

INFLUÊNCIA DO ÁCIDO CLORÍDRICO E ÁCIDO ACÉTICO NA OBTENÇÃO DE NANOQUITOSANA

III Congresso Online de Engenharia de Materiais. inscrições encerradas, 4^a edição, de 27/04/2021 a 30/04/2021
ISBN dos Anais: 978-65-89908-00-5

PAZ; Luan Rios ¹, DIAS; Paulo Sérgio de Jesus Rui², GUIMARÃES; Fernando Machado³, MACHADO;
Gabriela Moraes ⁴, PIGHINELLI; Luciano ⁵, SANTOS; Luis Alberto Loureiro dos⁶

RESUMO

1. RESUMOA estrutura química, estabilidade e tamanho de partícula são propriedades importantes na síntese de nanoquitosana, polímero com potencial aplicação na área de biomateriais devido a sua biocompatibilidade, bioatividade, capacidade de bioabsorção, etc. O método de obtenção de nanoquitosana utilizado no trabalho foi desenvolvido pelos autores e permite a obtenção de nanoquitosana de forma atrativa, por apresentar baixo custo e baixa complexidade em termos de processo. Neste trabalho é realizado o estudo dessas propriedades a partir da caracterização físico-química da nanoquitosana e das amostras de sais de quitosana, na forma de acetato e cloridrato, utilizadas para obtenção das nanoestruturas. Os resultados da análise de espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) demonstrou que não houve modificação química pois foram mantidos os picos característicos da quitosana nas amostras de sais e nas nanoestruturas. O potencial zeta e tamanho de partícula demonstraram a obtenção de nanopartículas e aglomerados com ampla faixa de tamanho, mas quando avaliada a relação número em função de tamanho verifica-se a presença significativa de partículas com dimensões menores que 100nm.2. ABSTRACTThe chemical structure, stability and particle size are important properties in the synthesis of nanochitosan, a polymer with potential application in the area of biomaterials due to its biocompatibility, bioactivity, bioabsorption capacity, etc. The nanochitosan obtention method adopted in this work was developed by the authors and allows the synthesis of nanochitosan in an attractive way, as it presents low cost and a process with low complexity. In this work, the study of these properties is carried out based on the physical-chemical characterization of the nanochitosan and the samples of chitosan salts, in the form of acetate and hydrochloride, used to obtain the nanostructures. The results of the Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) analysis showed that there was no chemical modification because the characteristic chitosan peaks were maintained in the salt samples and in the nanostructures. The zeta potential and particle size demonstrated the obtaining of nanoparticles and clusters with a wide size range, but when the number-as-a-size ratio is evaluated, there is a significant presence of particles smaller than 100nm.3. INTRODUCÃOA quitosana é um polímero com potencial na obtenção de biomateriais devido as características presentes intrinsecamente nesse polímero e que favorecem a sua utilização para este tipo de aplicação, como biocompatibilidade, bioatividade, ação antimicrobiana e hemostática, efeito antifúngico, atividade antiácida e antiúlcera, sensibilidade ao pH, baixa toxicidade, bioabsorvível e biodegradável (BARRY et al, 2014; GOMATHI et al, 2014; PIRAS et al, 2015; YOUNES e RINAUDO, 2015).A dissolução da quitosana em diferentes ácidos possibilita modificar suas características o que caracteriza uma possível alternativa para agregar melhores propriedades ao material. Diversos trabalhos demonstram a possibilidade de dissolver a quitosana em diferentes ácidos, tais como: ácido clorídrico, ácido acético, ácido fórmico, ácido lático, ácido malêico, ácido fosfórico, etc. Dos ácidos mencionados, o ácido clorídrico e o ácido acético se destacam, pois são os mais amplamente utilizados no processo de dissolução da quitosana (VAN DEN BROEK et al, 2014). Apesar da capacidade da dissolução em diferentes ácidos na obtenção de sais, a influência dos mesmos na obtenção de

