmes com Nanopartículas na Desinfecção de um Efluente Industrial

A avaliação da eficiência bactericida, frente a um efluente industrial, foi realizada utilizando-se os filmes (PAH<sub>4,0</sub>/PAA<sub>4,0</sub>)<sub>21</sub> e (PAH<sub>8,0</sub>/PAA<sub>4,0</sub>)<sub>21</sub> imersos durante 4 h em soluções de nitrato de prata e de sulfato de cobre pentaidratado com citrato de sódio, expostos à radiação UV (254 nm) durante 24 h, e reticulados com glutaraldeído.

No ensaio, os substratos de vidro contendo esses filmes foram inicialmente colocados em Erlenmeyers de 500 mL (um por frasco). Em seguida, os mesmos foram recobertos com 250 mL de um efluente industrial que apresentava uma contagem total de coliformes de 126 UFC/mL. Na sequência, os Erlenmeyers foram agitados em uma incubadora refrigerada do tipo shaker NT 715 a 180 rpm por 360 min. Ao término desse procedimento, as amostras de efluente foram acondicionadas em frascos âmbar, previamente sanitizados e esterilizados, e encaminhados ao LAPA para uma nova contagem.

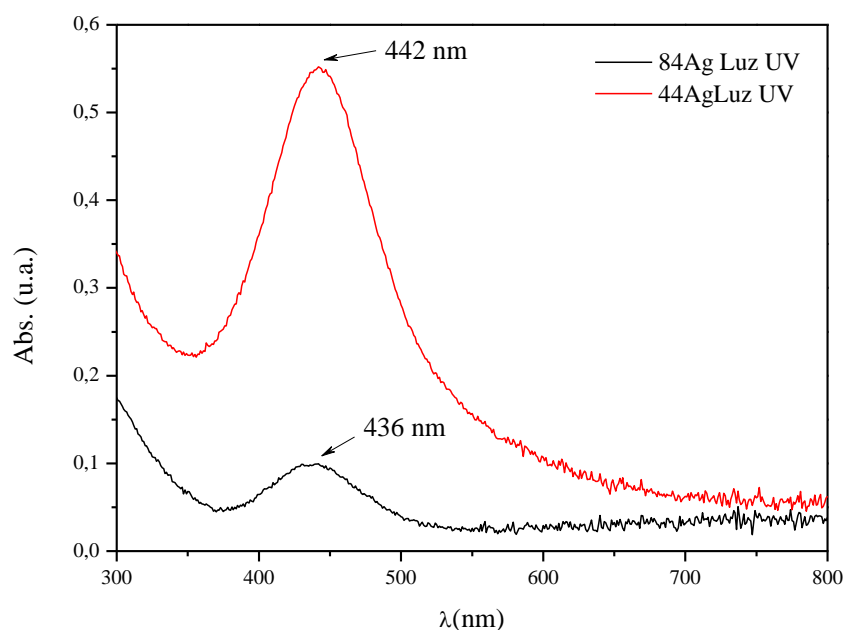
## 3 Resultados

### 3.1 UV-Vis dos Filmes com Nanopartículas

Os espectros de absorção molecular na região do UV-Vis dos filmes (PAH<sub>8,0</sub>/PAA<sub>4,0</sub>)<sub>21</sub> e (PAH<sub>4,0</sub>/PAA<sub>4,0</sub>)<sub>21</sub> imersos por 4 h em solução de nitrato de prata com citrato de sódio e irradiados em lâmpada de UV com comprimento de onda de 254 nm por 24 h, e reticulados com glutaraldeído (Figura 1), mostram a presença de uma única banda de absorção centrada em 436 e 442 nm, respectivamente. A presença da banda de absorção característica da prata na região de 400-450 nm (REVINA et al., 2001; PAL et al., 2007) evidencia a incorporação de AgNPs nos filmes produzidos. Além disso, é possível observar que o filme em que os pHs dos polieletrólitos são iguais a 4,0 apresenta uma intensidade de absorvância bem maior do que o filme em que o pH dos polieletrólitos é diferente. Isso ocorre porque, durante a montagem das multicamadas, o PAA está menos ionizado e, portanto, mais cargas são adsorvidas sobre a superfície do PAH. O resultado é uma maior disponibilidade de grupos ácidos livres nas bicamadas para a ligação com os íons Ag<sup>+</sup> (WANG et al., 2002; MACHADO et al., 2009). Para os filmes em que os pHs dos polieletrólitos são diferentes, ocorre a repulsão entre os grupos –NH<sub>3</sub><sup>+</sup> livres nas multicamadas e os íons Ag<sup>+</sup> (WANG et al., 2002), reduzindo a incorporação das AgNPs nos filmes.

