



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

KELLY SANTANA LIMA

NANOCOMPÓSITOS
QUITOSANA/POLIETILENOGLICOL/LAPONITA PARA
TRATAMENTO DE SEMENTES

CHITOSAN / POLYETHYLENE GLYCOL / LAPONITE
NANOCOMPOSITES IN SEED TREATMENT





UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

KELLY SANTANA LIMA

NANOCOMPÓSITOS
QUITOSANA/POLIETILENOGLICOL/LAPONITA NO
TRATAMENTO DE SEMENTES

Exame de defesa de Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, da Universidade Federal de Sergipe, para a obtenção do título de Doutor em Química.

Orientador: Prof. Dr. Victor Hugo Vitorino Sarmiento

Coorientadora: Prof. Dr. Renata Silva Mann

CHITOSAN / POLYETHYLENE GLYCOL / LAPONITE
NANOCOMPOSITES IN SEED TREATMENT

Defense exam Doctorate thesis presented to the Postgraduate Program in Chemistry of the Federal University of Sergipe to obtain Ph.D. in Chemistry.



**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

L732n Lima, Kelly Santana
Nanocompósitos quitosana/polietilenoglicol/laponita no
tratamento de sementes / Kelly Santana Lima ; orientador Victor
Hugo Vitorino Sarmento. – São Cristóvão, 2023.
113 f.; il.

Tese (doutorado em Química) – Universidade Federal de
Sergipe, 2023.

1. Nanocompósitos (Materiais) 2. Polímeros. 3. Minerais de
argila. 4. Tecnologia de sementes. I. Sarmento, Victor Hugo
Vitorino orient. II. Título.

CDU 678.7



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
Programa de Pós-Graduação em Química
PPGQ



FOLHA DE APROVAÇÃO

Membros da Comissão Julgadora da Tese de Doutorado de Kelly Santana Lima apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Sergipe em 27/02/2023.

Documento assinado digitalmente
gov.br VICTOR HUGO VITORINO SARMENTO
Data: 27/04/2023 14:29:13-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Victor Hugo Vitorino Sarmento
Departamento de Química do Campus de Itabaiana- UFS

Documento assinado digitalmente
gov.br RENATA CRISTINA KIATKOSKI KAMINSKI
Data: 27/04/2023 12:58:11-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.^a Dr.^a Renata Cristina Kiatkoski Kaminski
Departamento de Química do Campus de Itabaiana- UFS

Documento assinado digitalmente
gov.br IARA DE FATIMA GIMENEZ
Data: 01/03/2023 15:05:49-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof.^a Dr.^a Iara de Fatima Gimenez
Departamento de Química – UFS

Documento assinado digitalmente
gov.br MARCOS VINICIUS MEIADO
Data: 28/02/2023 19:54:12-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof. Dr. Marcos Vinicius Meiado
Departamento de Biociências - UFS

Documento assinado digitalmente
gov.br JULIANA LOPES SOUZA
Data: 28/02/2023 13:41:41-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Dr.^a Juliana Lopes Souza (Embrapa)

RESUMO

A utilização comercial de laponita e quitosana, de maneira ecologicamente correta e visando materiais sustentáveis, é um novo desafio a se considerar na bioeconomia. Nanocompósitos polímero/argila são uma classe de materiais orgânico/inorgânicos que têm mostrado vasta aplicação em diversas áreas, a exemplo do revestimento de sementes que pode ser utilizado na sua proteção, hidratação ou liberação de agroquímicos. Neste trabalho, buscou-se sintetizar e estudar nanocompósitos polímero/argila a base de polietilenoglicol (PEG), quitosana e laponita visando o seu uso no tratamento de sementes. Para a construção da fundamentação teórica e do estado da técnica, iniciou-se o estudo prospectando a base tecnológica do uso das principais substâncias usadas no nanocompósito e suas propriedades, por meio de uma revisão sistemática. Empregou-se o pacote Bibliometrix do software R para análise biométrica das publicações. A prospecção de patentes foi realizada na base Lens. Foram prospectadas 132 publicações nas bases científicas *Scopus* (53) e *Web of Science* (WoS) (79). Não foram encontrados nestas plataformas publicações utilizando a laponita e a quitosana combinadas para o revestimento de sementes. Em seguida os materiais foram caracterizados por espectrofotometria de absorção na região do infravermelho (FTIR), análise térmica e reológica, além do recobrimento de sementes de alface e milho. Os nanocompósitos polímero/argila preparados mostraram propriedades térmicas melhoradas. Quanto às suas características reológicas, mostraram que a quitosana interfere diretamente na deformação máxima suportada pelas amostras. Houve a composição de um sistema reticulado e pouco fluído, propício a aplicação como revestimento em sementes. O potencial uso do nanocompósito foi testado em sementes de alface e milho submetidas ao teste de germinação. As sementes de alface tratadas com os nanocompósitos P12Q6L09 e P12Q45L0, mostraram taxa de germinação 100%, superior ao controle. Quanto às sementes de milho, as amostras P12Q0L0 e P12Q0L09 apresentaram as melhores taxas de germinação, 91 e 95%, respectivamente, enquanto o controle obteve 83%. Portanto, as amostras apresentam potencial uso como revestimento destes propágulos e mostraram resultados diferentes em culturas distintas.

Palavras-chave: Hidrogéis; argilominerais; revestimentos de sementes.

ABSTRACT

The commercial use of laponite and chitosan, in an environmentally friendly way and aiming at sustainable materials, is a new challenge to be considered in the bioeconomy. Polymer/clay nanocomposites are a class of organic/inorganic materials that have shown vast application in several areas, such as the coating of seeds that can be used in their protection, hydration or release of agrochemicals. In this work, we sought to synthesize and study polymer/clay nanocomposites based on polyethylene glycol (PEG), chitosan and laponite, aiming at its use in seed treatment. To build the theoretical foundation and the state of the art, the study started by prospecting the technological basis of the use of the main substances used in the nanocomposite and their properties, through a systematic review. The Bibliometrix package of the R software was used for the biometric analysis of the publications. The prospection of patents was carried out in the Lens database. For this, 132 publications were prospected in the scientific databases Scopus (53) and Web of Science (WoS) (79). No publications using laponite and chitosan combined for seed coating were found in these platforms. The materials were then characterized by absorption spectrophotometry in the infrared region (FTIR), thermal and rheological analysis, and coating of lettuce and corn seeds. Polymer/clay nanocomposites were prepared and showed improved thermal properties. The nanocomposites, regarding their rheological characteristics, showed that the chitosan interferes directly in the maximum deformation supported by the samples. There was the composition of a cross-linked system and little fluid, suitable for application as a coating on seeds. The potential use of the nanocomposite was tested on lettuce and corn seeds submitted to the germination test. Lettuce seeds treated with P12Q6L09 and P12Q45L0 nanocomposites showed 100% germination rate, higher than the control. As for corn seeds, samples P12Q0L0 and P12Q0L09 showed the best germination rates, 91 and 95%, respectively, while the control obtained 83%. Therefore, the samples present potential use as coatings for these propagules and showed different results in different crops.

Keywords: Hydrogels; clay minerals; seed coatings.

ITABALUA 15 de JUNHO de 1996
AS. ALCIDES
KELLY PAI TE AMM

Dedico este trabalho aos meus pais Vanira e Alcides (In memoriam), pois tudo que sou, sei e que posso ser devo a vocês. Ao meu esposo João Antônio por todo apoio, amor, compreensão e incentivo. Amo vocês.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que colaboraram direta ou indiretamente para construção deste trabalho, sobretudo a Deus por ser meu refúgio e fortaleza nos momentos difíceis e me abençoar constantemente. Meu agradecimento especial:

Aos meus familiares, em especial a minha mãe Vanira e meu esposo João Antônio, por todo amor incondicional, apoio nos momentos difíceis, incentivo constante e compreensão pelas minhas falhas e ausências. Ao meu pai, mesmo não estando aqui há tanto tempo, me ensinou que a maior herança que poderia me deixar eram os estudos, e minha mãe sempre reforçou isso e fez de tudo para continuarmos estudando. Aos meus irmãos, Júlia e Jailison por sempre acreditarem em mim. Também ao meu afilhado e primo Leonardo por me trazer paz e me encher de amor.

Ao professor Dr. Victor Hugo Vitorino Sarmiento por toda orientação, ensinamentos, apoio e paciência. O senhor é um profissional e pessoa admirável.

A professora Dr^a. Renata Silva Mann, por todas as suas valiosas contribuições, orientações e suporte. Feliz daquele que encontra pessoas como a senhora no caminho que percorre.

Aos professores da banca por todas as discussões que contribuirão ainda mais para o sucesso deste trabalho.

Aos professores do PPGQ que contribuíram para minha aprendizagem durante este processo.

Ao professor Dr. Fernando Dalt Pont Morisso, Laboratório de Estudos Avançados em Materiais da Universidade Feevale, pelas medidas realizadas.

Ao Centro de Laboratórios de Química Multiusuários (CLQM), pelo acesso aos equipamentos, em especial, a pessoa de Roberta sempre disposta a nos ajudar.

Ao Laboratório de Estudos de Sistemas Coloidais (NUESC), no Instituto de Tecnologia e Pesquisa, por fornecer o equipamento e o apoio técnico para os experimentos.

Aos colegas do Grupo de Pesquisa em Conservação, Melhoramento e Gestão de Recursos Genéticos (GENAPLANT), Matheus, Valdinete (Val), Sara e Lucas, pela parceria nas análises de sementes.

Aos colegas do Laboratório de Pesquisa em Materiais Híbridos (LPMH) por toda ajuda e companheirismo, em particular Brena e Felipe.

A meus amigos que sempre me tiravam risadas, sempre me apoiando a seguir. Em especial, Daniela (carinho e gratidão indescritíveis, a de sempre e para sempre) e Laís, mesmo longe estão sempre perto e transmitem paz e carinho. Também a Elly, Cacau e Adrielly por não entenderem, mas ouvirem tudo sobre esse trabalho com paciência e sempre me apoiarem e confiarem em mim. A Joseane por sempre estar disposta a ouvir e ajudar. E aos amigos que encontrei nessa reta final, em terras alagoanas, por me incentivarem e acreditarem que eu conseguiria mesmo quando eu mesma duvidava.

A Fapitec, CAPES e CNPq pela bolsa e pelo apoio financeiro que tornaram este trabalho possível.

Gratidão!

Sumário

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	Laponita	5
1.2	Quitosana	8
1.3	Polietilenoglicol	10
1.4	Nanocompósitos polímero/argila	12
1.5	Revestimento de sementes	14
1.6	Nanocompósitos, usos e aplicações	17
1.6.1	Hidrogéis	17
2	OBJETIVOS	22
2.1	Objetivo Geral	22
2.2	Objetivos Específicos	22
3	BUSCA DE ANTERIORIDADE E ESTADO DA TÉCNICA	23
3.1	BUSCA DE ANTERIORIDADE	24
4	ESTUDO DE TOXICIDADE DOS NANOCOMPÓSITOS	54
4.1	MATERIAIS E MÉTODOS	55
4.1.1	Síntese dos nanocompósitos	55
4.2	Técnicas de caracterização	56
4.2.1	<i>Espectrofotometria de Absorção na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)</i>	56
4.2.2	<i>Análise Termogravimétrica</i>	57
4.2.3	<i>Comportamento reológico</i>	57
4.2.4	<i>Revestimento das sementes</i>	58
4.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	59
4.3.1	<i>Caracterização estrutural dos nanocompósitos</i>	59
4.3.2	<i>Testes preliminares de viabilidade e vigor</i>	67
4.4	CONCLUSÕES PARCIAIS	71
5	ESTUDO DA COMPOSIÇÃO DOS NANOCOMPÓSITOS	54
5.1	MATERIAIS E MÉTODOS	73
5.1.1	<i>Síntese dos nanocompósitos</i>	73
5.2	Técnicas de caracterização	74
5.2.1	<i>Espectrofotometria de Absorção na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) de nanocompósitos</i>	74
5.2.2	<i>Análise Termogravimétrica de nanocompósitos</i>	74
5.2.3	<i>Comportamento reológico de nanocompósitos</i>	75
5.2.4	<i>Revestimento das sementes</i>	75
5.2.4.1	<i>Testes empregando Zea mays L.</i>	75

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	76
5.4 CONCLUSÕES FINAIS.....	91
6. PERSPECTIVAS DO TRABALHO	92
7. PRODUÇÕES.....	93
8. REFERÊNCIAS	94
9. ANEXOS.....	94

1 INTRODUÇÃO

A sustentabilidade dos produtos e serviços tornou-se requisito obrigatório e essencial para as organizações, governos, mercados e sociedade em geral. Entre as várias formas de medir a sustentabilidade, existem técnicas baseadas no pensamento do ciclo de vida, que fornecem um dos quadros para avaliar os impactos potenciais dos produtos e serviços [1].

A sustentabilidade pode ser acessada por meio dos princípios da bioeconomia, uma ciência que visa a sustentabilidade de produtos e serviços, por meio da utilização de recursos naturais e renováveis concomitante ao emprego de novas tecnologias de forma ecológica. A bioeconomia está presente na produção de vacinas, enzimas industriais, novas variedades vegetais, biocombustíveis, cosméticos e nanocompostos que reúnam materiais sustentáveis e menos tóxicos ao ambiente. Esta ciência volta-se cada vez mais as questões ecológicas e socioeconômicas ligadas ao setor agroindustrial, desde a geração de emprego à qualidade do solo e água [2]. A utilização de compostos como a laponita e quitosana que são ecologicamente viáveis; e que são comercialmente acessíveis avêm de encontro ao desafio para se obter materiais mais sustentáveis como almejado pela bioeconomia.

Um dos setores com grande demanda por sustentabilidade que tem cada vez mais empregado novas moléculas e nanotecnologia é o setor agroindustrial. A agricultura ocupa um terço da superfície terrestre, movimentando milhões de dólares e gerando inúmeros empregos [3] com a exigência de novos materiais sustentáveis em consonância com a bioeconomia.

A natureza transversal da bioeconomia oferece uma oportunidade única para abordar desafios sociais interligados de maneira abrangente, como

segurança alimentar, escassez de recursos naturais, dependência de recursos fósseis e mudanças climáticas, ao mesmo tempo o desenvolvimento econômico sustentável [4]. Assim, a crescente demanda por alimentos, aliada ao cenário climático e a práticas convencionais fazem necessárias novas buscas por materiais alternativos e desenvolvimento de novas tecnologias, que possibilitem à agricultura atender estas premissas [3,5-7].

Diante disto, a agricultura de precisão busca melhorar a produção, rendimentos e lucros, além de reduzir o uso de agroquímicos e diminuir os impactos ambientais [8]. Para atender a demanda em produtividade é necessário o desenvolvimento de novas tecnologias que como, por exemplo, o uso de programas que buscam otimizar a distribuição de culturas e aplicação controlada de insumos em áreas agrícolas, por meio das técnicas de otimização multi objetivas que elaboram soluções ideais, chamadas de soluções ideais de Pareto. Estas inovações podem envolver também o uso de substâncias de origem natural, e assim a substituição de produtos sintéticos em naturais com nenhum, ou mínimo impacto ambiental [6].

O revestimento de sementes movimenta bilhões de dólares no setor agrícola. É uma técnica dominada pelo setor privado [10]. Este revestimento consiste na aplicação de um material exógeno às sementes, como corantes e polímeros que modificam a sua forma e tamanho. Também facilitam a redução do atrito em maquinários agrícolas empregados no plantio; como também podem conter agentes biocontroladores e microrganismos, na forma de bioinsumos, que protegem e melhoram a manutenção da qualidade e desempenho das sementes [3,11].

O uso de revestimentos de sementes em grande escala iniciou-se na década de 1960 [12]. Podem ser de três tipos: a) filme, que consiste na aplicação de uma camada fina do material à casca das sementes, sem modificar sua forma

e tamanho, o que facilita o plantio; b) peletização, que por sua vez, modifica o tamanho, peso e a forma das sementes, tornando-as mais uniformes facilitando o plantio; e c) incrustação, forma intermediária aos demais revestimentos quanto a modificação de peso e espessura de material nas sementes [3, 7,10].

Aos revestimentos pode se associar agentes estimuladores de crescimento, que contribuem para a produtividade das plantas. Composições variáveis destes revestimentos com agentes marcadores podem auxiliar na distinção de produtos por serem visíveis (cores) ou não (corantes fluorescentes); e permitem o rastreamento de lotes de sementes quanto a origem, o tratamento recebido pela semente e adicionalmente facilitam a semeadura e dificultam a falsificação como sementes piratas. Desta forma, contribuem para a qualidade e procedência das sementes no processo de certificação e fiscalização [10].

A disponibilidade de nutrientes durante o crescimento das plantas é outro fator que pode ser melhorado com os agentes adicionados ao revestimento. Neste caso, podem ser macro e micronutrientes essenciais como fósforo (P), potássio (K), cobre (Cu), manganês (Mn) e zinco (Zn), dentre outros. Existem inúmeros trabalhos empregando o potencial do uso de revestimentos em sementes, que podem levar a ganhos produtivos [13-16].

Entretanto, alguns protetores requerem cuidado, pois podem prejudicar o meio ambiente e o ecossistema. Como alternativa existe possibilidades de matéria-prima para uso em revestimentos, como o uso da laponita e da quitosana, existente em esqueletos dos crustáceos [17,18].

A laponita é uma hectorita sintética, pertencente a classe das esmectitas, que apresenta forma de discos nanométricos [19,20]. Esta substância é composta por camadas de sílica tetraédricas e folhas octaédricas de óxido de magnésio [21]. Seus discos têm face carregada negativamente e bordas

carregadas positivamente, o que faz com que em meio aquoso possam formar estrutura “castelo de carta”, a estrutura é formada quando a argila se encontra por volta de 2% em massa, e a suspensão de laponita em água torna-se gel [19,20].

A laponita pode se intumescer, absorvendo altas quantidades de água, apresenta elevada biocompatibilidade, morfologia anisotrópica e grande superfície de contato. Tais características a tornam atraente para o desenvolvimento de nanocompósitos e aplicação em diversas áreas [19,22].

A quitosana é um biopolímero, atóxico, biodegradável, versátil e muito abundante. Obtido pela desacetilação da quitina e insolúvel em água. A quitosana tem sido utilizada no revestimento de sementes; entre outras aplicações na agricultura. O uso da quitosana na forma de nanosolução tem ampliado a possibilidade de aplicações [23-25], e tem sido descrita a capacidade do seu hidrogel formado na adsorção de resíduos, podendo ter ação na remediação de compostos tóxicos [25].

Além de atenuar o estresse abiótico nas plantas, a quitosana tem sido usada com efeitos positivos nas taxas de germinação de sementes e crescimento de mudas a baixas temperaturas [24,25]. Os nanocompósitos de quitosana podem ser obtidos quando este polímero é misturado com nanoargilas, como a montmorilonita e a laponita. Os nanomateriais oriundos desta combinação oferecem melhoria na resistência mecânica, atividade antibacteriana e transporte de ativos [25].

A quitosana promove a indução de enzimas, como a glucanase, polissacarídeos, como as quitinas e, além de compostos fenólicos, terpenóides, proteínas, inibidores de proteases, lignificação, deposição de calos e compostos associados a explosão oxidativa; o que faz com que as plantas desenvolvam

mecanismos de defesa. Por esse motivo, a quitosana vêm sendo utilizada para tratamento de plantas e sementes e tem demonstrado melhores taxas de germinação, qualidade fisiológica e vigor, além de induzir as defesas naturais das plantas. O uso de agroquímicos aliados à quitosana também têm mostrado resultados promissores [11].

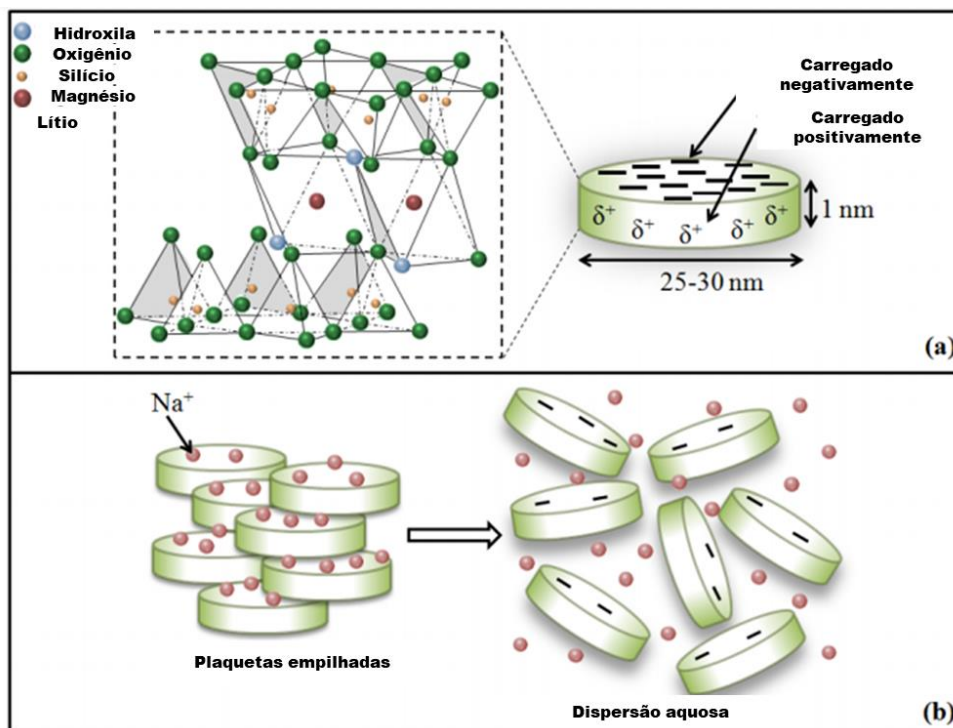
1.1 Laponita

De acordo com a *Clay Mineral Society* argilominerais são minerais que conferem plasticidade à argila e que endurecem ao serem secos ou queimados. Estes minerais apresentam estruturas cristalinas que variam naturalmente em virtude da sua formação geológica. Os argilominerais filossilicatos podem entumecer, absorvendo grandes quantidades de solventes. Dentre os filossilicatos pode-se citar as esmectitas, em especial a laponita (Lap) [26].

A laponita é uma hectorita sintética da classe das esmectitas do tipo 2:1, cuja fórmula química $\text{Na}^{+}_{0,7}[(\text{Mg}_{5,5}, \text{Li}_{0,3}) \text{Si}_8 \text{O}_{20}(\text{OH})_4]^{-0,7}$, é obtida por silicatos de sódio combinados à sais de sódio, magnésio e lítio. Apresenta dimensões nanométricas, com placas em formato de discos de 1 nm de espessura. É composta por duas camadas de sílica tetraédrica e uma de óxido de magnésio octaédrica, de 25-30 nm (Figura 1). Seus cátions são coordenados por íons óxido e grupos hidroxila [26,27].

Os átomos de magnésio encontrados nas camadas de laponita podem ser substituídos por átomos de lítio, levando a formação de carga negativa nesta superfície com o balanço de cargas pelos cátions de sódio. As bordas dos discos apresentam densidade de carga positiva, oriunda da protonação de grupos hidroxila, e suas faces são carregadas negativamente [26].

Figura 1 – Representação esquemática de nanoplaquetas (a) primárias de laponita e esfoliação de nanoplaquetas em água (b).



Fonte: Adaptado de Morariu & Teodorescu, 2020[34].

A presença de cargas na laponita e a interação eletrostática destas com as moléculas de água facilitam a dispersão da laponita em meio aquoso à baixas concentrações. A argila pode flocular formando agregados em formato de pilhas ou “casa de cartas” [26-28]. Devido as cargas, a laponita também exibe fortes interações entre polímeros, em geral; e as camadas da argila, o que leva a formação de materiais reticulados (funciona como agente de reticulação) e nanocompósitos [29]. Entre as lamelas da Lap encontram-se íons sódio que

podem ser trocados, o que leva a capacidade de troca catiônica (CTC) da laponita de 60 meq/100 g [21,30].

A laponita pode ainda ser adicionada a homogeneamente a polímeros para formação de nanocompósitos polímero/argila. O uso de argilas, como fase dispersa, para formação de nanocompósitos, tem crescido devido a possibilidade de melhorar as propriedades físico-químicas dos polímeros [27]. Os uso de laponita numa proporção de até 2% em massa, mostrou a formação de materiais com forte interação e melhores propriedades mecânicas e adesivas ao revestimento, além de promoverem melhoria da bioatividade do material [31].

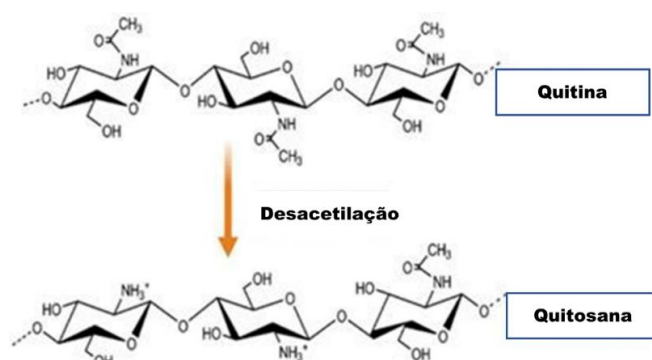
Por sua estrutura única, a laponita também tem sido utilizada no transporte de medicamentos, que são adsorvidos pela argila, ou intercalados entre suas lamelas. Nesta forma por serem protegidos da degradação no ambiente fisiológico e são liberados em condições ácidas. Observou-se que em concentrações inferiores a 1 mg.ml⁻¹ a laponita não é considerada citotóxica, o que a torna adequada a distribuição de medicamentos e aplicações biomédicas, em especial, quando aliadas a polímeros como alginato e quitosana [26,32].

A associação da quitosana a laponita foi utilizada também na produção de nanocompósitos magnéticos para adsorção de corantes de soluções aquosas [33]. Na indústria alimentícia, laponita com nanopartículas de prata em suas lamelas e quitosana foram utilizadas no preparo de filmes com atividade antimicrobiana para armazenamento e frescor de lichia (*Litchi chinensis* Sonn.) por um maior período [34].

1.2 Quitosana

A quitosana é um biopolímero, polissacarídeo catiônico, obtido pela desacetilação parcial da quitina (Figura 2) [35-38]. A quitina por sua vez, é o segundo biopolímero mais abundante da natureza, ficando atrás somente da celulose, e pode ser obtida das cascas de crustáceos, como caranguejos e camarão, algas verdes e até do exoesqueleto de insetos [25,35-37,39]. Diferentemente da quitina, a quitosana pode ser dissolvida em ácido ou soluções ácidas, visto que os grupos amino da quitosana são muito mais reativos que os grupos aceto-amidos da quitina, pois o par de elétrons livre de nitrogênio do grupo amino pode ligar-se a cátion metálicos [35,36].

Figura 2 – Estruturas da quitina e da quitosana, obtida por meio da desacetilação parcial da quitina.



Fonte: Adaptado de BOROUMAND (2021).

A quitosana é composta por unidades de N-acetil glucosamina (2-acetamida-2-deoxi D-glucose, açúcar neutro GlcNAc ou unidade-A) e unidades de glucosamina (2-amino 2-deoxi-D-glucose, açúcar catiônico GlcN ou unidade-D) unidas aleatoriamente entre si por ligações $\beta(1 \rightarrow 4)$ estando a D-glicosamina

em maior número [35]. A quitosana conta com um grupo funcional amino e dois grupos hidroxilas, primário e secundário, reativos [25,35].

A quitosana pode apresentar diferentes graus de desacetilação, bem como comprimento de cadeia e peso molecular variável. De acordo com o grau médio de acetilação, que determina o número de total de resíduos de amida e o número de resíduos de amina primária, pode-se obter quitosana com diferentes propriedades físico-químicas, como solubilidade, massa molar, viscosidade e grau de polimerização [35,38].

Além de sua biocompatibilidade, biodegradabilidade, propriedades antibacterianas e antimicrobianas; por ser atóxica, oriunda de uma fonte natural renovável, abundante e ser relativamente barata, a quitosana pode formar hidrogéis, estas características tornam a quitosana um material muito utilizado em diversas áreas como na agricultura, na medicina e tratamento de água [25,35,39].

A quitosana pode apresentar algumas propriedades que podem limitar a sua aplicação, tais quais, propriedades mecânicas pobres, baixa resistência térmica e baixa seletividade de adsorção. Buscando superar essas limitações, podem ser adicionados a quitosana nanomateriais como nanopartículas metálicas, nanoargilas, a exemplo a montmorilonita, bentonita e laponita, ou outros polímeros, como por exemplo o álcool polivinílico, que podem melhorar as propriedades mecânicas e químicas da quitosana, e consequentemente ampliar a gama de aplicações da quitosana [25].

Por conta destas características a quitosana, assim como os materiais e nanocompósitos obtidos a partir dela, tem se mostrado bastante promissores no setor agrícola e na indústria alimentícia [6,25,38]. Seja para a entrega de insumos como fertilizantes e micronutrientes, condicionamento do solo, ou na adsorção de poluentes no tratamento de águas residuais, esta tem mostrado bons resultados [6,40].

A quitosana pode vir a fortalecer a resistência das plantas protegendo-as contra a ação de patógenos e inibindo o crescimento de fungos e bactérias, o que oferece baixo impacto ambiental [39,41]. A quitosana reduziu os sintomas e incidência da doença fúngica ferrugem do cafeeiro, que causa a precoce queda de folhas e seca dos ramos do café arábica, e que é causada pelo fungo *Hemileia vastatrix* [39].

A quitosana também contribuiu para resistência da seringueira ao fungo *Phytophthora palmivora* que causa podridão dos frutos [41]. O uso de quitosana na produção de revestimentos antibactericidas, na forma de revestimento comestíveis, mostrou-se promissora na preservação e melhoria da qualidade de alimentos; e, armazenamento de sementes pós-colheita [42,43]. Quitosana e montmorilonita, uma nanoargila da classe das esmectitas, foram utilizados para produção de fertilizantes de eficiência aprimorada, que permitem a liberação controlada de nutrientes sem deixar resíduos no solo [45,46]. Além da laponita, a quitosana pode ser combinada a outros polímeros, a exemplo do polietilenoglicol.

1.3 Polietilenoglicol

O polietilenoglicol (PEG) é um polímero biodegradável, biocompatível, atóxico e hidrofílico, frequentemente utilizado como aditivo para promover porosidade a estruturas poliméricas [47]. A sua fórmula estrutural é $\text{HO}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{-OH}$, cuja unidade monomérica conta com dois grupos metileno, hidrofóbicos, e um oxigênio na função éter polarizado e com característica hidrofílica. Desta forma, o PEG apresenta caráter anfifílico que o proporciona flexibilidade e propriedades viscoelásticas, além de permitir que este polímero

coordene vários íons e moléculas, e possibilitando um grande conjunto de aplicações a exemplo da formação de nanocompósitos polímero/argila [48].

Em decorrência destas características o PEG é bastante utilizado em sementes. Este polímero é uma das substâncias mais comumente utilizadas no processo de osmocondicionamento, que na forma de soluções para controlar a absorção de água pelas sementes. O PEG pode ainda evitar toxicidade nas células embrionária em sementes [49].

Em decorrência do tamanho de suas moléculas o PEG não penetra o tecido das sementes, impedindo assim que este possa afetar a redução do potencial osmótico. Desta forma, colocar sementes em soluções de PEG, em diferentes concentrações a serem testadas, antes da semeadura auxilia na germinação e controle de absorção de água pelas sementes [49]. O PEG pode ser utilizado para melhorar as propriedades de outros materiais, a exemplo da quitosana em que se observou melhora das propriedades mecânicas [50].