¹ Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), luan.paz@ufrgs.br

² Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), paulosergioruidias@gmail.com

³ Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), fm_guimaraes@hotmail.com

⁴ Universidade Luterana do Brasil (ULBRA), gabrielamoraes1994@gmail.com

⁵ Instituto de Biopolímeros e Fibras Químicas, Lodz, pighinelli@gmail.com

⁶ Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), luis.santos@ufrgs.br

nanoquitosana é pouco explorada na literatura. O método de obtenção de nanoquitosana utilizado no trabalho foi desenvolvido pelos autores e permite a obtenção de nanoquitosana de forma atrativa, por apresentar baixo custo e baixa complexidade em termos de processo. O método baseia-se no processo de aglomeração da macromolécula de glucosamina, registrado como patente de privilégio de inovação junto ao Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI), sob o número de registro BR10201800539 (PIGHINELLI et al, 2018). Outros métodos de obtenção de nanoquitosana são reportados na literatura, como método de gelação inotrópica, método de micro emulsão, complexo de polieletrolitos (PEC) e evaporação de solvente (GUPTA et al, 2016; HEMBRAM et al, 2016). O objetivo do presente trabalho é avaliar a influência do ácido clorídrico e ácido acético na obtenção de nanoquitosana pelo processo de aglomeração da macromolécula de glucosamina. Neste estudo, foram obtidos sais de quitosana a partir do emprego de soluções ácidas de ácido acético e ácido clorídrico, dois ácidos que apresentam naturezas distintas, sendo o primeiro caracterizado por ser um ácido orgânico fraco e o segundo como um ácido inorgânico forte (LINDAHL et al, 2015; WU e ZHANG, 2019). A partir dos sais de quitosana, foram obtidas as suas respectivas nanoestruturas utilizando método de aglomeração da macromolécula de glucosamina, sendo os materiais caracterizados fisico-quimicamente.

4. METODOLOGIA

4.1. Preparação dos sais de quitosana

O método de obtenção dos sais de quitosana foi realizado conforme a patente de privilégio de inovação junto ao Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI), sob o número de registro BR10201800539 (PIGHINELLI et al, 2018). A quitosana com 87,5% de grau de desacetilação e 12,4% de teor de umidade (Polymar Ciência e Nutrição S/A - Fortaleza, CE) foi dissolvida em bêqueres, em duas soluções de 2L cada. As dissoluções ocorreram em agitação constante (1.000rpm) por misturadores mecânicos, do tipo hélice, à temperatura ambiente (20°C a 25°C). As soluções preparadas apresentaram 1% (m/m) de teor de polímero seco, o qual foi dissolvido através da adição gradual das soluções ácidas diluídas a 0,40%(v/v) de ácido clorídrico (37% P.A. Sigma-Aldrich) e de ácido acético (99,7% P.A. Sigma- Aldrich). O tempo de cada dissolução foi de duas horas. As soluções de cloridrato e acetato de quitosana apresentaram pH final de 1,4 e 4,6, respectivamente. Em seguida, as soluções foram filtradas por meio de tecido de algodão empregado como revestimento da parte superior do funil de Büchner, sendo posteriormente preparadas cinco amostras de 50mL da solução filtrada, em placas de petri, as quais foram mantidas até a formação de filmes à temperatura ambiente (20°C a 25°C), durante um período de 48 horas.