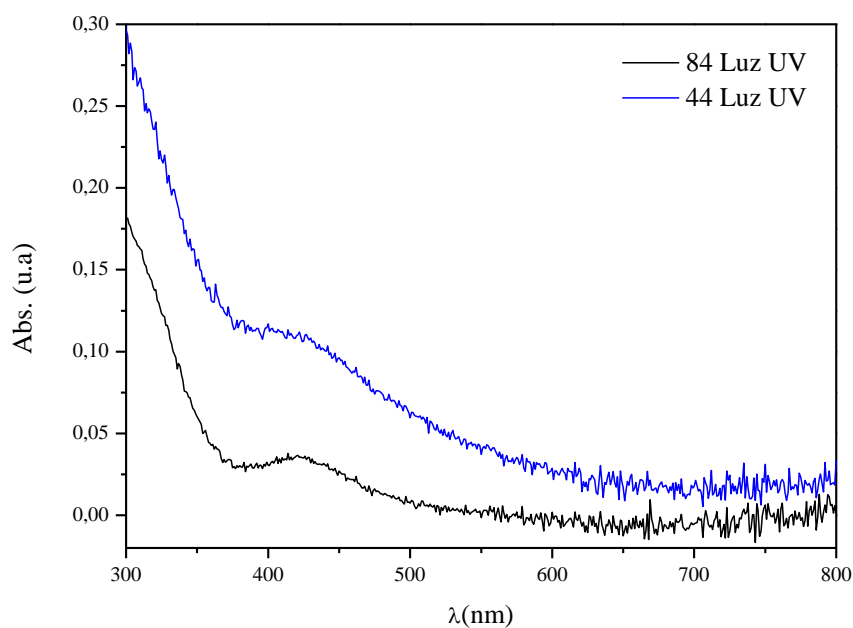


Figura 1 - Espectros de absorção molecular na região do UV-Vis dos filmes com AgNPs.



Os espectros de absorção dos filmes  $(PAH_{8,0}/PAA_{4,0})_{21}$  e  $(PAH_{4,0}/PAA_{4,0})_{21}$  imersos por 4 h em solução de sulfato de cobre (II) pentaidratado com citrato de sódio e irradiados em lâmpada de UV com comprimento de onda de 254 nm por 24 h, e reticulados com glutaraldeído (Figura 2), não evidenciam uma banda tão bem definida como no caso da prata. No entanto, apresentam traços característicos ao espalhamento Mie, o que, de acordo com a literatura, caracteriza a incorporação de CuNPs (CHEN e SOMMERS, 2001; SAMIM et al., 2007).

Figura 2 - Espectros de absorção molecular na região do UV-Vis dos filmes com CuNPs.





### 3.2 Desinfecção do Efluente Industrial

O teste de desinfecção do efluente industrial foi realizado utilizando os filmes (PAH<sub>4,0</sub>/PAA<sub>4,0</sub>)<sub>21</sub> e (PAH<sub>8,0</sub>/PAA<sub>4,0</sub>)<sub>21</sub> imersos durante 4 h em soluções de nitrato de prata com citrato de sódio e, expostos à radiação UV (254 nm) durante 24 h, identificados como 4/4 - luz UV Ag e 8/4 - luz UV Ag, respectivamente; e os filmes (PAH<sub>4,0</sub>/PAA<sub>4,0</sub>)<sub>21</sub> e (PAH<sub>8,0</sub>/PAA<sub>4,0</sub>)<sub>21</sub> imersos durante 4 h em soluções sulfato de cobre (II) pentaidratado com citrato de sódio e, expostos à radiação UV (254 nm) durante 24 h, identificados como 4/4 - luz UV Cu e 8/4 - luz UV Cu, respectivamente, todos reticulados com glutaraldeído.

