

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA
CAMPUS DE RIO PARANAÍBA
MESTRADO MULTICÊNTRICO EM QUÍMICA DE MINAS GERAIS

**FILMES HÍBRIDOS DE ALGINATO DE SÓDIO E HIDRÓXIDOS DUPLOS LAMELARES
INTERCALADOS COM ÁCIDO 1-NAFTALENOACÉTICO PARA USO NA
AGRICULTURA**

RIO PARANAÍBA
MINAS GERAIS – BRASIL
2019

VANDER ALENCAR DE CASTRO

**FILMES HÍBRIDOS DE ALGINATO DE SÓDIO E HIDRÓXIDOS DUPLOS LAMELARES
INTERCALADOS COM ÁCIDO 1-NAFTALENOACÉTICO PARA USO NA
AGRICULTURA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa – Campus de Rio Paranaíba, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

RIO PARANAÍBA
MINAS GERAIS – BRASIL
2019

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca da Universidade Federal
de Viçosa - Câmpus Rio Paranaíba

T

C355f
2019

Castro, Vander Alencar de, 1987-

Filmes híbridos de alginato de sódio e Hidróxidos Duplos Lamelares intercalados com ácido 1-naftalenoacético para uso na agricultura : síntese, caracterização, estudos de liberação *in vitro* e estudos de bioensaios / Vander Alencar de Castro. – Rio Paranaíba, MG, 2019.

xv, 69f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui apêndices.

Orientador: Jairo Tronto.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa - Campus de Rio Paranaíba.

Referências bibliográficas: f.58-64.

1. Hidróxidos Duplos Lamelares. 2. Alginato de sódio.
3. Ácido 1-naftalenoacético. 4. Bioensaios. 5. Liberação *in vitro*.
I. Universidade Federal de Viçosa - Campus de Rio Paranaíba.
Instituto de Ciências Exatas e Tecnológicas. Mestrado em
Multicêntrico em Química de Minas Gerais. II. Título.

630

VANDER ALENCAR DE CASTRO

**FILMES HÍBRIDOS DE ALGINATO DE SÓDIO E HIDRÓXIDOS DUPLOS LAMELARES
INTERCALADOS COM ÁCIDO 1-NAFTALENOACÉTICO PARA USO NA
AGRICULTURA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa – Campus de Rio Paranaíba, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 22 de fevereiro de 2019.



Allan Robledo Fialho e Moraes



Willian Rodrigues Macedo
(Coorientador)



Jairo Fronto
(Orientador)

DEDICATÓRIA

Ao meu pai Pedro José de Castro Machado (*in memoriam*).

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, por todas as coisas.

Ao meu Orientador, Professor Jairo Tronto, pela orientação, pelos ensinamentos valiosos passados através de palavras, conselhos e acima de tudo pelo exemplo que contribuíram para minha formação acadêmica e pessoal.

Ao meu Coorientador, Professor Willian Rodrigues Macedo, fundamental para o desenvolvimento deste trabalho, agradeço pela ajuda prestada no que se refere a parte agrônômica do trabalho e também pelo incentivo e pelo apoio durante a realização do mesmo. Sou grato pela coorientação, pelos ensinamentos transmitidos, pela paciência, dedicação e carinho que sempre me tratou.

À Pós-Doc. Danúbia Nobre pela contribuição essencial nos ensinamentos referentes a área de sementes da dissertação, muito obrigado pela ajuda prestada.

À minha família, em especial a minha mãe, Raimunda de Castro, meu irmão, Ioni Aurélio de Castro, minha irmã Ivone Maria de Castro Silva pela compreensão, apoio e amor. Agradeço a minha família, peça fundamental na minha existência e caminhada até o presente momento.

Ao Grupo de Pesquisa LCL-UFV-CRP, vocês formam uma brilhante equipe. Sinto um enorme orgulho em fazer parte desse grupo, por tamanho profissionalismo, agradável convivência, todos sempre prontos a colaborar, a compartilhar ensinamentos, obrigado pelas vezes que me ajudaram, até mais vezes do que eu merecia. Vocês foram importantes na realização deste trabalho. Muito obrigado a todos: Áddila, Ana Luiza, Ana Rita, Camila, Denise, Franciely, Gustavo, Jader, Joyce, Lídio, Mariane, Marina, Milton, Niely, Roberta, Rodrigo, Rosembergue, Silas, Valber, Vander Luís, Víctor e Vinícius. Aos Professores Allan Robledo, Frederico Garcia, Geraldo Silva, Roberto Novais

e Sidney Xavier pelas contribuições valiosas. Agradeço de forma especial a Professora Vera Constantino (IQ-USP) pelas análises de TGA-DSC-MS.

Aos Técnicos de Laboratório da UFV-CRP: Grazielle, Gustavo, Jader, Juliana, Kátia, Mirlem, Rodrigo, Vinícius, Vivian e Vitângela, que tantas vezes foram solícitos para que eu pudesse conciliar o meu trabalho como Técnico e meus estudos enquanto mestrando. Ao meu chefe imediato Lucas Guimarães e a diretora da UFV-CRP, Rejane Nascentes que compreenderam e me ajudaram na parte administrativa para que eu pudesse terminar este trabalho.

A UFV e seus funcionários pelas liberações e permissões concedidas para a realização dessa dissertação.

Aos membros da Banca pela disponibilidade e contribuições valiosas.

A todos que de alguma forma, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito obrigado!

“Nenhum homem realmente produtivo pensa como se estivesse escrevendo uma dissertação”

(Albert Einstein)

SUMÁRIO

Resumo.....	viii
Abstract.....	ix
Lista de Figuras.....	x
Lista de Tabelas.....	xii
Lista de Abreviaturas.....	xiii
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. REFERENCIAL TEÓRICO	2
1.1.1. Reguladores de crescimento vegetal (Auxinas).....	2
1.1.2. Bioensaios	7
1.1.3. Análise instrumental.....	8
1.2. MECANISMO GERAL DE AÇÃO DAS AUXINAS	9
1.3. APLICAÇÃO DAS AUXINAS	10
1.4. FEIJÃO (PHASEOLUS VULGARIS L.).....	10
1.5. ÁCIDO 1-NAFTALENOACÉTICO (ANA)	10
1.6. HIDRÓXIDOS DUPLOS LAMELARES (HDLs)	11
1.7. SÍNTESE DOS HDLS	13
1.8. FATORES IMPORTANTES PARA A SÍNTESE.....	16
1.8.1. Cátions	16
1.8.2. Estabilização da estrutura lamelar pelo ânion intersticial	16
1.8.3. Velocidade de adição	16
1.8.4. Tratamento Hidrotérmico	16
1.9. PROPRIEDADES DOS HIDRÓXIDOS DUPLOS LAMELARES.....	17
1.9.1. Estabilidade térmica	17
1.9.2. Troca iônica	18
1.9.3. Área superficial e tamanho de poros	18
1.9.4. Domínios eletroquímicos.....	19
1.10. APLICAÇÕES DOS HIDRÓXIDOS DUPLOS LAMELARES	19
2. OBJETIVOS	21
3. MATERIAL E MÉTODOS	22
3.1. REAGENTES	22
3.2. EXPERIMENTAL	22
3.2.1. Síntese dos HDLs intercalados com ANA	22
3.2.2. Síntese do HDL intercalado com carbonato	23
3.2.3. Determinação das quantidades de Zn e Al nos HDLs.....	23
3.2.4. Determinação da quantidade de ANA contida nos HDLs	23

3.2.5. Preparo do pré-ensaio da concentração de ANA.....	24
3.2.6. Preparação do estudo cinético in vitro de ANA.....	24
3.2.7. Preparação dos filmes poliméricos para revestimento das sementes	25
3.2.8. Preparação do bioensaio em ágar.....	25
3.2.9. Preparação do bioensaio em casa de vegetação usando vasos com solo	26
3.2.10. Estudo da porcentagem de germinação e do índice de velocidade de germinação (IVG).....	26
3.3. CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DOS HDLS	27
3.4. FORMA DE ANÁLISE DOS RESULTADOS	28
3.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA	32
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
4.1. OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS HIDRÓXIDOS DUPLOS LAMELARES	32
4.2. CINÉTICA DE DESPROTONAÇÃO DO ANA	42
4.3. BIOENSAIOS	47
4.3.1. Pré-ensaio da concentração de ANA	47
4.3.2. Bioensaio em ágar.....	47
4.3.3. Bioensaio em vasos com solo	49
4.3.4. Porcentagem de germinação e IVG	53
5. CONCLUSÕES	56
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	58
APÊNDICE A – REAGENTES.....	65
APÊNDICE B – IMAGENS DOS BIOENSAIOS	66

RESUMO

CASTRO, Vander Alencar de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa – Campus de Rio Paranaíba, fevereiro de 2019. **Filmes híbridos de alginato de sódio e Hidróxidos Duplos Lamelares intercalados com ácido 1-naftalenoacético para uso na agricultura.** Orientador: Jairo Tronto. Coorientador: Willian Rodrigues Macedo.

A utilização de auxinas é uma excelente alternativa para melhorar o desenvolvimento fisiológico de plantas, mesmo que os modos de aplicação sejam ineficientes em alguns casos. Assim, encontrar alternativas para a aplicação homogênea e para a liberação sustentada das mesmas se faz necessário. Nesse sentido, os objetivos deste trabalho foram sintetizar e caracterizar Hidróxidos Duplos Lamelares (HDLs) de zinco e alumínio com diferentes razões molares entre esses cátions, intercalados com ácido 1-naftalenoacético (ANA), avaliar a taxa de liberação *in vitro* da auxina pura e intercalada em soluções aquosas com diferentes valores de pH e realizar bioensaios em ágar e vasos com solo. Os HDLs foram sintetizados utilizando o método de coprecipitação a pH constante. A caracterização dos materiais sintetizados ocorreu por meio de um conjunto de técnicas de análises, dentre elas: DRXP, FTIR-ATR, TGA-DSC-MS, ASE, MEV e análise elementar. O Zn₂Al-ANA-HDL foi avaliado em estudos de liberação *in vitro*. Para a realização dos bioensaios, sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris L.*) utilizadas como planta teste, foram recobertas com filmes poliméricos contendo Zn₂Al-ANA-HDL. Os bioensaios foram realizados em vasos contendo 3,0 dm³ de solo e caixas minirhizotron com 0,2 L de ágar. Os valores obtidos foram avaliados estatisticamente. As caracterizações mostraram que os materiais sintetizados possuem organização estrutural e pureza de fase. Os testes de liberação *in vitro* evidenciaram que o Zn₂Al-ANA-HDL apresentou maior faixa de liberação de ANA em pH = 10. Os bioensaios realizados em vasos com solo e caixas minirhizotron com ágar mostraram que as sementes encapsuladas com Zn₂Al-ANA-HDL foram eficientes no comprimento de parte aérea, na produção de matéria fresca e no comprimento de raiz do feijão. Assim sendo, pode-se afirmar que o filme polimérico contendo Zn₂Al-ANA-HDL foi eficiente quando comparado ao controle e a auxina pura. Portanto, a utilização de filmes de alginato contendo HDL como matriz inorgânica hospedeira para liberação sustentada de ANA na cultura do feijão, se mostrou eficiente e pode ser uma alternativa interessante para ser utilizada na agricultura.

ABSTRACT

CASTRO, Vander Alencar de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa – Campus de Rio Paranaíba, February, 2019. **Hybrid films of sodium alginate and Layered Double Hydroxides intercalated with 1-naphthaleneacetic acid for use in agriculture.** Advisor: Jairo Tronto. Co-advisor: Willian Rodrigues Macedo.

The use of auxins is an excellent alternative to the plant's physiological development, even though the use of auxins in plants is inefficient in certain applications. Taking this into account, finding an alternative for auxins homogeneous application and their sustained release to the plant is necessary. Thereby, the aim of this work was to synthesize and characterize zinc and aluminum Layered Double Hydroxides (LDHs), with different molar ratios between these cations intercalated with 1-naphthaleneacetic acid (NAA), to evaluate the rate of *in vitro* release of pure auxin and intercalated into LDHs in aqueous solutions with different pH values and to perform bioassays in acrylic boxes with agar, vessels with soil and trays with sand. The LDHs were synthesized using the coprecipitation method at constant pH. The synthesized materials were characterized by a set of analysis techniques, amongst them: XRD, FTIR-ATR, TGA-DSC-MS, SSA, SEM and Elemental Analysis. Furthermore, the Zn₂Al-NAA-LDH was evaluated *in vitro* release studies in aqueous solutions with pH values = 4, 7, and 10. To perform the bioassays, bean seeds (*Phaseolus vulgaris* L.) used as test plants were coated with polymer films of sodium alginate containing Zn₂Al-NAA-LDH. The bioassays were carried out in pots containing 3.0 dm³ of soil and boxes of minirhizotron with 0.2 L of agar. The values obtained were statistically evaluated. The characterization results showed that the synthesized materials have satisfactory structural organization and phase purity. *In vitro* release results showed that Zn₂Al-NAA-LDH has a higher release range at pH = 10. The bioassays performed in soil pots and boxes of minirhizotron with agar showed that alginate film containing Zn₂Al-NAA-LDH is efficient shoot length, to produce fresh matter and root length of common bean. Therefore, it can be stated that the alginate film containing Zn₂Al-NAA-LDH was efficient when compared to the control and pure auxin. Therefore, the use alginate films containing LDH as an inorganic matrix for sustained release of NAA in bean culture has proved to be efficient, which may be an interesting alternative can be used in agriculture.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Sensibilidade dos órgãos das plantas diante das concentrações de auxinas.....	8
Figura 2: Representação estrutural do ANA utilizado.....	11
Figura 3: Representação esquemática da estrutura de um HDL. [12].....	12
Figura 4: Algumas das principais áreas de aplicação dos HDLs.....	20
Figura 5: Difrátogramas para: (a) ANA, (b) Zn_2Al-CO_3-HDL , (c) $Zn_2Al-ANA-HDL$, (d) $Zn_3Al-ANA-HDL$ e (e) $Zn_4Al-ANA-HDL$	33
Figura 6: Espectros FTIR-ATR para: (a) ANA, (b) $Zn_2Al-ANA-HDL$, (c) $Zn_3Al-ANA-HDL$ e (d) $Zn_4Al-ANA-HDL$	35
Figura 7: (a) TGA-DSC- $Zn_2Al-ANA-HDL$, (b) TGA-MS- $Zn_2Al-ANA-HDL$, (c) TGA-DSC- $Zn_3Al-ANA-HDL$, (d) TGA-MS- $Zn_3Al-ANA-HDL$, (e) TGA-DSC- $Zn_4Al-ANA-HDL$ e (f) TGA-MS- $Zn_4Al-ANA-HDL$	36
Figura 8: Curva de absorvância <i>versus</i> concentração de ANA presente nos HDLs.....	38
Figura 9: Isotermas de adsorção/dessorção de N_2 para: (a) $Zn_2Al-ANA-HDL$, (b) $Zn_3Al-ANA-HDL$ e (c) $Zn_4Al-ANA-HDL$	39
Figura 10: Imagens representativas de MEV para: (a) ANA 3.00 K.X, (b) ANA 10.00 K.X, (c) $Zn_2Al-ANA-HDL$ 3.00 K.X, (d) $Zn_2Al-ANA-HDL$ 10.00 K.X, (e) $Zn_3Al-ANA-HDL$ 3.00 K.X, (f) $Zn_3Al-ANA-HDL$ 10.00 K.X, (g) $Zn_4Al-ANA-HDL$ 3.00 K.X e (h) $Zn_4Al-ANA-HDL$ 10.00 K.X.....	40
Figura 11: Cinética de desprotonação para: (a) ANA e (b) $Zn_2Al-ANA-HDL$ em valores de pH = 4, 7 e 10.....	42
Figura 12: Difrátogramas para: (a) $Zn_2Al-ANA-HDL$; (b) $Zn_2Al-ANA-HDL/pH = 4$, (c) $Zn_2Al-ANA-HDL/pH = 7$ e (d) $Zn_2Al-ANA-HDL/pH = 10$ após cinética com 24 h.	44
Figura 13: Espectros FTIR-ATR para: (a) $Zn_2Al-ANA-HDL$, (b) $Zn_2Al-ANA-HDL/pH = 4$, (c) $Zn_2Al-ANA-HDL/pH = 7$ e (d) $Zn_2Al-ANA-HDL/pH = 10$ após cinética com 24 h.	46
Figura 14: Comprimento de: (a) parte aérea de plântulas e (b) raízes no pré-ensaio.....	47
Figura 15: Valores de: (a) comprimento de raiz e (b) comprimento de parte aérea para o feijão sendo as sementes encapsuladas com: $M1 = alginato$, $M2 = Zn_2Al-CO_3-HDL$, $M3 = ANA$ e $M4 = Zn_2Al-ANA-HDL$. Medidas seguidas por uma mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).....	48
Figura 16: Valores de: (a) área superficial, (b) matéria fresca, (c) volume, (d) diâmetro, (e) matéria seca e (f) comprimento de raiz para o feijão sendo as sementes encapsuladas com $M1 = alginato$, $M2 = Zn_2Al-CO_3-HDL$, $M3 = ANA$ e $M4 = Zn_2Al-ANA-HDL$. Médias seguidas por uma mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).....	50
Figura 17: Valores de: (a) área, (b) matéria fresca, (c) matéria seca e (d) comprimento de folha junto com (e) comprimento de parte aérea para o feijão sendo as sementes encapsuladas com: $M1 = alginato$, $M2 = Zn_2Al-CO_3-HDL$, $M3 = ANA$ e $M4 = Zn_2Al-ANA-HDL$. Médias seguidas por uma mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).	52

Figura 18: Porcentagem de germinação em sementes de feijão encapsuladas com: <i>M1 = alginato</i> , <i>M2 = Zn₂Al-CO₃-HDL</i> , <i>M3 = ANA</i> e <i>M4 = Zn₂Al-ANA-HDL</i>	54
Figura 19: IVG em sementes de feijão encapsuladas com: <i>M1 = alginato</i> , <i>M2 = Zn₂Al-CO₃-HDL</i> , <i>M3 = ANA</i> e <i>M4 = Zn₂Al-ANA-HDL</i>	55
Figura B.1: Sementes sem encapsulação (controle) e encapsuladas com <i>M1 = alginato</i> , <i>M2 = Zn₂Al-CO₃-HDL</i> , <i>M3 = ANA</i> e <i>M4 = Zn₂Al-ANA-HDL</i>	66
Figura B.2: Semente sem tratamento e encapsulada com o filme M4 (Zn ₂ Al-ANA-HDL) cortada e ampliada através de uma lupa.	66
Figura B.3: Pré-ensaio da concentração de ANA.	67
Figura B.4: Sementes encapsuladas com o filme M4 (Zn ₂ Al-ANA-HDL), feito no ágar após 7 e 15 dias de cultivo.	67
Figura B.5: Bioensaio realizado em vasos com solo.	68
Figura B.6: Raízes do bioensaio realizado em vasos com solo.	69

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Combinações de cátions M^{II} com M^{III} que formam HDLs.	14
Tabela 2: Faixas ótimas de valor de pH para formação de HDLs.	15
Tabela 3: Condutividade de materiais do sistema ZnCrAl-HDLs (a partir do pó) de acordo com o ânion intercalado.	19
Tabela 4: Composição dos filmes poliméricos.	25
Tabela 5: Espaçamentos basais e interlamelares dos HDLs sintetizados.	33
Tabela 6: Tamanho médio de partículas para o ANA e os HDLs produzidos.	34
Tabela 7: Quantidades de Zn e Al presentes nas amostras de HDLs.	37
Tabela 8: Porcentagens de ANA encontrado nos HDLs.	38
Tabela 9: Dados de área superficial específica, volume e diâmetro médio de poros das amostras de HDLs.	39
Tabela 10: Dados de EDS para o ANA e os HDLs preparados.	41
Tabela 11: Análise elementar e fórmulas propostas para as amostras de HDLs.	41
Tabela 12: Tamanho médio de partículas para o Zn_2Al -ANA-HDL antes e após o estudo de liberação <i>in vitro</i>	45
Tabela 13: Porcentagens de germinação.	48
Tabela 14: Características do solo usado neste bioensaio.	49

LISTA DE ABREVIATURAS

ABA	-	Ácido abscísico
ADP	-	Difosfato de adenosina
AIA	-	Ácido indolil-3-acético
AIB	-	Ácido indolil-3-butírico
AG	-	Ácido giberélico
AMP	-	Monofosfato de adenosina
ANA	-	Ácido 1-naftalenoacético
ANA+HDL D1	-	Mistura do ácido 1-naftalenoacético puro com o Hidróxido Duplo Lamelar intercalado com ácido 1-naftalenoacético na razão molar de 2:1 na dosagem de $2,7 \times 10^{-2}$ mg/L
ANA+HDL D2	-	Mistura do ácido 1-naftalenoacético puro com o Hidróxido Duplo Lamelar intercalado com ácido 1-naftalenoacético na razão molar de 2:1 na dosagem de $2,7 \times 10^{-3}$ mg/L
ANA+HDL D3	-	Mistura do ácido 1-naftalenoacético puro com o Hidróxido Duplo Lamelar intercalado com ácido 1-naftalenoacético na razão molar de 2:1 na dosagem de $2,7 \times 10^{-4}$ mg/L
ANOVA	-	Análise de variância
ASE	-	Área superficial específica
ATG	-	Análise termogravimétrica
ATP	-	Trifosfato de adenosina
BET	-	Teoria de adsorção multimolecular de gases tratada pelo método desenvolvido por Brunauer, Emmet e
cAMP	-	Monofosfato cíclico de adenosina
CC	-	Crescimento de culturas
CCC	-	Cloreto de cloro colina
CG-MS	-	Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de
CHN	-	Carbono, hidrogênio e nitrogênio
C.O.	-	Carbono orgânico
CpC	-	Coprecipitação a pH constante
CpV	-	Coprecipitação a pH variável
CRP	-	Campus de Rio Paranaíba
CTAB	-	Brometo de N-cetil-N,N,N-trimetilamônio
Co-Fe-Cl	-	Hidróxido Duplo Lamelar de cobalto e ferro intercalado com cloreto
Cu-Cr-Cl	-	Hidróxido Duplo Lamelar de cobre e cromo intercalado com cloreto
DMRT	-	Teste de alcance múltiplo de Duncan
DRXP	-	Difração de Raios X no pó
DSC	-	Calorimetria exploratória diferencial
DTG	-	Termogravimetria derivada
EDS	-	Espectroscopia de energia dispersiva de raios-X

ELISA	- Ensaio de imunoabsorção enzimática
EMBRAPA	- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FAAS	- Espectrofotometria de absorção atômica em chama
FTIR-ATR	- Espectrofotometria de absorção molecular na região do infravermelho com transformada de Fourier e acessório de Reflectância total atenuada
HDL	- Hidróxido Duplo Lamelar
HDL-CO ₃	- Hidróxido Duplo Lamelar intercalado com carbonato
HPLC	- Cromatografia líquida de alta performance
INGLAB-91	- Variedade de semente tolerante a sal
IP3	- Inositol trifosfato
IVG	- Índice de velocidade de germinação
KIN	- Cinetina
LCL	- Laboratório de compostos lamelares
MEV	- Microscopia eletrônica de varredura
Mg-Al-Cl	- Hidróxido Duplo Lamelar de magnésio e alumínio intercalado com cloreto
Mg-Al-CO ₃ -HDL	- Hidróxido Duplo Lamelar de magnésio e alumínio intercalado com carbonato
Mg-Al-HDLs	- Hidróxidos Duplos Lamelares de magnésio e alumínio
MH-97	- Variedade de sementes intolerante a sal
M.O.	- Matéria orgânica
MS	- Massa
M ^I	- Metal monovalente
M ^{II}	- Metal bivalente
M ^{III}	- Metal trivalente
Ni-Al-CO ₃	- Hidróxido Duplo Lamelar de níquel e alumínio intercalado com carbonato
PRPG	- Grupos protetores fotorrevestíveis
RCV	- Reguladores de crescimento vegetal
SAFIRA	- Software de análises de fibras e raízes por imagem
TAL	- Taxa de assimilação líquida
TCR	- Taxa de crescimento relativo
TGA	- Análise termogravimétrica
TGA-DSC-MS	- Análise termogravimétrica acoplada a calorimetria exploratória diferencial e espectrometria de massas
TGA-DSC-Zn ₂ Al-ANA-HDL	- Análise termogravimétrica acoplada a calorimetria exploratória diferencial para o Hidróxido Duplo Lamelar de zinco e alumínio com razão molar entre os cátions de 2:1 intercalado com ácido 1-naftalenoacético
TGA-DSC-Zn ₃ Al-ANA-HDL	- Análise termogravimétrica acoplada a calorimetria exploratória diferencial para o Hidróxido Duplo Lamelar de zinco e alumínio com razão molar entre os cátions de 3:1 intercalado com ácido 1-naftalenoacético

