



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE QUÍMICA

FLORIANO PASTORE JÚNIOR

TRATAMENTO DO LÁTEX DE BORRACHA NATURAL
COM TANINO VEGETAL

TESE DE DOUTORADO

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Giordano Paterno

Brasília, junho de 2017.

FLORIANO PASTORE JÚNIOR

**TRATAMENTO DO LÁTEX DE BORRACHA NATURAL
COM TANINO VEGETAL**

Documento de tese como um dos requisitos para obtenção do título de doutor no Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Química e Biológica-IQ/IB da UnB.

Orientador:

Prof. Dr. Leonardo Giordano Paterno

Brasília, junho de 2017.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

PP293t Pastore Júnior, Floriano
Tratamento do Látex de Borracha Natural com
Tanino Vegetal / Floriano Pastore Júnior; orientador
Leonardo Giordano Paterno. -- Brasília, 2017.
112 p.

Tese (Doutorado - Doutorado em Tecnologias Química
e Biológica) -- Universidade de Brasília, 2017.

1. Látex de borracha natural. . 2. Alergia a
látex.. 3. Proteínas alergênicas. . 4. Tanino
vegetal.. 5. Preservação de látex sem amônia.. I.
Paterno, Leonardo Giordano , orient. II. Título.



Folha de Aprovação

Comunicamos a aprovação da Defesa de Tese de Doutorado do aluno **Floriano Pastore Júnior**, matrícula nº **13/0092304**, intitulada “*Tratamento do Látex de Borracha Natural com Tanino Vegetal*”, apresentada no Auditório Lauro Morhy do Instituto de Química (IQ) da Universidade de Brasília (UnB) em 14 de junho de 2017.

Prof. Dr. Leonardo Giordano Paterno
Presidente de Banca (IQ/UnB)

Prof^ª. Dra. Marly Antônia Maldaner Jacobi
Membro Titular (UFRGS)

Prof. Dr. Carlos Rodolfo Wolf
Membro Titular (ULBRA / RS)

Prof.^ª Dra. Sarah Silva Brum
Membro Titular (IQ/UnB)

Prof. Dr. Marcos Juliano Prauchner
Membro Suplente (IQ/UnB)

Em 14 de junho de 2017.

Este é o documento de tese entregue ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Química e Biológica dos Institutos de Química e Biologia da Universidade de Brasília, como um dos quesitos para conclusão dos trabalhos de doutoramento. O seu início foi em maio de 2013, a Qualificação se deu em 15/12/2015, e a defesa da tese ocorreu em 14 de junho de 2017. Neste trabalho, é investigada a hipótese de se neutralizar a ação das proteínas alergênicas de produtos derivados do látex de borracha natural (LBN), com a adição de tanino vegetal e três compostos coadjuvantes, um surfactante, um álcali e um bactericida, ao látex da *Hevea brasiliensis*, logo após a colheita. Como hipótese suplementar, admitida como ampliação de escopo desta tese, estudou-se a preservação do LBN contra degradação biológica e coagulação espontânea do coloide, com o mesmo tratamento químico acima, como alternativa ao uso de amônia como preservante. Os dois temas constituem objetos de intensa pesquisa científica e tecnológica por décadas e as soluções obtidas são de caráter parcial e/ou empregam tratamentos laboriosos ou de custo elevado e nenhum tratamento está em ampla utilização. Os resultados obtidos na tese são auspiciosos e já foi depositado o pedido de patente, BR 10 2017 010076 6.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, *in memoriam*, Floriano Ettore Pastore e Olga (Ilka) Abdalla Pastore, que sem tantos diplomas, tanto sabiam e tanto me ensinaram e sem tanto falar.

AGRADECIMENTOS

A Deus, acima de tudo, por ter me dado forças e bastante ânimo por percorrer caminho íngreme, mas necessário, na busca de proporcionar com meu trabalho uma contribuição tecnológica e social.

À esposa Tereza Monteiro Pastore e aos filhos Paulo, Eduardo e Cristina, pelo apoio incondicional e compreensão pelas ausências frequentes.

Ao orientador, Prof. Dr. Leonardo Giordano Paterno, pelo incansável apoio e pela cordialidade no trato diário, sem descuidar do duro aprendizado que deve permear a orientação de doutoramento.

À equipe do LATEQ, João, Júlia, Pimentel e Natália, sempre determinada no trabalho e aberta a descobrir novas relações na ciência do látex, desenvolvendo tecnologias expressivas caminhando com naturalidade.

À Agropecuária Morais Ferrari nas pessoas do arquiteto Fernando Morais Ferrari e dos técnicos Niusmar e Carlos pelo apoio permanente no fornecimento de látex e acolhida no seringal, em Goianésia/GO, para a realização de experimentos.

Ao Sr. Flávio Rogério da Silva, seringalista de Cidade Ocidental, e seu gerente Sr. Giovani Borges, pelo apoio no fornecimento de látex.

À EMBRAPA, Centro de Pesquisa Agropecuária do Cerrado nas pessoas do Dr. Josefino de Freitas Fialho e Sr. Dalmir Flores Rabelo, pela receptividade e pelo fornecimento de látex.

Às Professoras Dra. Maria Imaculada Muniz Junqueira e Dra. Tatiana Karla Borges, do Laboratório de Imunologia Celular (FM/UnB), pela confiança e receptividade em albergar parte dos estudos de alergenicidade da presente tese.

Ao Departamento de Genética e Morfologia, nas pessoas do Prof. Dr. Ricardo Bentes de Azevedo e da Dra. Karen Rapp Py Daniel pelo atencioso apoio nos trabalhos com o equipamento Zetasiser Nano.

Ao professor Dr. Jurandir Rodrigues de Souza e a doutoranda Joelma Ferreira Portela, pelo apoio e dedicação nas análises de Espectroscopia de Infra-Vermelho, FTIR.

Ao Setor de Química do Laboratório de Produtos Florestais do Serviço Florestal Brasileiro, na pessoa do químico MSc Alessandro César de Oliveira Moreira, pela acolhida em realizar experimentos naquele laboratório e pela cessão temporária de equipamentos.

Ao Centro de Pesquisas Tun Abdul Razak - TARRC sediado na Inglaterra, na pessoa da Dra. Alessandra Di Cola, pelas quantificações de proteínas livres e das concentrações de proteínas alergênicas Hev b5 e Hev b13.

Ao Núcleo de Propriedade Intelectual (NUPITEC) do Centro de Apoio ao Desenvolvimento Tecnológico (CDT/UnB), nas pessoas do Gildemar, Helena e Luiza, pelo esforço e determinação em depositarmos uma patente sobre o trabalho de tese, e à Agência de Comercialização de Tecnologia (ACT/CDT) nas pessoas da Sandra e Livia pela celeridade nos encaminhamentos sobre o depósito.

À empresa TANAC S.A., pela cessão de amostras e pelo permanente diálogo técnico no encaminhamento teórico dos trabalhos de tese.

À Usina Jasmim de SJRP, SP, nas pessoas do Sr. Francisco Homsí Cal e dos filhos Mateus, Lígia e Iara, pelo apoio na centrifugação da amostra piloto, pelo empréstimo de equipamento de determinação de estabilidade e pela cessão de látex centrifugado.

Aos colegas docentes da Divisão de Tecnologia Química (IQ/UnB) pelo apoio no período de afastamento para o doutorado.

Ao Instituto de Química e ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Química e Biológica da UnB, pelo apoio e profissionalismo esmerado na condução dos procedimentos institucionais deste doutorado.

A tantos, ensino a aplicar a regra dos eventos independentes, e tantos dela se beneficiam. No entanto, eu mesmo não a apliquei aqui e decidi fazer um doutorado, já tardio, tentando, ao mesmo tempo, resolver um, ou melhor, dois problemas tecnológicos na cadeia de produção do látex de borracha natural, quer seja, retirar sua alergenicidade e protegê-lo sem o uso de amônia. Conciliar estes eventos e realizá-los será uma benção que aos poucos e ao longe se anuncia, uma dádiva que se delinea e toma forma, um néctar inusitado a sorver gota a gota.

Floriano Pastore Jr. (Brasília, 16/05/2017)

A tese tecnológica de doutorado

O texto a seguir apresenta opiniões do autor na discussão de conceitos de senso comum, motivo pelo qual não se apresentam referências da literatura científica. Ele é aqui inserido porque dá base à abordagem metodológica adotada no desenvolvimento da presente tese de doutorado, e que embasou algumas mudanças de rumo no decorrer dos trabalhos, as quais permitiram alcançar, em período relativamente curto, resultados significativos para atingir os objetivos estabelecidos e, mesmo, ampliar o escopo dos trabalhos. No texto principal da tese, quando necessário, será feita referência ao conceito desenvolvido a seguir, de **tese tecnológica de doutorado, TDD**.

A considerável expansão da pós-graduação do Instituto de Química da Universidade de Brasília, com a criação do Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Químicas e Biológicas, trouxe consigo um tema que merece reflexão, a tese tecnológica. Algumas buscas nos sistemas de pesquisa eletrônica pela Internet não permitiram identificar elaboração teórica sobre este tema, o que incentiva elaborar a formulação aqui descrita como contribuição aos que tiverem que trabalhar com teses de doutorado nos campos tecnológicos.

Inicialmente, poderia se imaginar uma polarização ou contraposição entre as teses acadêmica e tecnológica. No entanto, uma consideração mais atenta, tentando-se identificar contradição ou oposição entre os dois tipos de teses, permite concluir que esta contraposição não se estabelece. Possivelmente este seja o reflexo da convivência pacífica e o respeito praticado entre os que militam nas pesquisas tidas como básicas e as que têm caráter mais aplicado, com o implícito reconhecimento mútuo do valor de lado a lado. Na verdade, esta polarização diminui ainda mais, na medida em que se toma a elaboração do conhecimento humano como um contínuo indivisível, transitando entre três áreas de maior concentração, quais sejam, a expansão, a organização e aplicação do conhecimento.

Admitindo-se a inexistência de polarização entre os dois tipos de tese, pode se concentrar a atenção na tese tecnológica em si para observar que aqui, sim, pode-se formar uma tensão entre os dois termos da expressão, ou seja, entre o substantivo ‘tese’ e o adjetivo ‘tecnológica’.

O sentido comum de tese implica no conceito de uma proposição. Se estiver contextualizada no ambiente das instituições de ensino, será uma proposição para defesa pública. A tese acadêmica de doutorado pode ser entendida como uma formulação conceitual inédita, que admite, ou mesmo exige, rigor metodológico na sua demonstração e que será submetida à defesa pública. Aqui o termo ‘acadêmica’ remete à expansão do conhecimento, ou seja, voltado mais para as pesquisas básicas. Já o conceito de tese tecnológica de doutorado demanda elaboração mais complexa. Se o substantivo ‘tese de doutorado’ já se entende como proposição inédita de defesa pública, a inserção do adjetivo ‘tecnológica’ remete a expressão ao campo das tecnologias, ou seja, dos materiais e serviços de uso humano, dos processos produtivos, das formas de disponibilização destes bens, dentre outras dimensões que estão inseridas no conceito de tecnologia. Portanto, o campo aqui é menos da expansão e organização do conhecimento, para ser mais propriamente da sua aplicação.

Se a tese tecnológica de doutorado se insere no mundo do fazer e dispor bens e serviços para a sociedade, como tese, ela não pode se restringir à simples resolução de um problema tecnológico. Deve, acima de tudo, se pautar pelo equilíbrio desejável envolvendo a resolução do problema tecnológico e a compreensão do fenômeno científico que está por trás dele.

Para que se caracterize como tese de doutorado, esta resolução de uma questão no âmbito da tecnologia deve: a) empregar metodologias de planejamento e trabalho; b) adotar cuidadosa execução experimental, c) colocar rigor científico na análise dos resultados, confrontando com os objetivos específicos; e d) formular uma explicação conceitual dos resultados obtidos em relação ao problema tecnológico da tese. O método se verifica através de proposição de planos experimentais sucessivos; o rigor se evidencia na execução prática dos experimentos; e a formulação conceitual é exercitada na proposição de modelos para explicar os resultados obtidos, sempre confrontando com os objetivos tecnológicos estabelecidos. Os modelos conceituais permitem avançar com os trabalhos de resolução do problema tecnológico, admitindo a proposta de novos planos experimentais e assim por diante, até que se tenha sinais inequívocos de que o problema tecnológico esteja resolvido ou, no mínimo compreendido a ponto de que sua resolução seja possível por outros, na sequência normal do processo científico.

Muitas vezes durante a evolução dos trabalhos desta tese, o autor se viu tentado a persistir e aprofundar na elaboração de técnicas de análise específicas, que mais se caracterizavam como desenvolvimento de trabalhos acadêmicos e que, seguramente, poderiam exigir maior tempo do que se dispunha plausível para aquela análise específica. Naqueles

momentos, é que se mostrou importante o conceito de tese tecnológica de doutorado, no sentido de retomar os trabalhos para resolver o problema principal, que constituía o objetivo maior da tese. Assim, esta conceituação mais rigorosa de tese tecnológica funcionou, em alguns pontos cruciais desta tese, como balizamento e bússola de como caminhar pelos trabalhos práticos para se atingir os objetivos estabelecidos e no tempo disponível para tal.

Neste trabalho, investigou-se a neutralização de proteínas alergênicas do látex de borracha natural (LBN) com tratamento de tanino vegetal e três compostos coadjuvantes, um bactericida, um álcali e um surfactante. Como hipótese suplementar, admitida como ampliação de escopo desta tese logo no início, passou-se também a investigar a preservação do LBN contra degradação biológica e coagulação espontânea com o mesmo tratamento químico, em substituição à universal preservação com amônia. Os dois temas deste trabalho constituem objetos de intensa pesquisa científica e tecnológica: um com 30 anos e outro com 70 anos. Em ambos os casos, as soluções obtidas até aqui são de caráter parcial e são pouco empregadas. As duas hipóteses da tese têm por base as reações de complexação do tanino com as proteínas, que já foram muito estudadas e que sustentam processos industriais de longa data, sendo o curtimento do couro o mais importante. No entanto, o uso do tanino para os objetivos desta tese, nunca foi investigado. Ao longo de quatro anos de pesquisa, foram implementados sete Planos Experimentais (PE), uma experiência piloto industrial com 20 L de látex e três análises contratadas em laboratórios de terceiros, dentre outras atividades. Todo este trabalho resultou em conjunto coerente de resultados que permitem concluir que a preservação de LBN tratado com tanino e isento de amônia foi conseguida com sucesso e com forte probabilidade de uso na produção no campo e na indústria. Para explicar tais resultados positivos, foi proposto um modelo conceitual, denominado ‘escudo de proteção do coloide’, que teria mecanismo de ação espacial ao invés da proteção iônica do coloide. Este modelo é discutido ao longo da análise do penúltimo Plano Experimental. Os testes para avaliar a eficácia do tratamento com tanino para diminuir ou terminar com a alergenicidade do látex foram feitos em menor escala por dificuldades experimentais. No entanto, os dados obtidos apontam na direção de que este tratamento também resultará positivo, sendo questão de se realizar experimentos adicionais. Por uma questão de lógica química, é bastante plausível esperar que, se a ação do tanino sobre as proteínas está na base do resultado positivo contra a degradação biológica do látex, não há por que as suas proteínas alergênicas não terem sido também inativadas. O pedido de patente BR 10 2017 010076 6 foi depositado em 12/05/2017.

Palavras-chave: Látex de borracha natural. Alergia a látex. Proteínas alergênicas. Tanino vegetal. Preservação de látex sem amônia.

Treatment of natural rubber latex with vegetable tannin

In this work, the neutralization of allergenic proteins of natural rubber latex (NRL) was tried by the addition of vegetable tannin and three coadjuvant compounds, a bactericide, an alkali and a surfactant. The preservation of NRL against biological degradation and coagulation with the same chemical treatment, replacing the universal use of ammonia, was admitted as an extension of this thesis' scope at the beginning of the experimental work, for the very consistent practical results. The two work themes are objects of intense scientific and technological research: one with 30 years and other, 70 years. In both cases, the solutions obtained so far are partial or are little employed. The two working hypotheses of this thesis are based on the complexation reactions of the tannin with proteins, which have been extensively studied and which have sustained longstanding industrial processes, being the production of leather the most important. However, the use of tannin for the purposes intended in this thesis had never been investigated. Throughout four years of research, seven Experimental Plans (PE), an industrial pilot experiment with 20 L of latex and three analyzes contracted in laboratories of third parties, among other activities, were implemented. All this work resulted in a considerable coherent set of results that allow one to conclude that the preservation of latex treated with tannin and ammonia free was successfully achieved and with a strong probability of use in field and industrial production. To explain such positive results, a conceptual model, tentatively called the 'colloid protection shield', was proposed. It would work based on a spatial instead the ionic mechanism of colloid protection. This model is discussed throughout the analysis of the last but one Experimental Plan. Tests to evaluate the efficacy of tannin treatment to decrease latex allergenicity were done to a lesser extent for experimental difficulties. However, the data obtained point in the direction that this treatment will also be positive, being only a matter of additional experiments. As a matter of chemical logic, it is quite plausible to expect that if the action of tannin on proteins is the bases of the success against latex degradation, there is no reason why its allergenic proteins have not been inactivated as well. The patent request BR 10 2017 010076 6 was filed on 12/05/2017.

Key words: Natural rubber latex. Allergy to latex. Allergenic proteins. Vegetable tannin. Preservation of latex without ammonia.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fórmula estrutural da borracha natural (TANAKA, 2001).	30
Figura 2. Exemplos de tratamentos para remoção de proteínas, modificado de NAWAMAWAT; SAKDAPIPANICH e HO (2010).	32
Figura 3. Moléculas típicas de tanino hidrolisável com a característica unidade de açúcar ao centro que confere a característica hidrolisável (MONTEIRO et al., 2005).....	37
Figura 4. Fórmula estrutural da molécula de flavan-3,4-diol.....	38
Figura 5. Estrutura molecular do tanino (COVINGTON, 1997).....	38
Figura 6. Modelo de interação entre tanino e proteínas do colágeno (COVINGTON, 1997).40	
Figura 7. As amostras principais de taninos usadas nesta tese foram fornecidas pela TANAC SA, sediada em Montenegro/RS, que é hoje a principal produtora mundial de tanino da acácia negra.	45
Figura 8. O seringal de pesquisa da Embrapa/CPAC forneceu o látex para os três Planos Experimentais Preliminares, durante 2015. Ao centro, o técnico Dalmir Rabelo. ..	48
Figura 9. A implantação do PEG 1 no seringal em Goianésia/GO, em 20/04/2015, demandou um esforço considerável de se instalar um laboratório em condições de campo.....	48
Figura 10. Do seringal na Cidade Ocidental, por sua proximidade da UnB, foi colhido o látex para os PEC 1, PEC 2 e para vários estudos isolados. Na foto, uma árvore do clone RRIM 600, com corte bastante técnico.	49
Figura 11. O experimento piloto de 20 L de LBN com tanino, bórax, LESS e KOH permaneceu em observação por mais de 50 dias, sem deteriorar ou coagular.....	54
Figura 12. O experimento piloto de 20 L de látex foi processado em centrífuga industrial na Usina Jasmim, (S.J. do Rio Preto/SP), e suportou bem a alta taxa de cisalhamento do processo. O operador Carlos Rossi gravou depoimento de que o látex experimental estava igual ao do látex normal.....	55
Figura 13. Com o látex centrifugado do experimento piloto foram feitos testes de deposição de filmes pelo processo de imersão, similar ao usado na indústria de luvas e camisinhas, apresentando comportamento normal e fornecendo filmes bem coerentes.	56
Figura 14. Quadro geral dos planos experimentais.	59
Figura 15. Programa Experimental Preliminar N ^o 1: influência de três surfactantes no potencial zeta do látex: LSS, LESS e RIK, o qual apresentou o melhor desempenho. Entretanto, há dificuldade de fornecimento e maior custo.	60

Figura 16. Uma representação esquemática do modelo de “escudo de proteção do coloide” para a ação	67
Figura 17. Renex: nonilfenol etoxilado, n = 9.50.....	68
Figura 18. Resultados das medidas de pH dos 12 tratamentos originais do PEG 2.....	74
Figura 19. Resultados das medidas de pH: LA (baixo amônia = T1), LAB (baixo amônia e bórax = T2), HA (alta amônia =T3), TBL (tanino, bórax e LESS =T7) e TBR (tanino, bórax e renéx = T8).....	75
Figura 20. Potencial zeta dos doze tratamentos do PEG 2, em função do tempo.	76
Figura 21. Potencial zeta (mV) de cinco amostras representativas do PEG 2.	76
Figura 22. Diâmetro médio das partículas das amostras em função do tempo.	78
Figura 23. Estrutura molecular do lauril éter sulfato de sódio, LESS (n = 2 e 3).	79
Figura 24. Viscosidade brookfield dos doze tratamentos do PEG 2, em função do tempo. ...	81
Figura 25. Viscosidade brookfield das partículas das amostras em função do tempo.	81
Figura 26. Primeiro experimento de FTIR das amostras de filmes de látex.	89
Figura 27. Segundo experimento de FTIR das amostras de filmes de látex.	90

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. PEP 2 - Programa Experimental Preliminar N° 2: influência da presença de tanino em diferentes pHs sobre o potencial zeta e o tamanho da partícula.	61
Tabela 2. PEP 3 – Programa Experimental Preliminar N° 3: potencial zeta e tamanho de partícula em função de diferentes composições com tanino, surfactantes e pH.	62
Tabela 3. PEG 1 - Resultados do Plano Experimental de Goianésia N° 1: ação de tanino com vários biocidas na proteção do látex.	64
Tabela 4. PEC 1: Programa Experimental de Cidade Ocidental N°1, instalado em 16/7/15 e avaliado até 25/9 (70 dias), com 22 tratamentos: aperfeiçoando a formulação.	65
Tabela 5. Resultados do teste olfativo do PEG 2, com todos os doze tratamentos.	70
Tabela 6. Resultados do teste olfativo com os cinco tratamentos mais representativos.	70
Tabela 7. Resultados da análise de ácidos graxos voláteis.	73
Tabela 8. Medições de pH dos doze tratamentos do PEG 2 no decorrer do tempo.	74
Tabela 9. Resultados do Plano Experimental de Cidade Ocidental No. 2.	84
Tabela 10. Tratamento dos dados da primeira rodada de análises por FTIR que resultou na sequência de eficiência de redução de proteínas: T8>T7>T3>T11>T9>T10.	88
Tabela 11. Tratamento dos dados da segunda rodada de análises por FTIR que resultou na sequência de eficiência de redução de proteínas: T7>T3>>T9>T10>T3>T8.	88
Tabela 12. Determinação de proteínas e extrato etéreo pelo Centro de Análises Laboratoriais (CBO).	91
Tabela 13. Resultados sobre as determinações das proteínas extraíveis e de duas proteínas alergênicas, Hev b5 e Hev b13 (análises realizadas por TARRC/UK).	92
Tabela 14. Formulações utilizadas no PEG 1.	106

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGV	Ácidos graxos voláteis
BN	Borracha natural
CG/MS	Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas
cis PI	Poli(cis-isopreno)
DLS	Espalhamento dinâmico da luz
ELISA	Ensaio Imunoabsorvente ligado à Enzima
FTIR	Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier
HA	Látex com alto teor de amônia
HS	<i>Head-Space</i> (espaço vazio sobre o líquido em frasco selado)
LA	Látex com baixo teor de amônia
LABPOL	Laboratório de Polímeros/IQ/UnB
LATEQ	Laboratório de Tecnologia Química/IQ/UnB
LBN	Látex de borracha natural
LCF	Látex centrifugado
LESS	Lauril éter sulfato de sódio, laureth
LIN	Látex <i>in natura</i>
LPF	Laboratório de Produtos Florestais
LSS	Lauril sulfato de sódio, dodecil sulfato de sódio
NPPC	Nanopartículas de prata comercial
NPPL	Nanopartículas de prata LABPOL
PA	Produto químico de grau analítico
PE	Planos Experimentais
PEC	Plano Experimental de Cidade Ocidental, DF
PEG	Plano Experimental de Goianésia, GO
PEP	Plano Experimental Preliminar
PI	Poli(isopreno)
RIK	Ricinoleato de potássio
RRIM 600	Clone 600 de <i>Hevea brasiliensis</i> do Instituto de Pesquisa em Borracha da Malásia
SFB	Serviço Florestal Brasileiro
Shaker	Misturador rotacional
TAARC	Centro de Pesquisas Tun Abdul Razak
TF	Tanino-formaldeído
trans PI	Poli(trans-isopreno)
TTD	Tese Tecnológica de Doutorado

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	22
2. OBJETIVOS.....	24
2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	24
2.2. AMPLIAÇÃO DE ESCOPO, O LÁTEX PRESERVADO SEM AMÔNIA	24
3. REFERENCIAL TEÓRICO	26
3.1. A BORRACHA NATURAL	26
3.2. O LÁTEX DE BORRACHA NATURAL.....	27
3.2.1. Composição	28
3.2.2. Proteínas e alergênicos	31
3.3. PROCESSOS DE TRATAMENTO DO LÁTEX DE BORRACHA NATURAL....	32
3.4. PRESERVAÇÃO DO LÁTEX E AMÔNIA.....	33
3.5. LÁTEX, AMÔNIA E GEL.....	35
3.6. PROTEÍNAS E PROPRIEDADES MECÂNICAS DOS FILMES DE LÁTEX	36
3.7. POLIFENÓIS E TANINOS VEGETAIS	37
3.8. TANINO E PROTEÍNAS – A BASE DESTA TESE	39
4. MATERIAIS E MÉTODOS	43
4.1. RELAÇÃO DAS ATIVIDADES DESENVOLVIDAS	43
4.2. MATERIAIS.....	44
4.2.1. Látex	44
4.2.2. Taninos	45
4.2.3. Outros reagentes	46
4.3. MÉTODOS	47
4.3.1. Procedimento de implantação dos experimentos.....	47
4.3.1.1. Coleta do látex.....	47
4.3.1.2. Estabilização do látex com amônia	47
4.3.1.3. Estabelecimento dos Planos Experimentais	47

4.3.1.4.	Preparo de soluções	50
4.3.2.	Acompanhando a estabilidade biológica e física do látex	51
4.3.2.1.	Descrição dos aspectos gerais	51
4.3.2.2.	Avaliação Olfativa.....	51
4.3.2.3.	Determinação de pH.....	52
4.3.2.4.	Análise dos ácidos graxos voláteis (AGV)	52
4.3.2.5.	Medidas do potencial zeta e tamanho da partícula.....	52
4.3.2.6.	Viscosidade Brookfield	53
4.3.3.	Experimento piloto de 20 litros	53
4.3.3.1.	Preparação dos filmes de látex por imersão	55
4.3.4.	Verificação do teor de proteínas e alergênicos	57
4.3.4.1.	Preparação dos filmes de látex	57
4.3.4.2.	Espectroscopia FTIR	57
4.3.4.3.	Teor de proteínas totais e lipídios	58
4.3.4.4.	Proteínas extraíveis e duas proteínas alergênicas.....	58
4.3.5.	Resumo dos planos experimentais.....	59
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	60
5.1.	RESULTADOS E INTERPRETAÇÕES DA PRIMEIRA FASE.....	60
5.2.	PROPOSIÇÃO DE UM MODELO CONCEITUAL	67
5.3.	RESULTADOS E INTERPRETAÇÃO DA SEGUNDA FASE: PEG 2.....	68
5.3.1.	Evolução da preservação biofísica do látex com o tempo.....	69
5.3.1.1.	Aspectos gerais.....	69
5.3.1.2.	Avaliação olfativa	70
5.3.1.3.	Ácidos graxos voláteis	72
5.3.1.4.	Valores de pH.....	73
5.3.1.5.	Evolução do potencial zeta com o tempo.....	75
5.3.1.6.	Diâmetro hidrodinâmico das partículas.....	77

5.3.1.7. Viscosidade brookfield.....	79
5.3.2. Resultados da segunda fase: PEC 2.....	83
5.4. DISCUSSÃO DO MODELO TEÓRICO DE ESCUDO DO COLOIDE	84
5.5. REDUZINDO OS ALERGÊNICOS DO LÁTEX DE BORRACHA NATURAL...	87
5.5.1. FTIR – Investigando a redução de proteínas	87
5.5.2. Proteínas totais e lipídios	90
5.5.3. Proteínas totais extraíveis e proteínas alergênicas Hev b5 e Hev b13	91
5.5.4. Discutindo as técnicas para investigar alergênicos.....	93
6. CONCLUSÕES.....	95
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	98
ANEXO 1: Atividades desenvolvidas	104
ANEXO 2: Plano Experimental Goianésia N° 2.....	108

1. INTRODUÇÃO

O látex de borracha natural (LBN) é empregado na fabricação de inúmeros artefatos que entram em contato com a pele. Os exemplos mais conhecidos são as luvas e os preservativos. Deste contato direto, originam-se alergias na pele, atribuídas à presença de proteínas no látex. Estas manifestações alérgicas, que podem chegar a choques anafiláticos, vêm crescendo nos últimos 40 anos e constituem matéria de preocupação generalizada especialmente nos profissionais de saúde.

Num processo consolidado há séculos, o tanino vegetal é utilizado no curtimento de peles animais para obtenção de couro. Neste tratamento, as moléculas do tanino bloqueiam por ligações de hidrogênio as proteínas do colágeno impedindo a ação das bactérias que deterioram a pele.

A partir destes dois conceitos, amplamente consolidados, formulou-se o postulado central tecnológico desta tese de doutorado: **os taninos vegetais podem ser utilizados para inativar as proteínas do látex e impedir sua ação alergênica.**

Entretanto, na junção dos dois conceitos havia, ainda, outra hipótese implícita e subjacente: à semelhança da tanagem, as proteínas bloqueadas pelo tanino não seriam passíveis da ação bacteriana na deterioração do látex vegetal. Se o tanino, com sua proteção das proteínas, estiver acompanhado por outros ingredientes que protejam o coloide, tais como tensoativos e álcalis, por exemplo, e um bactericida, mesmo que brando, poder-se-ia obter uma proteção integral do LBN. Esta assertiva, se confirmada, permitiria resolver outro problema tecnológico, também de grande proporção, semelhante à questão alergênica, que é a preservação do látex sem o uso de amônia, ou utilizando-a em baixas concentrações. A amônia desempenha o papel de protetor alcalino do coloide do látex, mas é também um poderoso bactericida nas elevadas concentrações utilizadas. Apesar de ser o preservante universal do látex e ter prestado bons serviços há muitas décadas, a amônia é, no entanto, também muito indesejada, pela sua conhecida irritação respiratória nas altas concentrações de uso no LBN, levando a situações de desconforto laboral ou, mesmo, questões de saúde. Assim, a pesquisa por sistemas preservantes de látex com baixa concentração de amônia, ou

mais difícil ainda, sem amônia, é tema recorrente no ramo de utilização de látex de borracha natural há pelo menos 70 anos.