Os hidrogéis de PEG são sensíveis a estímulos externos e por isso podem ser eficientes no transporte e liberação controlada de medicamentos [51]. PEG, quitosana tiolada e montmorilonita também foram utilizadas na formação de compósitos para entrega controlada de insulina em células animais [50]. A funcionalização de nanofolhas de nitreto de boro com PEG e polietilenoimina, que possibilita ao PEG ser utilizado no transporte e liberação controlada de pesticidas e óleos essenciais com atividade antimicrobiana na agricultura [52].

Ainda visando aplicações voltadas a agricultura, PEG melhorou a estabilidade e atividade antimicrobiana de nanopartículas de caseína e eugenol, além da liberação controlada o material aumentou os efeitos inibidores contra o fungo *Colletotrichum musae*, responsável pelo surgimento de manchas escuras em bananas [53]. Essas aplicações mostram o quão promissor pode ser o uso do PEG para produção de nanocompósitos polímero/argila voltados a aplicações na agricultura.

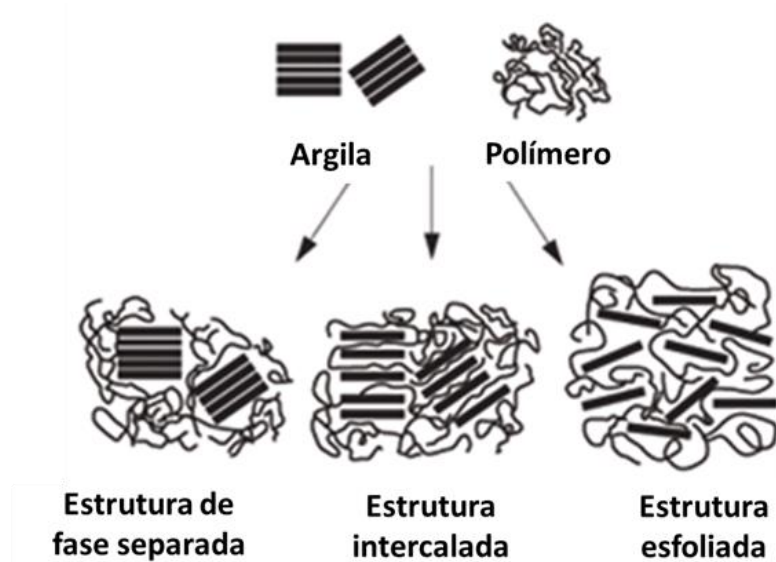
1.4 Nanocompósitos polímero/argila

Nanocompósitos polímero/argila são materiais nos quais um argilomineral é disperso na matriz polimérica, apresentando melhores propriedades físicas e químicas, como propriedades mecânicas e térmicas [54], superiores ao polímero puro [27,55]. Pelo menos um dos componentes deve ter escala nanométrica, entre 1 e 100 nm. Argilominerais, como as nanoargilas, são muito utilizadas na produção de nanocompósitos, que apresentam propriedades diferentes aos compósitos dos mesmos materiais, em geral os compósitos nanométricos são de baixo custo, estáveis e têm aptidão em melhorar as propriedades poliméricas [27].

Os nanocompósitos polímero/argila podem ser classificados morfologicamente, conforme a interação entre o argilomineral e a matriz polimérica, em estrutura de fase separada, intercalado ou esfoliado (Figura 3). Cada uma das estruturas tem propriedades diferentes, sendo a esfoliação a que exibe melhores propriedades mecânicas e físicas, em decorrência do maior grau de interação entre a argila e o polímero. A esfoliação ocorre com dispersão em escala nanométrica e alto grau de desorganização das estruturas lamelares da argila, levando a uma dispersão eficiente e uniforme do argilomineral no polímero [54,56,57].

A intercalação, por sua vez, implica na inserção de cadeias poliméricas entre as lamelas da argila provocando um aumento no espaçamento basal das lamelas. Entretanto, ainda é possível ter regularidade entre as camadas. Quanto à estrutura de separação de fase, não há intercalação das cadeias poliméricas às lamelas da argila, esta fase apresenta propriedades semelhantes aos compósitos [54,56,57]. Estes novos compostos têm sido aplicados em diversas áreas em função de suas propriedades a exemplo da medicina [28], agricultura [54,55,58,59] e indústria de embalagens [27].

Figura 3 – Estrutura dos materiais de acordo com as possíveis interações entre a matriz polimérica e a argila: separação de fase, intercalação e esfoliação.



Fonte: Adaptado de Paiva et al, 2006

Na agricultura os nanocompósitos polímero/argila têm possibilitado atenuar problemas como o uso excessivo de agroquímicos, que causam a degradação ambiental. Estes nanomateriais permitem que fertilizantes e pesticidas, possam ser liberados de forma lenta e controlada minimizando danos ao solo e ao meio ambiente [58,59]. Além de perdas e redução na eficiência, causadas por fatores como chuva, calor excessivo, velocidade do vento e métodos de aplicação diminuem a eficiência dos defensivos [58]. Os nanomateriais permitem a liberação controlada e desta forma, o seu uso atenua a volatilização, fotodegradação e possíveis danos ambientais causados pelo uso excessivo destes na agricultura, além de oferecer maior rentabilidade [58].

Os nanocompósitos podem também ser utilizados para liberação controlada de nutrientes, repondo nutrientes no solo sem causar danos ao

mesmo; e evitando perdas de nutrientes ao meio ambiente por meio da fixação destes aos coloides do solo [59]. Uma maneira de aplicar esses nanocompósitos e facilitar seu uso na agricultura é por meio do revestimento de sementes [37,60].

1.5 Revestimento de sementes

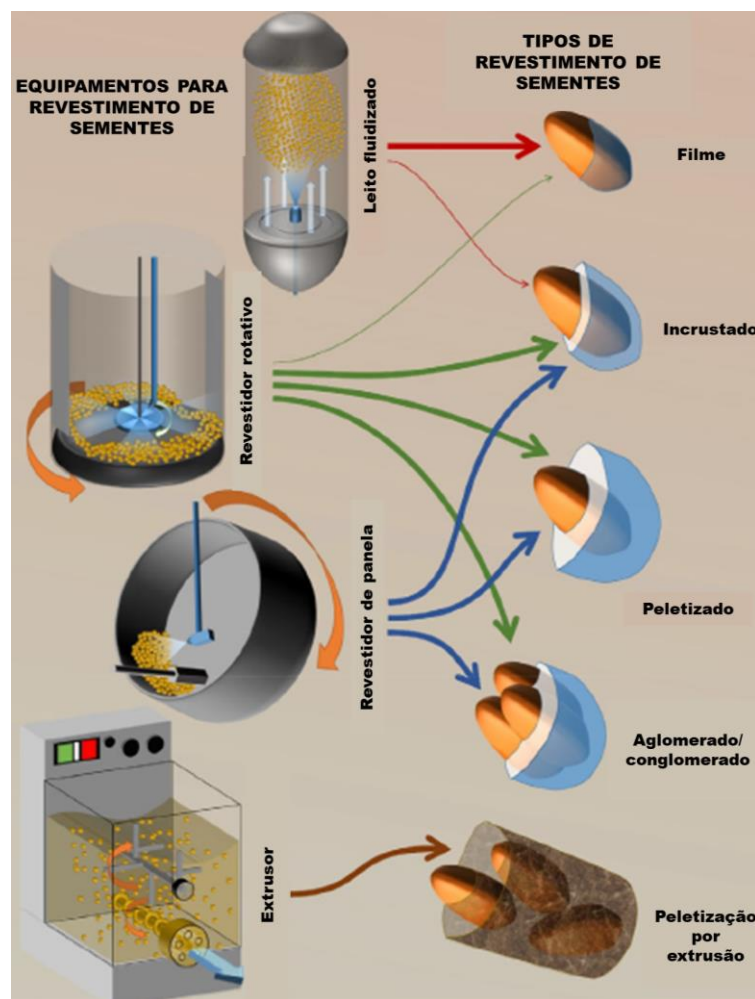
Ocupando 1/3 da superfície terrestre, sendo responsável por gerar cerca de 50% dos empregos em países de baixa renda, além da crescente demanda por alimentos, caracterizada pelo número de pessoas famintas mundialmente acima de 925 milhões e com perspectivas de alcançar os dois bilhões até 2050, a agricultura é muito importante para sociedade [6,7]. Entretanto, as perspectivas de crescimento populacional aliada às condições climáticas atuais e esperadas para o futuro, faz se necessário o desenvolvimento de novas práticas que visem melhorar as condições de trabalho, a produtividade e não causem danos ao meio ambiente [5-7,37].

Nesta vertente, o revestimento de sementes mostra-se promissor no atendimento a estas premissas. Consiste na aplicação de um produto exógeno ao tegumento das sementes, por meio do quais pode-se adicionar ingredientes ativos, como micronutrientes, fertilizantes ou inoculantes microbianos. O revestimento de sementes visa a proteção, hidratação e aumento na taxa de germinação das sementes. Assim, é possível modificar a aparência e tamanho facilitando manuseio [3,10]. Os revestimentos permitem uma aplicação precisa e utilizado em pequenas quantidades, permite atenuar problemas como contaminação de solo e lençóis freáticos pelo uso excessivo e agroquímicos [3,61].

Existem três principais tipos de revestimentos de sementes, o tipo filme, a incrustação e a peletização (Figura 4). No revestimento do tipo filme uma fina camada do material, entre 5-10% em massa da semente, é aplicado à semente

sem alterar a sua forma, peso ou volume. Na incrustação há um aumento no peso, de 100 a 500% a massa da semente, e volume das sementes, porém, a sua forma original é mantida. Enquanto na peletização, além do peso e do volume a forma original da semente é modificada, adquirindo formato esférico ou ovoide [3,62].

Figura 4. Tipos de revestimentos e equipamentos utilizados no revestimento de sementes.



Fonte: Adaptado de Pedrini et al., 2020 [62].

O revestimento de sementes é utilizado também para o beneficiamento e cultivo de plantas nativas, o que levou a produção e adaptação de novos tipos de revestimentos, os aglomerados ou conglomerados, nos quais várias sementes são combinadas em uma única unidade de liberação. A peletização por extrusão se dá quando sementes são dispostas em uma grande quantidade de material e passadas por uma extrusora e então cortados em formato desejado, geralmente cilíndrico [62].

Os principais equipamentos utilizados pela indústria para realizar o revestimento de sementes são o leito fluidizado, para o preparo de filmes e em menor quantidade de sementes incrustadas; o revestidor rotativo, muito usado para tratamento de sementes nativas e revestidor de panela, geralmente utilizado para sementes pequenas. Na produção de sementes peletizadas extruídas uma máquina específica é necessária, ela se assemelha às utilizadas na produção de massas [62].

Os revestimentos podem ser constituídos de materiais classificados em agentes aglutinantes ou agentes de enchimento. Os aglutinantes conferem adesão do material à semente e retenção de ingredientes ativos; são materiais poliméricos naturais ou sintéticos, que são aplicados na forma líquida e que originam o filme em torno da semente quando secos. Entre os mais comumente utilizados temos a quitosana e a celulose. De modo geral, os agentes de enchimento são materiais em pó, como a bentonita, carbonato de cálcio ou areia e que são utilizados para aumentar o volume e peso original da semente [62].

Os agricultores precisam lidar com a suscetibilidade das culturas ao estresse biótico, como bactérias, fungos e plantas daninhas; e abiótico, como salinidade alta, temperaturas extremas e seca. Neste contexto, os hidrogéis, a exemplo da quitosana e PEG, podem ser utilizados na composição dos

nanocompósitos para o revestimento de sementes e atenuar esses problemas [37,60].

Os tratamentos com quitosana proporcionaram melhorias na germinação, melhoraram o crescimento e emergência das plântulas [63]. Um tratamento à base de quitosana e PEG foi utilizado como matriz para o transporte do fungo *Trichoderma*, e mostrou-se eficaz contra patógenos de sementes; e afetou o crescimento de amendoim. O revestimento aumentou o vigor de germinação e plântulas e inibiu o surgimento de doenças exibindo o a ação antifúngica da quitosana e a possibilidade do uso destes polímeros juntos [60].

Considerando a importância econômica e as perspectivas de crescimento populacional, é fundamental o desenvolvimento tecnológico do meio agrícola, de forma a se obter maior produtividade, qualidade e segurança dos alimentos produzidos, de forma viável economicamente e limpa para o meio ambiente. Assim, a quitosana e a laponita, isoladamente, podem se mostrar prósperas. Entretanto, não há relatos de trabalhos que combinem as propriedades destes dois materiais para esta finalidade. Deste modo, o desenvolvimento de novos materiais quitosana/laponita que alie as propriedades antifúngicas da quitosana, e o intumescimento da laponita, por exemplo, para o recobrimento de sementes é promissor.

1.6 Nanocompósitos, usos e aplicações

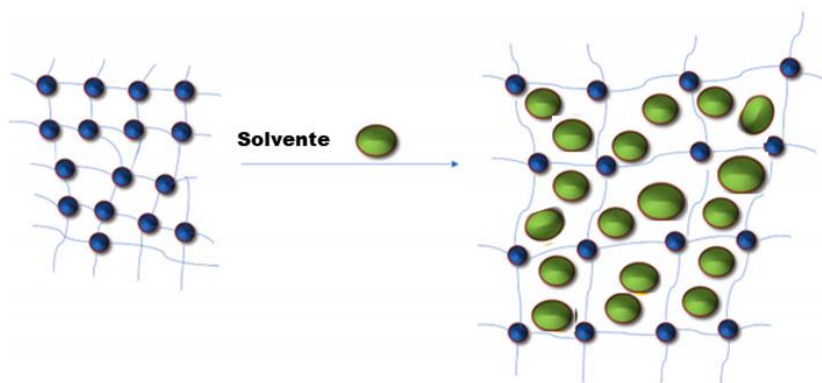
1.6.1 Hidrogéis

Polímeros, do grego *poli*: muitos e *mero*; repetição, são uma classe de materiais com alta massa molecular, macromoléculas; compostos de unidades

menores e de baixa massa molecular que se unem e se repetem, chamadas de monômeros [56].

Hidrogéis são polímeros reticulados tridimensionalmente e apresentam comportamento elástico, podendo absorver ou liberar solventes sem sofrer danos a sua estrutura como a capacidade de intumescimento (Figura 5) [56,65-67]. Há ainda, os hidrogéis superabsorventes com potencial absorvente para dezenas de vezes o seu peso seco em água ou outro solvente [67,68].

Figura 5 – Mecanismo de adsorção dos hidrogéis



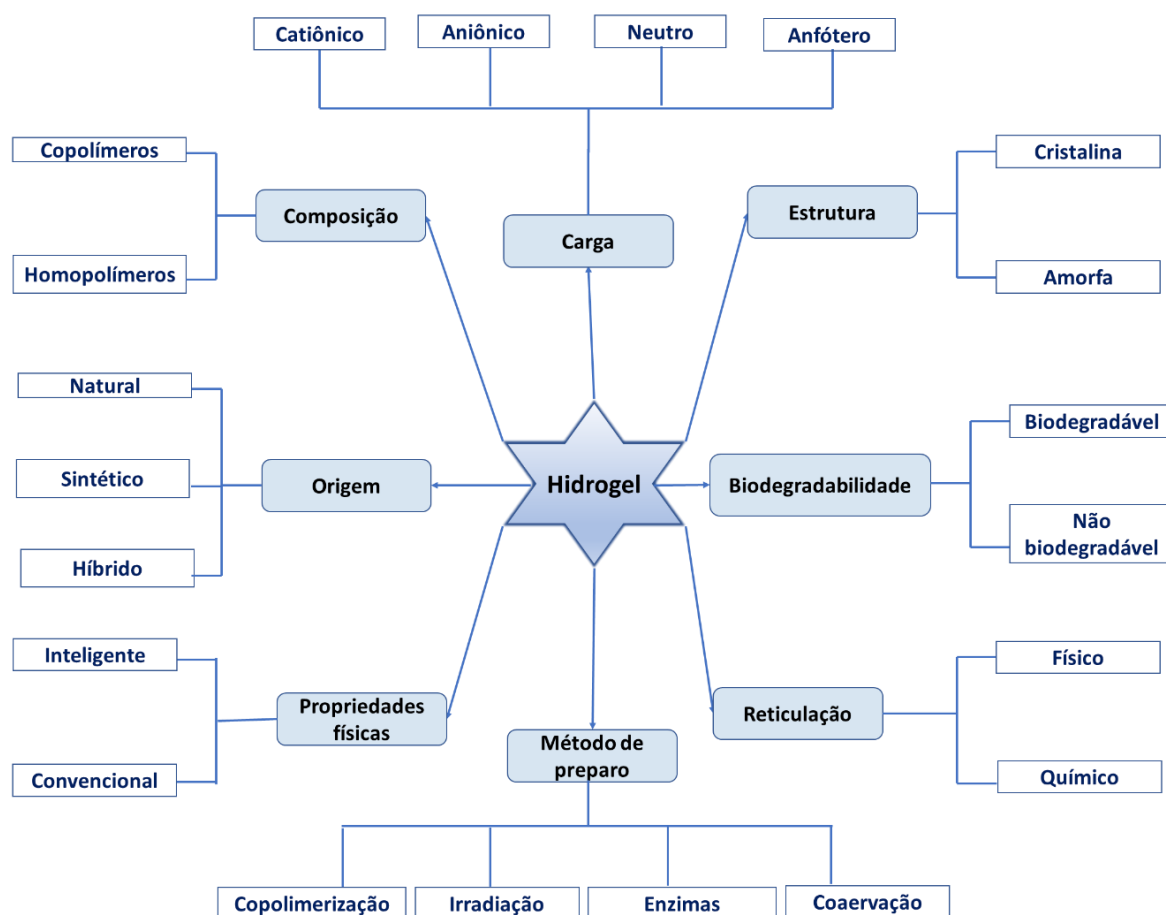
Fonte: Adaptado de Khan & Khan, 2021 [69].

Partículas de hidrogéis em escala nanométrica são chamadas de nanogéis. Assim como os hidrogéis, os nanogéis apresentam elevado potencial no sistema de entrega de drogas, em especial, pois estes materiais apresentam um tamanho que os possibilita a interação do gel ao nível celular e viabiliza a sua administração [65].

Os hidrogéis são classificados em virtude da natureza da sua reticulação, basicamente como sendo físicos ou químicos (Figura 6). Os físicos são aqueles

que sofrem ligações cruzadas fracas, de Van der Waals, portanto, são reversíveis e liberam seu conteúdo após intumescimento ou estímulo. Por sua vez, os hidrogéis são classificados como químicos quando sua reticulação se dá por meio de ligações covalentes entre diferentes grupos funcionais, estes requerem uma degradação na ligação para que haja a liberação dos insumos [65,66,68].

Figura 6 – Diferentes formas de classificações dos hidrogéis.



Fonte: Adaptado de Elsayed (2019).

Podem ser classificados ainda em virtude da sua composição (copolímeros ou homopolímeros), estrutura (cristalina ou amorfa), origem (natural, híbrido ou sintética), carga (catiônico, aniônico, neutro ou anfótero) e propriedades físicas (hidrogel inteligente ou convencional) ou ainda quanto ao método de preparo (copolimerização, irradiação, coacervação complexa e pelo uso de enzimas) (Figura 6) [65,69].

Os hidrogéis podem ser sensíveis aos estímulos físicos como temperatura e pressão ou estímulos químicos como pH e agentes químicos. Na presença destes estímulos, estes géis podem modificar sua dimensão ou estrutura, chamados de hidrogéis inteligentes ou responsivos, este tipo de hidrogel pode ser de grande valia na liberação controlada de drogas [65,66]. Em decorrência de suas propriedades estes polímeros são largamente utilizados em aplicações biomédicas e agrícolas na liberação controlada de medicamentos e insumos [56,65,66].

Uma aplicação promissora é como adsorvente de poluentes, visto a grande capacidade de adsorção, podem ser reutilizados, flexíveis e podem ser vantajosos economicamente. Os hidrogéis apresentam também diferentes grupos funcionais como -OH, -COOH, -NH₂, que tornam capazes de adsorver seletivamente vários poluentes em água [69].

Entretanto, o uso destes hidrogéis nas mais diversas aplicações pode ser limitado pela sua baixa resistência mecânica e térmica. Como forma de melhorar as características físico-químicas dos hidrogéis e viabilizar seu uso em uma vasta gama de aplicações é que se propõe a formação de nanocompósitos, para isso, são adicionados a matriz polimérica diferentes materiais como argilas e óxidos metálicos [69]. Assim, ao se considerar o papel de alguns nanocompósitos em sementes, estes podem atenuar o estresse abiótico nas plantas. A quitosana mostrou efeitos positivos nas taxas de germinação de

sementes e crescimento de mudas a baixas temperaturas [24,25]. Os nanocompósitos de quitosana podem ser obtidos quando este polímero é misturado com nanoargilas, como a montmorilonita e a laponita. Os nanomateriais oriundos desta combinação oferecem melhoria na resistência mecânica, atividade antibacteriana e transporte de ativos [25]. Tal comprovação pode contribuir para tolerância e termoinibição em sementes de alface protegendo às sementes da termodormência.

As características da quitosana e da laponita, como propriedades antifúngicas, antibactericidas, atoxicidade, além do seu uso no armazenamento de alimentos, ou no transporte de medicamentos mostram que esses materiais podem apresentar um uso promissor no revestimento de sementes. Notou-se que o uso destes materiais de forma isolada no tratamento e/ou na manutenção da qualidade física e fisiológica de sementes é promissor. Portanto, estudos que possam aliar esses dois materiais de forma a produzir um novo tratamento de sementes, tal qual, a produção de um revestimento que pode associar propriedades para proteção, hidratação e como meio de transporte de ativos às sementes são necessários.

Assim, é de fundamental importância a busca de alternativas para possibilitar a produção de alface de qualidade durante todo o ano, visando o desenvolvimento de tecnologias de sementes ajustadas aos diferentes genótipos, como as propostas neste trabalho.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Investigar a viabilidade do uso de nanocompósito polímero/argila à base de quitosana, PEG e laponita no revestimento de sementes; e, avaliar a influência deste revestimento na viabilidade e vigor de sementes.

2.2 Objetivos Específicos

- a) Desenvolver e estudar as propriedades e estrutura dos nanocompósitos à base de laponita, quitosana e PEG;
- b) Avaliar a toxicidade dos nanocompósitos desenvolvidos à base de laponita, quitosana e PEG;
- c) Estudar a melhor composição para os nanocompósitos obtidos e de que forma ele afeta a taxa de germinação de sementes de milho.

3

Busca de anterioridade e estado da técnica

Neste capítulo serão apresentados os resultados obtidos na busca de anterioridade realizada, estes originaram um artigo de prospecção que foi publicado e se encontra em anexo na tese. Qualquer inovação a ser testada requer a busca de anterioridade, que pode prevenir conflitos, reduzir os riscos de perda do investimento. A função da busca de anterioridade é fazer um levantamento inicial da tecnologia com os objetivos de conhecer o estado da técnica de uma tecnologia; economizar etapas no processo de proteção da propriedade industrial; e realizar melhorias na tecnologia.

3.1 BUSCA DE ANTERIORIDADE

A busca por artigos publicados em inglês nos últimos 15 anos foi realizada utilizando *Scopus* (<http://www.scopus.com>) e *Web of Science* (<http://www.webofknowledge.com>) e realizada com combinações dos termos de pesquisa "*chitosan*" e "*laponite*". Recuperamos os resumos de 95 artigos. Os artigos foram selecionados avaliando o título e o resumo. Os artigos foram revisados para garantir que cada estudo atendesse aos critérios de contenção de dados quantitativos sobre a quitosana e a laponita. Os bancos de dados foram importados em formato Bitex. Uma meta-análise realizada utilizando o software 4.0.0 [70] e o RStudio 1.1.463 [71]. O pacote "Bibliometrix" do software R foi utilizado para análise bibliométrica para criação de gráficos [72].

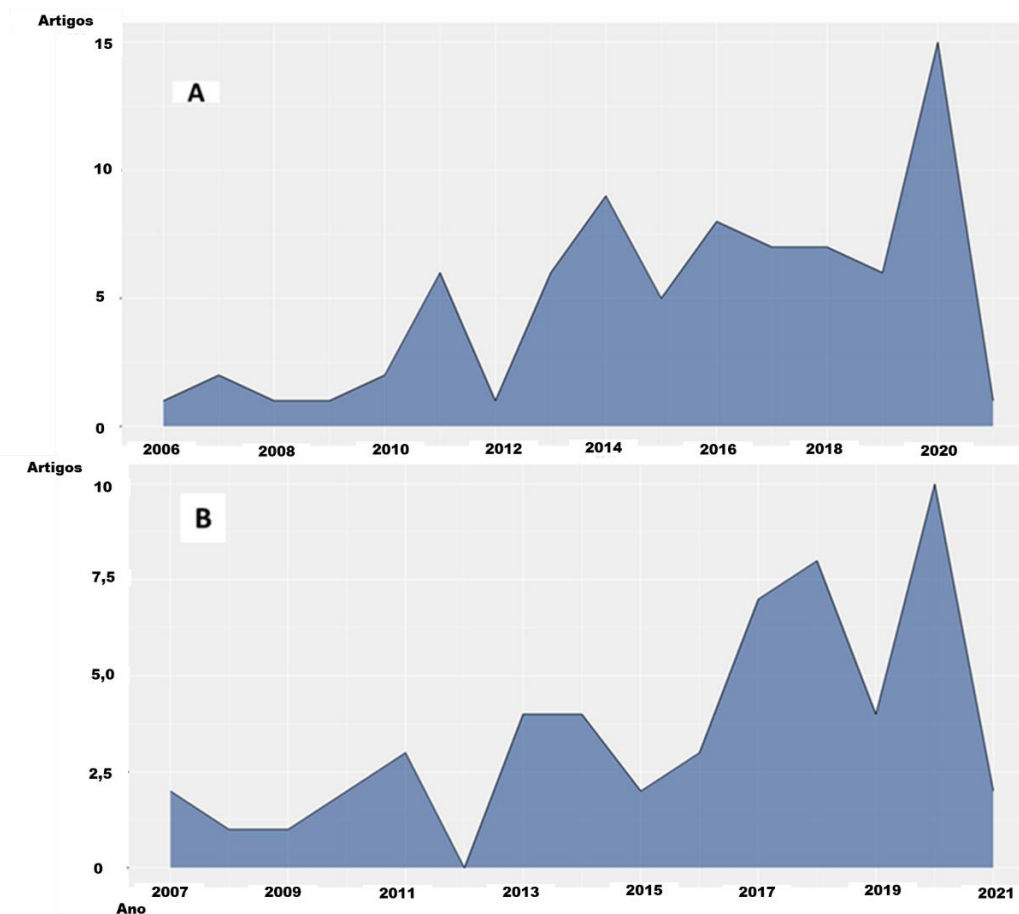
A prospecção de patentes foi realizada através da plataforma *The Lens* (<https://www.lens.org>) que realiza pesquisas em bancos de dados da *Espacenet* - *European Patent Office*, *USPTO* - *United States Patent and Trademark Office Database*, *WIPO* - *World Intellectual Property Organization* e *IP Australia* cobrindo mais de 95 jurisdições diferentes, e fornecendo acesso a mais de 100 milhões de patentes.

Uma pesquisa avançada foi realizada, e os termos "*chitosan*" e "*laponite*" foram usados com o termo restritivo "*and*" e que tinham essas palavras-chave no título, resumo e descrição das patentes. Foram coletados dados dos últimos 25 anos, dados nos quais houve o primeiro depósito. Ao se prospectar patentes com o uso de nanocompósitos combinando laponita e quitosana não foram encontradas inovações para revestimento de sementes, o que valida a importância da obtenção de inovações como a proposta nesta tese. Foram prospectadas 132 publicações nas bases científicas *Scopus* (53) e *Web of Science* (WoS) (79). Destes, foram retiradas duplicatas, totalizando 93 artigos com publicações iniciadas em 2006. O número de publicações sobre a quitosana e a laponita cresceu significativamente a partir de 2011 e em 2020 apresentou o maior número de publicações, passando de 9 para 25 publicações.

A revista *ACS Applied Materials & Interfaces* apresentou o maior número de artigos publicados, logo após se encontram a *RSC Advances*, *Applied Clay Science*, *International Journal of Biological Macromolecules* e *Macromolecular Bioscience*. A revista *ACS Applied Materials & Interfaces*, *RSC Advances* e *Applied Clay Science*, apresentaram também os maiores fatores de impacto (Índice H), sendo a ACS a de maior fator (5). As produções científicas estão dispostas na Figura 7.

Quanto aos países com maior número de autores correspondentes pode-se destacar a China com maior número de autores (27), o Irã (16) e os Estados Unidos da América (EUA) (15). O Brasil também tem destaque e ocupa a quarta posição quanto ao número de autores correspondentes, com 7 autores, e é seguido pela Índia com 4 autores.

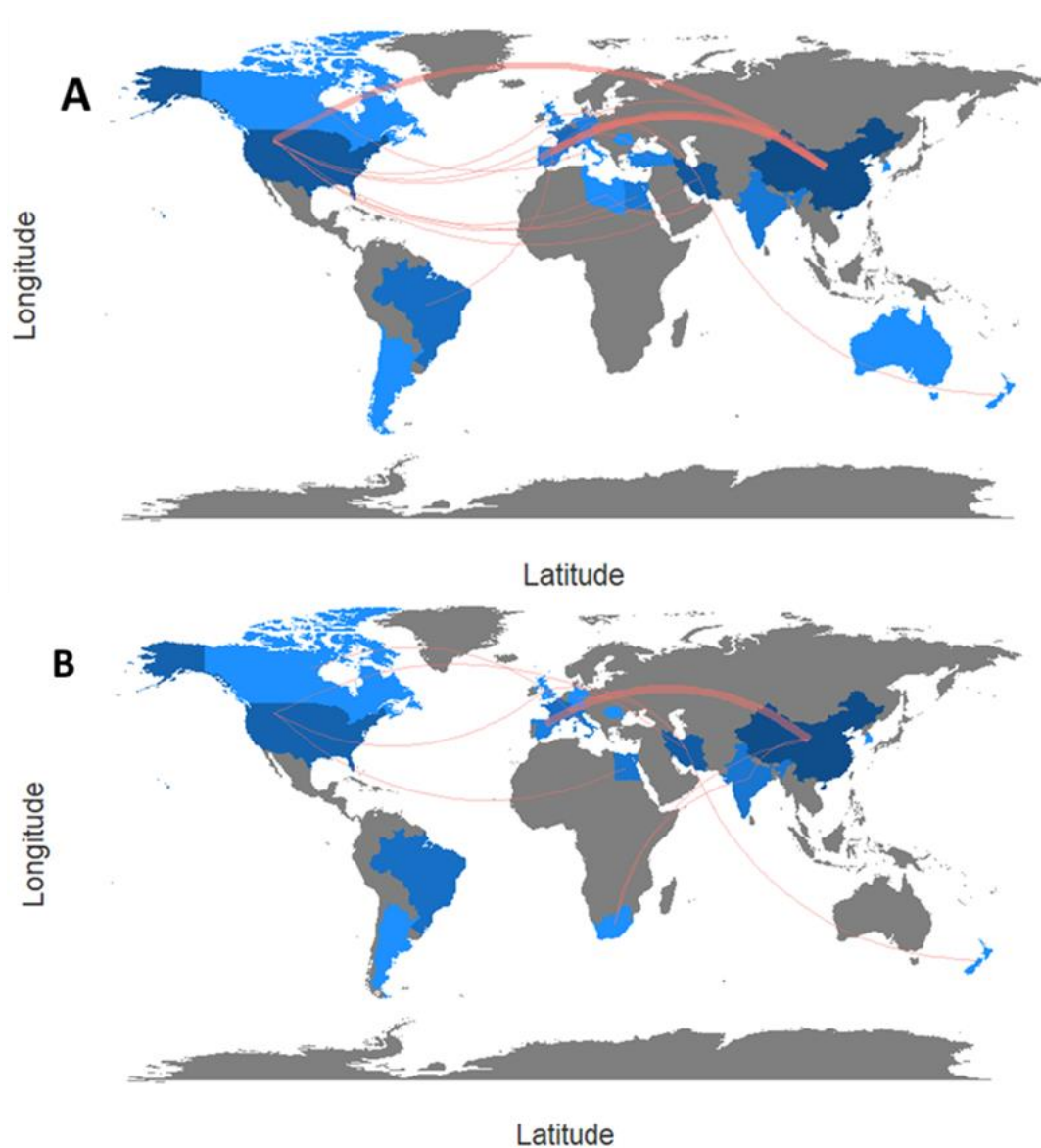
Figura 7 – Produção científica anual das bases de dados *Web of Science* (A) e *Scopus* (B) para quitosana e laponita.