TGA-DSC-Zn ₄ Al-ANA-HDL	-	Análise termogravimétrica acoplada a calorimetria exploratória diferencial para o Hidróxido Duplo Lamelar de zinco e alumínio com razão molar entre os cátions de 4:1 intercalado com ácido 1-naftalenoacético
TGA-MS- Zn ₂ Al-ANA-HDL	-	Análise termogravimétrica acoplada a espectrometria de massas para o Hidróxido Duplo Lamelar de zinco e alumínio com razão molar entre os cátions de 2:1 intercalado com ácido 1-naftalenoacético
TGA-MS- Zn ₃ Al-ANA-HDL	-	Análise termogravimétrica acoplada a espectrometria de massas para o Hidróxido Duplo Lamelar de zinco e alumínio com razão molar entre os cátions de 3:1 intercalado com ácido 1-naftalenoacético
TGA-MS- Zn ₄ Al-ANA-HDL	-	Análise termogravimétrica acoplada a espectrometria de massas para o Hidróxido Duplo Lamelar de zinco e alumínio com razão molar entre os cátions de 4:1 intercalado com ácido 1-naftalenoacético
TRP	-	Triptofano
UV-Vis	-	Análise de ultravioleta visível
ZnAl-ANA-HDLs	-	Hidróxidos Duplos Lamelares de zinco e alumínio intercalados com ácido 1-naftalenoacético
Zn-Al-Cl	-	Hidróxidos Duplos Lamelares de zinco e alumínio intercalados com cloreto
Zn-Al-HDL	-	Hidróxido Duplo Lamelar de zinco e alumínio
Zn-Al-NO ₃	-	Hidróxidos Duplos Lamelares de zinco e alumínio intercalados com nitrato
ZnCrAl-HDLs	-	Hidróxidos Duplos Lamelares de zinco, cromo e alumínio
ZnCr-CO ₃ -HDL	-	Hidróxido Duplo Lamelar de zinco e cromo intercalado com carbonato
Zn-Cr-Cl	-	Hidróxido Duplo Lamelar de zinco e cromo intercalado com cloreto
Zn-Cr-NO ₃	-	Hidróxido Duplo Lamelar de zinco e cromo intercalado com nitrato
Zn ₂ Al-ANA-HDL	-	Hidróxido Duplo Lamelar de zinco e alumínio com razão molar entre os cátions de 2:1 intercalado com ácido 1-naftalenoacético
Zn ₂ Al-CO ₃ -HDL	-	Hidróxido Duplo Lamelar de zinco e alumínio com razão molar entre os cátions de 2:1 intercalado com
Zn ₃ Al-ANA-HDL	-	Hidróxido Duplo Lamelar de zinco e alumínio com razão molar entre os cátions de 3:1 intercalado com ácido 1-naftalenoacético
Zn ₄ Al-ANA-HDL	-	Hidróxido Duplo Lamelar de zinco e alumínio com razão molar entre os cátions de 4:1 intercalado com ácido 1-naftalenoacético
2,4 D	-	Ácido diclorofenoxiacético

1. INTRODUÇÃO

Existe atualmente na agricultura uma preocupação com o desenvolvimento fisiológico dos cultivares. A partir disso, os agricultores vêm utilizando há algumas décadas os Reguladores de crescimento em vegetais (RCVs), mas especificamente as auxinas, como meio de melhorar o desenvolvimento das lavouras.¹ No entanto, a utilização dessa classe de RCVs, as auxinas, está associada a alguns problemas importantes, como a luminosidade, as variações de temperatura e as dosagens que são aplicadas antes ou durante o desenvolvimento das plantas, além do modo de atuação no processo fisiológico de formação dos órgãos nas plantas.²⁻⁷ As aplicações não ocorrem de forma quantitativa, o que prejudica o desenvolvimento homogêneo destes órgãos. Isso acontece porque cada órgão da planta necessita de uma quantidade específica da auxina para alcançar o ápice da sua promoção.⁸ Desse modo a intercalação desta classe de hormônios em matrizes inorgânicas hospedeiras se apresenta como uma forte justificativa para minimizar ou até mesmo resolver os problemas supracitados.

Entre as matrizes hospederias que podem ser utilizadas estão os Hidróxidos Duplos Lamelares (HDLs) que são materiais com estrutura bidimensional (2-D), baseada no empilhamento de hidróxido duplo, com estrutura do tipo da brucita, $Mg(OH)_2$, contendo ânions hidratados na intercamada. Estes materiais podem ser descritos pela fórmula geral $[M^{II}_{1-x} M^{III}_x (OH)_2] A^{n-}_{x/n} \cdot mH_2O$, onde M^{II} e M^{III} são cátions metálicos bivalentes e trivalentes, A^{n-} é o ânion intercalado com carga elétrica $n-$ e m denota o número de moléculas de água.⁹⁻¹⁵ A produção do material híbrido orgânico-inorgânico proporciona uma proteção física e química das moléculas intercaladas. Assim, quando estes materiais são aplicados, podem oferecer uma liberação sustentada das moléculas intercaladas, e, ou, uma maior tolerância aos fatores bióticos e abióticos. Algumas moléculas, como o ácido 1-naftalenoacético (ANA) estão entre as principais auxinas que podem ser

intercaladas em HDLs visando melhorar os processos fisiológicos da planta desde a embriogênese até a formação de novos órgãos.¹⁶

A pesquisa sobre a utilização de Hidróxidos Duplos Lamelares (HDLs) intercalados com auxinas para melhorar os parâmetros físico-químicos bem como a fisiologia das plantas se mostra importante. No caso específico do ácido 1-naftalenoacético (ANA) o estudo do mecanismo de ação nas plantas utilizando os HDLs como matrizes de liberação sustentada e por consequência o efeito real para a planta através de bioensaios utilizando filmes poliméricos para revestir as sementes de feijão se apresenta promissor. No entanto ainda não existem trabalhos onde se tenha visto o modo de atuação do ANA através do estudo em bioensaios deste modelo. Atualmente os trabalhos envolvendo essa auxina abrange exclusivamente o processo de síntese, a caracterização e o estudo de liberação *in vitro*.¹⁶ Desta maneira este trabalho teve como principal tema avaliar o comportamento do cultivar feijão (*Phaseolus vulgaris L.*) mediante alguns tratamentos feitos com filmes poliméricos para revestimento de sementes, focado na avaliação do ácido ANA como promotor de crescimento para a planta através de estudos feitos com bioensaios.

1.1. Referencial teórico

1.1.1. Reguladores de crescimento vegetal (Auxinas)

A primeira auxina que se tem conhecimento, o AIA, foi descoberta em 1880 por Darwin, quando ele estudou o fototropismo ou fototaxia, que é o movimento das plantas em relação a estímulos luminosos. O estudo foi realizado utilizando coleóptiles de alpiste (*Phalaris canariensis*) como planta teste. Em 1926, dando sequência aos estudos de Darwin, Went conseguiu isolar o AIA. Atualmente, o AIA é considerada a auxina mais importante que ocorre nas plantas, sendo responsável por uma série de fatores que promovem um melhor desenvolvimento fisiológico nas plantas de uma forma geral.⁵

Diferentes tipos de auxinas são conhecidos por melhorarem o crescimento genético das plantas, dentre elas podemos mencionar o AIA, AIB, ANA, ácido 2,4 diclorofenoxiacético (2,4 D), cinetina (KIN), cloreto de cloro colina (CCC) e o ácido abscísico (ABA).⁵ Atualmente, a aplicação dessas auxinas na agricultura tem grande destaque devido às vantagens que proporcionam, como, por exemplo, tempo maior de ação do agente ativo, maior estabilidade desses mesmos agentes ativos no momento da formulação, minimização dos efeitos hídricos e estresses bióticos e abióticos e, além disso, podem controlar a difusão e as taxas de reação, dentre outros parâmetros físico-químicos.⁵

Na literatura existem alguns trabalhos envolvendo o uso das auxinas e HDLs. Bin Hussein et al.¹⁷ intercalaram o ANA em ZnAl-HDLs e fizeram estudo de liberação *in vitro*. Nesse estudo, os autores verificaram que a taxa de liberação do ânion intercalado para a solução foi dependente do valor de pH. Em solução aquosa com valor de pH = 1, a liberação do ANA foi seguida pela formação de uma nova fase de um composto do tipo do mineral zincita (ZnO) no material sólido remanescente. Em soluções neutras ou altamente alcalinas, a liberação do ANA não “destruiu” a estrutura lamelar do HDL nos primeiros 7 dias de experimento.

Li et al.¹⁸ sintetizaram dois nanohíbridos orgânico-inorgânicos de MgAl-HDLs intercalados com ANA e AIB. Neste estudo, os autores avaliaram a influência da temperatura, do pH e do tipo de eletrólito na liberação *in vitro* de ANA e AIB. Segundo os autores, na temperatura de 25 °C, a liberação de ANA e AIB aconteceu de forma rápida nos primeiros 100 min, e em seguida ocorreu uma liberação gradual. Além disso, o aumento na temperatura proporcionou uma maior liberação do ANA e AIB, indicando que o processo de liberação foi endotérmico. Com relação ao pH, as quantidades totais liberadas de ANA e AIB em valores de pH = 4 e 12 foram maiores que as quantidades liberadas em pH = 7. O estudo dos eletrólitos evidenciou que as quantidades de ANA e AIB liberadas dependem do ânion interferente presente na solução aquosa, na ordem de $\text{CO}_3^{2-} \approx$

$\text{SO}_4^{2-} > \text{Cl}^-$. De acordo com os autores, isso ocorre devido à capacidade de troca iônica dos ânions interferentes presentes na solução pelo ANA ou AIB intercalados.

Hafez et al.¹⁹ estudaram a liberação *in vitro* de AG intercalado em MgAl-HDL, em soluções que simulavam o solo. Para este estudo foram utilizadas duas soluções tamponadas com valores de pH = 3 e 7. Os estudos de liberação *in vitro* mostraram que o HDL apresentou uma liberação sustentada de AG nas primeiras 24 h, liberando 80 % do AG intercalado para solução com valor de pH = 7 e 60 % para solução com valor de pH = 3. A liberação do AG permaneceu gradativa durante 6 dias. Quando o equilíbrio foi alcançado, 90 % do AG foi liberado para solução com valor de pH = 7 e 80 % para solução com valor de pH = 3. De acordo com os autores, a estrutura nanohíbrida do MgAl-HDL, foi o principal parâmetro que controlou as propriedades de liberação do AG intercalado para solução. O material apresentou um processo de liberação sustentada com adequação ao modelo cinético de Higuchi.⁷⁹⁻⁸²

Atta et al.²⁰ relataram uma nova técnica para liberação sustentada de auxinas pela luz solar, usando grupos protetores fotorrevestíveis (PRPG), como meio de entrega no cultivo *in vitro* de grão-de-bico (*Cicer arietinum*). Nesse trabalho, os grupos carboxílicos das auxinas do AIA e do ANA foram quimicamente aprisionados usando PRPGs derivados de cumarina. Estudos fotofísicos mostraram que as auxinas aprisionadas exibiram boas propriedades de fluorescência. A irradiação de luz solar no AIA e no ANA, tanto no etanol aquoso como no meio de solo, resultou em uma liberação sustentada das auxinas. Os resultados dos experimentos de bioatividade indicaram que as auxinas aprisionadas apresentaram melhor resultado no crescimento da raiz e comprimento da parte aérea do grão-de-bico, em comparação com as auxinas puras após 10 dias de exposição à luz solar. De acordo com os autores, os resultados indicaram que o uso de PRPG como uma alternativa de entrega para liberação controlada de AIA e ANA, pela ação da luz solar no solo, tem grande

perspectivas para aplicação em campo, uma vez que pode superar a rápida perda destas auxinas em condições ambientais.

Fan, et al.²¹ prepararam microesferas de quitosana carregadas com duas auxinas, o ANA e o AIA, por meio do método de reticulação em emulsão utilizando glutaraldeído como agente reticulador. As microesferas preparadas foram usadas em estudos de liberação *in vitro* em metanol aquoso tamponado (pH = 7,4) e em água. De acordo com os autores, a porcentagem de ANA e de AIA presente nas microesferas foi de 68 % e 56 %, respectivamente. A quantidade das auxinas presentes nas microesferas dependeu da seleção da extensão apropriada do reticulador, do tempo de reticulação e da razão óleo/fase aquosa, usados durante o processo de síntese. Os estudos de liberação *in vitro* revelaram que a taxa de liberação cumulativa das auxinas atinge o máximo (60 %) após cerca de 120 h para o metanol aquoso tamponado com valor de pH = 7,4. Com base nos resultados para o coeficiente de correlação, os autores concluíram que a liberação das auxinas foi controlada por um mecanismo de difusão que segue um esquema de transporte super Case-II.

Rumman Shafi Quaderi et al.²² realizaram um estudo no qual foi avaliado a influência no tratamento de sementes em duas variedades de feijão (*Vigna radiata L.*), semeadas em solo previamente preparado. As variedades utilizadas pelos autores foram a Barimoog-4 e Barimoog-5. As concentrações do AIA utilizadas nos ensaios foram de T1 = Controle (não tratado), T2 = 50 mg/L, T3 = 100 mg/L e T4 = 200 mg/L sendo os testes conduzidos em triplicatas. Para a semeadura foi utilizada uma taxa de sementes de 25 kg·ha⁻¹. O tratamento das sementes aconteceu por embebição na solução de AIA por 3 h. No caso do controle, as sementes foram embebidas apenas em água. O experimento foi realizado durante 55 dias. Os dados coletados foram analisados estatisticamente e os tratamentos médios foram comparados pelo teste de alcance múltiplo de Duncan (DMRT). Os resultados mostram que o tratamento de sementes com 100 mg/L de AIA resultou na maior altura de planta, área de folhas, índice de área de folhas e número de sementes

(7,73). O tratamento de sementes com 200 mg/L de AIA resultou na maior taxa de crescimento relativo (TCR), crescimento de culturas (CC), taxa de assimilação líquida (TAL), matéria seca total, número de vagens por planta (16,30), comprimento (5,59 cm), peso fresco de vagem por planta (13,00 g), peso seco de vagem por planta (9,65 g), peso de 1000 sementes (40,10 g), produção de sementes por planta (4,99 g) e índice de colheita (38,48).

Iqbal, M; Ashraf, M.²³ realizaram um estudo onde determinaram se a preparação de sementes com diferentes concentrações (100, 150 e 200 mg/L) de auxinas AIA, AIB e seu precursor triptofano (TRP) poderia alterar perturbações induzidas por salinidade em concentrações de íons do ácido salicílico e, portanto, o crescimento em cultivares de trigo (*Triticum aestivum L.*). Os autores realizaram os estudos com duas variedades de sementes, a MH-97 (intolerante ao sal) e a Inqlab-91 (tolerante ao sal). As sementes foram embebidas nas soluções com as concentrações supracitadas por um período de 12 h em temperatura ambiente. Os ensaios ocorreram em sala de crescimento utilizando placas de petri e em campo, onde o solo foi tratado com salinidade de 15 dS/m de NaCl. Os resultados mostram que todos os agentes primários, exceto o AIB, aumentaram a porcentagem final de germinação nas duas cultivares. As mudas de cada uma das cultivares criadas a partir de sementes tratadas com TRP apresentaram maior biomassa seca quando submetidas ao estresse salino. Nos experimentos de campo, o tratamento com TRP foi mais efetivo na mediação do aumento do rendimento de grãos, independentemente da cultivar, sob estresse salino. O efeito atenuante do TRP foi associado à redução na absorção de Na⁺ nas raízes e posterior translocação para a parte aérea, bem como ao aumento da partição de Ca²⁺ nas raízes das plantas com estresse salino. Plantas de ambas as cultivares, criadas a partir de sementes tratadas com TRP e AIA, acumularam ácido salicílico livre em suas folhas quando submetidas ao estresse salino. No geral, segundo os autores, a melhoria induzida por iniciadores de TRP na germinação e o crescimento subsequente de plantas de trigo podem estar relacionados com a homeostase dos íons quando estão

sob estresse salino. Com relação à identificação dos reguladores de crescimento vegetal (RCV) nas plantas existem estudos que podem ser feitos, dentre eles:

1.1.2. Bioensaios

Bioensaio é a medida do efeito de uma substância biologicamente ativa, conhecida ou não, em material vivo, cuja resposta é conhecida e é proporcional à concentração sendo comumente testada pela sua aplicação em sistemas vegetais em que se conhece a resposta para aquela classe particular de RCV. Por décadas, os bioensaios foram os principais meios, se não os únicos, para obtenção de informações quantitativas e qualitativas à cerca dos RCV. Para que um bioensaio seja útil, ele precisa atender três critérios principais: *(i)* o sistema deve responder especificamente àquele RCV ou classe de RCV, *(ii)* a resposta deve ser verificada em baixas concentrações do RCV e *(iii)* a magnitude da resposta deve oferecer um relacionamento quantitativo com a concentração do RCV.^{5,6}

O bioensaio precisa ser conduzido de acordo com a classe dos RCV estudada. Assim, se for estudado as auxinas, um teste específico para auxinas precisa ser utilizado. Além disso, toda vez que um RCV ou extrato vegetal é testado, deve-se montar uma curva-padrão com doses conhecidas da substância padrão, por exemplo, ácido 1-naftalenoacético. A Figura 1 relaciona a concentração de auxinas com o crescimento de alguns órgãos das plantas. Nesse caso, o crescimento aumenta com o aumento da concentração da auxina, atingindo um nível ótimo para cada órgão. Concentrações acima ou abaixo do ótimo resultam na redução da taxa de crescimento, ou seja, se a concentração da auxina for muito alta ou muito baixa pode ocorrer inibição do crescimento. Quando este teste é usado para determinar a quantidade de auxinas em um extrato vegetal, deve-se trabalhar na faixa em que resposta é linear.^{5,6}

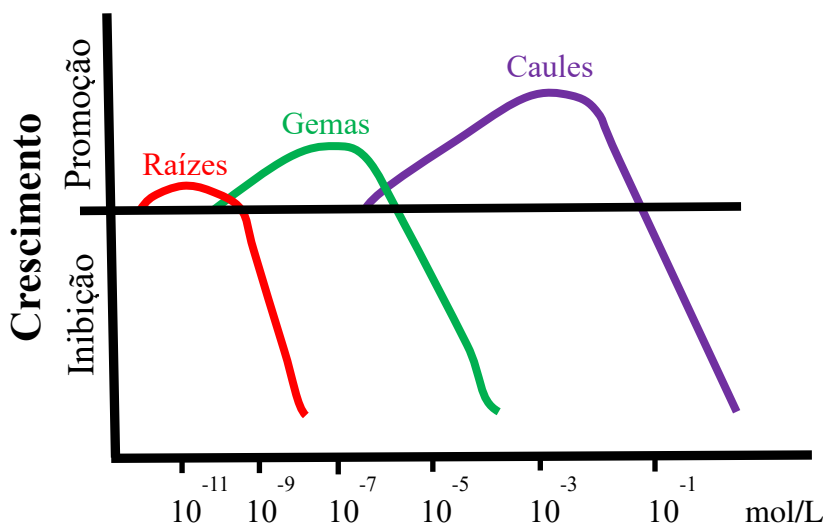


Figura 1: Sensibilidade dos órgãos das plantas diante das concentrações de auxinas.
 Fonte: Adaptado da referência 8.

O uso de bioensaios para testar a atividade dos RCV continua ainda sendo, uma alternativa viável. No entanto, as técnicas que serão mencionadas a seguir, principalmente a análise instrumental e os imunoenaios têm substituído quase que totalmente os bioensaios nas análises de rotina.

1.1.3. Análise instrumental

Na segunda metade do século XX, o desenvolvimento da química analítica e da análise instrumental, permitiu aos investigadores obter maiores avanços na pesquisa envolvendo a quantificação e/ou determinação de RCV em plantas. Técnicas, como a Cromatografia Líquida de Alta Performance (HPLC) e a Cromatografia Gasosa em conjunto com a Espectrometria de Massa (CG-MS), têm tornado possível a análise quantitativa dos RCV com velocidade, sensibilidade e precisão.²⁴

Além dos bioensaios e da análise instrumental, outra técnica que tem ganhando considerável importância para a análise de auxinas é o imunoensaio, incluindo radioimunoenensaio e o ensaio de imun absorção enzimática, conhecido como teste ELISA.²⁴

1.2. Mecanismo geral de ação das auxinas

O mecanismo geral de ação das auxinas é baseado no modelo de extrusão de H^+ induzido por AIA. O mecanismo acontece através de duas hipóteses, a hipótese de ativação e a hipótese de síntese. Na hipótese de ativação, a auxina liga-se a uma proteína de ligação de auxina, localizada na superfície celular ou no citosol. O complexo ABP1-AIA interage diretamente com a H^+ -ATPase da membrana plasmática para estimular o bombeamento de prótons. Mensageiros secundários como o cálcio ou o pH intracelular, podem também estar envolvidos.⁵

Na hipótese de síntese, os mensageiros secundários induzidos por auxina ativam a expressão de genes que codificam a síntese da H^+ -ATPase da membrana plasmática. A proteína é sintetizada no retículo endoplasmático rugoso e enviada para a membrana pela via secretora. O aumento da extrusão de prótons é o resultado do aumento do número de bombas de prótons na membrana.⁵

A resposta final de cada célula após essa sequência de eventos depende de dois principais fatores: (I) seu programa de desenvolvimento, isto é, os tipos de genes que estão sendo expressos no tempo de exposição ao sinal e (II) a concentração de outras moléculas de sinalização (mensageiros secundários). Dependendo da velocidade da resposta, as vias de transdução de sinal podem provocar ou não alterações na expressão gênica. Em alguns casos, a resposta envolve alteração na atividade de enzimas pré-existentes ou na abertura de canais de íons. Em outros casos, a resposta envolve a ativação ou inibição de fatores de transcrição, os quais alteram a expressão gênica.^{5,6,24}

Neste trabalho, para avaliar a atividade biológica da classe dos RCV conhecida como auxinas, foram realizados bioensaios usando o ANA e o feijão (*Phaseolus vulgaris L.*) como planta teste, via tratamento de sementes usando filmes poliméricos avaliando todos os sistemas vegetais onde se obteve resposta fisiológica significativa. De acordo com o exposto na seção 1.1.2 foi necessário realizar um pré-ensaio (seção 3.2.5) da concentração da auxina, ANA, visando descobrir

qual seu ponto ótimo de ação com melhor resposta fisiológica de acordo com as concentrações avaliadas.

1.3. Aplicação das auxinas

Existem várias técnicas de utilização de auxinas na agricultura: Aplicação direta no solo, pulverização e, mais recentemente, tem se desenvolvido uma técnica muito promissora empregando matrizes carregadoras. Dentre as matrizes carregadoras estudadas podemos citar a utilização de polímeros, nanopartículas de sílica porosa e Hidróxidos Duplos Lamelares (HDLs).^{16-18,25-28}

1.4. Feijão (*Phaseolus vulgaris* L.)

Neste trabalho, a planta objeto de estudo foi o feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). Ela pertence ao reino plantae, filo magnoliophita, classe magnoliopsida, ordem fabales, família fabaceae, gênero phaseolus e a espécie *Phaseolus vulgaris* L.. O feijão é distribuído geograficamente em todo o mundo, tendo seu habitat em ambientes quentes e úmidos possuindo uma longevidade anual. Quanto às características físicas, é uma planta terrestre que produz inflorescência cujo fruto é uma vagem e o tamanho é condicionado ao cultivar.²⁹⁻³¹

1.5. Ácido 1-naftalenoacético (ANA)

Neste trabalho foi estudado o ANA, utilizando como matriz hospedeira HDLs de zinco e alumínio. O ANA é um regulador de crescimento vegetal sintético pertencente à classe das auxinas não ocorrendo naturalmente. Ele é utilizado para controlar a queda de frutos pré-colheita, indução de flores e adelgaçamento de frutos em diversas culturas, como maçãs, batatas, azeitonas e frutas cítricas. Atua como agente de enraizamento e também é utilizado para a propagação vegetativa de plantas de caule e corte de folhas, além de ser usado para cultura de tecidos vegetais.^{5,6}

O ANA é uma auxina encontrada na forma de um pó sólido, de cor branca e inodoro. Apresenta ponto de ebulição (P.E.) = 135 °C e se decompõe com o passar do tempo. Apresenta solubilidade em água de 420 mg/L (em 20 °C) e uma constante de dissociação (pKa) = 4,23.^{32,33} A fórmula estrutural do ANA é apresentada na Figura 2.