Se as duas hipóteses desta tese tecnológica forem confirmadas, o tanino vegetal, produzido em larga escala no Brasil, o seu maior produtor mundial, e que já encontra emprego em vários ramos da indústria química, poderá também desempenhar duas novas expressões tecnológicas significativas, a produção de látex hipoalergênico e de látex protegido sem amônia.

2. OBJETIVOS

Como objetivos gerais desta tese de doutorado, tem-se a busca por maior conhecimento do material LBN, produzido a partir da *Hevea brasiliensis*, e do seu comportamento frente à adição de misturas de compostos químicos, até aqui inéditas neste tipo de uso, verificando, ainda, a resposta do látex na fabricação e uso dos artefatos derivados de elevada importância, tais como luvas e preservativos, entre muitos outros, especialmente nos usos em contato direto com a pele e mucosas humanas.

2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Esta tese tecnológica de doutorado tem como objetivos específicos os seguintes:

- a) definir uma ou mais composições de reagentes com base em tanino vegetal comercial e materiais coadjuvantes de uso industrial normal, tais como surfactantes e álcalis, para adição em LBN.
- b) definir a forma e sequência de adição das formulações acima para melhor interação entre os seus reagentes e os componentes do coloide do LBN.
- c) selecionar as melhores técnicas de investigação dos resultados do LBN tratado com as composições e formas de adição definidas nos dois tópicos acima para atingir os objetivos específicos desta tese, especialmente o descrito a seguir.
- d) verificar a ação dos tratamentos sobre a conhecida alergenicidade dos artefatos produzidos com o LBN.

2.2. AMPLIAÇÃO DE ESCOPO, O LÁTEX PRESERVADO SEM AMÔNIA

Quando esta tese já se encontrava em desenvolvimento, em seus passos iniciais nos testes de estabilidade em laboratório, verificou-se uma condição inusitada de estabilidade do coloide do látex, tanto mecânica, evitando-se a sua coagulação, como biológica, sem a degradação bacteriana, ambos bastantes conhecidos, e que sempre tiveram no hidróxido de

amônio, ou amônia, em alta concentração, o melhor agente de dupla ação, preservar o látex contra o apodrecimento e contra a coagulação do coloide. Destas observações iniciais, nasceu o segundo macro objetivo específico desta tese: o desenvolvimento de formas químicas simples de preservar o látex sem o uso de amônia, conforme especificado a seguir, e definido como ‘ampliação do escopo’ desta tese tecnológica de doutorado.

- Investigar em laboratório a possibilidade de uso das composições e formas de adição definidas em 2.1, ‘a’ e ‘b’, bem como outras similares, para preservação de LBN sem a adição de amônia, seja no látex *in natura* (LIN), seja no látex centrifugado industrial (LCF).
- Investigar a possibilidade de estender para situações reais de uso do LBN, a solução que se conseguir no item anterior, tanto no processo industrial de centrifugação como no uso do LCF na fabricação de artefatos.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. A BORRACHA NATURAL

A floresta amazônica constitui uma das mais importantes megadiversidades biológicas do planeta (FEARNSIDE, 1999; GENTRY, 1992; MITTERMEIER et al., 2005), onde o homem foi colher muitas descobertas, a partir do extrativismo no sistema milenar de produção da coleta na natureza. Da Amazônia já saíram muitos produtos como alimentos, fármacos, resinas, plantas de adorno, fibras e outros materiais de uso diverso. Entretanto, pode-se afirmar sem sombra de dúvidas, que o principal produto vegetal extraído daquela floresta foi a borracha natural (BN), produzida desde tempos imemoriais pelos indígenas por incisões no tronco da *Hevea brasiliensis* (LONG, 2001). Esta afirmação, ainda que contundente, se pacifica e consolida numa simples olhada nos inúmeros materiais que constituem o mundo atual e tentar imaginar este mundo sem os pneumáticos, de todas as naturezas, de bicicletas, motocicletas, automóveis, caminhões, ônibus e aviões. Simplesmente impossível.

Num passado recente, era muito comum se afirmar que a borracha natural, o aço e o petróleo, constituíam a tríade de materiais estratégicos internacionais. Ou seja, um país teria que assegurar a disponibilidade ou acesso a estoques destes três itens para ter horizonte de planejamento em seu desenvolvimento. Esta condição foi dramaticamente sentida pelos países aliados na Segunda Guerra Mundial, especialmente os industrializados como EUA e Inglaterra (CLARENCE-SMITH, 2009), que se viram sem a BN quando o Japão tomou os imensos seringais estratégicos do Sudeste Asiático, deixando os países adversários sem matéria prima para pneumáticos e outros artefatos militares e outros itens vitais que dependem da borracha para sua fabricação (WILKINSON, 2013). Revisitando este paradigma, hoje, no que concerne à borracha, percebe-se que o conceito ainda tem consistência, não obstante o espetacular avanço da borracha sintética, desde sua síntese durante a própria Grande Guerra em projetos ultrassecretos desenvolvidos simultaneamente por americanos (ACS, 1998) e alemães. Reconhecendo a importância da borracha natural, Cornish (2017) recorre ao Programa History Channel, de 09/06/2004, para colocar este material logo após o ar, água e petróleo como bens imprescindíveis ao desenvolvimento humano contemporâneo.

Nos tempos modernos, os pneus radiais, de uso internacional crescente, dependem da BN que ainda é insubstituível na interface entre os diferentes materiais que compõem o pneu radial, como náilon, aço, tecidos e a própria borracha sintética, pela facilidade de aderência que a BN proporciona com diferentes sólidos (ALMEIDA, 2012). Para citar outro exemplo de uso da BN em sustentação do paradigma citado, pode-se tomar o caso dos pneus para aviões de grande porte que não podem ser fabricados com borracha sintética (CHAPMAN, 2007). Aqui, a propriedade exigida deste material é a altíssima resiliência requerida nos pousos, combinada com sua capacidade de retorno à condição anterior ao esforço, uma vez retirada a tensão, ou, em outras palavras, as principais propriedades elastoméricas da BN (CHAPMAN, 2007).

3.2. O LÁTEX DE BORRACHA NATURAL

A BN é produzida e consumida em cerca em 90% na forma sólida, especialmente pelos pneumáticos, seu maior consumo. No entanto, cerca de 10% da BN internacional, encontra seu uso na forma líquida, como látex de borracha natural, LBN (JEWTRAGOON, 2004). Ainda que o plural de látex seja o erudito látices, este é muito menos conhecido e de pronúncia mais difícil. Portanto, nesta tese a forma singular será usada indiscriminadamente para designar também o plural, o que constitui prática usual e é também aceita por dicionários de uso corrente na língua portuguesa.

A produção de inúmeros artefatos de borracha, por suas características tecnológicas, requer que o elastômero da BN se encontre na forma de látex (BLACKLEY, 1997a), ou seja, uma emulsão aquosa. Ainda que o volume seja de 1/10 do consumo global, aparentemente de menor expressão em comparação com a BN sólida, estas cadeias produtivas são de extrema importância, pois englobam os preservativos contraceptivos, ou mais popularmente, camisinhas, que são feitas de borracha natural (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2003). Inclui ainda a imensa maioria das luvas cirúrgicas ou de procedimento, os bicos de mamadeira e chupetas infantis, os balões de festa ou propaganda, dentre os mais visíveis (BLACKLEY, 1997a). No entanto há incontáveis outros, menos conhecidos, que também dependem do LBN como insumo principal, onde se incluem os elásticos de tecidos, mantas cirúrgicas, cateteres, drenos, tubos de borracha, entre muitos outros.

Curiosamente, neste vasto segmento tecnológico de uso da borracha na forma líquida, também se confirma a importância e primazia do elastômero natural, em contraposição ao sintético, pois inúmeros produtos dependem exclusivamente do polímero de origem vegetal e, em especial, proveniente da *Hevea brasiliensis*, a seringueira, que é de muito longe, a principal fonte de BN (PUSKAS; CHIANG; BARKAKATY, 2014).

3.2.1. Composição

Atualmente é de conhecimento consolidado e corrente que o látex da seringueira constitui o citoplasma das células lactíferas do tecido vegetal na região do câmbio da árvore (D'AUZAC; JACOB; CHRESTIN, 1989; JACOB; D'AUZAC; PREVÔT, 1993). Desta forma, compreende-se que se trata de material de composição complexa, com várias organelas e componentes de função diversa, os quais já foram bastante estudados nos últimos cem anos devido à importância do tema (D'AUZAC; JACOB; CHRESTIN, 1989). Entretanto, o LBN tem recebido crescente atenção mais recentemente, em função do avanço tecnológico da microscopia, em especial eletrônica, cujos trabalhos a seguir são exemplos destas técnicas em varredura e transmissão (CORNISH, 2014; CORNISH; WOOD; WINDLE, 1999; KEKWICK, 2002; TANGBORIBOONRAT; TIYAPIBOONCHAIYA; LERTHITITRAKUL, 1998). Também a microscopia de força atômica encontra aplicação recente em estudos da distribuição espacial dos componentes do coloide de BN (NAWAMAWAT et al., 2011). Não obstante, o assunto látex da seringueira ainda comporta muitos estudos para conhecimento das funções bioquímicas dos seus componentes. Este 'renascimento', ou para usar um termo que melhor retrata a situação, 'revigoramento' deste tema de estudo se deve, em especial, à especificidade da síntese natural do polímero que ainda não se conseguiu produzir sinteticamente com as mesmas qualidades e características (PUSKAS; CHIANG; BARKAKATY, 2014). Os próprios estudos da biossíntese em si, que buscam compreender o mecanismo da reação de polimerização para um dia ser realizado pelo homem, reforçam esta renovação do LBN como importante tema de estudo científico e tecnológico.

Os avanços mais recentes do conhecimento da composição química e morfológica do LBN são do século atual e vêm de vários países e centros de pesquisa em látex, em especial dos produtores de BN, incluindo Malásia, Tailândia e Índia, mas também do Japão,

EUA e Inglaterra (CORNISH; WOOD; WINDLE, 1999; JACOB; D'AUZAC; PREVÔT, 1993; NAWAMAWAT et al., 2011; TANAKA; TARACHIWIN, 2009).

As substâncias presentes no látex distribuem-se entre as seguintes três fases com os percentuais aproximados, em massa/massa do látex, com a indicação dos principais constituintes em cada fase (BLACKLEY, 1997b):

- **As partículas de borracha (35%):** elastômero, fosfolipídios e enzimas polimerases;
- **A fase aquosa (55%):** água, proteínas (de defesa e outras funções) e eletrólitos;
- **A fase lutóide (10%):** proteínas, lipídios e carotenos.

A seguir é apresentada a composição típica do látex de borracha natural, em porcentagem, massa/massa, do látex in natura (BLACKLEY, 1997b):

- Sólidos totais, 36%;
- Borracha seca, 33%;
- Substâncias proteicas, 1 a 1,5%
- Substâncias resinosas, 1 a 2,5%
- Cinzas, até 1%;
- Açúcares, 1%;
- Água, complemento para 100%.

A unidade funcional essencial do elastômero é o *cis*-1,4-isopreno (**Figura 1**) (NAWAMAWAT et al., 2011). Este elastômero natural é considerado um dos polímeros mais importantes, dentre aqueles obtidos por biossíntese, por possuir propriedades químicas e físicas únicas que encontram vasta gama de aplicação, principalmente na fabricação de pneumáticos, artigos de uso em saúde e inúmeros outros. Isso se deve à sua excelente elasticidade, flexibilidade, resistência e facilidade de conformação (TANGBORIBOON et al., 2012).

Atualmente, já é bastante aceita a fórmula estrutural da borracha natural como composta de duas unidades de *trans*-isopreno, denominadas terminal ω da molécula, seguidas por um conjunto elevado, acima de 5.000, unidades de *cis*-isopreno, e uma unidade final de *cis*-isopreno que contém um oxigênio ligado a uma proteína, denominado terminal

α . Não obstante as letras ômega (ω) e alfa (α) serem a última e a primeira letra do alfabeto grego, respectivamente, na molécula do elastômero, elas invertidamente, designam as posições onde se iniciou o polímero (ω) e o terminal α que é ponta “viva”, onde o processo de biossíntese está incorporando unidades de *cis*-isopreno. Estes valores mencionados para a Figura 1 são referentes a estudo específico do autor que trabalhou com polímero de borracha natural de baixa massa molar que permitisse elucidar a estrutura molecular.

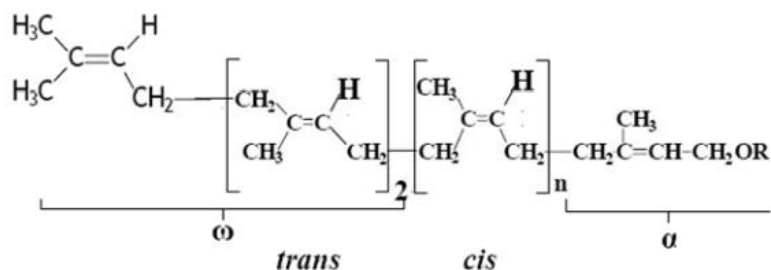


Figura 1. Fórmula estrutural da borracha natural (TANAKA, 2001).

O meio aquoso do látex, como se pode imaginar para o sêrum citoplasmático é carregado de sais minerais, em especial, K^+ , Na^+ , Mg^{2+} e Ca^{2+} (JACOB; D’AUZAC; PREVÔT, 1993), tem o pH aproximado de 6,5 - 7,0 e densidade de $0,98 \text{ g.mL}^{-1}$ (BLACKLEY, 1997b).

A massa molar média do polímero é elevada, da ordem de 10^6 g.mol^{-1} (PUSKAS; CHIANG; BARKAKATY, 2014).

Apesar das proteínas estarem presentes no látex em porcentual relativamente baixo, próximo de 1-1,5% (m/m) (ARCHER; SEKHAR, 1960; SANSATSADEEKUL; SAKDAPIPANICH; ROJRUTHAI, 2011) elas ocorrem em mais de 250 tipos e funções diferentes, podendo estar agregadas às partículas de borracha, nos corpos lutóides e nas partículas Frei-Wissling (ARCHER; AUDLEY, 1967). A massa molar varia em grande intervalo, entre 5.000 a 200.000 g.mol^{-1} , o que reflete a disparidade de funções que elas desempenham no complexo sistema bioquímico das células do tecido da planta (SANSATSADEEKUL; SAKDAPIPANICH; ROJRUTHAI, 2011).

3.2.2. Proteínas e alergênicos

Enquanto estas proteínas estão no ambiente da célula como parte do citoplasma, desempenham as funções bioquímicas conforme descritas na seção anterior. Entretanto, quando o látex é colhido na árvore e cessam as atividades vivas da célula e as moléculas são então levadas a cumprir a missão de borracha em inúmeros artefatos, as anteriormente úteis proteínas, passam a desempenhar papel diverso, pois, em primeiro lugar, como proteínas são bioquimicamente muito reativas em interfaces com outros sistemas bioquímicos, como a pele humana e as mucosas em geral. Em segundo lugar, algumas proteínas, estão muito próximas e associadas às partículas do látex (CHAIKUMPOLLERT et al., 2012). No processo de beneficiamento do látex in natura para se transformar em látex centrifugado, forma utilizada na indústria de transformação, muitas proteínas, cerca de 25% do total inicial (SANSATSADEEKUL; SAKDAPIPANICH; ROJRUTHAI, 2011), permanecem no meio. Os processos produtivos, de luvas por exemplo, usam aquecimento para a secagem e vulcanização dos filmes produzidos a partir do látex, que atingem temperatura próxima a 120° C por cerca de 10 a 20 min (BLACKLEY, 1997a). Estas condições não são suficientes para a desnaturação das proteínas, que assim permanecem no produto final como que “vivas”, desencadeando reações alérgicas em pessoas sensíveis a estas proteínas do látex original.

As observações de processos alérgicos a produtos de látex se iniciaram nas décadas de 1960 a 1980 e tem se intensificado desde então (PALOSUO, 2014) e hoje são considerados problemas graves para os profissionais de saúde que são obrigados ao uso frequente de peças feitas a partir do látex, como as luvas. Mas outros produtos como as camisinhas, por exemplo, constituem pontos que também chamam a atenção pela gravidade dos processos alérgicos do látex em contato com as mucosas sensíveis das regiões genitais (GAWCHIK, 2011). Outros casos de manifestações alérgicas são relacionados com o uso de cateteres endogástricos (MCKINSTRY; FENTON; BARRETT, 1992) e sondas fabricadas a partir de LBN, sendo já registrados casos de choques anafiláticos decorrentes da sensibilização alérgica ao látex (BUBAK et al., 1992).

3.3. PROCESSOS DE TRATAMENTO DO LÁTEX DE BORRACHA NATURAL

A partir do ponto em que se estabelece uma inequívoca relação entre as proteínas e os processos alérgicos, iniciam-se pesquisas por tratamentos de várias formas visando reduzir ou eliminar os efeitos alergênicos das proteínas do látex. Várias formas foram testadas, a saber:

- Tratamentos com enzimas proteolíticas que hidrolisam ou segmentam as proteínas em resíduos menores e, ao mudar a forma química e/ou a conformação estrutural da proteína, a inativam para suas reações específicas como os processos alérgicos;
- Tratamentos químicos com surfactantes ou detergentes que lavam no todo ou em parte as proteínas do sistema, e com reagentes alcalinos para saponificar as proteínas, o que também pode ter efeito positivo para extinguir ou atenuar o efeito adverso das proteínas;
- Processos físicos como a centrifugação, realizada por duas vezes, para retirar as proteínas por arraste no soro aquoso.

Naturalmente, estas soluções podem vir isoladas e, mais comumente, combinadas. Segue abaixo, na **Figura 2**, alguns exemplos de tratamentos de extração ou inativação alérgica de proteínas.

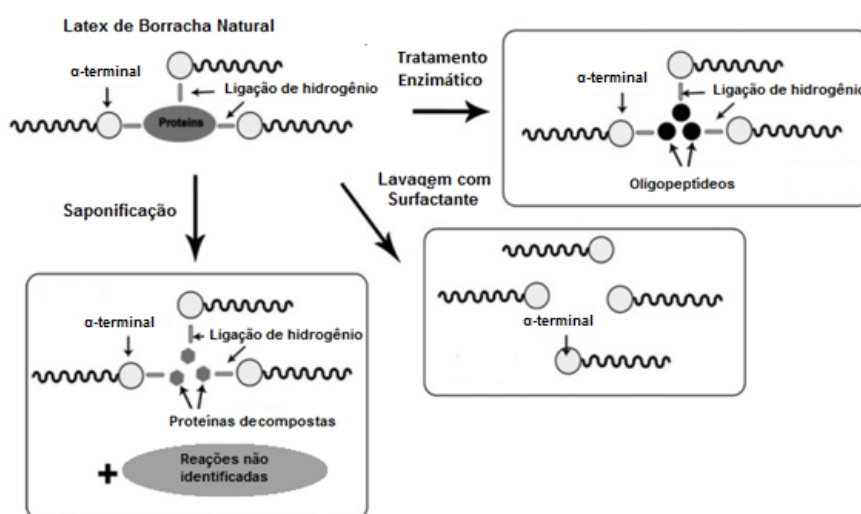


Figura 2. Exemplos de tratamentos para remoção de proteínas, modificado de NAWAMAWAT; SAKDAPIPANICH e HO (2010).

É reconhecido que a molécula do elastômero está ligada em suas duas pontas a fosfolipídios, no terminal ômega, onde se iniciou a biossíntese da borracha e, no terminal alfa, a uma proteína que realiza o trabalho final da biossíntese de acrescentar novas unidades de isopreno à cadeia do polímero. Para complementar esta discussão, pode ser visto texto referente à **Figura 1**, na **Seção 3.2.1 Composição**.

Quando se trata do tratamento com enzimas proteolíticas, quem sofre as ações específicas destas enzimas são as proteínas ligadas ao elastômero na posição alfa, formando oligopeptídeos que supostamente estão inativados para os processos alergênicos originais. Os surfactantes, por outro lado, vão atuar nos fosfolipídios ligados à borracha na posição ômega, deixando estes terminais soltos, enquanto a saponificação atua preferencialmente nas proteínas.

Nota-se que estas soluções podem ser passíveis de desencadear outros processos como efeitos colaterais, inclusive alérgicos, como pode ser o caso, por exemplo, de novas alergias desencadeadas pelas enzimas proteolíticas inseridas no sistema ou pela presença dos novos segmentos de peptídeos gerados no processo.

3.4. PRESERVAÇÃO DO LÁTEX E AMÔNIA

Como segunda hipótese de trabalho e a título de ampliação de escopo desta tese tecnológica de doutorado, admitiu-se o desenvolvimento de sistema de preservação de látex de borracha natural sem a incorporação de amônia.

Nos líquidos produzidos pela natureza que se apresentam como produtos leitosos, como o próprio leite de vaca ou o látex das plantas, a cor branca se forma pelo impedimento da passagem direta da luz através do material. O fenômeno se verifica porque o material se encontra em duas fases imiscíveis entre si, mas que coexistem na forma de um coloide ou emulsão, onde há uma forma dispersa, em menor quantidade, suspensa no outro meio, aquoso nos coloides naturais, que se encontra em maior quantidade. As partículas que contém a fase dispersa, normalmente se estabilizam pela presença de proteínas adsorvidas em sua superfície (HO et al., 1996) que por estarem carregadas negativamente, se repelem umas às outras, evitando a coalescência espontânea que é termodinamicamente favorecida.

As proteínas são digeridas por bactérias presentes no meio que as transformam em ácidos graxos voláteis, AGV (PHILPOTT; SEKAR, 1953), que, como o próprio nome

indica, pela cadeia carbônica curta exalam mais facilmente da solução e atribuem o cheiro de putrefato característico nestes processos. Pela formação ácida, o pH diminui e concomitantemente, as proteínas, que estavam carregadas negativamente, perdem esta carga, provocando a coalescência espontânea das partículas, formando o coágulo ou coalho dos leites em geral.

Pelo raciocínio acima, a proteção do coloide pode ser feita com a adição de álcalis que intensificarão as cargas negativas das proteínas e, por decorrência, das partículas que não sofrerão coagulação. No entanto, esta proteção das partículas, não protege o coloide dos ataques bacterianos.

No caso do LBN, encontrou-se na amônia o protetor ideal, um reagente altamente disponível, de baixo custo comercial, que encontra inúmeras aplicações industriais. No campo do LBN ela é utilizada como hidróxido de amônio, NH_4OH , em solução aquosa aproximada de 25% (m/m) usada em uma concentração aproximada de 0,6 a 0,8 % em massa de NH_4OH por massa de látex (JEWTRAGOON, 2004). Ela é inserida no processo em vários pontos: a) na tigela de coleta, ainda na seringueira; b) no container de 30, 50 ou 200 L, em estoque no campo; c) na usina de centrifugação, se for necessário para proteção do látex antes do processo que submete o coloide a alta taxa de cisalhamento a 8.000 RPM (TANGBORIBOON et al., 2011); e d) depois do processo de concentração, tanto no tanque de repouso do látex a 62 % de sólidos, como no tambor para comercialização para a indústria.

O teor de amônia deve se situar próximo de 0,8 % (m/m) para que ela possa cumprir as duas funções: 1) como protetor do coloide acrescentando cargas negativas na superfície das partículas e intensificando a carga negativa das proteínas evitando a coalescência; e 2) como bactericida, pois nesta concentração, 0,8 %, o pH do látex fica próximo de 10 o que impede o crescimento e proliferação das bactérias (BLACKLEY, 1997b).

Pelo conjunto dos parâmetros de disponibilidade comercial, baixo custo, facilidade de operação em campo e na indústria, proteção do coloide evitando coalescência e colapso do látex e, finalmente, de protetor biológico, a amônia se transformou no protetor universal para LBN em condição que já se estende desde 1853 (BLACKLEY, 1997b).

Entretanto, tantos fatores positivos não poderiam vir isolados: a amônia, por sua conhecida volatilidade e irritação das vias respiratórias, constitui permanente foco de atenção por motivos de saúde e conforto laboral, o que faz com que há mais de 70 anos venha

se pesquisando substitutos para a amônia, pelo menos que se permita diminuir a sua concentração, nos sistemas conhecidos como baixo-amônia, nas expressões em inglês, “*low ammonia*”, LA, a uma concentração de 0,2% (m/m), diferenciando-se do sistema “*high ammonia*”, HA, a 0,8% (m/m). No entanto, a função bactericida só é assegurada na alta dosagem, o que implica adicionar outro reagente que possa cumprir esta segunda função (BLACKLEY, 1997b; JEWTRAGOON, 2004).

Os trabalhos de investigação científica e tecnológica de localizar um bactericida ideal para coadjuvar a amônia na função de proteger o LBN não têm sido fáceis e já consumiu muito esforço. O reagente químico que melhor desempenhou esta tarefa foi o pentaclorofenato de sódio, $\text{Cl}_5\text{C}_6\text{ONa}$ (MURPHY, 1952) que é altamente reativo e eficaz na preservação do látex, mas é cancerígeno, conhecido como “pó da china” (MENON, 1958), e proibido em muitos países, inclusive no Brasil (BRASIL, 2015). Outros bactericidas para uso juntamente com amônia já foram investigados e encontraram uso comercial, entre eles o bórax, conhecido também como tetraborato de sódio ou, simplesmente, borato de sódio, $(\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O})$ (COOK, 1960).

3.5. LÁTEX, AMÔNIA E GEL

É reconhecido que a adição de amônia como preservante microbiano do LBN resulta na formação de géis no coloide (SANTIPANUSOPON; RIYAJAN, 2009), os quais são entendidos como agregação de partículas do elastômero sem a sua efetiva fusão entre si, ou coagulação. Para facilidade de visualização, a imagem de pequenos cachos de uva pode dar uma ideia do fenômeno microscópico. Aparentemente, a formação dos géis está associada a reações cruzadas entre proteínas e fosfolipídios, adsorvidos à superfície de diferentes partículas que, então, formariam aglomerados de partículas sem coagulação (TARACHIWIN; SAKDAPIPANICH; TANAKA, 2003). Ainda mais, estas reações tendem a ser influenciadas pelo alto pH do meio, proporcionado pela elevada concentração de amônia, em torno de 0,8 % m/m. Os géis, pelo incremento no tamanho das partículas, acarretam progressivo aumento da viscosidade do látex durante a estocagem, o que tende a interferir na utilização industrial em pelo menos duas situações: o espessamento do látex, pelo aumento da viscosidade durante a estocagem na indústria de artefatos, reduz a liberdade no gerenciamento do seu estoque de matéria prima. Além do mais, obriga a mudanças na

formulação para reduzir a viscosidade, acrescentando água, por exemplo, o que pode, por sua vez, interferir na deposição do filme nos processos de imersão (*dipping*), a mais utilizada técnica de produção industrial de artefatos a partir do látex, notoriamente, luvas, camisinhas e balões. A segunda possibilidade de interferência dos géis no processo produtivo decorre da própria formação do gel como junção de duas ou mais partículas, sem a fusão das moléculas do elastômero, o que implica na formação de microfilmes aquosos no interior do gel. Estas microrregiões de água em meio às partículas de elastômero no látex poderão dificultar a formação de filmes coerentes no processo produtivo de imersão, que é bastante crítico, onde o depósito de borracha deve ter a espessura uniforme para evitar possíveis pontos fracos no filme, o que poderá levar a imperfeições ou ruptura do artefato.

3.6. PROTEÍNAS E PROPRIEDADES MECÂNICAS DOS FILMES DE LÁTEX

Os principais tratamentos do LBN para redução de seus efeitos alergênicos têm sempre focado sua atenção na eliminação das proteínas do látex, seja no soro, seja na periferia das partículas. As formas de remoção das proteínas envolvem enzimas proteases (CHAIKUMPOLLERT et al., 2012; PERRELLA; GASPARI, 2002) e processos com ureia e surfactantes que retirariam, também, os fosfolipídios adjacentes às partículas de elastômero (KLINKLAI et al., 2004; PICHAYAKORN; SUKSAEREE; TAWEEPRED, 2013). Entretanto, se por um lado algumas proteínas adjacentes às partículas podem causar reações alérgicas, como há relatos na bibliografia (BUBAK et al., 1992; PALOSUO, 2014; POLEY; SLATER, 2000; SUSSMAN; BEEZHOLD, 1995), também há referências na literatura científica que dão conta que as proteínas em geral desempenham papel importante na resistência mecânica dos filmes de borracha produzidos a partir do látex (ARIYAWIRIYANAN et al., 2013; SANTIPANUSOPON; RIYAJAN, 2009). Ainda que não se tenha formado consenso sobre este tema a partir das pesquisas realizadas até aqui, a simples controvérsia instalada a respeito dessa questão já incentiva a busca por novas formas de tratamento do LBN que não interfiram necessariamente com as proteínas e fosfolipídios que compõem a camada das partículas de elastômero no coloide natural.

3.7. POLIFENÓIS E TANINOS VEGETAIS

Os taninos constituem uma grande categoria de polifenóis naturais encontrados em uma infinidade de plantas e produtos extraídos ou derivados delas (NACZK; SHAHIDI, 2006).

Os taninos são divididos em duas categorias: hidrolisáveis e condensados.

Os taninos do primeiro tipo, hidrolisáveis, são formados por segmentos de ésteres de ácidos gálicos com ácidos elágicos glicosilados (MONTEIRO et al., 2005), conforme mostrados na **Figura 3**. São compostos que sofrem hidrólise aquosa ou enzimática e encontram menor utilização industrial (CARVALHO, 2007) que os taninos condensados, empregados em inúmeras aplicações.