Quanto as instituições com maior número de publicações a Universidade Maragheh (Irã) se destacam com o maior número, seguida pela Universidade de Tecnologia Sharif (Irã) e a Universidade de Yangzhou (China). Entre os países que se destacam quanto a colaboração com outros, para *Web of Science*, podemos citar: China (8), EUA (7) e Irã (3), porém Brasil, França, Líbia e Turquia também fizeram colaborações (FIGURA 8.A). Para a base *Scopus*, os países

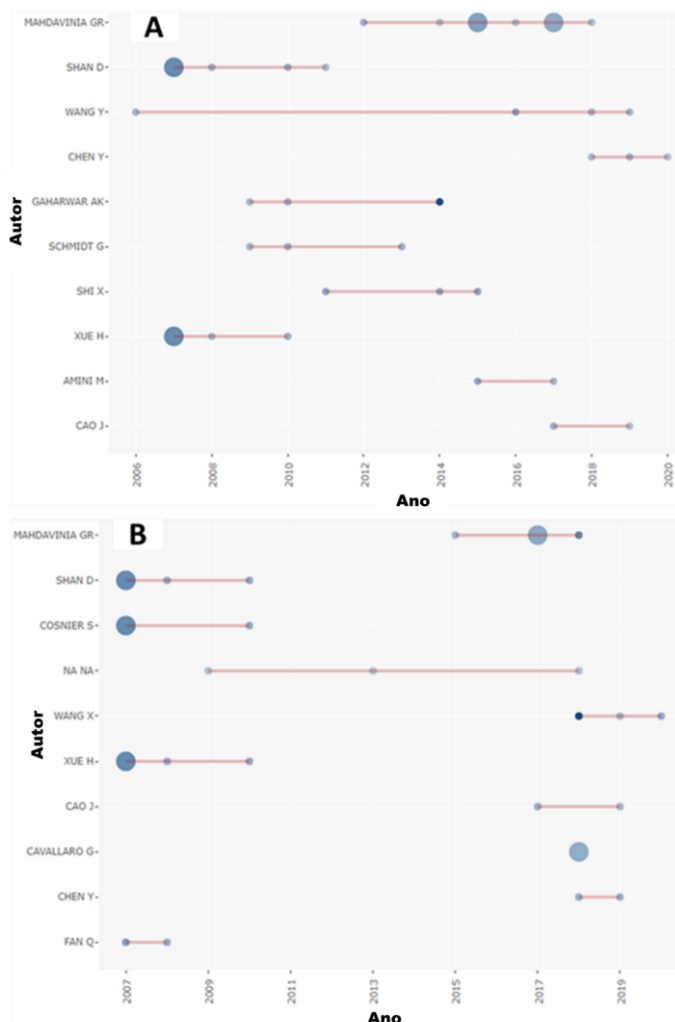
com maiores contribuições foram: China (5), Irã (4), EUA (2), Índia (1) e Itália (1) (FIGURA 8.B).

Figura 8 – Mapa ilustrativo de colaboração por país das bases de dados Web of Science (A) e Scopus (B) para quitosana e laponita.



O autor mais produtivo foi G. Mahdavinia, seguido de D. Shan, e Y. Wang. Na Figura 9 estão representadas as produções dos autores ao longo dos anos para as duas bases de dados pesquisadas: *Web of Science* (WoS) e *Scopus*. O tamanho das esferas na Figura 9 representa o número de publicações, e a intensidade da cor representa o total de citações por ano desses autores.

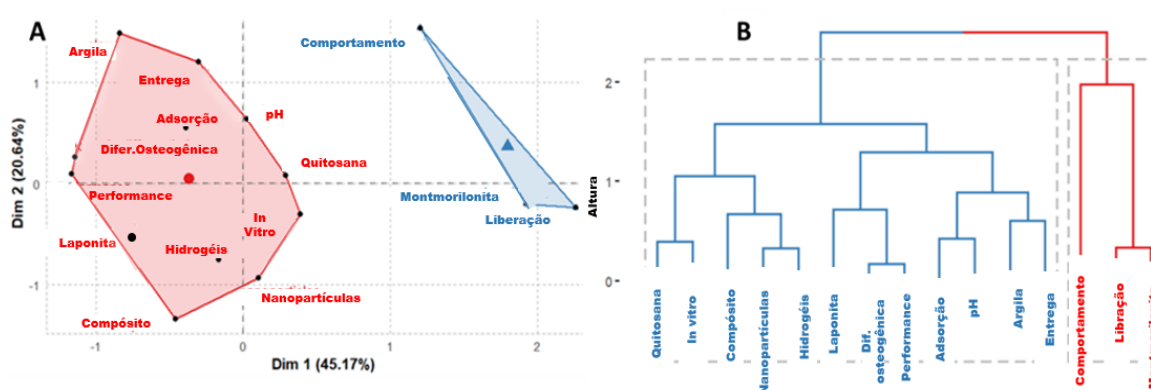
Figura 9 – Produção científica de artigos indexados nas bases de dados *Web of Science* (A) e *Scopus* (B) para quitosana e laponita, destacando os autores mais relevantes por ano.



Quanto ao número de citações, a China continua ocupando a primeira colocação, mas os Estados Unidos ultrapassam o Irã nesse quesito. Quanto ao número de citações, o Brasil é superado por Portugal e Índia, sendo o sexto país com maior número de citações. As palavras-chave mais utilizadas foram “Laponite”, “Chitosan”, “nanocomposite”, “hydrogels” e “Laponite RD”.

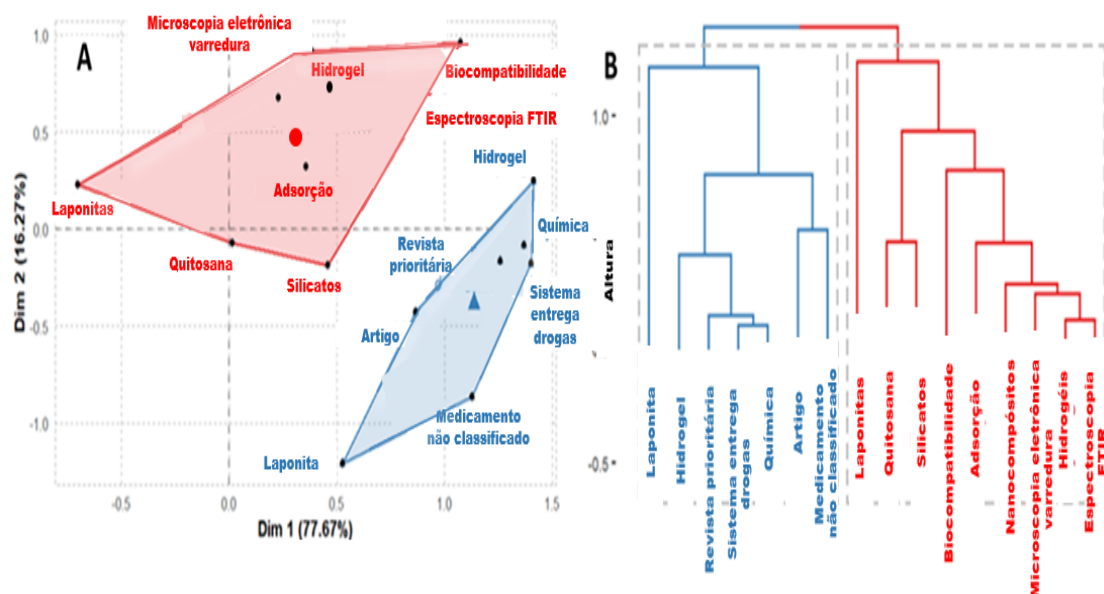
A partir das palavras-chave dos artigos obteve-se ainda os mapas conceituais estruturais, com as palavras mais frequentes nos artigos encontrados na base de dados *Web of Science*. Usando o método de análise de correspondência múltipla (MCA) foram geradas duas redes de co-ocorrência, representadas na Figura 10. Para a cor vermelha (quitosana, *in vitro*, compósito, nanopartículas, hidrogéis, laponita, diferenciação osteogênica, performance, adsorção, pH, argila, entrega) e azul (comportamento, entrega, montmorilonita). Por meio destes dados é possível conhecer os temas mais estudados.

Figura 10 – Mapa conceitual estrutural (MCA) dos termos mais frequentes nas palavras-chave da base de dados da *Web of Science* pelo método MCA (A). Dendrograma com dois grupos com palavras encontradas nos títulos dos artigos da base de dados *Web of Science* (B).



Para a base de dados *Scopus* também se utilizou as palavras-chave dos artigos para obtenção das redes de co-ocorrência e dos mapas conceituais estruturais, com as palavras mais frequentes, usando o método de análise de correspondência múltipla (MCA). Os dados podem ser encontrados na Figura 11, em vermelho (quitosana, hidrogéis, nanocompósitos, microscopia eletrônica de varredura, laponita, adsorção, biocompatibilidade, espectroscopia infravermelha de transformada Fourier, silicatos) e azul (artigos, sistema de entrega, química, laponita, hidrogel, medicamento não classificado, revista prioritária) mais uma vez esses gráficos fornecem dados acerca dos conteúdos mais estudados.

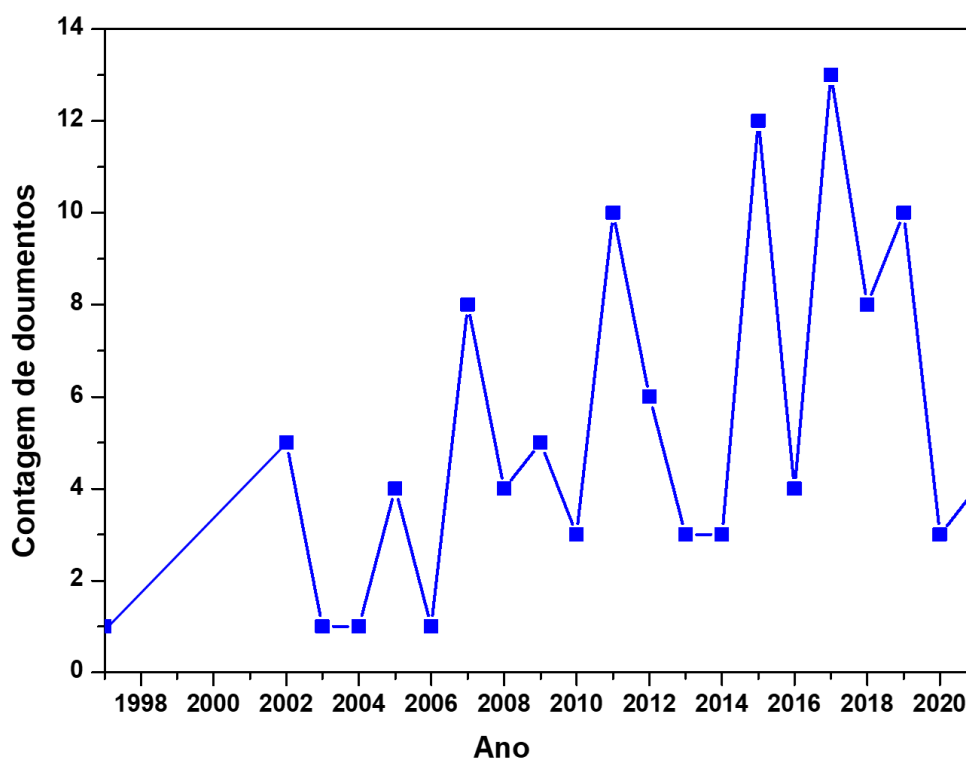
Figura 11 – Mapa conceptual estrutural dos termos mais frequentes nas palavras-chave da base de dados da *Scopus* pelo método MCA (A). Dendrograma com dois grupos com palavras encontradas nos títulos dos artigos da base de dados *Web of Science* (B).



Das 109 patentes prospectadas que relacionam quitosana e laponita, na plataforma *The Lens*, 28 são patentes concedidas e 81 são pedidos de patentes. O número de patentes publicadas por ano encontra-se na Figura 12.

A primeira patente foi depositada em 25 de junho de 1996. A próxima patente foi depositada apenas em 1999, depois dessa no ano de 2001 duas patentes foram depositadas. A partir deste ano houve um aumento no número de depósitos, sendo entre os anos de 2007 e 2008 o pico no número de depósitos de patentes (7).

Figura 12 – Número de documentos de patentes contendo os termos “*chitosan and laponite*” ao longo dos anos prospectados na base Lens.



Os Estados Unidos se destacam com o maior número de patentes (55) por jurisdição, seguido pela WIPO (31), Austrália (10), Patentes Europeias (8) e China (5). A empresa *L'Oréal*, uma empresa multinacional francesa do ramo cosmético, tem o maior número de depósitos, com 14 documentos. Em seguida, têm-se a *Kimberly Clark Co* (10), empresa americana de cuidados pessoais; a *Gavish Galilee Bio Applications* Ltda., empresa de transferência tecnológica de Israel (8). As instituições com maior número de depósitos ou pedidos estão representadas na Figura 13.

Figura 13– Gráfico de nuvem referente ao número de documentos de patentes depositados por instituição contendo os termos “*chitosan and laponite*”.



A maioria das patentes prospectadas são voltadas a ciência de higiene médica ou veterinária, tratam do Preparo de dispositivos e métodos médicos, odontológicos ou higiênicos (A61K); na utilização específica de cosméticos ou de preparações sanitárias similares (A61Q). Também foram encontradas patentes voltadas aos processos físico ou químicos e aparatos em geral (B01D); tratamento de água, águas residuais, esgoto ou lama (C02F); compostos

macromoleculares orgânicos a sua preparação ou composições químicas de trabalho baseadas neles, utilização de substâncias orgânicas inorgânicas ou não-macromoleculares como ingredientes de composição (C08K) e para testes de medição, na investigação ou análise de materiais por meio da determinação das suas propriedades químicas ou físicas (G01N). Na Figura 14 em formato de gráfico de calor estão apresentadas as categorias pela classificação internacional de patentes (IPC). Quanto mais próximo da coloração vermelha, maior a frequência de patentes.

Figura 14 – Número de patentes de acordo com a classificação IPC contendo os termos “chitosan and laponite”.



Os inventores com maior número de documentos são Rytwo (10), Govang Patrick J. (8), Rasmussen (8), Schryver Tomas P. (8), Utschig Julie M. (8), Poppe Clayton D. (8).

Apesar do crescente interesse no uso desses materiais, como pode ser verificado pelo aumento no número de artigos e patentes depositadas a cada ano, não foram encontrados artigos com o uso da quitosana e laponita juntas associadas ao revestimento de sementes na mesma formulação. Entretanto, estes materiais sendo utilizados no revestimento de alimentos, como frutas [73], fabricação de biossensores [74], biossensores para detecção de fenóis [75] e L-Lactato, que é importante padrão de frescor e sabor de alimentos [76], na adsorção de metais e corantes [77] e proteínas [78].

Em sua maioria, estes materiais foram combinados para uso na área médica, a exemplo da formulação de bioadesivos e administração controlada de medicamentos [32,79,81], no tratamento de hemorragias [82] e tratamento de lesões [83], melhorar a adesão celular e biomineralização [84,85], osteo indutores na engenharia de tecidos ósseos [86,87]. Considerando-se as atividades antifúngicas e antibactericidas da quitosana e laponita estes materiais foram aplicados na regeneração de pele e mostraram-se promissores como curativos [88].

Encontrou-se também a quitosana e a laponita em aplicações eletroquímicas como na produção de filmes para catálise de peróxido de hidrogênio [89]. Um revestimento híbrido quitosana e laponita também foi aplicado na redução de incêndios em espumas flexíveis de poliuretano, que é bastante utilizada em colchões e estofados [90].

A laponita não associada a quitosana foi utilizada para encapsulamento e liberação controlada de medicamentos [91,92], assim como na liberação direcionada de medicamentos [93] e na adsorção de poluentes em água e corantes [94].

A quitosana recebe aplicação na produção de revestimentos de revestimentos comestíveis que em geral são voltados ao revestimento de frutos ou grãos. Muitas aplicações são no uso de materiais antibactericidas e antifúngicos [25]. A quitosana também foi utilizada na produção de compósitos para liberação controlada de insulina [95].

A maioria dos relatos na literatura que se encontrou para laponita isolada e em associação à quitosana também tinham aplicação em outras áreas como a médica e farmacológica. Realizou-se também a busca de patentes que aplicam a laponita ao tratamento de sementes. Nesta busca, observou-se também uma larga aplicação desses materiais na área médica e cosmética, tendo a empresa *L'Oréal* como uma das maiores depositantes. Entretanto, foram encontrados trabalhos que se voltavam a adsorção de materiais e limpeza de água residuais e/ou esgotos.

Desta forma na prospecção realizada nestas plataformas não foram encontradas publicações que se voltassem a aplicação da quitosana e laponita em um material para revestimento de sementes. Entretanto, suas características como propriedades antifúngicas, antibactericidas, atoxicidade, além do seu uso no armazenamento de alimentos, ou no transporte de medicamentos mostram que esses materiais podem apresentar um uso promissor no revestimento de sementes. Notou-se que o uso destes materiais de forma isolada no tratamento e/ou na manutenção da qualidade física e fisiológica de sementes é promissor. Portanto, estudos que possam aliar esses dois materiais de forma a produzir um novo tratamento de sementes, tal qual, a produção de um revestimento que pode associar propriedades para proteção, hidratação e como meio de transporte de ativos às sementes são necessários.

4

Estudo de toxicidade dos Nanocompósitos

Neste capítulo são apresentados a síntese e caracterização de nanocompósitos em que algumas quantidades de polietilenoglicol, quitosana e laponita foram variadas. Este estudo prévio visou além do conhecimento inicial da nanoestrutura, avaliar a toxicidade destes materiais em sementes de alface (*Lactuca Sativa L.*), que apresentam grande sensibilidade.

4.1 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1.1 Síntese dos nanocompósitos

Para síntese dos nanocompósitos, foram utilizados Polietilenoglicol 6000 (PEG, Sigma-Aldrich®), Quitosana (Sigma-Aldrich®) e Laponita® RD (BYK Additives & Instruments).

Inicialmente obteve-se duas soluções de polietilenoglicol (PEG), cujas massas foram estimadas conforme a equação proposta por Michel e Kaufmann (1973) [80], para os potenciais osmóticos de -0,8 MPa e -1,2 MPa.

$$\Psi_{os} = -(1,18 \times 10^{-2})C - (1,18 \times 10^{-4})C^2 - (2,67 \times 10^{-4})CT + (8,39 \times 10^{-7})C^2T$$

Tem que:

Ψ_{os} = potencial osmótico (bar);

C: concentração (g PEG 6000/L);

eT: temperatura (°C).

Estes potenciais e as concentrações foram definidos previamente de forma a contribuir para a restrição da água nas sementes inicialmente e, conseqüentemente, sua não germinação durante a aplicação do filme de nanocompósito.

A embebição de tecidos vivos e mortos, como por exemplo, de hidrogéis, conseqüentemente a disponibilidade de água para as sementes, são influenciadas pelo potencial osmótico. Em seguida, quantidades apropriadas de quitosana e argila foram suspensas em alíquotas de 30 mL das soluções de PEG e as misturas foram submetidas a agitação magnética por 30 min. em recipiente fechado.

As amostras foram identificadas de acordo com o exposto na Tabela 1.

Tabela 1 – Quantidades de reagentes utilizadas na síntese dos nanocompósitos.

Amostra	PEG (30mL)	Quitosana (g)	Laponita (g)
P08Q0L06	-0,8	-	0,6
P08Q3L03	-0,8	3,0	0,3
P12Q0L06	-1,2	-	0,6
P12Q3L03	-1,2	3,0	0,3
P12Q3L09	-1,2	3,0	0,9
P12Q45L0	-1,2	4,5	-
P12Q6L09	-1,2	6,0	0,9

P=PEG; Q= quitosana; L= laponita. Números seguidos das letras representam os potenciais osmóticos para PEG, e as concentrações para quitosana e laponita.

Para a caracterização estrutural de todos os materiais, as amostras foram secas a temperatura ambiente por sete dias, a fim de se obter monolitos que foram macerados até a obtenção de um pó fino.

4.2 Técnicas de caracterização

4.2.1 Espectrofotometria de Absorção na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Foram preparadas pastilhas das amostras em pó com brometo de potássio (KBr), sob a pressão de 2,76 MPa, com o auxílio de uma prensa (modelo C, Carvel Laboratory Press).

As medidas foram realizadas no Laboratório de Estudos Avançados em Materiais da Universidade Feevale, no Rio Grande do Sul, utilizando-se espectrofotômetro (modelo Spectrum Two™, Perkin Elmer), na faixa de 4000 a 400 cm⁻¹.

4.2.2 Análise Termogravimétrica

As análises foram obtidas com a amostra na forma de pó e realizadas no Laboratório de Estudos Avançados em Materiais da Universidade Feevale, no Rio Grande do Sul.

Para o estudo das propriedades térmicas, utilizou-se balança termogravimétrica (modelo TGA-51, Shimadzu), sob atmosfera inerte de Nitrogênio (N), no intervalo da temperatura ambiente até a temperatura de 900°C com uma taxa de aquecimento de 10°C/min para obtenção das curvas termogravimétricas (TG) e curvas de derivadas termogravimétricas (DTG).

4.2.3 Comportamento reológico

O comportamento reológico dos materiais foi obtido a partir de reômetro (MCR 302 Anton Paar), com geometria de placas de 25 e 50 mm de diâmetro e 1 mm de espaçamento entre placas. Foram realizados testes de escoamento e de oscilação dinâmica em condições de temperatura controlada.

Para os ensaios de oscilação, inicialmente determinou-se a região viscoelástica linear (RVL) a partir do teste de amplitude de deformação, em que se manteve constante a frequência de oscilação ($\omega = 10$ rad/s) e variou-se a taxa de deformação entre 0,01 e 100%. Em seguida, foi realizada uma varredura de frequência de oscilação (entre 0,1 e 100 rad/s), à uma deformação constante (0,05%), na região viscoelástica linear. Todas as medições foram realizadas a temperatura constante de 37°C. As medidas foram realizadas no Laboratório de Química Multiusuários da Universidade Federal do Sergipe, *Campus* Prof. José Aloísio de Campos.

4.2.4 Revestimento das sementes

4.2.4.1 Testes de Toxicidade empregando *Lactuca sativa* L.

A alface é uma planta anual da família Asteraceae que normalmente é cultivada em climas tropicais, e tem sido usada como bioindicador para avaliar a contaminação de solo e de água. As sementes de *Lactuca sativa* L. permitem avaliar os efeitos fitotóxicos de compostos puros ou misturas complexas no processo de germinação de sementes e o desenvolvimento de plântulas nos primeiros dias de crescimento [96].

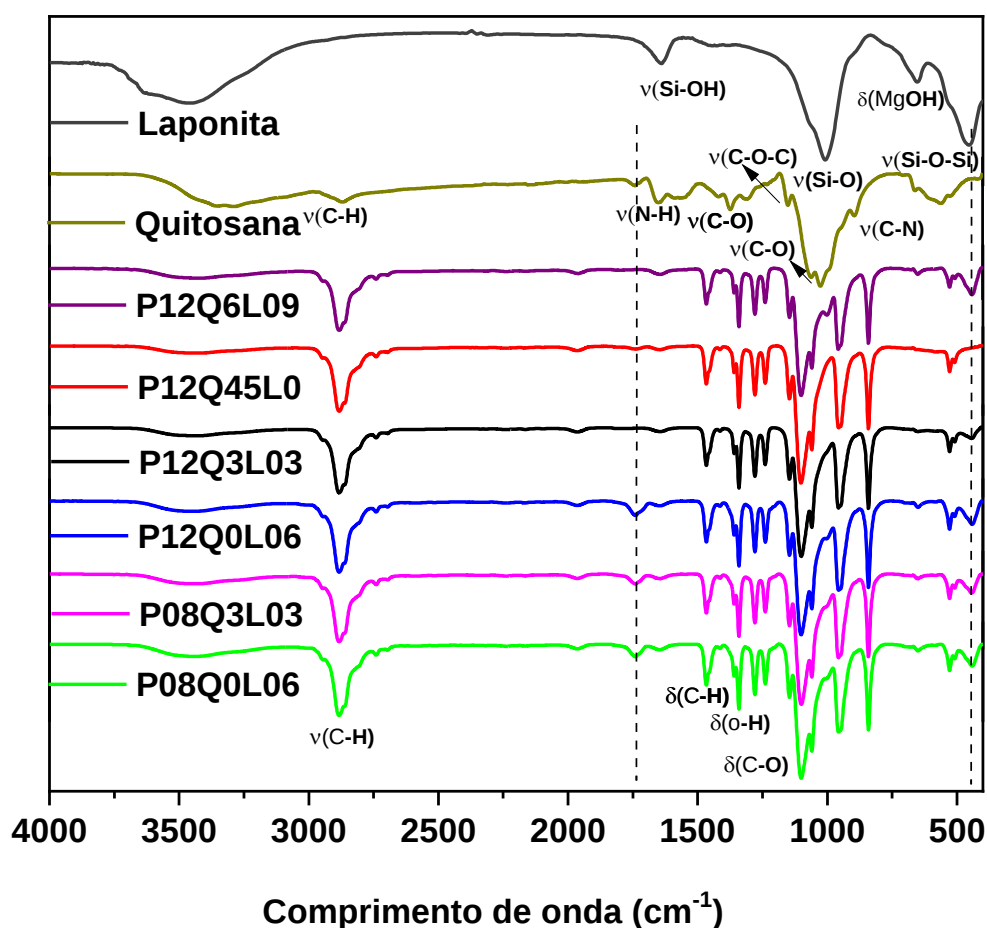
Em estudo preliminar com duas repetições de 20 sementes de alface cultivar Hanson (Repolhuda) da empresa Isla® (Safrá 15/15), com taxa de germinação de 96% pureza de 99,8% foram manualmente revestidas com os nanocompósitos. Para isto, as sementes foram colocadas em tubo Falcon contendo 2 mL dos nanocompósito presentes na Tabela 1, um para cada amostra. Promoveu-se, então, a agitação manual por 10 minutos para realizar o revestimento. Em seguida, as sementes foram colocadas em placas de Petri e mantidas a temperatura ambiente para secagem do nanocompósito.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Caracterização estrutural dos nanocompósitos

Visando avaliar a estrutura química das amostras obteve-se espectros de infravermelho da argila e dos nanocompósitos, que são apresentados na Figura 15.

Figura 15. Espectros de FTIR da Laponita, quitosana e dos nanocompósitos amostras P08Q3L03, P08Q0L06, P12Q45L0, P12Q0L06, P12Q6L09, P12Q3L03.



O espectro da laponita apresentou quatro bandas mais intensas (Figura 15). Em 1.637 cm^{-1} têm-se a banda correspondente ao estiramento Si-OH estrutural da argila [97-99] em 1.007 cm^{-1} , estiramento assimétrico de ligações Si-O [73,99-101]; em 460 cm^{-1} referente as deformações angulares das ligações Si-O-Si existentes nas folhas tetraédricas da laponita [102] e em 650 cm^{-1} atribuída a deformação angular da ligação MgOH [73,99,101]. Na região de aproximadamente 3.500 cm^{-1} foi observada uma banda larga correspondente às vibrações de estiramento dos grupos OH, indicativo da presença de moléculas de água [73,101].

Quanto aos espectros dos nanocompósitos (Figura 15), para bandas características do PEG na região de 1.100 cm^{-1} , que é atribuído a deformação angular da ligação C-O, as demais bandas em geral são atribuídas as vibrações das unidades que se repetem. As bandas por volta de 3.400 cm^{-1} representam grande quantidade de estiramentos O-H [50, 99,103,104].

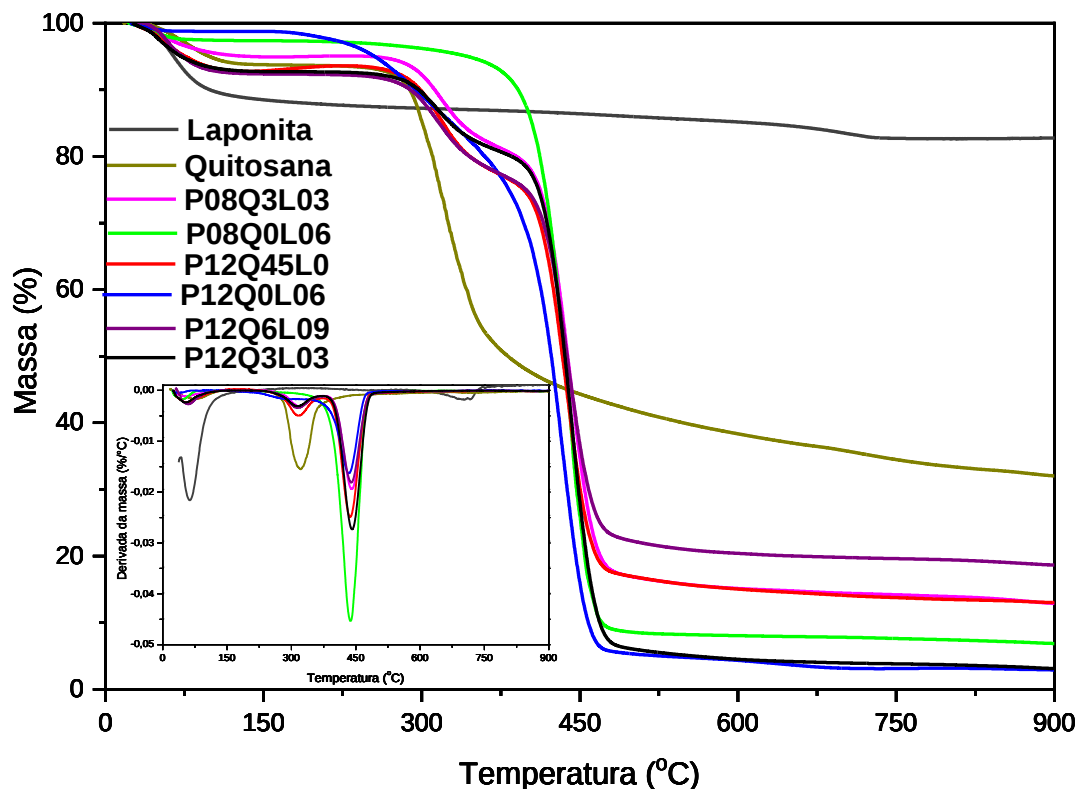
Todos os nanocompósitos apresentaram perfis semelhantes, inclusive as amostras P12Q0L06 e P08Q0L06, que não apresentam quitosana em sua estrutura. Assim, pode-se inferir, que eles se assemelham ao espectro do PEG. Vale destacar que a banda em 1.740 cm^{-1} , presente com maior intensidade na amostra P12Q0L06, também pode ser vista na amostra P08Q0L06 e em menor intensidade na amostra P08Q3L03 (traço pontilhado). Esta banda pode ser atribuída a ligação C=O da quitosana [52] e não pode ser encontrada nas demais amostras, provavelmente como consequência da interação entre o PEG e a quitosana [103]. A amostra P12Q45L0 não apresenta argila em sua composição, pode-se observar a ausência de bandas, na região de 460 e 1.630 cm^{-1} além da banda de baixa intensidade na região de 650 cm^{-1} , bem como a deformação angular da ligação MgOH, que é encontrada nas demais amostras e que são características da laponita.