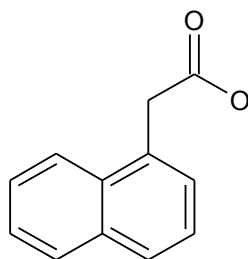


Figura 2: Representação estrutural do ANA utilizado.

A matriz carregadora de ANA que foi utilizada neste trabalho foram os Hidróxidos Duplos Lamelares (HDLs).

1.6. Hidróxidos Duplos Lamelares (HDLs)

A estrutura dos HDLs é baseada no empilhamento de hidróxido duplo contendo ânions hidratados na intercamada. Tendo como objetivo a liberação sustentada de hormônios para crescimento de plantas, os HDLs surgem como uma alternativa interessante, pois apresentam propriedades específicas como a blindagem da molécula intercalada e capacidade de liberação lenta da auxina via troca aniônica.⁹⁻¹⁵

Os HDLs possuem camadas com estrutura do tipo da brucita, $Mg(OH)_2$, que possui lamelas neutras e os cátions magnésio localizados no centro dos octaedros que compartilham arestas entre si, sendo que seus vértices são constituídos de ânions hidroxila. Quando se produz o HDL, há uma substituição de alguns cátions bivalentes por trivalentes nas camadas, obtendo-se uma lamela com excesso de cargas positivas. Para haver um equilíbrio na estrutura, já que há um excesso de cargas

positivas, estas lamelas precisam da presença de ânions interlamelares que juntamente com moléculas de água, promovem o empilhamento do hidróxido duplo.¹⁰ A estrutura dos HDLs está representada na Figura 3:

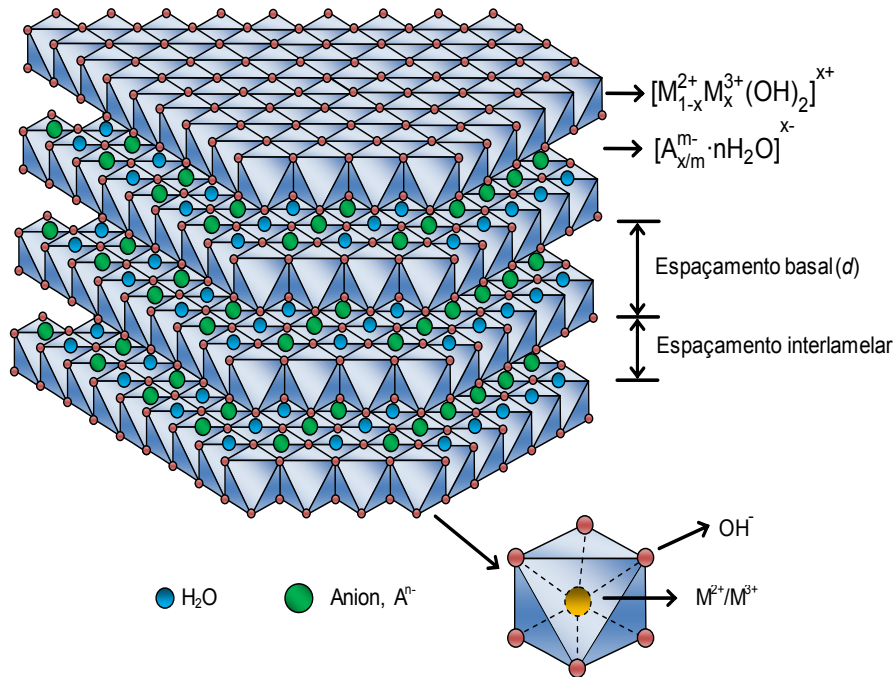
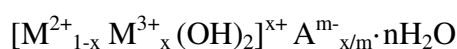


Figura 3: Representação esquemática da estrutura de um HDL. [12]

O domínio interlamelar dos HDLs apresenta uma natureza desordenada. As características físicas, como propriedades de troca iônica, mudanças no estado desordenado e propriedades elétricas corroboram para este estado. Alguns autores consideram o domínio interlamelar como um estado quase líquido.³⁴ Os HDLs são classificados em dois tipos de sistemas cristalinos, que distinguem na sequência de empilhamento das lamelas: o sistema romboédrico, com o “*c*” da célula hexagonal sendo igual a três vezes o espaçamento basal, sendo do grupo espacial R3m e o sistema hexagonal com “*c*” igual a duas vezes o espaçamento basal, pertencendo ao grupo espacial P6₃mmc.³⁵⁻³⁸

Um dos estudos mais importantes sobre a cristalografia dos HDLs foi realizado por Allmann³⁶, que determinou a estrutura da piroaurita (Mg₆Fe₂(OH)₁₆CO₃·4H₂O). Neste trabalho, o

autor descreve uma célula unitária hexagonal com “a” = 3,109 Å e “c” = 23,410 Å. O valor de “c” encontrado correspondeu a três vezes a distância entre duas camadas adjacentes. O composto supracitado foi classificado como pertencente ao sistema cristalino romboédrico e ao grupo espacial R3m. O fator anisotrópico elevado encontrado para este HDL ($B_{11} = 31 \text{ \AA}$) confirma o grau de desordem do domínio interlamelar. Os HDLs são representados pela seguinte fórmula geral:



sendo: M^{2+} representa um cátion metálico bivalente,

M^{3+} representa um cátion metálico trivalente,

A^{m-} representa um ânion intercalado com carga m-.

1.7. Síntese dos HDLs

Existem vários métodos que foram desenvolvidos e vêm sendo empregados na síntese de HDLs. Apesar de serem difíceis de encontrar na natureza, a síntese de HDLs em escala laboratorial é simples e economicamente viável. Os processos de síntese de HDLs podem ser escolhidos em função da composição requerida e dispostos em duas categorias: i) *métodos diretos* (método sal-base, métodos sal-óxido, síntese hidrotérmica, hidrólise induzida, síntese eletroquímica, método sol-gel)^{13,17,20,22,59} e ii) *métodos indiretos*: (método de troca iônica em solução, troca iônica em meio ácido, troca iônica por regeneração do precursor calcinado e troca aniônica com a formação de um sal entre os tensoativos).^{10,41-44}

Diferentes combinações de cátions bivalentes e trivalentes podem ser utilizadas para a síntese de HDLs. Mesmo a natureza impondo algumas restrições com relação a essas combinações, algumas foram testadas e produziram HDLs. Essas combinações são mostradas na Tabela 1.

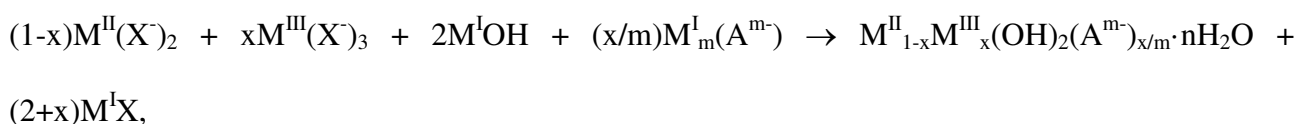
Tabela 1: Combinações de cátions M^{II} com M^{III} que formam HDLs.

Cátions Bivalentes	Trivalentes								
	Al	Co	Cr	Fe	Ga	Mn	Ni	Sc	Ti ^{**}
Ca	x								
Co	x	x							x
Cu	x		x						
Fe	x			x					
Li [*]	x								
Mg	x		x	x				x	
Mn	x				x	x			
Ni	x	x	x	x			x		
Zn	x		x						

* monovalente, ** tetravalente, M^{II} metal bivalente, M^{III} metal trivalente.

Fonte: Adaptado da referência 35.

Sabendo que os cátions Zn e Al formam HDLs e que o método direto de obtenção mais utilizado é o de coprecipitação ou método sal-base, o mesmo foi escolhido para sintetizar os materiais produzidos neste trabalho. Existem vários trabalhos na literatura que usam este método aplicando duas formas distintas: coprecipitação em pH variável (CpV) e coprecipitação em pH constante (CpC).^{10,14,35,41,45} Durante o processo de síntese ocorre a seguinte reação química:



sendo: M^I: Cátion monovalente (K⁺ ou Na⁺), e X⁻: Ânion (NO₃⁻, ClO₄⁻, Cl⁻).

O método de CpV pode ser realizado de duas maneiras diferentes: com pH crescente ou pH decrescente. O método de CpV com pH crescente é realizado por meio da titulação de uma solução básica, geralmente NaOH e, ou, Na₂CO₃, contendo o ânion de interesse a ser intercalado, sobre uma solução dos cátions. O método de CpV com pH decrescente consiste na adição de uma solução contendo os cátions bivalente e trivalente sobre uma solução contendo hidróxido e o ânion a ser intercalado. É um método simples com excelentes resultados na produção de HDLs cristalinos e

com pureza de fase.¹⁰ Isso pode ser observado na Tabela 2, que mostra as faixas ótimas de pH para a obtenção de alguns HDLs.

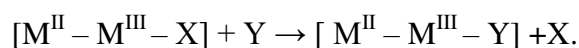
Tabela 2: Faixas ótimas de valor de pH para formação de HDLs.

HDLs	Faixas de pH
Ni-Al-CO ₃	5,0 até 10,0 (HDL)
Mg-Al-Cl	8,0 até 10,5 (HDL cristalino)
Co-Fe-Cl	7,5 até 9,0/10,0 até 10,5 (HDL)
	9,0 até 10,0 (HDL cristalino)
Zn-Al-Cl	6,0 até 7,0/9,0 até 10,0 (HDL)
	7,0 até 9,0 (HDL cristalino)
Cu-Cr-Cl	6,0 até 9,5 (HDL)
	5,5 até 6,0 (HDL cristalino)
Ni-Cr-Cl	5,5 até 10,5 (HDL)
	10,5 até 11,5 (HDL cristalino em condições enérgicas)
Zn-Cr-Cl	5,7 até 10,0 (HDL)
	4,5 até 5,7 (HDL cristalino)

Fonte: Adaptado da referência 9.

Além do método de síntese por coprecipitação ou método sal-base, existem outros menos utilizados, como, por exemplo, método sal-óxido^{10,35,46}, método sol-gel^{47,48}, método de síntese hidrotérmica^{13,49}, método de síntese por hidrólise induzida⁵⁰ e o método de síntese eletroquímica.^{51,52}

Existem também os métodos de síntese indiretos envolvendo a substituição do ânion interlamelar. Na utilização de qualquer método de substituição é de fundamental importância um estudo mais detalhado do ânion a ser intercalado, para conhecer sua capacidade de estabilizar a estrutura dos HDLs. Em seus estudos Miyata⁵² mostrou como são classificados os ânions inorgânicos com base na estabilização da estrutura lamelar dos HDLs: CO₃²⁻ > OH⁻ > F⁻ > Cl⁻ > SO₄⁻ > Br⁻ > NO₃⁻ > I⁻. A equação do processo é:



Existem diversos métodos de síntese indireta para obtenção de HDLs, dentre eles: Método de síntese por troca aniônica em solução¹³, troca aniônica por regeneração de um precursor calcinado^{10,40,41,54}, troca aniônica em meio ácido^{53,54} e a troca aniônica em fase dupla.^{39,42,55} Durante a síntese de HDLs alguns fatores são importantes. Estes fatores são apresentados a seguir.

1.8. Fatores importantes para a síntese

1.8.1. Cátions

Durante a síntese, alguns fatores relacionados aos cátions influenciam na formação dos HDLs, são eles: (i) diferença entre os raios iônicos dos cátions; (ii) número de coordenação; (iii) tamanho da esfera de coordenação e (iii) energia de retículo.

1.8.2. Estabilização da estrutura lamelar pelo ânion intersticial

Este fator é importante porque dependendo do pH da síntese, o ânion de interesse não será intercalado de “forma correta”, ou, pode ainda não sofrer intercalação. Quanto mais estáveis forem os ânions a serem intercalados mais cristalinos serão os HDLs produzidos.^{9,10}

1.8.3. Velocidade de adição

Este fator também é importante para produzir HDLs com alta cristalinidade. Mesmo a literatura não apresentando muitos trabalhos específicos sobre esse fator, nota-se que a síntese com uma velocidade mais lenta de adição sob forte agitação produz materiais com uma cristalinidade melhor.^{9,10}

1.8.4. Tratamento Hidrotérmico

A realização de um tratamento hidrotérmico pode aumentar a cristalinidade dos HDLs. Além de melhorar a cristalinidade do material, o tratamento hidrotérmico pode também aumentar a eficiência quanto à substituição do ânion interlamelar por um precursor calcinado.^{13,55,58,59}

1.9. Propriedades dos Hidróxidos Duplos Lamelares

1.9.1. Estabilidade térmica

A análise termogravimétrica (TGA) é a técnica de análise usada para avaliar a estabilidade térmica dos HDLs. As faixas de temperaturas onde os HDLs se decompõem, dependem de alguns fatores, dentre eles:^{59,60}

- A natureza dos cátions e do ânion usados durante a síntese;
- Modo de preparação dos HDLs;
- Temperatura, tempo e tipo de gás utilizado no tratamento térmico;
- Velocidade de aquecimento durante o processo de calcinação;
- Presença de impurezas devido aos resíduos provenientes do passo de precipitação.

A decomposição térmica desses materiais normalmente segue a seguinte sequência de etapas:^{10,60}

- i) Perda de água adsorvida (25 °C até 100 °C);
- ii) Perda de água de hidratação (100 °C até 200 °C);
- iii) Desidroxilação por condensação, formação de água e decomposição do ânion intercalado (300 °C a 500 °C);
- iv) Decomposição dos grupos hidroxilas restantes (600 °C até 700 °C).

Após a calcinação, dependendo das condições utilizadas, se obtém como produtos, um espinélio ($M^{II}M^{III}_2O_4$) e o óxido do metal bivalente ($M^{II}O$). Para se analisar a decomposição dos ânions interlamelares cada caso deve ser observado de forma particular. Lal³⁴ estudou a decomposição térmica de uma série de HDLs do sistema Zn-Cr-A^{m-}-HDL e constatou que para a série de HDLs dos sistemas ZnCr-CO₃-HDL e ZnCr-NO₃-HDL, a temperatura de decomposição

dos ânions CO_3^{2-} foi próxima de 300 °C. Já para o sistema MgAl- CO_3 -HDL, de acordo com Reichle¹³, a decomposição do ânion CO_3^{2-} ocorreu entre as temperaturas de 300 °C e 500 °C.

A estabilidade térmica dos ânions interlamelares não sofre muita influência dos cátions que constituem a lamela. Entretanto, é notado que a densidade de carga da lamela pode ter influência na decomposição. Este fato é atribuído ao aumento da interação eletrostática entre as lamelas e o ânion.^{58,62}

1.9.2. Troca iônica

Os primeiros estudos sobre essa propriedade foram realizados por Miyata e Kumara.⁵² Esta propriedade é muito importante quando nos referimos a formação de novos HDLs por meio da troca do ânion interlamelar. A troca aniônica depende da proporção entre os cátions e também da relação entre a carga e o raio dos ânions envolvidos na síntese. Nesse caso, a capacidade de troca dificilmente excede 2,0 mmol.g⁻¹.^{63,64}

1.9.3. Área superficial e tamanho de poros

A capacidade de adsorção depende da área superficial específica e do tamanho de poros dos HDLs. Reichle¹⁵ em seus estudos encontrou para o sistema MgAl- CO_3 -HDLs, uma área superficial de até 200 m²/g, dependendo da temperatura usada no tratamento hidrotérmico. Com relação à porosidade, o autor encontrou valores de poros com diâmetro de até 300 Å, sem aquecimento. Quando o sistema de síntese foi aquecido ocorreu uma redução de 7,5 vezes no diâmetro dos poros. Os valores supracitados são bastante altos não ocorrendo com frequência em materiais sintetizados. Os valores mais comuns de área superficial específica para HDLs ocorrem na faixa de 50 m²/g até 100 m²/g. Quando o ânion intercalado é orgânico essa faixa tende a diminuir devido a adsorção destes ânions na superfície do material.^{63,64}

1.9.4. Domínios eletroquímicos

Estudos realizados em HDLs contendo zinco, cromo e alumínio mostraram que a condutividade elétrica depende da mobilidade dos ânions intercalados. Além disso, foi confirmado que a condutividade é totalmente distinta da ordem analisada para a afinidade dos ânions pelas lamelas e depende da relação entre a carga e o raio dos ânions, bem como da sua geometria.^{34,40} Alguns valores de condutividade encontrados na literatura são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3: Condutividade de materiais do sistema ZnCrAl-HDLs (a partir do pó) de acordo com o ânion intercalado.

Ânion	Condutividade/S·cm ⁻¹
F ⁻	7x10 ⁻⁶
Cl ⁻	3x10 ⁻⁴
Br ⁻	1x10 ⁻⁴
I ⁻	8x10 ⁻⁵
CO ₃ ²⁻	5x10 ⁻⁵
NO ₃ ⁻	3x10 ⁻⁶
OH ⁻	6x10 ⁻⁴

Fonte: Adaptado da referência 40.

1.10. Aplicações dos Hidróxidos Duplos Lamelares

Devido à diversidade de combinações possíveis entre cátions e ânions, os HDLs apresentam propriedades estruturais, químicas e físicas que lhes conferem, assim como aos seus produtos de decomposição térmica, uma gama de aplicações em áreas diversificadas.⁴⁰ Algumas das principais áreas de aplicação dos HDLs são mostradas na Figura 4.

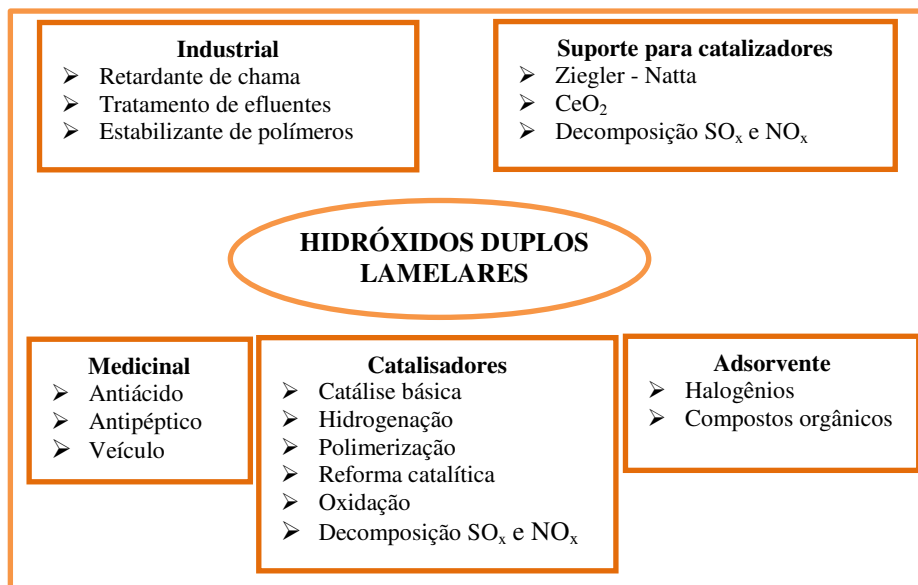


Figura 4: Algumas das principais áreas de aplicação dos HDLs.
 Fonte: Adaptado da referência 9.

Além das áreas mencionadas, os HDLs também são utilizados na agricultura e na área de alimentos, em ambos os casos como carregadores de substâncias de interesse. Na agricultura, a intercalação de moléculas fisiologicamente ativas (auxinas) em HDLs é um campo bastante promissor, devido à necessidade da planta de uma concentração de auxina exata para que possa alcançar o ápice do seu desenvolvimento. O HDL como matriz hospedeira pode ser desejável, pois poderá proporcionar uma liberação sustentada (concentração gradual em função tempo) da auxina. Além disso, existem outros efeitos importantes que devem ser mencionados. São eles:

- Aumento da estabilidade química das auxinas frente à luz e a temperatura;
- A liberação sustentada pode manter a concentração da auxina em níveis desejados por um período maior de tempo;
- A superfície da matriz do HDL pode ser modificada para evitar liberação de espécies indesejadas para a planta e promover liberação sustentada da auxina;
- Aumento da estabilidade da auxina frente à decomposição no transporte até a célula da planta diminuindo possíveis efeitos colaterais.

A utilização de HDLs como matrizes para liberação sustentada de auxinas é um “cenário” novo. Estudos reportados na literatura mostram a realização da síntese de HDLs intercalados com auxinas, bem como a caracterização dos materiais produzidos e testes de liberação *in vitro*. No entanto, a realização de bioensaios em escala laboratorial e de campo não é comumente reportado. Partindo deste ponto, o presente trabalho apresenta a síntese e caracterização de ANA intercalado em HDLs de zinco e alumínio, a realização de ensaios de liberação *in vitro* e de maneira inédita bioensaios realizados com feijão tanto em escala de campo como laboratorial.

2. OBJETIVOS

O presente trabalho teve como objetivos:

- 1 – Sintetizar HDLs de zinco e alumínio intercalados com ANA usando três diferentes proporções molares entre os cátions Zn:Al = 2:1, 3:1 e 4:1;
- 2 – Caracterizar os HDLs produzidos por diferentes técnicas de análises, dentre elas: Difração de Raios X no Pó (DRXP), Espectrofotometria na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier e Acessório de Reflectância Total Atenuada (FTIR-ATR), Análise Termogravimétrica Acoplada à Calorimetria de Varredura Diferencial e Espectrometria de Massas (TGA-DSC-MS), Área Superficial Específica (ASE), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Análise Elementar.
- 3 – Realizar estudos de liberação *in vitro* dos HDLs sintetizados, monitorando a quantidade de ANA liberado nas soluções em função do tempo;
- 4 – Realizar bioensaios com sementes de feijão encapsuladas com filmes de alginato de sódio contendo Zn₂Al-ANA-HDL. Os bioensaios foram realizados em dois ambientes diferentes: (i) laboratório usando caixas minirhizotron com ágar e (ii) casa de vegetação usando vasos com solo;

5 – Realizar testes de porcentagem de germinação e índice de velocidade de germinação (IVG) usando bandejas com areia.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Reagentes

Todos os reagentes utilizados neste trabalho apresentavam grau analítico e foram usados sem purificação prévia. Os reagentes empregados, assim como suas fórmulas moleculares e origem, são exibidos no Apêndice A. A água utilizada nos procedimentos de síntese, tanto no preparo das soluções, quanto na lavagem do material pós-síntese foi fornecida por um sistema MilliQ[®]. Reagentes higroscópicos, como os nitratos dos cátions bi e trivalentes foram previamente secos em dessecador sob pressão reduzida na presença de sílica gel ativada.

3.2. Experimental

3.2.1. Síntese dos HDLs intercalados com ANA

As amostras de ZnAl-ANA-HDLs foram sintetizadas utilizando o método de CpC. Para a síntese do Zn₂Al-ANA-HDL, 0,03 L de uma solução contendo $3,84 \times 10^{-3}$ mol de Zn(NO₃)₂ e $1,92 \times 10^{-3}$ mol de Al(NO₃)₃ foram lentamente adicionados sob 0,15 L da solução contendo $9,60 \times 10^{-3}$ mol de ANA. A solução foi mantida a pH constante (pH = $9,5 \pm 0,5$) pela adição gota a gota de uma solução de NaOH 1,0 mol/L. Durante a síntese, o sistema foi mantido sob agitação constante e atmosfera de N₂. O sólido resultante da síntese foi lavado sucessivas vezes com H₂O e seco em dessecador sob pressão reduzida na presença de sílica gel ativada. O processo de síntese do Zn₃Al-ANA-HDL e do Zn₄Al-ANA-HDL foi similar ao supracitado sendo alterado somente o número de mols do cátion bivalente para $5,76 \times 10^{-3}$ mol e $7,68 \times 10^{-3}$ mol, respectivamente.

