



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ**  
**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**SANDRO DE SOUZA FIGUEIREDO**

**ANÁLISE DE SUPERFÍCIES FOLIARES:  
UM ESTUDO SOBRE A ENTROPIA COMO PARÂMETRO DE UNIFORMIDADE  
SUPERFICIAL E A SUPERHIDROFOBICIDADE DA ESPÉCIE VEGETAL *Thalia*  
*geniculata* (LINEU, 1753)**

**MACAPÁ**  
2015

**SANDRO DE SOUZA FIGUEIREDO**

**ANÁLISE DE SUPERFÍCIES FOLIARES:  
UM ESTUDO SOBRE A ENTROPIA COMO PARÂMETRO DE UNIFORMIDADE  
SUPERFICIAL E A SUPERHIDROFOBICIDADE DA ESPÉCIE VEGETAL *Thalia*  
*geniculata* (LINEU, 1753)**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal do Amapá, na área de concentração de Nanotecnologia aplicada a fármacos.

Orientador: Prof. Dr. Robert Ronald Maguiña Zamora

**MACAPÁ**  
2015

**SANDRO DE SOUZA FIGUEIREDO**

**ANÁLISE DE SUPERFÍCIES FOLIARES:  
UM ESTUDO SOBRE A ENTROPIA COMO PARÂMETRO DE UNIFORMIDADE  
SUPERFICIAL E A SUPERHIDROFOBICIDADE DA ESPÉCIE VEGETAL *Thalia*  
*geniculata* (LINEU, 1753)**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal do Amapá, na área de concentração de Nanotecnologia aplicada a fármacos.

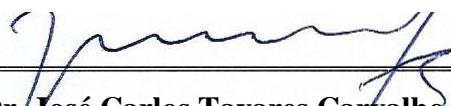
Data de Aprovação: **02/04/2015**



**Prof. Dr. Robert Ronald Maguiña Zamora - UNIFAP**



**Prof. Dr. Rodrigo Prioli – Universidade do Arizona, EUA**



**Prof. Dr. José Carlos Tavares Carvalho - UNIFAP**

**MACAPÁ**  
2015

*A Deus, família e amigos.*

*Em especial a todos os meus professores que sempre foram  
grandes fontes de inspiração e incentivo.*

## AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Dr. Robert Ronald Maguiña Zamora por suas orientações neste trabalho, por sua paciência, suas críticas, sugestões e correções e também pela sua amizade e compreensão.

Ao Prof. Dr. Rodrigo Prioli por disponibilizar o Laboratório Van de Graaf da PUC/RIO para que parte deste trabalho fosse possível.

Ao chefe da Divisão de Materiais do INMETRO, Carlos Alberto Achete, por disponibilizar seus laboratórios para que parte deste trabalho fosse possível, em especial a Braulio Anchango e Leandro Lidizio, pela disponibilidade.

Ao Prof. Dr. José Carlos Tavares, por suas dicas e permissões para uso de equipamentos no Laboratório de Pesquisa em Fármacos, UNIFAP.

Aos amigos de Laboratório Marcelo Amanajás Pires e Rone Nascimento, pela amizade, companheirismo e pelos debates acerca dos mais diversos temas.

À Camila Araújo pela ajuda nas coletas e identificação de plantas.

À minha querida e especial amiga Juliana Leão, que muitas vezes ultrapassou os limites da amizade pra ser conselheira, psicóloga, humorista, enfermeira e sempre acreditar em mim, mesmo quando eu mesmo não consigo fazer.

Em especial, à Aline Pacheco pelas palavras de incentivos, sugestões, carinho e compreensão por alguns (muitos) momentos de ausência. Por todos os momentos de alegria, por me fazer abrir a cabeça a novos questionamentos, por me proporcionar momentos inesquecíveis.

Em especial também aos meus pais, por me permitirem e incentivarem a estudar sempre e mostrar com exemplos como ser uma pessoa melhor. E à minha irmã, Suélem, e seu marido Dinei, que me acolheram no momento em que mais precisei, certamente sem eles eu não teria dados passos tão importantes e nunca teria chegado à universidade.

*O medo faz parte da vida da gente.  
Algumas pessoas não sabem como enfrentá-lo.  
Outras, acho que estou no meio delas, aprendem a conviver com ele  
e o encaram não de forma negativa, mas como um sentimento de  
autopreservação.  
(Ayrton Senna)*

## RESUMO

Em estudos superficiais a obtenção de certos parâmetros para caracterizar a superfície exerce um papel essencial. Neste trabalho foi desenvolvida uma nova metodologia para se analisar as rugosidades superficiais, a qual teve como princípio norteador a entropia de Shannon. Além disso, foi realizado um estudo sobre a morfologia superficial das folhas da *Thalia geniculata*, afim de se averiguar o seu grau de hidrofobicidade. Foi medido o ângulo de contato para as duas faces da folha, com cera epicuticular e também nas folhas que tiveram sua cera removida. Isto possibilitou concluir que as folhas desta espécie vegetal são superhidrofóbicas. Também foi possível determinar a energia livre de superfície para cada face da folha. As superfícies foliares foram analisadas por microscopia eletrônica de varredura e microscopia de força atômica, constatando-se que as faces adaxial e abaxial apresentam consideráveis diferenças morfológicas. Além disso, a partir de um extrato etanólico das folhas secas foi possível obter um espectro de absorvância no ultravioleta. Também foi determinada a sua porcentagem de polifenóis bem como seu pH, confirmando a indicação de estudos anteriores sobre a presença de polifenóis, mais especificamente de ácido rosmarínico, nesta espécie.