A partir do espectro da quitosana, pode-se observar uma banda em 895 cm^{-1} [105], correspondente ao estiramento C-N da quitosana, em 1.026 e 1.100 cm^{-1} têm-se bandas provenientes do estiramento C-O de álcool primário e éter, respectivamente [38,105]. Em 1.150 cm^{-1} também há uma banda que pode ser atribuída aos estiramentos C-O-C e C-N presentes na quitosana [38,105]. Da mesma forma, a banda em 1.380 cm^{-1} pode ser correspondente aos estiramentos C-N e C-O, [105] , em 1.630 cm^{-1} [46,106,107], têm-se o estiramento N-H da amida primária; e, em 2.880 cm^{-1} os estiramentos que referem-se aos grupos CH e CH₂ da quitosana [46,106].

Além disso, pode-se destacar a presença de estiramento O-H, indicativo de água na estrutura do material, formando uma banda larga na região de 3.400-3.200 cm^{-1} , esta banda pode derivar também presença de NH₂, ligações de hidrogênio, na quitosana [46,105-107]. Bandas largas na região de 3.400-3.200 cm^{-1} , que correspondem a ligação N-H e ao grupo O-H podem indicar reação entre as aminas e grupos etóxi, corroborando as interações e boa compatibilidade entre a quitosana e o polietilenoglicol [50,51,103].

Para examinar a estabilidade térmica dos materiais, foram coletados os dados de análise termogravimétrica (TG) e da sua Derivada Termogravimétrica (DTG). Na Figura 16 são apresentadas as curvas de TG e DTG da laponita e dos nanocompósitos. Como esperado, a argila apresenta elevada estabilidade térmica com uma perda total de massa por volta de 18%, em 62,5°C que pode ser atribuída a liberação de moléculas de água absorvidas pelas amostras [100,108].

Figura 16. Curvas de Análise Termogravimétrica (TG) e Derivada Termogravimétrica (DTG) da Laponita, quitosana e dos nanocompósitos P08Q3L03, P08Q0L06, P12Q45L0, P12Q0L06, P12Q6L09, P12Q3L03.



A quitosana apresenta duas principais etapas de perda de massa (Figura 16): a primeira 77°C correspondente a perda de água devido a sua hidrofílicidade; a segunda etapa a 320°C advém da degradação da sua cadeia principal, desidratação e despolimerização de unidades de acetil. A amostra de quitosana apresentou uma perda total de massa de aproximadamente 70% [109-112].

Quanto as amostras P12Q0L06 e P08Q0L06, que não apresentam quitosana em sua estrutura, mostraram apenas duas etapas de perda de massa, por volta de 40°C, provavelmente atribuída a perda de moléculas de água, e

435°C. Enquanto a amostra P12Q0L06 mostrou perda total de massa de 97% e a P08Q0L06 perdeu 93%.

O processo de degradação térmica do PEG está relacionado a pirólise da cadeia polimérica pelas cisões aleatórias das ligações C-C ou C-O, que levam à formação de ésteres fórmicos de baixo peso molecular [98,113-115]. Esses dados corroboram com a literatura que aponta para a estabilidade do PEG em temperaturas inferiores a 125°C e finaliza a decomposição térmica em temperaturas superiores a 400°C [116].

Os nanocompósitos P12Q3L03, P12Q6L09 e P08Q3L03, que apresentam quitosana em sua composição, apresentam 3 etapas de perda de massa. A primeira etapa ocorre por volta de 55°C e corresponde a perda de moléculas de água pelas amostras. A segunda etapa de degradação ocorre a 320°C, na região onde a quitosana sofre degradação da sua cadeia polimérica. A terceira etapa em 440°C em virtude da degradação térmica do polímero, comportamento semelhante ao que ocorre na amostra que contém apenas o PEG como matriz polimérica [112]. As três amostras mostraram uma perda total de massa de 85, 80 e 87 %, respectivamente. A menor perda de massa da amostra P12Q6L09 pode ser atribuída a maior quantidade de argila e quitosana presentes na amostra perante as demais.

A amostra P12Q45L0 que não apresenta a argila, também mostrou três etapas de perda de massa, contudo elas foram deslocadas para temperaturas menores (52, 315 e 435°C), visto que a argila proporciona uma melhor estabilidade térmica para os polímeros. Este nanocompósito mostrou também uma perda de massa total superior as demais amostras que apresentam laponita e quitosana, 85% em perda de massa. Por meio dos dados obtidos observou-se que a quitosana e a laponita podem melhorar as propriedades térmicas dos

nanocompósitos, que pode ser interessante quanto ao uso destes materiais em regiões nas quais o solo pode estar suscetível a temperaturas mais elevadas.

O estudo do comportamento reológico dos materiais aplicados a revestimentos, a exemplo de revestimentos comestíveis ou de sementes, permite presumir a relação entre estrutura e espalhamento, espessura e uniformidade das soluções perante o revestimento [117]. Entender a reologia dos nanocompósitos, permite fornecer dados que auxiliam a aplicação do revestimento às sementes, permitindo aplicação e viabiliza definir condições de funcionamento no equipamento de transporte e injeção de fluidos para aplicação dos materiais nas sementes [118]. Desta forma, buscou-se estudar de que forma a quitosana e a laponita poderiam influenciar nas propriedades mecânicas dos materiais.

Inicialmente fez-se necessário obter a região viscoelástica linear (RVL). Nesta região, as deformações impostas não promovem um desarranjo da estrutura, abaixo da RVL, a amostra se recupera elasticamente e desta forma, se comportará como um sólido com G' sendo constante.

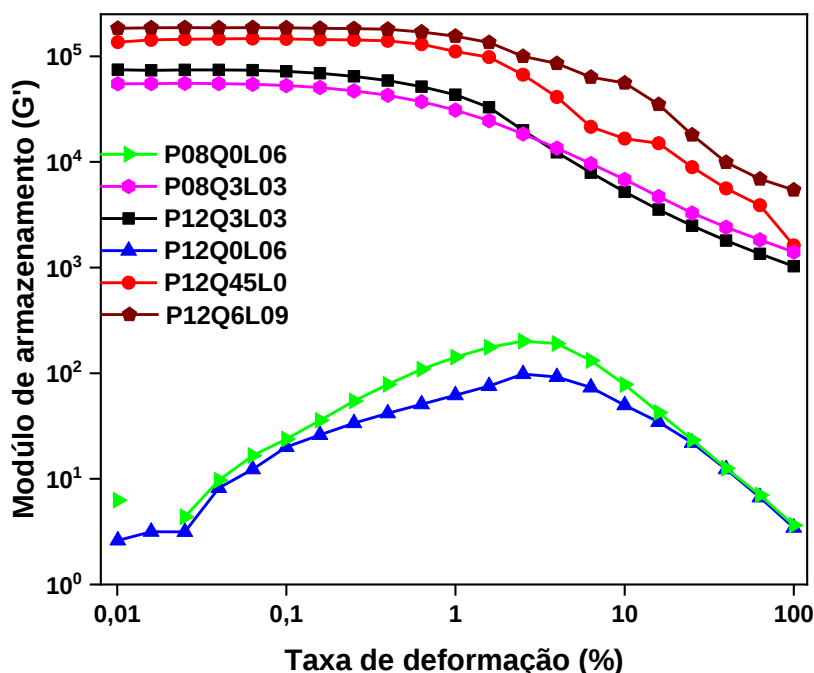
Na Figura 17 é apresentado o módulo de armazenamento (G') em função da taxa de deformação para as amostras P12Q3L03, P12Q0L06, P12Q45L0, P08Q0L06 e P08Q3L03. Para facilitar a visualização apenas os valores de G' foram apresentados. Todas as amostras apresentaram G' maior que o módulo de perda (G''), implicando em uma predominância das propriedades elásticas do material [119,120]. Pode ser também observado na Figura 17 que as amostras mostraram uma RVL definida em até 2% de deformação.

As amostras P12Q0L06 e P08Q0L06 não apresentaram uma RVL, este resultado sugere que a quitosana influenciou no comportamento reológico dos nanocompósitos. Neste caso, a amostra escoou e pode se comportar como um

líquido viscoso, pois é observado a variação de G' em função da deformação. Tais características podem favorecer os revestimentos de sementes desde que apresentem aderência a superfície.

As amostras P12Q45L0 e P12Q6L09 apresentaram os maiores valores de G' , na ordem de 10^5 a 10^6 Pa, enquanto as amostras P12Q0L06 e P08Q0L06 apresentaram os menores valores, entre 1 e 10 Pa. Esse comportamento é esperado visto que P12Q45L0 e P12Q6L09 contêm maiores quantidade de quitosana, enquanto as outras duas amostras não contêm quitosana na composição. Com isto, apresentam maior fluidez, o que justifica a ausência de uma RVL [121]. Pode-se inferir que a viscosidade das amostras está diretamente relacionada a quantidade de quitosana na composição.

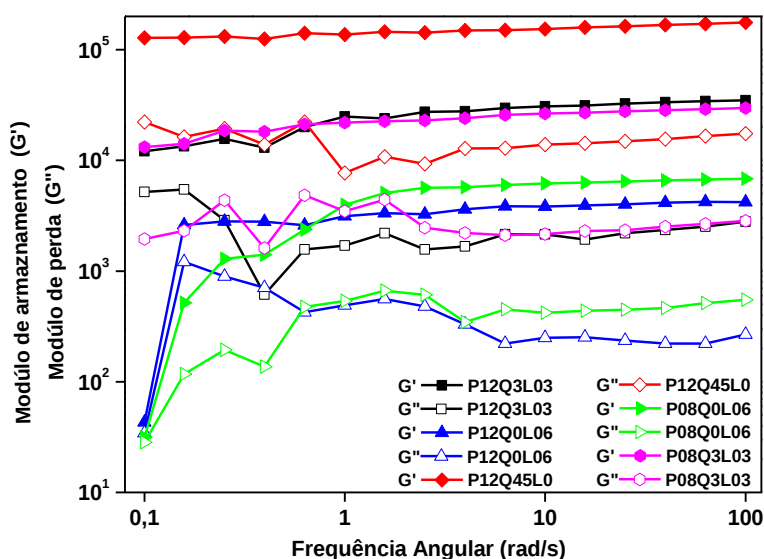
Figura 17. Ensaio de varredura de deformação para as amostras contendo diferentes concentrações de PEG, Quitosana e Laponita.



O comportamento reológico dos nanocompósitos em função da frequência também foi avaliado. Neste ensaio monitora-se o comportamento do material quando há um aumento da frequência em uma faixa de deformação constante. A varredura de frequência fornece dados sobre as interações entre as partículas.

Na Figura 18 são apresentados a variação de G' e G'' em função da frequência para as amostras PQ12Q3L03, P12Q0L06, P12Q45L0, P08Q0L06 e P08Q3L03. Observa-se, a partir da Figura 18, que a amostra P12Q45L0 é independente da frequência, indicativo de um sistema bem reticulado e pouco fluído [122]. Da mesma forma, P12Q3L03 e P08Q3L03 mostraram também independência da frequência e bom grau de reticulação, assim como, pode-se notar que as duas apresentam comportamento semelhante, visto que sua composição é semelhante e o potencial osmótico do PEG não influenciou significativamente na interação intermolecular [119,122].

Figura 18. Ensaio de varredura de frequência para as amostras contendo diferentes concentrações de PEG, Quitosana e Laponita.



Por sua vez, as amostras P12Q0L06 e P08Q0L06 mostraram, inicialmente, certa dependência do módulo elástico (G') com a frequência, em consonância com a maior fluidez, observada para esse material. Os resultados obtidos, com o estudo de varredura de frequência, corroboram com os obtidos no estudo da variação da amplitude de deformação, uma vez que o comportamento de G' segue a mesma tendência.

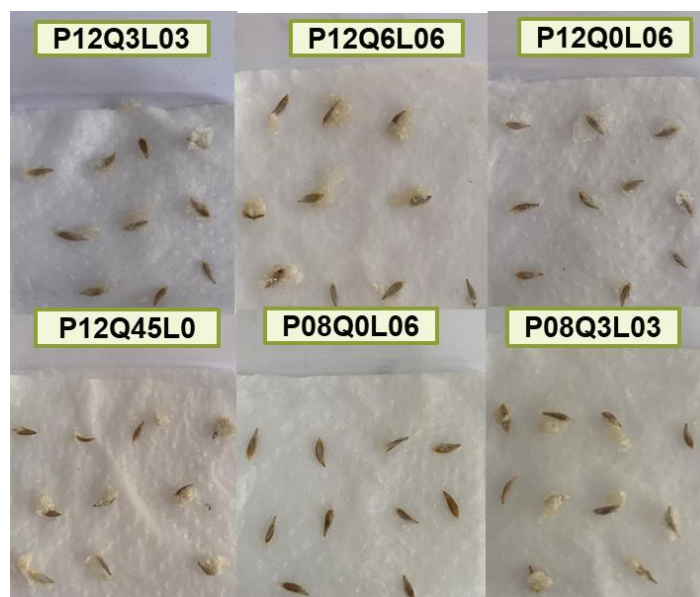
O aumento na concentração de quitosana aumenta a resistência mecânica devido a maior reticulação formada entre as redes poliméricas [123]. Estes dados são importantes, pois os materiais de revestimento não podem ser muito fluídos nem muito viscosos, a fim de garantir uma uniformidade durante o revestimento [117].

4.3.2 Testes preliminares de viabilidade e vigor

Para os testes de germinação, as sementes de alface foram tratadas com amostras P08Q3L03, P08Q0L06, P12Q45L0, P12Q0L06, P12Q6L09, P12Q3L03. Para o tratamento controle não se empregou nenhum filme de nanocompósito. As imagens das sementes após os tratamentos são apresentadas na Figura 19. Sem o uso de lentes ou instrumentos ópticos, apenas a amostra P08Q0L06 mostrou um revestimento menos espesso que pode ser classificado como filme, enquanto os demais podem se enquadrar no tipo encrustado. Entretanto, as amostras não mostraram um revestimento uniforme, sendo necessário melhorar a técnica de revestimento das sementes. As diferentes concentrações dos compostos nas amostras, a depender das concentrações, podem afetar a aplicação, sendo este um fator de grande

importância, pois um bom revestimento deve permitir uma aplicação uniforme nas sementes.

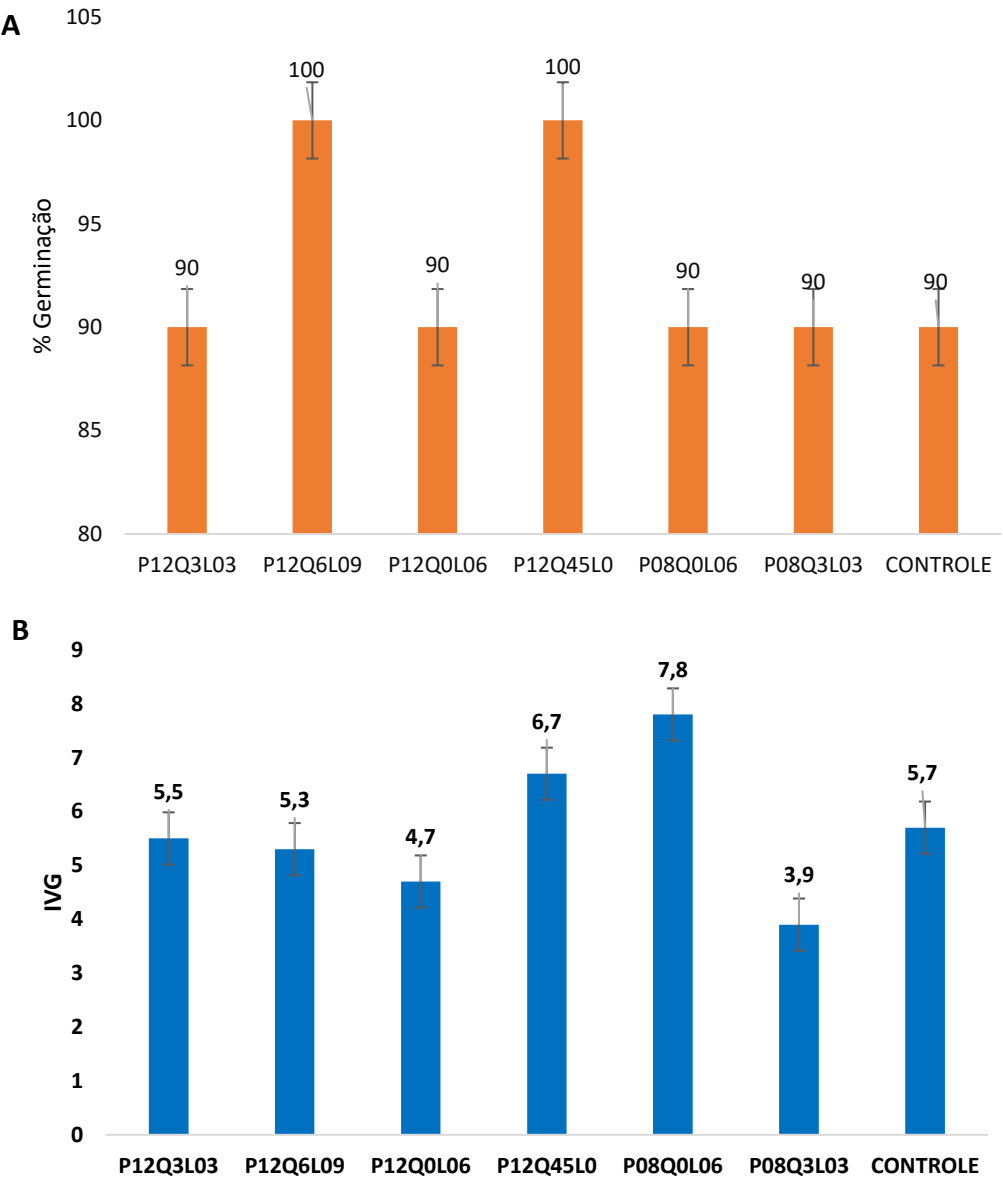
Figura 19. Sementes de *Lactuca sativa* L. após os tratamentos com os nanocompósitos contendo diferentes concentrações de PEG, Quitosana e Laponita.



Bioensaios ecotoxicológicos sensíveis e simples, como testes de germinação de sementes e alongamento de raízes em plântulas de alface, são comumente usados para avaliar a fitotoxicidade de materiais [124].

Os resultados do teste preliminar de germinação bem como a porcentagem de germinação das sementes encontram-se na Figura 20. A, o Índice de velocidade de germinação (IVG) são encontradas na Figura 20. B. As sementes apresentaram germinação de acordo com as exigências comerciais de 90% [125].

Figura 20 – Germinação (20.A) e índice de velocidade de germinação (IVG) (20.B) com diferentes nanocompósitos no revestimento de sementes de alface.



Os tratamentos P12Q45L0 e P08Q0L06, apresentaram germinação mais rápida que o controle, enquanto o controle apresentou índice de 5,7 as amostras apresentaram 6,7 e 7,8, respectivamente. Vale destacar as amostras P12Q6L09 e P12Q45L0 que mostraram as melhores taxas de germinação (100%), sementes tratadas com PEG e quitosana mostraram aumento significativo no índice de germinação, enquanto a amostra P08Q0L06 exibiu a mais rápida germinação. Avaliou-se também o comprimento das plântulas utilizadas no teste de germinação utilizando-se régua centimétrica (Figura 21).

Figura 21. Plântulas de alface obtidas após tratamentos com amostras empregando diferentes nanocompósitos.



Em razão da elevada umidade a qual as sementes são submetidas durante o experimento de germinação, é comum o desenvolvimento de fungos e

bactérias prejudicando o processo de germinação das sementes. Com exceção de uma semente que recebeu o revestimento P12Q0L06, que não apresenta quitosana, as sementes não apresentaram fungos detectados visualmente. No entanto, deve-se considerar o teste de sanidade para inferências nos testes posteriores para identificação da presença de fungos e bactérias. Cabe ressaltar que a quitosana tem atividade antimicrobiótica [60,126].

A capacidade da quitosana de contribuir para a melhoria da germinação em muitas espécies de plantas pode ser intrínseca a sua capacidade de formação de filmes semipermeáveis que podem manter a semente úmida enquanto absorve a umidade do solo e estimula a germinação [127]. Desta forma, os nanomateriais mostraram-se promissores no uso em revestimento de sementes, podendo contribuir para germinação das sementes e desenvolvimento das plântulas.

4.4 CONCLUSÕES PARCIAIS

Os nanocompósitos polímero/argila derivados do polietilenoglicol, quitosana e laponita foram obtidos, e a interação entre argila e polímeros foi confirmada. A quitosana e a laponita contribuíram para melhoria nas propriedades térmicas dos materiais. As características reológicas dos nanocompósitos mostram que a quitosana interfere diretamente na deformação máxima suportada pelas amostras que mostraram um sistema bem reticulado e pouco fluído, propício a aplicação como revestimento.

Sementes de alface Hanson nos testes preliminares com os revestimentos P12Q6L09 e P12Q45L0 são potenciais para uso em sementes de alface, pois promoveram melhores taxas de germinação e os nanocompósitos não se mostraram tóxicos as sementes.

5

Estudo da composição dos Nanocompósitos

Neste capítulo estão sintetizados e caracterizados, os nanocompósitos que no estudo prévio (Capítulo 4), não se apresentaram toxicidade as sementes e contribuíram para sua germinação. O estudo sistemático das condições de síntese permitiu otimizar e correlacionar a nanoestrutura com os nanocompósitos que apresentaram as melhores taxas de germinação.

5.1 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1.1 Síntese dos nanocompósitos

Para síntese dos nanocompósitos, foram utilizados os mesmos reagentes e procedimentos mencionados no item 4.1.1, variou-se apenas as quantidades de reagentes que estão dispostos na Tabela 2.

Tabela 2 – Quantidades de reagentes utilizadas na síntese dos novos nanocompósitos.

Amostra	PEG (30mL)	Quitosana (g)	Laponita (g)
P12Q0L0	-1,2	-	-
P12Q0L09	-1,2	-	0,9
P12Q3L0	-1,2	3,0	-
P12Q3L09	-1,2	3,0	0,9
P12Q45L0	-1,2	4,5	-
P12Q45L09	-1,2	4,5	0,9
P12Q6L0	-1,2	6,0	-
P12Q6L09	-1,2	6,0	0,9

Para a caracterização estrutural de todos os materiais, as amostras foram secas a temperatura ambiente por 7 dias, a fim de se obter monolitos que foram macerados até a obtenção de um pó fino, como descrito no item 4.1.1.

5.2 Técnicas de caracterização

5.2.1 Espectrofotometria de Absorção na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) de nanocompósitos

A espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier foi realizada no Centro de Laboratórios de Química Multiusuários (CLQM) da Universidade Federal do Sergipe – UFS, *Campus* Prof. José Aloísio de Campos. Utilizou-se o espectrofotômetro (VARIAN 640-IR), entre a região de 4000 a 400 cm^{-1} . foram preparadas pastilhas das amostras em pó com brometo de potássio (KBr) como agente dispersante, sob a pressão de 2,76 MPa, com o auxílio de uma prensa (Modelo C, Carvel Laboratory Press).

5.2.2 Análise Termogravimétrica de nanocompósitos

Para o estudo das propriedades térmicas, utilizou-se balança termogravimétrica (modelo TGA-51, Shimadzu), sob atmosfera inerte de Nitrogênio (N), no intervalo da temperatura ambiente até a temperatura de 900 °C com uma taxa de aquecimento de 10 °C/min para obtenção das curvas termogravimétricas (TG) e curvas de derivadas termogravimétricas (DTG). As análises foram obtidas com a amostra na forma de pó e realizadas no Laboratório de Estudos de Sistemas Coloidais do Núcleo de Estudos em Sistemas Coloidais (NUESC) no Instituto de Tecnologia e Pesquisa, Aracaju-SE.

5.2.3 Comportamento reológico de nanocompósitos

O comportamento reológico dos materiais foi obtido com os mesmos parâmetros e equipamento descritos no item 3.2.3.

5.2.4 Revestimento das sementes

5.2.4.1 Testes empregando *Zea mays* L.

Tendo em vista que a fitotoxicidade das amostras foi avaliada nos testes preliminares com sementes de *Lactuca Sativa* L., nestes testes foram utilizadas sementes de milho, com a intenção de avaliar a viabilidade das sementes tratadas e o efeito desses compostos no processo de germinação de sementes e o desenvolvimento de plântulas nos primeiros dias de desenvolvimento. Para o revestimento, 100 sementes foram colocadas em contato com 10 mL do nanocompósito, promoveu-se, então, a agitação manual. Em seguida, as sementes foram colocadas em placa de Petri e secas a temperatura ambiente, esse procedimento foi feito com todas as amostras visando a formação de filme de nanocompósito nas sementes.

Para definição da temperatura, o tipo de substrato e a avaliação da germinação, consultou-se as Regras para Análises de sementes (RAS) do Ministério da Agricultura e Pecuária.

Empregou-se 4 repetições de 25 sementes tratadas com cada amostra. As sementes tratadas foram distribuídas em rolo de papel tipo germitest, umedecido com 2,5 vezes o peso do papel com água destilada e mantidas em germinador tipo mangelsdorf a 25°C, com luz contínua. No quinto dia realizou-se a primeira contagem e a última aos sete dias após a semeadura, computando-se a porcentagem de plântulas normais [128].

Para analisar a viabilidade das sementes, foi calculada a porcentagem de Germinação (%G), ao final dos 7 dias, quando a última contagem foi realizada e a porcentagem de plântulas normais foi determinada:

$$\%G = \frac{N}{A} \times 100 \quad [128]$$

Sendo:

% G = porcentagem de germinação;

N = número de sementes germinadas;

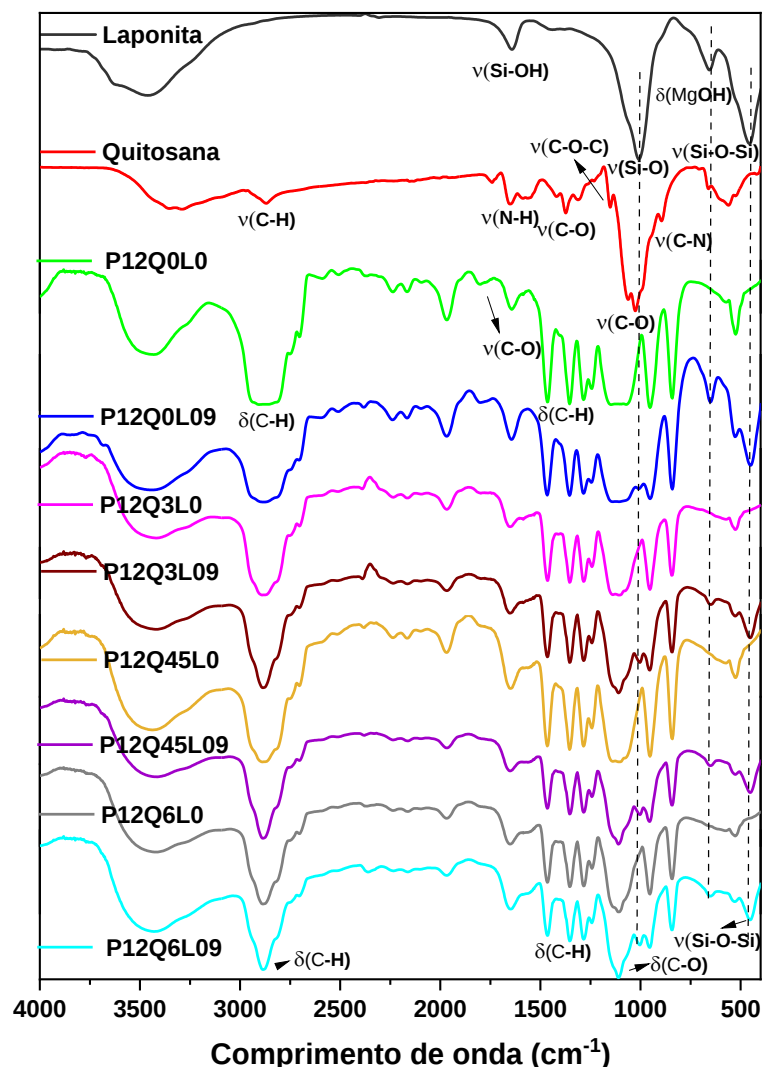
A = número total de sementes colocadas para germinar.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1 Caracterização estrutural

Do espectro da laponita (Figura 22) pode-se destacar, além da banda larga na região de 3.500 cm^{-1} correspondente às vibrações de estiramento dos grupos OH, de moléculas de água, quatro bandas mais intensas [76,131]. A primeira banda, em 1.637 cm^{-1} corresponde ao estiramento Si-OH [92,132,133]; em 1.007 cm^{-1} , relativo ao estiramento assimétrico de ligações Si-O [30,73,99,100,101]; em 460 cm^{-1} temos as deformações angulares das ligações Si-O-Si existentes nas folhas tetraédricas da argila [102] e, por fim, na região de 650 cm^{-1} têm-se a deformação angular da ligação MgOH [30,73,99,101].

Figura 22. Espectros de FTIR da laponita, quitosana e dos nanocompósitos P12Q0L0, P12Q0L09, P12Q3L0, P12Q3L09, P12Q45L0, P12Q45L09, P12Q6L0 e P12Q6L09.



A respeito da quitosana, pode-se observar uma banda larga na região de $3.400\text{-}3.200\text{ cm}^{-1}$, referente ao estiramento O-H de moléculas de água, esta banda pode derivar também presença de NH_2 , ligações de hidrogênio, na quitosana [46,105-107]. Para quitosana há a banda em 895 cm^{-1} correspondente ao estiramento C-N [105], em 1.026 e 1.100 cm^{-1} têm-se bandas provenientes

do estiramento C-O de álcool primário e éter, nessa ordem [38,105]. Foram observados os estiramentos C-O-C e C-N representados pela banda presente na região de 1.150 cm^{-1} [38,105]. Ainda relativo a estiramentos C-N e C-O, têm-se a banda em 1.380 cm^{-1} [105], em 1.630 cm^{-1} [46,106,107], têm-se o estiramento N-H da amida primária; e, em 2.880 cm^{-1} os estiramentos dos grupos CH e CH₂ [46,106].

Para o espectro da amostra P12Q0L0, apresentado na Figura 22, é importante pontuar que essa amostra apresenta apenas PEG e água, visto que não apresenta quitosana ou laponita em sua formulação. Consequentemente, podemos destacar bandas características do PEG; na região de 1.100 cm^{-1} banda correspondente a deformação angular da ligação C-O; em 1.250 cm^{-1} a deformação angular da vibração C-H no modo balanço; 1.350 cm^{-1} a vibração de deformação angular da ligação O-H [99]; 1.460 cm^{-1} a deformação angular das ligações C-H [99]. Em 2.880 cm^{-1} apresentam-se bandas atribuídas ao estiramento das ligações C-H do grupo alquila [99]; as bandas em 950 e 840 cm^{-1} respectivamente, correspondem ao estiramento das ligações C-C[99]; além da banda larga na região de 3.500 cm^{-1} equivalente as moléculas de água, as demais bandas em geral são atribuídas as vibrações das unidades que se repetem [50,99,103,104].