3.2.2. Síntese do HDL intercalado com carbonato

A amostra de Zn_2Al-CO_3 -HDL foi sintetizada utilizando o método CpC. Para a síntese, 0,25 L de uma solução contendo $3,54 \times 10^{-2}$ mol de $Zn(NO_3)_2$ e $1,77 \times 10^{-2}$ mol de $Al(NO_3)_3$ foi preparada. Preparou-se também 0,25 L de uma solução contendo $7,03 \times 10^{-2}$ mol de Na_2CO_3 . A solução contendo carbonato foi adicionada sob agitação a 1 L de água até o pH ficar com valor igual 10. Em seguida, a solução contendo os cátions foi gotejada lentamente (~ 1 gota $\cdot s^{-1}$) sobre a solução contendo o ânion carbonato. A mistura reacional foi mantida a pH constante ($pH = 10 \pm 0,5$) pelo gotejamento de uma solução de NaOH 1,0 mol/L. Durante a síntese, o sistema foi mantido sob agitação constante. Finalizado o processo de síntese, todo o meio reacional ficou em repouso por 12 h. O sólido resultante da síntese foi centrifugado e seco em dessecador sob pressão reduzida na presença de sílica gel ativada. O processo de síntese descrito foi adaptado de Reichle¹³ e Miyata.⁵²

3.2.3. Determinação das quantidades de Zn e Al nos HDLs

Para a determinação das quantidades de Zn e Al presentes nos HDLs foi utilizado a análise por Espectrofotometria de Emissão Atômica por Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-OES). A abertura das amostras de HDLs foi realizada do seguinte modo: 0,5 g dos HDLs foram pesados e adicionados a uma mistura contendo 5×10^{-3} L de HNO_3 (14 mol/L) e $2,5 \times 10^{-2}$ L de água deionizada. A suspensão formada foi misturada durante 1 h com agitação recíproca de 60 rpm, o extrato foi filtrado em papel de filtro quantitativo e em seguida analisadas por ICP-OES.

3.2.4. Determinação da quantidade de ANA contida nos HDLs

Para determinar a quantidade de ANA intercalado nos HDLs, foi utilizada a Espectrofotometria na região do ultravioleta visível (UV-Vis). Para esta análise foi construída uma curva analítica a partir de uma solução de ANA com concentração de 100 mg/L. As concentrações

utilizadas para construção da curva padrão foram: 0, 10, 20, 30, 40, 50 e 60 mg/L de ANA. O processo de determinação descrito foi adaptado da referência 19.

3.2.5. Preparo do o da concentração de ANA

Sabendo que cada órgão da planta reage de maneira diferente a concentração de auxina aplicada, podendo inibir ou promover o crescimento dependendo da quantidade da auxina aplicada e como na literatura existe falta de informação sobre a concentração “ideal” de ANA onde a raiz do feijão chegaria ao ápice do seu crescimento, foi realizado um pré-ensaio para encontrar a concentração adequada de ANA a ser utilizada nos estudos de liberação *in vitro* e também nos bioensaios.

Para a realização do pré-ensaio foram usadas caixas minirhizotron (15 cm x 15 cm) e papel germitest com o ANA nas concentrações: 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2} , 10^{-1} ; 0 e 10^1 mg/L. O experimento foi conduzido em triplicata sendo cada repetição realizada com 10 sementes de feijão. O papel germitest usado foi previamente esterilizado a 200 °C por 2 h. Foi avaliado o comprimento das raízes e da parte aérea das plântulas durante 15 dias.

3.2.6. Preparação do estudo cinético in vitro de ANA

A liberação *in vitro* do ANA puro e intercalado no Zn_2Al -ANA-HDL foi realizada a partir de soluções aquosas com três valores diferentes de pH (4, 7 e 10). O controle do pH das soluções, durante a execução dos experimentos, foi realizado por meio da adição de soluções de HNO_3 (0,15 mol/L) e $NaOH$ (0,10 mol/L) nas suspensões de ANA puro e intercalado (Zn_2Al -ANA-HDL). As suspensões contendo ANA foram preparadas adicionando-se $1,0 \times 10^{-2}$ mg de ANA em 0,1 L de H_2O . As suspensões contendo Zn_2Al -ANA-HDL foram preparadas adicionando-se $2,7 \times 10^{-2}$ mg do HDL em 0,1 L de H_2O . Assim, para efeito de comparação, as quantidades de ANA utilizadas nos experimentos foram normalizadas.

As suspensões formadas foram mantidas sob agitação recíproca de 80 rpm e temperatura de 25 °C por 24 h. Os experimentos foram realizados em triplicatas. Durante o processo de liberação, alíquotas de $5,0 \times 10^{-3}$ L das suspensões eram retiradas em intervalos de tempos pré-determinados e filtradas em papel de filtro quantitativo. Em seguida, os valores de pH eram verificados e se necessário ajustados como descrito acima. O valor retirado nas alíquotas foi repostado mantendo o volume constante. A quantidade de ANA liberada nas suspensões foi medida por Espectrofotometria UV-Vis.^{17,19}

3.2.7. Preparação dos filmes poliméricos para revestimento das sementes

Os géis utilizados na formação dos filmes para revestir as sementes de feijão foram preparados diluindo-se o alginato de sódio no volume de água e de suspensões com as concentrações mencionadas na tabela 4 durante 2 h. Em seguida as sementes foram imersas nos géis formados e posteriormente em uma solução de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 5,0 % durante 10 segundos, para formação dos filmes. Para que os filmes fossem homogêneos, as sementes foram secas a 25 °C por um período de 2 h antes de serem utilizadas nos bioensaios. A composição dos filmes é mostrada na Tabela 4.

Tabela 4: Composição dos filmes poliméricos.

Filmes	Alginato (mg)	V (L)	[Zn ₂ Al-CO ₃ -HDL] (mg/L)	[ANA] (mg/L)	[Zn ₂ Al-ANA-HDL] (mg/L)
M1	500	0,025	---	---	---
M2	500	0,025	$1,0 \times 10^{-3}$	---	---
M3	500	0,025	---	$1,0 \times 10^{-3}$	---
M4	500	0,025	---	---	$2,7 \times 10^{-3}$

3.2.8. Preparação do bioensaio em ágar

O experimento foi realizado em caixas minirhizotron com capacidade de 1 L. Foram testados 5 tratamentos com 4 repetições sendo 15 dias de cultivo. Nesse experimento, as sementes foram pré-tratadas como descrito na seção 3.2.7 e logo depois imersas no ágar. Em cada caixa

foram colocadas 3 sementes. O experimento foi preparado do seguinte modo: Foram pesados 8 g de ágar com 4 g de solução nutritiva de sais minerais (descrita no Apêndice A) para cada repetição do experimento independente do tratamento. Em seguida, foi adicionado 1 L de água em cada mistura pesada sendo a mistura aquecida em forno de micro-ondas por 15 min para a dissolução completa. Por fim, a mistura foi resfriada em banho de gelo até adquirir consistência de gel.

3.2.9. Preparação do bioensaio em casa de vegetação usando vasos com solo

Este bioensaio incluiu 5 tratamentos com 4 repetições sendo 30 dias de cultivo. O método de plantio nos vasos com solo é descrito a seguir: Inicialmente foram colocados 3 dm³ de latossolo argiloso em cada vaso. Em seguida foram semeadas 6 sementes de feijão encapsuladas, procedimento descrito na seção 3.2.7, com 3 cm de profundidade. Decorridos 10 dias de cultivo, 4 plantas foram desbastadas ficando duas para análises posteriores. Durante todo o período de cultivo, os vasos foram molhados de acordo com a necessidade. Ao final do período de cultivo, as raízes e a parte aérea de cada planta foram analisadas.

3.2.10. Estudo da porcentagem de germinação e do índice de velocidade de germinação (IVG)

Os testes de germinação foram conduzidos à temperatura de 25 °C. As sementes de feijão foram desinfestadas com solução de hipoclorito de sódio 2,5 %, durante 2 min e lavadas com água deionizada. Após o revestimento das sementes com os filmes poliméricos descritos na seção 3.2.7, a semeadura foi realizada à profundidade de 3 cm em bandejas com areia. O número de sementes germinadas foi avaliado diariamente durante 15 dias, adotando-se como critério de germinação a emergência dos cotilédones, com o consequente surgimento do hipocótilo.⁶⁷ O cálculo do IVG foi realizado por meio da fórmula descrita por Maguire⁶⁸, apresentada na seção 3.4.

A seguir são apresentadas as técnicas utilizadas para a caracterização dos materiais produzidos.

3.3. Caracterização estrutural dos HDLs

Os HDLs foram caracterizados usando diversas técnicas sendo que as análises de DRXP foram realizadas em um difratômetro de raios X Shimadzu modelo XRD-6000. A radiação utilizada foi de Cu-K α_1 com $\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$. O potencial e a corrente da fonte foram de 40 kV e 40 mA, respectivamente. Todos os difratogramas foram obtidos em uma faixa de varredura (2θ) de 2 a 70°, com um passo de 0,02° a cada segundo.

Para as análises de FTIR-ATR foi utilizado um espectrofotômetro Jasco modelo FTIR 4100. Todos os espectros foram obtidos com 60 varreduras, sendo a faixa de comprimento de onda variando de 4000 a 400 cm^{-1} .

As quantidades dos metais Zn e Al nos HDLs foram determinadas por ICP-OES em um equipamento PerkinElmer, modelo Optima 8300.

A quantidade de ANA existente nos HDLs foi determinada por UV-Vis, utilizando $\lambda_{\text{max}} = 280 \text{ nm}$. O equipamento utilizado foi um Thermo Scientific modelo Evolution 300.

A morfologia dos HDLs foi analisada por meio de MEV. As medidas foram realizadas em um microscópio de varredura Carl Zeiss, modelo EVO 50. As amostras foram suportadas em um porta-amostra pela dispersão do pó sobre fita adesiva dupla face condutora. Uma cobertura de ouro foi aplicada sobre as amostras antes das medidas, utilizando um Sputter BAL-TEC, MED 0.50.

As análises de TGA-DSC-MS foram realizadas em um equipamento Netzsch modelo STA 409 PC – Luxx acoplado a um Netzsch modelo QMS 403 C – Aeölos. A taxa de aquecimento utilizada foi de 10 °C/min com fluxo de O₂ de 50 cm^3/min , e a faixa de aquecimento foi da temperatura ambiente até 1000 °C.

As análises de ASE e tamanho de poros foram determinadas por meio de isotermas de adsorção/dessorção de N₂ a -196°C, utilizando um analisador de área superficial da Micromeritics,

modelo ASAP 2020N. As amostras foram aquecidas a 80 °C por 48 h sob pressão reduzida antes das medidas de adsorção. A área superficial específica foi determinada pelo método BET.

3.4. Forma de Análise dos Resultados

A DRXP permite a identificação de formação de material lamelar nos materiais sintetizados. Um padrão de DRXP de um HDL intercalado com carbonato foi usado como comparativo, destacando a presença de picos basais (00l) que identificam a sequência de empilhamento das lamelas, evidenciando a formação de composto lamelar.

Todos os materiais preparados apresentaram picos basais nos difratogramas que foram indexados e comparados com o padrão de ANA puro e também com o padrão do mineral hidrotalcita (Mg-Al-CO₃-HDL), presente no banco de dados Powder Diffraction Files, JCPDS-ICDD, PDF - 2 Database Sets 1-44, além da comparação com trabalhos descritos na literatura. Após a indexação dos picos nos difratogramas, foi utilizada a equação de Bragg para se determinar os espaçamentos basais. Os valores foram obtidos por meio da média das distâncias encontradas para os picos basais identificáveis e de boa definição. A lamelaridade dos materiais sintetizados pode ser obtida pela comparação dos valores das distâncias interlamelares (d_{hkl}) obtidas para cada um dos picos. Essa distância pôde ser calculada pela equação de Bragg:^{10,35,70}

$$n\lambda = 2d_{hkl} \cdot \sin\theta \quad (\text{eq. 1})$$

sendo n a ordem de reflexão do pico, d_{hkl} o espaçamento interlamelar para o pico hkl e θ o ângulo de Bragg, determinado pelo pico de difração. A repetição do valor de d , para $n = 1, 2, 3, \dots$, demonstra a lamelaridade do material. Este tratamento é válido para qualquer ânion intercalado. O espaçamento basal (d) foi calculado pela média dos valores dos picos basais observados, de acordo com a equação:

$$d = 1/n (d_{003} + 2d_{006} + \dots + nd_{00n}) \text{ (eq. 2)}$$

A partir dos valores dos espaçamentos basais, descontando-se o valor de 4,8 Å que é atribuído à espessura da lamela, obtém-se então o valor do espaçamento interlamelar. Utilizando programas computacionais adequados, calcula-se o tamanho da molécula intercalada, fazendo a associação do valor obtido ao espaçamento interlamelar, estipulando assim o arranjo espacial das moléculas no interior das lamelas.

Através das análises de DRXP também foi determinado o tamanho médio das partículas utilizando os picos referentes aos planos (003), (006) e (009) da estrutura cúbica de face centrada (fcc) das amostras de HDLs, antes e depois do estudo de liberação *in vitro*, em torno de $2\theta = 4,5$; 9,3 e 15,0 e empregando-se a equação de Scherrer⁷¹ representada abaixo:

$$T_c = k\lambda/\beta\cos\theta \text{ (eq. 3)}$$

Nesta equação, T_c representa o tamanho do cristalito, K é uma constante cujo valor depende da forma da partícula (sendo igual a 0,91 para partículas esféricas), λ é o comprimento de onda da radiação eletromagnética utilizada ($\lambda_{Cu} = 1,5406$ Å, valor referente à radiação característica principal emitida pelo cobre), θ é a metade do ângulo de difração ou ângulo de Bragg e β também chamado de FWHM, é a contribuição dada pelo tamanho do cristalito à largura a meia-altura do pico de difração correspondente, sendo θ e $\beta/FWHM$ representados em radianos.

As análises de FTIR-ATR permitem determinar quais grupos funcionais estão presentes no ANA, além de auxiliar na verificação da presença da espécie orgânica nos HDLs, por meio de suas bandas características. Também é possível verificar, pelo deslocamento de bandas características do composto orgânico, a existência de algum tipo de interação entre o composto orgânico intercalado e as lamelas do HDL.

A TGA acompanha a perda e, ou, ganho de massa da amostra em função da temperatura. A DTG é a derivada da variação de massa em relação ao tempo (dm/dt). Em outras palavras, a DTG é a derivada primeira da TGA. Na DSC são analisadas as variações de entalpia da amostra, submetida a uma programação controlada de aquecimento. Duas modalidades são empregadas para se obter os dados de DSC: DSC por Compensação de Potência e DSC por Fluxo de Calor. A primeira é um arranjo no qual a referência e a amostra são mantidas na mesma temperatura, por meio de aquecedores elétricos individuais. A potência dissipada pelos aquecedores é relacionada com a energia envolvida no processo endotérmico ou exotérmico. Na DSC por Fluxo de Calor, o arranjo mais simples é aquele no qual a amostra e a referência, contidas em seus respectivos suportes de amostra, são colocadas sobre um disco de metal. A troca de calor entre o forno e a amostra ocorre preferencialmente pelo disco.^{34,49} Para os materiais obtidos a determinação das etapas de decomposição dos HDLs foi conduzida pela comparação da taxa de decomposição ao longo da curva TGA. Como o ânion intercalado é orgânico, as etapas de decomposição não são bem definidas devido à sobreposição dos eventos de decomposição, não sendo possível distinguir com exatidão, por exemplo, o ponto final da perda de água (adsorvida e estrutural) do início da etapa de desidroxilação, assim como o início e o final da etapa de decomposição do ANA intercalado.

Os resultados de ASE e porosidade dos HDLs preparados foram determinados pela teoria de adsorção multimolecular de gases (BET) e pelo modelo matemático (BJH), que calcula a distribuição dos tamanhos de poro, respectivamente.⁷⁰ Os valores de porosidade e área superficial obtidos para os HDLs foram comparados com dados da literatura.

Após a quantificação dos cátions Zn e Al, por ICP-OES e a determinação da quantidade de água de hidratação por TGA, foi possível estipular a fórmula mínima aproximada de cada um dos materiais sintetizados, considerando a fórmula geral dos HDLs: $[M^{2+}_{1-x}M^{3+}_x(OH)_2]^{x+}A^{m-}_{x/m} \cdot nH_2O$.

Nos estudos de liberação *in vitro* envolvendo o ANA, a quantidade do ânion liberado em solução em função do tempo foi determinada por espectrofotometria UV-Vis. Com os valores de concentrações obtidos após o tempo final de contato (24 h), foram construídos gráficos de liberação, relacionando a quantidade do ânion liberado para as soluções (em unidades de mg do ânion liberado por litro de solução) em função do tempo em h. Os valores obtidos foram ajustados para o modelo cinético proposto por Higuchi⁷²⁻⁷⁵ que descreve uma matriz insolúvel como uma porcentagem cumulativa da auxina liberada *versus* a raiz quadrada do tempo.

$$Q_t = kt^{0,5} \quad (\text{eq. 4})$$

onde Q_t é a quantidade (mg) de ANA liberado no tempo t (h) e k é a constante da taxa de liberação do modelo de Higuchi.

Para os bioensaios realizados no ágar e casa de vegetação, os experimentos montados utilizaram delineamento experimental inteiramente casualizado, com os tratamentos distribuídos em arranjo fatorial 1 x 5 (uma temperatura e 5 tratamentos) para os bioensaios no ágar e casa de vegetação. As análises de raízes foram efetuadas pelo software SAFIRA – Software de análise de fibras e raízes por imagem⁷⁶ e as folhas pelo programa ImageJ (ij).⁷⁷ A determinação de matéria fresca e seca das raízes e das folhas foi realizada com auxílio de balança analítica. O comprimento das raízes e das plântulas foi mensurado com uma régua de alta graduação (1:1.000).

O cálculo do IVG foi realizado por meio da fórmula descrita por Maguire,⁶⁸ representada abaixo (eq. 4).

$$\text{IVG} = \frac{G_1}{N_1} + \frac{G_2}{N_2} + \dots + \frac{G_n}{N_n} \quad (\text{eq. 5})$$

onde IVG = Índice de Velocidade de Germinação; $G1$, $G2$ e Gn = número de plântulas normais computadas na primeira, segunda e na última contagem, respectivamente; $N1$, $N2$ e Nn = número de dias de semeadura na primeira, segunda e última contagem, respectivamente.

3.5. Análise estatística

Os dados obtidos para os tratamentos tiveram a normalidade dos erros avaliada pelo teste de Tukey, devido ser o teste mais comumente utilizado. A comparação foi feita por análise de variância ANOVA com esquema de fator único ou fatorial simples sem transformação dos dados analisados. Todos os testes foram realizados ao nível de significância de 5 %. As análises estatísticas foram conduzidas com auxílio do software SPEED Stat 1.0.⁷⁸

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A apresentação dos resultados foi dividida em quatro subseções, como descrito a seguir:

I – Obtenção e caracterização dos HDLs contendo os resultados de DRXP; FTIR-ATR; TGA-DSC-MS; ICP-OES; UV-Vis; ASE; MEV e análise elementar.

II – Estudo de liberação *in vitro* observando o efeito dos valores de pH (4, 7 e 10) nas quantidades liberadas do ânion intercalado.

III – Bioensaios realizados em ágar [Câmara de crescimento vegetal do Laboratório de Fisiologia e Metabolismo de Produção Vegetal (LAFIMEPRO)] e solo [casa de vegetação].

IV – Testes de porcentagem de germinação e IVG.

4.1. Obtenção e caracterização dos Hidróxidos Duplos Lamelares

Para efeito comparativo entre os HDLs foi sintetizado um HDL intercalado com ânion carbonato (Zn_2Al-CO_3-HDL). Esse HDL foi utilizado em uma mistura com o sal do ANA, atuando

como uma matriz, uma vez que o íon CO_3^{-2} é comum ao meio de dissolução. Os difratogramas para os HDLs preparados e do ANA são apresentados na Figura 5.

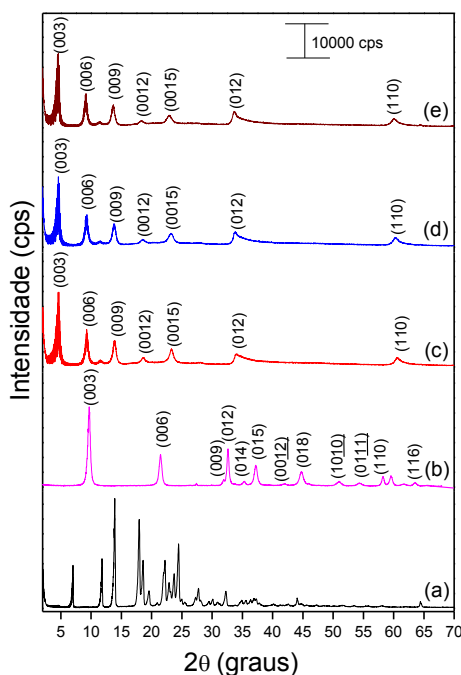


Figura 5: Difratogramas para: (a) ANA, (b) $\text{Zn}_2\text{Al-CO}_3\text{-HDL}$, (c) $\text{Zn}_2\text{Al-ANA-HDL}$, (d) $\text{Zn}_3\text{Al-ANA-HDL}$ e (e) $\text{Zn}_4\text{Al-ANA-HDL}$.

Os picos basais, $(00l)$ apresentados nos difratogramas das Figuras 5 (c) a 5 (e), evidenciam a intercalação do ANA. Os valores de espaçamento basal e espaçamento interlamelar calculados para estes materiais são apresentados na tabela 5.

Tabela 5: Espaçamentos basais e interlamelares dos HDLs sintetizados.

HDLs	Espaçamentos basais (Å)	Espaçamentos Interlamelares (Å)
$\text{Zn}_2\text{Al-CO}_3\text{-HDL}$	9,0	4,2
$\text{Zn}_2\text{Al-ANA-HDL}$	19,2	14,4
$\text{Zn}_3\text{Al-ANA-HDL}$	19,7	14,9
$\text{Zn}_4\text{Al-ANA-HDL}$	19,9	15,1

Analisando os difratogramas, nota-se que os HDLs apresentaram organização estrutural (picos basais estreitos e intensos) e também pureza de fase (ausência de picos interferentes). Os valores dos espaçamentos basais calculados foram coincidentes com os valores reportados na

literatura para intercalação de ANA em ZnAl-ANA-HDLs.^{16,17} Além dos difratogramas apresentados, foi calculado o tamanho médio das partículas sendo mostrados na Tabela 6.

Tabela 6: Tamanho médio de partículas para o ANA e os HDLs produzidos.

Amostras	Tc (nm)
ANA	221,6
Zn ₂ Al-ANA-HDL	117,0
Zn ₃ Al-ANA-HDL	125,7
Zn ₄ Al-ANA-HDL	133,6

A Tabela 6 mostrou o ANA, que é o material de partida para a síntese dos HDLs, com tamanho de partículas elevado. Entre os materiais produzidos, o Zn₂Al-ANA-HDL apresentou tamanho de partículas menores, o Zn₄Al-ANA-HDL partículas maiores e o Zn₃Al-ANA-HDL partículas intermediárias. A grande diferença entre o tamanho de partículas do ANA e os HDLs pode estar relacionada com os precursores usados na preparação, e também com a velocidade de adição dos cátions durante a síntese, a pureza dos materiais e a temperatura utilizada.⁷¹ Com relação as análises de FTIR-ATR para o ANA e os HDLs produzidos, os resultados são apresentados na Figura 6.