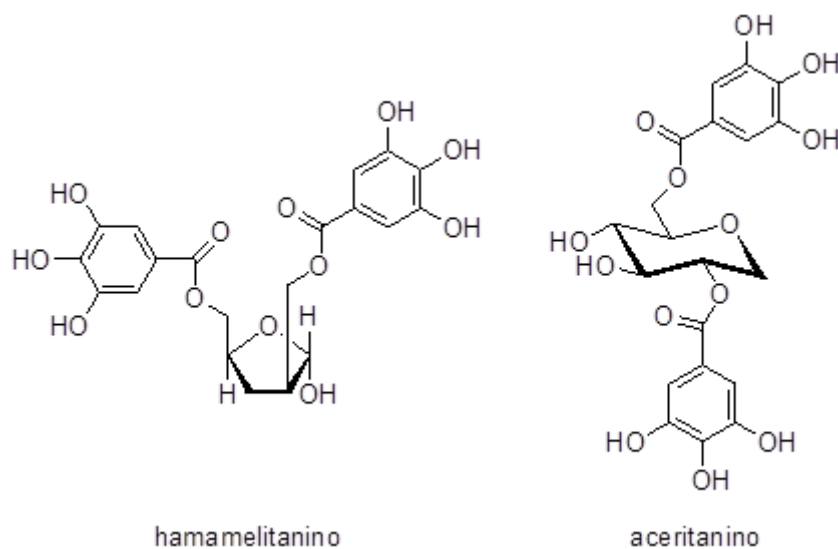


Figura 3. Moléculas típicas de tanino hidrolisável com a característica unidade de açúcar ao centro que confere a característica hidrolisável (MONTEIRO et al., 2005).

Os taninos condensados são derivados do flavan-3,4-diol (**Figura 4**) (HASLAM, 1966), ocorrendo entre 1 e 11 unidades da estrutura apresentada na **Figura 5** (COVINGTON, 1997). São moléculas estáveis em meio aquoso e encontram um grande número de aplicações industriais, de curtimento da pele para produzir couro, o seu uso mais clássico (EPA, 1995), a lubrificante de brocas na perfuração de poços de petróleo (IBRAHIM; CHUAH; CHENG, 2003), passando por flocculantes (BELTRÁN-HEREDIA; SÁNCHEZ-MARTÍN, 2009) ou sedimentadores de partículas no tratamento de água (BAILEY et al., 1999).

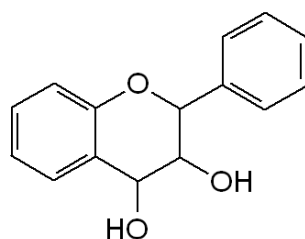


Figura 4. Fórmula estrutural da molécula de flavan-3,4-diol.

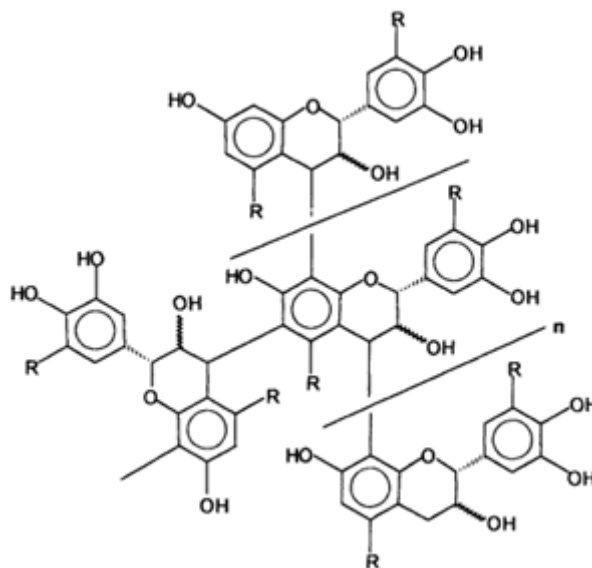


Figura 5. Estrutura molecular do tanino (COVINGTON, 1997).

O Brasil é um dos principais produtores e exportadores de tanino da espécie *Acacia mearnsii*, Wild, da família das mimosáceas, conhecida popularmente como mimosa ou acácia negra, e no exterior como *black wattle*. Trata-se de espécie de rápido crescimento, que pode ser colhida em seis anos, e dela se aproveita a casca, de onde se extrai o tanino, e a madeira, utilizada principalmente para a produção de celulose, MDF, aglomerados de partículas e palitos de fósforo (SANTOS; LUZ, 2007).

A região intensa de produção é o centro do Estado do Rio Grande do Sul, abrangendo vários municípios, dentre eles Montenegro, Estância Velha, Canoas e Triunfo. A espécie é plantada por pequenos, médios e grandes produtores, pelas vantagens econômicas do uso tanto do tronco como da casca, mas também por ser uma planta das mimosas, conhecidas pela propriedade de contribuir para a recuperação do nitrogênio no solo (MORA, 2002). É uma planta característica por apresentar seu fruto como vagem como os vários tipos de feijão e muitas outras espécies.

A unidade básica da molécula do tanino, apresentada na **Figura 4** contém um fragmento de resorcina (à esquerda) que, pela posição 1 e 3 das duas hidroxilas no anel aromático, confere a esta parte da molécula, na posições 2 e 4, a alta reatividade dos resorcinois em relação ao formol e similares, reação empregada na fabricação de resinas tanino-formaldeído, TF, muito pesquisadas nas décadas de 60 a 80 para utilização em substituição às resinas fenol-formaldeído, FF, para as indústrias de painéis de madeira.

O autor da presente tese de doutorado concluiu seu mestrado realizando, a título de dissertação, uma abrangente revisão crítica do uso de tanino na fabricação de resinas TF para uso na indústria madeireira (PASTORE JR, 1978).

3.8. TANINO E PROTEÍNAS – A BASE DESTA TESE

As moléculas de tanino são bem características pelo elevado número de hidroxilas, em especial as fenólicas, que lhes atribui alta facilidade de interação molecular com outras moléculas por meio de ligações de hidrogênio (SIEBERT; TROUKHANOVA; LYNN, 1996). A mais importante delas, do ponto de vista econômico-industrial, é utilizada no tratamento das peles animais na produção de couro no curtimento do tipo vegetal (EPA, 1995) em contraposição ao curtimento ao cromo, que faz uso do sulfato básico de cromo, $[\text{Cr}(\text{H}_2\text{O})_6]_2(\text{SO}_4)_3$ (PACHECO, 2005) que constitui cerca de 80% do curtimento no mundo (DOEPPERT et al., 2011), não obstante a origem mineral do cromo e os resíduos permanentes que produz, entre outros fatores, num período em que as preocupações com resíduos minerais estão bastante acentuadas.

Pelo foco de interesse da presente tese de doutorado, somente será considerado aqui, o curtimento com o tanino vegetal.

No processo de curtimento, o tanino tem que alcançar as fibrilas do colágeno da pele e bloqueá-las para que não mais estejam disponíveis para os ataques bacterianos, conforme modelo proposto por Covington apresentado na **Figura 6** (COVINGTON, 1997). Como se trata de um substrato sólido, a pele, e um reagente líquido, o tanino vegetal em solução, há necessidade de um longo processo de reação, cerca de três dias, em um reator de madeira ou aço inoxidável, por nome ‘fulão’, utilizado nos curtumes (PACHECO, 2005). A reação do tanino com as proteínas no colágeno da pele dependem do pH, temperatura, concentração da solução e tempo no reator (REICH, 2007).

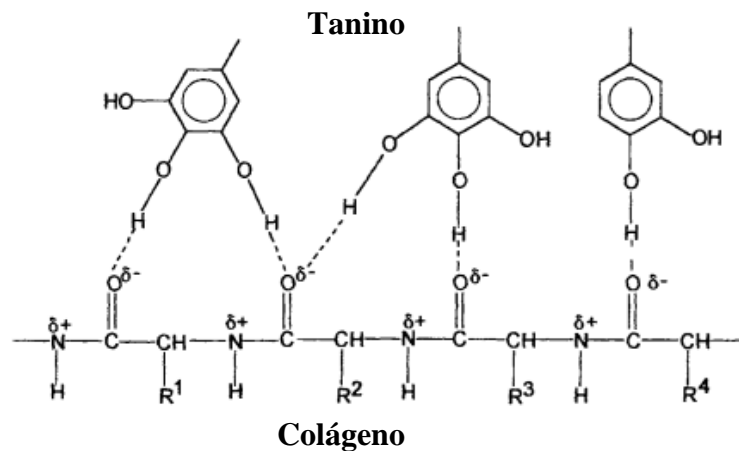


Figura 6. Modelo de interação entre tanino e proteínas do colágeno (COVINGTON, 1997).

Ao passar pelo curtimento com o tanino vegetal, as proteínas que constituem o colágeno da pele, não somente deixam de estar aptas para o ataque microbiológico, como perdem a capacidade de reagir como proteínas, pois estão ligadas ao tanino por fortes ligações de hidrogênio (SRIVASTAVA; MEERA, 2014). Adquirem, por assim dizer, uma “capa” tanino-proteica que as impede de atuar como proteínas, de forma irreversível e muito estável, confirmada pela estabilidade de couros (já curtidos), em comparação com as peles (não curtidas), que em pouco tempo estão irremediavelmente comprometidas pela ação bacteriana, enquanto aqueles, podem enfrentar os desafios de uso prolongado, sem apodrecerem ou deteriorarem, a não ser ao longo de muito tempo de serviço, quando o que já se verifica é a destruição mecânica das fibras.

Como principal observação desta explanação, pode-se extrair que, para todos os efeitos, as proteínas originais não mais “existem” no “novo material” e, portanto, não estão disponíveis para reagir em reações inespecíficas, como na deterioração bacteriana, onde constituem substrato de ataque das bactérias que atacam proteínas em geral. Assim, o que esperar deste complexo tanino-proteico em reações ultra específicas como são as sensibilizações alérgicas, onde as proteínas desempenham reações muito específicas (POLEY; SLATER, 2000)?

Dos parágrafos anteriores, pode-se admitir como plausível e bastante consistente a primeira hipótese da presente tese tecnológica, quer seja, a possibilidade de usar o tanino vegetal em solução para reagir com as proteínas do látex, ainda na sua forma de coloide,

para diminuir ou eliminar as suas reações alergênicas. Pode-se admitir também, que a reação do tanino deve atingir todas as proteínas existentes no látex, das quais algumas provocam alergia (PERRELLA; GASPARI, 2002), o que faz pensar que o tratamento com tanino vegetal vai inabilitar as proteínas e suas reações.

Como se sabe, 75% das proteínas são eliminadas na centrifugação industrial do LBN (SANSATSADEEKUL; SAKDAPIPANICH; ROJRUTHAI, 2011). No entanto, o percentual restante pode conter os agentes alergênicos, o que faz com que este processo simples de tratamento do látex não seja assegurado de todo. Mesmo uma segunda centrifugação, que dificulta e encarece o processamento, ainda não vai eliminar as proteínas integralmente, pois algumas, intimamente associadas à biossíntese do elastômero, estão ligadas à borracha por ligações de hidrogênio (TANAKA; TARACHIWIN, 2009), o que praticamente inviabiliza ou dificulta a sua remoção por completo.

No caso do tanino, como se espera que este reaja com todas as proteínas, sem distinção, espera-se também, que elas serão inabilitadas para atuarem como antígenos, mesmo que ainda estejam presentes no látex após a centrifugação ou mesmo que permaneçam num produto de látex, como luvas, por exemplo, após a fabricação.

O tratamento mais utilizado até aqui para a desativação proteica e sua capacidade de desencadear reações alérgicas no látex é a utilização de enzimas proteolíticas (KLINKLAI et al., 2004), que se encarregam de quebrar as proteínas em pedaços menores que serão eliminados na centrifugação ou permanecerão inativados no que se refere aos processos alérgicos. Como já mencionado no texto referente à **Figura 2**, há possíveis pontos de interrogação a respeito deste método, pois há a insegurança da eficácia da reação para todas as proteínas (KLINKLAI et al., 2004). Outro argumento consiste em que as enzimas proteolíticas introduzidas, ou as frações proteicas produzidas podem elas mesmas desencadear processos alérgicos.

Naturalmente, por todo o comentário teórico sobre as reações do tanino e as proteínas exposto nesta seção, pode-se esperar uma vantagem teórica do tratamento proposto como eixo desta tese tecnológica de doutorado, em relação à solução do problema, representada no tratamento do látex com enzimas proteolíticas. A presente tese baseia-se em reações conhecidas e amplamente utilizadas no principal uso do tanino, o curtimento da pele na produção de couro. Como já mencionado, esta reação acontece bastante bem e de forma

irreversível entre uma solução de extrato tânico com as fibrilas do colágeno, mesmo que necessitando de 3 a 4 dias. Portanto, não se vê razão para que não ocorra tão bem ou melhor, entre a solução aquosa de tanino e as proteínas do látex, que se imagina disponíveis no soro e na superfície das partículas de elastômero. Ocorrendo esta reação, haverá vantagens do tratamento aqui proposto como tese de doutorado em relação aos outros métodos de retirada das proteínas do látex, pois elas poderão permanecer no coloide e também nos filmes de borracha obtidos industrialmente deste LBN tratados desta forma.

Os taninos, como produtos de origem vegetal, vêm sendo utilizados há séculos na produção de couros e não há registro de problemas em seu uso, o que confere ainda maior potencial de viabilidade a esta proposta tecnológica de uso dos taninos vegetais no tratamento do LBN para proteção sem amônia e inativação de sua alergenicidade. Em sendo bem-sucedida esta proposta, o látex resultante terá ainda a provável vantagem de não formar gel e de não retirar as proteínas do sistema. Além do mais, se estas proteínas estiverem complexadas com tanino, é possível se antever mudanças em suas estruturas, podendo derivar daí alterações nas propriedades mecânicas dos filmes derivados deste látex tratado com tanino, podendo ser para melhor, o que testes específicos poderão confirmar.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. RELAÇÃO DAS ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

A parte experimental desta tese de doutorado foi bastante extensa e com longa lista de atividades realizadas que são apresentadas no **Anexo I**. Inicialmente, tentou-se, por alguns meses, encontrar uma forma mais sofisticada de determinar o grau de putrefação do látex a partir da análise dos ácidos graxos voláteis (AGV), com Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrômetro de Massas, com acessório para “*head space*”, (CG/MS – HS). Trata-se da análise dos gases na parte aérea superior em um frasco selado com lacre de borracha, por onde uma agulha coleta os gases para análise no CG/MS. A ideia desta análise, do próprio autor desta tese, seria perfeita e forneceria um grau acurado de análise permitindo avaliar com precisão a eficácia dos diferentes tratamentos, mesmo que próximos entre si, pois a cromatografia gasosa constitui, inequivocamente, boa e precisa ferramenta de análise quantitativa. Acoplando-se ao sistema de “*head space*”, constituiria um arsenal apreciável de trabalho e seria pioneiro no campo de LBN.

O que aparentemente pareceu um ótimo veio de análise, acabou se mostrando uma miragem, pois consumiu meses de tentativas não se conseguindo mais do que umas poucas corridas preliminares, sem qualquer resultado, por várias razões operacionais, como ausência de colunas adequadas entre outros. Buscou-se outro aparelho que, no entanto, tampouco foi efetivo. Neste ponto, uma reflexão sobre a tese tecnológica de doutorado foi fundamental para mudar a abordagem de pesquisa e realmente iniciar a obtenção de resultados. Iniciou-se assim uma nova etapa de trabalho, profícua em resultados orientadores da pesquisa por avanços concretos, que se baseou na execução de Planos Experimentais com vários tratamentos com as substâncias por testar e utilizando-se ferramental de análise mais simplificado, porém seguro que estava disponível. Esta decisão permitiu avançar na tese tecnológica, produzindo-se robusto corpo de dados, logo nos primeiros meses, o que permitiu observar o inusitado comportamento do látex tratado com tanino, mas sem amônia e que, visivelmente, não estava em estado de deterioração microbiana. Estas observações conduziram à ampliação do escopo da tese para produzir, com um mesmo tratamento, um látex hipoalergênico ou não alergênico e sem o uso de amônia na sua proteção. A conjugação dos dois desafios, ainda que de difícil consecução, pareceu uma trajetória exequível e que,

sendo positiva, poderia produzir uma contribuição tecnológica considerável, na cadeia produtiva do LBN

4.2. MATERIAIS

4.2.1. Látex

Todos os látex empregados nos trabalhos experimentais desta tese foram provenientes de seringais de cultivo da região próxima à Brasília que permitiam o deslocamento e implantação dos experimentos no LATEQ/IQ/UnB, ou em campo, quando um ou mais tratamentos exigiam adição imediata dos ingredientes. Foram coletados látex de três plantios, conforme segue:

Látex da Embrapa: látex de *Hevea brasiliensis* do clone RRIM 600, o mais plantado em todo o mundo, de experimentos do Centro de Pesquisas Agropecuárias do Cerrado da Embrapa, Planaltina, DF. Este látex tem uma peculiaridade: possui aproximadamente 47 % de massa seca por massa de látex, o que é muito raro. Esta determinação, feita em triplicata, confirma outras determinações feitas anteriormente, inclusive pelo Laboratório de Produtos Florestais (LPF/SFB). Este valor é muito mais alto que na maioria dos plantios de seringueira, onde o conteúdo de sólidos situa-se próximo a 30%. Mesmo na Amazônia, onde se tem látex mais concentrados, os maiores valores que o autor desta tese já encontrou foi da ordem de 45%, em casos raros. Ainda que seja uma vantagem para quem for plantar este clone no futuro, em termos de pesquisa, o uso deste clone experimental da Embrapa constitui um ponto de dúvida, pois não é o material que se vai encontrar na prática, colocando uma indagação sobre a reprodutibilidade dos resultados desta tese no setor produtivo, o que fez com que se optasse por látex de seringais plantados comerciais, indicados a seguir.

Látex de Goianésia: também de *H. brasiliensis*, clone RRIM 600, obtidos junto à empresa Morais Ferrari, de plantio no município de Goianésia, GO, distante cerca de 300 km de Brasília, DF.

Látex de Cidade Ocidental: novamente da mesma espécie e clone indicados acima, obtido do seringalista Flávio Rogério da Silva, de plantio no Município de Cidade Ocidental, GO, próximo à divisa GO/DF, distante cerca de 50 km de Brasília.

4.2.2. Taninos

Tanino Weibull, Extrato de Mimosa Natural: produto em pó comercial produzido pela empresa TANAC (TANAC, 2015) (**Figura 7**), em fábrica no município de Montenegro, RS, a partir da casca da acácia negra, *Acacia mearnsii* De Wild., da família Fabacea (ex Mimosacea).



Figura 7. As amostras principais de taninos usadas nesta tese foram fornecidas pela TANAC SA, sediada em Montenegro/RS, que é hoje a principal produtora mundial de tanino da acácia negra.

Outros tipos de tanino, também extraídos da casca da acácia negra e produzidos pela empresa TANAC, foram cogitados inicialmente: um Weibull branqueado, por nome Weibull Extra Light, e outro, preparado para uso como floculante, por nome Tanfloc Pop. O primeiro chegou a ser testado inicialmente no PEP 1, e funcionou no mesmo sentido que o tanino normal, mas foi deixado para uma outra oportunidade, quando se estiver pesquisando aperfeiçoamentos na técnica, como o clareamento na cor que parece se viabilizar com este tanino branqueado. Por outro lado, o produto utilizado em tratamento de água coagulou o látex logo ao ser adicionado e foi deixado para uma outra oportunidade, pois o problema pode ser facilmente resolvido com um ajuste prévio do pH da solução deste produto antes da adição ao látex. Um outro tanino, degomado, adquirido da empresa Veronese Ltda., foi usado em testes preliminares apresentando facilidade de adição ao látex e foi incorporado ao PEG 2.

Finalmente, já no último Plano Experimental, PEC 2, em abril de 2017, foram testadas amostras cedidas pela TANAC, de seu estoque para testes, de dois taninos hidrolisáveis, para efeito de comparação com o tanino condensado da casca da acácia negra. Estas amostras de taninos hidrolizados comerciais são produzidos a partir dos frutos do mirabolano (*Terminalia chebula*) e tara (*Caesalpinia spinosa*), provenientes da Índia e do Peru, respectivamente.

4.2.3. Outros reagentes

São os seguintes os reagentes utilizados nos experimentos.

- Lauril sulfato de sódio: produto em pó grau PA da marca Synth, com teor de ativos de 90%.
- Lauril éter sulfato de sódio: produto líquido comercial, da marca Garden, com teor de ativos de 27 a 28%.
- Renéx: nonilfenol etoxilado, produto líquido da marca Oxiteno, distribuído pela Casa da Química (Brasília), com 100% de teor de ativos.
- Hidróxido de potássio: produto em lentilhas, grau PA, da marca Anastácio.
- Ricinoleato de potássio: produto líquido, grau técnico, da marca Cognis.
- Bórax: produto em pó, grau PA da marca Argent., com teor de 100%.
- Amônia: solução aquosa de NH_4OH , grau PA, a 28% (m/m) da marca Isofar,
- Nano partículas de prata: coloide sintetizado em 19/12/2014, no LABPOL/IQ/UnB (NPPL).
- Nano partículas de prata: produto coloidal comercial (NPPC), da empresa Nanox.
- Cloreto de cálcio: produto em pó, grau PA, da marca Vetec, com teor de 99%.
- Etanol: álcool etílico hidratado comercial da marca Sol, com 92,8° INPM.

Frascos de vidro: nos primeiros planos experimentais foram utilizados frascos de vidro de 250 mL, de boca larga, com tampas metálicas rosqueáveis, do tipo usado para guardar compotas, enquanto que nos planos posteriores, as tampas eram duplas, de plástico.

4.3. MÉTODOS

4.3.1. Procedimento de implantação dos experimentos

4.3.1.1. Coleta do látex

Para a coleta de todos os látex utilizados nos experimentos, houve comunicação prévia com o responsável pela coleta, já devidamente autorizado pelo responsável ou proprietário do seringal, para orientar quanto à utilização de canecas limpas, volume de látex a coletar, número de árvores aproximadas e horário de busca do látex. Na Embrapa, o número de árvores coletadas ficou entre 20 e 30, enquanto que nos seringais comerciais nas duas empresas foi de 50 a 80 árvores.

O corte ou sangria das árvores se deu entre 7 h e 9 h, como habitual na prática dos seringais e o recolhimento nas canecas, entre 11 e 13 h.

4.3.1.2. Estabilização do látex com amônia

Em alguns dos experimentos, o látex excedente era guardado para uso posterior, estabilizado com leve concentração de amônia, próxima de 0,05% (massa de ativo NH_4OH sobre o volume de látex) e mantido em geladeira.

4.3.1.3. Estabelecimento dos Planos Experimentais

Os planos experimentais foram divididos em duas fases, previamente calculados e tabulados.

Na primeira fase, executada até dezembro de 2015, foram executadas as seguintes atividades experimentais, os Planos Experimentais Preliminares (PEP) 1, 2 e 3, Plano Experimental de Goianésia 1 (PEG 1) e Plano Experimental de Cidade Ocidental 1 (PEC 1).

Os três PEPs (**Figura 8**) foram implantados no LATEQ a partir do látex trazido da Embrapa. o PEP 1, foi calculado para volume final de 100 mL, enquanto os PEPs 2 e 3, bem como os PEG 1 e PEC 1, foram todos feitos com base em 100 mL de látex, para facilitar cálculos e medições.



Figura 8. O seringal de pesquisa da Embrapa/CPAC forneceu o látex para os três Planos Experimentais Preliminares, durante 2015. Ao centro, o técnico Dalmir Rabelo.

Para a implantação do PEG 1 (**Figura 9**), o látex foi recolhido das canecas em um vasilhame de 50 L e a implantação dos experimentos, em frascos previamente preparados, ocorreu no próprio seringal e trazidos para o LATEQ onde foram feitas as determinações.



Figura 9. A implantação do PEG 1 no seringal em Goianésia/GO, em 20/04/2015, demandou um esforço considerável de se instalar um laboratório em condições de campo.

Para a implantação do PEC 1 (**Figura 10**), o látex coletado em campo foi trazido íntegro para o LATEQ onde os experimentos foram implantados. Para os tratamentos de mesmo pH, houve correção com acréscimo de KOH ao látex no vasilhame maior para maior homogeneidade. Como previamente planejado, o látex foi coletado em um volume a maior em cerca de 20 L, o que permitiu instalar um experimento piloto com este volume usando a formulação que ficou designada de BM, Básico Melhorado, a partir do PEG 1.



Figura 10. Do seringal na Cidade Ocidental, por sua proximidade da UnB, foi colhido o látex para os PEC 1, PEC 2 e para vários estudos isolados. Na foto, uma árvore do clone RRIM 600, com corte bastante técnico.

A segunda fase, executada entre janeiro de 2016 e maio de 2017, foram executadas os Planos Experimentais de Goianésia 2 (PEG 2) e Plano Experimental da Cidade Ocidental 2 (PEC 2).

O PEG 2, implantado em outubro de 2016 e analisado nos meses seguintes, foi dos mais completos dos Planos Experimentais desta tese, e com o qual se buscou a finalização dos trabalhos de definição da fórmula de tratamento do LBN com tanino. Neste sentido, é importante fazer aqui alguns registros que permitam a sua melhor compreensão. O Plano completo consta como **ANEXO 2** desta tese.

Os objetivos deste PEG 2 foram:

- a) confirmar os resultados obtidos em programas experimentais anteriores em relação às formulações e processos de campo;

- b) testar, nas mesmas condições, a formulação principal com pH 9, 8 e 7;
- c) comparar a utilização de tanino e ácido tânico com pH 8;
- d) comparar o uso de LESS e renéx, com pH 8;
- e) comparar a ordem de entrada dos reagentes entre álcali, tanino e surfactante.

Algumas considerações práticas sobre a implantação dos tratamentos, também devem ficar registrados pois interferiram no planejamento original e serão consideradas durante a análise para explicar os resultados.

O plano experimental foi instalado no dia 18 de outubro de 2016. O corte das árvores foi de 8 às 9 h e a coleta do látex por volta de 14 h. O seringal fica na cidade de Goianésia, distante 250 km da Universidade de Brasília, o que acrescenta considerável dificuldade à parte experimental. A temperatura no dia da coleta do látex e da instalação experimental estava entre 35 e 40 °C, considerada alta, mesmo para as condições normais da região. A coleta das amostras coincidiu com o período inicial da safra de borracha, quando o látex é muito instável o que interferiu com o esquema experimental. Por exemplo, o tratamento branco de controle, sem adição de qualquer ingrediente, coagulou ainda no seringal. Assim, o primeiro tratamento, T1, foi alterado pela adição de cerca de 0,3% de amônia.

Plano Experimental de Cidade Ocidental 2, realizado em abril de 2017, para testar a possibilidade de uso de dois taninos hidrolisáveis, de mirabolano (*Terminalia chebula*) e tara (*Caesalpinia spinosa*), e testar as formulações já consolidadas, empregando-se período prolongado (12 horas) de mistura dos reagentes com o látex.

4.3.1.4. Preparo de soluções

As soluções empregadas nos experimentos foram feitas à temperatura ambiente com adição simples dos reagentes em água destilada, podendo ser utilizada no mesmo dia ou posteriormente. A exceção ficou com o tanino que deve ser sempre feito de véspera para permitir melhor hidratação.

4.3.2. Acompanhando a estabilidade biológica e física do látex

4.3.2.1. Descrição dos aspectos gerais

Estas anotações foram realizadas mais sistematicamente com o PEG 1, especialmente em especial com o PEC 1. Antes de qualquer medição ou análise, a amostra era cuidadosamente observada para registrar a integridade do látex, se estava coagulado ou líquido, a cor, a formação e diferenciação de camadas, ocorrência depósitos no fundo do frasco e a ocorrência de manchas superficiais ou pintas na parede do frasco e qualquer outro fator que se fizesse interessante registrar.

4.3.2.2. Avaliação Olfativa

Para a avaliação do cheiro, foi definido que as notas seriam atribuídas em um intervalo entre -5, nota atribuída à amostra mais deteriorada quando o cheiro putrefato do látex está máximo, passando por zero, um ponto neutro (nem desconfortável, nem tampouco confortável), indo até +5, que seria a nota mais agradável ao olfato. Naturalmente, quanto maior o número de leitores, menor a subjetividade da leitura e melhor a avaliação. Nos três PEPs e no PEG 1, as leituras eram mais indicativas de acerto ou erro do tratamento, e foram feitas por uma ou duas pessoas. No PEC 1, o processo passou a ser mais crítico e demandou a participação de 3 pessoas, quando duas já concordavam, esta nota era atribuída; quando não se tinha consenso, a terceira pessoa avaliava a amostra e atribuía a nota, tirando a dúvida e formando, assim, o consenso de, pelo menos, duas pessoas. A somatória das notas ao final de várias leituras, aumenta o espalhamento das leituras e diminui a vulnerabilidade do método, que naturalmente permanece ainda subjetivo e pode ser utilizado apenas como indicativo. Entretanto, mostrou-se bem inequívoco para se definir, ao longo de 2 a 4 meses de tratamento, que uma amostra está ou não preservada quanto ao ataque bacteriano. Aos tratamentos AA, alto amônia, e BA, baixo amônia, normalmente, não foram atribuídas notas de cheiro porque a amônia é bastante forte e desconfortável e principalmente, porque nestas amostras não se forma o odor característico de putrefação, como era de se esperar pela amônia ser o preservante clássico de LBN.

Como a escala de - 5 a + 5, dificultava, às vezes, para discernir o zero, ou seja, o ponto intermediário e também para dar notas negativas, passou-se a adotar no PEG 2 e posteriormente, uma escala diferente: de zero, a mais putrefata, a dez, a de cheiro mais

agradável, de látex que foi recém colhido da seringueira. O ponto intermediário, 5, é quando o odor deixa de ser agradável para ser desconfortável. Nesta nova escala, a pontuação foi mais fácil para os observadores que continuaram sendo, sempre, de no mínimo dois observadores bem experientes, treinados nos programas experimentais anteriores.

4.3.2.3. Determinação de pH

As medidas de potencial hidrogeniônico foram feitas em aparelho comercial da marca TECNOPON (MPA 210) com uso de eletrodo modelo SST-209 do mesmo fabricante, especial para uso em meios mais viscosos, como látex, cosméticos, suspensões minerais finas etc. No início de cada conjunto de medidas, o pHmetro era calibrado em dois tampões, fornecidos junto com o aparelho, com pH 4,0 e pH 7,0.