**Palavras-chave:** *Thalia geniculata*. Superhidrofobicidade. Ângulo de contato. Ácido rosmarínico.

## ABSTRACT

Obtaining several parameters for surface characterization play essential role in studies surface. In this work has been developed a new methodology to analyze the surface roughness, which had as guiding principle the Shannon entropy. In addition, a study was conducted on the surface morphology of the leaves of *Thalia geniculata*, in order ascertain their degree of hydrophobicity. Contact angle was measured for both sides of the leaf, with epicuticular wax and also leaves no epicuticular wax. This led to conclude that the leaves of this plant species are superhydrophobic. It was possible to determine the surface free energy for each side of the sheet. Leaf surfaces were analyzed by scanning electron microscopy and atomic force microscopy, wherein it was verified that adaxial and abaxial surfaces have considerable morphological differences. Furthermore, was made an ethanol extract of dried leaves whose a spectra ultraviolet absorbance has been obtained. It was also determined a percentage of polyphenols and their pH, confirming previous studies which indicated the presence of polyphenols, rosmarinic acid more specifically.

**Keywords:** *Thalia geniculata*. Superhydrophobicity. Contact angle. Rosmarinic acid.

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

AFM	( <i>Atomic Force Microscopy</i> ) Microscopia e Força Atômica
ABS	Absorvância
CA	( <i>Contact Angle</i> ) Ângulo de Contato
HPLC	( <i>High Performance Liquid Chromatography</i> ) Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
IEPA	Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado do Amapá
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
LABMAT	Laboratório de Materiais
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
PUC-RIO	Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro
pH	Potencial Hidrogeniônico
RMS	( <i>Root Mean Square</i> ) Raíz Quadrada da Média
RRS	( <i>Random Rough Surface</i> ) Superfície Aleatoriamente Rugosa
UNIFAP	Universidade Federal do Amapá
UV	Ultravioleta

## LISTA DE SÍMBOLOS

$R_q$	Parâmetro de rugosidade RMS
$H_{hei.matr}$	Entropia de Shannon obtida de uma matriz de alturas topográficas
$H_{hei.dist}$	Entropia de Shannon obtida de uma distribuição de alturas topográficas
$\delta$	Tamanho dos bins
$h_{ij}$	Altura correspondente do ponto $(i, j)$
$p_k$	Probabilidade de aparecer uma altura em um bin
$n_k$	Número de alturas em um bin
$N$	Número de pixels
$\eta$	Número de pixels que não contribuem para a uniformidade
$\gamma_{SL}$	Tensão interfacial sólido-líquido
$\gamma_{LV}$	Tensão interfacial líquido-ar
$\gamma_{sv}$	Tensão interfacial sólido-ar
$\gamma_s$	Energia livre de superfície do sólido
$\gamma_l$	Energia livre de superfície do líquido
$r$	Fator de rugosidade
$f_s$	Área fracionada
$\theta$	Ângulo de contato de Young
$\theta_W$	Ângulo de contato de Wenzel
$\theta_{CB}$	Ângulo de contato de Cassie-Baxter
$\theta_a$	Ângulo de avanço de uma gotícula sobre superfície sólida
$\theta_r$	Ângulo de retrocesso de uma gotícula sobre superfície sólida

$m$	Metro
$\mu m$	Micrômetro
$nm$	Nanômetro
$cm$	Centímetro
$mL$	Mililitro
$C$	Concentração

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>12</b>
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>20</b>
2.1 OBJETIVO GERAL.....	20
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	20
<b>3 UMA ABORDAGEM DA ENTROPIA PARA AVALIAÇÃO DA UNIFORMIDADE DA RUGOSIDADE SUPERFICIAL (AN ENTROPIC APPROACH FOR EVALUATION OF SURFACE ROUGHNESS UNIFORMITY).....</b>	<b>21</b>
<b>4 ESTUDO DA SUPERHIDROFOBICIDADE DE FOLHAS DA ESPÉCIE VEGETAL <i>Thalia Geniculata</i> (LINEU, 1753) .....</b>	<b>29</b>
<b>5 PRESENÇA DE POLIFENÓIS NAS FOLHAS DA ESPÉCIE VEGETAL <i>Thalia Geniculata</i> (LINEU, 1753) .....</b>	<b>46</b>
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>52</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>53</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A análise de superfície é um dos pilares fundamentais na Ciência atualmente, a citar como exemplo, a Física, Engenharia, Química, Biologia, dentre outras. A obtenção de parâmetros que caracterizam a superfície, tais como fator de rugosidade e molhabilidade, são essenciais para diversos setores. Também tem havido uma busca cada vez maior por padrões superficiais que imitem aqueles encontrados na natureza, como os de em superfície de folhas, por exemplo. Contudo, além ser importante para o estudo de superfície, a natureza é igualmente importante em estudos fitoquímicos, na busca por substâncias que possam ser úteis em novos medicamentos, por exemplo.