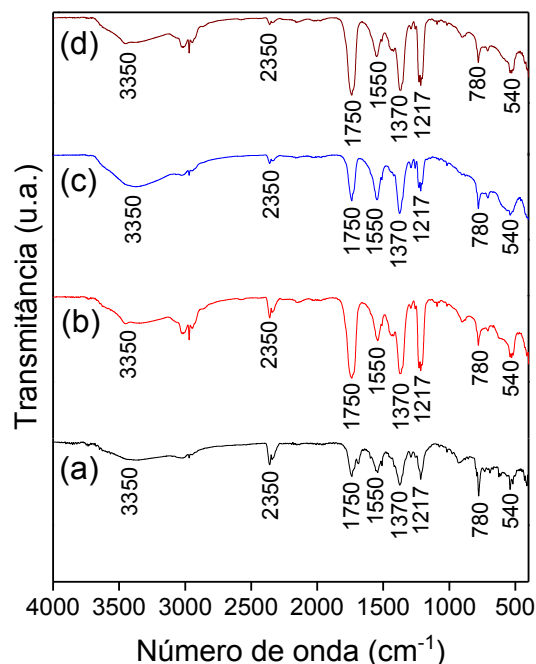


Figura 6: Espectros FTIR-ATR para: (a) ANA, (b) Zn₂Al-ANA-HDL, (c) Zn₃Al-ANA-HDL e (d) Zn₄Al-ANA-HDL.

Os espectros FTIR-ATR evidenciaram que os todos os materiais apresentam bandas largas na região de 3350 cm⁻¹, sendo estas referentes à presença de H₂O. No caso dos HDLs, esta banda também é referente à presença de grupos hidroxila presentes nas lamelas. As bandas em 2350 cm⁻¹ são referentes a deformação axial simétrica de CO₂, possivelmente proveniente de contaminação pelo ar. Na região de 1750 cm⁻¹ ocorrem bandas atribuídas ao estiramento axial de carbonila (C=O), para ácidos carboxílicos alifáticos saturados presentes na estrutura do ANA. Observa-se também bandas em torno da região de 1550 cm⁻¹ que são atribuídas à absorção da ligação C=C de anel aromático, presentes nos materiais sintetizados e no material de partida. Na região entre 1370-1000 cm⁻¹ nos HDLs e também no ANA puro ocorre a presença de bandas referentes à deformação angular no plano da ligação -C-H em compostos aromáticos.⁷⁹

Na região de 780 cm⁻¹ aparecem bandas com baixa intensidade tanto para o ANA puro quanto para os materiais sintetizados, que ocorrem devido à deformação das ligações -O-H. Na região de 540 cm⁻¹ é evidenciado bandas menos intensas que aparecem em todos os HDLs,

atribuídas ao estiramento das ligações metal-oxigênio das lamelas.⁷⁹ Estes resultados confirmam a presença do ANA nos HDLs sintetizados. Também é possível verificar, pelo deslocamento de bandas características do ANA puro, a existência de algum tipo de interação entre o composto orgânico intercalado e as lamelas do HDL. Foram realizadas também análises termogravimétricas (TGA-DSC-MS) para os HDLs e os resultados são apresentados na Figura 7.

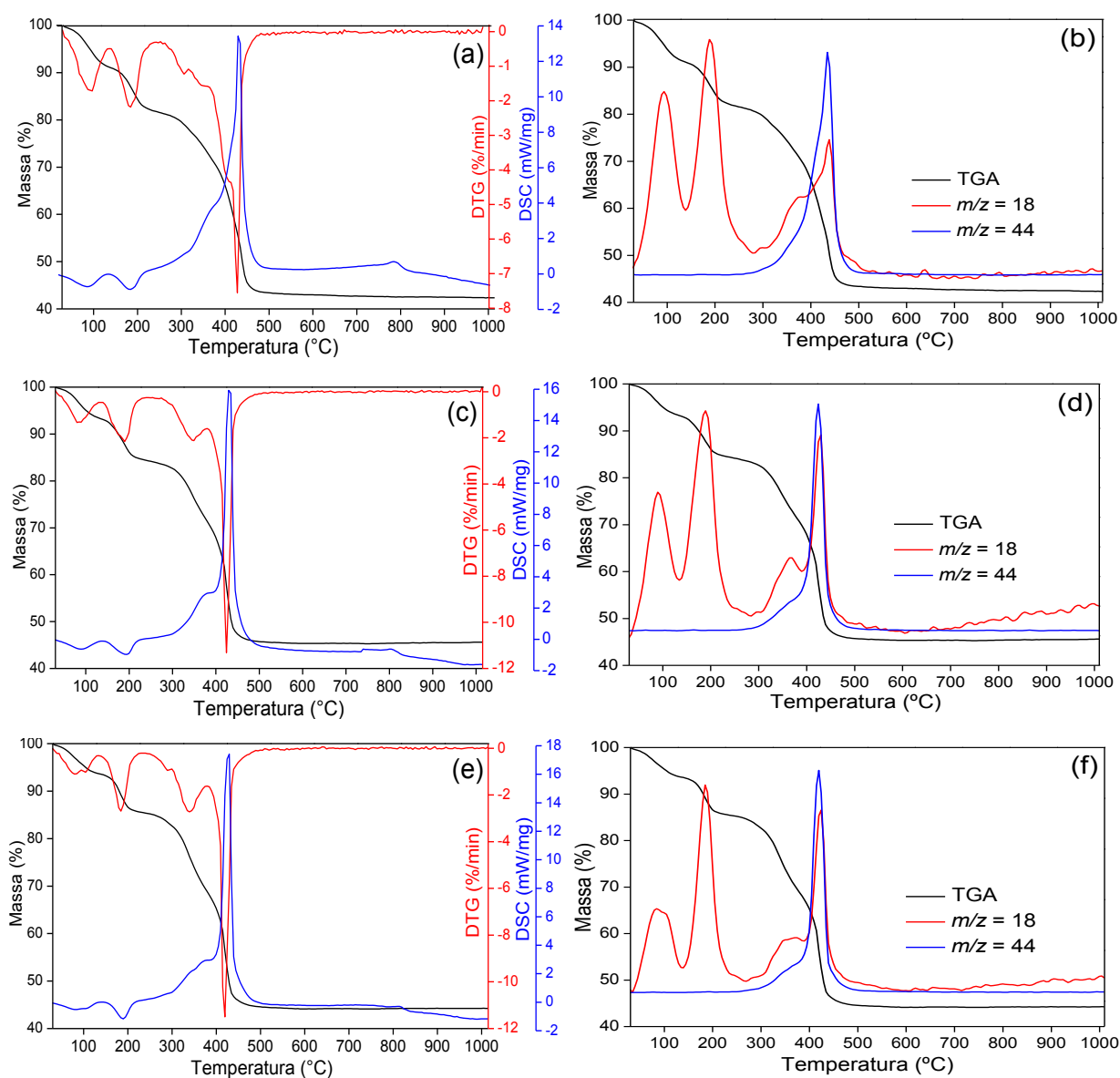


Figura 7: (a) TGA-DSC-Zn₂Al-ANA-HDL, (b) TGA-MS-Zn₂Al-ANA-HDL, (c) TGA-DSC-Zn₃Al-ANA-HDL, (d) TGA-MS-Zn₃Al-ANA-HDL, (e) TGA-DSC-Zn₄Al-ANA-HDL e (f) TGA-MS-Zn₄Al-ANA-HDL.

Os HDLs apresentaram três etapas principais de decomposição térmica bastante semelhantes entre si. A primeira etapa ocorre de 25 °C até uma temperatura próxima de 140 °C, a segunda de 140 °C até uma temperatura próxima de 270 °C e a terceira entre 270 °C e 500 °C. Os espectros de massas revelam que para os três HDLs até 140 °C ocorre a perda de moléculas de H₂O de adsorção com $m/z = 18$. Nesta etapa, a porcentagem de perda de massa para o Zn₂Al-ANA-HDL foi de aproximadamente 8 %, para o Zn₃Al-ANA-HDL foi de 7 % e para o Zn₄Al-ANA-HDL foi de 6 %.

A segunda etapa de decomposição térmica com $m/z = 18$ que ocorre entre 140 °C e 270 °C é decorrente da liberação de H₂O de intercalação e desidroxilação das lamelas inorgânicas. Nesta etapa, a porcentagem aproximada de perda de massa para o Zn₂Al-ANA-HDL foi de 41 %, para o Zn₃Al-ANA-HDL foi de 42 % e para o Zn₄Al-ANA-HDL foi de 44 %. Na terceira etapa de decomposição térmica para $m/z = 18$ entre 270 °C e 500 °C é atribuída a decomposição do restante das hidroxilas e também do ANA. Na terceira etapa nota-se também que existe a perda de CO₂ com $m/z = 44$ proveniente de uma possível intercalação de ânions CO₃²⁻ contaminantes. Em temperaturas superiores a 500 °C ocorre a formação de óxidos de zinco e alumínio. As quantidades de Zn²⁺ e Al³⁺, assim como a razão molar entre esses cátions calculada para as amostras de HDLs são apresentadas na Tabela 7.

Tabela 7: Quantidades de Zn e Al presentes nas amostras de HDLs.

Amostra	Zn (mols)	Al (mols)	Zn:Al
Zn ₂ Al-ANA-HDL	7,5x10 ⁻²	3,2x10 ⁻²	2,3:1
Zn ₃ Al-ANA-HDL	8,8x10 ⁻²	2,5x10 ⁻²	3,5:1
Zn ₄ Al-ANA-HDL	8,9x10 ⁻²	2,0x10 ⁻²	4,4:1

Os resultados apresentados na Tabela 6 evidenciaram que as razões molares entre os cátions Zn:Al possuem valores próximos em comparação com a razão molar utilizada para se fazer as sínteses que foram de Zn:Al = 2:1, 3:1 e 4:1 apresentando uma diferença em torno de 13 % entre os valores determinados e os utilizados. Além da quantificação dos cátions, o ANA intercalado

também foi determinado sendo a curva analítica para sua determinação e os valores do ânion encontrado nos HDLs apresentados na Figura 8 e na Tabela 8 respectivamente.

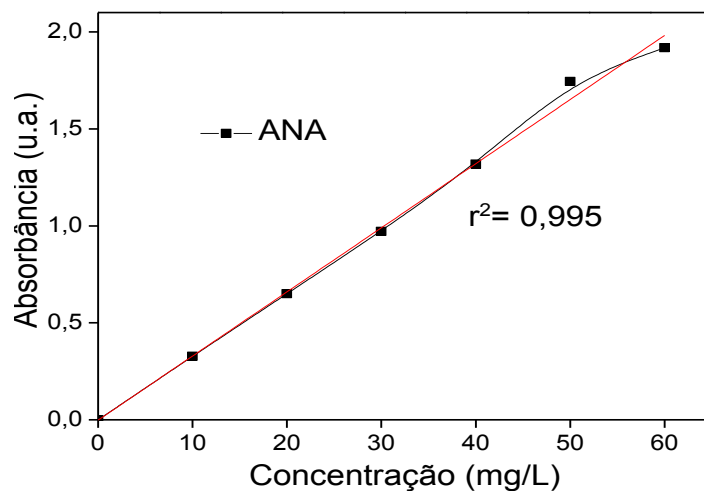


Figura 8: Curva de absorvância *versus* concentração de ANA presente nos HDLs.

Tabela 8: Porcentagens de ANA encontrado nos HDLs.

Amostra	Concentração de ANA (mg/L)	ANA (%)
Zn ₂ Al-ANA-HDL	37,1	37,1
Zn ₃ Al-ANA-HDL	24,0	24,0
Zn ₄ Al-ANA-HDL	34,8	34,8

A porcentagem de ANA obtida para o Zn₂Al-ANA-HDL está em conformidade com os valores encontrados na literatura para HDLs intercalados com este ânion apresentado uma divergência de 2 % entre os valores.^{16,17} Os valores encontrados para Zn₃Al-ANA-HDL e Zn₄Al-ANA-HDL estão divergindo em relação ao da literatura em cerca de 37 % e 8 % respectivamente. Os resultados referentes às isotermas de adsorção/dessorção de N₂ para os HDLs são apresentados na Figura 9.

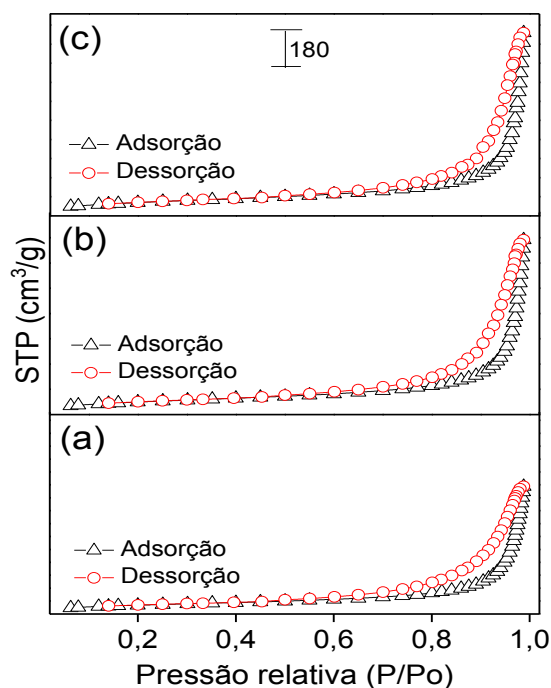


Figura 9: Isothermas de adsorção/dessorção de N₂ para: (a) Zn₂Al-ANA-HDL, (b) Zn₃Al-ANA-HDL e (c) Zn₄Al-ANA-HDL.

Os materiais apresentaram isoterma do tipo II, pois os gráficos são convexos em relação ao eixo de pressão relativa, não apresentando ponto de inflexão. Nesse caso, as interações entre adsorvato-adsorvente são mais fracas em relação às interações entre adsorvato-adsorvato. O HDL sintetizado exibe histerese do tipo H1, característica de materiais porosos com aglomerados, ou seja, as partículas são unidas de forma rígida apresentando um agregado com fragmentos indefinidamente coerentes.^{35,80-82} Complementando o resultado das isothermas, os valores de área superficial específica, volume e diâmetro médio de poros para os HDLs são apresentados na Tabela 9:

Tabela 9: Dados de área superficial específica, volume e diâmetro médio de poros das amostras de HDLs.

Materiais	Área superficial (m ² /g)	Volume de poros (cm ³ /g)	Diâmetro médio de poros (nm)
Zn ₂ Al-ANA-HDL	29,7	0,17	25,5
Zn ₃ Al-ANA-HDL	42,3	0,24	24,7
Zn ₄ Al-ANA-HDL	45,0	0,25	25,2

Os valores de área superficial, volume e diâmetro médio de poros apresentados são característicos da formação de materiais mesoporosos.⁸² Além das isotermas de adsorção/dessorção de N₂ e dos dados de ASE foram realizadas também imagens representativas de MEV para o ANA e os HDLs sintetizados sendo os resultados mostrados na Figura 10.

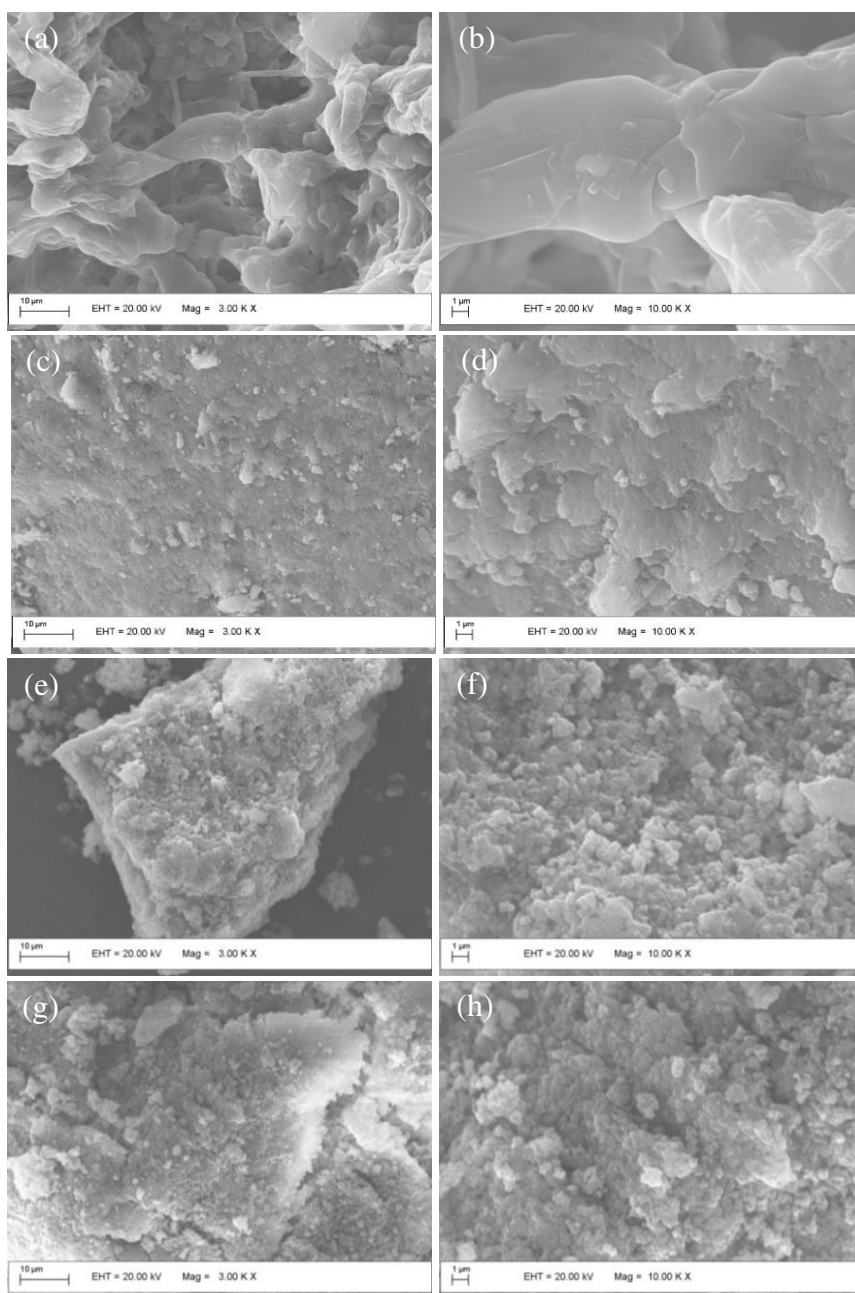


Figura 10: Imagens representativas de MEV para: (a) ANA 3.00 K.X, (b) ANA 10.00 K.X, (c) Zn₂Al-ANA-HDL 3.00 K.X, (d) Zn₂Al-ANA-HDL 10.00 K.X, (e) Zn₃Al-ANA-HDL 3.00 K.X, (f) Zn₃Al-ANA-HDL 10.00 K.X, (g) Zn₄Al-ANA-HDL 3.00 K.X e (h) Zn₄Al-ANA-HDL 10.00 K.X.

Por meio das imagens representativas de MEV pôde-se notar que o ANA puro, Figuras 11 (a) e (b), apresenta características de material poroso com valores médios de poros iguais a 25 μm . Para os HDLs, Figuras 11 (c), (d), (e), (f), (g) e (h), nota-se a formação de agregados e placas compactas sobre a superfície dos materiais, sendo esta formação comum para HDLs intercalados com ânions orgânicos.⁸³ Os resultados de EDS para o ANA e os HDLs preparados são mostrados na Tabela 10.

Tabela 10: Dados de EDS para o ANA e os HDLs preparados.

Materiais	O	Na	Al	Si	S	Cl	Zn
ANA	10,1	4,3	0,3	0,2	1,2	9,3	---
Zn ₂ Al-ANA-HDL	13,4	---	14,9	0,4	0,4	---	65,3
Zn ₃ Al-ANA-HDL	13,8	---	12,4	0,9	---	---	68,9
Zn ₄ Al-ANA-HDL	10,8	---	8,4	---	---	---	78,0

A quantidade de H₂O (determinada por análise termogravimétrica), e a fórmula proposta para as amostras de HDLs são mostrados na Tabela 11.

Tabela 11: Análise elementar e fórmulas propostas para as amostras de HDLs.

Materiais	C				N				H				H ₂ O			
	(%)															
Zn ₂ Al-ANA-HDL	31,13				0,01				4,36				17,5			
Zn ₃ Al-ANA-HDL	29,57				0,02				4,07				15,0			
Zn ₄ Al-ANA-HDL	30,27				0,07				4,03				14,0			
	Fórmulas Propostas															
Zn ₂ Al-ANA-HDL	[Zn _{2,34} Al _{1,00} (OH) ₂]ANA _{7,42} ·8H ₂ O															
Zn ₃ Al-ANA-HDL	[Zn _{3,52} Al _{1,00} (OH) ₂]ANA _{4,80} ·7H ₂ O															
Zn ₄ Al-ANA-HDL	[Zn _{4,45} Al _{1,00} (OH) ₂]ANA _{6,96} ·6H ₂ O															

As quantidades de C assim como de N encontradas para as amostras de HDLs indicam contaminação por CO₃²⁻ e NO₃⁻ provenientes do ar e dos reagentes [Zn(NO₃)₂·6H₂O e Al(NO₃)₃·9H₂O] usados durante a síntese, respectivamente.

4.2. Cinética de desprotonação do ANA

De acordo com os dados da Tabela 8, dentre os HDLs sintetizados, o Zn_2Al -ANA-HDL é o material que apresentou maior quantidade de ANA. Portanto, todos os estudos de liberação *in vitro* e bioensaios realizados foram conduzidos com este HDL.

Os dados cinéticos de liberação *in vitro* do ANA e do Zn_2Al -ANA-HDL são mostrados na Figura 11. O estudo cinético foi adequado ao modelo de Higuchi.⁷²⁻⁷⁵

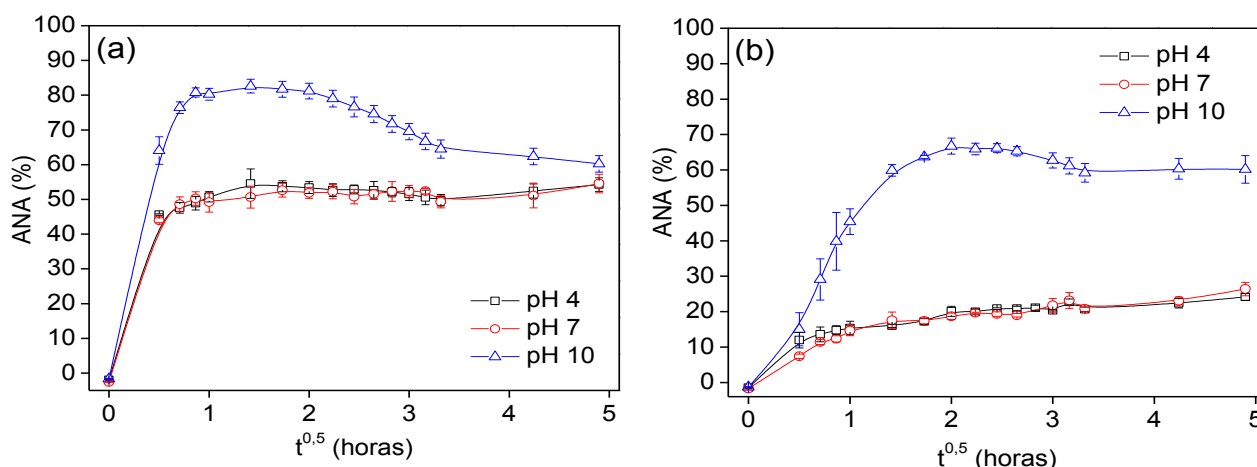


Figura 11: Cinética de desprotonação para: (a) ANA e (b) Zn_2Al -ANA-HDL em valores de pH = 4, 7 e 10.

Tanto o ANA quanto o Zn_2Al -ANA-HDL apresentaram taxas de desprotonação acumulada mais rápidas na primeira hora ($t^{0.5} = 1,0$). O equilíbrio para o ANA foi alcançado após 3 h ($t^{0.5} = 1,7$) para as soluções com valores de pH = 4 e 7. Na solução com valor de pH = 10, durante a primeira hora ($t^{0.5} = 1,0$), a desprotonação aconteceu de forma lenta, porém, com valores superiores aos encontrados para as soluções com valores de pH = 4 e 7. No intervalo de tempo entre 2 h ($t^{0.5} = 1,4$) e 5 h ($t^{0.5} = 2,2$), ocorreu um decréscimo da quantidade desprotonada.