4.3.2.4. Análise dos ácidos graxos voláteis (AGV)

Os AGV são formados como produtos da degradação bacteriana dos compostos orgânicos não-borracha do látex, tais como proteínas, lipídios e açúcares. Por sua polaridade, ficam dispersos no soro aquoso. Nos trabalhos experimentais desta tese, foram medidos de acordo com a norma ASTM D7610, onde, em resumo, o látex é coagulado em banho-maria em torno de 60 °C, na presença de sulfato de amônio para minimizar a formação de gel. O coágulo formado é cuidadosamente amassado para liberar todo o soro possível, onde estão os AGV. O soro aquoso é então submetido à destilação a vapor e os ácidos graxos são carregados por arraste a vapor e condensam na parte inferior do Destilador de Markham, empregado na norma. O condensado é recolhido e titulado com solução de hidróxido de bário.

4.3.2.5. Medidas do potencial zeta e tamanho da partícula

As determinações do potencial zeta e do diâmetro hidrodinâmico das partículas foram realizadas no equipamento Zetasizer Nano Z90 (Malvern Instruments), do Departamento de Genética e Morfologia do IB/UnB, por medida da mobilidade eletroforética e espalhamento dinâmico da luz (DLS) com excitação em 632,8 nm, respectivamente. Para garantir o espalhamento da luz as amostras foram diluídas,

inicialmente, para 20.000 vezes em água deionizada em três passos: de 2 mL para 200 mL, de 2 mL para 200 mL e de 25 mL para 50 mL. Nos Planos Experimentais a partir do PEG 2, as diluições passaram a ser de 1 para 10.000, que permitiram melhor resultado. As leituras das duas propriedades foram feitas com alíquotas com a mesma diluição.

As duas medidas, potencial zeta e diâmetro da partícula, são importantes para caracterizar o sistema coloidal que constitui o LBN. Em um coloide, duas fases, imiscíveis entre si por diferença de polaridade, coexistem, uma minoritária, no interior de micelas em geral esféricas, que flutuam na outra fase. No caso do LBN, as partículas contêm a fase elastomérica, apolar, enquanto a outra fase é constituída por um soro aquoso polar, que contém os elementos de um citoplasma celular vegetal. As partículas de borracha têm em sua superfície moléculas de fosfolípidios e proteínas, as quais se situam acima de seu ponto isoelétrico e, portanto, estão carregadas negativamente e o potencial zeta do coloide é negativo. Por outro lado, a medida do diâmetro hidrodinâmico das partículas pode indicar se está ocorrendo a coagulação ou aumento do volume das partículas em decorrência de outros processos.

4.3.2.6. Viscosidade Brookfield

Até a realização do PEG 2, não era realizada a medida da viscosidade, mas entendeu-se que este seria um parâmetro adequado para analisar e acompanhar a evolução dos tratamentos com látex no decorrer do tempo. Adotou-se, portanto a partir do PEG 2, a determinação da viscosidade dinâmica das amostras em aparelho da Brookfield Engineering Laboratories. As medições se deram à temperatura ambiente, utilizando-se tabelas de correção, usando-se o fuso (*spindle*) 2, com velocidade variável, que permitisse a leitura no intervalo do visor, como habitual da técnica.

4.3.3. Experimento piloto de 20 litros

Como parte do Plano Experimental de Cidade Ocidental Nº 1, foi feita coleta de um excedente de 20 L, com os quais se fez um experimento piloto, adotando-se a formulação que se imaginava ter sido o melhor tratamento a partir das observações do plano anterior, PEG 1, ajustando alguns parâmetros, no tratamento que no PEC 1 recebeu a sigla de BM, ou Básico Melhorado, conforme se pode ver nos dados lançados na tabela para o PEC 1. No

entanto, não havia o reagente bórax suficiente para fazer proporcionalmente o tratamento BM para 20 L, que para este ingrediente, ficou próximo a 75% do valor necessário.

O vasilhame (de 50 L) com o piloto de 20 litros de látex ficou abrigado no interior do LATEQ (**Figura 11**), sem qualquer condição especial, e se verificava diariamente, sem abertura do frasco, se sua condição líquida se mantinha, o que foi se confirmando. Após cerca de 1 mês e meio de instalado este experimento, a amostra foi levada a São José do Rio Preto, SP, para proceder à centrifugação deste piloto de 20 L na Usina Jasmim de Beneficiamento de Látex, utilizando-se a centrífuga industrial normal da marca Alpha Laval, modelo LRH, que opera em regime normal de trabalho a 8.000 RPM, processando 400 L de LIN/hora.



Figura 11. O experimento piloto de 20 L de LBN com tanino, bórax, LESS e KOH permaneceu em observação por mais de 50 dias, sem deteriorar ou coagular.

Como o volume de 20 L não era suficiente para atingir o regime normal da máquina, foi necessário usar o soro aquoso da amostra, captado na saída de descarte da centrífuga, para concluir a passagem da amostra. Ainda que não seja o ideal, este procedimento não comprometeu a experiência piloto. Como não se dispunha de aspectos objetivos a anotar, gravou-se em vídeo o depoimento do operador da máquina, Sr. Carlos Rossi (**Figura 12**), que trabalha há 5 anos na função, o qual considerou a amostra piloto similar ao látex normal para efeito de centrifugação. Tanto o centrifugado como o soro de descarte foram coletados e trazidos ao LATEQ para testes posteriores.



Figura 12. O experimento piloto de 20 L de látex foi processado em centrífuga industrial na Usina Jasmim, (S.J. do Rio Preto/SP), e suportou bem a alta taxa de cisalhamento do processo. O operador Carlos Rossi gravou depoimento de que o látex experimental estava igual ao do látex normal.

4.3.3.1. Preparação dos filmes de látex por imersão

O látex centrifugado resultante do experimento piloto foi testado em sua capacidade de formar depósitos de filme no processo por imersão, muito utilizado industrialmente para a fabricação de luvas, camisinhas e balões. No teste no laboratório (**Figura 13**), usou-se tubos de ensaio de vidro, que foram mergulhados em cerca de 5 cm num banho coagulante, preparado à base de cloreto de cálcio a 20% (m/m) em uma solução 1:1 de água destilada e álcool etílico, e depois de seco, o tubo era mergulhado no látex centrifugado, com velocidade lenta para permitir um depósito coerente e sem falhas. Para efeito de comparação, foi testado em paralelo o látex centrifugado normal, obtido da Usina Jasmim. Em alguns tubos testados, conseguiu-se um depósito bastante uniforme para o látex do experimento piloto, que deu depósito mais uniforme que o látex centrifugado normal.



a) Teste em laboratório



b) Teste em uma pequena indústria de drenos masculinos

Figura 13. Com o látex centrifugado do experimento piloto foram feitos testes de deposição de filmes pelo processo de imersão, similar ao usado na indústria de luvas e camisinhas, apresentando comportamento normal e fornecendo filmes bem coerentes.

4.3.4. Verificação do teor de proteínas e alergênicos

4.3.4.1. Preparação dos filmes de látex

Com os tratamentos implementados no PEG 2, foram testadas 6 amostras (T3, T7, T8, T9, T10 e T11, dos 12 tratamentos originais, os quais estavam apresentando bons resultados nos outros parâmetros investigados e que eram bem representativos dos tratamentos e objetivos testados no PEG 2. Foram retiradas duas amostras com 12 mL cada (por limitação do equipamento), que foram centrifugadas em equipamento Hermle Z 32 HKC, a 8000 RPM e a 16 °C, durante 60 min. Alíquotas do creme superior, fração que contém o elastômero, foram secas para produzir películas em estufa a vácuo, a 60 °C, durante 24 horas.

Dois tratamentos: a melhor resposta com amônia (T3) e o melhor tratamento com tanino e renex (T8), após a primeira centrifugação, foram rediluídos com soluções aquosas que restituíam aproximadamente as condições anteriores à centrifugação. Novamente, permaneceram num misturador rotacional (*shaker*) por 12 horas e foram centrifugadas pela segunda vez, nas mesmas condições. Este processo finalizou com: 6 amostras sem centrifugar (denotadas por NC), 6 amostras com uma centrifugação (C1) e 2 amostras com duas centrifugações (C2), totalizando 14 amostras.

4.3.4.2. Espectroscopia FTIR

A literatura científica referente à diminuição de proteínas alergênicas registra publicações onde se faz uso da espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) para verificar diminuição de proteínas como resposta a tratamentos específicos para este fim (ARIYAWIRIYANAN et al., 2013; SANSATSADEEKUL; SAKDAPIPANICH; ROJRUTHAI, 2011). Neste sentido, iniciou-se procedimento experimental para verificar a possibilidade de se usar esta técnica para verificar a diminuição das proteínas. Os espectros de FTIR foram registados com o espectrofotômetro JASCO FT-IR 4100 e para cada espectro foram feitas 64 corridas (scans) com resolução de 4 cm⁻¹. As amostras foram preparadas na forma de filmes secos à 60 °C sob vácuo.

4.3.4.3. Teor de proteínas totais e lipídios

Do filme descrito em 4.3.4.1., também foram retiradas amostras para enviar ao Centro de Análises Laboratoriais CBO em Valinhos, próximo a Campinas, SP, para quantificação de proteínas totais e lipídios.

A determinação de Proteína Bruta, seguiu o Método Dumas, onde basicamente a amostra sofre combustão com oxigênio, entre 900 e 1200 °C; os gases formados são arrastados com auxílio de gás inerte, são purificados através de filtros que retém as partículas de óxidos, de gases interferentes e água. Os óxidos de nitrogênio formados são reduzidos a nitrogênio elementar, por contato com metal quente (tungstênio ou cobre), e é determinado quantitativamente por detector de condutividade térmica. O conteúdo de nitrogênio é multiplicado pelos fatores de conversão específicos para proteína (SINDIRAÇÕES, 2013).

Os lipídios foram determinados como Extrato Etéreo pelo método de Soxhlet, pelo qual a amostra é extraída por repetidas lavagens com um solvente orgânico que fica sob refluxo em uma vidraria específica. Após a evaporação do solvente, obtém-se o resíduo que corresponde ao teor de lipídios da amostra (SINDIRAÇÕES, 2013).

4.3.4.4. Proteínas extraíveis e duas proteínas alergênicas

Também a partir do mesmo filme, foram retiradas porções de cada uma das 14 amostras que foram enviadas para o Centro de Pesquisa TAARC da Inglaterra.

4.3.5. Resumo dos planos experimentais

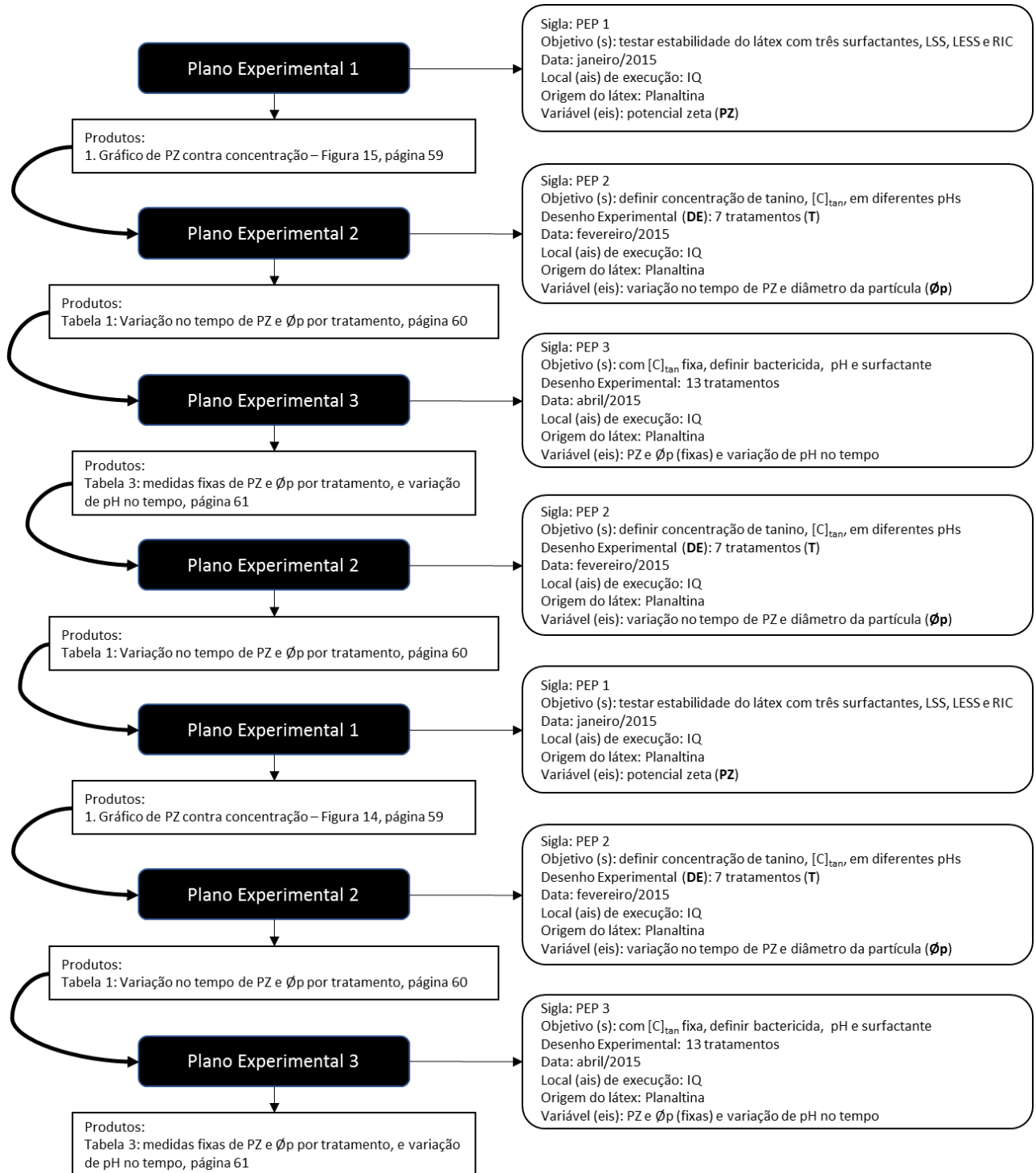


Figura 14. Quadro geral dos planos experimentais.

5.1. RESULTADOS E INTERPRETAÇÕES DA PRIMEIRA FASE

Do amplo conjunto de experimentos realizados no âmbito desta tese de doutorado, serão apresentadas e comentadas nesta seção, algumas das tabelas mais conclusivas de resultados que emergem dos estudos da primeira fase e que serviram de base para todo o desenvolvimento posterior, na segunda fase, onde se alcançaram os resultados que permitiram a finalização da tese.

A execução dos trabalhos da 1ª fase foram, nitidamente, adquirindo crescente complexidade, iniciando com um Plano Experimental simples, como é o PEP 1. Como parte deste Plano, investigou-se a ação de surfactantes no látex, ou melhor, na estabilidade iônica do coloide medida pelo potencial zeta (**Figura 15**). Nota-se que o uso de tensoativos é fundamental e o LESS mostrou-se superior ao LSS, ambos em concentração de 1% (m/m) da massa de látex. Como a densidade do látex está relativamente próxima a 1 (0,93 g/mL), o cálculo pode ser feito em relação ao volume, que o erro que se cometer é pequeno e se compensa pela facilidade de trabalhar em campo com volumes, mais fáceis de mensurar.

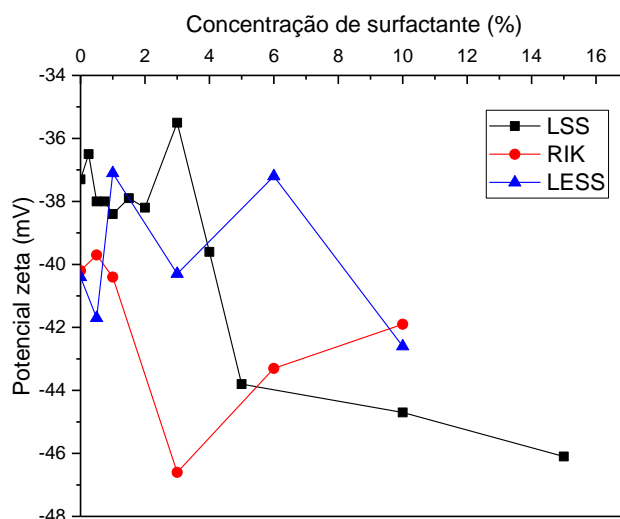


Figura 15. Programa Experimental Preliminar N° 1: influência de três surfactantes no potencial zeta do látex: LSS, LESS e RIK, o qual apresentou o melhor desempenho. Entretanto, há dificuldade de fornecimento e maior custo.

No PEP 2 (**Tabela 1**), já mais complexo, o tanino é inserido como variável, em diferentes pHs, comparando-se a sistemas clássicos de tratamento do látex baseados em amônia. As respostas já são obtidas em potencial zeta e diâmetro da partícula, ao longo do tempo. Dos dados obtidos no PEP 2, pode-se concluir que um porcentual de tanino entre 0,4% e 0,6% sobre a massa do LBN pode ser utilizado e ele pode ser usado em sua forma direta, em suspensão aquosa a 25%, preparada de véspera.

Tabela 1. PEP 2 - Programa Experimental Preliminar N° 2: influência da presença de tanino em diferentes pHs sobre o potencial zeta e o tamanho da partícula.

Amostras	Tempo (horas)	Potencial zeta (mV)	Diâmetro da partícula (nm)
BT = Branco Total	19	-30,8 ± 1,3	682 ± 19
Tanino a 0,3%, pH5	0	-30,2 ± 0,4	-
Tanino a 0,3%, pH9	0	-45,4 ± 0,4	489 ± 3
	19	-37,4 ± 0,3	406 ± 13
BA = Baixo amônia (0,2% v/v)	43	-18,4 ± 1,3	419 ± 10
	114	-35,8 ± 0,8	295 ± 8
	162	-35,9 ± 0,5	333 ± 5
	19	-40,2 ± 0,3	405 ± 10
AA = Alto amônia (0,8% v/v)	43	-43,4 ± 2,9	399 ± 9
	114	-39 ± 1,3	377 ± 16
	162	-43 ± 0,7	407 ± 14
	0	-34,3 ± 1,2	451 ± 2
	19	-35,8 ± 0,3	450 ± 11
Tanino a 0,3%, pH7	43	-35 ± 0,6	489 ± 52
	114	-30,4 ± 0,8	473 ± 14
	162	-34,8 ± 1,4	422 ± 8
	0	-37,1 ± 1,2	439 ± 31
	19	-35,2 ± 0,6	478 ± 19
Tanino a 0,5%, pH7	43	-32,3 ± 0,1	451 ± 49
	114	-34,3 ± 0,6	537 ± 66
	162	-33,3 ± 0,9	474 ± 48

No PEP 3 (**Tabela 2**), se inicia a medida do pH ao longo do tempo, mas as determinações de potencial zeta e diâmetro da partícula ficaram restritas ao primeiro dia do experimento, o que permitiu extrair menos informações. Dos resultados do PEP 3, pode-se

observar que o pH do látex é uma variável de elevada importância e deve ser mantido, no mínimo entre 8 e 9. Esta condição eleva o potencial zeta do coloide e contribui para a estabilidade do látex. Estes valores de pH podem ser conseguidos com KOH, solução a 2 mol/L, que é ingrediente corrente no meio profissional do LBN e não haveria dificuldade em ser adotado em produção normal. Ainda em relação ao pH das misturas de látex com tanino, observou-se que os valores de pH, após corrigidos com KOH para próximo a 9, decresciam nitidamente no primeiro dia de observação. Esta queda pode ser interpretada como reação do tanino com as proteínas em progresso, durante esta fase inicial de acomodação do coloide após a introdução dos novos integrantes, o bórax, o tanino, o KOH e o surfactante. Portanto, como sugestão, o pH pode ser corrigido para valores entre 9 e 10, para atingirem um valor final entre 8,5 e 9.

Tabela 2. PEP 3 – Programa Experimental Preliminar N° 3: potencial zeta e tamanho de partícula em função de diferentes composições com tanino, surfactantes e pH.

N°	Amostras	Potencial zeta (mV) - no 1º dia -	Diâmetro da partícula (nm) - no 1º dia -	Medidas de pH com o tempo					
				Dias					
				0	1	2	3	6	9
1	BT = Branco Total	-33,1 ± 1	534 ± 46	6,5	coag	-	-	-	-
2	Baixo amônia 0,2% + LSS 1%	-34,4 ± 1,1	440 ± 10	10,5	10,4	10,3	-	10,3	10,2
3	Alto Amônia, 0,8% (v/v)	-37,5 ± 0,8	435 ± 10	10,9	10,8	10,7	-	11,0	11,0
4	KOH (2 M), a pH 11	-33,1 ± 0,9	440 ± 26	10,7	10,5	10,1	6,7	coag	-
5	Tan a pH9 + LSS 1% (m/m)	-32,6 ± 2,1	470 ± 18	7,1	6,1	6,0	6,1	6,1	6,1
6	Tan a pH11 + LSS 1% (m/m)	-31,9 ± 0,2	483 ± 22	7,3	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0
7	Tan a pH9 + LESS 1% (m/m)	-30,9 ± 1	520 ± 26	6,9	5,8	5,8	5,9	5,9	5,9
8	KOH pH11 + BA 0,2% (m/m)	-33,1 ± 0,7	447 ± 22	10,4	10,3	10,1	10,1	10,3	10,2
9	NPPL: nano partículas de prata, do LABPOL	-34,3 ± 0,7	462 ± 17	9,5	6,2	6,0	-	6,1	6,1
10	NPPC: nano partículas de prata, comercial	-31,6 ± 0,4	540 ± 31	6,5	5,9 coag	-	-	-	-
11	NPPC a pH9	-33,9 ± 0,7	-	9,3	6,4 coag	-	-	-	-
12	NPPL a pH9 + Tan 0,4% (m/m)	-33,8 ± 0,6	-	7,1	6,0	5,9	-	6,0	6,0
13	NPPC a pH9 + Tan 0,4% (m/m)	-33,1 ± 1,1	-	7,2	7,0	6,0	-	6,0	6,0

- coag: coagulado

Com respeito aos bactericidas, o bórax, em solução aquosa a 5% m/m e a uma concentração de 0,8%, pode ser usado como o bactericida brando e de uso seguro na proposta de preservação do látex, conforme aqui se enuncia. Este bactericida já é usado há séculos, é

seguro em termos de saúde humana e de preocupações ambientais. Os coloides de nanopartículas de prata, tanto o sintetizado no LABPOL como o comercial Nanóx, apresentaram resultados preliminares promissores. No entanto, os testes foram temporariamente interrompidos em vista do argumento da tese tecnológica do doutorado, onde, conseguir uma solução viável e prática para a confirmação da 2ª hipótese deve ter prioridade, o que já vem sendo conseguido com o uso do bórax, de custo muito menor do que as nano partículas de Ag comerciais, que permanecerão em espera de novas frentes de pesquisa na mesma direção, que comportem soluções mais caras.

Com a execução dessa série dos três PEPs, em especial o terceiro, ficou mais nítido que havia algo de novo e interessante no uso de tanino como agente de proteção do látex de borracha natural, que claramente poderia se viabilizar na prática da produção, a partir de uma fórmula simples, exequível na prática produtiva em campo, e não onerosa em termos de custo ou trabalho. A tese tecnológica de doutorado assume assim um novo patamar, admitindo-se uma ampliação do seu escopo, passando-se a investigar a proteção biológica e física do látex, concomitantemente ao estudo de inativação dos seus fatores alergênicos, possivelmente com o mesmo tratamento baseado em um composto vegetal, o tanino, coadjuvado por outras substâncias. O que, então, agregava à tese complexidade e importância tecnológica. Assim, para uma nova etapa, seria necessário buscar um látex mais estável e produzido em maior escala para se obter resultados reprodutíveis. O látex usado até então, dos experimentos do CPAC/Embrapa, é muito interessante como objeto de estudo em si mesmo, pois tem um alto teor de sólidos e de borracha incomum, da ordem de 47%, que deverá receber atenção de pesquisa própria e específica, mas que deveria aguardar outra oportunidade. Desta forma, optou-se pelo uso do LBN do seringal de Goianésia, GO, e, depois, da Cidade Ocidental, mais próximo a Brasília.

Seguiram-se dois Planos Experimentais, PEG 1 (**Tabela 3**) e PEC 1 (**Tabela 4**), mais complexos e de resultados mais nítidos, onde se elegeu o tanino no centro das variáveis, com presença assegurada na formulação, em porcentual de 0,4 a 06%, e se investigava a seleção dos coadjuvantes, em especial o surfactante e o bactericida, já que o KOH, podia ser considerado adequado para a formulação, restando por decidir a faixa adequada de pH.

Tabela 3. PEG 1 - Resultados do Plano Experimental de Goianésia N^o. 1: ação de tanino com vários biocidas na proteção do látex.

Amostras	Tempo (dias)	Potencial zeta (mV)	Diâmetro da partícula (nm)	pH	Cheiro
BT = Branco Total	1	-30,3 ± 0,7	431 ± 22	coag	coag
Baixo amônia, 0,2% (v/v) + LSS 1% (m/m)	1	-30,1 ± 0,5	365 ± 16	-	-
	5	-30,0 ± 1,3	339 ± 6,4	9,72	amônia
	11	-30,0 ± 1,3	354 ± 13	9,54	amônia
	20	-33,6 ± 0,8	345 ± 03	10,33	amônia
	52	-37,2 ± 0,2	369 ± 05	9,64	amônia
Alto Amônia, 0,8% (v/v)	1	-34,8 ± 0,5	365 ± 05	-	-
	5	-25,3 ± 1,6	358 ± 17	10,15	amônia
	11	-33,9 ± 0,4	343 ± 08	10,03	amônia
	20	-39,5 ± 0,6	344 ± 05	10,85	amônia
	52	-37,6 ± 0,3	375 ± 12	10,19	amônia
Tan 0,4% (m/m) a pH9 + LSS 1% (m/m)	1	-31,4 ± 0,8	553 ± 26	6,13	-3
	5	-29,6 ± 0,9	390 ± 12	6,30	-2,5
	11	-	-	5,91	-2
	20	-31,5 ± 0,7	459 ± 11	6,36	-2
	52	-33,4 ± 1,2	541 ± 26	6,35	-2
Tan 0,4% (m/m) a pH9 + LESS 1% (m/m)	1	-29,6 ± 0,5	364 ± 06	6,20	3
	5	-25,3 ± 1,0	368 ± 19	6,06	-2,5
	11	-25,7 ± 1,3	397 ± 21	5,33	1
	20	-30,3 ± 1,9	386 ± 03	5,69	-2
	52	-32,6 ± 0,7	432 ± 15	5,93	-1
Tan 0,4% (m/m) a pH9 + LSS 1% (m/m) + Bórax 0,8% (m/m)	1	-31,9 ± 0,2	477 ± 17	8,01	3
	5	-26,2 ± 1,3	710 ± 13	6,65	1
	11	-28,6 ± 2,3	455 ± 02	6,57	1,5
	20	-31,9 ± 0,9	556 ± 104	7,07	1
	52	-32,7 ± 0,2	535 ± 17	6,88	0
Tan 0,4% (m/m) a pH9 + LSS 1% (m/m) + DOT 0,8% (m/m)	1	-28,2 ± 0,5	497 ± 35	7,53	3
	5	-26,1 ± 0,1	737 ± 48	6,39	1
	11	-29,8 ± 0,3	477 ± 23	6,40	-0,5
	20	-34,2 ± 3,7	506 ± 39	6,81	-1
	52	-31,8 ± 0,5	566 ± 72	6,87	0,5
Tan 4% (m/m) + LSS 1 + IPBC 0,8	1	-31,5 ± 0,2	672 ± 20	6,30	3
	5	-25,9 ± 2,7	345 ± 11	6,31	-2
	11	-32,3 ± 1,4	346 ± 18	5,90	0
	20	-32,6 ± 2,0	466 ± 20	6,18	-1
	52	-32,1 ± 0,8	484 ± 31	6,40	0,5
Tan 4% (m/m) a pH9 + LSS 1 + NPPC 0,4)	1	-28,7 ± 1,3	463 ± 38	6,14	-
	5	-33,0 ± 1,9	327 ± 07	6,19	-2
	11	-26,9 ± 0,2	367 ± 19	6,33	-1,5
	20	-32,4 ± 2,5	430 ± 29	6,12	-2
	52	-31,6 ± 0,5	505 ± 32	6,20	1

- coag: coagulou; amônia: alto cheiro de amônia impediu o teste

Tabela 4. PEC 1: Programa Experimental de Cidade Ocidental N°1, instalado em 16/7/15 e avaliado até 25/9 (70 dias), com 22 tratamentos: aperfeiçoando a formulação.