Assim, a natureza, mais especificamente o reino vegetal, é alvo de inúmeros estudos para diversas áreas do conhecimento. Daí, surgiu o anseio em se fazer um trabalho que apresentasse dois eixos norteadores. O primeiro visando a análise de superfícies, em que se almejou alcançar um novo método para analisar a uniformidade superficial, partindo das ideias da entropia de Shannon, tendo como aplicabilidade a análise de superfícies diversas, mas com interesse maior em superfícies foliares hidrofóbicas. O segundo, buscando analisar a molhabilidade das folhas da espécie vegetal *Thalia geniculata*, além de verificar (e motivar) sua potencial utilização em pesquisas fitoquímicas/farmacológicas.

Sobre o primeiro eixo norteador, as investigações se deram sobre o comportamento de determinados parâmetros superficiais, e então passou-se a perquirir o comportamento do RMS (*Root Mean Square*, na sigla em inglês) de diversas superfícies. Veio, então, o entendimento de que ele é uma caracterização incompleta do perfil ou da superfície que se deseja analisar, uma vez que sua medida pode ser tendenciosa se a superfície possuir um número considerável de picos altos e vales profundos, se comparados à média das alturas. Isto é, o RMS,  $Rq$ , pode ser afetado se a rugosidade não é distribuída uniformemente por toda a superfície. Assim, é importante avaliar a uniformidade da rugosidade superficial. Dada esta problemática, foi desenvolvida uma metodologia de medida para a caracterização de superfícies de modo que seja complementar à medida de RMS. Este modelo proposto foi baseado na entropia de Shannon (SHANNON, 1948).

Com isso, sabendo que cada imagem de AFM possui uma quantidade de pixels, a qual é definida antes de se iniciar o processo de varredura, pode-se afirmar que uma imagem de topografia constitui-se de um conjunto de dados, cuja determinação do valor da entropia se baseia em probabilidades de determinado evento da superfície topográfica. Logo, ao se determinar o que é um evento e também qual é a sua probabilidade, há, então, a possibilidade

de determinação da entropia. Isto é, uma vez que é possível atribuir uma probabilidade a cada um dos  $m \times m$  pixels de uma imagem topográfica, então a entropia a esta representação topográfica pode ser calculada. A descrição deste método de análise da uniformidade das rugosidades superficiais via entropia de Shannon encontra-se no **Capítulo 1**.

Após o objetivo do primeiro ramo do trabalho ter sido alcançado, com o segundo eixo norteador almejou-se realizar um breve estudo sobre a molhabilidade das superfícies das folhas da *Thalia geniculata*. A motivação para este estudo adveio da observação do comportamento da água da chuva sobre as folhas desta planta, a qual desliza com extrema facilidade sobre a superfície foliar, sem “molhá-la” (veja a **Figura 3**, na qual gotículas de água assumem forma esférica sobre a folha, indicando em um elevado grau de hidrofobicidade). Outro fator motivante, foi a sua vasta abundância durante todo o ano e sua rápida proliferação pela área de ressaca, localizada no bairro Paraíso, no município de Santana, Estado do Amapá (veja a **Figura 1**), mesmo após devastações corriqueiras por parte dos moradores dessa área, apresentando, portanto, o comportamento típico de planta daninha (MOREIRA & BOVE, 2008).

A **Figura 1** mostra a localização da área de ressaca em que a espécie em estudo é abundante. Esta área alagada é interligada com um dos afluentes do Rio Amazonas que corta o Bairro Igarapé da Fortaleza, no Município de Santana e está em risco ambiental, pois a cada ano um número maior de pessoas a ocupam irregularmente com construções de palafitas, aterros e dejetos de lixos orgânicos. Além disso, não há fiscalização da prefeitura e nenhuma mobilização é tomada afim de preservar tanto a fauna quanto a flora deste local.