4.2. Síntese da nanoquitosana a partir das soluções de sais de quitosana

As duas soluções de partida de sais de quitosana remanescentes, com aproximadamente 1,75L cada, foram empregadas para obtenção das amostras de nanoquitosana. Essas soluções ficaram sob agitação constante a uma rotação de aproximadamente 1.000rpm utilizando misturador de hélice, à temperatura ambiente (20°C a 25°C), por 60 minutos. Durante o procedimento de agitação de cada solução, promoveu-se a aglomeração da macromolécula de glucosamina, por meio da neutralização dessas soluções. Após a aglomeração, foram obtidas duas suspensões com pH final 7,4. Essas suspensões foram filtradas, separadamente, em funil de Büchner em vidro com placa porosa. A nanoquitosana retida em cada um dos filtros foi lavada com 6L de água destilada e desionizada, sendo este processo denominado como purificação. Após, preparou-se cinco amostras em placas de petri, cada uma com 10g do filtrado, as quais foram secas até a obtenção de filmes à temperatura ambiente (20°C a 25°C), durante um período de 48 horas. Os filmes de sais de quitosana foram caracterizadas de forma a avaliar se os picos de FTIR característicos da quitosana foram mantidos após dissolução, enquanto que as nanoquitosanas (filmes e suspensões) foram caracterizadas quanto a estrutura, estabilidade e tamanho de partícula por meio das técnicas de FTIR, potencial zeta e tamanho de partícula.

4.3. Caracterização por Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR-ATR)

A análise

¹ Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), luan.paz@ufrgs.br
² Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), paulosergioruiz@gmail.com
³ Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), fm_guimaraes@hotmail.com
⁴ Universidade Luterana do Brasil (ULBRA), gabrielamoraes1994@gmail.com
⁵ Instituto de Biopolímeros e Fibras Químicas, Lodz, pighinelli@gmail.com
⁶ Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), luis.santos@ufrgs.br

de FTIR-ATR foi realizada em um espectrofotômetro Marca Perkin Elmer, Modelo Spectrum One FTIR Spectrometer, na região do espectro no intervalo 4000-650cm⁻¹, com 8 scans de varredura e resolução de 4cm⁻¹. As medições foram realizadas no modo Refletância Total Atenuada. Os espectros de FTIR foram ajustados e manipulados com o software Origin 9.2.4.4. Caracterização por potencial zeta e tamanho de partículaO potencial zeta e tamanho de partícula das amostras de nanoquitosanas foram avaliados através do aparelho Zetasizer Nano ZS90 (Malvern Instrumentos), o qual utiliza a técnica de espalhamento de luz dinâmico (DLS). O índice de refração utilizado foi de 1,5 e absorbância pré-determinada no equipamento, correspondente à quitosana. As amostras foram preparadas a partir da diluição de uma gota de cada suspensão em 50 mL de água destilada e desionizada com posterior filtração em filtros de 0,250µm. Cada amostra filtrada passou por processo de desaglomeração ultrassônica por um período de 5 minutos. Incerteza da análise é de 2%. A manipulação matemática dos dados foi realizada com o software Origin 9.2.5.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR-ATR)

Os espectros na região do infravermelho característicos dos sais de quitosana (acetato e cloridrato de quitosana) e das nanoestruturas derivadas desses sais foram constatados por meio das análises de FTIR-ATR. Os picos de infravermelho estão apresentados na Figura 1. É possível verificar a presença das bandas na região de 3350 cm⁻¹, as quais são referentes às vibrações de estiramento de N-H e O-H, bem como referentes a absorção de água (característica hidrofílica). A faixa de 2929 a 2874 cm⁻¹ é atribuída ao estiramento C-H alifático; 1650 e 1595 cm⁻¹ são correspondentes ao estiramento C=O da amida secundária e ao NH₂ da amina primária; e picos em 1261cm⁻¹ são correspondentes a amida III e aos grupos acetil. As bandas entre 1150 cm⁻¹ e 1149 cm⁻¹ são referentes a amida I e amida II. Entre 899 cm⁻¹ e 1155 cm⁻¹ correspondem ao grupamento químico COC (glicose-β-1-4) (COSTA e MANSUR, 2008; VARAN, 2017).