Para o Zn_2Al -ANA-HDL, nas soluções com valores de pH = 4 e 7, ocorreu uma desprotonação lenta e gradativa. Comportamento similar foi observado para a solução com pH = 10 durante as primeiras 3 h ($t^{0.5} = 1,7$), sendo os valores de liberação superiores aos outros pH. Entre 3

h ($t^{0,5} = 1,7$) e 10 h ($t^{0,5} = 3,2$) aconteceu um decréscimo na taxa de desprotonação. Após 10 h ($t^{0,5} = 3,2$) a quantidade desprotonada se estabilizou ficando praticamente constante até completar 24 h ($t^{0,5} = 5,0$). O estudo cinético mostrou que o Zn_2Al -ANA-HDL exibiu valores de desprotonação menores que o ANA. Para as soluções com valores de pH = 4 e 7 cerca de 30 % do ANA intercalado foi desprotonado para a solução após 24 h ($t^{0,5} = 5,0$), enquanto que 60 % do ANA foi desprotonado no mesmo período.

Na solução com valor de pH = 10, o Zn_2Al -ANA-HDL também apresentou uma taxa menor de desprotonação em relação ao ANA. O resultado obtido neste valor de pH contraria o pressuposto inicial de que o percentual maior de desprotonação tanto para o ANA quanto para Zn_2Al -ANA-HDL, ocorreria em pH = 4 devido ao “ataque” de H^+ ao HDL, que desprotonaria o ANA intercalado mais rapidamente.

Hussein et al.¹⁷ utilizando HDLs como matriz hospedeira em soluções aquosas com vários valores de pH (1, 4, 7, 8 e 14) obtiveram resultados semelhantes. Os autores descrevem que em soluções aquosas com pH inicial baixo (ajustado pela adição de HNO_3), a alta concentração de íons NO_3^- das soluções, resultou na troca dos íons ANA pelos íons NO_3^- . Como resultado, os íons NO_3^- foram incorporados na camada interlamelar do Zn_2Al -ANA-HDL e, ao mesmo tempo, a desprotonação do ANA para a solução ocorreu em menor quantidade. Ao iniciar o experimento, o processo de troca de íons é rápido. Quando uma espécie maior, como o ANA é trocada por um ânion menor, como o NO_3^- , ocorre uma diminuição no espaçamento basal e esta transformação de fase dificulta a desprotonação do ANA. À medida que a reação se prolonga, um espaçamento basal menor e outro maior coexistem no mesmo cristal. Como resultado desta nova fase, ocorre a formação de uma barreira entre o Zn_2Al -ANA-HDL e a solução aquosa e, conseqüentemente, a taxa de ANA desprotonada para a solução aquosa diminui consideravelmente. Em virtude disso, a quantidade de ANA desprotonado em solução com valor de pH = 10 é bem maior em relação as

quantidades desprotonadas em pH = 4 e 7. Isso é mostrado na Figura 11, com os gráficos de desprotonação do ANA e do Zn₂Al-ANA-HDL, adequados ao modelo de Higuchi mencionado na seção 3.4. Os resultados foram apresentados com os dados de todo o período de contato do ANA e do Zn₂Al-ANA-HDL com as soluções aquosas sendo que $t^{0,5} = 5,0$ equivale ao tempo total de 24 h.

O pó remanescente das suspensões utilizadas para o estudo de liberação *in vitro* foi submetido às análises de DRXP e FTIR-ATR com objetivo de observar se ainda havia composto lamelar. Os Difratogramas para o Zn₂Al-ANA-HDL são apresentados na Figura 12.

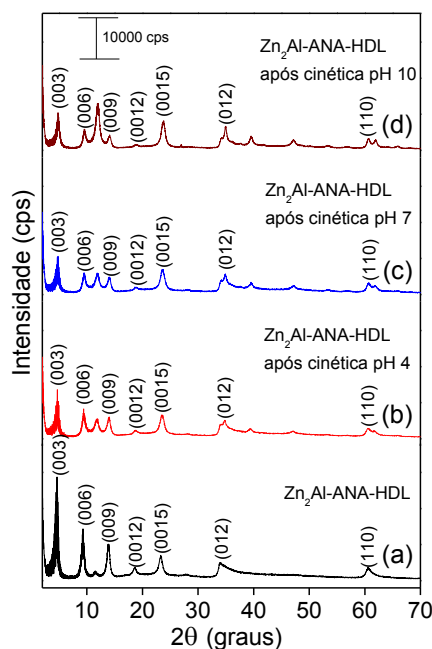


Figura 12: Difratogramas para: (a) Zn₂Al-ANA-HDL; (b) Zn₂Al-ANA-HDL/pH = 4, (c) Zn₂Al-ANA-HDL/pH = 7 e (d) Zn₂Al-ANA-HDL/pH = 10 após cinética com 24 h.

Observa-se nos difratogramas que após os testes de desprotonação *in vitro*, ocorreu uma redução na intensidade dos picos basais referentes a intercalação de ANA para os três valores de pH estudados, sendo que a maior redução ocorreu no material submetido à solução com valor de pH = 10. Este resultado sugere que uma quantidade maior de ANA foi desprotonada para esta solução aquosa, devido essa redução na intensidade dos picos basais. É importante ressaltar que ao final

deste experimento, após 24 h, o material sólido resultante ainda era lamelar contendo ANA intercalado, ou seja, não sendo alcançado 100 % de liberação de ANA e, ou, destruição do material lamelar. O tamanho médio das partículas para o Zn₂Al-ANA-HDL após o estudo cinético também foi calculado e os valores são mostrados na Tabela 12.

Tabela 12: Tamanho médio de partículas para o Zn₂Al-ANA-HDL antes e após o estudo de liberação *in vitro*.

Amostras	Tc (nm)
Zn ₂ Al-ANA-HDL	117,0
Zn ₂ Al-ANA-HDL em pH = 4	117,7
Zn ₂ Al-ANA-HDL em pH = 7	123,5
Zn ₂ Al-ANA-HDL em pH = 10	128,3

Os dados expressos na Tabela 12 evidenciam que o estudo de liberação *in vitro* realizado nos valores de pH = 4, 7 e 10 apresentaram Tc próximos ao do material de partida. Esse fato indica que o estudo cinético não destruiu na sua totalidade a estrutura do composto lamelar. Isso pôde ser comprovado pelos DRXP apresentados na Figura 12, onde se observou após 24 h de estudo a existência de picos característicos de composto lamelar para os três valores de pH. Corroborando com os dados de difratometria, o gráfico FTIR-ATR para o Zn₂Al-ANA-HDL é mostrado na Figura 13.

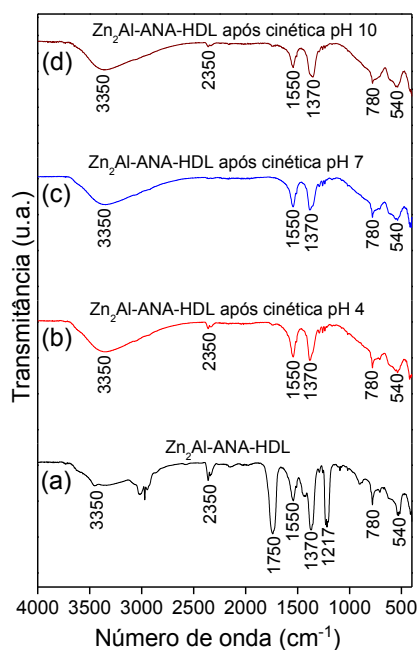


Figura 13: Espectros FTIR-ATR para: (a) $Zn_2Al-ANA-HDL$, (b) $Zn_2Al-ANA-HDL/pH = 4$, (c) $Zn_2Al-ANA-HDL/pH = 7$ e (d) $Zn_2Al-ANA-HDL/pH = 10$ após cinética com 24 h.

A Figura 13 evidenciou que após as 24 h do estudo cinético, as bandas em 1217 cm^{-1} , 1750 cm^{-1} e 2350 cm^{-1} desapareceram. As duas primeiras bandas, 1217 cm^{-1} e 1750 cm^{-1} , que são referentes ao estiramento da ligação C–O e ao estiramento axial de carbonila em ácidos carboxílicos respectivamente desapareceram no estudo cinético em todos os pH. A banda 2350 cm^{-1} que correspondente à deformação axial simétrica de CO_2 , proveniente de contaminação pelo ar, desapareceu para o material submetido ao experimento com solução de $pH = 7$ continuando presente nos materiais submetidos a soluções com $pH = 4$ e 10 . Esse fato pode estar relacionado com o pH do CO_2 , que é neutro, o que sugere que sua banda característica, 2350 cm^{-1} , se manteria nos $pH = 4$ e 10 devido serem valores de pH diferentes da sua estrutura original e ficaria sobreposta ao valor $pH = 7$, que é o pH com o mesmo valor da sua molécula não sendo possível sua visualização. Pela lógica, a banda característica de CO_2 só apareceria em valores de pH diferentes do pH da molécula original. O desaparecimento das bandas em 1217 cm^{-1} e 1750 cm^{-1} , pode estar relacionado com a destruição parcial das lamelas do HDL o que levaria a uma liberação do ANA para as

soluções aquosas. Nota-se que no pH = 10 a redução na intensidade das bandas corroborou com os dados da Figura 12, evidenciando uma liberação maior da auxina para este valor de pH. Os resultados dos bioensaios realizados são apresentados a seguir.

4.3. Bioensaios

4.3.1. Pré-ensaio da concentração de ANA

Os resultados do pré-ensaio estão apresentados na Figura 14:

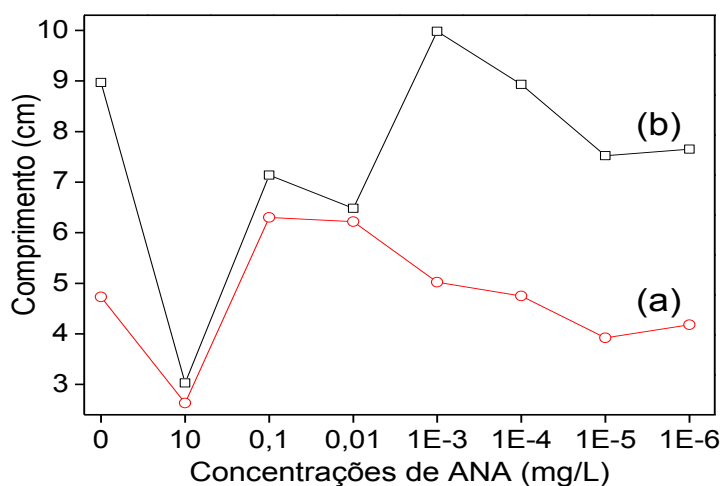


Figura 14: Comprimento de: (a) parte aérea de plântulas e (b) raízes no pré-ensaio.

De acordo com os resultados apresentados na Figura 14, o melhor resultado para o comprimento de raízes foi observado para a concentração de $1,0 \times 10^{-3}$ mg/L de ANA. Para a parte aérea de plântulas, o melhor resultado foi encontrado para a concentração de $1,0 \times 10^{-1}$ mg/L de ANA. Como o ANA apresenta resposta fisiológica melhor para as raízes será considerada a concentração de $1,0 \times 10^{-3}$ mg/L como o ponto ótimo de ação. Dessa forma os testes foram embasados nessa concentração da auxina.

4.3.2. Bioensaio em ágar

Os resultados obtidos neste experimento são apresentados na Figura 15.

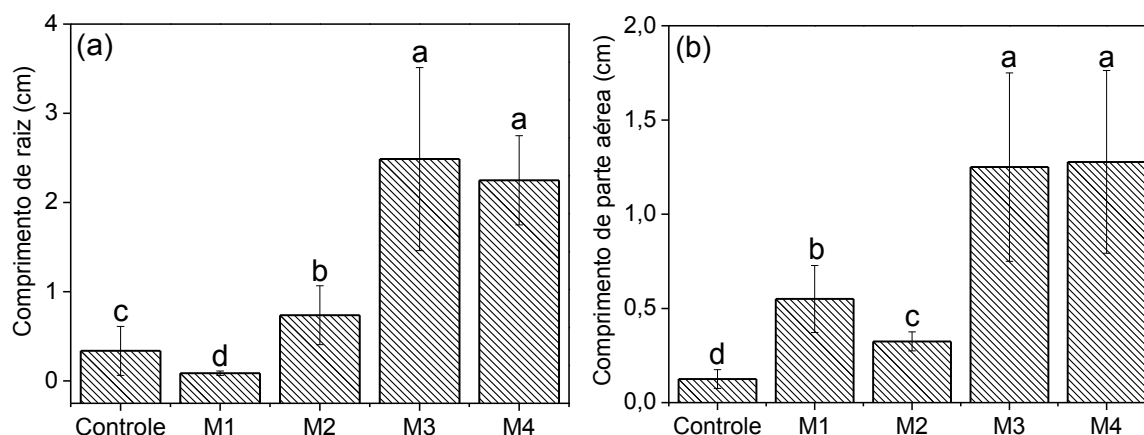


Figura 15: Valores de: (a) comprimento de raiz e (b) comprimento de parte aérea para o feijão sendo as sementes encapsuladas com: *M1 = alginato*, *M2 = Zn₂Al-CO₃-HDL*, *M3 = ANA* e *M4 = Zn₂Al-ANA-HDL*. Medidas seguidas por uma mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Os resultados da Figura 15 mostraram diferença entre os tratamentos principalmente no comprimento de raízes. Observou-se também diferença no comprimento de parte aérea, porém com valores menos expressivos. De acordo com os dados da Figura 15 (a), as sementes revestidas com os filmes M4 e M3 apresentaram os melhores resultados seguidos pelo M2, controle e M1. Quanto ao comprimento de parte aérea das plântulas, Figura 15 (b), as sementes revestidas com os filmes M4 e M3 apresentaram novamente os melhores resultados seguidos pelo M1, M2 e o controle. Este resultado vai de encontro ao pressuposto de que o ANA auxilia no desenvolvimento da planta, melhorando o crescimento de raízes e de forma complementar no comprimento de parte aérea. A porcentagem de germinação apresentada na Tabela 13 corrobora com as afirmações supracitadas.

Tabela 13: Porcentagens de germinação.

Tratamentos	Germinação (%)
Controle	25
M1	62
M2	62
M3	87
M4	62

M1 = alginato, M2 = Zn₂Al-CO₃-HDL, M3 = ANA e M4 = Zn₂Al-ANA-HDL.

Os resultados apresentados mostraram que as sementes encapsuladas com o filme M4 (Zn₂Al-ANA-HDL) satisfaz o pressuposto inicial de que a atuação do ANA aconteceria de forma sustentada melhorando de alguma forma a resposta fisiológica da planta no crescimento das raízes. Dentre todos os tratamentos o revestimento das sementes com o filme M4 mostrou não ser tóxico na concentração trabalhada ($2,7 \times 10^{-3}$ mg/L), apresentando resultados satisfatórios para o comprimento de raiz e parte aérea. Assim sendo, o uso de sementes encapsuladas/tratadas com o filme M4 (Zn₂Al-ANA-HDL) é uma opção considerável. A escolha dependerá do produtor no momento do plantio. Fotos do bioensaio realizado em ágar estão anexadas no Apêndice B deste trabalho.

4.3.3. Bioensaio em vasos com solo

Para o latossolo argiloso utilizado não foi necessário realizar a calagem do solo, que é a etapa do preparo do solo para cultivo agrícola na qual se aplica calcário com os objetivos de elevar os teores de cálcio e magnésio, neutralização do alumínio trivalente e correção do pH, para um desenvolvimento satisfatório das culturas⁸⁴, uma vez que os valores estavam adequados. Isso foi comprovado através das características apresentadas na Tabela 14.

Tabela 14: Características do solo usado neste bioensaio.

Solo	
pH em água	6,0
pH em CaCl ₂	5,1
Solo	(cmolc·dm ⁻³)
K	0,03
Ca	2,2
Mg	0,4
Al	0,0
H+Al	3,7
Solo	(g·dm ⁻³)
B	$2,6 \times 10^{-4}$
Cu	$7,0 \times 10^{-4}$
Fe	$2,2 \times 10^{-2}$
Mn	$8,0 \times 10^{-4}$
Zn	$7,0 \times 10^{-4}$
M.O.	32,0
C.O	18,6

Desse modo, com base nas características do solo apresentadas na Tabela 14, as sementes de feijão foram semeadas e os resultados dos critérios avaliados neste bioensaio referentes as raízes são apresentados na Figura 16:

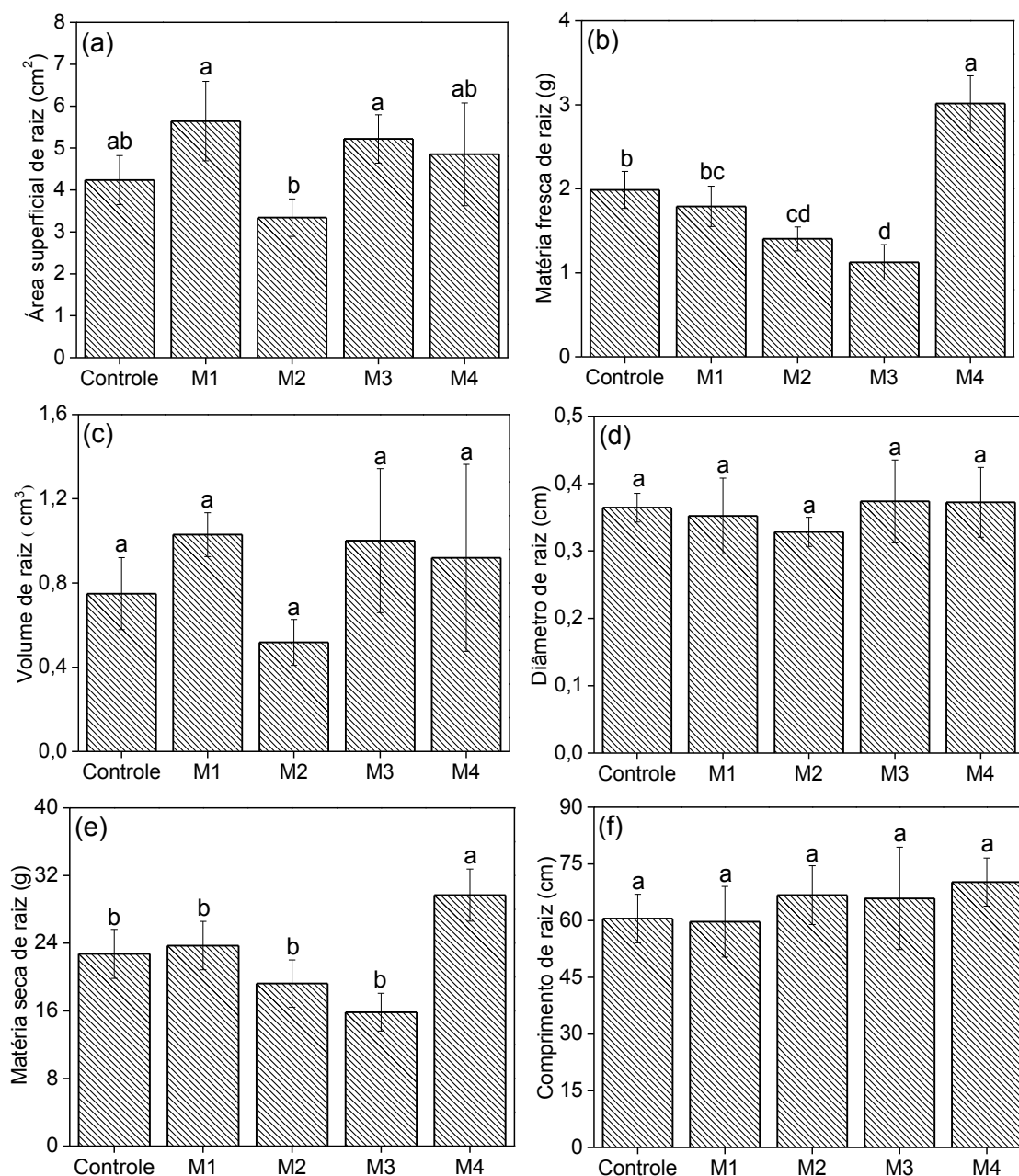


Figura 16: Valores de: (a) área superficial, (b) matéria fresca, (c) volume, (d) diâmetro, (e) matéria seca e (f) comprimento de raiz para o feijão sendo as sementes encapsuladas com *M1 = alginato*, *M2 = Zn₂Al-CO₃-HDL*, *M3 = ANA* e *M4 = Zn₂Al-ANA-HDL*. Médias seguidas por uma mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (p > 0,05).

Os resultados de área superficial, Figura 16 (a), mostraram as sementes encapsuladas com o filme M3 (ANA) e M1 (Alginato) com as maiores médias, diferindo apenas do filme M2 (Zn_2Al-CO_3-HDL). Para a massa fresca, Figura 16 (b), o as sementes encapsuladas com o filme M4 ($Zn_2Al-ANA-HDL$) exibiu o melhor resultado diferindo dos demais. Com relação ao volume, Figura 16 (c) e ao diâmetro Figura 16 (d) não houve diferença entre os filmes usados na encapsulação. Para a matéria seca, Figura 16 (e), as sementes encapsuladas com o filme M4 ($Zn_2Al-ANA-HDL$) apresentaram o melhor resultado em comparação com os outros tratamentos. Quanto ao comprimento, Figura 16 (f), não foi evidenciada diferença entre os filmes usados para o encapsulamento das sementes. Fotos do bioensaio realizado são apresentadas no Apêndice B.

Os resultados dos critérios avaliados no bioensaio em vasos com solo referentes as folhas e a parte aérea são apresentados na Figura 17:

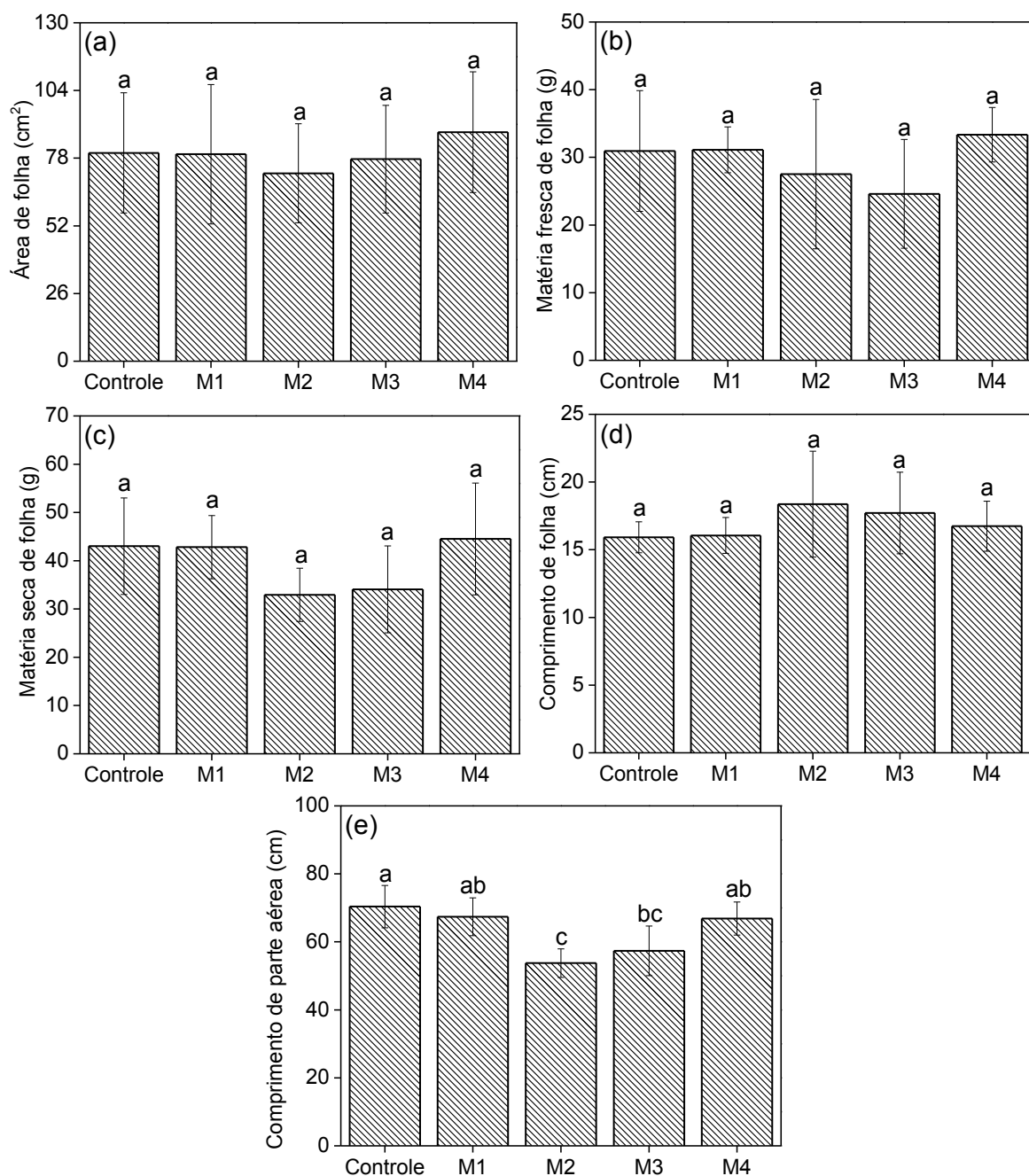


Figura 17: Valores de: (a) área, (b) matéria fresca, (c) matéria seca e (d) comprimento de folha junto com (e) comprimento de parte aérea para o feijão sendo as sementes encapsuladas com: *M1* = alginato, *M2* = Zn_2Al-CO_3-HDL , *M3* = ANA e *M4* = $Zn_2Al-ANA-HDL$. Médias seguidas por uma mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Os valores de área, Figura 17 (a); matéria fresca, Figura 17 (b); matéria seca, Figura 17 (c) e comprimento de folha, Figura 17 (d), não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos feitos com filmes poliméricos como envoltório de sementes. No comprimento de parte aérea, Figura

17 (e), as maiores médias foram expressas para o controle, e não diferiram das sementes encapsuladas com os filmes M4 (Zn₂Al-ANA-HDL) e M1 (alginato). Os resultados de parte aérea não foram significativos devido ao comportamento da planta frente a um gradiente de luz (fototropismo), já que a auxina está movimentando de uma parte específica da planta para outra, geralmente da parte aérea em direção as raízes.^{2-7,25} Portanto, a iluminação natural fornecida durante a realização dos testes pode ter influenciado nos resultados.