A Tabela 1 apresenta os percentuais de redução dos coliformes totais no efluente após o tratamento com cada um dos filmes mencionados anteriormente. Como pode ser observado, dois dos quatro filmes desenvolvidos neste trabalho apresentaram ótimos resultados. O filme 8/4 - luz UV Ag inibiu 100% dos coliformes presentes na amostra inicial (efluente sem tratamento), enquanto o filme 4/4 - luz UV inibiu 99,21%.

Tabela 1 - Percentuais de redução dos coliformes totais no efluente industrial após o tratamento com os filmes.

Teste	<i>E. coli</i> (UFC/mL)	Coliformes totais (UFC/mL)	Redução de coliformes totais em relação ao efluente bruto (%)
Efluente Bruto	< 1,0	126	-
4/4 - luz UV Ag	< 1,0	1	99,2
8/4 - luz UV Ag	< 1,0	0	100,0
4/4 - luz UV Cu	< 1,0	94	25,4
8/4 - luz UV Cu	< 1,0	126	0,00

No tratamento foi possível também verificar o efeito bactericida dos filmes produzidos com relação à bactéria *E. coli*. No entanto, no teste realizado, o efluente bruto utilizado possuía quantidade de *E. coli* inferior ao limite de detecção do método (< 1,0 UFC/mL), o mesmo ocorrendo para as amostras de efluentes tratadas.

De acordo com os dados apresentados na Tabela 1, é possível concluir que para as mesmas condições de preparação, os filmes (PAH<sub>4,0</sub>/PAA<sub>4,0</sub>)<sub>21</sub> e (PAH<sub>8,0</sub>/PAA<sub>4,0</sub>)<sub>21</sub> imersos durante 4 h em soluções de nitrato de prata com citrato de sódio e sulfato de cobre (II) pentaidratado com citrato de sódio e, expostos à radiação UV (254 nm) durante 24 h, todos reticulados com glutaraldeído, apresentaram percentuais de redução dos micro-organismos bem distintos. Para os dois filmes preparados com a solução de nitrato de prata houve praticamente uma redução total dos coliformes presentes no efluente bruto, enquanto que para os dois filmes preparados com sulfato de cobre (II) pentaidratado, um apresentou redução de aproximadamente 25%, enquanto o outro apresentou apenas efeito bacteriostático (TAMAYO et al., 2014), sem eliminar bactérias, mas impedindo que as mesmas se proliferassem.

## 4 Conclusões

Neste trabalho foram produzidos e caracterizados filmes de PAH e PAA com AgNPs e CuNPs, visando o desenvolvimento de um novo material que pudesse ser utilizado como agente bactericida na desinfecção de efluentes industriais.

A caracterização por espectroscopia UV-Vis comprovou que de fato houve a incorporação das nanopartículas nos filmes preparados. A desinfecção do efluente industrial, por outro lado, mostrou que as AgNPs apresentaram uma ação bactericida muito maior do que





as CuNPs. Finalmente, considerando-se a facilidade de aplicação, o baixo impacto ambiental e ação inibidora satisfatória, os filmes desenvolvidos neste trabalho apresentam um grande potencial para serem utilizados como auxiliares no tratamento terciário de efluentes industriais.