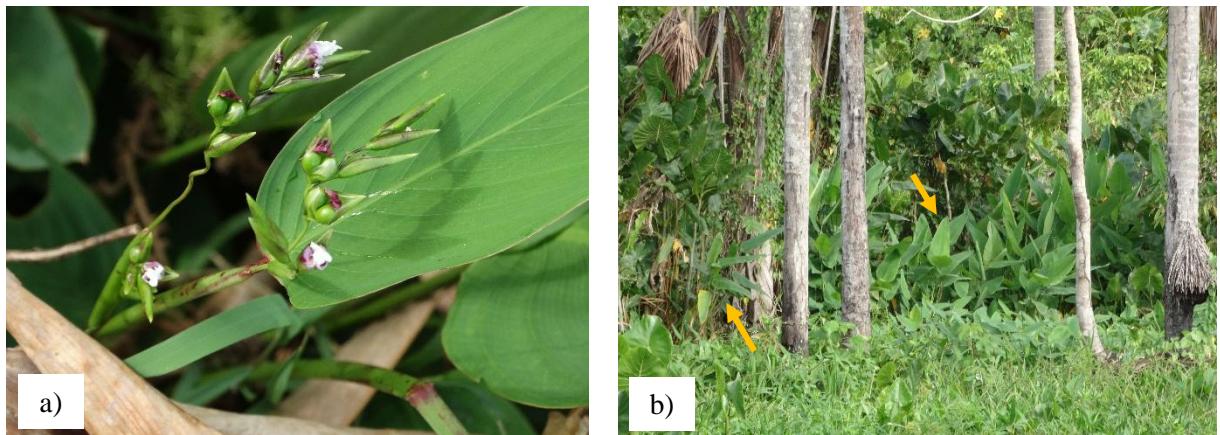
**Figura 1:** Vista aérea do bairro onde se localiza a área de ressaca. Destaque na imagem para o local de coleta do material vegetal. Coordenadas: -0,024922; -51,167206.



**Fonte:** Google.

A *Thalia geniculata* é uma espécie perene, que pode chegar a 2 m de altura e cresce no sub-bosque de áreas alagadas e é abundante por todo o globo terrestre nas regiões tropicais e subtropicais (LEY & CLAßEN-BOCKHOFF, 2009). Suas flores possuem uma coloração violeta, em sua maioria, mas apresentam duas pétalas brancas; suas folhas possuem nervuras paralelas que se assemelham às de uma bananeira, possui um pulvino que pode ser pigmentado ou não e que é responsável pela orientação da folha conforme questões de luminosidade (COSTA et al, 2008). A **Figura 2** ilustra o citado acima, mostrando partes da *T. geniculata*, em especial suas flores e folhas e como crescem sob a sombra espécies vegetais de porte superior.

**Figura 2:** Fotografias da espécie vegetal em estudo, nas quais a) enfatiza os detalhes das flores e folhas; enquanto que b) ilustra os hábitos da *T. geniculata*, que cresce no sub-bosque nas áreas de ressaca. Nesta fotografia, pode-se localizá-la pelas setas.



**Fonte:** o autor

A molhabilidade superficial é um fenômeno essencial em amplos processos tecnológicos tais como pintura, filtrações, impressões, têxteis, dentre outros (BORMASHENKO, 2008). O estudo sobre a molhabilidade em folhas ganhou grande relevância após os trabalhos de Barthlott, na década de 1970, em que ele patenteou o que hoje se chama por “Efeito Lotus”, estudando as folhas de lótus, *Nelumbo nucifera* (BARTHLOTT & NEINHUIS, 1997; GAO & YAN, 2009).

A **Figura 3** mostra uma folha de *Thalia geniculata* com gotículas de água sobre sua superfície adaxial. Pode-se perceber facilmente que as gotículas assumem forma esférica, o que significa que possuem pouca adesão à superfície foliar e que podem deslizar com facilidade sobre ela. Em outras palavras, há um elevado ângulo de contato entre a gotícula e superfície da folha, o que implica dizer que a folha mostra-se hidrofóbica.

**Figura 3:** Fotografia registrando o processo de molhabilidade da *Thalia geniculata*, em que as gotículas de líquido assumem a forma esférica sobre a superfície da folha, indicando um elevado ângulo de contato e baixa energia livre de superfície.



**Fonte:** o autor

Entender os processos de molhabilidade em folhas é importante porque auxilia a compreensão de como a planta interage com o ambiente, e quais adaptações foi desenvolvendo ao longo dos seus milhares de anos sobre a superfície da Terra. Com isso, é possível produzir materiais e superfícies artificiais com os mesmos princípios e padrões encontrados na natureza, constituindo os chamados materiais biomiméticos (KOCH et al, 2008).

Segundo Bormashenko (2008), o entendimento da molhabilidade também é importante para a medicina, estudos do clima e do solo e para a biologia vegetal. Além disso, para Bormashenko (2008), o umedecimento de superfícies rugosas não é completamente claro e se precisa de mais investigação teórica e experimental.

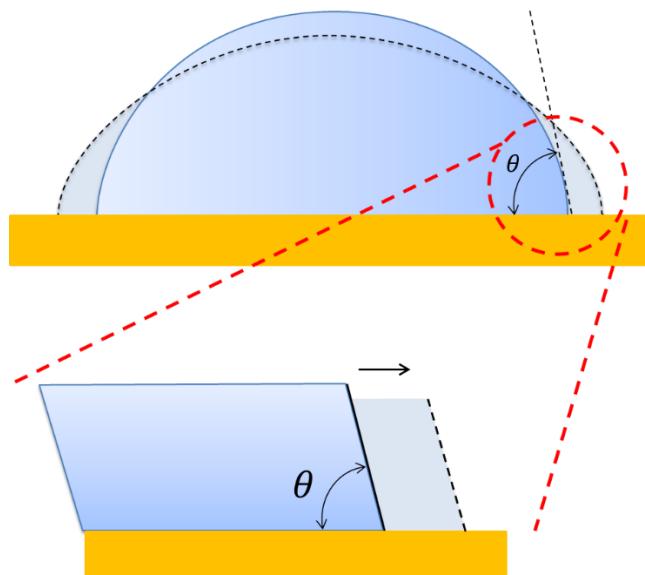
Para Song e Zheng (2014), quando um líquido (água) é colocado sobre uma superfície horizontal lisa (vidro, por exemplo), ele se espalha pela superfície devido a atração molecular entre as interfaces (principalmente a força de Van der Waals), substituindo a interface sólido-vapor por uma interface líquido-sólido, como ilustra a **Figura 4**.