Quanto aos nanocompósitos, todas as amostras apresentam perfis similares muito próximos ao espectro obtido para a amostra P12Q0L0. Portanto, são análogos ao do PEG com as bandas características correspondentes a deformação angular da ligação C-O (1.100 cm^{-1}) e estiramento C-H (1.335 e 2.880 cm^{-1}). Todas as amostras apresentam o estiramento O-H de moléculas de água [50, 103,104]. As bandas largas na região de 3.500 cm^{-1} , além da presença de água, podem indicar reação entre as aminas da quitosana e grupos etóxi do

PEG, corroborando as interações e boa compatibilidade entre a quitosana e o PEG [50,51,103].

A amostra P12Q0L09, como esperado, apresenta bandas características da argila (traços pontilhados: aproximadamente 1010, 650 e 450cm⁻¹, correspondentes a estiramento assimétrico Si-O; deformações angulares Si-O-Si, deformação angular MgOH) e as bandas características do PEG [30,73,99-102]. As amostras P12Q3L0, P12Q3L09, P12Q45L0, P12Q45L09, P12Q6L0 e P12Q6L09 não apresentam a banda na região de 1.790cm⁻¹ que é encontrada nas amostras que não apresentam quitosana (P12Q0L0 e P12Q0L09) e que foram atribuídas a ligação C=O da quitosana [52], possivelmente como consequência da interação entre o PEG e a quitosana [103].

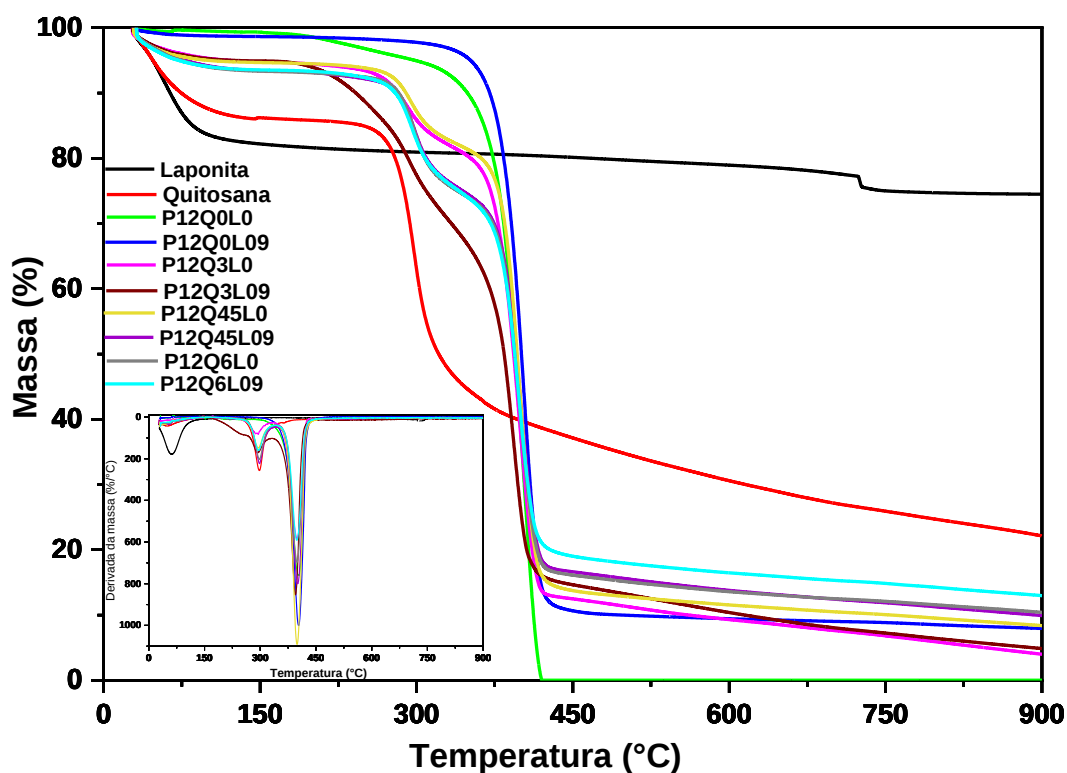
A análise gravimétrica térmica (TG) e da sua Derivada Termogravimétrica (DTG) foram obtidas a fim de se investigar a estabilidade térmica das amostras (Figura 23). A argila apresenta elevada estabilidade térmica com uma perda total de massa por volta de 25%, na região de 62°C que pode ser entendida moléculas de água absorvidas pela laponita sendo liberadas [100,108].

Quanto a quitosana, têm-se uma perda total de massa de 78% e apresenta duas principais etapas de perda de massa (Figura 23), uma na região de 50°C, decorrente da hidroflicidade deste material e correspondente a perda de água; e outra etapa a 300°C equivalente degradação da sua cadeia principal, desidratação e despolimerização de unidades de acetil [109-112].

A amostra P12Q0L0 (Figura 23) corresponde ao PEG e mostra a degradação térmica relacionada por pirólise da cadeia polimérica que ocorre através das cisões aleatórias das ligações C-C ou C-O, que levam à formação de ésteres fórmicos de baixo peso molecular [98,113-115], a decomposição

térmica do PEG é finalizada a 400°C com praticamente perda total de massa do polímero [116].

Figura 23. Curvas de Análise Termogravimétrica (TG) e Derivada Termogravimétrica (DTG) da laponita, quitosana e dos nanocompósitos P12Q0L0, P12Q0L09, P12Q3L0, P12Q3L09, P12Q45L0, P12Q45L09, P12Q6L0 e P12Q6L09.



Acerca da amostra P12Q0L09, que apresenta além do PEG a laponita, têm-se comportamento semelhante. Entretanto, devido a presença do argilomineral observou-se uma perda ligeiramente menor de massa, aproximadamente 92%, e a degradação ocorreu por volta de 405°C.

Os nanocompósitos, apresentam perfis semelhantes com 3 etapas de perda de massa e as amostras contendo argila (P12Q3L09, P12Q45L09 e P12Q6L09) apresentaram as menores perdas totais de massa. A primeira etapa de degradação das amostras ocorre por volta de 55°C e corresponde a perda de moléculas de água. Por sua vez, a segunda etapa de perda de massa ocorre na região de 300°C, oriunda da degradação da cadeia polimérica da quitosana. Quanto a terceira etapa que é atribuída a degradação térmica do polímero, comportamento semelhante ao que ocorre na amostra que contém apenas o PEG como matriz polimérica, e ocorre na região de 400°C [112]. Os nanocompósitos, que apresentam a quitosana e argila, com maior valor de perda total de massa foi o P12Q3L0 e P12Q3L09 com 96 e 95%; enquanto as amostras P12Q6L0 e P12Q6L09 apresentaram os menores valores: 89,5 e 87%, respectivamente. Observa-se, portanto que a quitosana e a laponita podem melhorar as propriedades térmicas dos nanocompósitos.

Buscando investigar o comportamento reológico dos materiais frente as diferentes composições, foram realizados ensaios de varredura de deformação e varredura de frequência. Na região viscoelástica linear (RVL), as amostras apresentam módulo de armazenamento (G') constante, desta forma, o comportamento elástico predomina e as amostras conseguem se recuperar das deformações aplicadas sem sofrerem danos as suas estruturas, portanto apresentam comportamento de um sólido elástico. Na Figura 24 é exibido o módulo de armazenamento (G') em função da taxa de deformação para todas as amostras, incluindo as amostras de quitosana e laponita puras. Como forma de simplificar a visualização apenas os valores de G' foram apresentados. Vale, salientar que todas as amostras apresentaram G' maior que o módulo de perda (G''), implicando em uma predominância das propriedades elásticas do material [119,120].

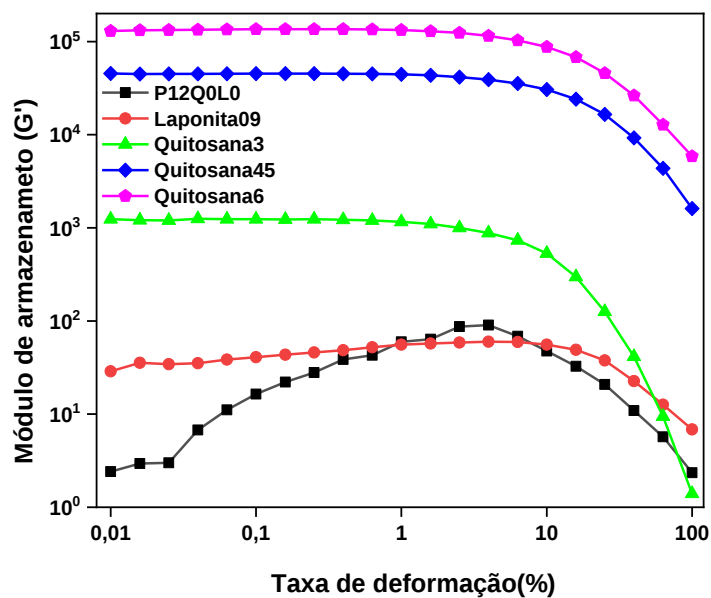
A partir da Figura 24.A foi observado, com exceção de P12Q0L0 (fluída), a RVL das amostras é bem definida. O comportamento de P12Q0L0 evidenciou que a quitosana e a argila influenciaram diretamente no comportamento reológico dos materiais, pois apresentou variações não lineares do G' em função da variação da taxa de deformação. Isto é devido ao seu caráter líquido viscoso e consequente escoamento. Esta composição pode ser utilizada nos revestimentos de sementes desde que apresente aderência a superfície.

Em relação as amostras de Laponita09, Quitosana3, Quitosana45 e Quitosana6 (Figura 24.A) foi possível inferir que a quitosana apresentou maior influência que a laponita sobre o G' , pois mostraram maiores valores de G' . Por outro lado, a amostra com laponita apresentou uma maior RVL. As amostras com quitosana apresentam valores de RVL de até 4 a 6%, enquanto a com laponita tem aproximadamente 10% da taxa de deformação. Com estes resultados a quitosana aumentou o grau de reticulação, entretanto, com uma capacidade inferior para suportar maiores taxas de deformação do que a laponita.

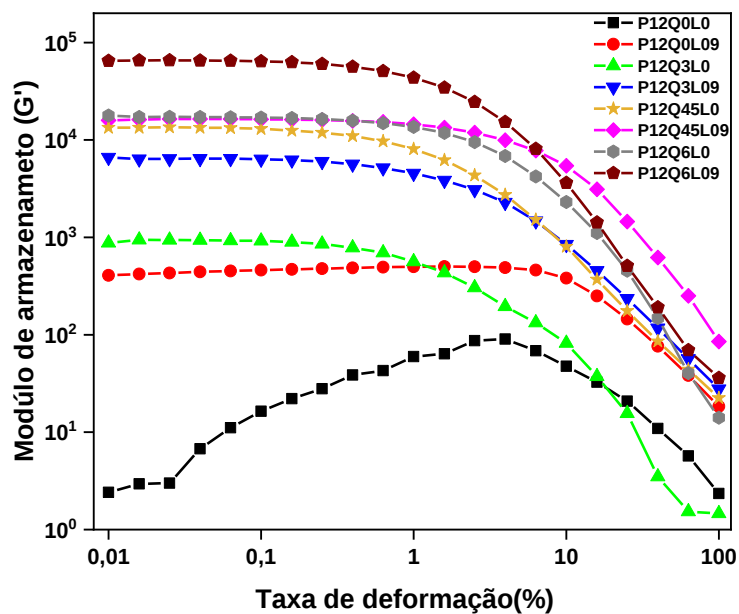
Os nanocompósitos (Figura 24.B) apresentaram perfis semelhantes as amostras puras. Todas apresentaram valores de G' , sugerindo sistemas estruturados que se comportam como sólidos elásticos [129,130].

Figura 24. Ensaio de varredura de deformação para as amostras da laponita, Quitosana3, Quitosana45, Quitosana6, P12Q0L0, P12Q0L09, P12Q3L0, P12Q3L09, P12Q45L0, P12Q45L09, P12Q6L0 e P12Q6L09. Para melhor visualização, os reogramas foram separados em Figura 24.A correspondente as amostras puras e a Figura 24.B aos nanocompósitos.

A.



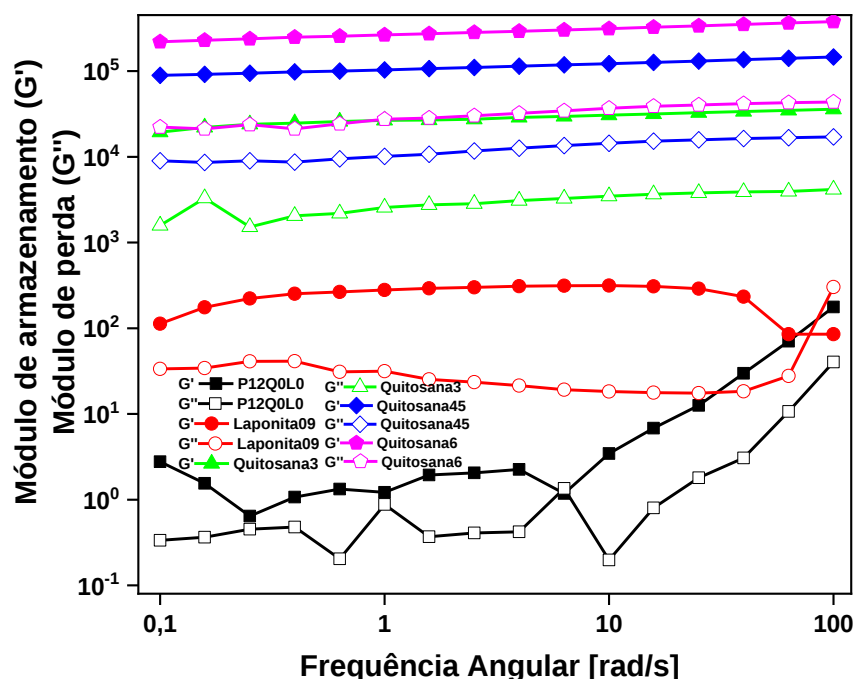
B.



Aqueles que apresentaram maiores quantidades de quitosana, a exemplo da amostra P12Q6L09, exibiram maiores valores de G' . Entretanto, a RVL dos nanocompósitos é menor que a das amostras puras (entre 1% e 2,5%). Após a RVL, os módulos de G' começam a diminuir à medida que a tensão aumenta, atingindo o ponto de tensão crítica, indicando a ruptura da rede estrutural [129].

Os ensaios de varredura de frequência são mostrados nas Figura 25 e 26. Para as amostras puras, verificou-se que $G' > G''$ para toda a região de frequência, ou seja, são caracterizados como sólidos elásticos e pouco fluidos. Praticamente todas as amostras apresentaram os valores dos módulos independentes da frequência, indicando a presença de uma estrutura reticular consolidada.

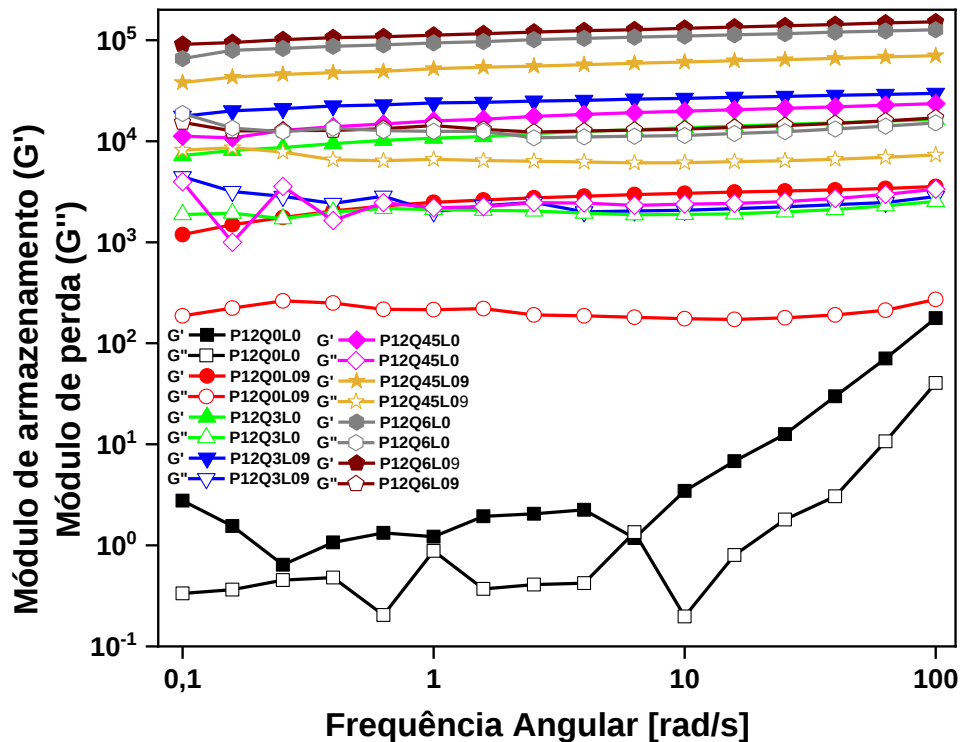
Figura 25. Ensaio de varredura de frequência para as amostras da laponita, Quitosana3, Quitosana45, Quitosana6 e P12Q0L0.



A amostra P12Q0L0 apresentou dependência de G' com a frequência (Figura 17), assim como a Laponita09 principalmente para valores de frequência angular mais alta (75 rad/s) em que G'' é maior que G' . Estes resultados explicam o caráter de líquido viscoso destas amostras, ou seja, apesar de apresentarem uma estrutura reticular, esta não são tão consolidadas como as demais amostras, o que permitem apresentar maior fluidez e escoamento como líquidos [129].

Na Figura 26 são apresentados a variação de G' e G'' em função da frequência para as amostras P12Q0L0, P12Q0L09, P12Q3L0, P12Q3L09, P12Q45L0, P12Q45L09, P12Q6L0 e P12Q6L09.

Figura 26. Ensaio de varredura de frequência para as P12Q0L0, P12Q0L09, P12Q3L0, P12Q3L09, P12Q45L0, P12Q45L09, P12Q6L0 e P12Q6L09.



Nota-se, pela Figura 26, que G' e G'' dos nanocompósitos independem da frequência, forte indício de boa reticulação e baixa fluidez. Com o aumento da concentração de quitosana houve o aumento de G' indicando a formação de uma maior reticulação formada entre as redes poliméricas, o que pode influenciar significativamente na resistência mecânica dos materiais [123].

Vale ressaltar que a presença de argila juntamente com a quitosana contribuem para o aumento dos valores de G' e G'' . Isto pode ser explicado pela possível interação eletrostática da quitosana catiônica com as cargas negativas da argila, formando uma estrutura mais ordenada [85,130].

Os dados alcançados nos testes de frequência estão de acordo com os de deformação, com resultados semelhantes para o G' . Desta forma, e por terem viscosidades razoáveis, os materiais podem ser apropriados à aplicação em revestimentos de forma homogênea [116].

5.3.2 Testes de germinação

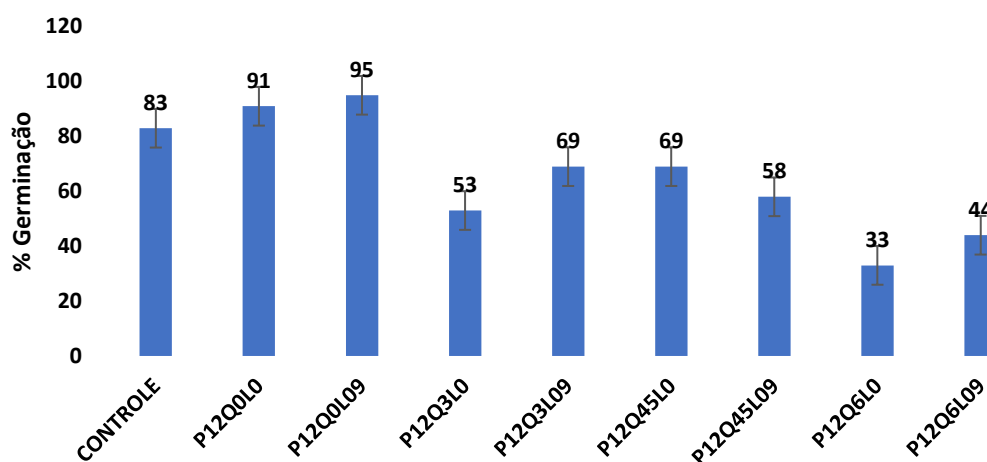
Para os testes de germinação as sementes de milho foram tratadas com amostras P12Q0L0, P12Q0L09, P12Q3L0, P12Q3L09, P12Q45L0, P12Q45L09, P12Q6L0 e P12Q6L09, também foram utilizadas sementes sem nenhum tipo de tratamento como controle. As imagens das sementes após os tratamentos são apresentadas na Figura 27. Sem o uso de lentes ou instrumentos ópticos, apenas as amostras P12Q0L0 e P12Q0L09 mostraram um revestimento menos espesso que pode ser classificado como filme, enquanto os demais podem se enquadrar no tipo encrustado.

Figura 27. Sementes de milho tratadas com os nanocompósitos P12Q0L0, P12Q0L09, P12Q3L0, P12Q3L09, P12Q45L0, P12Q45L09, P12Q6L0 e P12Q6L09.



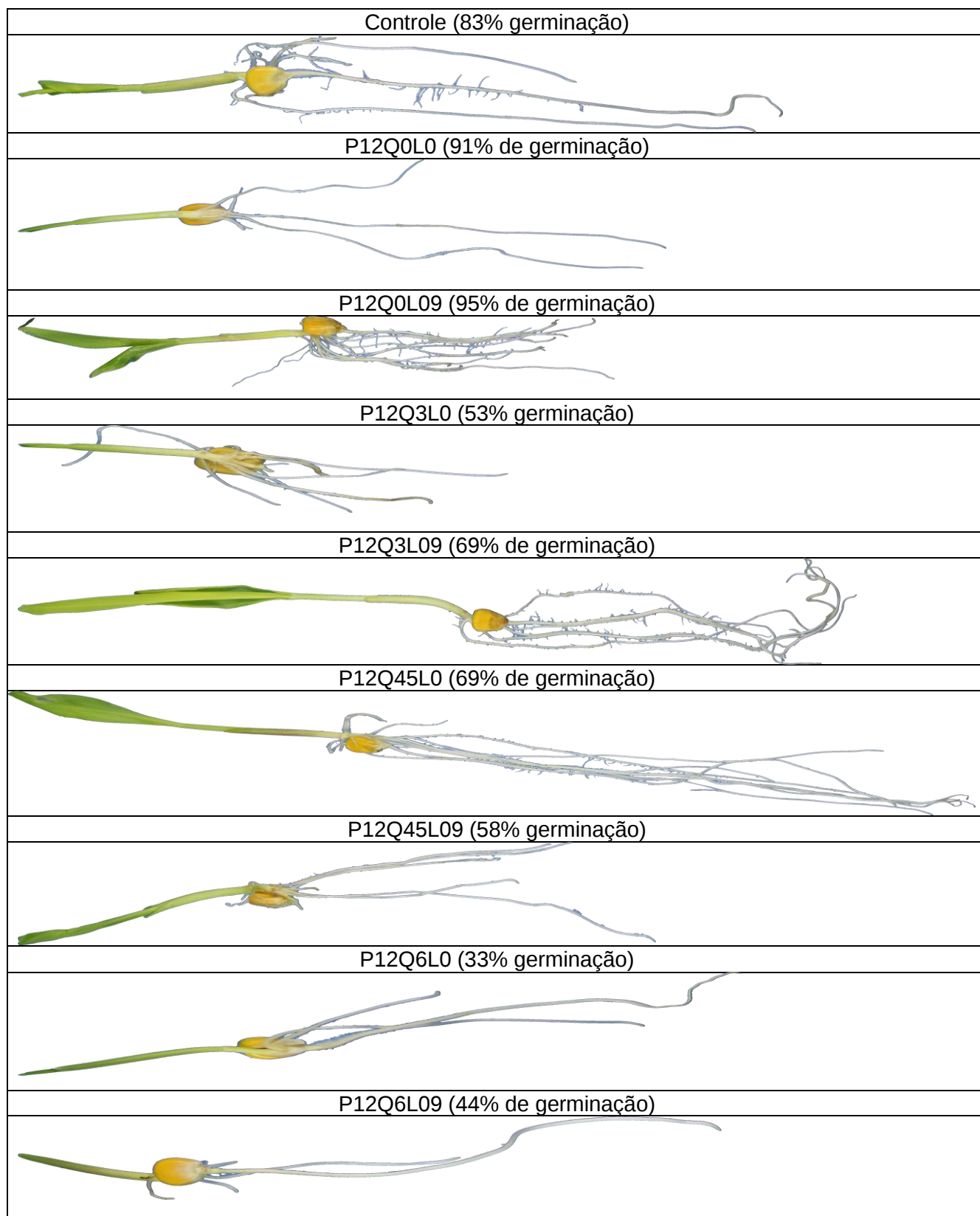
Os resultados do teste germinação com as porcentagens de germinação e de plântulas normais de obtidas ao fim do experimento encontram-se na Figura 28.

Figura 28 – Germinação (%) com diferentes nanocompósitos no revestimento de sementes de milho.



As sementes usadas no controle apresentaram taxa de germinação de 83%. Para as amostras P12Q0L0 e P12Q0L09 ocorreu as melhores taxas de germinação, 91 e 95%, respectivamente. As demais amostras apresentam quitosana em sua formulação e suas taxas de germinação foram inferiores, entre 33 e 69%. Os nanomateriais, em especial as amostras P12Q0L0 e P12Q0L09, mostraram-se promissores no uso em revestimento de sementes, podendo contribuir para germinação das sementes e desenvolvimento das plântulas de milho. As imagens de algumas amostras de plântulas obtidas nos experimentos são apresentadas na Figura 29.

Figura 29. Plântulas de milho var. Pé de boi obtidas das sementes tratadas com nanocompósitos contendo variações no conteúdo de quitosana e laponita.



Apesar da quitosana apresentar capacidade antifúngica, a laponita mostrou a melhor contribuição para a germinação e formação de plântulas saudáveis e vigorosas, a quitosana mostrou-se eficiente na melhoria de germinação e desenvolvimento de sementes devido a sua propriedade de formação de filmes. No entanto, no caso das amostras P12Q6L0 e P12Q6L09 podemos ter tido a formação de um encrustado que não favoreceu as trocas gasosas e de água das sementes o que afetou a sua taxa de germinação [127].

Comparando-se os resultados de porcentagem de germinação obtidos para a sementes de milho (Figura 29) e as porcentagens obtidas para as sementes de alface (Figura 21), discutidas no item 4.3.2, nota-se uma diferença entre a influência da quitosana sobre as sementes. A quitosana mostrou-se favorável a germinação das sementes de alface, superando valores de germinação do controle, o que não é visto para as sementes de milho. Na literatura, o efeito e o mecanismo das nanopartículas de quitosana na germinação e no crescimento de mudas de trigo (*Triticum aestivum* L.), pertencente a mesma família do milho, foram testadas diferentes concentrações e tiveram efeito promotor de crescimento em concentrações de 50µg/mL de quitosana. Além disso, a aplicação induziu a expressão gênica relacionada à auxina, acelerou a biossíntese e o transporte do ácido indol-3-acético (IAA) e reduziu a atividade da IAA oxidase, resultando no aumento da concentração de IAA na parte aérea e nas raízes das plântulas [134].

Entretanto, a diferença observada nas nossas amostras pode ser explicada pela variação das espécies, na tecnologia de sementes, o uso de materiais biocompatíveis, como a quitosana, tem demonstrado melhorar o processo de germinação e estabelecimento de mudas, conforme verificado em nesta investigação. Os tratamentos com quitosana aumentaram a germinação em 26% no feijão e 16% no gergelim em comparação com o controle; o índice

de velocidade de germinação apresentou aumento de 61% no feijão e 58% no gergelim. Os tratamentos com quitosana aumentaram o comprimento da raiz no feijão em 77% e no gergelim quatro vezes mais, em comparação com os tratamentos controle. Diferentes formas de revestimentos de quitosana melhoram a germinação e o estabelecimento das mudas; entretanto, a resposta ao tipo de cobertura em um determinado estágio de desenvolvimento da muda dependerá da espécie e da cultura [135].

5.4 CONCLUSÕES FINAIS

Os materiais obtidos mostraram a interação entre argila e polímeros. As características reológicas dos nanocompósitos mostram que a quitosana interfere diretamente na deformação máxima suportada pelas amostras que em um sistema bem reticulado e pouco fluído, propício a aplicação como revestimento de sementes.

As amostras com maiores quantidades de quitosana e laponita mostraram as melhores propriedades térmicas, o que favorece o enfrentamento do estresse abiótico. As amostras foram revestidas, em sua maioria no formato encrustado, com exceção das amostras P12Q0L0 e P12Q0L09 que também exibiram as melhores porcentagens de germinação (91 e 95%, respectivamente), e, portanto, foram as mais promissoras para o tratamento com sementes de milho. Em comparação com os resultados das sementes de alface, os nanocompósitos apresentaram comportamentos diferentes, desta forma, pode-se concluir que os revestimentos fornecem resultados distintos a depender da cultura ao qual é aplicado.

6. PERSPECTIVAS DO TRABALHO

O estudo realizado abre perspectivas para novas investigações e produtos. Concomitante ao revestimento das sementes foram também produzidas soluções contendo as amostras de nanocompósitos, nas quais sementes de mangaba, foram armazenadas, que são recalcitrantes. Sementes recalcitrantes não podem ser dessecadas e armazenadas sob baixas temperaturas. Desta forma, soluções que permitam a manutenção da viabilidade de tais sementes são promissoras.

Nesta perspectiva foram realizados pré-testes com tais soluções e foi possível conservar as sementes por 60 dias em refrigeração. Além disso, não foram identificados fungos esporulando nas sementes, provavelmente devido a ação antifúngica da quitosana.

Espera-se com este trabalho avançar em estudos da solução para armazenamento de sementes recalcitrantes, como por exemplo café, que existe uma demanda por produtores de mudas, no estado de Minas Gerais.

Quanto aos revestimentos via filme em sementes na forma de recobrimento, propõe-se o estabelecimento de novos estudos visando a adesão homogênea por toda a superfície das sementes.

Existe também perspectivas para novos processos visando o encapsulamento de sementes de mangaba com os nanocompostos testados em sementes de milho e alface.

Outra demanda apresentada por empresas de bioinsumos é a obtenção de novos nanocompósitos e soluções que permitam a manutenção da viabilidade dos microrganismos e que poderão ser novas patentes de processos e produtos.

7. PRODUÇÕES

Artigos

Lima, K. S., Silva-Mann, R., & Sarmento, V. H. V. (2021). Chitosan and Laponite: a meta-analysis on their applications. *Research, Society and Development*, 10(13), e132101320903-e132101320903. DOI: 10.33448/rsd-v10i13.20903.

Trabalhos em eventos:

LIMA, K. S.; SILVA-MANN, RENATA; SARMENTO, V. H. V. (2022). Chitosan/Polyethylene Glycol/Laponite nanocomposites for seed treatment” na 45ª Reunião Anual da SBQ.

LIMA, K. S.; SILVA-MANN, RENATA; SARMENTO, V. H. V. (2020). Perspectivas do uso da Quitosana e Laponita na Tecnologia de Sementes, no VI Encontro de Prospeção Tecnológica.

LIMA, K. S.; CARVALHO, I. J.; RODRIGUES, E. S.; PEREIRA, H. C. W.; SARMENTO, V. H. V. (2019). Estudo da variação da quantidade de pHEMA na produção de nanocompósitos híbridos pHEMA/Laponita para aplicação no recobrimento de sementes no 59º Congresso Brasileiro de Química – CBQ.