Amostras	Amost N°.	16/07		18/07		20/07		24/07		03/08		10/08		24/08		25/09		Soma	Média
		pH	Olf.	pH	Olf.	pH	Olf.	pH	Olf.	pH	Olf.	pH	Olf.	pH	Olf.	pH	Olf.	Olfat.	pH
Básico PEG 1	11	8,63	3	6,63	2	6,6	-1	6,48	-1	5,85	0	5,67	-2	5,76	0	CG	-5	-4	6,63
Bas. Melhor. (BM)	21	8,65	4	8,74	3	8,74	3	8,64	3	?	2	8,1	4	7,95	3	7,6	2	24	8,35
BM Invertido	23	8,71	3	8,77	2	8,77	1	8,66	4	?	2	7,8	2	7,99	1	7,74	2	17	8,35
BM var T 0.2	31	8,71	5	8,85	4	8,88	4	8,8	2	?	2	8,28	3	8,43	3	8,88	5	28	8,69
BM var T 0.6	41	8,54	3	8,58	4	8,5	4	7,97	4	?	3	7,81	4	7,86	3	7,53	-3	22	8,11
BM var T 0.8	51	8,58	3	8,56	3	8,58	3	8,41	3	?	1	7,48	3	8,51	3	7,56	2	21	8,24
BM var E 0.5	61	8,56	3	8,72	2	8,73	1	8,63	3	?	-1	7,75	1	8,19	1	8,11	2	12	8,38
BM var E 0.75	71	8,54	3	8,69	*	8,74	0	8,62	3	?	1	7,96	2	8,03	1	7,99	2	12	8,37
BM var E 1.5	81	8,55	2	8,72	2	8,73	2	8,6	3	?	2	7,93	1	7,97	2	7,57	1	15	8,30
BM var E 1.6 Invert.	83	8,61	4	8,8	3	8,79	3	8,7	3	?	1	7,87	3	7,97	1	7,68	3	21	8,35
TanB (-E +L)	91	8,54	2	8,56	3	8,52	2	8,53	5	?	1	7,9	2	7,93	2	7,65	2	19	8,23
TanB (-E + Rx)	101	8,43	3	8,5	5	8,56	5	8,43	4	?	2	7,86	5	7,84	4	7,59	4	32	8,17
TanB (-25 E +25 Rx)	111	8,76	2	8,73	4	8,72	3	8,58	3	?	1	7,73	3	7,77	4	7,54	1	21	8,26
BM var Bx 0.5	121	8,54	4	8,71	2	8,73	2	8,55	4	?	-1	7,75	2	7,83	1	7,44	0	14	8,22
BM var Bx 1.2	131	8,62	3	8,77	3	8,77	3	8,7	4	?	3	8,08	3	8,28	3	7,84	4	26	8,44
BM var pH 10	151	9,95	5	9,87	4	9,86	4	9,77	4	?	-1	9,42	4	9,41	3	9,11	5	28	9,63
Básico Feeling	161	9,51	3	9,59	4	9,59	4	9,49	3	?	3	9,12	3	9,19	4	8,84	3	27	9,33
Bas Feel invert.	163	9,49	5	9,58	4	9,57	2	9,45	4	?	2	9,18	3	9,15	3	8,88	5	28	9,33
BT pH 9	171	9,24	4	6,34	1	CG	CG	CG	CG	?	CG	CG	-4	CG	-	CG	-4	-3	7,79
Baixo Amônia	181	9,57	Am	9,77	Am	9,76	Am	9,69	Am	?	Am	9,86	Am	9,22	Am	8,84	Am	0	9,53
Alto Amônia	191	10,7	Am	10,93	Am	10,91	Am	10,83	Am	?	Am	10,42	Am	10,51	Am	10,02	Am	0	10,62
Branco Zero		6,49	2	Coag	-	Coag	-	Coag	-	Coag	-	Coag	-	Coag	-	Coag	-	2	6,49

Exemplos de significados dos tratamentos: o melhor tratamento do PEC 1, foi denominado de básico e foi modificado para se tornar o **Básico Melhorado (BM)** do PEG 1 (amostra 21: contém 100 mL de látex, 0,8% de borax, 0,4 % de tanino, 1% de LESS e KOH para pH próximo a 9, todos os componentes em massa de ativos. **Básico de Feeling:** é o BM, modificado por suposição (*feeling*) de sucesso, com aumento acentuado do pH. **BM invertido** (amostra 23): é o BM com ordem invertida de adição entre tanino e surfactante. **BM var T 0.2** (amostra 31): é o BM, usando a concentração de tanino a 0,2 % e não 0,4 %. **BM var E 0.75** (amostra 71): é o BM, variando-se a quantidade de LESS para 75% (0,75% m/m do peso de látex). **BM var E 1.6 Invert.** (amostra 83): é o BM, variando-se o surfactante LESS (E) para 1,6 vezes da fórmula básica que é 1% (m/m). **TanB (-E +L)** (amostra 91): é o BM, com tanino e bórax, retirando-se o LESS (E) e usando o LSS (L) na mesma concentração de 1%. **TanB (-25 E +25 Rx)** (amostra 111): é o BM com tanino e bórax, substituindo-se 25% (1/4) de LESS por renéx.

Com a execução destes dois Programas experimentais, emerge uma condição nova de que se está conseguindo atingir o objetivo da tese de se proteger o LBN com uma formulação simples de quatro ingredientes, totalmente sem amônia, que permaneceu em bom estado de conservação por período acima de 70 dias, conforme resultados da **Tabela 4**, o que caracteriza fato raro na tecnologia do látex.

Até aqui, não se obteve indicação da necessidade de se proceder a um tratamento de retirada das gomas e açúcares do tanino, presentes no produto comercial próximo de 25%. Muito provavelmente, estes carboidratos são incorporados ao soro do látex, ao qual têm afinidade por polaridade e pelo próprio meio do látex que é o citoplasma das células lactíferas. Deve ser lembrado que o tanino também é um produto de origem vegetal, produzido da casca da acácia negra e de outras fontes. Assim, estes carboidratos associados ao tanino, devem solubilizar-se na fase aquosa do látex e sair com ela no processo de centrifugação que elimina muitas das substâncias não borracha do meio.

Esta possibilidade de usar o extrato tânico sem purificações é bem-vindo para a indústria e deve se refletir no custo para a cadeia produtiva, pois o processo de retirada das gomas, também referido como degomação, é custoso, envolvendo solventes como acetona e álcool, que devem ser posteriormente retirados do processo, sempre onerando a produção.

Como resultado destes Planos Experimentais, uma formulação segura para preservar o LBN consiste dos seguintes ingredientes e condições de adição, para 100 mL de látex in natura, recém-colhido:

- Tanino em solução aquosa de 25% (m/m) feita no dia anterior, a 0,4 % do peso do látex, ou seja, 1,6 g da solução;
- Bórax, em solução de 5% (m/m), a 0,8% do látex, ou seja, 16 g da solução;
- KOH, solução 2 mol.L⁻¹, para se obter pH entre 9 e 10;
- LESS, solução de 25%, a 1% do látex, ou 4 g da solução;

A ordem sugerida para obter o melhor resultado de preservação do LBN sem amônia, já tomando por base as experiências dos PEs é: acrescenta-se o bórax e o tanino, em seguida o KOH e, após 2 horas, o LESS.

A partir da execução dos cinco Planos Experimentais, foi possível fazer uma série de observações e conclusões que, somados a alguns enunciados expostos no Referencial Teórico,

permitiram a formulação de modelo conceitual que explique os resultados e possa prever comportamentos e formular novas propostas de trabalho.

5.2. PROPOSIÇÃO DE UM MODELO CONCEITUAL

Pode-se sugerir um modelo teórico, no qual os complexos de tanino com proteínas envolvendo as partículas criariam uma espécie de escudo de proteção, como proposto esquematicamente na **Figura 15**. Este tipo de proteção evitaria a coagulação do coloide agindo através de impedimento espacial entre as partículas, ao invés da repulsão iônica entre elas, a qual é normalmente associada à estabilidade de coloides, em geral, quando se trata de surfactantes iônicos. A molécula de tanino tem muitas hidroxilas, que, em parte, fazem as ligações de hidrogênio com as proteínas, mas outras, do lado oposto à partícula, podem estar disponíveis para reter moléculas de água, tornando o escudo em torno da partícula de borracha ainda mais forte.



Figura 16. Uma representação esquemática do modelo de “escudo de proteção do coloide” para a ação do tanino na estabilidade do látex, com base no impedimento estérico.

Seguindo este modelo, a utilização de um surfactante não iônico tal como o nonilfenol etoxilado (mostrado na estrutura da **Figura 16**) na formulação também pode contribuir para a estabilização do LBN do tanino. Como é conhecido da teoria dos tensoativos, no presente caso do coloide de látex, o lado apolar da molécula do surfactante não-iônico deve estar do lado interno da partícula de elastômero, enquanto o lado oposto, que contém perto de nove segmentos etoxilados ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$), está no exterior da partícula, em um ambiente com proteínas e taninos, que são ambos polares. Desta forma, esta parte do surfactante também pode estar contribuindo com o impedimento espacial, como esperado para tais surfactantes não iônicos.

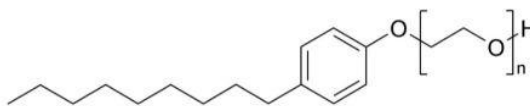


Figura 17. Renex: nonilfenol etoxilado, $n = 9.50$.

5.3. RESULTADOS E INTERPRETAÇÃO DA SEGUNDA FASE: PEG 2

Na segunda fase de experimentos desta tese de doutorado, os trabalhos foram concentrados em um Plano Experimental, PEG 2, o mais completo Plano da série, com 12 tratamentos objetivando finalizar a definição da fórmula mais adequada de tratamento do LBN com tanino e adjuvantes para cumprir com os objetivos tecnológicos desta tese. Para que se conheça com detalhes as variáveis, concentrações, ordem de entrada dos reagentes, sistemática e condições da implantação etc. a descrição completa do Plano consta como **Anexo 2**, desta tese. Após a implantação do Plano, foram feitas determinações e análises das seguintes variáveis por um período de 17 dias: a) aspectos gerais; b) teste olfativo; c) pH; d) ácidos graxos voláteis; e) potencial zeta; f) diâmetro hidrodinâmico das partículas; e g) viscosidade brookfield.

Um segundo Plano Experimental, PEC 2, foi executado com menor número de tratamentos, que teve como objetivo confirmar as fórmulas já obtidas, introduzindo uma etapa de agitação mecânica das amostras, o que não houve nos experimentos anteriores, e, ainda, testar a eficácia de dois taninos hidrolisáveis, extraídos dos frutos de mirabolano e tara, que estima-se, possam cumprir o mesmo papel do tanino da acácia, já que estes dois são também utilizados no curtimento de pele animal.

A seguir, são apresentados e discutidos os resultados, tomando-se em consideração o modelo proposto de “escudo de proteção do coloide”.

5.3.1. Evolução da preservação biofísica do látex com o tempo

As amostras foram observadas oito vezes ao longo de um período de 17 dias. A partir de experimentos preliminares, este período foi considerado suficiente para verificar se as amostras de tanino conseguiram preservar o LBN contra a decomposição. Uma última leitura foi feita posteriormente, mas somente para quantificar ácidos graxos voláteis (AGV) para os tratamentos HA e TBR.

5.3.1.1. Aspectos gerais

Antes de qualquer medição ou análise, a amostra era cuidadosamente observada para registrar a integridade do látex, se estava coagulado ou não, a cor, a formação e diferenciação de camadas, ocorrência de depósitos ao fundo do frasco e a ocorrência de manchas superficiais ou pintas nas paredes do frasco.

Da observação das características gerais, ficou registrado que as amostras controle, com amônia e sem tanino, mantinham a cor branca, não manchavam, nem formavam camadas nem depósitos. No entanto, com o passar do tempo, manchas pequenas apareciam na superfície e essas amostras colapsaram por coagulação em tempos curtos, dependendo da porcentagem de amônia: 2 dias para o baixo amônia, para cerca de 16 dias para o alto amônia. As amostras com tanino apresentavam cor rosa claro e não coagularam durante todo o período de observação, 17 dias. Alguns pequenos pontos na superfície ou manchas nas paredes apareceram nas amostras tratadas com tanino com o passar do tempo e também se formaram depósitos vermelhos ao fundo do recipiente da amostra sinalizando a cor vermelha característica do tanino. Como o volume excedente das amostras, cerca de 500 mL foi mantido na bancada para observação, foi possível notar que as formulações com tanino eram ainda bem fluidas, sem sinal de coagulação, após período de quase sete meses, enquanto que os controles, sem tanino, estavam todos coagulados. Esta observação confirmou experiências de Planos Experimentais anteriores. Deve ser explicado aqui que o período de estabilidade do látex com amônia, que normalmente pode alcançar vários meses, no presente caso, foi muito curto. A explicação para este comportamento não esperado pode ser dada pela coincidência do período inicial da safra da borracha, quando o LBN já é muito instável, com a alta temperatura, em torno de 38 a 40 °C, no dia da coleta do látex e da instalação do experimento no seringal em Goianésia, um dia de clima quente até para os padrões da região.

5.3.1.2. Avaliação olfativa

Para efeito de registro nesta tese e divulgação completa dos resultados, é apresentada, a seguir a **Tabela 5** que traz as avaliações olfativas de todas as doze amostras do PEG 2 no período de monitoramento de 17 dias, onde constam as denominações originais dos tratamentos de T1 a T12. Para conhecimento completo destes tratamentos, pode ser consultado o **Anexo 2**. Em seguida, é apresentada uma tabela resumida (**Tabela 6**) com os cinco tratamentos mais representativos e que ilustram a evolução do experimento no decorrer do tempo. Também para facilidade de consulta, os nomes destes tratamentos nas tabelas e gráficos que se seguem, foram renomeados para referência rápida.

Tabela 5. Resultados do teste olfativo do PEG 2, com todos os doze tratamentos.

Amostras	Tempo (horas)								Soma
	6	30	54	78	150	222	318	408	
T1	10	6	coa	coa	coa	coa	coa	coa	16
T2	am	am	am	am	am	am	5	4	-
T3	am	am	am	am	am	am	3	2	-
T4	10	7	7	7	7	6	4	5	48
T5	10	8	8	7	7	7	6	6	53
T6	10	8	8	6	6	6	7	7	51
T7	10	10	10	9	8	7	7	5	61
T8	10	10	10	9	9	8	5	8	61
T9	10	9	8	8	8	8	8	7	59
T10	9	9	9	9	8	8	5	5	57
T11	10	10	9	8	8	7	8	8	60
T12	10	7	6	5	4	4	5	5	41

‘coa’ e ‘am’ significam que não houve teste porque a amostra coagulou ou porque exalava muito amônia

Tabela 6. Resultados do teste olfativo com os cinco tratamentos mais representativos.

Amostras	Nota olfativa							
	Tempo (horas)							
	6	30	54	78	150	222	318	408
LA	10	6	Coa	Coa	Coa	Coa	Coa	Coa
LAB	Am	Am	Am	Am	Am	Am	5	4
HA	Am	Am	Am	Am	Am	Am	3	2
TBL	10	7	7	7	7	6	4	5
TBR	10	10	10	9	9	8	5	8

Am' significa que o forte cheiro de amônia impediu o teste; 'Coa' significa que a amostra coagulou; LA (baixo amônia) = T1; LAB (baixo amônia com borax) = T2; HA (alto amônia) = T3; TBL (tanino, borax e LESS) = T7; TBR (tanino, borax e renex) = T8.

Embora o experimento tenha sido influenciado por condições críticas inusitadas de instabilidade do látex, como explicado anteriormente, os resultados indicam claramente

diferenças entre os tratamentos. A amostra LA teve uma vida muito curta e coagulou no terceiro dia de leitura. As amostras LAB e HA tiveram forte exalação de amônia, o que impediu consignar uma nota olfativa como era feito para as outras amostras. No entanto, apesar da sua maior concentração de amônia, ambos coagularam antes da leitura com 408 horas. Normalmente, formulações de LBN com amônia alto ou baixo não coagulam espontaneamente por longos períodos. A vida curta incomum desses tratamentos de amônia foi devido às más condições para o látex, como mencionado anteriormente. No entanto, como esta condição afetou todos os tratamentos e o experimento foi conduzido sob a mesma situação grave para todos os tratamentos, os resultados deram ênfase especial ao bom desempenho das amostras com tanino.

Ainda que subjetivo, o teste olfativo é de simples execução e fornece um resultado claro e direto. A partir desta tabela, pode-se imediatamente separar os tratamentos que falharam na preservação do látex de outros que estão apresentando bom trabalho como os baseados no tanino. Dentro deste último grupo, os resultados permitem diferenciar os dois surfactantes: o iônico LESS, na amostra TBL, começa em bom estado e diminui de forma constante sua pontuação, enquanto que o agente tensoativo não iônico, renex, na amostra TBR, continua com cheiro bom até o final da presente sequência de teste, mas ambas as amostras continuaram fluidas na bancada de laboratório mesmo depois de vários meses.

Como é sabido, o cheiro da amostra é fortemente influenciado pela liberação de ácidos graxos voláteis (AGV), como resultado do ataque bacteriano, como vai ser confirmado na próxima sessão. No entanto, se o tanino está bloqueando as proteínas contra a deterioração bacteriana, como é proposto pelo modelo teórico exposto na Seção 5.2, por que haveria produção de AGV? A razão é simples. Teoricamente, o tanino não está complexando outros materiais orgânicos, como lipídios, carboidratos e outros componentes do rico meio citoplasmático que é o látex, e que todos são suscetíveis à degradação bacteriana. Esta é a principal razão para a presença de bórax, um bactericida suave, na formulação. Este agente, mesmo sendo brando, segura o látex líquido, quando a formulação contém tanino. Na ausência deste, ocorre a coagulação, conforme demonstrado pelo comportamento da amostra LAB onde a concentração de bórax é a mesma, mas que não é suficiente para impedir a coagulação. Deve ser lembrado que esta observação confirma os resultados de outros experimentos anteriores, executados na primeira fase.

Entretanto, vale ressaltar que estas respostas experimentais dão ainda maior credibilidade ao modelo de escudo de proteção do coloide, conforme proposto nesta tese. Partindo-se dos dados de BLACKLEY (1997a), num látex, há cerca de um terço de proteínas e dois terços de outros componentes orgânicos não-borracha. O tanino está promovendo a complexação com as proteínas, mas não com os outros materiais. Assim, as proteínas estão protegidas contra os ataques bacterianos, enquanto os outros materiais não, e são estes que são degradados, provocando a formação de AGV e a diminuição de pH, como vai se ver adiante, o que seria por si só suficiente para a coagulação de um látex normal. No entanto, como o tanino forma o escudo, em uma espécie de capa tanino-proteica em torno das partículas e evita a fusão entre elas. Esta proteção, que segundo o modelo atua por impedimento estérico, está menos vulnerável às alterações das forças iônicas do sistema, incluindo o pH, que é também e fundamentalmente uma expressão iônica do meio. Desta forma, o modelo pode explicar porque as partículas não se fundem entre si e o próprio látex não coagula, conforme se observa nas amostras mantidas no laboratório no decorrer de vários meses.

5.3.1.3. Ácidos graxos voláteis

A **Tabela 7** mostra os resultados para a quantificação dos ácidos graxos voláteis, AGV, que são metabólitos da ação bacteriana sobre os compostos orgânicos não-borracha do látex. Novamente, a instabilidade crítica do látex *in natura*, LIN, impediu mais esta análise pois as amostras de controle já estavam coaguladas. Por exemplo, LA já tinha colapsado antes de 30 horas de experiência. No entanto, foi possível comparar HA com TBR após 53 dias de experiência estabelecida. A essa altura, a amostra HA já estava coagulada à temperatura ambiente. No entanto, uma amostra mantida na geladeira para o seguinte estágio de centrifugação no experimento, ainda estava fluida no momento da análise, o que permitiu comparar a formação de AGV nos dois tratamentos: a amostra controle, protegida com amônia, e o tratamento com tanino apresentaram uma diferença inequívoca, tal como pode ser observado na Tabela 3. Mesmo sob baixa temperatura, na geladeira, HA tinha um número AGV de 0,93 enquanto que TBR completou o longo período de 53 dias com 0,38 e ainda estava líquido e em condição normal. A amostra LAB, um controle não-tanino com baixa amônia e bórax em sua composição, coagulou antes da leitura às 408 horas (Tabela 2). Estas duas comparações acrescentam mais evidências à hipótese de que o tanino está efetivamente bloqueando as proteínas contra o ataque bacteriano, retardando a formação de AGV, e evitando,

consequentemente, a coagulação do látex. A comparação dos dois tratamentos com taninos, diferindo apenas pelo surfactante, não foi possível. A amostra TBL, utilizando o surfactante iônico LESS não coagulou sob o procedimento requerido pela norma ASTM D 7610.

Tabela 7. Resultados da análise de ácidos graxos voláteis.

Amostras	Número de AGV			
	Tempo (horas)			
	6	30	54	1268
LA	0,03	Coa	Coa	Coa
LAB	0,02	0,02	0,02	Coa
HA	0,01	0,01	0,01	0,93
TBR	-	0,12	0,24	0,38

'Coa' significa que a amostra coagulou.

LA (baixo amônia) = T1.

LAB (baixo amônia com borax) = T2.

HA (alto amônia) = T3.

TBR (tanino, borax e renex) = T8

5.3.1.4. Valores de pH

As leituras de pH do PEG 2 são mostradas na **Tabela 8**, reproduzida como gráfico nas **Figura 18 e 19**, onde são mostrados somente os cinco tratamentos mais representativos. Como mencionado anteriormente, a LA era muito instável e mesmo com amônia, refletida em seu pH inicial elevado (9,44), já estava coagulada na terceira leitura, com 54 horas. LAB e HA, que também eram amostras-controle de tratamentos não-taninos, já estavam coaguladas antes do 17º dia de leitura. A amostra LAB manteve-se fluida durante mais tempo do que LA e o mesmo período de HA, apesar de apresentar um pH inferior a 8,78 no início da experiência. Este comportamento é explicado pela presença do bactericida bórax.

Entretanto, houve uma diminuição acentuada do pH das três amostras-controle, enquanto ambos os tratamentos de tanino continuam fluidos, em faixas de pH mais baixos, nas quais, normalmente, o látex já deveria estar coagulado, o que reforça o modelo teórico proposto, conforme explicação ao final da seção anterior. Para as duas amostras com tanino, houve uma diminuição acentuada do pH no estágio inicial, seguido por um período estável, o que pode significar que o tanino protege as proteínas, mas existem outros compostos digestíveis como os fosfolípidios que não estão complexados pelos polifenóis, o que vem em apoio à visão de que o tanino está fazendo a diferença proporcionando mais estabilidade ao coloide.

Tabela 8. Medições de pH dos doze tratamentos do PEG 2 no decorrer do tempo.

Amostras	Tempo (horas)								Média
	6	30	54	78	150	222	318	408	
T1	9,44	8,92	Coa	Coa	Coa	Coa	Coa	Coa	9,18
T2	8,78	8,71	8,48	8,61	8,54	8,05	6,80	Coa	8,28
T3	9,73	9,66	9,34	9,27	9,12	8,44	7,70	Coa	9,04
T4	8,68	7,22	6,75	6,74	6,86	6,97	6,96	7,04	7,15
T5	8,37	7,38	7,06	7,06	6,63	6,82	6,72	6,90	7,12
T6	8,16	7,27	6,91	6,94	6,66	6,76	6,76	6,98	7,06
T7	8,33	7,32	6,90	6,80	6,56	6,77	6,71	6,90	7,04
T8	8,04	6,98	6,77	6,71	6,53	6,92	6,95	7,39	7,04
T9	8,31	7,37	7,08	7,04	6,86	6,83	6,72	6,71	7,12
T10	8,24	7,25	6,98	6,94	7,03	6,88	6,82	7,11	7,16
T11	8,27	7,48	7,31	7,27	7,20	6,91	6,97	7,17	7,32
T12	8,06	7,12	7,04	7,16	7,03	6,95	7,03	7,24	7,20

Coa = látex coagulado.

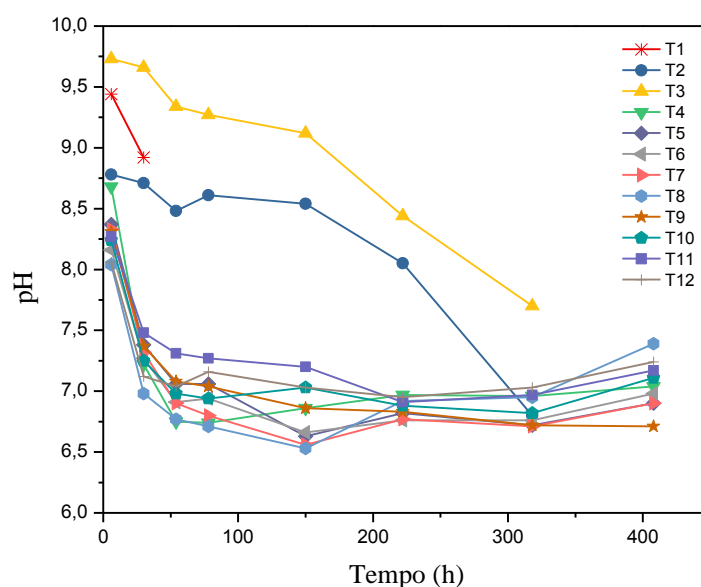


Figura 18. Resultados das medidas de pH dos 12 tratamentos originais do PEG 2. Para permitir melhor visualização, na figura a seguir constam somente os 5 tratamentos mais representativos, renomeados para facilidade de leitura.

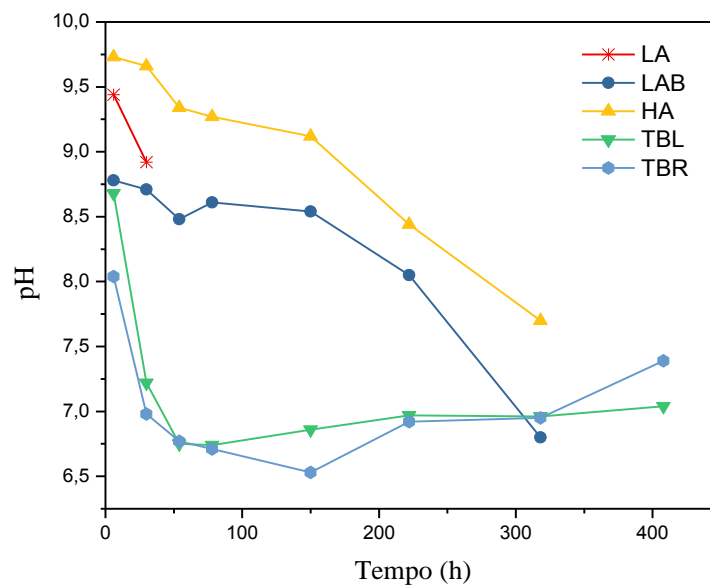


Figura 19. Resultados das medidas de pH: LA (baixa amônia = T1), LAB (baixa amônia e bórax = T2), HA (alta amônia = T3), TBL (tanino, bórax e LESS = T7) e TBR (tanino, bórax e renéx = T8).

5.3.1.5. Evolução do potencial zeta com o tempo

A medida do potencial zeta constitui ferramenta importante no estudo e caracterização de coloides iônicos pois quanto maior o seu valor absoluto, mais estável está o sistema coloidal, constituído por duas fases imiscíveis entre si por diferença de polaridade. No caso do LBN, as partículas compõem a fase minoritária e contêm a fase elastomérica, apolar, enquanto a outra fase é constituída por um soro aquoso polar, que contém os elementos normalmente encontrados em um citoplasma celular vegetal. No LBN há outras partículas como os lutóides, que desempenham o papel de vacúolos celulares (JACON, 1993), e estão envoltos em densa camada de enzimas onde se desenvolvem processos de síntese de compostos fundamentais para a biossíntese do elastômero (D'AUZAC, 1982) e, ainda, as partículas de Frey-Wisling, de função ainda não totalmente conhecida (CHOW & colaboradores, 2012). As partículas de borracha têm em sua superfície moléculas de fosfolipídios e proteínas, as quais se situam acima de seu ponto isoelétrico e, portanto, estão carregadas negativamente. A proteção técnica tradicional do LBN é acentuar as cargas negativas das proteínas por adição de amônia em altos percentuais que podem atingir 0,8% (m/m). Nestes níveis, as partículas estão com elevada carga negativa que impedem por repulsão eletrostática a fusão das partículas entre si, o que resultaria na coagulação do látex.

O potencial zeta é uma medida da estabilidade de um coloide cujas partículas estão protegidas por cargas iônicas. Se estas forem negativas, o potencial zeta se situa abaixo de zero, como acontece com o LBN, conforme pode ser observado nas **Figuras 20 e 21**.

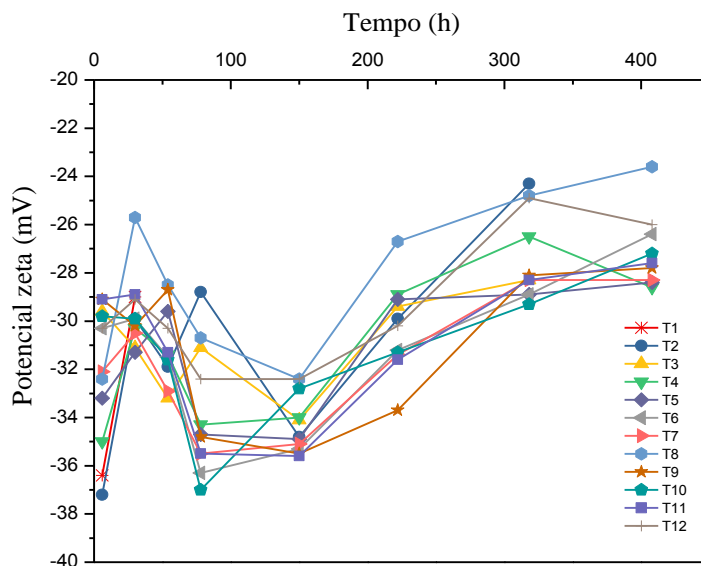


Figura 20. Potencial zeta dos doze tratamentos do PEG 2, em função do tempo.

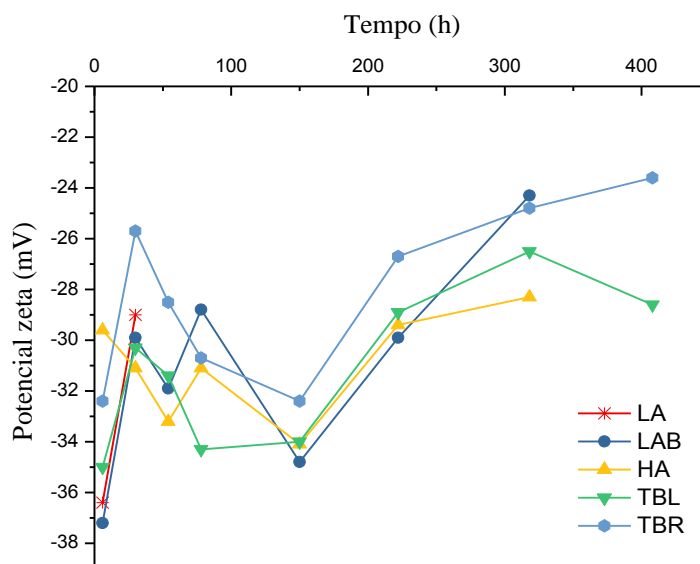


Figura 21. Potencial zeta (mV) de cinco amostras representativas do PEG 2.