Na figura,  $\theta$  representa o ângulo de contato do líquido com a superfície sólida, que é o parâmetro físico utilizado para determinar o quanto um líquido molha determinada superfície (KOCH & BARTHLOTT, 2009; SUBEDI, 2011). Ele é capaz de fornecer indiretamente informações sobre a **energia livre de superfície** bem como o **trabalho de adesão** de uma

gotícula (DAVID & NEUMANN, 2014), sendo, portanto, uma técnica ideal para o estudo de hidrofobicidade (SUBEDI, 2011).

Logo, pode-se dizer que, com relação à sua molhabilidade, uma superfície qualquer pode ser classificada em **hidrofílica** – possui atratividade às moléculas de água e apresenta ângulo de contato inferior a  $90^\circ$  – (SUBEDI, 2011), **hidrofóbica** – a atratividade por moléculas de água é reduzida e a gotícula não se adere à superfície, apresentando um o ângulo de contato que está entre  $90^\circ$  e  $150^\circ$  – (SHIRTCLIFFE et al, 2010) ou ainda **superhidrofóbica** – a atratividade por moléculas de água é extremamente reduzidas e as gotículas rolam com facilidade sobre a ela, a qual apresenta ângulo de contato superior a  $150^\circ$  – (GUO et al, 2008).

**Figura 4:** Representação de uma gotícula que se espalha por uma superfície sólida, substituindo a interface sólido-vapor pela interface líquido-sólido, em que  $\theta$  é o ângulo de contato.



**Fonte:** o autor.

Há três modelos principais para a descrição desses possíveis casos de molhabilidade: o modelo de Young, de Wenzel e Cassie-Baxter. O primeiro foi proposto pelo físico Thomas Young em 1805 (LAN et al, 2002) e descreve uma superfície lisa, plana e homogênea na qual o ângulo de contato seria uma relação de equilíbrio entre a energia livre de superfície por unidade de área de cada interface, ou seja, a tensão interfacial.

O segundo modelo, proposto por Wenzel, contudo, é mais realístico ao considerar as rugosidades inerentes a todas as superfícies sólidas. Pois segundo Song e Zheng (2014), as superfícies reais são rugosas e heterogêneas. Wenzel considera um fator adimensional chamado **fator de rugosidade  $r$** , que é a razão entre a área superficial efetiva e a área projetada, ou seja,

aquela área que a superfície teria considerando-a plana (YAN et al, 2011). De acordo com Shirtcliffe et al (2010), este fator de rugosidade é importante, pois se relaciona também com a química superficial. Isto é, para uma superfície quimicamente hidrofílica, o aumento da rugosidade superficial, e por conseguinte de  $r$ , provocará um aumento da hidrofilicidade da mesma. Enquanto que para superfícies quimicamente hidrofóbicas, o aumento do fator de rugosidade a deixará mais hidrofóbicas. Logo, segundo os autores, há um efeito causado na molhabilidade devido à relação entre a química e a geometria da superfície. Neste modelo, as gotículas de líquido ocupam os espaços entre existentes entre as asperezas superficiais, formando o que se chama de **interface homogênea** (CHOI et al, 2009) entre o líquido e o sólido.

O terceiro modelo de molhabilidade é o de Cassie-Baxter, o qual também leva em consideração a rugosidade da superfície, porém, diferentemente de caso de Wenzel, se considera que a líquido toca a superfície apenas em algumas áreas fracionadas, ou seja, a gotícula fica suspensa pelas rugosidades superficiais, o que implica que a área de contato líquido-sólido é menor que a do modelo proposto por Wenzel (YAN et al, 2011). Isto implica em um ângulo de contato maior (SHIRTCLIFFE et al 2010). Ângulos próximos de 180° são fornecidos pelo modelo de Cassie-Baxter, no qual a hidrofobicidade é aumentada porque a gotícula fica parcialmente no ar (BORMASHENKO, 2008), constituindo o que se chama por **interface composta, ou heterogênea** (CHOI et al, 2009).

Para Bormashenko (2008), a aplicação da equação de Cassie-Baxter para situações de superhidrofobicidade, quando a gotícula está parcialmente sobre bolsas de ar, precisa de certas precauções. Segundo Song e Zheng (2014), em um sólido homogêneo plano, a molhabilidade é isotrópica, contudo se a superfície possui um gradiente em uma direção particular, isso pode causar um movimento da gotícula. E um gradiente superficial se forma por diferenças na composição química (isto é, na energia superficial). Assim, as tensões superficiais que atuam sobre a gotícula não estão equilibradas e o gradiente age para a direção de maior energia superficial (SONG & ZHENG, 2014).