LIMA, K. S.; CARVALHO, I. J.; SANTOS, E.; PEREIRA, H. C. W.; SARMENTO, V. H. V. SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF NANOCOMPOSITES POLY(HYDROXYETHYLMETACRYLATE)/LAPONITE FOR SEED COATING. (2018). XVII Encontro da SBPMat.

8. REFERÊNCIAS

- [1] Rodriguez, L. J., Peças, P., Carvalho, H., & Orrego, C. E. A literature review on life cycle tools fostering holistic sustainability assessment: An application in biocomposite materials. *Journal of Environmental Management*. **2020**, 262(February), 110308.
- [2] LIMA, Bastos. Politics of Bioeconomy and Sustainability. *Springer International Publishing*, **2021**.
- [3] Rocha, I., Ma, Y., Souza-Alonso, P., Vosátka, M., Freitas, H., & Oliveira, R. S. Seed Coating: A Tool for Delivering Beneficial Microbes to Agricultural Crops. *Frontiers in Plant Science*. **2019**, 10.
- [4] Grossauer, F., & Stoeglehner, G. Bioeconomy—Spatial Requirements for Sustainable Development. *Sustainability*. **2020**, 12, 1877.
- [5] Ehsanfar, S., & Modarres-Sanavy, S. A. Crop protection by seed coating. In Communications in agricultural and applied biological sciences. **2005**, Vol. 70, Issue 3, pp. 225–229).
- [6] Cheng, D., Yao, Y., Liu, R., Li, X., Guan, B., & Yu, F. Precision agriculture management based on a surrogate model assisted multiobjective algorithmic framework. *Scientific Reports*. **2023**, 13(1), 1142.
- [7] Ma, Y. Seed coating with beneficial microorganisms for precision agriculture. *Biotechnology Advances*. **2019**, 37(7), 107423.
- [8] Silva, W. de V. R. da, & Silva-Mann, R. Agricultura de Precisão no Brasil: conjuntura atual, desafios e perspectivas. *Research, Society and Development*. **2020**, V. 9, p. e1979119603).
- [9] Madsen, M. D., Davies, K. W., Boyd, C. S., Kerby, J. D., & Svejcar, T. J. Emerging seed enhancement technologies for overcoming barriers to restoration. *Restoration Ecology*. **2016**, 24, S77–S84.
- [10] Pedrini, S., Merritt, D. J., Stevens, J., & Dixon, K. Seed coating: science or marketing spin? *Trends in Plant Science*. **2017**, 22(2), 106–116.
- [11] Ruiz de la Cruz, G., Aguirre Mancilla, C., Godínez-Garrido, N., Osornio-Flores, N., & Torres Castillo, J. Chitosan mixed with beneficial fungal conidia or fungicide for bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seed coating. *Interciencia: Revista de Ciencia y Tecnología de América*. **2017**, 42(5), 307–312.
- [12] Sundhoro, M.; Park, J.; Jayawardana, K. W.; Chen, X.; Jayawardana, H. S.

N.; Yan, M. Poly (HEMA-co-HEMA-PFPA): Synthesis and Preparation of Stable Micelles Encapsulating Imaging Nanoparticles. *Journal of Colloid and Interface Science*. **2017**, 500,1-8.

[13] Chanda, M., Groote, H., Kinoti, L., Munsaka, A., Kuntashula, E., Bruce, A. Y., & Nkonde, C. Farmer evaluation of pesticide seed-coating to control fall armyworm in maize. *Crop Protection*. **2021**, 148, 105691.

[14] Javed, T., Afzal, I., & Mauro, R. P. Seed coating in direct seeded rice: an innovative and sustainable approach to enhance grain yield and weed management under submerged conditions. *Sustainability* (Switzerland). **2021**, V. 13, Issue 4, pp. 1–13.

[15] Wiatrak, P. Influence of seed coating with micronutrients on growth and yield of winter wheat in Southeastern Coastal Plains. *American Journal of Agricultural and Biological Science*. **2013**, 8(3), 230–238.

[16] Zvinavashe, A. T., Laurent, J., Mhada, M., Sun, H., Fouda, H. M. E., Kim, D., Mouhib, S., Kouisni, L., & Marelli, B. Programmable design of seed coating function induces water-stress tolerance in semi-arid regions. *Nature Food*. **2021**, 2, 485–493.

[17] Chouhan, D., & Mandal, P. Applications of chitosan and chitosan based metallic nanoparticles in AgroSciences-A review. *International Journal of Biological Macromolecules*. **2021**, 166, 1554–1569.

[18] Ziani, K., Ursúa, B., & Maté, J. I. Application of bioactive coatings based on chitosan for artichoke seed protection. *Crop Protection*. **2010**, 29(8), 853–859.

[19] Afewerki, S., Magalhães, L. S. S. M., Silva, A. D. R., Stocco, T. D., Silva Filho, E. C., Marciano, F. R., & Lobo, A. O. Bioprinting a Synthetic Smectic Clay for Orthopedic Applications. *Advanced Healthcare Materials*. **2019**, 8(13), 1–14.

[20] Maeda, T. Structures and applications of thermoresponsive hydrogels and nanocomposite-hydrogels based on copolymers with poly (Ethylene glycol) and poly (lactide-co-glycolide) blocks. *Bioengineering*. **2019**, 6(4), 1–18.

[21] Dávila, J. L., & d'Ávila, M. A. Laponite as a rheology modifier of alginate solutions: Physical gelation and aging evolution. *Carbohydrate Polymers*. **2017**, 157, 1–8.

[22] Sheikhi, A., Afewerki, S., Oklu, R., Gaharwar, A. K., & Khademhosseini, A. Effect of ionic strength on shear-thinning nanoclay-polymer composite hydrogels. *Biomaterials Science*. **2018**, 6(8), 2073–2083.

- [23] Divya, K., Vijayan, S., Nair, S. J., & Jisha, M. S. Optimization of chitosan nanoparticle synthesis and its potential application as germination elicitor of *Oryza sativa* L. *International Journal of Biological Macromolecules*. **2019**, 124, 1053–1059.
- [24] Li, R., He, J., Xie, H., Wang, W., Bose, S. K., Sun, Y., Hu, J., & Yin, H. Effects of chitosan nanoparticles on seed germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum* L.). *International Journal of Biological Macromolecules*. **2019**, 126, 91–100.
- [25] Qu, B., & Luo, Y. Chitosan-based hydrogel beads: Preparations, modifications and applications in food and agriculture sectors – A review. *International Journal of Biological Macromolecules*. **2020**, 152, 437–448.
- [26] Blanco-Lopez, M., González-Garcinuño, Á., Tabernero, A., & Del Valle, E. M. Steady and Oscillatory Shear Flow Behavior of Different Polysaccharides with Laponite®. *Polymers*. **2021**, 1–16.
- [27] Xia, Y., Rubino, M., & Auras, R. Interaction of nanoclay-reinforced packaging nanocomposites with food simulants and compost environments. In L.-T. Tim & M. Rogers (Eds.), *Advances in Food and Nutrition Research*. **2019**, 88th ed., 275–298.
- [28] Villalba-Rodríguez, A. M., Martínez-González, S., Sosa-Hernández, J. E., Parra-Saldívar, R., Bilal, M., & Iqbal, H. M. N. Nanoclay/Polymer-Based Hydrogels and Enzyme-Loaded Nanostructures for Wound Healing Applications. *Gels*. **2021**, 1–13.
- [29] Ehsan, A., Jamal, A., Mahmood, H., & Ahmad, S. V. Thermal stability, adsorption and rheological behaviors of sulfonated polyacrylamide/chromium triacetate/laponite nanocomposite weak gels. *Macromolecular Research*. **2017**, 25(1), 27–37. <https://doi.org/10.1007/s13233-017-5005-0>
- [30] Jatav, S., & Joshi, Y. Phase Behavior of Aqueous Suspension of Laponite: New Insights with Microscopic Evidence. *Langmuir*. **2017**, 33(9), 2370–2377.
- [31] Liu, Y., Meng, H., Konst, S., Sarmiento, R., Rajachar, R., & Lee, B. P. Injectable Dopamine-Modified Poly (ethylene glycol) Nanocomposite Hydrogel with Enhanced Adhesive Property and Bioactivity. *ACS Applied Materials and Interfaces*. **2014**, 6(19), 16982–1992.
- [32] Raut, S. Y., Gahane, A., Joshi, M. B., Kalthur, G., & Mutalik, S. Nanocomposite clay-polymer microbeads for oral controlled drug delivery: Development and, in vitro and in vivo evaluations. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. **2019**, 51(March), 234–243.

- [33] Mahdavinia, G. R., & Karami, S. Synthesis of magnetic carboxymethyl chitosan-g-poly(acrylamide)/laponite RD nanocomposites with enhanced dye adsorption capacity. *Polymer Bulletin*. **2015**, V. 72, Issue 9, pp. 2241–2262.
- [34] Wu, Z., Huang, X., Li, Y. C., Xiao, H., & Wang, X. Novel chitosan films with laponite immobilized Ag nanoparticles for active food packaging. *Carbohydrate Polymers*. **2018**, 199, 210–218.
- [35] Boroumand, H., Badie, F., Mazaheri, S., Seyedi, Z. S., S., N. J., Nejati, M., Baghi, H. B., Abbasi-Kolli, M., Badehnoosh, B., Ghandali, M., Hambin, M. R., & Mirzaei, H. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. **2021**, 1–22.
- [36] Özel, N., & Elibol, M. A review on the potential uses of deep eutectic solvents in chitin and chitosan related processes. *Carbohydrate Polymers*. **2021**, 262, 117942–117952.
- [37] Shahrajabian, M. H., Chaski, C., Polyzos, N., Tzortzakis, N., & Petropoulos, S. A. Sustainable Agriculture Systems in Vegetable Production Using Chitin and Chitosan as Plant Biostimulants. *Biomolecules*. **2021**, 11(6), 819.
- [38] Sumayya, Gull, N., Islam, A., Ghaffar, A., Jabeen, S., Iqbal, S. S., Khan, S. M., Khan, R. U., Hussain, N., & Bilal, M. Development and characterization of chitosan and acrylic acid-based novel biodegradable polymeric films for soil conditioning. *International Journal of Biological Macromolecules*. **2021**, 182, 950–958.
- [39] López-Velázquez, J. C., Haro-González, J. N., García-morales, S., Espinosa-andrews, H., Navarro-López, D. E., Montero-Cortés, M. I., & Qui-Zapata, J. A. Evaluation of the Physicochemical Properties of Chitosans in Inducing the Defense Response of *Coffea arabica* against the Fungus *Hemileia vastatrix*. *Polymers*. **2021**, 1–15.
- [40] Mohammadzadeh Pakdel, P., & Peighambaroust, S. J. Review on recent progress in chitosan-based hydrogels for wastewater treatment application. *Carbohydrate Polymers*. **2018**, v. 201, pp. 264–279.
- [41] Kuyyogsuy, A., Deenamo, N., Khompatara, K., Ekchaweng, K., & Churngchow, N. Chitosan enhances resistance in rubber tree (*Hevea brasiliensis*), through the induction of abscisic acid (ABA). *Physiological and Molecular Plant Pathology*. **2018**, 102, 67–78.
- [42] Tian, F., Chen, W., Fan, G., Li, T., Kou, X., Wu, C., & Wu, Z. Effect of Ginkgo biloba seed exopleura extract and chitosan coating on the postharvest quality of ginkgo seed. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. **2019**, 99(6), 3124–3133.

- [43] Xiong, Y., Chen, M., Warner, R. D., & Fang, Z. Incorporating nisin and grape seed extract in chitosan-gelatine edible coating and its effect on cold storage of fresh pork. *Food Control*. **2020**, 110.
- [44] Hawrylak-Nowak, B., Dresler, S., Rubinowska, K., & Matraszek-Gawron, R. Eliciting effect of foliar application of chitosan lactate on the phytochemical properties of *Ocimum basilicum* L. and *Melissa officinalis* L. *Food Chemistry*. **2021**, 342, 128358.
- [45] Angelo, L. M., Ffrança, D., & Faez, R. Biodegradation and viability of chitosan-based microencapsulated fertilizers. *Carbohydrate Polymers*. **2021**, 257, 1–9.
- [46] Messa, L. L., Souza, C. F., & Faez, R. Spray-dried potassium nitrate-containing chitosan/montmorillonite microparticles as potential enhanced efficiency fertilizer. *Polymer Testing*. **2020**, 81, 1–9.
- [47] Rekik, S. B., Gassara, S., Bouaziz, J., Dertani, A., & Baklouti, S. Enhancing hydrophilicity and permeation flux of chitosan/kaolin composite membranes by using polyethylene glycol as porogen. *Applied Clay Science*. **2019**, 168, 312–323.
- [48] Krishnan, M., Saharay, M., & Kirkpatrick, R. J. Molecular dynamics modeling of CO₂ and poly (ethylene glycol) in montmorillonite: The structure of clay-polymer composites and the incorporation of CO₂. *Journal of Physical Chemistry C*. **2013**, 117(40), 20592–20609.
- [49] Dawood, M. G. Stimulating plant tolerance against abiotic stress through seed priming. *Advances in Seed Priming*. **2018**, 147–183.
- [50] Anirudhan, T. S., & Parvathy, J. Novel Thiolated Chitosan-Polyethyleneglycol blend/Montmorillonite Composite formulations for the Oral Delivery of Insulin. *Bioactiv Carbohydrates and Dietary Fibre*. **2018**, 16, 22–29.
- [51] Mohamed, R. R., Rizk, N. A., Hady, A. E. B. M., Abdallah, H. M., & Sabaa, M. W. Synthesis, Characterization and Application of Biodegradable Crosslinked Carboxymethyl Chitosan/Poly(Ethylene Glycol) Clay Nanocomposites. *Journal of Polymers and the Environment*. **2017**, 25, 667–682.
- [52] Guan, M., Li, Z., Hao, L., Zhou, M., Chen, L., Chen, H., Zhou, H., & Zhou, X. Functionalization of boron nitride nanosheets via thiol terminated polyethyleneimine to enhance aqueous dispersibility and efficiency as carriers for essential oils and pesticides. *Chemical Engineering Journal*. **2021**, 423, 130166.

- [53] Hao, X., Han, S., Qin, D., Zhang, Y., Jin, P., & Du, Q. Superior anti-infective potential of eugenol–casein nanoparticles combined with polyethylene glycol against *Colletotrichum musae* infections. *RSC Advances*. **2021**, 11, 4646–4653.
- [54] Junior, C. R. F., de Moura, M. R., & Aouada, F. A. Synthesis and Characterization of Intercalated Nanocomposites Based on Poly (methacrylic acid) Hydrogel and Nanoclay Cloisite-Na + for Possible Application in Agriculture. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*. **2017**, 17(8), 5878–5883.
- [55] Çankaya, N., Yalçın, S., & Turan, N. Preparation of poly (MPAEMA)/halloysite Nanocomposites and Investigation of Antiproliferative Activity. *Journal of the Mexican Chemical Society*. **2021**, 65, 189–201.
- [56] Anadão, P. Tecnologia de nanocompósitos polímero/argila. In Artliber Editora. **2012**.
- [57] Paiva, L. B. de, Morales, A. R., & Guimarães, T. R. Propriedades mecânicas de nanocompósitos de polipropileno e montmorilonita organofílica. *Polímeros*. **2006**, v. 16, 136–140.
- [58] Allou, N. B., Saikia, P., Borah, A., & Goswamee, R. L. Hybrid nanocomposites of layered double hydroxides: an update of their biological applications and future prospects. *Colloid and Polymer Science*. **2017**, V. 295, Issue 5, pp. 725–747.
- [59] Sharma, N. et al. Biodegradable fertilizer nanocomposite hydrogel based on poly (vinyl alcohol)/kaolin/diammonium hydrogen phosphate (DAhP) for controlled release of phosphate. *Polymer Bulletin*. **2020**, 1–18.
- [60] Prasad, R. D., Chandrika, K. S. V. P., & Godbole, V. A novel chitosan biopolymer-based *Trichoderma* delivery system: Storage stability, persistence and bio efficacy against seed and soil borne diseases of oilseed crops. *Microbiological Research*. **2020**, 237, 126487.
- [61] Recek, N., Vesel, A., Zaplotnik, R., Paul, D., Primc, G., Gselman, P., & Mozetic, M. Hydrophilization of corn seeds by non-equilibrium gaseous plasma. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*. **2021**, 8, 1–11.
- [62] Pedrini, S., Balestrazzi, A., Madsen, M. D., Bhalsing, K., Hardegree, S. P., Dixon, K. W., & Kildisheva, O. A. Seed enhancement: getting seeds restoration ready. *Restoration Ecology*. **2020**, 28(S3), S266–S275.
- [63] Samarah, N. H., Al-Quraan, N. A., Massad, R. S., & Welbaum, G. E. Treatment of bell pepper (*Capsicum annuum* L.) seeds with chitosan increases chitinase and glucanase activities and enhances emergence in a standard cold test. *Scientia Horticulturae*. **2020**, 269, 109393. h

- [64] Hu, X., Saravanakumar, K., Sathiyaseelan, A., & Wang, M. H. Chitosan nanoparticles as edible surface coating agent to preserve the fresh-cut bell pepper (*Capsicum annuum* L. var. *grossum* (L.) Sendt). *International Journal of Biological Macromolecules*. **2020**, 165, 948–957.
- [65] Ahmed, S., Alhareth, K., & Mignet, N. Advancement in Nanogel formulations provides controlled drug release. *International Journal of Pharmaceutics*. **2020**, 584, 119435.
- [66] Elsayed, M. M. Hydrogel Preparation Technologies: Relevance Kinetics, Thermodynamics and Scaling up Aspects. *Journal of Polymers and the Environment*. **2019**, 27, 871–891.
- [67] Zhan, Y., Fu, W., Xing, Y., Ma, X., & Chen, C. Advances in versatile anti-swelling polymer hydrogels. *Materials Science & Engineering C*. **2021**, 127, 112208.
- [68] Laftah, W. A., Hashim, S., & Ibrahim, A. N. Polymer Hydrogels: A Review. *Polymer-Plastics Technology and Engineering*. **2011**, 1475–1486.
- [69] Khan, S. A., & Khan, T. A. Clay-hydrogel nanocomposites for adsorptive amputation of environmental contaminants from aqueous phase: A review. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. **2021**, 9, 105575.
- [70] R Core Team. R Foundation for Statistical Computing; Vienna, Austria: 2020. R: A language and environment for statistical computing. **2020**.
- [71] RStudio Team. RStudio: Integrated Development for R. MA RStudio. **2016**.
- [72] Aria, M., and Cuccurullo, C. Bibliometrix: An R-tool for Comprehensive Science Mapping Analysis. *J. Informetr.* **2017**, 11, 959–975.
- [73] Wu, Z., Huang, X., Li, Y. C., Xiao, H., & Wang, X. Novel chitosan films with laponite immobilized Ag nanoparticles for active food packaging. *Carbohydrate Polymers*. **2018**, 199, 210–218.
- [74] Shan, D., Li, Q. B., Ding, S. N., Xu, J. Q., Cosnier, S., & Xue, H. G. Reagentless biosensor for hydrogen peroxide based on self-assembled films of horseradish peroxidase/laponite/chitosan and the primary investigation on the inhibitory effect by sulfide. *Biosensors and Bioelectronics*. **2010**, 26(2), 536–541.
- [75] Fan, Q., Shan, D., Xue, H., He, Y., & Cosnier, S. Amperometric phenol biosensor based on laponite clay-chitosan nanocomposite matrix. *Biosensors and Bioelectronics*. **2007**, 22(6), 816–821.
- [76] Zanini, V. P., López De Mishima, B., & Solís, V. An amperometric biosensor based on lactate oxidase immobilized in laponite-chitosan hydrogel on a glassy

carbon electrode. Application to the analysis of l-lactate in food samples. *Sensors and Actuators, B: Chemical*. **2011**, 155(1), 75–80.

[77] Xu, G., Zhu, Y., Wang, X., Wang, S., Cheng, T., Ping, R., Cao, J., & Lv, K. Novel chitosan and Laponite based nanocomposite for fast removal of Cd(II), methylene blue and Congo red from aqueous solution. *E-Polymers*. **2019**, 19(1),

[78] Mahdavinia, G. R., Soleymani, M., Etemadi, H., Sabzi, M., & Atlasi, Z. Model protein BSA adsorption onto novel magnetic chitosan/PVA/laponite RD hydrogel nanocomposite beads. *International Journal of Biological Macromolecules*. **2018**, 107(PartA), 719–729.

[79] Nikfarjam, M., & Kokabi, M. Chitosan/laponite nanocomposite nanogels as a potential drug delivery system. *Polymer Bulletin*. **2020**, 0123456789.

[80] Kaufmann, M., & Michel, B. The Osmotic Potential of Polyethylene Glycol 6000. In *Plant physiology*. **1973**, v. 51, 914–916.

[81] Rebitski, E. P., Darder, M., Carraro, R., & Ruiz-Hitzky, E. Chitosan and pectin core-shell beads encapsulating metformin-clay intercalation compounds for controlled delivery. *New Journal of Chemistry*. **2020**, 44(24), 10102.

[82] Gaharwar, A. K., Avery, R. K., Assmann, A., Paul, A., McKinley, G. H., Khademhosseini, A., & Olsen, B. D. Shear-Thinning Nanocomposite Hemorrhage. *ACS Nano*. **2014**, 8(10), 9833–9842.

[83] Kiaee, G., Mostafalu, P., Samandari, M., & Sonkusale, S. A pH-Mediated Electronic Wound Dressing for Controlled Drug Delivery. *Advanced Healthcare Materials*. **2018**, 7(18), 1–8.

[84] Gaharwar, A. K., Schexnailder, P. J., Jin, Q., Wu, C. J., & Schmidt, G. Addition of chitosan to silicate cross-linked PEO for tuning osteoblast cell adhesion and mineralization. *ACS Applied Materials and Interfaces*. **2010**, 2(11), 3119–3127.

[85] Cebe, T., Ahuja, N., Monte, F., Awad, K., Vyavhare, K., Aswath, P., Huang, J., Brotto, M., & Varanasi, V. Novel 3D-printed methacrylated chitosan-laponite nanosilicate composite scaffolds enhance cell growth and biomineral formation in MC3T3 pre-osteoblasts. *Journal of Materials Research*. **2020**, 35(1), 58–75.

[86] Zhang, X., Fan, J., Lee, C. S., Kim, S., Chen, C., & Lee, M. Supramolecular Hydrogels Based on Nanoclay and Guanidine-Rich Chitosan: Injectable and Moldable Osteoinductive Carriers. *ACS Applied Materials and Interfaces*. **2020**, 12(14), 16088–16096.

- [87] Arab-Ahmadi, S., Irani, S., Bakhshi, H., Atyabi, F., & Ghalandari, B. Immobilization of carboxymethyl chitosan/laponite on polycaprolactone nanofibers as osteoinductive bone scaffolds. *Polymers for Advanced Technologies*. **2021**, 32(2), 755–765.
- [88] Zhang, X., Fan, J., Lee, C. S., Kim, S., Chen, C., & Lee, M. Supramolecular Hydrogels Based on Nanoclay and Guanidine-Rich Chitosan: Injectable and Moldable Osteoinductive Carriers. *ACS Applied Materials and Interfaces*. **2020**, 12(14), 16088–16096.
- [89] Shan, D., Han, E., Xue, H., & Cosnier, S. Self-assembled films of hemoglobin/laponite/chitosan: Application for the direct electrochemistry and catalysis to hydrogen peroxide. *Biomacromolecules*. **2007**, 8(10), 3041–3046.
- [90] Nabipour, H., Wang, X., Song, L., & Hu, Y. Laponite-based inorganic-organic hybrid coating to reduce fire risk of flexible polyurethane foams. *Applied Clay Science*. **2020**, 189, 105525.
- [91] Li, Y., Maclel, D., Tomás, H., Rodrigues, J., Ma, H., & Shi, X. PH sensitive Laponite/alginate hybrid hydrogels: Swelling behaviour and release mechanism. *Soft Matter*. **2011**, 7(13), 6231–6238.
- [92] Gonçalves, M., Figueira, P., Maciel, D., Rodrigues, J., Shi, X., Tomás, H., & Li, Y. Antitumor efficacy of doxorubicin-loaded laponite/alginate hybrid hydrogels. *Macromolecular Bioscience*. **2014**, 14(1), 110–120.
- [93] Chen, G., Li, D., Li, J., Cao, X., Wang, J., Shi, X., & Guo, R. Targeted doxorubicin delivery to hepatocarcinoma cells by lactobionic acid-modified laponite nanodisks. *New Journal of Chemistry*. **2015**, 39(4), 2847–2855.
- [94] Mahdavinia, G. R., Massoudi, A., Baghban, A., & Massoumi, B. Novel carrageenan-based hydrogel nanocomposites containing laponite RD and their application to remove cationic dye. *Iranian Polymer Journal (English Edition)*. **2012**, 21(9), 609–619.
- [95] Feki, A., Hamdi, M., Jaballi, I., Zghal, S., Nasri, M., & Ben Amara, I. Conception and characterization of a multi-sensitive composite chitosan-red marine alga-polysaccharide hydrogels for insulin controlled-release. *Carbohydrate Polymers*. **2020**, 236, 116046.
- [96] Silva, E. M., Silva, E. J. F., Pires, E. V., Carvalho, C. M., Pimentel, W. R. O., & Júnior, P. A. N. Planejamento fatorial no estudo da fitotoxicidade de extratos de plantas em sementes de alface. *Diversitas Journal*. **2021**, 6, 2437–3458.

- [97] Chen, X., Wang, H., Liu, W., Li, G., Yu, D., & Song, Z. A stable AKD-in-water emulsion: Stabilized by MSG-modified laponite nanoparticle. *Journal of Dispersion Science and Technology*. **2017**, 38(7), 1067–1072.
- [98] Wu, B., Jiang, Y., Wang, Y., Zhou, C., Zhang, X., & Lei, J. Study on a PEG/epoxy shape-stabilized phase change material: Preparation, thermal properties and thermal storage performance. *International Journal of Heat and Mass Transfer*. **2018**, 126, 1134–1142.
- [99] Daguan, J. K., Giora, F. C., Santos, K. F., Pereira, A. B., Souza, M. T., Dávila, J. L., Andrea, C.D., Rodas, C. S. & Silva, J. V. Shear-thinning sacrificial ink for fabrication of Biosilicate® osteoconductive scaffolds by material extrusion 3D printing. *Materials Chemistry and Physics*. **2022**, 126286.
- [100] Câmara, G. B. M., Barbosa, R. M., García-Villén, F., Viseras, C., Júnior, R. F. A., Machado, P. R. L., Câmara, C. A., Farias, K. J. S., Moura, T. F. A. L., Dreiss, C. A., & Raffin, F. N. Nanocomposite gels of poloxamine and Laponite for β -Lapachone release in anticancer therapy. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. **2021**, 163, 105861.
- [101] Machado, I., Hsieh, I., Calado, V., Chapin, T., & Ishida, H. Nacre-mimetic green flame retardant: Ultra-high nanofiller content, thin nanocomposite as an effective flame retardant. In *Polymers*. **2020**, 12, 1–25.
- [102] Zimowska, M., Gurgul, J., Pálková, H., Olejniczak, Z., Łatka, K., Lityńska-Dobrzyńska, L., & Matachowski, L. Structural rearrangements in Fe-porous clay heterostructures composites derived from Laponite®- Influence of preparation methods and Fe source. *Microporous and Mesoporous Materials*. **2016**, 231, 66–81.
- [103] Catazano, O., Gomez d'Ayala, G., D'Agostino, A., Di Lorenzo, F., Schiraldi, C., Malincoico, M., Lanzetta, R., Bonina, F., & Laurienzo, P. PEG-crosslinked-chitosan hydrogel films for in situ delivery of *Opuntia ficus-indica* extract. *Carbohydrate Polymers*. **2021**, 264, 117987.
- [104] Mohamed, R. R., Rizk, N. A., Hady, A. E. B. M., Abdallah, H. M., & Sabaa, M. W. Synthesis, Characterization and Application of Biodegradable Crosslinked Carboxymethyl Chitosan/Poly(Ethylene Glycol) Clay Nanocomposites. *Journal of Polymers and the Environment*. **2017**, 25, 667–682.
- [105] Xu, Z., Yu, Y., Yin, L., Yan, W., & Jing, C. Arsenic removal from groundwater using granular chitosan-titanium adsorbent. *Journal of Environmental Sciences*. **2022**, 112, 202–209.

- [106] Tayebi, T., Baradaran-Rafii, A., Hajifathali, A., Rahimpour, A., Zali, H., Shaabani, A., & Niknejad, H. Biofabrication of chitosan/chitosan nanoparticles/polycaprolactone transparent membrane for corneal endothelial tissue engineering. *Scientific Reports*. **2021**, 11, 1–12.
- [107] Wang, M., Liu, C., Shi, H., Long, T., Zhang, C., & Liu, B. Facile synthesis of chitosan-derived maillard reaction productions coated CuFeO₂ with abundant oxygen vacancies for higher Fenton-like catalytic performance. *Chemosphere*. **2021**, 283, 131191.
- [108] Daniel, L. M., Frost, R. L., & Zhu, H. Y. Edge-modification of laponite with dimethyl-octylmethoxysilane. *Journal of Colloid and Interface Science*. **2008**, 321(2), 302–309.
- [109] Han, W., Ren, J., Xuan, H., & Ge, L. Controllable degradation rates, antibacterial, free-standing and highly transparent films based on polylactic acid and chitosan. In *Colloids and Surfaces, A: Physicochemical and Engineering Aspects*. **2018**, 541, 128–136.
- [110] Hussein, E. M., Desoky, W. M., Hanafy, M. F., & Guirguis, O. W. Effect of TiO₂ nanoparticles on the structural configurations and thermal, mechanical, and optical properties of chitosan/TiO₂ nanoparticle composites. *Journal of Physics and Chemistry of Solids*. **2021**, 152, 109983.
- [111] Kamaludin, N. H. I., Ismail, H., Rusli, A., & Ting, S. S. Thermal behavior and water absorption kinetics of polylactic acid/chitosan biocomposites. *Iranian Polymer Journal Volume*. **2020**, 30, 135–147.
- [112] Yadav, M. K., Pokhrel, S., & Yadav, N. P. Novel chitosan derivatives of 2-imidazolecarboxaldehyde and 2-thiophenecarboxaldehyde and their antibacterial activity. *Journal of Macromolecular Science*. **2020**, 57, 703–710.
- [113] Cipriotti, S. V., Bollini, F., Tranquillo, E., & Catauro, M. Synthesis, thermal behavior and physicochemical characterization of ZrO₂/PEG inorganic/organic hybrid materials via sol–gel technique. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. **2017**, 130, 535–540.
- [114] Cipriotti, S. V., Catauro, M., Bollini, F., & Tuffi, R. Thermal Behavior and Dehydration Kinetic Study of SiO₂/PEG Hybrid Gel Glasses. *Polymer Engineering & Science*. **2017**, 57, 606–612.
- [115] Devangamath, S. S., Lobo, B., Masti, S. P., & Narasagoudr, S. Devangamath2020_Article_ThermalMechanicalAndACElectric.pdf. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*. **2020**, 31, 2904–2917.