De acordo com os resultados, o filme M4, preparado com a auxina intercalada no Zn₂Al-ANA-HDL não é tóxica para a planta na concentração estudada (2,7x10⁻³ mg/L) em nenhuma das avaliações feitas. Sendo assim, o filme M4 (Zn₂Al-ANA-HDL) usado para encapsular as sementes, do ponto de vista custo-benefício pode ser usado no cultivo do feijão, em pequenas culturas, como por exemplo, jardins, pois permitiu o melhor crescimento da planta. Os resultados mostraram que a liberação sustentada da auxina nas sementes encapsuladas com o filme M4 (Zn₂Al-ANA-HDL) acontece de forma distribuída e uniforme para a planta, favorecendo o crescimento das raízes no bioensaio, pois a retenção de H₂O é maior. As sementes encapsuladas com o filme M4 (Zn₂Al-ANA-HDL) apresentaram resultados satisfatórios em relação às sementes encapsuladas com o filme M3 (ANA) e também ao controle principalmente nos critérios referentes as raízes. Essa estratégia poderá ainda ser estudada para ambientes sob estresse hídrico, onde as condições de crescimento radicular são necessárias para captação de água em camadas mais profundas.

Em sequência aos bioensaios, os resultados dos testes de porcentagem de germinação⁶⁶ e do Índice de Velocidade de Germinação (IVG)^{67,68} realizados nas bandejas com areia, são apresentados a seguir:

4.3.4. Porcentagem de germinação e IVG

Os resultados de porcentagem de germinação são apresentados na Figura 18.

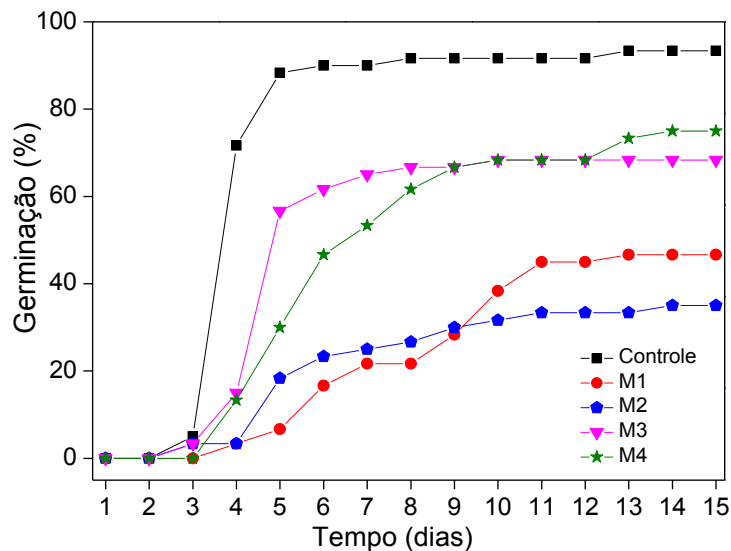


Figura 18: Porcentagem de germinação em sementes de feijão encapsuladas com: *M1 = alginato*, *M2 = Zn₂Al-CO₃-HDL*, *M3 = ANA* e *M4 = Zn₂Al-ANA-HDL*.

A Figura 18 mostrou que o controle apresenta maior porcentagem de germinação, seguido pelas sementes encapsuladas com o filme M4 (Zn₂Al-ANA-HDL), M3 (ANA), M1 (alginato) e M2 (Zn₂Al-CO₃-HDL). Tanto o controle como o filme M3 (ANA), apresentaram depois de um determinado tempo, certa estabilidade na porcentagem de germinação, permanente até o final do experimento. Para os tratamentos com as sementes encapsuladas como os filmes M1 (alginato), M2 (Zn₂Al -CO₃-HDL) e M3 (ANA) a porcentagem máxima de germinação foi computada com 12, 11 e 9 dias do experimento respectivamente. Observando a curva de germinação para o controle e para o filme M4 (Zn₂Al-ANA-HDL) foi evidenciado que no quarto dia do experimento o controle alcançou a porcentagem máxima de germinação ficando constante até o final. Para o filme M4 (Zn₂Al-ANA-HDL) a porcentagem máxima de germinação foi obtida depois de transcorridos 13 dias após a montagem do bioensaio.

Nas sementes encapsuladas com HDLs, o valor máximo da germinação e a estabilidade foram alcançados com um período maior de tempo devido ao encapsulamento das sementes. Quando a semente foi encapsulada ocorreu a formação de uma barreira que dificultou a absorção de

H₂O pela semente e conseqüentemente a ativação de enzimas, a respiração das células vegetais e sua duplicação aconteceram de forma lenta retardando as mudanças químicas. Esses fatores atrasaram o desenvolvimento embrionário da planta e por conseqüência a quantidade e a velocidade das sementes germinadas foram reduzidas.^{2-7,25} Assim, o resultado é satisfatório, pois comprova uma liberação lenta e sustentada do ANA intercalado sendo o melhor resultado obtido pelas sementes encapsuladas com o filme M4 (Zn₂Al-ANA-HDL). Os resultados do IVG calculado para todos os tratamentos são mostrados na Figura 19.

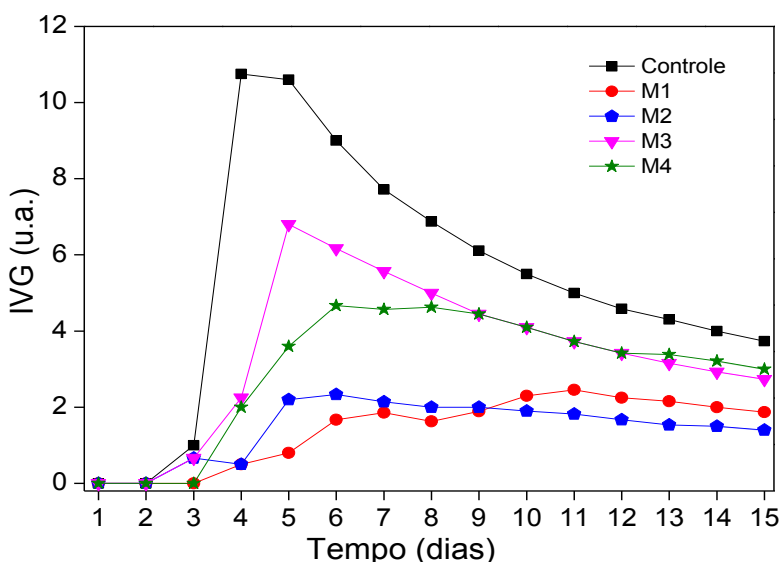


Figura 19: IVG em sementes de feijão encapsuladas com: M1 = *alginato*, M2 = *Zn₂Al-CO₃-HDL*, M3 = *ANA* e M4 = *Zn₂Al-ANA-HDL*.

O controle apresentou o maior IVG entre todos os tratamentos evidenciando uma velocidade de germinação maior e um comportamento germinativo superior sendo o lote das sementes mais vigoroso.⁷³ Os demais tratamentos apresentaram IVG na seguinte ordem de importância: sementes encapsuladas com o filme M3 (ANA) > M4 (Zn₂Al-ANA-HDL) > M2 (Zn₂Al-CO₃-HDL) > M1 (alginato). As sementes encapsuladas com o filme M4 (Zn₂Al-ANA-HDL) ficaram com valor de IVG intermediário (aproximadamente 5) demonstrando não ser tóxico na concentração trabalhada (2,7x10⁻³ mg/L). Os resultados de IVG evidenciaram que as sementes sem encapsulação (controle)

e as sementes encapsuladas com o filme M3 (ANA) quando comparados com o filme M4 (Zn₂Al-ANA-HDL) apresentaram melhor desempenho. Nesse caso o encapsulamento funcionou como uma barreira física dificultando a absorção de água pela semente, mas também impedindo a degradação do ANA, o que é bom para a semente, já que sua atuação no desenvolvimento fisiológico da semente foi prolongado. Fato esse, evidenciado pelo teste de porcentagem de germinação e também de IVG que corroboram com o pressuposto inicial de que as sementes encapsuladas com o filme M4 (Zn₂Al-ANA-HDL) apresentaria menor IVG mostrando uma liberação sustentada da auxina. Fotos dos testes realizados em bandejas com areia são apresentadas no Apêndice B.

5. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados apresentados no presente trabalho, conclui-se que a síntese dos HDLs contendo ANA nas proporções Zn:Al = 2:1, 3:1 e 4:1, por meio do método de CpC, produziram materiais com boa cristalinidade e pureza de fase. Os valores de espaçamentos basais, (19,2 Å, 19,7 Å e 19,9 Å), encontrados nos HDLs preparados são característicos da intercalação de ANA entre as lamelas do HDL.

As análises de FTIR-ATR evidenciaram a presença de bandas características do ANA. As análises de TGA-DSC-MS mostraram que a decomposição do ânion orgânico intercalado ocorre com temperaturas acima de 270 °C. Os HDLs apresentaram baixa área superficial e volume de mesoporos.

Os testes de liberação *in vitro* mostraram que o ANA e o Zn₂Al-ANA-HDL apresentaram uma taxa de desprotonação maior de ANA em pH = 10. Em valores de pH = 4 e 7, não foi observado nenhuma diferença significativa entre os valores de ANA desprotonado em solução. O estudo também mostrou que o ANA intercalado no Zn₂Al-ANA-HDL é desprotonado de forma sustentada (gradativa em função do tempo), enquanto que o ANA puro é desprotonado

instantaneamente. Foi evidenciado ainda que a liberação de ANA intercalado no Zn₂Al-ANA-HDL foi controlada pela cinética de primeira ordem no período entre 2 h ($t^{0,5} = 1,4$) e 24 h ($t^{0,5} = 5,0$) de acordo com o modelo de Higuchi⁷⁰⁻⁷³, sendo a liberação condicionada aos valores de pH das soluções aquosas.

Os bioensaios realizados no ágar mostraram que as sementes encapsuladas com o filme M4 (Zn₂Al-ANA-HDL) auxiliaram no crescimento e na formação da parte aérea e das raízes do feijoeiro. O bioensaio realizado em casa de vegetação usando vasos com solo mostrou que as sementes encapsuladas com o filme M4 (Zn₂Al-ANA-HDL) foram eficientes apresentando resultados superiores ao controle e também às sementes encapsuladas com o filme M3 (ANA) no que se refere às matérias fresca e seca das raízes do feijoeiro.

Os testes de porcentagem de germinação e também de IVG revelaram resultados satisfatórios com os maiores valores ficando para o controle. Este resultado é bom, pois indica que o ANA devido a barreira física existente entre a semente e o ambiente devido ao encapsulamento pelo filme M4 (Zn₂Al-ANA-HDL) ficou mais tempo em contato com a semente não sendo degradado e melhorando o desenvolvimento da célula vegetal.

No contexto geral, a utilização de filmes poliméricos para encapsular sementes se mostrou eficiente por promover uma melhor absorção de ANA, melhorando as características fisiológicas e promovendo um desenvolvimento mais proeminente em alguns órgãos da planta. As sementes encapsuladas com o filme M4 (Zn₂Al-ANA-HDL) em particular, apresentaram resultados similares ou superiores ao controle, com incrementos para o crescimento e formação de raízes. Como isso, a possibilidade da introdução dessa nova tecnologia no setor sementeiro poderá garantir melhor qualidade às sementes, e por consequência um melhor desenvolvimento da planta podendo ser aplicada em pequenas culturas, como jardins por exemplo.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. GONÇALVES, Valdeir Dias. Condições nutricionais e aplicações de auxina e ureia via foliar na fixação e tamanho de frutos de lichieira (*Litchi chinenses* Sonn) cv. Bengal.
2. PERROT-RECHENMANN, Catherine. Cellular responses to auxin: division versus expansion. **Cold Spring Harbor perspectives in biology**, p. a001446, 2010.
3. HINOJOSA, G. F. Auxina em plantas superiores: síntese e propriedades fisiológicas. **CID, LPB Hormônios vegetais em plantas superiores. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**, p. 15-57, 2005.
4. MERCIER, Helenice; KERBAUY, Gilberto Barbante. Endogenous IAA and cytokinin levels in bromeliad shoots as influenced by glutamine and ammonium nitrate treatments. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 10, n. 3, p. 225-228, 1998.
5. TAIZ, Lincoln et al. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Artmed Editora, 2017.
6. HOPKINS, William G. et al. **Introduction to plant physiology**. John Wiley and Sons, 1999.
7. WILLIAMS, Gareth R.; O'HARE, Dermot. Towards understanding, control and application of layered double hydroxide chemistry. **Journal of Materials Chemistry**, v. 16, n. 30, p. 3065-3074, 2006.
8. WENT, F. W. Phytohormones, 1937. **Regulation of Plant Growth & Development**, v. 44, n. 2, p. 142-153, 2009.
9. TRONTO, Jairo et al. **Compostos orgânicos de interesse farmacêutico intercalados em hidróxidos duplos lamelares: síntese, caracterização e estudo da liberação in vitro**. 2002. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo (USP). Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto.
10. CREPALDI, Eduardo Luis; VALIM, João Barros. Hidróxidos duplos lamelares: síntese, estrutura, propriedades e aplicações. **Química Nova**, v. 21, n. 3, p. 300-311, 1998.
11. TRONTO, Jairo et al. Organic anions of pharmaceutical interest intercalated in magnesium aluminum LDHs by two different methods. **Molecular Crystals and Liquid Crystals Science and Technology. Section A. Molecular Crystals and Liquid Crystals**, v. 356, n. 1, p. 227-237, 2001.
12. TRONTO, Jairo. **Síntese, caracterização e estudo das propriedades de hidróxidos duplos lamelares intercalados com polímeros condutores**. 2006. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

13. REICHLE, Walter T. Synthesis of anionic clay minerals (mixed metal hydroxides, hydrotalcite). **Solid State Ionics**, v. 22, n. 1, p. 135-141, 1986.
14. PINNAVAIA, Thomas J. Nanoporous layered materials. **Advances in chemistry series**, v. 245, p. 283-283, 1995.
15. BENÍCIO, Luíz Paulo Figueredo et al. Layered double hydroxides: New technology in phosphate fertilizers based on nanostructured materials. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 5, n. 1, p. 399-409, 2016.
16. BIN HUSSEIN, Mohd Zobir et al. Microwave-assisted Aging of Organic–inorganic Hybrid Nanocomposite of α -naphthaleneacetate in the Lamella of Zn-al-layered Double Hydroxide. **Journal of Materials Synthesis and Processing**, v. 10, n. 2, p. 89-95, 2002.
17. BIN HUSSEIN, Mohd Zobir et al. Controlled release of a plant growth regulator, α -naphthaleneacetate from the lamella of Zn–Al-layered double hydroxide nanocomposite. **Journal of Controlled Release**, v. 82, n. 2-3, p. 417-427, 2002.
18. LI, Shifeng et al. Simultaneous intercalation of 1-naphthylacetic acid and indole-3-butyric acid into layered double hydroxides and controlled release properties. **Journal of Nanomaterials**, v. 2014, p. 109, 2014.
19. HAFEZ, Inas H. et al. Design of a multifunctional nanohybrid system of the phytohormone gibberellic acid using an inorganic layered double-hydroxide material. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 58, n. 18, p. 10118-10123, 2010.
20. ATTA, Sanghamitra et al. Application of photoremovable protecting group for controlled release of plant growth regulators by sunlight. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 111, p. 39-49, 2012.
21. FAN, Ling et al. Chitosan microspheres for controlled delivery of auxins as agrochemicals. **Microchimica Acta**, v. 176, n. 3-4, p. 381-387, 2012.
22. RUMMAN SHAFI QUADERI, Shah Md et al. Influence of seed treatment with indole acetic acid on mungbean cultivation. **International journal of Botany**, v. 2, n. 1, p. 42-47, 2006.
23. IQBAL, Muhammad; ASHRAF, Muhammad. Seed treatment with auxins modulates growth and ion partitioning in salt-stressed wheat plants. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 49, n. 7, p. 1003-1015, 2007.
24. DAVIS, Tim D. Photosynthesis during adventitious rooting. **Advances in plant sciences series (USA)**, 1988.

25. ORTOLÁ, A. G.; MONERRI, C.; GUARDIOLA, J. L. The use of naphthalene acetic acid as a fruit growth enhancer in Satsuma mandarin: a comparison with the fruit thinning effect. **Scientia horticultrae**, v. 47, n. 1-2, p. 15-25, 1991.
26. AO, Mingming et al. Preparation and characterization of 1-naphthylacetic acid–silica conjugated nanospheres for enhancement of controlled-release performance. **Nanotechnology**, v. 24, n. 3, p. 035601, 2012.
27. GUEDES, Rodrigo da Silva; COSTA, Frederico Henrique da Silva; PEREIRA, Jonny Everson Scherwinski. Physical and nutritional characteristics of the encapsulated matrix of long pepper (*Piper hispidinervum* C. DC.) synthetic seed production. **Revista Árvore**, v. 31, n. 6, p. 1005-1011, 2007.
28. BRAGA, Valéria Prado et al. Avaliação do encapsulamento de sementes recalcitrantes de *Campomanesia adamantium* (Cambess) O. Berg. 2017.
29. VIEIRA, Clibas. **Cultura do feijão**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1978.
30. VIEIRA, Clibas. **Feijão: aspectos gerais e cultura no Estado de Minas**. Editora UFV, Universidade Federal de Viçosa, 1998.
31. BARBANO, MARCELO TREVIZAN. **Riscos climáticos e épocas de semeadura para o feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Carioca) na safra das águas no Estado de São Paulo**. 2003. Tese de Doutorado. MS thesis. Ames: Agronomic Institute of Campinas (IAC), microfiche.
32. LIDE, David R.; MILNE, George William Anthony. **CRC handbook of data on organic compounds**. CRC Press, 1993.
33. KORTÜM, Gustav; ANDRUSSOW, K. **Dissociation constants of organic acids in aqueous solution**. Butterworths, 1961.
34. LAL, Misri; HOWE, Arthur T. Studies of zinc-chromium hydroxy salts. II. Composite anion conductors of pressed disks of $[Zn_2Cr(OH)_6] X \cdot nH_2O$, where $X^- = F^-, Cl^-, Br^-, I^-, NO_3^-$, and $\frac{1}{2} CO_3^{2-}$. **Journal of Solid State Chemistry**, v. 39, n. 3, p. 377-386, 1981.
35. DE ROY, Andre et al. Anionic clays: trends in pillaring chemistry. In: **Expanded Clays and other microporous solids**. Springer, Boston, MA, 1992. p. 108-169.
36. ALLMANN, R. The crystal structure of pyroaurite. **Acta Crystallographica Section B**, v. 24, n. 7, p. 972-977, 1968.

37. EL MALKI, K.; DE ROY, A.; BESSE, J. P. Evolution related to hygrometry of two lamellar double hydroxide pillared structures [CuCrSO₄] and [ZnAlSO₄]. **Nanostructured materials**, v. 2, n. 2, p. 169-173, 1993.
38. DEPEGE, C. et al. [Cu-Cr] Layered Double Hydroxides Pillared by CrO₄²⁻ and Cr₂O₇²⁻ Oxometalates. **Molecular Crystals and Liquid Crystals Science and Technology. Section A. Molecular Crystals and Liquid Crystals**, v. 244, n. 1, p. 161-166, 1994.
39. CAVANI, F.; TRIFIRO, Ferruccio; VACCARI, A. Hydrotalcite-type anionic clays: Preparation, properties and applications. **Catalysis today**, v. 11, n. 2, p. 173-301, 1991.
40. NAIME FILHO, José Francisco. **Adsorção de colato em hidróxidos duplos lamelares de magnésio e alumínio: efeito da temperatura, pH e força iônica do meio**. 2009. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
41. DAVO, L. Anion-exchange in takovite: applications to other hydroxide minerals. **Bull. Mineral**, v. 103, p. 170-175, 1980.
42. CREPALDI, Eduardo L.; PAVAN, Paulo C.; VALIM, João B. Anion exchange in layered double hydroxides by surfactant salt formation. **Journal of Materials Chemistry**, v. 10, n. 6, p. 1337-1343, 2000.
43. CREPALDI, Eduardo L.; PAVAN, Paulo C.; VALIM, João B. A new method of intercalation by anion exchange in layered double hydroxides. **Chemical Communications**, n. 2, p. 155-156, 1999.
44. CREPALDI, Eduardo L.; PAVAN, Paulo C.; VALIM, João B. Comparative study of the coprecipitation methods for the preparation of layered double hydroxides. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 11, n. 1, p. 64-70, 2000.
45. BOEHM, Hanns-Peter; STEINLE, Johann; VIEWEGGER, Carmen. [Zn₂Cr(OH)₆]X·2H₂O, New layer compounds capable of anion exchange and intracrystalline swelling. **Angewandte Chemie International Edition in English**, v. 16, n. 4, p. 265-266, 1977.
46. WANG, J. A. et al. Cationic and Anionic Vacancies in the Crystalline Phases of Sol– Gel Magnesia– Alumina Catalysts. **Chemistry of materials**, v. 11, n. 2, p. 308-313, 1999.
47. LOPEZ, T. et al. Synthesis and Characterization of Sol– Gel Hydrotalcites. Structure and Texture. **Langmuir**, v. 12, n. 1, p. 189-192, 1996.
48. REICHLE, W. T.; KANG, S. Y.; EVERHARDT, D. S. The nature of the thermal decomposition of a catalytically active anionic clay mineral. **Journal of Catalysis**, v. 101, n. 2, p. 352-359, 1986.