Nas folhas de lótus, as quais são constituídas por inúmeras papilas na forma de hemisferóides amplamente distribuídos (EXTRAND, 2011), os vales – espaços entre as papilas – são as áreas de menor energia livre de superfície, enquanto que o topo das papilas são as áreas com energia livre de superfície maior, isso faz com que haja um gradiente de molhabilidade em direção ao topo papilar, o qual “suspende” as gotículas, diminuindo a área de contato e aumentando seu ângulo de contato (ZHENG et al, 2008).

Segundo Koch e Barthlott (2009), outro fator desempenha um papel importante para a molhabilidade das folhas de lótus e que garantem a diferença de energia superficial que causam a suspensão das gotículas para o topo das papilas, é a sua **cera epicuticular**. Extrand (2011) destaca também a presença de um segundo nível de rugosidade superficial, a qual é chamada na literatura de **rugosidade secundária**, ou **rugosidade hierárquica**.

A cera epicuticular é um conjunto de lipídeos depositados sobre a cutícula – uma membrana constituída de lipídeos alifáticos para a impermeabilização da cutina, a qual serve como uma densa rede de suporte estrutural (ROUND et al, 2000). Ensikat et al (2006), elas são, comumente, uma mistura de n-alcanos e seus derivados, com um grupo funcional contendo oxigênio. Dentre estes grupos encontram-se principalmente álcoois, cetonas, aldeídos, ácidos graxos e ésteres (ENSIKAT et al, 2006). Com relação à sua deposição sobre a superfície, as ceras epicuticulares podem ser amorfas ou cristaloides (com a periodicidade de substâncias, como acontece com os cristais), apresentando grande variedade de tamanho e forma (ALBERT & FILHO, 2002).

Com relação à rugosidade hierárquica, este segundo nível de estruturas superficiais são importantes, pois sem elas a água facilmente penetraria nos espaços entre as protuberâncias papilosas e o ângulo de contato diminuiria drasticamente e a repelência da superfície às gotículas de água seria consideravelmente menor (EXTRAND, 2011).

Assim, de acordo com Koch e Barthlott (2009), a molhabilidade de uma superfície foliar depende da combinação de fatores físico-químicos, tais como a cera epicuticular, de baixa energia de superfície, e também da morfologia superficial. Pesquisas posteriores são necessárias para a determinação da composição química da cera epicuticular das folhas da *T. geniculata*, bem como os processos metabólicos dos quais a cera resulta, a sua estrutura microscópica e o seu significado biológico, ou seja, sua funcionalidade para a planta (KREGER, 1948).

Nesta linha de pesquisa que aborda a molhabilidade, foi medido o ângulo de contato para as duas faces de folhas com e sem cera epicuticular. Para a remoção da cera das folhas da *T. geniculata*, foi utilizado a acetona em que as folhas eram imersas e levemente agitadas por um intervalo de tempo de aproximadamente 30 segundos, segundo a metodologia de Ensikat (2006), com adaptações.

As estruturas epidérmicas de cada face da folha da planta foram verificadas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e ainda foram analisadas por Microscopia de Força Atômica (AFM). Assim, compararam-se as faces das folhas, com e sem cera, quanto ao grau de hidrofobicidade, morfologia superficial e fator de rugosidade. Foi possível ainda, fazer

uma estimativa da energia livre de superfície, com para cada face. A análise sobre a molhabilidade da *T. geniculata* é apresentada na seção 4, na página 28.

Contudo, surgiu a curiosidade em se investigar na literatura trabalhos relacionados à avaliação fitoquímica da planta e constatou-se que há poucas pesquisas relacionadas a *Thalia geniculata* e, por consequência, a aplicabilidade farmacológica desta espécie é carente de novas investigações.

Assim, na seção 5, página 45, fez-se uma breve ponderação acerca do potencial desta espécie em apresentar substâncias com potencial terapêutico, como o caso do ácido rosmarínico, que é um polifenol com propriedades antioxidante, anti-inflamatória, antiviral, hipoglicemiante, antitumoral e ainda neuroprotetora, segundo Oliveira (2010) e Furtado et al (2015). A primeira ocorrência deste ácido em uma espécie da família Marantaceae foi observada no trabalho de Abdullah et al (2008), a partir do extrato obtido das folhas da *T. geniculata*. A presença de polifenóis, como o ácido rosmarínico, foi verificada pelo espectro de absorção UV, obtida no Laboratório de Pesquisa em Fármacos da Universidade Federal do Amapá.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Obter um parâmetro superficial complementar ao RMS para uma melhor descrição da topografia de superfícies, assim como também caracterizar fisicamente a superhidrofobicidade das folhas de *Thalia geniculata*.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Introduzir a entropia de Shannon como medida da uniformidade da rugosidade superficial;
- b) Determinar a grau de hidrofobicidade das folhas da *T. geniculata*;
- c) Caracterizar a superfície das faces abaxial e adaxial das folhas desta espécie;
- d) Obter o espectro de absorção UV do extrato etanólico das folhas;
- e) Verificar a necessidade de estudos fitoquímicos mais aprofundados sobre a espécie;