- [116] Kou, Y., Wang, S., Luo, J., Sun, K., Zhang, J., Tan, Z., & Shi, Q. Thermal analysis and heat capacity study of polyethylene glycol (PEG). *The Journal of Chemical Thermodynamics*. **2019**, 128.
- [117] Bertolo, M. R. V., Martins, V. C. A., Plepis, A. M. G., & Junior, S. B. Rheological study of the incorporation of grape seed extract in chitosan and gelatin coatings. *Journal of Applied Polymer Science*. **2021**, 138, 50052.
- [118] Montoya, P., Cosiansi, J., Grasso, F., & Melchiorre, M. Formulación y propiedades de biopolímero de recubrimiento para semillas de maní (*Arachis hypogaea* L.). *AGRISCIENTIA*. **2021**, 38, 15–27.
- [119] Ghorbani, M., Ai, J., Nourami, M. R., Azami, M., Beni, B. H., Asadpour, S., & Bordar, S. Injectable natural polymer compound for tissue engineering of intervertebral disc: In vitro study. *Materials Science & Engineering C*. **2017**, 80, 502–508.
- [120] Ngwabebhoh, F. A., Zandraa, O., Patwa, R., Saha, N., Capáková, Z., & Saha, P. Self-crosslinked chitosan/dialdehyde xanthan gum blended hypromellose hydrogel for the controlled delivery of ampicillin, minocycline and rifampicin. *International Journal of Biological Macromolecules*. **2021**, 167, 1468–1478.
- [121] Zhou, Y., Nie, W., Zhao, J., & Yuan, X. Rapidly in situ forming adhesive hydrogel based on a PEG-maleimide modified polypeptide through Michael addition. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. **2013**, 24, 2277–2286. <https://doi.org/10.1007/s10856-013-4987-1>
- [122] Zhou, X., Yongsan, L., Chen, S., Fu, Y., Wang, S., Li, G., Tao, L., Wei, Y., Wang, X., & Liang, J. F. Dynamic agent of an injectable and self-healing drug-loaded hydrogel for embolization therapy. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. **2018**, 172, 601–607.
- [123] Sharma, S., Kumar, R., Kumari, P., Kharwar, R. N., Yadav, A. K., & Saripella, S. Mechanically magnified chitosan-based hydrogel as tissue adhesive and antimicrobial candidate. *International Journal of Biological Macromolecules*. **2019**, 125, 109–115.
- [124] Priac, A., Badot, P. M., & Crini, G. Treated wastewater phytotoxicity assessment using *Lactuca sativa*: focus on germination and root elongation test parameters. *Comptes Rendus Biologies*. **2017**, 340(3), 188-194.
- [125] MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria número 457 de 18 de dezembro de 1986. **1986**, n. 245, seção 1, p. 19.653.

- [126] Chandrika, K. S. V. P., Prasad, R. D., & Godbole, V. Development of chitosan-PEG blended films using *Trichoderma*: Enhancement of antimicrobial activity and seed quality. *International Journal of Biological Macromolecules*. **2019**, 126, 282–290.
- [127] Francesconi, S., Steiner, B., Buerstmayr, H., Lemmens, M., Sulyok, M., & Balestra, G. M. Chitosan Hydrochloride Decreases *Fusarium graminearum* Growth and Virulence and Boosts Growth, Development and Systemic Acquired Resistance in Two Durum Wheat Genotypes. *Molecules*. **2020**, 25, 4752.
- [128] BRASIL. RAS - Regras para análise de sementes. Brasília: Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, **2009**. 399p.
- [129] Au-Yong, S., Firlak, M., Draper, E. R., Municoy, S., Ashton, M. D., Akien, G. R., Halcovitch, N. R., Baldock, S. J., Martin-Hirsch, P., Desimone, M. F., & Hardy, J. G. Electrochemically Enhanced Delivery of Pemetrexed from Electroactive Hydrogels. *Polymers*. **2022**, 14(22).
- [130] Blanco-López, M., González-Garcinuño, Á., Tabernero, A., & Martín del Valle, E. M. Steady and Oscillatory Shear Flow Behavior of Different Polysaccharides with Laponite®. *Polymers*. **2021**, 13(6), 966.
- [131] Nascimento, W. M.; Cantliffe, D. J.; Huber, D. J. Endo- β -mannanase activity and seed germination of thermosensitive and thermotolerance lettuce genotypes in response to seed priming. *Seed Science Research*. **2001**, v.11, n.3, p.255-264.
- [132] Filho, J. L. S. de C., Gomes, L. A. A., & Maluf, W. R. Tolerância ao florescimento precoce e características comerciais de progênies F4 de alface do cruzamento Regina 71 $\times$ Salinas 88. In *Acta Scientiarum - Agronomy*. **2009**, v. 31, 37–42.
- [133] Cantliffe D. J.; Sung, Y.; Nascimento, W. M. Lettuce seed germination. *Horticultural Reviews*. **2000**, v.24, p. 229-275.
- [134] Li, R., He, J., Xie, H., Wang, W., Bose, S. K., Sun, Y., ... & Yin, H. Effects of chitosan nanoparticles on seed germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum* L.). *International journal of biological macromolecules*. **2019**, 126, 91-100.
- [135] Godínez-Garrido, N. A., Torres-Castillo, J. A., Ramírez-Pimentel, J. G., Covarrubias-Prieto, J., Cervantes-Ortiz, F., & Aguirre-Mancilla, C. L. Effects on Germination and Plantlet Development of Sesame (*Sesamum indicum* L.) and Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Seeds with Chitosan Coatings. *Agronomy*. **2022**, 12(3), 666.

Chitosan and Laponite: a meta-analysis on their applications

Quitosana e Laponita: uma meta-análise de suas aplicações

Chitosán y Laponita: un meta-análisis de sus aplicaciones

Received: 09/22/2021 | Reviewed: 09/29/2021 | Accept: 10/04/2021 | Published: 10/09/2021

Kelly Santana Lima

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2193-8511>
Federal University of Sergipe, Brazil
E-mail: kelly_quimica@live.com

Renata Silva-Mann

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5993-3161>
Federal University of Sergipe, Brazil
E-mail: renatamann@gmail.com

Victor Hugo Vitorino Sarmiento

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6882-002X>
Federal University of Sergipe, Brazil
E-mail: vhsarmiento@gmail.com

Abstract

Chitosan is a renewable natural alkaline polysaccharide, and laponite is a multifunctional nanocomposite. Their use exists in several areas, mainly due to their non-toxicity and because chitosan is from natural resources. One primary use in seed coating processes consists of applying an exogenous material to the seeds, which can facilitate handling and planting. Thus, this study aimed to investigate the most appropriate uses in patented and publications related to the use of Laponite and Chitosan to access these materials' state of the art to identify perspectives for new research. One hundred two publications were explored in the scientific databases Scopus (53) and Web of Science (WoS) (79). Of these, duplicates were removed, totaling 93 articles with publications started in 2006. The number of publications on chitosan and laponite for the countries with the highest number of corresponding authors was from China (27), Iran (16), and the United States (15). Brazil also stands out and occupies the fourth position regarding the number of corresponding authors (7). There were prospected 109 patents, and most of them have been used in medical or veterinary hygiene, or hygienic devices and methods (A61K), in cosmetics (A61Q). The compilation and analysis of scientific, technological, and information use carried out in this work has allowed for identifying the new research perspectives and validated the potential use of chitosan and laponite association as a seed coating.

Keywords: Bibliometrics; Coating; Prospecting; Articles; Patents.

Resumo

Quitosana é um polissacarídeo alcalino natural e renovável, e laponita é um nanocompósito multifuncional. Seu uso existe em diversas áreas, principalmente devido à sua não toxicidade e porque a quitosana é oriunda de recursos naturais. Um dos principais usos é em processos de revestimento de sementes que consiste em aplicar um material exógeno às sementes, que pode ser usado para facilitar o manuseio e o plantio. Assim, o objetivo deste estudo foi investigar os usos mais relevantes em patentes e publicações relacionadas ao uso de laponita e quitosana para acessar o estado da arte desses materiais, a fim de identificar perspectivas para novas pesquisas. Foram avaliadas a produção científica e intelectual anual. Foram pesquisadas cento e trinta e duas publicações nas bases científicas Scopus (53) e Web of Science (WoS) (79). Destes, foram retiradas duplicatas, totalizando 93 artigos com publicações iniciadas em 2006. O número de publicações sobre quitosana e laponita para os países com maior número de autores correspondentes foi da China (27), Irã (16) e Estados Unidos (15). O Brasil também se destaca e ocupa a quarta posição em termos de número de autores correspondentes (7). Foram prospectadas 109 patentes, e a maioria delas tem uso em higiene médica ou veterinária, ou dispositivos e métodos higiênicos (A61K) e cosméticos (A61Q). A compilação e análise do uso científico, tecnológico e de informação realizado neste trabalho permitiu identificar as novas perspectivas de pesquisa e validou o uso potencial da associação de quitosana e laponita como revestimento de sementes.

Palavras-chave: Bibliometria; Revestimento; Prospecção; Artigos; Patentes.

Resumen

Quitosano es polisacárido alcalino natural renovable, la laponita es un nanocompuesto multifuncional. Su uso existe en varios ámbitos, principalmente por su no toxicidad y porque el quitosano procede de recursos naturales. Uno de los principales usos es en procesos de recubrimiento de semillas, aplicación un material exógeno a las semillas, lo que puede facilitar su manipulación y plantación. Así, el objetivo de este estudio fue investigar los usos más relevantes en

patentes y publicaciones relacionadas con el uso de la Laponita y Quitosano para acceder al estado del arte de estos materiales, con el fin de identificar perspectivas para nuevas investigaciones. Se evaluó la producción científica e intelectual anual. Se buscaron ciento treinta y dos publicaciones en las bases de datos científicas Scopus (53) y Web of Science (WoS) (79). De éstas, se eliminaron los duplicados, totalizando 93 artículos con publicaciones iniciadas en 2006. El número de publicaciones sobre quitosano y laponita de los países con mayor número de autores correspondientes fue de China (27), Irán (16) y Estados Unidos (15). Brasil también destaca y ocupa la cuarta posición en cuanto al número de autores correspondientes (7). Se prospectaron 109 patentes, la mayoría de ellas tiene uso en la higiene médica o veterinaria, o métodos higiénicos (A61K), en los cosméticos (A61Q). La recopilación y el análisis del uso científico, tecnológico y de información realizado en este trabajo ha permitido identificar las nuevas perspectivas de investigación y validar el uso potencial de la asociación de quitosano y laponita como recubrimiento de semillas.

Palabras clave: Bibliometría; Recubrimiento; Prospección; Artículos; Patentes.

1. Introduction

Sustainability of products and services has become a compulsory requirement and an essential requirement for organizations, governments, markets, and society in general. Among the various ways of measuring sustainability developed, those based on life cycle thinking provide one of the frameworks for assessing the potential impacts of products and services. Despite sustainability, the life cycle assessment is a prominent available tool—the case of biocomposites built with nature-based materials harvested in several regions of the globe. So, the research of assessment methods applied to biocomposites reveals knowledge and information gaps to apply these methodologies (Rodriguez et al., 2020).

The use of laponite and chitosan eco-friendly and commercially is a new challenge to consider the preconized bioeconomy aiming for sustainable materials. In this way, agriculture occupies a third of the earth's surface, moving billions of dollars and generating countless jobs (Rocha et al., 2019) requiring new eco-friendly materials. The growing demand for food, with several people worldwide, above 925 million, and prospects of reaching two billion by 2050 are new challenges. Another consideration is the combined features of the climate scenario and conventional practices, which makes it necessary to search for alternatives and develop new technologies that enable agriculture to meet these premises (Ehsanfar and Modarres-Sanavy, 2005; Ma, 2019; Rocha et al., 2019).

Given this, precision agriculture seeks to improve production, success, and profits, in addition to reducing the use of agrochemicals and reducing environmental impacts. The weakening of biodiversity and ecosystem productivity, an example of the replacement of native plants by exotic ones, is a problem that can contribute to the degradation and desertification of areas and a consequent drop in productivity (Madsen et al., 2016). To avoid a decrease in productivity, developing new technologies that re-establish the balance for plants and promote better agricultural productivity. However, the main barriers to ecosystem restoration can be mitigated by seed innovations. These innovations may involve using substances from natural raw materials and thus substituting synthetic products for natural ones with minimal environmental impact.

Seed coating moves billions of dollars in the agricultural sector and is a technique dominated by the private sector (Pedrini et al., 2017, 2020). This coating involves applying an exogenous material such as seeds, such as dyes and polymers that modify their shape and size. In addition, they facilitate the reduction of friction in agricultural machinery used in planting; but they can also contain biocontrol agents and microorganisms, which protect and improve the maintenance of seed quality and performance (Cruz et al., 2017; Rocha et al., 2019). Coatings on a large scale began in the 1960s (Sundhoro et al., 2017). There can be three types of coating: a) in the form of a film, which consists of applying a thin layer of material to the seed husk without modifying its shape and size, which improves its plantability; b) pelleting, which in turn modifies the size, weight, and shape of the seeds, making them more uniform, facilitating planting; and c) encrustation, which is intermediate to the other coatings regarding the modification of weight and thickness of material in the seeds (Pedrini et al., 2017; Ma, 2019; Rocha et al., 2019).

Growth-stimulating agents also contribute to plant productivity. Markers can be selected (nuclei) or not (fluorescent

dyes) and allow tracking of batches as to the origin, the seed treatment, facilitate sowing, and make it difficult to counterfeit as pirates, thus guaranteeing the quality and origin of the seeds in the certification and inspection process. The availability of nutrients during plant growth is another factor that can be improved with agents related to coating. In this case, they can be essential micronutrients such as phosphorus (P), potassium (K), copper (Cu), manganese (Mn) and zinc (Zn), other macro and micronutrients (Farooq et al., 2012; Bindraban et al., 2015). Triticum aestivum seeds coated with polymer enriched with Cu, Mn, and Zn have greater absorption of nutrients such as nitrogen (N), P, and Cu, in addition to developing more vigorous grains (Wiatrak, 2013).

Among the possibilities of raw material for use in coatings, chitosan is reported as antifungal agent and in *Cynara scolymus*, pea, and grape seeds (Chouhan & Mandal, 2021; Ziani et al., 2010). However, some insulating protectors are careful because they can harm the environment and the ecosystem. Chitosan is a biopolymer, non-toxic, biodegradable, versatile, and very abundant. Obtained by the deacetylation of chitin from shrimp and crustacean shells, it is insoluble in water, limiting its applications. Chitosan has been used without seed coating, among other applications in agriculture (Chouhan & Mandal, 2021). The use of chitosan in the form of a nano solution has expanded the possibility of its use (Divya et al., 2019; Li et al., 2019; Qu and Luo, 2020). The capacity of the hydrogel formed by chitosan to adsorb residues was necessary, which could act in the remediation of toxic compounds (Preethi et al., 2021).

In addition to attenuating abiotic stress on plants, chitosan positively affects seed germination and seedling growth rates at low temperatures (Li et al., 2019; Qu and Luo, 2020). Chitosan nanocomposites can be chosen when this polymer is mixed with nanoclays, such as montmorillonite and laponite. Nanomaterials from this combination incorporate improved mechanical strength, antibacterial activity, and active transport (Qu and Luo, 2020). Chitosan can promote the induction of enzymes, such as glucanase, polysaccharides, such as chitins. In addition can induce plants to produce phenolic compounds, terpenoids, proteins, protease inhibitors, lignification, callus deposition, and combinations associated with oxidative make plants develop defense mechanisms. For this reason, chitosan is used to coat corn, tomato, rice, and wheat seeds, promote rates of germination, physiological quality, and vigor, in addition to inducing the natural defenses of plants. The use of agrochemicals combined with chitosan also has promising results (Cruz et al., 2017).

Laponite is a synthetic hectorite belonging to the class of hectorites, which has the shape of nanometric disks (Afewerki et al., 2019; Maeda, 2019). Laponite is composed of layers of tetrahedral silica and octahedral sheets of magnesium oxide, with the chemical formula $\text{Na}^{+0.7}[(\text{Si}_8\text{Mg}_{5.5}, \text{Li}_{0.3}) \text{O}_{20}(\text{OH})_4]^{-0.7}$ (Dávila and d'Ávila, 2017). Its discs have a negatively charged face and positively charged edges, which means that it can form a "card castle" structure around 2% by mass of clay in an aqueous medium. The suspension of laponite in water becomes a gel (Afewerki et al., 2019; Maeda, 2019). A laponite can swell, absorbing large amounts of water. In addition, it has high biocompatibility, anisotropic morphology and, a large contact surface. These characteristics make them suitable for developing nanocomposites and application in various areas of knowledge (Sheikhi et al., 2018; Afewerki et al., 2019).

With all the properties and benefits, the objective of this work was to search patents and articles that involve the use of chitosan and laponite and their applications in agriculture, especially in seed treatment. Considering the properties of chitosan and laponite and the needs of the agricultural industry for materials that can help increase productivity, protection, and plantability of seeds. In contrast, materials that do not pose risks to the environment and consumers are used. It was noted that the use of these materials in seed coating is promising.

2. Methodology

This study is descriptive and exploratory with a quantitative approach (Sakamoto & Silveira, 2019). Use bibliometric analysis of articles contained in the Scopus (<http://www.scopus.com>) and Web of Science (<http://www.webofknowledge.com>)

databases that were prospected in title or abstract of scientific articles. Metadata refers to scientific publications established in the two databases imported in BibTex format, removed duplicate files, combined as a single dataset, and with the help of R software version 4.0.2 (R Core Team, 2020) and RStudio version 1.1.463 (Team RStudio, 2016). To perform bibliometric analysis, statistics and construction of data matrices for bibliographic coupling, co-citation, scientific collaboration analysis; and keyword analysis, was used in the Bibliometrix package of the R software (Aria & Cuccurullo, 2017) in an interface with the Biblioshiny browser (<http://www.bibliometrix.org>). The present research is a meta-analysis, a quantitative method that combines the information obtained from previous independent studies and, using statistical analysis, performs a critical analysis of these results (Hernandez et al., 2020). The keywords "chitosan" and "laponite" were defined, and searches were performed on the Scopus, Web of Science, and The Lens platforms.

2.1 Review procedure

The search for articles published in English in the last 15 years was carried out in April 2021, using Scopus (<http://www.scopus.com>) and Web of Science (<http://www.webofknowledge.com>) and conducted with combinations of the search terms "chitosan" AND "laponite." We retrieved the abstracts of 95 articles. Articles were selected by evaluating the title and abstract. The articles were reviewed to ensure that each study met the criteria for quantitative data on chitosan and laponite. The databases were imported in Bitex format. A meta-analysis was performed using software 4.0.0 (R Core Team, 2020) and RStudio 1.1.463 (RStudio Team, 2016). Bibliographic coupling, co-citation, collaborative analysis, and keywords were performed for bibliometric analysis and construction of data matrices. The "Bibliometrix" package of the R software was used for bibliometric analysis to create graphics (Aria and Cuccurullo, 2017). Complementary dataset 1.

2.2 Patents prospection

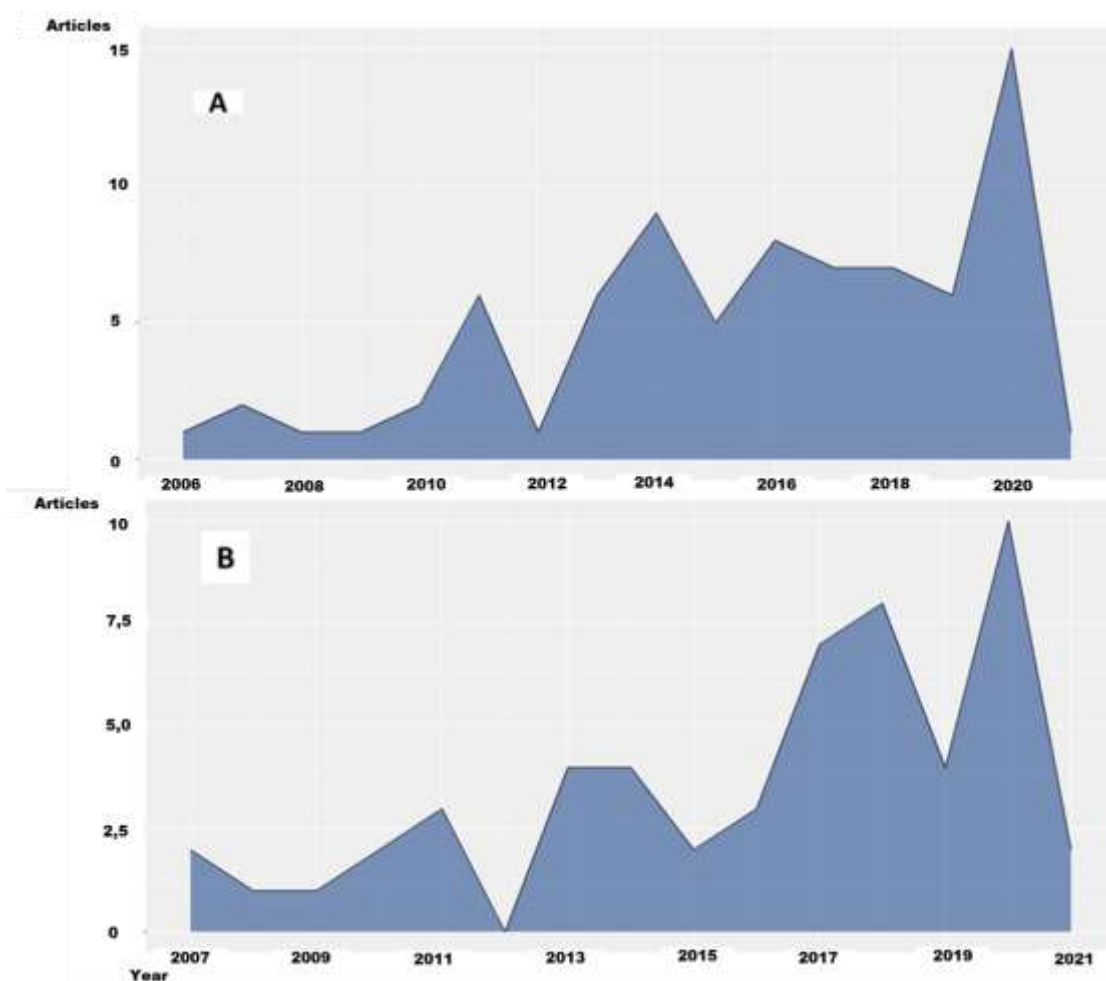
The prospection of patents was carried out in April 2021 through The Lens platform (<https://www.lens.org>) which performs searches in Espacenet databases - European Patent Office, USPTO - United States Patent and Trademark Office Database, WIPO - World Intellectual Property Organization and IP Australia covering over 95 different jurisdictions, and providing access to over 100 million patents. A search was performed with "chitosan" and "laponite" used with "AND," which these keywords in the title, abstract, and description text of the patents. Data on applicants, inventors, citations, international patent classifications, geographic and temporal distribution were analyzed. Data from the last 25 years were collected, data in which there was the first deposit.

3. Results

3.1 Review procedure

One hundred thirty-two publications were searched in the scientific databases Scopus (53) and Web of Science (WoS) (79). Of these, duplicates were removed, totaling 93 articles with publications started in 2006. The graphs representing the scientific productions are displayed in Figure 1.

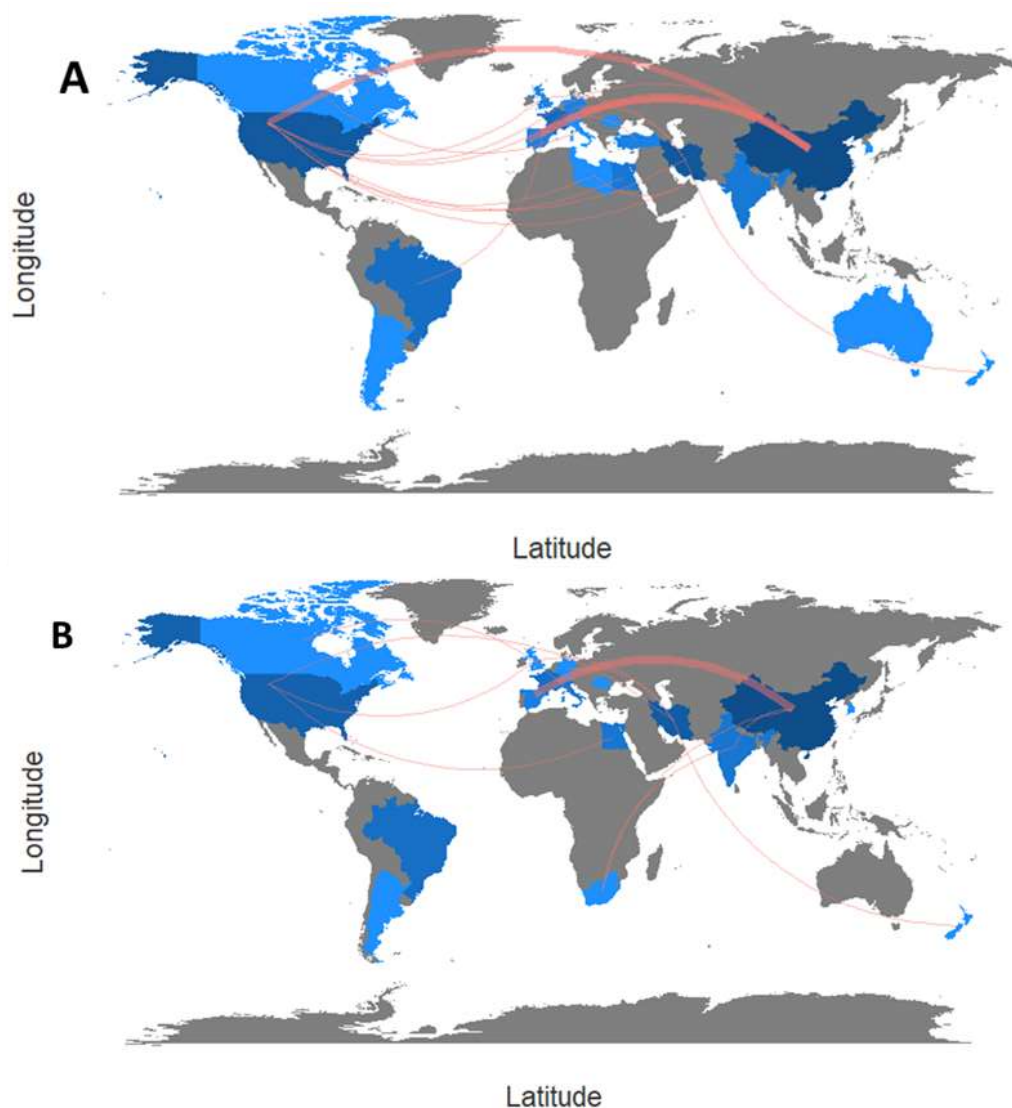
Figure 1. Annual production of the web of Science (A) and Scopus (B) databases for chitosan and laponite.



Source: Research data.

The number of publications on chitosan and advanced laponite from 2011 to 2020 presented the highest number of publications. The journal ACS Applied Materials & Interfaces presented the highest number of published articles after identifying RSC Advances, Applied Clay Science, International Journal of Biological Macromolecules, and Macromolecular Bioscience. The ACS Applied Materials & Interfaces, RSC Advances, and Applied Clay Science magazine, also the highest impact factors (Index H), with an ACS being the highest factor (5).

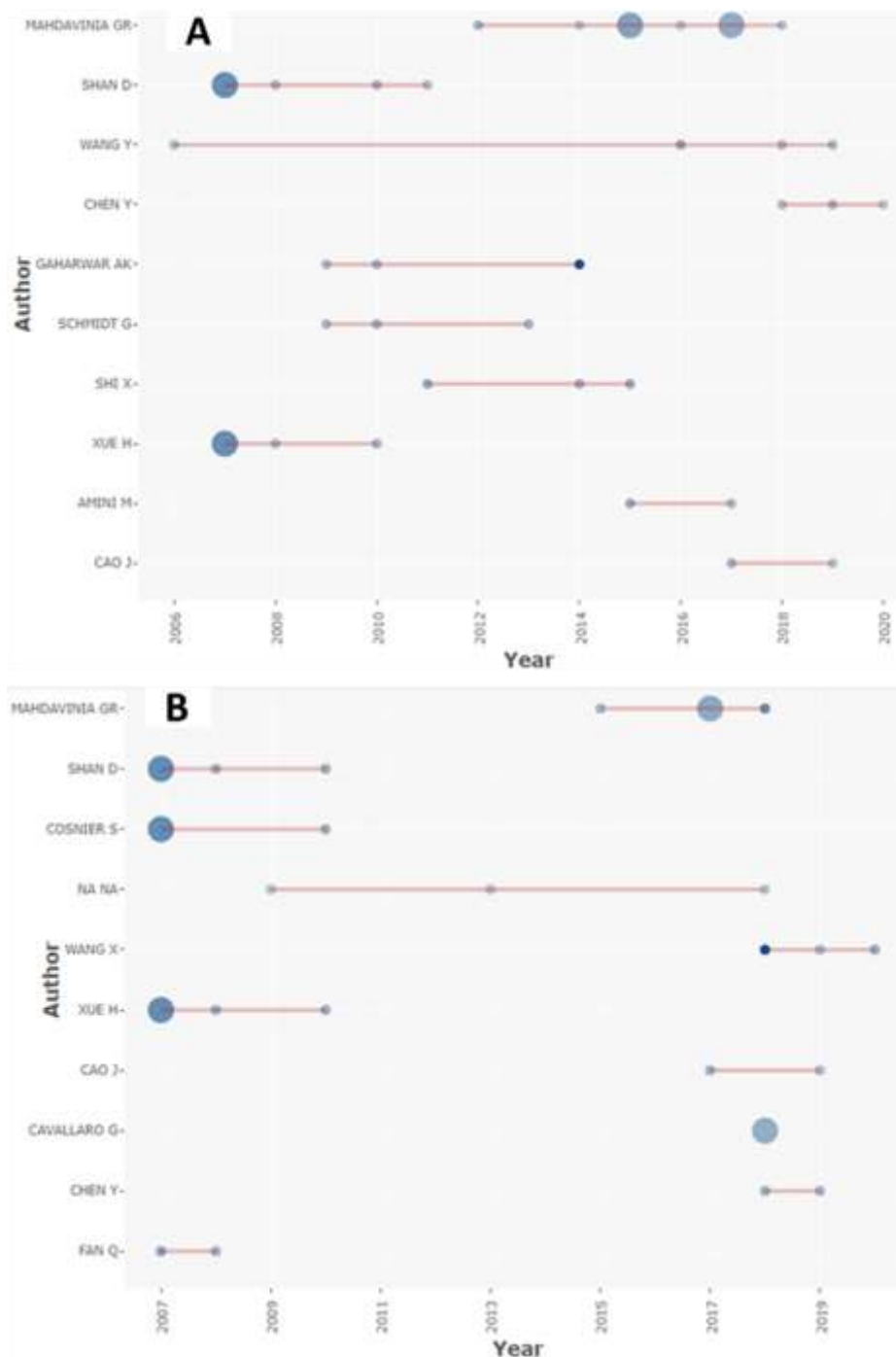
Figure 2. Collaboration map by country of the web databases of Science (A) and Scopus (B) for chitosan and laponite.



Source: Research data.

As for the countries with the highest number of corresponding authors, China with the highest number of authors can be highlighted (27), Iran (16), and the United States (15). Brazil also stands out and occupies the fourth position regarding the number of corresponding authors, with seven authors, followed by India with four corresponding authors. Regarding the institutions with the highest number of publications, Maragheh University (Iran) stands out with the highest number, followed by Sharif University of Technology (Iran) and Yangzhou University (China). Among the countries that stand out in terms of collaboration with others, for Web of Science, we can mention: China (8), USA (7), and Iran (3), but Brazil, France, Libya, and Turkey also collaborated (Figure 2. ONE). For Scopus, the countries with the highest contributions were: China (5), Iran (4), USA (2), India (1) and Italy (1) (Figure 2. B).