A variação dos potenciais zeta de todos os tratamentos do PEG 2 no decorrer do tempo de monitoramento é mostrada na **Figura 20**, enquanto na **Figura 21** são mostrados somente os

cinco tratamentos mais representativos, novamente por motivo de visualização, uma vez que o gráfico com as doze curvas fica muito difícil de discernir entre elas. De qualquer forma, o comportamento da maioria das amostras com tanino segue um mesmo padrão para as curvas de pH, potencial zeta e diâmetro hidrodinâmico da partícula, salvo as exceções que são destacadas, quando necessário, seja no gráfico com doze curvas, seja com as cinco mais representativas.

Como já explicado, os potenciais zeta de todas as amostras são negativos, variando de -32 a -29 mV, o que é esperado para o modelo de um núcleo de borracha envolvido por proteínas e fosfolipídios carregados negativamente. À medida que o tempo passa, os potenciais zeta passam através de um mínimo nas primeiras 100 horas, então começa a aumentar de forma gradual até alcançar um valor estável após 200 h. A primeira observação pode ser dirigida para a amostra LA: começa com alta proteção colóide, -36,4 mV, diminui este valor para -29,0 mV, após 30 horas, e depois coagula. As amostras LAB e HA coagularam com potencial zeta em torno de -25 mV e -29 mV, respectivamente. Assim, esse intervalo entre -25 mV e -30 mV é crítico e pode ser tomado como uma faixa limite antes que a coagulação ocorra nos sistemas em estudo, quando e se a proteção se basear principalmente na proteção iônica. A amostra TBR, na segunda parte do gráfico, exibe potencial zeta entre -26 mV e -24 mV. Todo esse intervalo está abaixo do limite de -29 mV e dentro da faixa limite observada acima, o que significa que a amostra TBR já deveria estar coagulada, uma vez que a estabilização eletrostática de partículas, por si só, seria incapaz de manter a estabilidade coloidal. No entanto, esta amostra manteve-se no estado líquido durante os 17 dias de observação e apresentou a melhor pontuação de cheiro. Este comportamento incomum para o LBN vem também reforçar a hipótese de que está havendo outro tipo de proteção coloidal, o que reforça o modelo de escudo proposto.

5.3.1.6. Diâmetro hidrodinâmico das partículas

A variação do diâmetro hidrodinâmico da partícula com o tempo de experiência é apresentada na **Figura 22**.

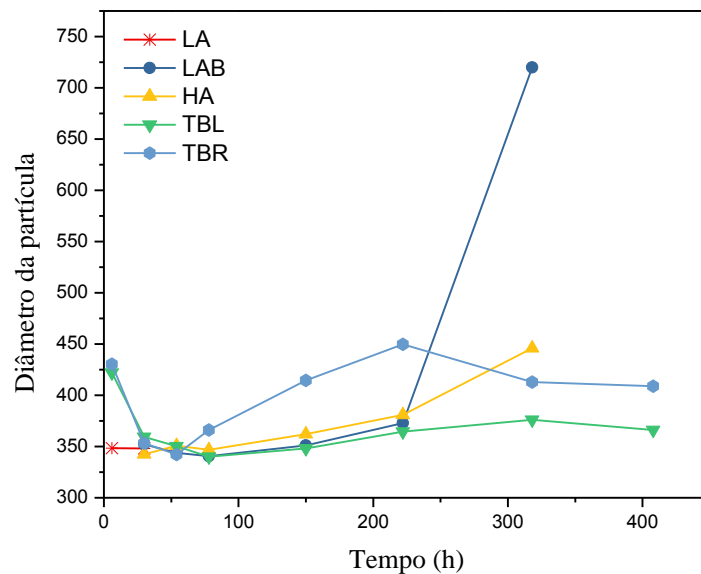


Figura 22. Diâmetro médio das partículas das amostras em função do tempo.

A evolução dos diâmetros hidrodinâmicos das partículas com o tempo de observação, também fornece mais informação sobre a proteção do sistema coloidal, como pode ser visto na **Figura 22**. Novamente, a amostra LA tem uma vida curta e não fornece mais informação do que a própria instabilidade. No entanto, a observação das outras duas amostras de amônia pode ajudar a compreender os resultados experimentais. Ambas começam com valores baixos, também comuns aos dois tratamentos com taninos, mas o LAB tem um aumento acentuado no seu diâmetro e depois colapsa. O mesmo comportamento acontece com HA, sem o aumento repentino, embora colapsando também. Por outro lado, as duas amostras com tanino, TBL e TBR, apresentam evolução constante do diâmetro de partícula em valores baixos, começando quase com os mesmos valores nas primeiras 80 horas e depois se diferenciam. A amostra TBR, com o surfactante não iônico, renex, assume valores significativamente mais altos do que os valores da amostra TBL que contém o tensoativo iônico, LESS. Deve ser registrado que todos os valores para o Índice de Polidispersividade (PdI) ficaram entre 0,2 e 0,4, dentro, portanto, de um intervalo aceito pelos registros bibliográficos para LBN (PENDLE; SWINYARD, 1991).

Como o modelo do escudo pode ser tomado para oferecer uma explicação plausível? A entrada de moléculas de tanino para construir o escudo em torno da partícula é influenciada pela presença de surfactante e, especialmente, pela sua natureza. Enquanto o composto não iônico, baseado em aproximadamente nove segmentos de óxidos de etileno ($-OCH_2CH_2-$), pela similaridade de polaridade com as hidroxilas ($-OH$), deve influenciar mais positivamente a

interação das moléculas de tanino com as proteínas do que o surfactante iônico LESS, ou lauril éter sulfato de sódio, cuja molécula é mostrada na **Figura 23**.

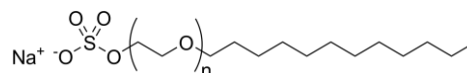


Figura 23. Estrutura molecular do lauril éter sulfato de sódio, LESS (n = 2 e 3).

Apesar de conter segmentos etoxilados como o renéx, mas em menor número, entre dois e três, o terminal sulfato, com uma carga negativa líquida, com o seu contra íon Na^+ , poderia dificultar esta aproximação entre tanino e proteínas adjacentes às partículas do elastômero, ou seja, dificultando a construção do escudo. Deve ser esclarecido que estes dois tratamentos no PEG 2 tiveram a mesma ordem de adição dos ingredientes, com a adição do surfactante antes do tanino, o que permite esta comparação. A formação do escudo tanino-proteico também acontece com o uso de LESS e a proteção efetivamente acontece, mas com menor efetividade do que se empregando o composto não iônico renéx. Esta conclusão também vai na mesma linha das observações de outras variáveis, como as pontuações olfativas e pH. Ambos os escudos foram construídos, mas, provavelmente, aquele com surfactante não-iônico é melhor formado, pela explicação acima, mas também pode ser maior em tamanho e, portanto, melhor protegido do que aquele com surfactante iônico.

Uma observação mais atenta da **Figura 22**, possivelmente, permite extrair outra informação sobre a construção do modelo de escudo. As primeiras 80 horas da experiência podem ser entendidas como o período de formação do escudo para ambas as amostras. Este período coincide com a informação do processo de curtimento da pele animal, na produção de couro, que leva de 3 a 4 dias para acontecer. No entanto, as duas amostras divergem quanto à resistência do escudo, melhor formada para o tensoativo não iônico, o que resulta em partículas de maior diâmetro, proporcionando assim melhor proteção.

5.3.1.7. Viscosidade brookfield

A medida da viscosidade dinâmica obtida em um aparelho tipo brookfield resulta da resistência de um líquido oferecida contra a torsão de um fuso (*spindle*) metálico. Quanto maior a viscosidade do líquido, maior a resistência, que é registrada por um dinamômetro. Como qualquer medida dessa propriedade, ela é influenciada pela temperatura da amostra e os valores

devem ser corrigidos por uma tabela de correção fornecida com o equipamento. A viscosidade em geral é influenciada pelo tamanho da molécula, pela atração entre elas e pela densidade do líquido. Ressalta-se que é uma técnica com equipamento de custo relativamente baixo e de fácil execução, mas pode fornecer interessantes informações dos sistemas em análise, especialmente no caso da presente tese.

As **Figuras 24 e 25** fornecem a evolução da viscosidade brookfield com o tempo no PEG 2 em análise. Na primeira, são apresentados os doze tratamentos, especialmente para mostrar a coerência de resposta de todas as amostras tratadas com tanino, com a notória exceção do tratamento T8 (ou TBR, no gráfico com cinco amostras). Naturalmente, como se poderia esperar, as amostras com amônia também apresentam comportamento diverso em parte das observações. Com olhar mais próximo, pode-se verificar também a similaridade de comportamento entre as duas amostras T3 (alto amônia) e T12, que seguem no conjunto das outras amostras, mas se diferenciam ao final aumentando a viscosidade. No caso do controle com amônia, T3, quando ela aumenta a viscosidade ao final, na última leitura, já está praticamente coagulada, enquanto a amostra T12 vai mais adiante, mas, por observação das características gerais, já estava bem espessa e coagulou logo após o término das observações. Recorda-se que esse é o tratamento onde se misturam todos os ingredientes antes de adicioná-los ao látex, e que produziu o pior resultado de proteção do látex, o que foi observado, inequivocamente, para outras variáveis, como teste olfativo e pH.

Retornando à leitura dos gráficos, especialmente do segundo, com medidas de cinco tratamentos para facilidade de compreensão: a amostra LA (baixo amônia) permitiu apenas duas leituras, começando com alta viscosidade, decresce e colapsa. Este comportamento pode ser entendido como errático, pois resulta de um látex bastante instável que já estava espesso, de forte cheiro putrefato e que coagulou logo em seguida. Os outros tratamentos controle com amônia fornecem leituras mais coerentes: o LAB (baixo amônia com bórax) segue com baixa viscosidade até o final, o que concorda com os outros parâmetros analisados, enquanto o HA (alto amônia) diferencia no comportamento geral ao final e, logo em seguida, coagula. Por outro lado, de todas as observações, o comportamento bastante diferenciado do tratamento TBR é a conclusão mais inequívoca das medições da viscosidade brookfield. Começa com um valor baixo, próximo das outras amostras, e aumenta de forma constante até um padrão mais elevado distinto de todos os outros tratamentos. O mais interessante é que a sua viscosidade durante todo o período de observação é muito superior aos valores medidos para LAB e HA próximos ao seu ponto de coalescência, o que permitiria supor que a amostra TBR já deveria estar

coagulada. No entanto, seu estado, como indicado por outras variáveis como pontuação olfativa, pH e por observação direta da amostra, está longe da coagulação, mesmo após passados vários meses do experimento.

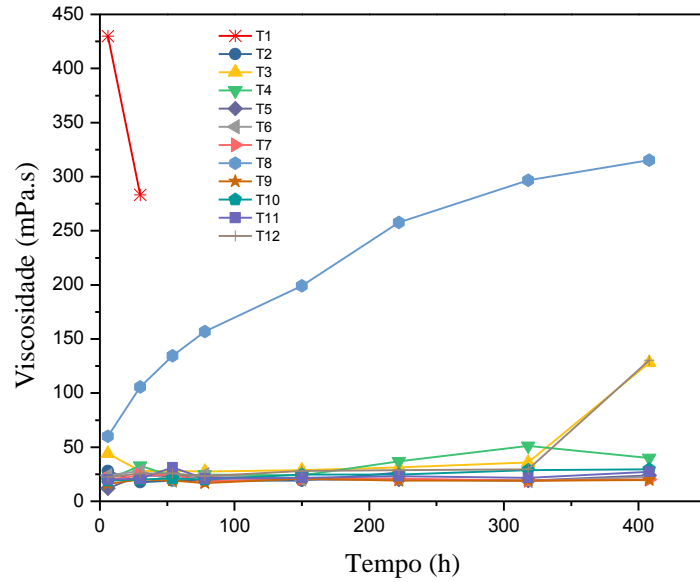


Figura 24. Viscosidade brookfield dos doze tratamentos do PEG 2, em função do tempo.

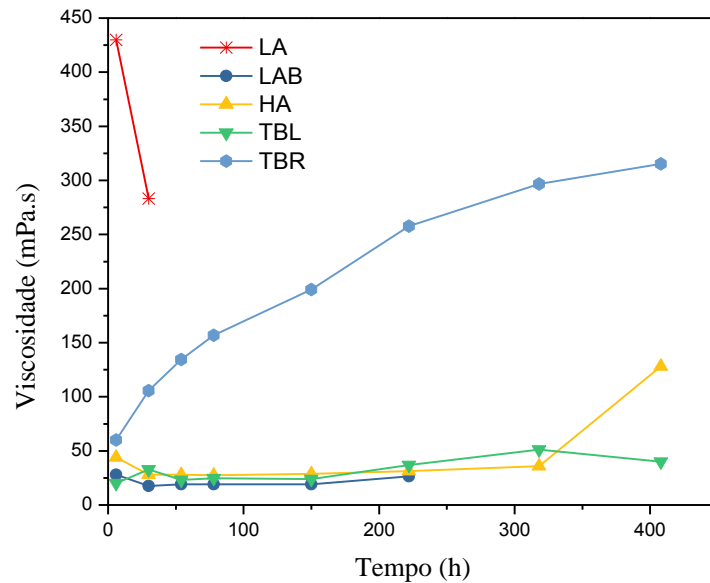


Figura 25. Viscosidade brookfield das partículas das amostras em função do tempo.

O modelo de escudo tanino-proteico envolvendo as partículas também pode oferecer uma explicação desse comportamento. Seguindo o conceito moderno de biossíntese de BN (BERTHELOT et al., 2014; CORNISH; XIE, 2012; GRONOVER; WAHLER; PRÜFER, 2011; PUSKAS; CHIANG; BARKAKATY, 2014), as partículas contendo o elastômero têm grande parte de suas superfícies cobertas por proteínas e fosfolípidos que são, ambos, responsáveis pela construção do polímero, ao qual estão ligados por uniões covalentes construídas por meio enzimático. Na amostra TBR, é muito provável que as proteínas estão complexadas pelas moléculas de tanino, como está proposto no modelo, e a sequência molecular deve ser partícula - proteína – tanino. Ainda, como está proposto no modelo, esses polifenóis podem transportar um grande número de moléculas de água unidas às suas hidroxilas de tanino, na face oposta às partículas, aumentando sua viscosidade dinâmica de forma tão diferenciada, como se pode depreender da imagem na **Figura 25**. Um outro aspecto pode, ainda, ser ressaltado dessa figura, que é o aumento progressivo da viscosidade da amostra TBR caminhando, ao final, para atingir um patamar de estabilidade. Tomando-se o modelo proposto, pode-se conjecturar uma explicação de que a reação de complexação da proteína pelo tanino está em andamento durante as medições. Por uma questão de maior mobilidade, as proteínas distribuídas no soro estão mais prontamente disponíveis para reação com as moléculas de tanino do que as moléculas adjacentes e ligadas às partículas de borracha. Assim, as moléculas de polifenóis são mais prontamente usadas para complexar as proteínas do soro, enquanto que as partículas na superfície das partículas estão reagindo progressivamente com as moléculas de tanino, o que pode ser corroborado pela obtenção de estado estacionário em torno de 400 horas, tempo em que todas as proteínas já teriam reagido integralmente. A estabilidade da formulação de TBR na segunda parte do período de medições e o baixo valor de AGV (**Tabela 7**) após 50 dias dão suporte a esta formulação. Possivelmente, na primeira parte experimental, o ataque bacteriano aos fosfolípidos regula o processo, diminuindo o pH. Após este período, está possivelmente ocorrendo um rearranjo em todo o sistema aumentando a estabilidade devido à proteção espacial do escudo tanino-proteico, o que é indicado pelo aumento da viscosidade dinâmica sem ir ao ponto de coalescência.

Para entender a diferença entre os dois surfactantes, iônico e não iônico, pode-se considerar o comportamento das duas amostras nas medições do diâmetro das partículas e da viscosidade brookfield. Em ambas variáveis, o TBR, portador do surfactante não iônico renéx, apresenta valores mais elevados do que a amostra TBL, que contém o tensoativo aniônico laureth, durante praticamente todo o período de observação. Por outro lado, tomando os outros

parâmetros analisados no experimento PEG 2, TBR também é mais estável do que TBL. O modelo teórico do escudo proposto também pode explicar esta observação objetiva experimental. Pode-se entender que o composto não iônico, com a longa cauda de segmentos etoxilados ($-\text{OCH}_2\text{CH}_2-$), pela similaridade de polaridade deve favorecer a entrada de moléculas de tanino para complexar com as proteínas ligadas às partículas. Como pode ser observado nas **Figuras 7 e 23**, com os dois surfactantes utilizados no ensaio, o composto aniônico, por outro lado, apesar de ter uma cadeia dos mesmos segmentos etoxilados, tem uma carga negativa viva que pode dificultar a entrada do tanino para reagir com as proteínas adjacentes às partículas.

5.3.2. Resultados da segunda fase: PEC 2

O Plano Experimental de Cidade Ocidental No. 2 (PEC 2) foi instalado em 19 de abril de 2017, com os objetivos principais de:

- a) testar dois taninos hidrolisáveis obtidos dos frutos de mirabolano e de tara comparando com a eficácia obtida com o tanino de acácia negra;
- b) testar as formulações com tanino da acácia, já testadas anteriormente e aprovadas nos outros PEs, mas introduzindo uma etapa de agitação mecânica por algumas horas, o que deve propiciar melhor resultado e não implica em procedimento difícil de se implantar nas usinas de beneficiamento de LBN;
- c) confirmar os principais resultados já obtidos.

A **Tabela 9** traz os resultados para quatro medições do PEC 2 do teste olfativo, pH e viscosidade brookfield. Novamente, os controles com amônia não tiveram período longo de análise pois HA coagulou em menos de sete dias e o LAB, próximo de 30 dias. No entanto, todos os tratamentos com tanino tiveram bom desempenho e deram bons resultados, o que amplia o escopo de aplicação da tese para o uso de outros tipos de tanino. Entretanto, é necessário, ainda, realizar outros experimentos para confirmar a estabilidade dos taninos hidrolisáveis e das suas reações com proteínas no médio e longo prazo. Como se pode ver na ver **Figura 3**, esta categoria de tanino tem como característica uma unidade de açúcar no centro da molécula, o que os torna vulneráveis a reações de hidrólise, o que obviamente resulta na redução do seu tamanho. O uso assegurado na indústria de couro faz presumir que esta condição hidrolisável não interfere no resultado final do curtimento. Provavelmente, esta situação também se reproduz no uso com o látex. Resta investigar o desempenho ao longo do tempo

destes taninos. Esta é mais uma frente de trabalho que se soma aos vários temas de pesquisa a executar no curto, médio e longo prazo, visando transformar em realidade na produção, os resultados desta pesquisa.

Por outro lado, as duas formulações já testadas e comprovadas em outros PEs, TaBL e TaBR, que ganharam neste PEC 2 a letra ‘a’ para distinguir a acácia negra dos outros taninos, mirabolano e tara, repetiram o ótimo resultado anterior, especialmente como estudado no PEG 2. Ainda, o surfactante não iônico renéx (em TaBR) teve pequeno, mas nítido melhor desempenho do que o similar iônico, LESS (em TaBL). Entretanto, detectou-se uma estratificação da amostra TaBR, à semelhança de um processo de cremagem, onde o látex vai formando um gradiente de camadas variando a densidade, desde uma mais leve, no topo, uma região mais cremosa, onde há maior concentração do elastômero, até a mais densa, abaixo, onde está preponderantemente o soro aquoso. Este processo é utilizado, em pequena escala, para concentrar o LBN, como processo alternativo à universal centrifugação. Novamente se apresenta nesta tese uma outra frente de pesquisa, qual seja a possível utilização desta fórmula da TaBR para proteger e ao mesmo tempo cremar o LBN, processo que pode ter bastante interesse para a região amazônica.

Tabela 9. Resultados do Plano Experimental de Cidade Ocidental No. 2.

Amostra	20/04 = 1 dia			26/04 = 7 dias			17/05 = 28 dias			25/05 = 36 dias		
	Olfat	pH	Viscos	Olfat	pH	Viscos	Olfat	pH	Viscos	Olfat	pH	Viscos
LAB	9	8,5	-	9	8,5	3	9	8,3	8,5	Coag	-	-
HA	Am	9,2	-	Coag	Coag	Coag	Coag	Coag	Coag	Coag	-	-
TaBL	10	8,2	-	8	7,4	3,1	6	6,9	5,4	7	6,8	5
TaBR	10	7,9	-	8	7,1	35,5	10	6,9	23	9	7,1	20,5
TmBL	10	8,0	-	10	7,2	3	7	6,7	5,4	5	6,7	5,6
TtBL	10	8,0	-	9	6,7	3,1	8	6,5	5,5	4	6,4	6

Olfat = teste olfativo, de zero a 10. Viscos. = Viscosidade brookfield, em mPa.s. Coag = Amostra coagulou inviabilizando as medidas. Am = o forte odor de amônia impediu o teste olfativo da amostra. LAB = Tratamento com baixo amônia e bórax. HA = Tratamento com alto amônia. TaBL = Tratamento com tanino de acácia, bórax e LESS. TaBR = Tratamento com tanino de acácia, bórax e renéx. TmBL = Tratamento com tanino de mirabolano e bórax. TtBL = Tratamento com tanino de tara e bórax.

5.4. DISCUSSÃO DO MODELO TEÓRICO DE ESCUDO DO COLOIDE

Na análise da parte experimental desta tese de doutorado, especialmente nessa discussão mais completa do PEG 2 foram produzidos dados objetivos, que trouxeram novos elementos de

construção teórica, mas que também confirmaram resultados obtidos em mais de um plano na primeira fase dos trabalhos de pesquisa, os quais são enunciados a seguir:

1) um látex de campo, invulgarmente instável, foi estabilizado com base em tratamentos com tanino, bórax, um surfactante iônico ou não iônico e hidróxido de potássio, em variadas formulações e ordens de adição dos reagentes;

2) enquanto os tratamentos controle com amônia permaneceram sem coagular menos do que 17 dias, sete tratamentos de nove com tanino ficaram estáveis e fluidos mesmo após mais de seis meses de instalação do experimento;

3) a liberação de ácidos graxos voláteis (AGV), resultante da degradação do látex, é muito menor nos tratamentos com tanino do que na amostra controle com amônia;

4) como consequência dessa menor liberação de AGV, o odor das amostras tratadas com tanino é razoável, caracteristicamente não putrefato, após meses de experimentação, enquanto os controles com amônia apresentaram o odor forte característico da degradação bacteriana de matéria orgânica;

5) os valores de pH das amostras com tanino situavam-se em um intervalo onde o LBN normalmente já deveriam estar coagulados, o que não foi observado;

6) as medições do potencial zeta de amostras com tanino situaram-se em uma faixa de proteção coloidal onde elas já deveriam ter colapsado, mas estavam fluidas;

7) o tratamento de tanino com surfactante não iônico resultou, em geral, melhores resultados de estabilidade do que o seu similar iônico;

8) a amostra de tanino com surfactante não iônico apresentou maiores valores de viscosidade dinâmica do que com surfactante iônico;

9) observou-se comportamento semelhante com as medições de diâmetro hidrodinâmico das partículas de elastômero: o tratamento com surfactante não iônico resultou em valores maiores do que a amostra tratada com surfactante iônico.

O conjunto destes fatos experimentais pode ser tomado como sinais de suporte ao modelo sugerido onde as moléculas de tanino complexam com as proteínas envolvendo as partículas de borracha no LBN, de modo a constituir uma espécie de escudo que, com base em impedimento estéreo, impede as partículas de coalescerem entre si, proporcionando estabilidade biológica e mecânica ao látex de hevea. Esta condição manteria o sistema coloidal fluido e em bom estado, em contraste com a proteção às partículas do coloide normalmente observada quando atuam somente as forças iônicas, como no caso da amônia. As moléculas de

água atraídas pelas hidroxilas do tanino, pelo lado oposto das partículas, trariam ainda mais resistência ao escudo de proteção do sistema coloidal.

Este modelo de escudo propicia boa explicação ao fato experimental de que o látex de campo foi estabilizado contra a coagulação sem usar a amônia tradicional como conservante. Portanto, este escudo tanino-proteico construído em torno das partículas estaria impedindo-as de se fundirem umas com as outras, bem como evitando o ataque bacteriano às proteínas que rodeiam as mesmas partículas de borracha, o que está associado à deterioração do látex. A proteção do látex natural pode ser considerada uma conclusão inequívoca a partir de fatos experimentais que vão em linha com o esperável teoricamente a partir da reação entre tanino e proteínas. Se a proteção do coloide acontece é porque a reação de complexação entre tanino e proteína acontece, conforme a teoria, e a confirma.

Se esta reação acontece com as proteínas adjacentes às partículas, também deve estar acontecendo com aquelas que estão distribuídas no soro. Portanto, está acontecendo na prática a proposta básica desta tese, qual seja a mudança na condição das proteínas do LBN em dois sentidos, primeiro torná-las inviáveis para serem substrato da digestão bacteriana, e em segundo, que elas não reagissem mais como proteínas normais, especialmente as reações específicas de sensibilização alérgica.

Por outro lado, se este modelo é aceitável para explicar os resultados obtidos, pode-se esperar que proteínas ligadas às moléculas de tanino, sendo parte do próprio escudo, não atuem como alérgenos. Por limitações experimentais, este resultado não foi possível de produzir a partir dos planos experimentais como foi o caso da proteção do LBN contra deterioração biológica e coalescência sem utilização de amônia como conservante. Um quadro mais completo da diminuição da ação alérgica do LBN em função do tratamento com taninos será mais adequadamente produzido com procedimento experimentais específicos, incluindo metodologia e ferramentas científicas apropriadas e, até mesmo, a produção piloto de artigos como luvas para testes práticos. No entanto, os sinais que foram possíveis de se obter nesta experiência a partir do ensaio ELISA estão alinhados com o raciocínio de que o tanino está realmente bloqueando as proteínas em geral, inviabilizando sua atuação como proteínas, incluindo as reações alérgicas, sejam aquelas que envolvem as partículas, construindo o escudo, sejam aquelas que compõem o soro do látex.

5.5. REDUZINDO OS ALERGÊNICOS DO LÁTEX DE BORRACHA NATURAL

5.5.1. FTIR – Investigando a redução de proteínas

A partir dos resultados obtidos nas análises da proteção do LBN pelo tanino, alguns tratamentos específicos foram selecionados para serem submetidos à Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier para acessar qualitativamente a diminuição do teor de proteínas como resultado dos tratamentos: T3, como controle com amônia, e T6, T7, T8, T9, T10 e T11, amostras com formulações de tanino. O tratamento T6 pode representar T4 e T5 porque os três tiveram respostas muito semelhantes na primeira parte experimental. A amostra T12 também não foi incluída por ser o pior resultado de todos em termos de preservação do látex contra degradação bacteriana.

Os filmes foram preparados como descrito anteriormente (Seção 4.3.4.1) para todos os tratamentos antes e depois da centrifugação a 8000 RPM durante uma hora a 16 °C. Os principais espectros resultantes são mostrados nas próximas páginas.

Duas bandas características podem ser associadas à presença de proteínas nos espectros FTIR obtidos a partir dos filmes de borracha. Eles são observados nos seguintes números de onda dos espectros:

- A 1540 cm^{-1} , vibração de alongamento de $-\text{OH}$, associada às carbonilas de amida.
- A 3275 cm^{-1} , vibração de estiramento da carbonila, $\text{C}=\text{O}$.

Embora ambos estejam presentes e visíveis a partir dos espectros para todas as amostras, foram selecionadas as absorções a 1540 cm^{-1} pela sua forma aguda, em vez de arredondada das bandas a 3275 cm^{-1} , para medir e associar à presença de proteínas.

Uma banda muito característica, absorvendo a 1375 cm^{-1} é associada à deformação do radical metila ($-\text{CH}_3$), que está ligada à dupla ligação do poli(cis-isopreno). Como está presente na borracha em geral, esta banda acontece em todas as amostras de todos os tratamentos, com ou sem tanino, antes ou depois do processo de centrifugação, o que permite a sua utilização como uma banda padrão, comum a todas as amostras. A relação entre as intensidades da banda principal, observada para as proteínas a 1540 cm^{-1} , e esta banda ($-\text{CH}_3$) a 1375 cm^{-1} , é uma indicação quantitativa da ocorrência de proteína na amostra. A relação entre estas razões antes e depois da centrifugação pode ser tomada como uma medida da diminuição do teor de proteína resultante do tratamento. As **Tabelas 10 e 11** mostram as medidas dessas duas intensidades, tomadas a partir dos espectros, as razões entre elas e suas relações.

Tabela 10. Tratamento dos dados da primeira rodada de análises por FTIR que resultou na sequência de eficiência de redução de proteínas: T8>T7>T3>T11>T9>T10.

Tratam.	Não centrifugado					Centrifugado uma vez					retido	Centrifugado duas vezes					% prot. retida
	Pico	Altura	Pico	Altura	Razão	Pico	Altura	Pico	Altura	Razão		Pico	Altura	Pico	Altura	Razão	
T3	1375	0,75	1581	0,85	1,13	1375	0,78	1554	0,71	0,91	-	1375	0,62	1550	0,4	0,65	57
T7	1375	0,69	1562	0,66	0,96	1375	0,4	1540	0,31	0,78	81	-	-	-	-	-	-
T8	1375	0,55	1561	0,38	0,69	1375	0,59	1542	0,46	0,78	113	1375	0,67	1562	0,36	0,54	78
T9	1375	0,57	1556	0,52	0,91	1375	0,57	1540	0,39	0,68	75	-	-	-	-	-	-
T10	1375	0,56	1556	0,53	0,95	1375	0,6	1551	0,35	0,58	62	-	-	-	-	-	-
T11	1375	0,52	1558	0,42	0,81	1375	0,55	1553	0,35	0,64	79	-	-	-	-	-	-

Tabela 11. Tratamento dos dados da segunda rodada de análises por FTIR que resultou na sequência de eficiência de redução de proteínas: T7>T3>>T9>T10>T3>T8.