5.2. Potencial Zeta e Tamanho de Partícula

Os resultados de potencial zeta para as nanoquitosanas derivadas de ácido acético e clorídrico correspondem aos valores médios de -67,6mV e -41,5mV, respectivamente. O potencial zeta permite estimar a carga superficial de nanopartículas em suspensões, onde valores positivos mais elevados implicam em maior estabilidade da dispersão, enquanto valores mais baixos ou negativos indicam instabilidade coloidal que pode resultar na aglomeração das nanopartículas (CLOGSTON e PATRI, 2010). Os resultados de potencial zeta obtidos para as nanoquitosanas são reflexo da maior aglomeração de nanopartículas, pois no pH 7,4 a quitosana tende a desprotonar, o que possibilita a formação inter e intramolecular de pontes de hidrogênio (CHANG et al, 2015). Outro fator relevante relacionado aos módulos elevados de potencial zeta obtidos pode estar relacionado à presença de sal residual oriundo do processo de dissolução (acetato e cloridrato), os quais influenciam na estabilidade das suspensões por meio de mecanismos que incluem dissociação (ionização) de grupos funcionais da superfície, adsorção de íons da solução e adsorção de polieletrólitos (STUMM, 1992).

As Figuras 2A e 2B apresentam medidas de intensidade de espalhamento de luz em função do tamanho de partícula para a nanoquitosana derivada do ácido clorídrico e acético, respectivamente. Em ambos os resultados é possível verificar duas largas distribuições, que indicam que nas amostras há partículas e aglomerados com dimensões variadas. No primeiro gráfico, verifica-se duas distribuições com intensidades de 97,7% e 2,3%. Os respectivos picos dessas distribuições localizam-se em 321,7nm ($\pm 167,6$ nm) e 5560nm ($\pm 6,1 \times 10^{-4}$ nm). No segundo gráfico, as duas distribuições, com intensidades de 83,4% e 16,6%, apresentam picos em 434,8nm ($\pm 309,2$ nm) e 4636nm (± 823 nm), respectivamente. Ambos resultados apresentaram índice de polidispersividade (PDI) dentro da faixa de 0,08 a 0,7, a qual é a que os algoritmos de distribuição melhor trabalham (MALVERN PANALYTICAL, 2019). Esses resultados são coerentes com os valores de potencial zeta obtidos, pois as amostras passaram por filtragem em filtros de 0,250µm e

¹ Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), luan.paz@ufrgs.br

² Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), paulosergioruiz@gmail.com

³ Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), fm_guimaraes@hotmail.com

⁴ Universidade Luterana do Brasil (ULBRA), gabrielamoraes1994@gmail.com

⁵ Instituto de Biopolímeros e Fibras Químicas, Lodz, pighinelli@gmail.com

⁶ Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), luis.santos@ufrgs.br

desaglomeração ultrassônica antes da análise. Portanto, a larga faixa de tamanho de partícula se justifica pelo fato das nanopartículas apresentarem instabilidade que resulta na formação de aglomerados com o passar do tempo. Quando avaliada a relação do número de partículas em função do tamanho é possível verificar que apesar da formação de aglomerados com uma larga faixa de tamanho, ainda assim foi obtido um número significativo de partículas nanométricas (menor que 100nm), conforme pode ser observado nas Figuras 3A e 3B, as quais mostram duas distribuições similares das amostras de nanoquitosana derivada do ácido clorídrico e acético, respectivamente. Também é verificado que o número de partículas/aglomerados maiores que 1000nm não é significativo, pois não são apresentados sinais acima desta região. Cabe salientar que a análise de tamanho de partícula por espalhamento de luz dinâmico (DLS) não apresenta resolução suficiente que permita estimar com precisão o número de partículas nanométricas (<100nm) quando é avaliado uma amostra com uma larga faixa de tamanho, conforme já relatado na literatura (ANDERSON et al, 2013). Também destaca-se que no campo farmacêutico, também são considerados materiais nanométricos aqueles que possuem tamanho médio variando de 150nm a 300nm (FRANCESCO e BORCHARD, 2018). Os resultados obtidos apresentam semelhança com os que são reportados na literatura. Entretanto, os métodos para obtenção de nanopartículas de quitosana difundidos são diferentes do método adotado neste trabalho. Dentre os métodos mais utilizados, destacam-se: método de gelação inotrópica, método de micro emulsão, complexo de polieletrólitos (PEC) e evaporação de solvente (GUPTA et al, 2016; HEMBRAM et al, 2016). No trabalho de SIVAKAMI et al (2013), o qual emprega o método de gelação inotrópica para obtenção nanopartículas de quitosana para tratamento de águas residuais, é reportado a obtenção de partículas com dimensões de 100 a 400nm. HEMBRAM et al (2016), cita que através do método PEC é possível obter nanoquitosana com dimensões de 50 a 700nm. Ainda, no mesmo trabalho é citado que pelo método de micro emulsão é possível obter partículas com tamanho menor que 100nm, e, que pela técnica de evaporação de solvente pode-se obter nanoquitosana com dimensões de 50 a 300nm.