### **3 UMA ABORDAGEM DA ENTROPIA PARA AVALIAÇÃO DA UNIFORMIDADE DA RUGOSIDADE SUPERFICIAL (*AN ENTROPOIC APPROACH FOR EVALUATION OF SURFACE ROUGHNESS UNIFORMITY*)**

# An entropic approach for evaluation of surface roughness uniformity

Pires M. A<sup>1</sup>; Figueiredo S.S. <sup>1</sup>; Prioli R<sup>2</sup>; Zamora R.R.M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> University Federal of Amapá, Macapá, AP, Brazil

<sup>2</sup> Pontifícia Universidade Católica, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

robert@unifap.br

Surface roughness plays a crucial role in tribology. In order to make an accurate evaluation of one of the most common measure, roughness RMS,  $R_q$ , it is essential to have a high surface roughness uniformity. In this paper, we introduce the Shannon entropy as a measure of surface roughness uniformity. For numerically-generated randomly rough surface, we compare the performance of evaluating this measure from the height distribution,  $H_{hei.dist}$  and from the height matrix,  $H_{hei.matr}$ . The results show that  $H_{hei.matr}$  is more sensitive to surface roughness uniformity than  $H_{hei.dist}$ . Moreover,  $H_{hei.dist}$  and  $R_q$  are negatively correlated, while  $H_{hei.matr}$  and  $R_q$  are uncorrelated. Additionally,  $H_{hei.dist}$  depends on an additional parameter, the size of bin, in the discretization of height distribution, whereas  $H_{hei.matr}$  is parameter free. These results imply that  $H_{hei.matr}$  is better suited for the investigation of surface roughness uniformity than  $H_{hei.dist}$ , complementing the information of  $R_q$ .

## 1. Introduction

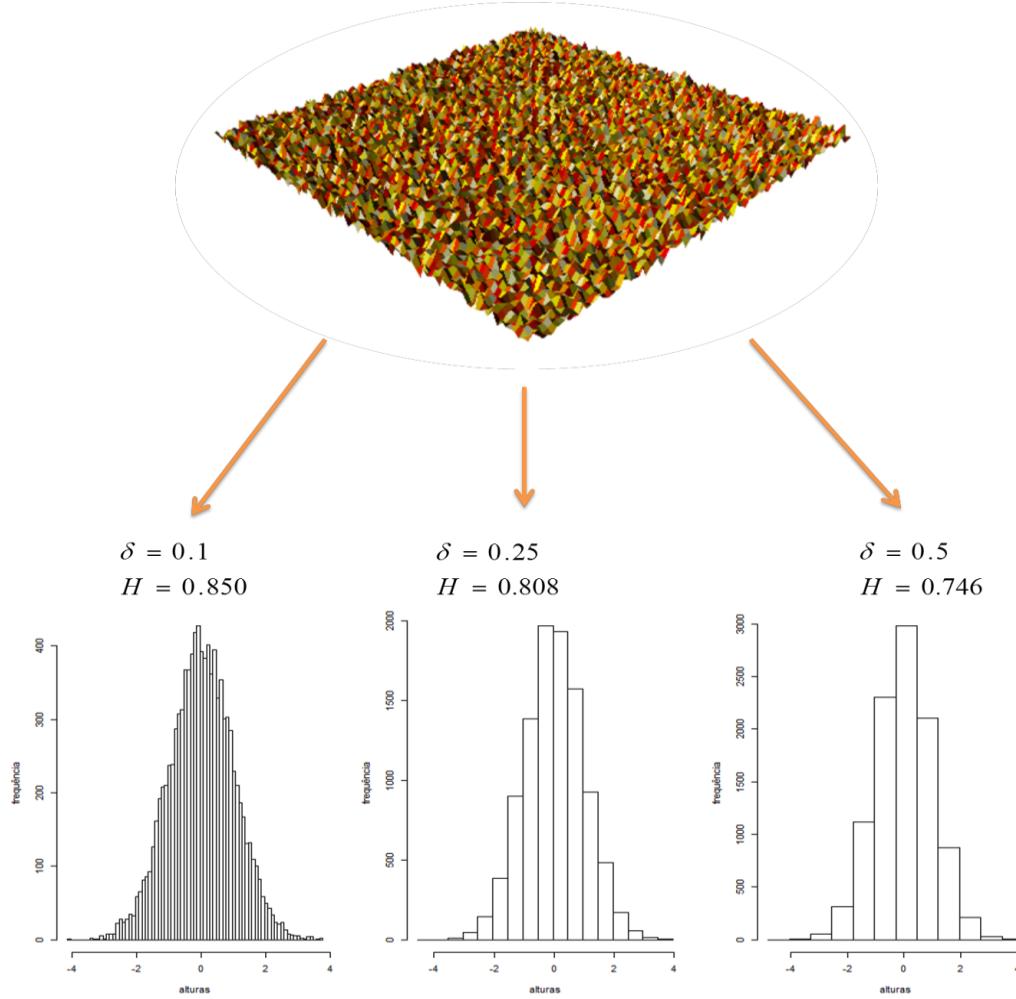
Studying of surface roughness is very important in understanding several physics phenomena such as friction [1], adhesion [2], and so on. Moreover, surface roughness has a considerable practical importance for nanocomposites and nanostructured materials [3], development of small mechanical devices [4], self-cleaning surfaces [5], among others.