Treatm.	Não centrifugado					Centrifugado					% prot retida
	Pico 1	Alt.1	Pico 2	Alt. 2	Razão	Pico 1	Altura 1	Pico 2	Altura 2	Razão R _{He} 2:1	
T3	1376	0,692	1553	1	1,45	1375	0,669	1558	0,398	0,6	41
T6	1375	0,749	1558	0,736	0,98	1376	0,729	1559	0,7391	1,01	103
T7	1376	0,684	1557	0,566	0,83	1376	0,625	1558	0,552	0,88	107
T8	1376	0,747	1563	0,686	0,92	1375	0,763	1566	0,124	0,16	18
T9	1375	0,865	1559	0,909	1,05	1375	0,694	1558	0,322	0,46	44
T10	1375	0,825	1561	0,763	0,93	1375	0,883	1571	0,353	0,4	43
T11	1375	0,785	1561	0,671	0,85	1375	0,855	1558	0,28	0,33	38

Esta primeira investida para utilização de FTIR (**Figura 26**) para avaliar a presença de proteínas nos filmes de LBN tratados com tanino, produziram espectros claros e sem ruídos, o que indicou ser esta técnica uma ferramenta de utilidade no desenvolvimento desta tese. Também o tratamento matemático dos dados produziu um resultado em linha com a expectativa positiva, completando o quadro de que esta técnica poderia ser bem utilizada para quantificar os resultados dos diferentes tratamentos, o que incentivou reproduzir o experimento para verificar sua reprodutibilidade.

Entretanto, a segunda rodada (**Figura 27**) acabou gerando espectros com muito ruído, e, além disso, o tratamento matemático dos dados produziu um resultado que contradizia a conclusão da primeira rodada. Estas duas condições, os espectros com ruídos e a contradição nos resultados do tratamento matemático, levou a reconsiderar a posição inicial de que a técnica poderia ser utilizada na tese.

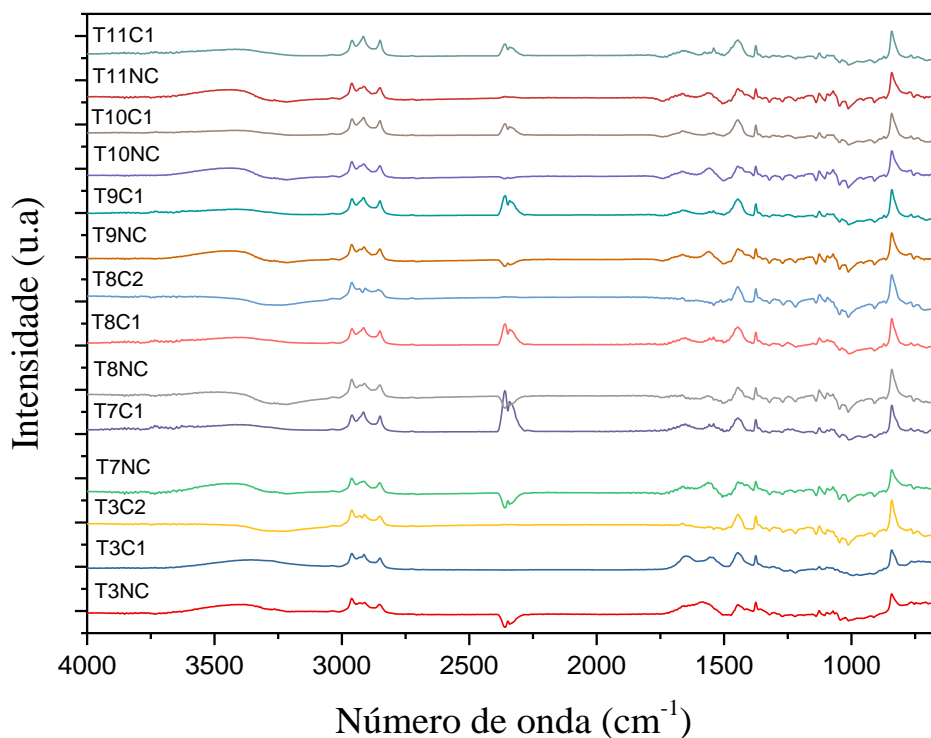


Figura 26. Primeiro experimento de FTIR das amostras de filmes de látex.

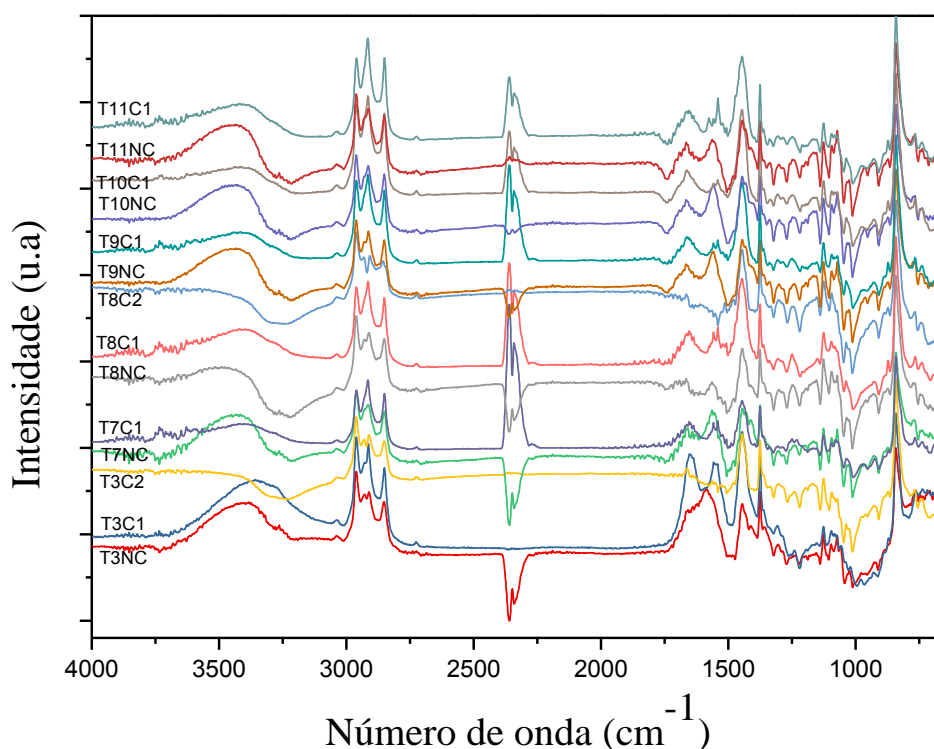


Figura 27. Segundo experimento de FTIR das amostras de filmes de látex.

5.5.2. Proteínas totais e lipídios

Os filmes produzidos a partir das seis amostras mais representativas do Plano Experimental No. 2 (PEG 2), produzidos como descrito na Seção 4.3.3.2., Preparação dos filmes para testes *in vitro*, foram divididos em três partes, uma foi para a primeira rodada de experimentos com FTIR, a segunda parte foi enviada para o Centro de Análises Laboratoriais CBO e uma terceira parte foi encaminhada para o Centro de Pesquisas TARRC, da Inglaterra.

A Tabela 12 reúne os resultados obtidos do CBO para as análises de total de proteína em bruto e extrato etéreo. A primeira, remete indiretamente para o total de proteína existente na amostra, pela determinação do nitrogênio obtido na queima total do material em alta temperatura em ambiente de oxigênio. A segunda análise é feita por extração clássica em soxhlet com éter que retira os lipídios e outros compostos solúveis em éter. Ambas as técnicas de análise estão resumidas na Seção 4.3.4.3 e constam do conjunto de referências.

Como pode ser observado, os resultados apresentam inconsistência, em parte explicáveis. Por exemplo, a amostra HA contém amônia como preservante, o que eleva o

porcentual de nitrogênio, na tabela 4.77. No entanto, este porcentual deveria necessariamente abaixar com a primeira centrifugação, o que não se verifica. Na segunda centrifugação, como há acréscimo de amônia entre as duas passadas na centrífuga, o resultado parece ser razoável. No entanto, todos os tratamentos com tanino, deveriam resultar valores próximos, tanto para proteínas, como para lipídios, pelo menos nas amostras sem centrifugação, pois o látex é o mesmo e as fórmulas adicionadas não devem mudar muito o porcentual de nitrogênio ou os extratos etéreos.

As análises contratadas com o Centro CBO acabaram por não produzir o resultado que se esperava. Segundo o que se pode deduzir, pelo menos uma grande razão, de ordem metodológica, contribuiu para que a resposta das análises não tenha correspondido às expectativas. O CBO tem larga experiência em análises quantitativas de rações animais, onde podem contar com abundância de amostras e altas concentrações dos componentes, o que não coincidia com as condições do material de látex em pauta.

Tabela 12. Determinação de proteínas e extrato etéreo pelo Centro de Análises Laboratoriais (CBO).

Amostras	Não Centrifugadas		Uma centrifugação		Duas centrifugações	
	Prot. Bruta	Extrato etéreo	Prot. Bruta	Extrato etéreo	Prot. Bruta	Extrato etéreo
	%	%	%	%	%	%
T3 = HA	4,77	3,98	4,94	4,00	3,15	3,61
T7 = TBL	3,44	7,27	1,03	5,28	-	-
T8 = TBR	2,07	12,91	0,86	6,14	0,77	29,75
T9	3,48	6,17	1,00	4,93	-	-
T10	3,24	3,36	0,86	4,60	-	-
T11	2,98	2,19	1,01	7,05	-	-

5.5.3. Proteínas totais extraíveis e proteínas alergênicas Hev b5 e Hev b13

A **Tabela 13** apresenta os resultados obtidos pelo Centro de Pesquisa Tun Abdul Razak (TARRC) em Hertford, na Inglaterra nas duas determinações: total de proteínas extraíveis e o Ensaio ELISA para as duas proteínas alergênicas de látex mais estudadas e quantificadas, Hev b 5 e Hev b 13. Estas determinações foram direcionadas em procurar diferenças entre a amostra de amônia HA e a amostra com tanino TBR que tinha fornecido o melhor conjunto de resultados nos outros parâmetros de preservação biológica e estabilidade do látex.

Os dados para o total de proteínas extraíveis são consistentes, mas, aparentemente, não indicam tendência sobre a efetividade de ação do tanino sobre o total de proteínas extraíveis do

látex. Pode estar contribuindo para este resultado, a condição das proteínas estarem complexadas com tanino e, nesta condição, estarem mais imobilizadas na matriz polimérica do elastômero e, assim, já não estarem disponíveis para as reações de proteínas livres, extraíveis, que se imagina dão base ao método analítico.

Tabela 13. Resultados sobre as determinações das proteínas extraíveis e de duas proteínas alergênicas, Hev b5 e Hev b13 (análises realizadas por TARRC/UK).

Amostras	Sem centrifugação				Uma centrifugação			Duas centrifugações				
	Prot. Extr.	Hev b5	Hev b13	Hev b13	Prot. Extr.	Hev b5	Hev b13	Prot. Extr.	Hev b5	Hev b13		
	mg/g	µg/g	µg/g	µg/g	mg/g	µg/g	µg/g	mg/g	µg/g	µg/g		
T3 = HA	1.85	0,165	800	>30	0,29	0,079	100	>30	0,11	0,066	50	>30
T7 = TBL		<0,02		>30		<0,02		>30				
T8 = TBR	2.66	<0,02	1.600	>30	0,26	0,073	120	>30	0,12	0,078	17	<30
T9		<0,02		>30		<0,02		>30				
T10		0,086		>30		<0,02		>30				
T11		<0,02		>30		<0,02		>30				

Por outro lado, nas quantificações das proteínas alergênicas Hev b 5 e Hev b13, os resultados fornecem elementos interessantes de análise a respeito da eficácia do tratamento com tanino para neutralizar a alergenicidade do LBN. Na coluna Hev b5, sem centrifugação, cinco de seis amostras tratadas com tanino ficaram abaixo do limite de detecção do método, o que pode ser até mesmo zero de concentração desta proteína alergênica, o que não é observado para a amostra de amônia, que nas três condições não chega ao patamar do limite de detecção. Na expressão da responsável pela análise, este resultado foi bastante interessante em face da expectativa de tratar o látex para neutralizar os alergênicos. Estas mesmas amostras mantêm o resultado positivo após a primeira centrifugação com exceção de uma amostra.

No caso da Hev b 13 sem centrifugação, o resultado para TBR é o dobro da amostra de amônia. No entanto, esta situação se reverte nos dois estágios subsequentes de centrifugação para se tornar muito mais baixo no último, com duas centrifugações, onde a amostra com amônia apresentou concentração de 50 µg de Hev b 13 por grama de filme de látex seco, quase três vezes maior que a amostra de tanino, de 17 µg /g.

Estes resultados podem ser considerados intrigantes, a princípio, especialmente quando contrariam a expectativa positiva que se tinha. No entanto, esta reversão nos resultados pode ser entendida se for considerada a localização de Hev b 13 no coloide de látex. Conforme aceito pela literatura (ARIF et al., 2004; SUBROTO et al., 1996), parte das moléculas desta proteína

está localizada dentro das partículas lutoides, onde, supostamente, o tanino não pode alcançá-las para complexar. No entanto, como resultado do processo de centrifugação, grande parte das partículas lutoides é eliminada, mas, possivelmente, uma parte delas é destruída pelas fortes forças de cisalhamento na centrífuga, liberando essa proteína alergênica para o soro (SHI; CAI; TIAN, 2015), onde ela pode então ser complexada pelo tanino, o que resulta nos números observados. Este fato também pode ser tomado em apoio à opinião de que o tanino está complexando as proteínas, em geral, incluindo as alergênicas. Embora sejam necessárias mais experiências para confirmar esta ação do tanino para diminuir ou eliminar a alergenicidade do látex, os resultados fornecidos pela análise TARRC abrem uma nova abordagem de investigação para tratar esta questão crucial para confirmar o papel do tanino na inativação dos fatores alergênicos do látex.

5.5.4. Discutindo as técnicas para investigar alergênicos

Se na parte desta tese dedicada a investigar o uso de tanino para proteção do látex, o instrumental de análise disponível permitiu obter resultados bem consistentes, o mesmo não se deu com os estudos sobre a resposta com os alergênicos. Dificuldades metodológicas associada à ausência de equipamentos foram as principais razões para o avanço que se teve, que, no entanto, foi bastante e suficiente para esta tese tecnológica de doutorado.

Considerou-se interessante deixar aqui registrada, uma reflexão sobre as análises realizadas de diminuição de proteína com FTIR, as determinações de proteína bruta e extrato etéreo feitas pelo CBO e as quantificações de proteínas extraíveis e duas proteínas alergênicas Hev b5 e Hev b13.

Até aqui, técnica de infravermelho não se mostrou adequada para permitir conclusões sobre a diminuição de proteínas do látex pelo uso de tanino. Em primeiro lugar, trata-se de um processo em que o tanino, em tese, está complexando com a proteína, que vai permanecer no látex e na amostra preparada a partir dele. Assim, os filmes submetidos à análise de infravermelho tinham ainda as proteínas que, no entanto, estavam complexadas com tanino, que devem produzir um espectro diferente do que a proteína sem estar complexada com o tanino. Ainda mais, o complexo tanino-proteico está inserido em uma matriz polimérica do LBN que é complexa por natureza. A deposição deste látex em um filme deve gerar diferentes configurações e arranjos deste complexo na superfície a ser irradiada com o IR gerando diferentes espectros que podem levar a diferentes conclusões. Este quadro pode muito bem

explicar os diferentes espectros obtidos na primeira e segunda rodada de filmes feitos do mesmo látex e com a mesma técnica.

Desta forma, a argumentação acima e tendo em vista as premissas da TTD, de focar preferencialmente a solução ou o conhecimento do problema tecnológico em si, a técnica de FTIR para investigação em filmes de látex tratados com tanino foi deixada para outra ocasião, que o tempo assim o permita.

Com relação às análises de proteína bruta e extrato etéreo, como realizadas pelo CBO, também não se mostraram adequadas. Novamente, o tanino imobiliza a proteína que, no entanto, ainda está lá e vai se refletir no resultado. Por outro lado, comparar com uma amostra controle que contém amônia, também não será eficaz, tendo em vista que não se tem a medida exata do que ainda existe de nitrogênio advindo da amônia e não da proteína. Sobre a extração em soxhlet para quantificação de lipídios, também não se obteve resultados plausíveis. Seja pelo teor que é bem baixo, onde o método pode não trabalhar bem, seja pela extração de outros compostos do látex que são solúveis em éter.

Finalmente, as análises efetuadas pelo TARRC, na Inglaterra, constituíram o maior acerto metodológico para esta parte da tese tecnológica, em especial as quantificações das proteínas alergênicas. A determinação do total de proteínas extraíveis deve ter interferência da formação do complexo tanino-proteína que foi referido para explicar os resultados das duas técnicas anteriores. A técnica de análise deve pressupor a quantificação de uma proteína livre e não complexada com tanino.

A aplicação do ensaio ELISA, sim, foi uma escolha acertada e proporcionou os resultados auspiciosos que se colheu e que remetem a pensar que a proposição original da tese de bloquear com tanino as proteínas, inativando os fatores alergênicos do látex, é acertada, ainda que necessitem de mais testes de confirmação.

Ainda mais, deve ser deixado aqui registrado o pensamento de que o ideal seria desenvolver uma técnica que permita detectar proteínas alergênicas no látex ainda no estado líquido. Possivelmente a proteína alergênica neste estado seria mais fácil de detectar do que filme formado. Ademais, em termos industriais, a detecção de alergênicos no látex centrifugado já permitiria selecionar que produtos não poderiam ser fabricados com ele, como no caso da luva cirúrgica, mas há outros em que a alergia não interfere, como fios elásticos e adesivos, por exemplo.

6. CONCLUSÕES

O presente trabalho teve como objetivo investigar a utilização de taninos vegetais para produzir látex com ação alérgica diminuída. Ao mesmo tempo, a ação do tanino através da complexação proteica consistiria em uma via alternativa ao emprego de amônia para preservar o látex contra a decomposição bacteriana e a coalescência física. Embora a proposta tenha antecedentes técnicos e científicos e, acima de tudo, plausibilidade de execução em termos técnicos e econômicos, ensaios desta forma não foram encontrados na literatura científica.

A principal conclusão do presente estudo é a importância da introdução do tanino como um novo e potencial componente de pesquisa da química do látex de hevea. Para ele realmente se tornar um protagonista com contribuição consistente, depende de mais estudos a fim de definir os intervalos dos componentes da formulação, a sequência de mistura dos reagentes e o processo produtivo em geral. Entretanto, estas definições podem ser obtidas com relativa facilidade, a partir da experimentação e análises similares às desenvolvidas na presente tese de doutorado. Por outro lado, existem passos entre a escala de laboratório e a realidade de produção em campo que precisam ser superados. O que já implica em mais trabalho de desenvolvimento em condições piloto e situação real de produção, onde se tem que admitir metodologia e condições específicas de trabalho, além de um grau diferenciado de investimento financeiro que não poderia ser contemplado no âmbito desta tese.

Em termos conclusivos, a resposta à pergunta sobre a eficácia do uso do tanino para preservar o látex NR contra deterioração foi encontrada e é afirmativa. A possibilidade de se produzir o látex de campo isento de amônia, utilizando aditivos de uso corrente na indústria e empregando um processamento simples, já é por si só uma descoberta interessante. Se, além disso, puder ser confirmada a possibilidade de tornar o látex de borracha natural sem alergênicos, com processamentos técnicos muito simples e não dispendiosos, então esta pesquisa pode realmente ser uma contribuição importante para a indústria de látex. O primeiro passo foi dado e o resultado é auspicioso.

O trabalho desta tese tecnológica de doutorado, deixa, em nosso entender, uma outra contribuição teórica na formulação de um modelo de proteção do coloide.

O modelo do 'escudo de proteção do coloide', tem por base a reação de complexação entre o tanino e as proteínas adsorvidas nas partículas do elastômero, que acabam por constituir um aglomerado de tanino-proteína-partícula que, coadjuvados pela presença do álcali e do tensoativo, protegem o coloide do colapso. Tal proteção deve se dar principalmente por

impedimento espacial para que as partículas não se choquem, impedindo, portanto, a fusão delas que levaria à coagulação do látex como um todo. Segundo este modelo, a proteção do coloide se daria por impedimento espacial e não por cargas iônicas que caracterizam o sistema de proteção da maioria dos coloides. Se tal modelo se aplica, o tanino deve estar reagindo com todas as proteínas do meio, e de uma forma permanente, como é de se esperar para polifenóis naturais na presença de aminoácidos e proteínas. Acontecendo esta reação, as proteínas estarão estavelmente bloqueadas para outras reações, seja para atuarem como substrato do ataque bacteriano, seja para as reações ultra específicas dos processos alérgicos. Com base neste pressuposto, pode-se esperar resultados positivos para o tratamento do látex natural com tanino vegetal para eliminar as alergias decorrentes das proteínas do látex. O que levaria, portanto, a comprovação da 1ª hipótese desta tese.

O autor desta tese executa, há mais de vinte anos, um trabalho de desenvolvimento de tecnologias para a produção sustentável de borracha na Amazônia. No entanto, como se trata de técnicas para difusão junto ao seringueiro e para seu uso, elas devem ser simples. A técnica de tratamento com tanino desenvolvida nesta tese tem como objetivo a produção nos seringais de cultivo, onde poderá ser bastante e facilmente introduzida na prática produtiva, seja no Brasil ou seja em qualquer país produtor de látex de borracha natural. Este tratamento do látex também foi pensado para uso do seringueiro da Amazônia. Se somente a proteção do látex por tanino se confirmar como fruto desta tese, podendo-se prescindir da amônia, e se a técnica for disseminada, por exemplo, junto aos produtores de látex para a produção de camisinhas da Natex, em Xapuri, já pode constituir uma renovação e inovação memorável. A proteção com amônia, pela alta exalação, obriga a uma alta frequência de coleta do látex junto aos produtores, do contrário, há perdas de látex putrefato e aumento do custo, entre outros fatores. Um látex preservado sem amônia e que possa permanecer por meses sem deterioração, como já se tem conseguido como trabalhos nesta tese, poderá ser um grande avanço na produção.

Se, ademais, confirmar-se a retirada da alergenicidade do LBN, esta solução propiciará à Natex a produção de uma camisinha não alergênica fabricada com látex nativo da Amazônia. Provavelmente, o filme da camisinha da Natex já é mais resistente, do que os filmes de camisinhas feitas com látex de cultivo por se tratar de látex nativo de árvores centenárias. Se já existe este diferencial de ser uma camisinha com vantagens sócio ambientais para a Amazônia e, além disso, ser muito resistente e, ainda, não alergênica, este produto poderá ter elevada competitividade internacional e estas vantagens poderão ser transferidas aos seringueiros que são verdadeiros guardiões da floresta amazônica.

Finalizando, segundo a concepção de tese tecnológica de doutorado, proposta na Introdução desta tese, os resultados práticos devem resolver ou entender um problema tendo em vista sua solução na área de prospecção, produção ou distribuição de bens e serviços para a sociedade. No entanto, para que não seja simplesmente a resolução de um problema, a tese deve empregar método, rigor em sua aplicação e análise e, ainda, desenvolver modelos conceituais de explicação dos fenômenos observados, bem como de predição de novos fenômenos, expandindo assim o conhecimento e sua aplicação. Pode-se afirmar que esta tese praticou todos estes pontos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACS. **Synthetic Rubber Program.** Disponível em: <<http://www.acs.org/content/acs/en/education/whatischemistry/landmarks/syntheticrubber.html>>. Acesso em: 18 nov. 2015.
- ALMEIDA, V. M. L. **Characterization of the factors involved in the tire production process.** Universidade do Minho, 2012.
- ARCHER, B. L.; AUDLEY, B. G. Biosynthesis of rubber. **Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol**, v. 29, n. 44, p. 221–257, 1967.
- ARCHER, B. L.; SEKHAR, B. C. The proteins of *Hevea brasiliensis*. **Biochemical Journal**, v. 61, p. 503–508, 1960.
- ARIF, S. A. M. et al. Isolation and characterization of the early nodule-specific protein homologue (Hev b 13), an allergenic lipolytic esterase from *Hevea brasiliensis* latex. **Journal of Biological Chemistry**, v. 279, n. 23, p. 23933–23941, 2004.
- ARIYAWIRIYANAN, W. et al. The Mechanical Properties of Vulcanized Deproteinized Natural Rubber. **Energy Procedia**, v. 34, p. 728–733, 2013.
- BAILEY, S. E. et al. A review of potentially low-cost sorbents for heavy metals. **Water Research**, v. 33, n. 11, p. 2469–2479, 1999.
- BELTRÁN-HEREDIA, J.; SÁNCHEZ-MARTÍN, J. Municipal wastewater treatment by modified tannin flocculant agent. **Desalination**, v. 249, p. 353–358, 2009.
- BERTHELOT, K. et al. *Hevea brasiliensis* REF (Hev b 1) and SRPP (Hev b 3): An overview on rubber particle proteins. **Biochimie**, v. 106, p. 1–9, 2014.
- BLACKLEY, D. C. **Polymer latices Volume 3: Applications of latices.** 2. ed. London: Chapman & Hall, 1997a.
- BLACKLEY, D. C. **Polymer Latices Volume 2: Types of Latices.** 2. ed. London: Chapman & Hall, 1997b.
- BRASIL. **Nota Técnica sobre Reavaliação Toxicológica do Ingrediente Ativo Pentacloorofenol e seus sais.** Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/0b3d0b80474585788f14df3fbc4c6735/penta.pdf?MOD=AJPERES>>. Acesso em: 10 nov. 2015.

- BUBAK, M. E. et al. Allergic Reactions to Latex Among Health-Care Workers. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 67, n. 11, p. 1075–1079, 1992.
- CARVALHO, E. B. DE. **Estudos da interação entre proteínas e taninos: Influência da presença de polissacarídeos**. Universidade do Porto, 2007.
- CHAIKUMPOLLERT, O. et al. Preparation and characterization of protein-free natural rubber. **Polymers for Advanced Technologies**, v. 23, n. 4, p. 825–828, 2012.
- CHAPMAN, A V. Natural rubber and NR-based polymers : renewable materials with unique properties. **Glass**, p. 15–16, 2007.
- CLARENCE-SMITH, W. G. The Battle for Rubber in the Second World War: Cooperation and Resistance. **Commodities of Empire Working Paper No.14**, p. 1–19, 2009.
- COOK, A. S. The Short-Term Preservation of Natural Latex. **Journal of the Rubber Research Institute of Malaya**, v. 16, n. 2, p. 65–86, 1960.
- CORNISH, K. Biosynthesis of natural rubber (NR) in different rubber-producing species. In: **Chemistry, Manufacture and Applications of Natural Rubber**. Woodhead Publishing Limited, 2014. p. 3–29.
- CORNISH, K. Alternative Natural Rubber Crops : Why Should We Care ? **Technology and Innovation**, v. 18, n. 2, p. 245–256, 2017.
- CORNISH, K.; WOOD, D. F.; WINDLE, J. J. Rubber particles from four different species, examined by transmission electron microscopy and electron-paramagnetic-resonance spin labeling, are found to consist of a homogeneous rubber core enclosed by a contiguous, monolayer biomembrane. **Planta**, v. 210, n. 1, p. 85–96, 1999.
- CORNISH, K.; XIE, W. **Natural rubber biosynthesis in plants: Rubber transferase**. 1. ed. Elsevier Inc., 2012. v. 515
- COVINGTON, A. D. Modern tannin chemistry. **Chemical Society Reviews**, p. 111–126, 1997.
- D'AUZAC, J.; JACOB, J.; CHRESTIN, H. **Physiology of Rubber Tree Latex**. Florida: CRC Press, Inc, 1989.
- DOEPPERT, F. et al. **Methods for managing chrome in leather making**. Disponível em: <http://www.tfl.com/web/files/methods_chrome_tanning.pdf>. Acesso em: 20 nov. 2015.
- EPA. **Compilation of air pollutant emission factors volume I: Stationary point and area sources**. Research Triangle Park, NC. 1995.

- FEARNSIDE, P. M. Biodiversity as an environmental service in Brazil's Amazonian forests: risks, value and conservation. **Environmental Conservation**, v. 26, n. 4, p. 305–321, 1999.
- GAWCHIK, S. M. Cognitive rehabilitation following traumatic brain injury: assessment to treatment. **The Mount Sinai journal of medicine, New York**, v. 78, p. 759–772, 2011.
- GENTRY, A. H. Distributional and their tropical biodiversity: patterns conservational significance. **Oikos**, v. 63, n. 1, p. 19–28, 1992.
- GRONOVER, C. S.; WAHLER, D.; PRÜFER, D. Natural rubber biosynthesis and physicochemical studies on plant derived latex. In: **Biotechnology of Biopolymers**. p. 75–88., 2011.
- HASLAM, E. **Chemistry of vegetable tannins**. London: Academic Press INC., 1966.
- HO, C. C. et al. Surface Structure of Natural Rubber Latex Particles from Electrophoretic Mobility Data. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 178, n. 2, p. 442, 1996.
- IBRAHIM, M. N. M.; CHUAH, S. B.; CHENG, P. Y. Tin-tannin-lignosulfonate complex: an improved lignosulfonate-based drilling fluid thinner. **Jurnal Teknologi**, v. 38, p. 25–32, 2003.
- JACOB, J. L.; D'AUZAC, J.; PREVÔT, J. C. The composition of natural latex from *Hevea brasiliensis*. **Clinical Reviews in Allergy**, v. 11, n. 3, p. 325–337, 1993.
- JEWTRAGOON, P. **Bottom Fraction Membrane: Involvements in Natural Rubber Latex Allergy**. Prince of Songkla University, 2004.
- KEKWICK, R. Latex and laticifers. **eLS**, n. c, p. 1–6, 2002.
- KLINKLAI, W. et al. Hyperdeproteinized natural rubber prepared with urea. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 93, n. 2, p. 555–559, 2004.
- LONG, J. C. The History of Rubber—A Survey of Sources about the History of Rubber. **Rubber Chemistry and Technology**, v. 74, n. 3, p. 493–508, 2001.
- MCKINSTRY, L. J.; FENTON, W. J.; BARRETT, P. Anaesthesia and the patient with latex allergy. **Canadian journal of anaesthesia = Journal canadien d'anesthésie**, v. 39, n. 6, p. 587–9, 1992.
- MENON, J. A. Tropical hazards associated with the use of pentachlorophenol. **British medical journal**, p. 1156–1158, 1958.
- MITTERMEIER, R. A. et al. A Brief History of Biodiversity Conservation in Brazil. **Conservation Biology**, v. 19, n. 3, p. 601–607, 2005.