## Referências

- CHEN, S.; J. M. SOMMERS. “Alkanethiolate-Protected Copper Nanoparticles: Spectroscopy, Electrochemistry, and Solid-State Morphological Evolution”. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 105, n. 37, Setembro de 2001, pg. 8816-8820.
- CHENG, Y.; X. WANG; J. CHENG; L. SUN, et al. “Structure and phase transition in self-assembled films of an anti-ferroelectric liquid crystal studied by two-dimensional correlation FTIR spectroscopy”. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 61, n. 5, Março de 2005, pg. 905-911.
- FERREIRA, M.; P. A. FIORITO; O. N. OLIVEIRA JR; S. I. CÓRDOBA DE TORRESI. “Enzyme-mediated amperometric biosensors prepared with the Layer-by-Layer (LbL) adsorption technique”. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 19, n. 12, Julho de 2004, pg. 1611-1615.
- LIU, H.; X. TANG; Q. LIU. “A novel point-of-use water treatment method by antimicrobial nanosilver textile material”. **J Water Health**, v. 12, n. 4, Dezembro de 2014, pg. 670-677.
- MACHADO, G.; M. M. BEPPU; A. F. FEIL; C. A. FIGUEROA, et al. “Silver Nanoparticles Obtained in PAH/PAA-Based Multilayers by Photochemical Reaction”. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 113, n. 44, Novembro de 2009, pg. 19005-19010.
- MACHADO, G.; A. F. FEIL; P. MIGOWSKI; L. ROSSI, et al. “Structural control of gold nanoparticles self-assemblies by layer-by-layer process”. **Nanoscale**, v. 3, n. 4, Abril de 2011, pg. 1717-1723.
- MARAMBIO-JONES, C.; E. V. HOEK. “A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment”. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 12, n. 5, Junho de 2010, pg. 1531-1551.
- NOUTSOPOULOS, C.; E. KOUMAKI; D. MAMAI; M.-C. NIKA, et al. “Removal of endocrine disruptors and non-steroidal anti-inflammatory drugs through wastewater chlorination: The effect of pH, total suspended solids and humic acids and identification of degradation by-products”. **Chemosphere**, v. 119, Janeiro de 2015, pg. S109-S114.
- OVES, M.; M. ARSHAD; M. S. KHAN; A. S. AHMED, et al. “Anti-microbial activity of cobalt doped zinc oxide nanoparticles: Targeting water borne bacteria”. **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 19, n. 5, Setembro de 2015, pg. 581-588.
- PAL, S.; Y. K. TAK; J. M. SONG. “Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the Gram-Negative bacterium *Escherichia coli*”. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 73, n. 6, Março de 2007, pg. 1712-1720.
- QU, X.; P. J. J. ALVAREZ; Q. LI. “Applications of nanotechnology in water and wastewater treatment”. **Water Research**, v. 47, n. 12, Agosto de 2013, pg. 3931-3946.
- REVINA, A. A.; A. G. DOKUCHAEV; E. B. KHAILOVA; M. G. TEDORADZE. “Optical and Electrical Characteristics of Polymer Films Modified with Nanostructured Silver Aggregates”. **High Energy Chemistry**, v. 35, n. 2, Março de 2001, pg. 74-78.
- SAMIM, M.; N. K. KAUSHIK; A. MAITRA. “Effect of size of copper nanoparticles on its catalytic behaviour in Ullman reaction”. **Bulletin of Materials Science**, v. 30, n. 5, Outubro de 2007, pg. 535-540.



- SUNDARESAN, K.; A. SIVAKUMAR; C. VIGNESWARAN; T. RAMACHANDRAN. “*Influence of nano titanium dioxide finish, prepared by sol-gel technique, on the ultraviolet protection, antimicrobial, and self-cleaning characteristics of cotton fabrics*”. **Journal of Industrial Textiles**, v. 41, n. 3, Janeiro de 2012, pg. 259-277.
- SZYMANSKA, K.; A. I. ZOUBOULIS; D. ZAMBOULIS. “*Hybrid ozonation–microfiltration system for the treatment of surface water using ceramic membrane*”. **Journal of Membrane Science**, v. 468, Outubro de 2014, pg. 163-171.
- TAMAYO, L. A.; P. A. ZAPATA; N. D. VEJAR; M. I. AZÓCAR, et al. “*Release of silver and copper nanoparticles from polyethylene nanocomposites and their penetration into Listeria monocytogenes*”. **Materials Science and Engineering: C**, v. 40, Julho de 2014, pg. 24-31.
- VAFERI, B.; M. BAHMANI; P. KESHAVARZ; D. MOWLA. “*Experimental and theoretical analysis of the UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> advanced oxidation processes treating aromatic hydrocarbons and MTBE from contaminated synthetic wastewaters*”. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 2, n. 3, Setembro de 2014, pg. 1252-1260.
- WANG, T. C.; M. F. RUBNER; R. E. COHEN. “*Polyelectrolyte Multilayer Nanoreactors for Preparing Silver Nanoparticle Composites: Controlling Metal Concentration and Nanoparticle Size*”. **Langmuir**, v. 18, n. 8, Março de 2002, pg. 3370-3375.
- W. H. O. UNICEF. “*Progress on drinking water and sanitation*”, Março de 2012, 66 p.
- ZAIN, N. M.; A. G. F. STAPLEY; G. SHAMA. “*Green synthesis of silver and copper nanoparticles using ascorbic acid and chitosan for antimicrobial applications*”. **Carbohydrate Polymers**, v. 112, Novembro de 2014, pg. 195-202.