CONCLUSÕES Através do método de obtenção de nanoquitosana adotado no presente trabalho verificou-se a influência do ácido clorídrico e acético na obtenção de nanoquitosana. A amostra que apresentou menor instabilidade e a menor presença de aglomerados foi a nanoestrutura derivada de ácido clorídrico, a qual apresentou potencial zeta de -41,5mV e intensidade de espalhamento de luz em função do tamanho predominantemente na região abaixo de 1000nm. Apesar das duas amostras apresentarem uma larga faixa de distribuição de tamanho de partícula, quando avaliada a relação número em função do tamanho verifica-se que o resultado de DLS demonstra que em ambas obteve-se um número significativo de partículas nanométricas (<100nm). Também foi possível observar nos resultados de FTIR que o método de aglomeração da macromolécula de glucosamina e o processo de purificação não exercem influência significativa sobre os grupamentos característicos da quitosana. Ainda, é possível constatar que não houve a formação de produtos secundários indesejados.

REFERÊNCIAS

- BIBLIOGRÁFICAS
ANDERSON, W., KOZAK, D., COLEMAN, V. A., JÄMTING, Å. K., & TRAU, M. (2013). A comparative study of submicron particle sizing platforms: Accuracy, precision and resolution analysis of polydisperse particle size distributions. *Journal of Colloid and Interface Science*, 405, 322–330. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2013.02.030>.
BARRY, M., DING, B., JUNG, Y., et al. (2014). Pulsed nanosecond laser ablation of gold in deionized water and aqueous chitosan solution. *Optics and Lasers in Engineering*, 55, 59–68. <https://doi.org/10.1016/j.optlaseng.2013.10.019>.
CHANG, S. H., LIN, H. T. V., WU, G. J., & TSAI, G. J. (2015). pH Effects on solubility, zeta potential, and correlation between antibacterial activity and molecular weight of chitosan. *Carbohydrate Polymers*, 134, 74–81. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.07.072>.
CLOGSTON, J. D., & PATRI, A. K. (2010). Zeta Potential Measurement. Characterization of

¹ Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), luan.paz@ufrgs.br

² Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), paulosergioruizias@gmail.com

³ Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), fm_guimaraes@hotmail.com