MONTEIRO, J. M. et al. Taninos: Uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**, v. 28, n. 5, p. 892–896, 2005.

MORA, A. L. **Aumento da produção de sementes geneticamente melhoradas de acacia mearnsii de wild. (acácia-negra) no Rio Grande do Sul.** Universidade Federal do Paraná, 2002.

MURPHY, E. A. Recent progress in latex technology. **Industrial and Engineering Chemistry**, v. 5344, n. 4, p. 756–762, 1952.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 41, n. 5, p. 1523–1542, 2006.

NAWAMAWAT, K. et al. Surface nanostructure of Hevea brasiliensis natural rubber latex particles. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 390, n. 1–3, p. 157–166, 2011.

NAWAMAWAT, K.; SAKDAPIPANICH, J. T.; HO, C. C. Effect of Deproteinized Methods on the Proteins and Properties of Natural Rubber Latex during Storage. **Macromolecular Symposia**, v. 288, n. 1, p. 95–103, 2010.

PASTORE JR, F. **Tannin Adhesives.** Dissertação de Mestrado, The City University, London. 118 páginas, 1978.

PACHECO, J. W. Curtumes. **São Paulo: CETESB**, p. 13–33, 2005.

PALOSUO, T. Recent research on natural rubber latex (NRL) allergy. In: **Chemistry, Manufacture and Applications of Natural Rubber.** Woodhead Publishing Limited, 2014. p. 452–482.

PENDLE, T. D.; SWINYARD, P. E. The Particle Size of Natural Rubber Latex Concentrates by Photon Correlation Spectroscopy. **Journal of Natural**, v. 6, n. 1, 1991.

PERRELLA, F. W.; GASPARI, A. A. Natural rubber latex protein reduction with an emphasis on enzyme treatment. **Methods**, v. 27, p. 77–86, 2002.

PHILPOTT, M. W.; SEKAR, K. C. Determination of volatile fatty acids in natural rubber latex. **Rubber Chemistry and Technology**, v. 26, n. 2, p. 418–429, 1953.

PICHAYAKORN, W.; SUKSAEREE, J.; TAWEEPRED, W. Improved Deproteinization Process for Protein-Free Natural Rubber Latex. **Advanced Materials Research**, v. 844, p. 474–

477, 2013.

POLEY, G.; SLATER, J. Latex allergy. **J Allergy Clin Immunol.**, v. 105, n. 6 Pt 1, p. 1054–1062, 2000.

PUSKAS, J. E.; CHIANG, K.; BARKAKATY, B. Natural rubber (NR) biosynthesis: Perspectives from polymer chemistry. **Chemistry, Manufacture and Applications of Natural Rubber**, p. 30–67, 2014.

REICH, G. **From collagen to leather - the theoretical background**. Germany: BASF, 2007.

SANSATSADEEKUL, J.; SAKDAPIPANICH, J.; ROJRUTHAI, P. Characterization of associated proteins and phospholipids in natural rubber latex. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 111, n. 6, p. 628–634, 2011.

SANTIPANUSOPON, S.; RIYAJAN, S.-A. Effect of field natural rubber latex with different ammonia contents and storage period on physical properties of latex concentrate, stability of skim latex and dipped film. **Physics Procedia** 2, p. 127–134, 2009.

SANTOS, Á. F. DOS; LUZ, E. D. M. N. A gomose da acácia-negra no Brasil: a review. **Summa Phytopathologica**, v. 33, n. 2, p. 113–118, 2007.

SHI, M.-J.; CAI, F.-G.; TIAN, W.-M. Ethrel-stimulated prolongation of latex flow in the rubber tree (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.): An Hev b 7-like protein acts as a universal antagonist of rubber particle aggregating factors from lutoids and C-serum. **Journal of Biochemistry**, v. 159, n. 2, p. 209–216, 2015.

SIEBERT, K. J.; TROUKHANOVA, N. V.; LYNN, P. Y. Nature of Polyphenol–Protein Interactions. **J. Agric. Food Chem.**, v. 44, n. 1, p. 80–85, 1996.

SINDIRAÇÕES. **Compêndio brasileiro de alimentação animal**. São Paulo: SINDERAÇÕES, 2013.

SRIVASTAVA, N.; MEERA, B. Stabilization of collagen by its interaction with tannin extracted from *Punica Granatum*. **International Journal of Engineering Research & Technology**, v. 3, n. 7, p. 481, 2014.

SUBROTO, T. et al. Chitinase and β -1,3-glucanase in the lutoid-body fraction of *Hevea* latex. **Phytochemistry**, v. 43, n. 1, p. 29–37, 1996.

SUSSMAN, G. L.; BEEZHOLD, D. H. Allergy to latex rubber. **Annals of internal medicine**, v. 122, n. 1, p. 43–6, 1995.

TANAC. **Weibull - extrato de mimosa vegetal**. Disponível em: <http://www.tanac.com.br/sites/default/files/CT_WEIBULL_PT_0.pdf>. Acesso em: 28 nov. 2015.

TANAKA, Y. Structural Characterization of Natural Polyisoprenes: Solve the Mystery of Natural Rubber Based on Structural Study. **Rubber Chemistry and Technology**, v. 74, n. 3, p. 355–375, 2001.

TANAKA, Y.; TARACHIWIN, L. Recent Advances in Structural Characterization of Natural Rubber. **Rubber Chemistry and Technology**, v. 82, n. 3, p. 283–314, 2009.

TANGBORIBOON, N. et al. Removing Extractable Proteins in Natural Rubber Latex By Calcium Chloride From Chicken Eggshells. **Rubber Chemistry and Technology**, v. 84, n. 4, p. 543–564, 2011.

TANGBORIBOON, N. et al. Removal of water extractable proteins from concentrated natural rubber latex by eggshells. **Journal of Elastomers and Plastics**, v. 45, n. 3, p. 253–269, 2012.

TANGBORIBOONRAT, P.; TIYAPIBOONCHAIYA, C.; LERTHITITRAKUL, C. New evidence of the surface morphology of deproteinized natural rubber particles. **Polymer Bulletin**, v. 41, n. 5, p. 601–608, 1998.

TARACHIWIN, L.; SAKDAPIPANICH, J. T.; TANAKA, Y. Gel Formation in Natural Rubber Latex: 1. Effect of $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ and TMTD/ZnO Additives. **Rubber Chemistry and Technology**, v. 76, n. 5, p. 1177–1184, 2003.

WILKINSON, X. V. **Tapping the amazon for victory: brazil's "Battle for rubber" of world war II**. Georgetown University, 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. The Male Latex Condom: Specifications and Guidelines for Condom Procurement. p. 16, 2003.

A título de informação, neste ANEXO são enumeradas e descritas de forma resumida as principais atividades realizadas como parte prática desta tese.

Lista das Atividades desenvolvidas

- 1) Três Planos Experimentais Preliminares (PEPs), executados nos meses de janeiro a abril de 2015, num total de três, tiveram como objetivo geral iniciar, de fato, os trabalhos na pesquisa de bancada. Todos os PEPs 1, 2 e 3 foram feitos com látex da Embrapa. O PEP 1 teve como objetivo específico investigar a estabilidade do coloide com amônia, lauril sulfato de sódio (LSS) e tanino e testando a introdução de sais de nanopartículas de prata (NPPL) sintetizada no LABPOL (IQ/UnB). Constou de 8 tratamentos com composições e concentrações variadas dos reagentes, sem ajuste de pH.
- 2) Levantamento intenso para verificar a existência de patentes relacionando o uso de tanino vegetal com LBN na seção de patentes da British Library, em Londres, quando se constatou a inexistência de patentes neste sentido. Ressalte-se que as buscas são realizadas por moderno método de varredura digital por palavras e expressões-chave, na base Derwent Word Patent Index, que realiza a pesquisa nas bibliotecas de patentes mais importantes internacionalmente, o que resulta em busca muito efetiva. Não se encontrou qualquer ligação entre os dois assuntos, tanino e LBN, no sentido procurado na presente tese.
- 3) Tentativa de uso da técnica de cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas, CG/MS, com dispositivo de “*head space*” na Central Analítica (IQ/UnB) e do Laboratório de Produtos Florestais, SFB, do antigo IBAMA, para possível detecção de ácidos graxos voláteis de látex em processo de deterioração. Como já comentado, esta técnica consumiu muito esforço e tempo, porém sem ter sido possível coloca-la em operação normal para produzir resultados úteis à tese, que levou à decisão de descontinuar esta linha de trabalho.
- 4) Plano experimental de avaliação de surfactantes, incluído como parte do PEC 1 para testar a estabilidade do LBN com o uso dos surfactantes LSS, lauril éter sulfato de sódio (LESS), ricinoleato de potássio, amônia e KOH, avaliando-se os resultados através do potencial zeta no aparelho ZetaSizer.
- 5) Plano Experimental Preliminar N° 1, PEP 1, com 8 tratamentos, realizado com látex do Centro de Pesquisa Agropecuária do Cerrado (CPAC/Embrapa), Planaltina, com o objetivo de

verificar a ação de proteção do coloide, medindo o potencial zeta e tamanho da partícula frente a vários aditivos como amônia, LSS, LESS e tanino.

6) Plano Experimental Preliminar N° 2, PEP 2, com 11 tratamentos, feito com látex do CPAC/Embrapa, com o objetivo de verificar a ação de proteção do coloide do tanino em 3 pHs diferentes, amônia, LSS, e introduzindo um sal de prata nano-particulado sintetizado no Laboratório de Pesquisa em Polímeros e Nanomateriais (LABPOL) - IQ/UnB.

7) Plano Experimental Preliminar N° 3, PEP 3, com 12 tratamentos, feito com látex da CPAC/Embrapa, com o objetivo de verificar a ação de proteção do coloide, com tanino em pHs diferentes, LSS, e introduzindo dois tipos de sais de prata nano-particulados, um sintetizado no LABPOL/IQ/UnB e outro comercial, da Nanox Ltda., de São Carlos, SP.

8) Primeira tentativa de uso da técnica de espectroscopia de infravermelho para detecção de proteínas em filmes de látex de borracha natural, sem sucesso.

9) Plano Experimental de Goianésia N° 1, PEG 1, com 10 tratamentos, mantendo-se a concentração de tanino constante a 0,4% (m/m) e pH próximo de 9 e variando-se o bactericida, empregando os produtos comerciais: DOT, IPBC, Borax. Preventol e NPPC. Como exemplo de um Plano Experimental segue a **Tabela 14** com os tratamentos do PEG 1.

10) Plano Experimental de Cidade Ocidental N° 1, PEC 1, com 22 tratamentos, que tomou como base os resultados do PEG1, anterior, do qual elegeu-se o melhor tratamento, denominado como básico, foi modificado conforme a análise dos dados e que ficou denominado como o 'básico melhorado' e foi se propondo modificações em torno deste tratamento. Este Plano Experimental foi o mais extenso conjunto de tratamentos da tese e, seguramente, resultou uma considerável quantidade de resultados de análises colhidas ao longo de um período de 70 dias.

11) Experimento Piloto com 20 L de látex. Em paralelo ao PEC 1, acima, com o mesmo látex, e com o tratamento que se estimava mais promissor (Básico Melhorado), instalou-se este teste piloto com 20 L que ficou sob observação por 45 dias antes da centrifugação abaixo.

12) Centrifugação industrial do Experimento Piloto de 20 L, na Usina Jasmim de Beneficiamento de Látex, em S.J. do Rio Preto, SP, para verificação da resistência do látex tratado com tanino à alta carga de cisalhamento que ocorre no processo de centrifugação industrial.

Tabela 14. Formulações utilizadas no PEG 1.

Experimento	Látex (ph 9)	Tanino (25%)	Amônia (25%)	LSS (25%)	LESS (25%)	Preventol	Bórax (25%)	DOT (25%)	IPBC (20%)	NPPC
Branco Total	100	1,6	-	-	-	-	-	-	-	-
Látex Baixo Amônia (0.2% amônia)+(1% LSS)	100	1,6	0,8	4	-	-	-	-	-	-
Látex Alto Amônia (0.8% amônia)	100	1,6	3,2	-	-	-	-	-	-	-
Tanino (0.4%) ph 9 LSS(1%)	100	1,6	-	4	-	-	-	-	-	-
Tanino (0.4%) ph 9 LESS(1%)	100	1,6	-	-	4	-	-	-	-	-
Tanino (0.4%) ph 9 PREVENTOL	100	1,6	-	-	-	4	-	-	-	-
Tanino (0.4%) ph 9 LSS(1%) BORAX (0,8%)	100	1,6	-	4	-	-	3,2	-	-	-
Tanino (0.4%) ph 9 LSS(1%) DOT (0.8%)	100	1,6	-	4	-	-	-	3,2	-	-
Tanino (0.4%) ph 9 LSS(1%) IPBC (0.2%)	100	1,6	-	4	-	-	-	-	1	-
Tanino (0.4%) ph 9 LSS(1%) NPPC (0.4%)	100	1,6	-	4	-	-	-	-	-	0,4

- 13) Teste preliminar de preparação de filmes de látex por imersão com o látex centrifugado do Experimento Piloto de 20 L, de maneira similar ao processo industrial de produção de artefatos de látex, como as luvas, por exemplo. Em paralelo, para comparação, foi feito o mesmo processo com o látex centrifugado comercial normal da Usina Jasmim.
- 14) Manutenção em equipamento de determinação de estabilidade em látex, emprestado da Usina Jasmim de Beneficiamento de Látex de S.J. do Rio Preto, SP.
- 15) Reunião com técnicos do Centro de Desenvolvimento Tecnológico (CDT) da UnB, para discutir a aplicação de uma patente com o assunto da tese de doutorado.
- 16) Contatos com quatro laboratórios para realizar testes *in vitro* dos látex e/ou filmes com os melhores tratamentos para determinação de proteínas, lipídios e proteínas alergênicas.
- 17) Foram realizadas várias reuniões com o Laboratório de Imunologia Celular da Faculdade de Medicina, LIC/FM, da UnB, para verificar a possibilidade de fazer os testes de alergia *in vitro* e *in vivo* na própria UnB.
- 18) Preparação de 5 amostras de filmes de látex com variadas composições do tratamento para desativar as proteínas e eliminar as alergias, a partir do látex centrifugado preparado no teste piloto.

19) Primeira quantificação de proteínas extraíveis em cinco amostras de látex pelo Centro de Pesquisa Turn Abdul Razack (TARRC), no Reino Unido, em dezembro de 2015.

20) Plano Experimental de Goianésia N° 2, PEG 2. Este PE teve 12 tratamentos envolvendo as variáveis a) tanino – extrato normal e tanino degomado; surfactantes iônico e não iônico, alterando o pH do meio reacional e a ordem de adição dos reagentes. Este foi o mais completo PE realizado, já em fase madura do trabalho, onde a experiência dos planos anteriores foi utilizada para delinear um plano para fornecer respostas mais afinadas e definições sobre formulação e processo produtivo. Como este plano é bastante representativo da metodologia de trabalho empregada nesta tese, ele consta como ANEXO 1. Os objetivos deste PEG 2 foram:

a) confirmar resultados obtidos em programas experimentais anteriores em relação a formulações e processos de campo;

b) testar uma mesma formulação em condições diferentes:

- sob pH 9, 8 e 7;
- utilização de tanino versus ácido tânico a pH 8;
- utilizando LSS versus LESS a pH 8;

c) comparar a ordem de entrada dos reagentes entre álcali, tanino e surfactante.

21) Tomando-se os tratamentos com os melhores resultados do PEG 2, foram conduzidos experimentos de centrifugação por um e dois ciclos, com re-diluição entre as duas passagens na centrífuga, adicionando-se soluções que aproximassem as amostras às condições iniciais. Com látex nos três estágios, não-centrifugado, uma centrifugação e duas centrifugações, foram preparados filmes para FTIR (IQ/UnB), para a determinação de proteínas totais e lipídios (CBO) e para quantificação do total de proteínas extraíveis e de duas proteínas alergênicas, Hev b5 e Hev b13 (TAARC/UK).

22) Determinações de proteínas totais e lipídios, no CBO Análises Laboratoriais, de Valinhos, SP a partir dos filmes preparados no item anterior, em janeiro de 2017.

23) Análises para quantificação de proteínas livres e proteínas específicas alergênicas Hev b5 e Hev b13, no TARRC da Inglaterra, em janeiro de 2017.

24) Plano Experimental de Cidade Ocidental N° 2, PEC 2, realizado em abril de 2017, para testar a possibilidade de uso de dois taninos hidrolisáveis, de mirabolano (*Terminalia chebula*) e tara (*Caesalpinia spinosa*), e testar as formulações já consolidadas, empregando-se período prolongado (12 horas) de mistura dos reagentes com o látex.

ANEXO 2: Plano Experimental Goianésia Nº 2

Neste Anexo, a título de ilustração da metodologia de trabalho, é apresentada a redação original do PEG 2, que acabou sendo o plano mais discutido e conclusivo de toda a parte experimental.

Plano Experimental Goianésia Nº 2 – PEG 2

Impressão 1.

Brasília, 15 de outubro de 2016.

Florian Pastore Jr.

Siglas e expressões utilizadas:

KO: hidróxido de potássio, 2M

T: tanino, utilizado neste PEG2 como solução aquosa, preparada com antecedência mínima de um dia, a 25% m/m.

AT: ácido tânico utilizado neste PEG 2 como solução aquosa, preparada com antecedência mínima de um dia, a 25% m/m.

LIN: látex *in natura*, ou látex de campo, como recolhido das canecas, coado e homogeneizado em um vasilhame maior, com cerca de 30 % de matéria seca.

E: LESS – lauril éter sulfato de sódio, produto comercial de boa procedência, com cerca de 23% m/m.

Rx: Renex – nome comercial da Oxiteno para nonil fenol etoxilado, solução comercial a 25% (m/m).

Bx5: Borax, solução aquosa a 5% (m/m)

1. Objetivos:

- a. Confirmar, de forma geral, os resultados do PEC 1.
- b. Comparar, nas mesmas condições a atuação do conjunto Bx, T (ou AT), E (ou Rx), nos pHs de 7,5, 8,5 e 9,5.
- c. Comparar nas mesmas condições T versus AT, com pH 8,5
- d. Comparar nas mesmas condições E versus Rx, com pH 8,5
- e. Comparar ordens de entrada:
 - i. (KO + Bx) ; (AT) ; (E)
 - ii. (KO + Bx) ; (E) ; (AT)
 - iii. (Bx + AT) ; (KO) ; (E)
 - iv. (KO + Bx + E+ AT)

2. Definindo o Básico Melhorado do PEC 1: BMP

KO até pH 9,5: conforme ficou evidente dos resultados.

Bx5 a 0,8 % (16 g): conforme ficou evidente dos resultados.

AT a 0,4 % (1,6 g) (AT passa a substituir T, por que este tem cerca de 20 a 25 % de gomas e açúcares, os quais devem atrapalhar na ação do T sobre as proteínas.

E a 1 % (4 g): conforme ficou evidente dos resultados.

- na ordem: (KO) ; (Bx5) ; (AT) ; (E): a ordem de entrada dos reagentes não foi adequadamente estudada no PEC 1.

3. Experimentos

- a) BT, branco total, látex puro
- b) BABx, baixo amônia (0,2 % m/m), bórax (0,8 % m/m)
- c) AA, alto amônia (0,8 % m/m)
- d) BMP, Básico Melhorado do PEC 1, conforme descrito acima
- e) BMP, pH 8,5
- f) BMP, pH 7,5
- g) BMP, com T, pH 8,5
- h) BMP, com Rx, pH 8,5
- i) BMP, comparando as ordens de entrada, todos com pH 8,5:
(KO + Bx) ; (AT) ; 90min ; (E): corrige o pH, entra com Bx, entra com AT, e só depois de 90 min entra o E
- j) BMP, comparando as ordens de entrada, todos com pH 8,5
(KO + Bx) (E) ; 90min ; (AT): corrige o pH, entra com Bx, entra o E, e depois de 90 min, entra o AT
- k) BMP, comparando as ordens de entrada, todos com pH 8,5
(Bx + AT) ; (KO) ; 90min ; (E) : Bx e AT entram com pH do látex normal, em seguida, o pH é corrigido para 8,5, espera-se 90 min e entra com o E
- l) BMP, comparando as ordens de entrada, todos com pH 8,5
(KO + Bx + E + AT): aqui entra todo mundo junto

4. Pontos de medição

- 1) T = 0, tempo igual a zero, medido no mesmo dia, ao chegar ao LATEQ, 3^a-feira, 18/10, cerca de 16 h
 - 1.1) T, com 16 h, na 4^a-feira, 19/10, 8 h, só para o BT
- 2) T1d, tempo de um dia, com 24 h, 4^a-feira, 19/10, cerca de 16 h, todos
- 3) T2d, tempo de dois dias com 48 h, 5^a-feira, 20/10, cerca de 16 h
- 4) T3d, tempo de três dias, com 72 h, 6^a-feira 21/10, cerca de 16 h
- 5) T6d, com 144 h, 2^a-feira, 24/10, cerca de 16 h
- 6) T10d, com 240 h, 6^a-feira, 28/10, cerca de 16 h

5. Procedimentos experimentais na montagem do experimento

- Todos os 12 tratamentos são feitos em uma jarra maior, de 2 L, e repassados para os 6 potes, que serão enumerados de 1 a 6, sendo que os dois últimos, 5 e 6, ficam nos potes maiores, cada um com 200 mL, o dobro dos outros 4 potes, pois estes dois últimos serão usados para as medidas de viscosidade. Portanto, vai ser necessário coletar $12 \times 800 \text{ mL} = 9.600 \text{ mL}$ ou, praticamente 10 litros. Assim, todas as adições dos reagentes devem ser para 800 mL, ou a medida já usada no PEC 1, para 100 ml, multiplicada por 8.
- Em todos os tratamentos o volume final, após adição dos reagentes ficará maior ou igual a 800mL. Assim, mede-se 100 mL na proveta e passa para cada um dos 4 primeiros potes; o que restar, distribui-se igualmente nos dois potes maiores, somente por medida visual. Este procedimento é seguido para todos os tratamentos.
- Antes de se iniciar a montagem dos tratamentos, deve ser feita uma titulação com 100 mL de látex, recém colhido, com o KOH 2M (mols.L^{-1}), para ver a quantidade necessária para aumentar o pH do látex para 7,5 , 8,5 e 9,5. Fazer em triplicata.
- **Tratamento 1** = BT (branco total): somente colocar 800 mL na jarra de 2 L e despejar nos 6 potes.
- **Tratamento 2** = BABx (baixo amônia com bórax): colocar 800 mL na jarra de 2 L, adicionar 0,2 % de amônia ($0,2 \text{ g} \times 8 = 1,6 \text{ g}$ de NH_4OH) mais 0,8 de Bx5 (16 g da solução de bórax a 5% tem 0,8 g, portanto adiciona-se $16 \times 8 = 128 \text{ g}$).
- **Tratamento 3** = AA (alto amônia, a 0,8 % m/m): coloca-se 800 mL de LIN na jarra de 2L, adiciona-se 0,8% de amônia (6,4 g de NH_4OH a 25%). Segue-se o mesmo procedimento do tratamento 2, acima.
- **Tratamento 4** = BMP, Básico Melhorado do PEC 1: coloca-se 800 mL de LIN na jarra, adiciona-se KO para pH 9,5, conforme titulação, em seguida o Bx a 0,8% (16 mL de solução 5%, $X 8 = 128 \text{ mL}$); mais o AT a 0,4% (1,6 g de solução 25% $X 8 = 12,8 \text{ g}$); mais E a 1% (4 g de solução a 23% $X 8 = 32 \text{ g}$).
- **Tratamento 5** = BMP, Básico Melhorado do PEC 1, com pH 8,5: igual ao Tratamento 4, com pH 8,5.
- **Tratamento 6** = BMP, Básico Melhorado do PEC 1, com pH 7,5: igual ao Tratamento 4, com pH 7,5.
- **Tratamento 7** = BMP, com T: igual ao Tratamento 5, substituindo-se AT por T, mesma quantidade.
- **Tratamento 8** = BMP, com Rx: igual ao Tratamento 5, substitui E por Rx, mesma quantidade.
- **Tratamento 9** = BMP, comparando ordens de entrada a pH 8,5; neste experimento o AT entra antes do E: corrige o pH de 800 mL para 8,5, entra com Bx a 0,8% (16 mL de

solução 5%, $X 8 = 128$ mL); mais AT a 0,4% (1,6 g de solução 25% $X 8 = 12,8$ g); só depois de 90 min entra o E a 1% (4 g de solução a 23% $X 8 = 32$ g).

- **Tratamento 10** = BMP, comparando ordens de entrada a pH 8,5; neste experimento o E entra antes do AT: corrige o pH de 800 mL para 8,5, entra com Bx a 0,8% (16 mL de solução 5%, $X 8 = 128$ mL); mais E a 1% (4 g de solução a 23% $X 8 = 32$ g); só depois de 90 min entra o AT a 0,4% (1,6 g de solução 25% $X 8 = 12,8$ g).
- **Tratamento 11** = BMP comparando ordens de entrada, a pH 8,5: aqui Bx e AT entram primeiro, com pH do látex normal, aguarda-se um pouco (cerca de 15 min), corrige o pH para 8,5, aguarda-se 90 min e entra com o E a 1% (4 g de solução a 23% $X 8 = 32$ g).
- **Tratamento 12** = BMP comparando ordens de entrada, a pH 8,5: aqui todos os quatro reagentes entram de uma só vez, misturados antes de adicionar aos 800 mL de LIN. KO para pH 8,5 (conforme titulação) + Bx (a 0,8 % de solução a 5% : 16 g $X 8 = 128$ g) + AT (a 0,4% de uma solução a 25%: 1,6 g $X 8 = 12,8$ g) + E a 1% (4 g de solução a 23% $X 8 = 32$ g).

6. Procedimentos experimentais para as leituras.

- a. **Aspectos gerais:** aqui as amostras são analisadas conforme os aspectos visuais, observando-se na ordem, mexendo-se o mínimo possível: cor, formação de camadas de depósitos ou sobrenadantes, coagulação e manchas nas paredes.
- b. **Teste olfativo:** abre-se o frasco, deixa-se sair o primeiro cheiro e cada um de, no mínimo, 4 analistas sentem o cheiro e anotam em folhas separadas, sem trocar suas impressões; faz-se a média das quatro leituras. A pontuação deve ser de zero a dez (0 a 10), sendo que o cheiro de putrefato total é sentida (e memorizada) do BT (Branco Total); a nota 10 é sentida com o melhor cheiro de látex fresco, com notas de flores, frutado, etc. ou seja é muito agradável. O ponto intermediário, 5, é quando o látex deixa de ser cheiroso para ser desconfortável ao olfato.
- c. **pH:** Na medição do pH toda sequência de medidas dos tratamentos em um dia de leitura deve ser precedida pela calibração nos dois tampões recebidos com o aparelho.
- d. **Potencial Zeta (PZ):** é retirada uma alíquota de 2 mL que são diluídos para 100 ml (50X); desta solução retira-se mais 2 ml adiciona-se ao frasco de 50 ml, âmbar, com 40 ml de água (20X); o que resulta em: $50 \times 20 = 1000$, como fator de diluição. Para a medida do PZ, segue-se o procedimento padrão do aparelho.
- e. **Diâmetro da partícula (DP):** da solução de diluição 1000, retira-se uma alíquota de 5 ml e se coloca em novo frasco âmbar e dilui-se para 50 ml, resultando em diluição de 10X. Portanto, ao final se tem o fator de diluição de $1000 \times 10 = 10.000$. Para a medida do DP, segue-se o procedimento padrão do aparelho.
- f. **Viscosidade Dinâmica Brookfield:** em um bequer de 200 mL, colocar volume suficiente para passar do spindle 3 ou 4. A média de três leituras é anotada em cp (centipoise). Medidas feitas a temperatura ambiente.

- g. **Estabilidade mecânica:** no copo selecionado para a medida no aparelho adequado, insere-se 50 ml da amostra e se aciona o motor e vai se observando a formação dos primeiros coágulos na palma da mão. O resultado é anotado em segundos, lidos no cronômetro. Uma leitura é suficiente.
- h. **Ácidos Graxos Voláteis (AGV):** os AGVs são medidos segundo a Norma ASTM D7610. Um resumo do procedimento será preparado.
- i. **Proteínas totais por Lowry:** esta determinação é feita pelo Método de Lowry Modificado, seguindo-se a ASTM D 5712. Um resumo do procedimento será preparado. As proteínas totais serão determinadas como resposta aos experimentos de centrifugação, na sexta-feira, dia 21/10, ou alternativamente no dia 26/10, 4^a-feira, pela manhã. As determinações serão feitas seguindo-se as centrifugações de amostras do tratamento 4 (BMP) e outro que despontar como de boa qualidade nos experimentos.
- j. **Teste qualitativo de proteínas por FTIR:** ainda por decidir a quais tratamentos podem se aplicar esta técnica de análise, mas pode ser que todos os tratamentos podem ser centrifugados, re-diluídos, tratados com nova adição de KO, BX, AT e E, provavelmente com metade da concentração anterior, e novamente centrifugados. Em cada um dos três pontos: sem centrifugação, após a 1^a centrifugação e após a segunda centrifugação, são feitos filmes de látex, por desidratação simples, a temperatura ambiente, e faz-se o FTIR.

7. Lista de materiais para experimentos de campo

- a) Conjunto de 76 potes,
- b) Jarra de 2 litros,
- c) Provetas de 100, de 50 e de 10 ml
- d) Bequers de 100, 200 ml, de vidro e de plástico
- e) Conjunto de pipetas, incluindo Pasteur
- f) Espátulas
- g) Etiquetas
- h) Tesoura
- i) Fita adesiva
- j) Água destilada
- k) Balança
- l) Ph-metro
- m) Fita de pH
- n) Rolo de filme PVC
- o) Conjunto de ferramentas
- p) Toalha de papel
- q) Jalecos, toalhas de pano calculadora
- r) Papel de anotação
- s) Caixa de isopor
- t) Frascos PET de 2 L