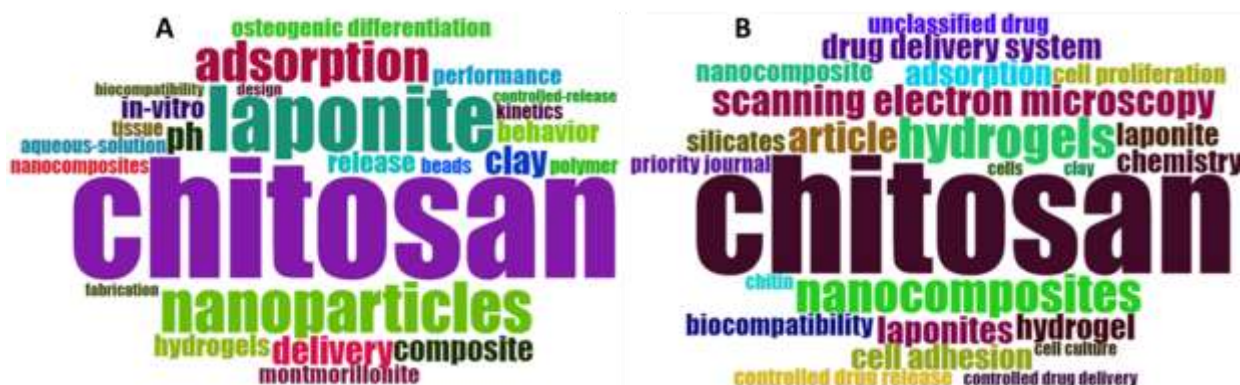
Figure 3. Scientific production of articles indexed in the web databases of Science (A) and Scopus (B) for chitosan and laponite, highlighting the most relevant authors per year.



Source: Research data.

The most productive author was Mahdavinia G., followed by Shan D., and Wang Y. Graphs A and B of Figure 3 represent the authors' productions over the years for the two databases surveyed: Web of Science (WoS) and Scopus. The size of the spheres in Figure 3 represents the number of publications, while the color intensity represents the total number of citations per year by these authors.

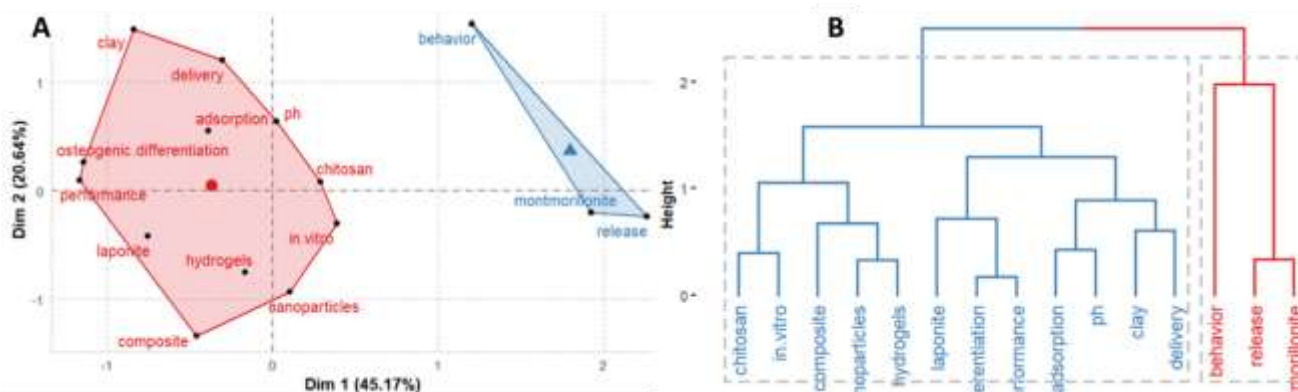
Figure 4. Cloud graphics with the most frequent keywords in the articles present in the Web of Science (A) and Scopus (B) databases.



Source: Research data.

As for the number of citations, China is still in the first place, but the United States surpasses Iran in this regard. Brazil is surpassed by Portugal and India, being the sixth country with the highest number of citations for the number of citations. The most used keywords in the forums are “Laponite,” “Chitosan”, “Nanocomposite”, “Hydrogels” and “Laponite RD”; the cloud graphics in Figure 4 indicate the words that appear most frequently.

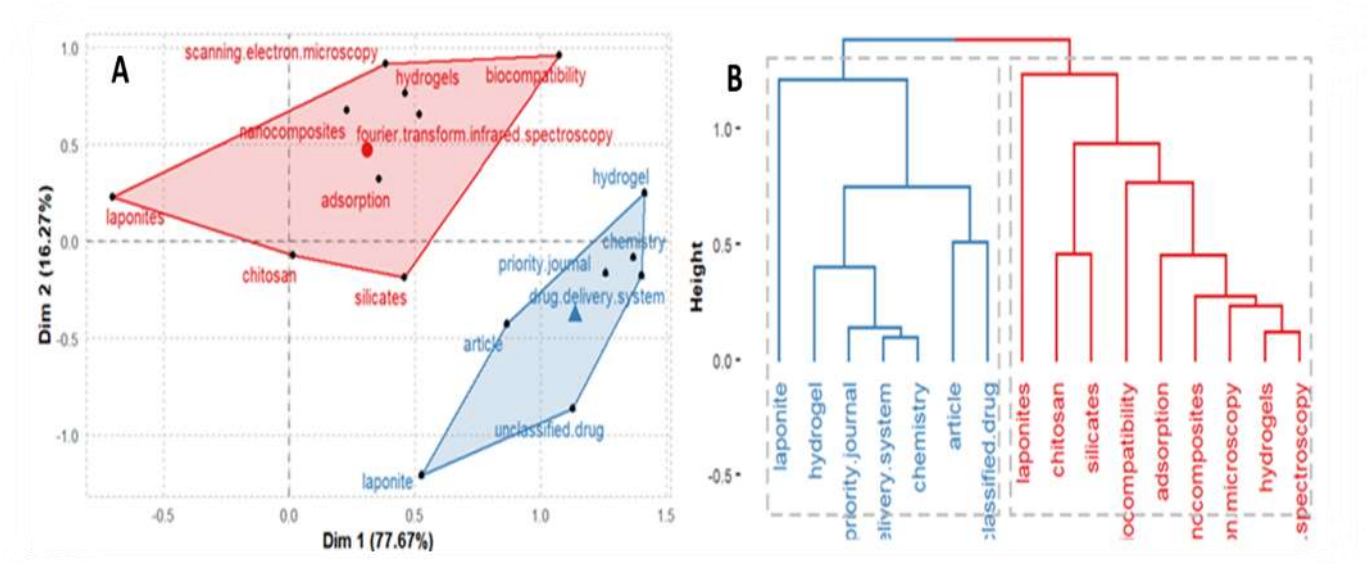
Figure 5. Structural conceptual map of the most frequent terms in the keywords of the Web of Science database by the MCA method (A). Dendrogram with two groups with words found in the titles of articles in the Web of Science database (B).



Source: Research data.

From the keywords of the articles obtained, the concept maps are still presented, with the most frequent words in the articles found in the Web of Science database. The multiple correspondence analysis (MCA) method and two co-occurrence networks were generated, represented in Figure 5. A by the red colors (chitosan, *in.vitro*, composite, nanoparticles, hydroles, laponite, osteogenic.differentiation, performance, adsorption, pH, clay, delivery) and blue (behavior, release, montmorillonite). Through these data, it is possible to know the most studied themes.

Figure 6. Structural conceptual map of the most frequent terms in the keywords of the Scopus database by the MCA method (A). Dendrogram with two groups with words found in the titles of articles in the base titles of articles in the Scopus base (B).



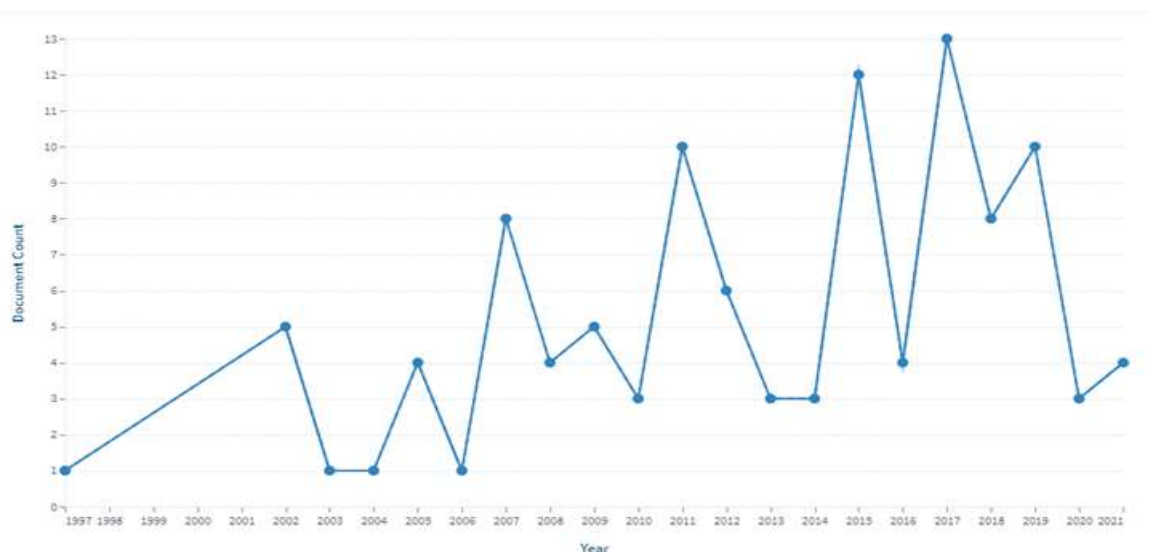
Source: Research data.

For the Scopus database we also used the keywords of the articles to obtain the co-occurrence networks and the structural conceptual maps, with the most frequent words, using the multiple correspondence analysis (MCA) method, the data can be found in Figure 6, in red (chitosan, hydrogels, nanocomposites, scanning. electron.microscopy, laponites, adsorption, biocompatibility, fourier.transform.infrared.spectroscopy, silicates) and blue (article, drug.delivery.system, chemistry, laponite, hydrogel, unclassified.drug, priority.journal) again these graphs provide data about the most studied contents.

3.2 Patents prospections

Of the 109 patents prospected that relate chitosan and Laponite, on The Lens platform, 28 are granted patents, and 81 are patent applications. The number of patients published per year is shown in Figure 7.

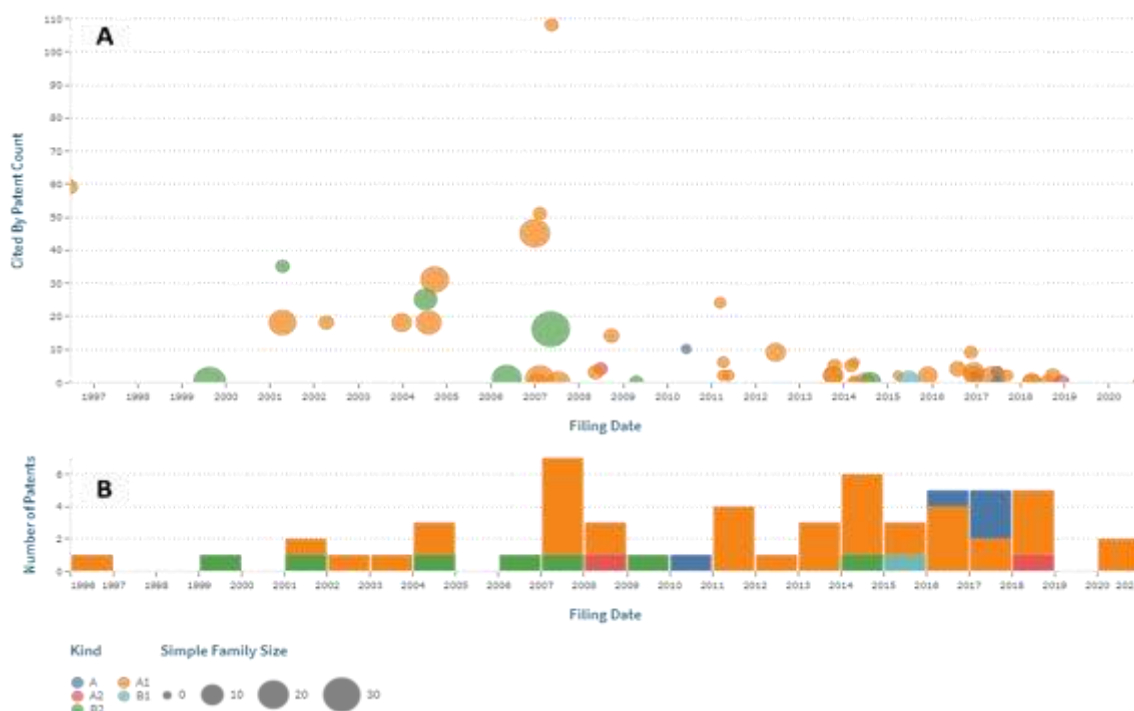
Figure 7. The number of documents containing the terms “chitosan and laponite” over the years.



Source: Research data.

The first patent was filed on June 25, 1996. The following patent was filed. From this year, there was an increase in the number of filings between 2007 and 2008, the peak of patent filings (7). Data from patent filing data, citations, patent families, type, and the number of patents filed are represented in the scatter plot (Figure 8.A) and bar chart (Figure 8.B).

Figure 8. Scatter plot with the number of citations, patent family and type by filing data (A). Number of patents by type and year of filing (B).



Source: Research data.

The United States stands out with the highest number of patents (55) by jurisdiction, followed by WIPO (31), Australia (10), Europe (8), and China (5) patents.

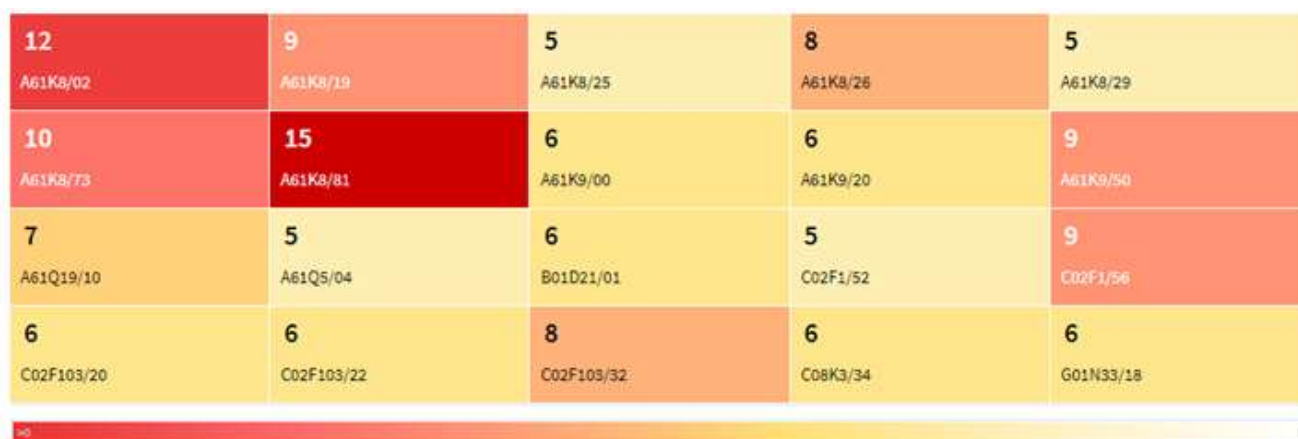
Figure 9. Cloud graph referring to the number of documents deposited by the institution.



Source: Research data.

L'Oréal, a French multinational cosmetics company, has the most significant number of deposits, with 14 documents. Then there is Kimberly Clark Co (10), an American personal care company; Gavish Galilee Bio Applications Ltd, Israel's technology transfer company (8). Institutions with the highest number of deposits or orders are represented in the cloud graph in Figure 9. According to the International Patent Classification (IPC) classifications, the heat graph, the closer to the red coloration, the higher the frequency of patents (Figure 10).

Figure 10. Heat chart with the number of patents according to IPC classification.



Source: Research data.

Most of the prospected patents aim at the science of medical or veterinary hygiene and deal with preparing medical, dental, or hygienic devices and methods (A61K), explicitly using cosmetics or similar sanitary preparations (A61Q). Patents related to physical or chemical processes and apparatus, in general, were also found (B01D); water, wastewater, sewage or sludge treatment (C02F); macromolecular compounds result from their preparation or working compositions based on them, use of inorganic or non-macromolecular organic substances as composition ingredients (C08K) and for test tests, investigation or analysis of materials by determining their calls or physics (G01N). The inventors with the highest number of documents are

Rytwo (10), Govang Patrick J. (8), Rasmussen (8), Schryver Tomas P. (8), Utschig Julie M. (8), Poppe Clayton D. (8).

4. Discussion

In research, obtaining ideas is not enough to have a scientific work and receive a technological innovation without first knowing the art. What and how innovations are disseminated in the form of patents or scientific articles. The prospecting of this knowledge that updates on the correct state of the art will be made. Thus, focusing on obtaining innovations associated with seeds without toxicity levels using chitosan and laponite, this prospection study was carried out. Despite the growing interest in using these materials, as can be seen by the increase in the number of articles and patents filed each year, articles with chitosan and a laponite associated with seed coating on the same base were not found. However, these materials can be used in the coating of foods such as fruits (Wu et al., 2018), manufacture of biosensors (Shan et al., 2010), as biosensors for detection of phenols (Fan et al., 2007) and L-Lactate, which is an important food freshness and flavor standard (Zanini et al., 2011), in the adsorption of metals and dyes (Xu et al., 2019) and proteins (Mahdavinia et al., 2018). Most of these materials were combined for use in the medical field, an example of bioadhesive feeding and controlled drug administration (Gharaie et al., 2018; Chen et al., 2019; Raut et al., 2019; Nikfarjam and Kokabi, 2020; Rebitski et al., 2020), in the treatment of bleeding (Gaharwar et al., 2014) and wound treatment (Kiaee et al., 2018), improve cell adhesion and biomineralization (Gaharwar et al., 2010; Cebe et al., 2020), osteoinducers in bone tissue engineering (Zhang et al., 2020; Arab-Ahmadi et al., 2021). See the antifungal and antibacterial activities of chitosan and laponite these materials have been reported to regenerate skin and are promising determinants as curatives (Gonzaga et al., 2020).

Chitosan and laponite were also found in electrochemical applications, such as producing films for hydrogen peroxide catalysis (Shan et al., 2007). Hybrid chitosan and laponite coating were also applied to reduce fires in flexible polyurethane foams, widely used in mattresses and upholstery (Nabipour et al., 2020). Laponite not associated with chitosan was used for encapsulation and controlled release of drugs (Li et al., 2011; Gonçalves et al., 2014) and targeted drug release (Chen et al., 2015). Laponite was also used in adsorption pollutants in water and dyes (Mahdavinia et al., 2012). Chitosan is applied in the production of coatings, in edible coatings generally intended for coating fruits or grains. Furthermore, many applications are in the use of antibacterial and antifungal materials (Qu and Luo, 2020). Chitosan has also been used to produce composites for controlled insulin delivery (Feki et al., 2020).

Most of the articles found for isolated laponite and associated with chitosan also had application in other areas such as medicine and pharmacology. A patent search was also carried out requiring laponite for seed treatment. There is also a wide application of materials in the medical and cosmetic area in this search, with the company L'Oréal as one of the largest depositors. However, works were found that focused on the adsorption of materials and cleaning of wastewater and/or sewage. Thus, in the prospection based on the research, no articles were found that focus on the application of chitosan and laponite in material for seed coating, despite their characteristics such as antifungal, antibacterial, nontoxic properties, in addition to their use in food storage, or no drug transport demonstrating that these materials may have promising use in seed coating. Using these materials in isolation in the treatment and/or maintenance of the physical and physiological quality of seeds is promising. Therefore, studies that can associate these two materials with producing a new seed treatment, such as a coating that can associate properties for protection, hydration, and transporting actives to seeds, are transferred.

5. Conclusion

Considering the economic importance and the perspectives for population growth, the technological development of the agricultural environment is essential to obtain greater productivity, quality, and safety of the food purchased in an

economically viable and environmentally sound way. In this aspect, chitosan and laponite, alone, can prove to be prosperous. However, there are no reports of works that combine the properties of these materials for this property. Thus, the development of new chitosan/laponite materials for seed treatment is promising, such as developing a clay-polymer coating with the ability to swell and release actives that can provide moisture and nutrients necessary for plant growth.

Acknowledgments

We thank the National Council for Scientific and Technological Development - Brazil (CNPq) and the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel - Brazil (CAPES).

References

- Afewerki, S., Magalhães, L. S. S. M., Silva, A. D. R., Stocco, T. D., Silva Filho, E. C., Marciano, F. R., et al. (2019). Bioprinting a Synthetic Smectic Clay for Orthopedic Applications. *Adv. Healthc. Mater.* 8, 1–14.
- Arab-Ahmadi, S., Irani, S., Bakhshi, H., Atyabi, F., and Ghalandari, B. (2021). Immobilization of carboxymethyl chitosan/laponite on polycaprolactone nanofibers as osteoinductive bone scaffolds. *Polym. Adv. Technol.* 32, 755–765.
- Aria, M., and Cuccurullo, C. (2017). Bibliometrix: An R-tool for Comprehensive Science Mapping Analysis. *J. Informetr.* 11, 959–975.
- Bindraban, P. S., Dimkpa, C., Nagarajan, L., Roy, A., and Rabbinge, R. (2015). Revisiting fertilisers and fertilisation strategies for improved nutrient uptake by plants. *Biol. Fertil. Soils* 51, 897–911.
- Cebe, T., Ahuja, N., Monte, F., Awad, K., Vyavhare, K., Aswath, P., et al. (2020). Novel 3D-printed methacrylated chitosan-laponite nanosilicate composite scaffolds enhance cell growth and biomineral formation in MC3T3 pre-osteoblasts. *J. Mater. Res.* 35, 58–75.
- Chen, G., Li, D., Li, J., Cao, X., Wang, J., Shi, X., et al. (2015). Targeted doxorubicin delivery to hepatocarcinoma cells by lactobionic acid-modified laponite nanodisks. *New J. Chem.* 39, 2847–2855.
- Chen, Y., Kang, S., Yu, J., Wang, Y., Zhu, J., and Hu, Z. (2019). Tough robust dual responsive nanocomposite hydrogel as controlled drug delivery carrier of aspirin. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* 92, 179–187.
- Dávila, J. L., and d'Ávila, M. A. (2017). Laponite as a rheology modifier of alginate solutions: Physical gelation and aging evolution. *Carbohydr. Polym.* 157, 1–8.
- Divya, K., Vijayan, S., Nair, S. J., and Jisha, M. S. (2019). Optimization of chitosan nanoparticle synthesis and its potential application as germination elicitor of *Oryza sativa* L. *Int. J. Biol. Macromol.* 124, 1053–1059.
- Ehsanfar, S., and Modarres-Sanavy, S. A. (2005). Crop protection by seed coating. *Commun. Agric. Appl. Biol. Sci.* 70, 225–229.
- Fan, Q., Shan, D., Xue, H., He, Y., and Cosnier, S. (2007). Amperometric phenol biosensor based on laponite clay-chitosan nanocomposite matrix. *Biosens. Bioelectron.* 22, 816–821.
- Farooq, M., Wahid, A., and Siddique, K. H. M. (2012). Micronutrient application through seed treatments -a review. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 12, 125–142.
- Feki, A., Hamdi, M., Jaballi, I., Zghal, S., Nasri, M., and Ben Amara, I. (2020). Conception and characterization of a multi-sensitive composite chitosan-red marine alga-polysaccharide hydrogels for insulin controlled-release. *Carbohydr. Polym.* 236, 116046.
- Gaharwar, A. K., Avery, R. K., Assmann, A., Paul, A., Mckinley, G. H., Khademhosseini, A., et al. (2014). Shear-Thinning Nanocomposite Hemorrhage. *ACS Nano* 8, 9833–9842.
- Gaharwar, A. K., Schexnailder, P. J., Jin, Q., Wu, C. J., and Schmidt, G. (2010). Addition of chitosan to silicate cross-linked PEO for tuning osteoblast cell adhesion and mineralization. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 2, 3119–3127.
- Gharaie, S. S., Dabiri, S. M. H., and Akbari, M. (2018). Smart shear-thinning hydrogels as injectable drug delivery systems. *Polymers (Basel)* 10.
- Gonçalves, M., Figueira, P., Maciel, D., Rodrigues, J., Shi, X., Tomás, H., et al. (2014). Antitumor efficacy of doxorubicin-loaded laponite/alginate hybrid hydrogels. *Macromol. Biosci.* 14, 110–120.
- Gonzaga, V. de A. M., Poli, A. L., Gabriel, J. S., Tezuka, D. Y., Valdes, T. A., Leitão, A., et al. (2020). Chitosan-laponite nanocomposite scaffolds for wound dressing application. *J. Biomed. Mater. Res. - Part B Appl. Biomater.* 108, 1388–1397.
- Kiaee, G., Mostafalu, P., Samandari, M., and Sonkusale, S. (2018). A pH-Mediated Electronic Wound Dressing for Controlled Drug Delivery. *Adv. Healthc. Mater.* 7, 1–8.
- Li, R., He, J., Xie, H., Wang, W., Bose, S. K., Sun, Y., et al. (2019). Effects of chitosan nanoparticles on seed germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Int. J. Biol. Macromol.* 126, 91–100.

- Li, Y., MacIel, D., Tomás, H., Rodrigues, J., Ma, H., and Shi, X. (2011). PH sensitive Laponite/alginate hybrid hydrogels: Swelling behaviour and release mechanism. *Soft Matter* 7, 6231–6238.
- Ma, Y. (2019). Seed coating with beneficial microorganisms for precision agriculture. *Biotechnol. Adv.* 37, 107423.
- Madsen, M. D., Davies, K. W., Boyd, C. S., Kerby, J. D., and Svejcar, T. J. (2016). Emerging seed enhancement technologies for overcoming barriers to restoration. *Restor. Ecol.* 24, S77–S84.
- Maeda, T. (2019). Structures and applications of thermoresponsive hydrogels and nanocomposite-hydrogels based on copolymers with poly (Ethylene glycol) and poly (lactide-co-glycolide) blocks. *Bioengineering* 6, 1–18.
- Mahdavinia, G. R., Massoudi, A., Baghban, A., and Massoumi, B. (2012). Novel carrageenan-based hydrogel nanocomposites containing laponite RD and their application to remove cationic dye. *Iran. Polym. J. (English Ed.)* 21, 609–619.
- Mahdavinia, G. R., Soleymani, M., Etemadi, H., Sabzi, M., and Atlasi, Z. (2018). Model protein BSA adsorption onto novel magnetic chitosan/PVA/laponite RD hydrogel nanocomposite beads. *Int. J. Biol. Macromol.* 107, 719–729.
- Nabipour, H., Wang, X., Song, L., and Hu, Y. (2020). Laponite-based inorganic-organic hybrid coating to reduce fire risk of flexible polyurethane foams. *Appl. Clay Sci.* 189, 105525.
- Nikfarjam, M., and Kokabi, M. (2020). Chitosan/laponite nanocomposite nanogels as a potential drug delivery system. *Polym. Bull.*
- Pedrini, S., Merritt, D. J., Stevens, J., and Dixon, K. (2017). Seed coating: science or marketing spin? *Trends Plant Sci.* 22, 106–116.
- Qu, B., and Luo, Y. (2020). Chitosan-based hydrogel beads: Preparations, modifications and applications in food and agriculture sectors – A review. *Int. J. Biol. Macromol.* 152, 437–448.
- R Core Team (2020). R: A Language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation on Statistical Computing.
- Raut, S. Y., Gahane, A., Joshi, M. B., Kalthur, G., and Mutalik, S. (2019). Nanocomposite clay-polymer microbeads for oral controlled drug delivery: Development and, in vitro and in vivo evaluations. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 51, 234–243.
- Rebitski, E. P., Darder, M., Carraro, R., and Ruiz-Hitzky, E. (2020). Chitosan and pectin core-shell beads encapsulating metformin-clay intercalation compounds for controlled delivery. *New J. Chem.* 44, 10102–10110.
- Rocha, I., Ma, Y., Souza-Alonso, P., Vosátka, M., Freitas, H., and Oliveira, R. S. (2019). Seed Coating: A Tool for Delivering Beneficial Microbes to Agricultural Crops. *Front. Plant Sci.* 10.
- Rodriguez, L. J., Peças, P., Carvalho, H., & Orrego, C. E. (2020). A literature review on life cycle tools fostering holistic sustainability assessment: An application in biocomposite materials. *Journal of environmental management*, 262, 110308.
- RStudio Team (2016). RStudio: Integrated Development for R. MA RStudio.
- Ruiz de la Cruz, G., Aguirre Mancilla, C., Godínez-Garrido, N., Osorio-Flores, N., and Torres Castillo, J. (2017). Chitosan mixed with beneficial fungal conidia or fungicide for bean (*phaseolus vulgaris* L.) seed coating. *Interciencia Rev. Cienc. y Tecnol. América* 42, 307–312.
- Sakamoto, C. K., & Silveira, I. O. (2019). Como fazer projetos de Iniciação Científica. Pia Sociedade de São Paulo-Editora Paulus.
- Shan, D., Han, E., Xue, H., and Cosnier, S. (2007). Self-assembled films of hemoglobin/laponite/chitosan: Application for the direct electrochemistry and catalysis to hydrogen peroxide. *Biomacromolecules* 8, 3041–3046.
- Shan, D., Li, Q. B., Ding, S. N., Xu, J. Q., Cosnier, S., and Xue, H. G. (2010). Reagentless biosensor for hydrogen peroxide based on self-assembled films of horseradish peroxidase/laponite/chitosan and the primary investigation on the inhibitory effect by sulfide. *Biosens. Bioelectron.* 26, 536–541.
- Sheikhi, A., Afewerki, S., Oklu, R., Gaharwar, A. K., and Khademhosseini, A. (2018). Effect of ionic strength on shear-thinning nanoclay-polymer composite hydrogels. *Biomater. Sci.* 6, 2073–2083.
- Sundhoro, M., Park, J., Jayawardana, K. W., Chen, X., Jayawardana, H. S. N., and Yan, M. (2017). Poly(HEMA-co-HEMA-PFPA): Synthesis and preparation of stable micelles encapsulating imaging nanoparticles. *J. Colloid Interface Sci.* 500, 1–8.
- Wiatrak, P. (2013). Influence of seed coating with micronutrients on growth and yield of winter wheat in Southeastern Coastal Plains. *Am. J. Agric. Biol. Sci.* 8, 230–238.
- Hernandez, A. V., Marti, K. M., & Roman, Y. M. (2020). Meta-Analysis. *Chest*, 158, s97–s102.
- Wu, Z., Huang, X., Li, Y. C., Xiao, H., and Wang, X. (2018). Novel chitosan films with laponite immobilized Ag nanoparticles for active food packaging. *Carbohydr. Polym.* 199, 210–218.
- Xu, G., Zhu, Y., Wang, X., Wang, S., Cheng, T., Ping, R., et al. (2019). Novel chitosan and Laponite based nanocomposite for fast removal of Cd(II), methylene blue and Congo red from aqueous solution. *E-Polymers* 19, 244–256.
- Zanini, V. P., López De Mishima, B., and Solís, V. (2011). An amperometric biosensor based on lactate oxidase immobilized in laponite-chitosan hydrogel on a glassy carbon electrode. Application to the analysis of l-lactate in food samples. *Sensors Actuators, B Chem.* 155, 75–80.
- Zhang, X., Fan, J., Lee, C. S., Kim, S., Chen, C., and Lee, M. (2020). Supramolecular Hydrogels Based on Nanoclay and Guanidine-Rich Chitosan: Injectable and Moldable Osteoinductive Carriers. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 12, 16088–16096.

Ziani, K., Ursúa, B., and Maté, J. I. (2010). Application of bioactive coatings based on chitosan for artichoke seed protection. *Crop Prot.* 29, 853–859.