49. TAYLOR, R. M. The rapid formation of crystalline double hydroxy salts and other compounds by controlled hydrolysis. **Clay Miner**, v. 19, n. 4, p. 591-603, 1984.
50. VISHNUÁKAMATH, P. et al. Electrogenation of base by cathodic reduction of anions: novel one-step route to unary and layered double hydroxides (LDHs). **Journal of Materials Chemistry**, v. 4, n. 9, p. 1487-1490, 1994.
51. INDIRA, L.; DIXIT, Mridula; KAMATH, P. Vishnu. Electrosynthesis of layered double hydroxides of nickel with trivalent cations. **Journal of Power Sources**, v. 52, n. 1, p. 93-97, 1994.
52. MIYATA, Shigeo; KUMURA, Teruhiko. Synthesis of new hydrotalcite-like compounds and their physico-chemical properties. **Chemistry Letters**, v. 2, n. 8, p. 843-848, 1973.
53. KOOLI, F.; RIVES, V.; ULIBARRI, M. A. Preparation and study of decavanadate-pillared hydrotalcite-like anionic clays containing transition metal cations in the layers. 2. Samples containing magnesium-chromium and nickel-chromium. **Inorganic Chemistry**, v. 34, n. 21, p. 5122-5128, 1995.
54. BISH, D. L.; BRINDLEY, G. W. A reinvestigation of takovite, a nickel aluminum hydroxy-carbonate of the pyroaurite group. **American Mineralogist**, v. 62, n. 5-6, p. 458-464, 1977.
55. RIVES, Vicente; ULIBARRI, María Angeles. Layered double hydroxides (LDH) intercalated with metal coordination compounds and oxometalates. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 181, n. 1, p. 61-120, 1999.
56. CIPRIANO DE PAULA, Cleberson et al. Organic bilayers intercalated in zinc (II)-chromium (III) layered double hydroxides. **Molecular Crystals and Liquid Crystals Science and Technology. Section A. Molecular Crystals and Liquid Crystals**, v. 356, n. 1, p. 327-335, 2001.
57. SCHUTZ, A.; BILOEN, P. Interlamellar chemistry of hydrotalcites: I. Polymerization of silicate anions. **Journal of Solid State Chemistry**, v. 68, n. 2, p. 360-368, 1987.
58. KOOLI, F. et al. Rehydration of Zn-Al layered double hydroxides. **Clays and clay minerals**, v. 45, n. 1, p. 92-98, 1997.
59. HIBINO, Toshiyuki et al. Decarbonation behavior of Mg-Al-CO₃ hydrotalcite-like compounds during heat treatment. **Clays and Clay Minerals**, v. 43, n. 4, p. 427-432, 1995.
60. ARAMENDÍA, María A. et al. Thermal decomposition of Mg/Al and Mg/Ga layered-double hydroxides: a spectroscopic study. **Journal of Materials Chemistry**, v. 9, n. 7, p. 1603-1607, 1999.

61. VALCHEVA-TRAYKOVA, M. L.; DAVIDOVA, N. P.; WEISS, A. H. Thermal decomposition of Mg, Al-hydrotalcite material. **Journal of materials science**, v. 28, n. 8, p. 2157-2162, 1993.
62. HOURI, B. et al. Removal of chromate ions from water by anionicc clays. **Journal de Chimie Physique et de Physico-Chimie Biologique**, v. 96, n. 3, p. 455-463, 1999.
63. MIYATA, Shigeo. Anion-exchange properties of hydrotalcite-like compounds. **Clays and Clay Minerals**, v. 31, n. 4, p. 305-311, 1983.
64. NEWMAN, Steven P.; JONES, William. Synthesis, characterization and applications of layered double hydroxides containing organic guests. **New journal of chemistry**, v. 22, n. 2, p. 105-115, 1998.
65. PUTYERA, K. et al. Effect of template constraints on adsorption properties of synthetic carbons prepared within the gallery of layered double hydroxides. **Carbon**, v. 34, n. 12, p. 1559-1567, 1996.
66. BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Regras para análise de sementes. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária**. 2009.
67. SILVA, J. B. C.; NAKAGAWA, J. Estudo de fórmulas para cálculo da velocidade de germinação. **Informativo Abrates**, v. 5, n. 1, 1995.
68. MAGUIRE, James D. Speed of Germination-Aid In Selection And Evaluation for Seedling Emergence And Vigor 1. **Crop science**, v. 2, n. 2, p. 176-177, 1962.
69. PETERSON, Cheryl L. et al. Characterization of antacid compounds containing both aluminum and magnesium. I. Crystalline powders. **Pharmaceutical research**, v. 10, n. 7, p. 998-1004, 1993.
70. HAYATI-ASHTIANI, Majid. Characterization of nano-porous bentonite (montmorillonite) particles using FTIR and BET-BJH analyses. **Particle & Particle Systems Characterization**, v. 28, n. 3-4, p. 71-76, 2011.
71. SALGADO, J. R. C.; GONZALEZ, E. R. Correlation between catalytic activity and particle size of Pt/C prepared by different methods. **Eclética Química**, v. 28, n. 2, p. 77-85, 2003.
72. COSTA, Paulo; LOBO, Jose Manuel Sousa. Modeling and comparison of dissolution profiles. **European journal of pharmaceutical sciences**, v. 13, n. 2, p. 123-133, 2001.

73. DA COSTA, Paulo Jorge Cardoso. Avaliação in vitro da bioequivalência de formulações farmacêuticas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, n. 2, p. 141-153, 2002.
74. HIGUCHI, T. Mechanism of sustained-action medication. Theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 52, n. 12, p. 1145-1149, 1963.
75. GOHEL, Mukesh C.; PANCHAL, Maulik K.; JOGANI, Viral V. Novel mathematical method for quantitative expression of deviation from the Higuchi model. **AAPS PharmSciTech**, v. 1, n. 4, p. 43-48, 2000.
76. SAFIRA, Software de análise de fibras e raízes por imagem. **Embrapa**, 2017. Disponível em: <http://labimagem.cnpdia.embrapa.br/Ferramentas.aspx?ferramenta=4>. Acesso em: 20 de set. de 2017.
77. IMAGEJ, Editor de imagens Java. **Baixaki**, 2017. Disponível em: <https://www.baixaki.com.br/download/imagej.htm>. Acesso em: 20 de set. de 2017.
78. CARVALHO, A.M.X.; Mendes, F.Q. SPEED Stat: a minimalista and intuitive spreadsheet program for classical experimental statistics. **Anais da 62ª Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria**, 333 pp, 2017.
79. SILVERSTEIN, R. M. Identificação espectrométrica de compostos orgânicos. 508p. **LTC**, 7ed, 2006.
80. SING, Kenneth SW. Reporting physisorption data for gas/solid systems with special reference to the determination of surface area and porosity (Recommendations 1984). **Pure and applied chemistry**, v. 57, n. 4, p. 603-619, 1985.
81. REIS, Danielle Cristina Neves Silveira Pessôa et al. Importância do estudo da área superficial específica e porosidade do estearato de magnésio para o setor farmacêutico. 2013.
82. IUPAC Report of the Physical Chemistry Division. **Pure Appl. Chem.** v. 57, 603.10.1351/pac198557010149, 1985.
83. MANNHEIMER, Walter A. **Microscopia dos materiais: uma introdução**. Editora E-papers, 2002.
84. BARBOSA FILHO, Morel Pereira; FAGERIA, Nand Kumar; DA SILVA, Osmira Fátima. Fontes, doses e parcelamento da adubação nitrogenada em cobertura para feijoeiro comum irrigado. **Embrapa Arroz e Feijão - Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2005.

APÊNDICE A – REAGENTES

Reagentes	Fórmula molecular	Marca	Pureza (%)
Acetileno	C_2H_2	White Martins	99,8 %
Acetonitrila	C_2H_3N	Vetec	99,8 %
Ácido 1-naftalenoacético	$C_{12}H_{10}O_2$	Vetec	97,0 %
Ágar-ágar tipo 1	$C_{24}H_{38}O_{19}$	Himedia	> 99,0 %
Ácido nítrico	HNO_3	F. Maia	65,0 %
Alginato de sódio	$NaC_6H_7O_6$	Vetec	> 99,0 %
Padrão de alumínio	$Al(NO_3)_3 + HNO_3$ 0,5 mol/L	Merck	> 99,0 %
Ar comprimido	-----	White Martins	100,0 %
Carbonato de sódio	Na_2CO_3	Dinâmica	99,5 %
Hidróxido de sódio	$NaOH$	Isofar	99,0 %
Nitrato de zinco hexahidratado	$Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$	Dinâmica	> 99,0 %
Nitrato de alumínio nonohidratado	$Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$	Dinâmica	98,5 %
Nitrato de cálcio	$Ca(NO_3)_2$	Vetec	99,0 %
Óxido nitroso	N_2O	White Martins	100,0 %
Padrão de zinco	4,0 g de $Zn(NO_3)_2 \cdot 4H_2O + 5 \% HNO_3$	Grupo Química	> 99,0 %
Nitrogênio	N_2	White Martins	> 99,0 %
Hipoclorito de sódio comercial	$NaClO$	Qboa	2,5 %
	Nitrato de cálcio – $Ca(NO_3)_2$ (375 g/L)	Vetec	99,0 %
	Nitrato de potássio – KNO_3 (737 g/L)	Vetec	99,0 %
	Monoamônio-fosfato – $P_2O_5 + NH_4^+$ (134 g/L)	Vetec	99,0 %
	Sulfato de magnésio – $MgSO_4$ (313 g/L)	Vetec	99,0 %
	Nitrato de amônio – NH_4NO_3 (146 g/L)	Vetec	99,0 %
Solução nutritiva de sais minerais	Nitrato de magnésio – $Mg(NO_3)_2$ (28 g/L)	Vetec	99,0 %
	Ácido bórico – H_3BO_3 – (2,86 g/L)	Vetec	99,0 %
	Sulfato de cobre – $CuSO_4$ (0,08 g/L)	Vetec	99,0 %
	Sulfato de manganês – $MnSO_4$ (1,54 g/L)	Vetec	99,0 %
	Sulfato de zinco – $ZnSO_4$ (0,22 g/L)	Vetec	99,0 %
	Molibdato de amônio - $(NH_4)_6Mo_7O_{24}$ (0,024 g/L)	Vetec	99,0 %
	Fe-EDTA	-----	-----

APÊNDICE B – IMAGENS DOS BIOENSAIOS

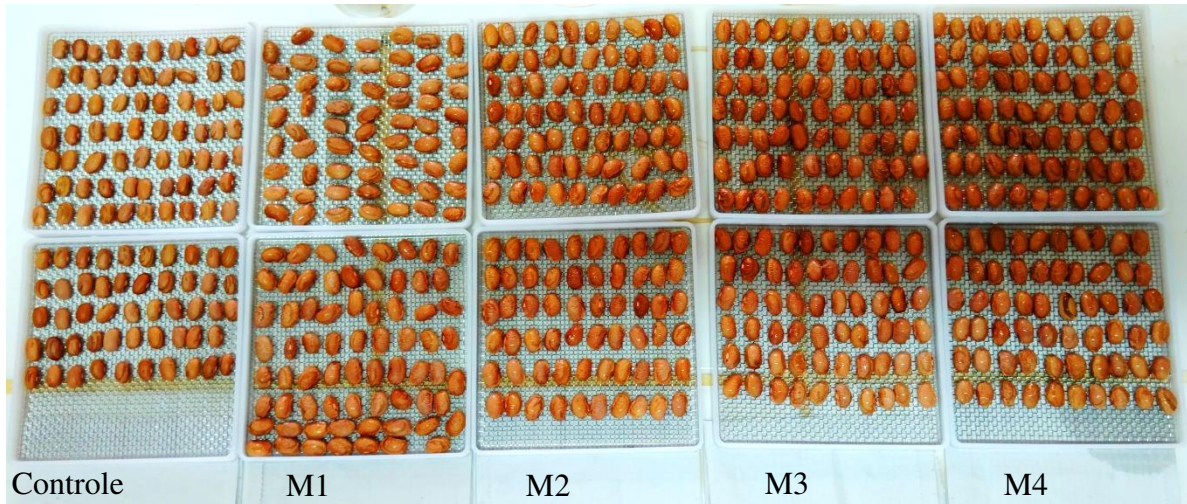


Figura B.1: Sementes sem encapsulação (controle) e encapsuladas com *M1 = alginato*, *M2 = Zn_2Al-CO_3-HDL* , *M3 = ANA* e *M4 = $Zn_2Al-ANA-HDL$* .

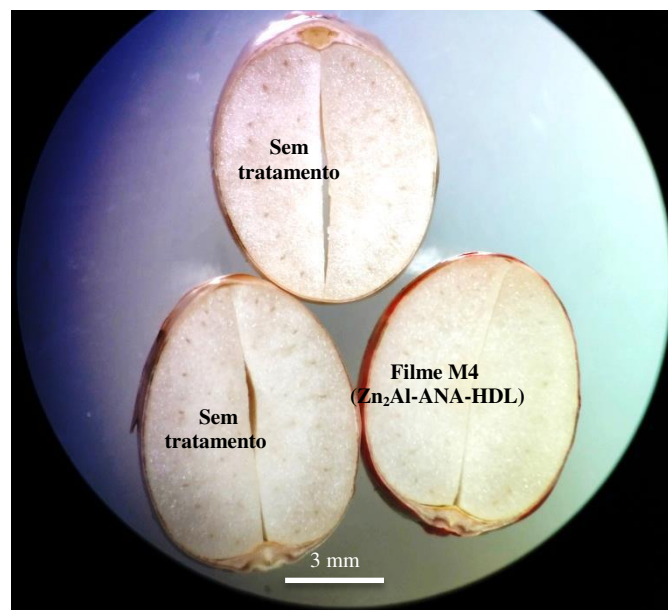


Figura B.2: Semente sem tratamento e encapsulada com o filme M4 ($Zn_2Al-ANA-HDL$) cortada e ampliada através de uma lupa.

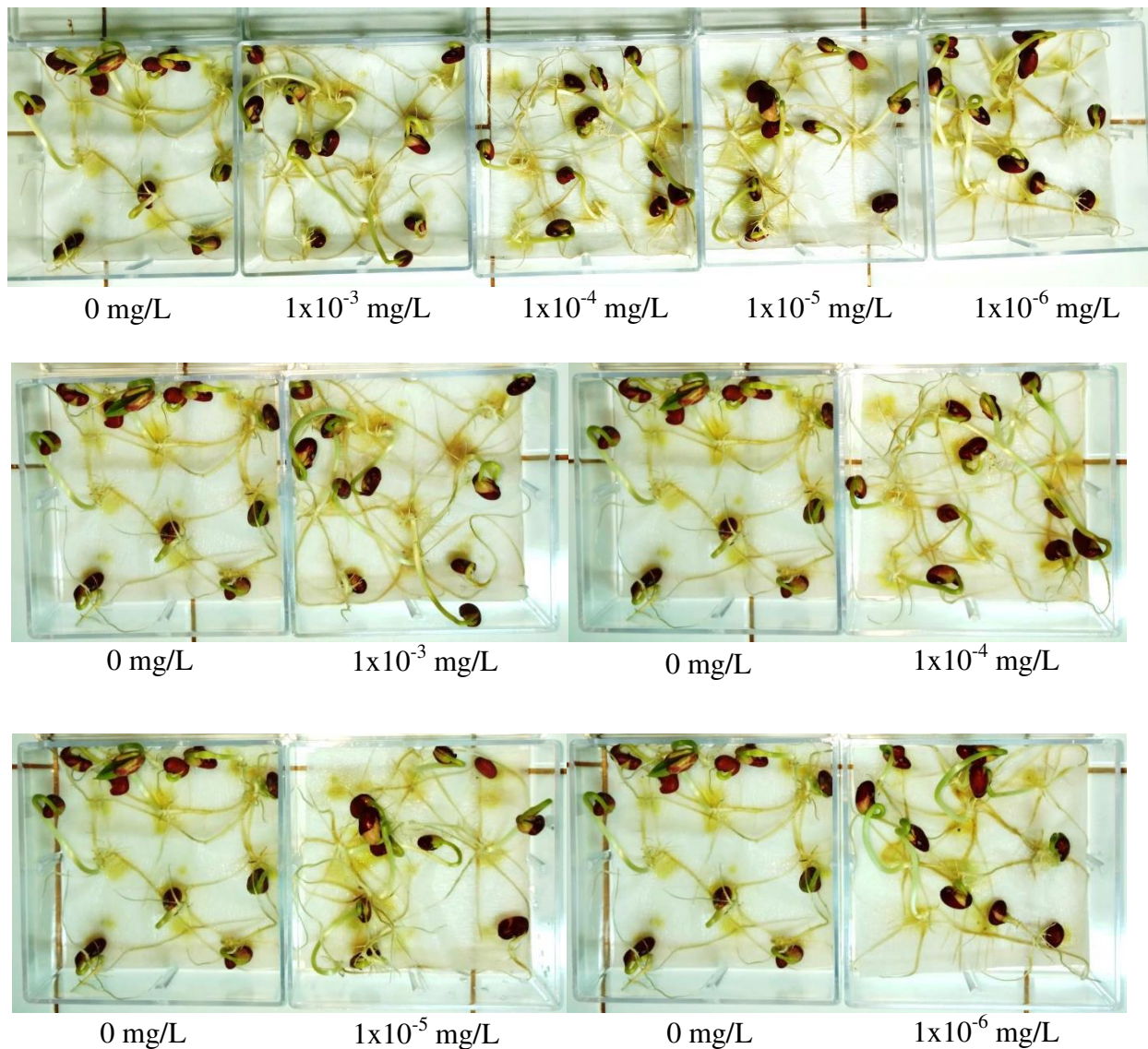


Figura B.3: Pré-ensaio da concentração de ANA.

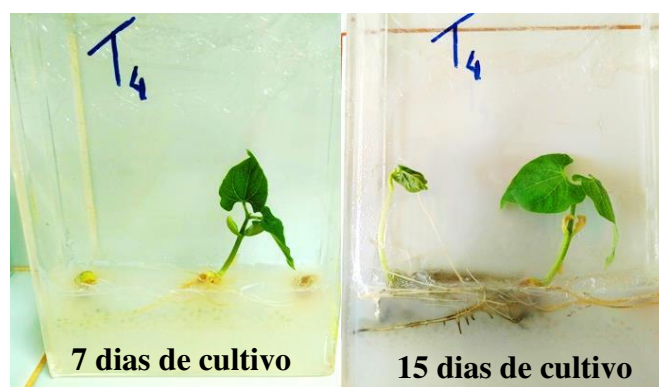


Figura B.4: Sementes encapsuladas com o filme M4 (Zn₂Al-ANA-HDL), feito no ágar após 7 e 15 dias de cultivo.



Figura B.5: Bioensaio realizado em vasos com solo.

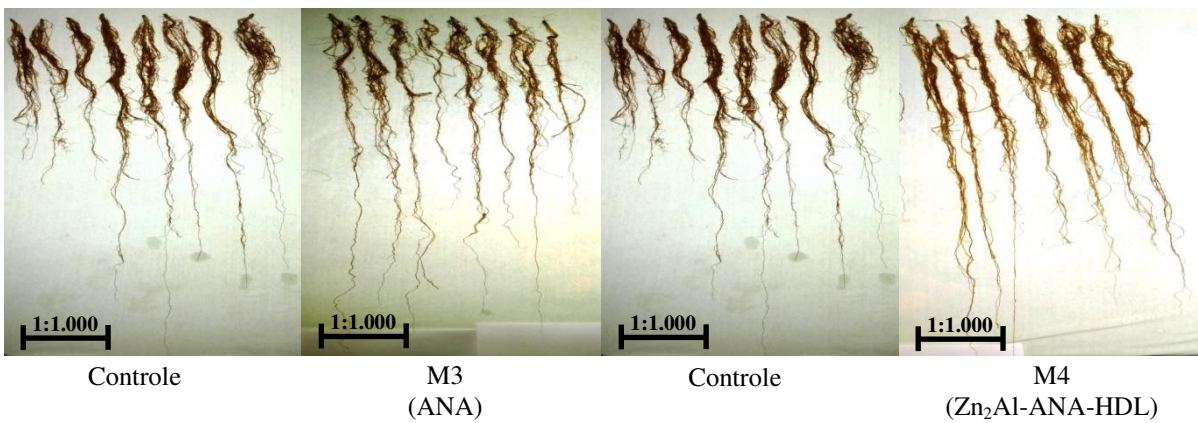
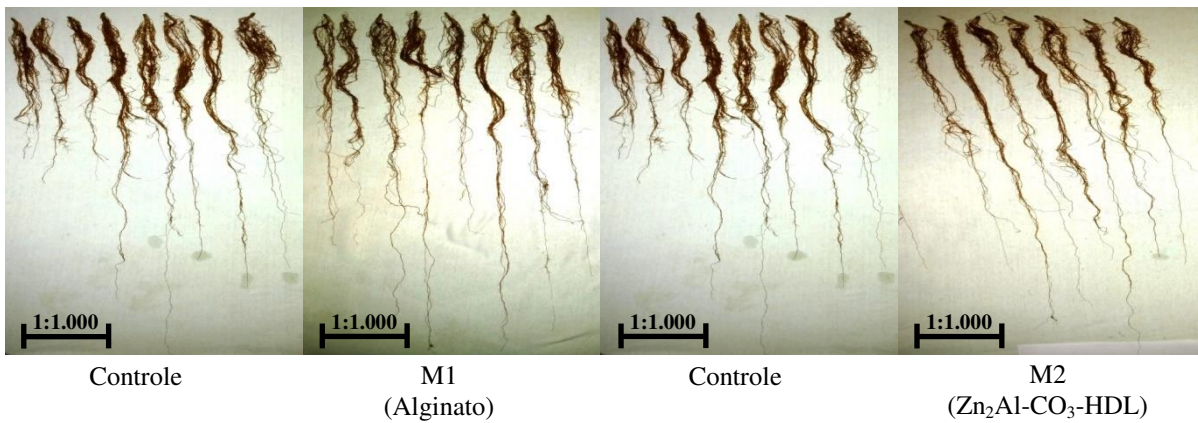
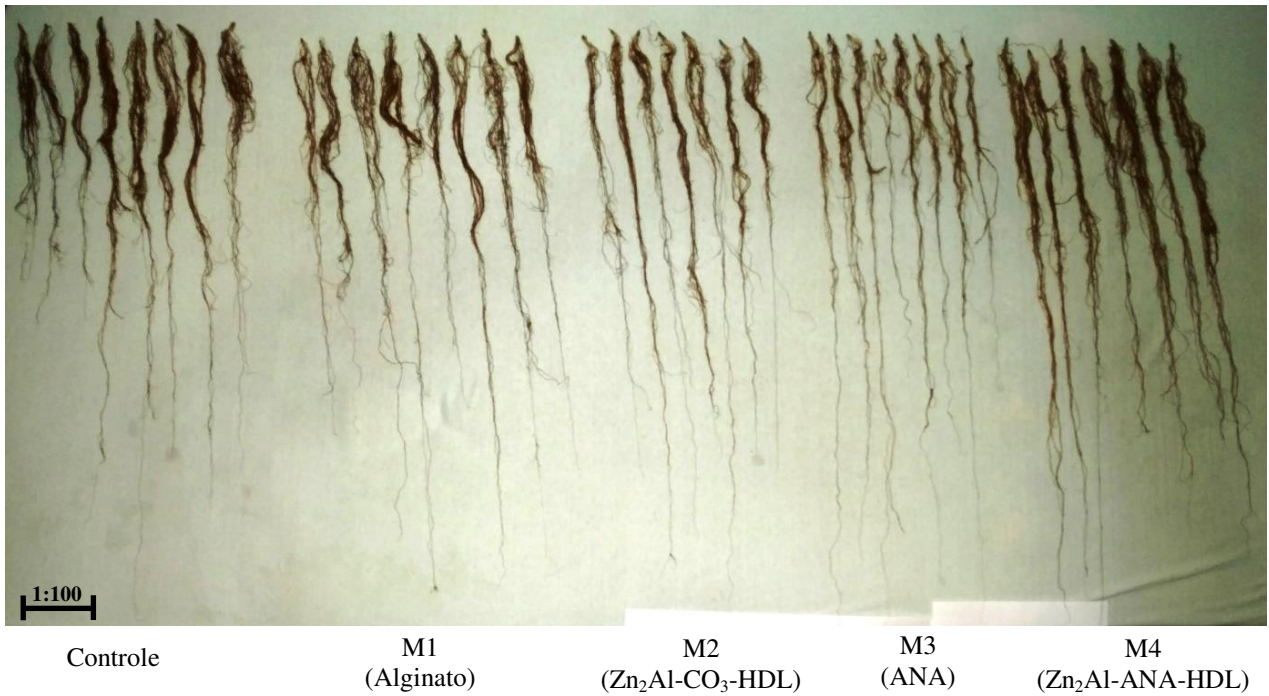


Figura B.6: Raízes do bioensaio realizado em vasos com solo.