⁴ Universidade Luterana do Brasil (ULBRA), gabrielamoraes1994@gmail.com

⁵ Instituto de Biopolímeros e Fibras Químicas, Lodz, pighinelli@gmail.com

⁶ Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), luis.santos@ufrgs.br

Nanoparticles Intended for Drug Delivery, 63–70. doi:10.1007/978-1-60327-198-1_6.COSTA JR., E. S.; MANSHUR H. S. “Preparação e caracterização de blendas de quitosana/poli(álcool vinílico) reticuladas quimicamente com glutaraldeído para aplicação em engenharia de tecidos”. Química Nova, 31(6): 1460-66, 2009.FRANCESCO, T. D., & BORCHARD, G.. Nanotechnology and Pharmacy. Nanoscience and Nanotechnology. De Gruyter, 2018. 37–56. Nanoscience and Nanotechnology. Web.GOMATHI, T., GOVINDARAJAN, C., ROSE, M. H., et al. (2014). Studies on drug-polymer interaction, in vitro release and cytotoxicity from chitosan particles excipient. International Journal of Pharmaceutics, 468(1–2), 214–222. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.04.026>.GUPTA, S., JASSAL, P.S., Chand, N. (2016) Chitosan Nanoparticles: Synthesis and Their Applications. Journal of Basic and Applied Engineering Research. p-ISSN: 2350-0077; e-ISSN: 2350-0255; Volume 3, Issue 8; April-June, 2016, pp. 686-689 © Krishi Sanskriti Publications. HEMBRAM, K. C., PRABHA, S., CHANDRA, R., AHMED, B., & NIMESH, S. (2016, January 1). Advances in preparation and characterization of chitosan nanoparticles for therapeutics. Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology. Taylor and Francis Ltd. <https://doi.org/10.3109/21691401.2014.948548>.LINDAHL, L., GENHEDEN, S., ERIKSSON, L. A., et al (2016). Sphingolipids contribute to acetic acid resistance in Zygosaccharomyces bailii. Biotechnology and Bioengineering, 113(4), 744–753. <https://doi.org/10.1002/bit.25845>.MALVERN PANALYTICAL. 2019. Zetasizer Nano ZS90: Analisador de tamanho de partícula / molécula e potencial zeta. Disponível em: <<https://www.malvernpanalytical.com/br/products/product-range/zetasizer-range/zetasizer-nano-range/zetasizer-nano-zs90>>. Acesso em: 08/06/2019.PIGHINELLI, L., GUIMARÃES, F., PAZ, R. L., et al. Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: BR10201800539, título: Complexo de Nano Quitosana Modificada e Processo de Obtenção de Complexo de Nano Quitosana Modificada, Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial. Depósito: 19/03/2018. Instituição(ões) financiadora(s): Universidade Luterana do Brasil - ULBRA.PIRAS, A. M., SANDRESCHI, S., MAISETTA, G., et al (2015). Chitosan nanoparticles for the linear release of model cationic peptide. Pharmaceutical Research, 32(7), 2259–2265. <https://doi.org/10.1007/s11095-014-1615-9>.SIVAKAMI, M. S., GOMATHI, T., VENKATESAN, J., JEONG, H. S., KIM, S. K., & SUDHA, P. N. (2013). Preparation and characterization of nano chitosan for treatment wastewaters. International Journal of Biological Macromolecules, 57, 204–212. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.03.005>STUMM, W. Chemistry of the Solid-Water Interface, Wiley Interscience, New York, 1992. VAN DEN BROEK, L. A. M., KNOOP, R. J. I., KAPPEN, F. H. J., et al (2015). Chitosan films and blends for packaging material. Carbohydrate Polymers, 116, 237–242. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.07.039>.VARAN, N. (2017). The Use of Titration Technique and FTIR Bands to Determine the Deacetylation Degree of Chitosan Samples. Journal of Textile Science & Engineering, 07(02). <https://doi.org/10.4172/2165-8064.1000288>.WU, J., & ZHANG, L. (2019). Dissolution behavior and conformation change of chitosan in concentrated chitosan hydrochloric acid solution and comparison with dilute and semidilute solutions. International Journal of Biological Macromolecules, 121, 1101–1108. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.10.128>.YOUNES, I., & RINAUDO, M. (2015, March 1). Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications. Marine Drugs. MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/md13031133.8>.

AGRADECIMENTOS Ao fomento da CAPES e CNPQ para o desenvolvimento deste trabalho, assim como a infraestrutura da UFRGS.

PALAVRAS-CHAVE: nanomaterial, quitosana, biomaterial, síntese

¹ Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), luan.paz@ufrgs.br

² Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), paulosergioruizias@gmail.com

³ Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), fm_guimaraes@hotmail.com

⁴ Universidade Luterana do Brasil (ULBRA), gabrielamoraes1994@gmail.com

⁵ Instituto de Biopolímeros e Fibras Químicas, Lodz, pighinelli@gmail.com

⁶ Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), luis.santos@ufrgs.br