From the topography one can extract the RMS (Root Mean Square) roughness parameter,  $R_q$ , which can be easily calculated and it is widely used to quantify surface roughness even though it suffers from some disadvantages [6, 7]. The measure  $R_q$  can be biased if the surface has a considerably number of high peaks or deep valleys, relatively to the mean height. That is, the  $R_q$  can be affected if the roughness is not uniformly distributed on the entire surface. In this perspective, it is important to evaluate the surface roughness uniformity. To this purpose, we propose applying the Shannon entropy [8] as a surface roughness uniformity measure.

Recently, Nosonovsky [9] introduced the Shannon entropy as a measure of randomness for rough profiles, where

he assumes that each data point (pixel) corresponds to a bin. In our approach we consider the Shannon entropy as a measure of uniformity of the entire surface and we compare the computation of this entropy employing the height distribution and the height matrix. Henceforth,  $H_{hei.matr}$  denotes the estimation of the Shannon entropy from the topographic height matrix and  $H_{hei.dist}$  denotes the estimation of the Shannon entropy from the topographic height distribution.

The relationship between data uniformity and entropy has been successfully applied in several fields of science such as economy [10], electromyography and kinesiology [11], operational research [12], clinical radiology [13], manufacturing [14]. For instance, Kam et al. (2012) identifies several uniformity metrics from several areas and compares their performance in detecting nonuniform particle distributions. They show that Shannon entropy is the recommended measure for assessing spatial uniformity of particle distributions on surface [15]. As this distribution is discrete, the use of Shannon entropy is straightforward.



**Figure 1 Application of  $H_{hei.dist}$  for surface characterization** suffer from dependence of such measure on  $\delta$ . In this case, it is shown (from top to bottom) a random rough surface and its corresponding height distribution with three choices of  $\delta$  that lead to three  $H_{hei.dist}$ .

However, applying this measure for a continuum distribution requires more effort. This is the case of height distribution function.

In order to estimate  $H_{hei.dist}$  one needs to discretize the height distribution into bins of size  $\delta$ . Nonetheless, one can take distinct  $H_{hei.dist}$  as a result of different choices of  $\delta$  for a given surface.

In order to overcome this weakness of  $H_{hei.dist}$ , we replace the height distribution by the height matrix in evaluation of topographic entropy,  $H_{hei.matr}$ .

The remainder of the paper is organized as follows. We start Section 2 by describing how computing  $H_{hei.dist}$  (Subsection 2.1) and outlining the procedure for evaluating  $H_{hei.matr}$  (Subsection 2.2). After that, we delineate the numerical simulation used to evaluate which is the procedure,  $H_{hei.dist}$  or  $H_{hei.matr}$ , better suited for quantifying surface roughness uniformity (Subsection 2.3). In Section 3, we present results and

discussions for the numerical simulation described above. In Section 4, we summarize the paper and we consider possible further works.

## 2. Topographic Uniformity

From the topographic perspective, a surface is completely characterized by a single matrix, the height matrix, whose entries  $h_{ij}$  are the height of corresponding data points (or pixels) located at  $(x_i, y_j)$  or just  $(i, j)$ . The height matrix can be extracted, for instance, by imaging techniques [6].

### 2.1 Topographic Entropy from height distribution

Once the height matrix is extracted, one can apply the histogram method to obtain the discretized height distribution with  $B$  bins of size  $\delta$  each one.

Thereafter, we compute the probability  $p_k$  of appearance of a height in the bin  $k$

$$p_k = \frac{n_k}{\sum_{k=1}^B n_k} \quad (1)$$

where  $n_k$  stands for the number of heights in the bin  $k$ .

The topographic entropy is taken as the Shannon entropy,

$$H^{(1)} = -\sum_{k=1}^B p_k \log p_k \quad (2)$$

Its normalized and centralized value is

$$H_{hei.dist} = -\sum_{k=1}^B \frac{p_k \log p_k}{\log B} \quad (3)$$

Since  $0 \leq H^{(1)} \leq \log B$ . The value  $H^{(1)} = \log B$  occurs for uniform height distribution where  $p_k = 1/B$ , on the other side  $H^{(1)} = 0$  occurs when  $B=1$  and  $p=1$ .

The discretization process described above depends on the size  $\delta$ . Different choices of  $\delta$  can lead to different quantities of  $B$  and  $n_k$ . As a result of this, one can take different  $H_{hei.dist}$  for the same surface as illustrated in Fig.1. One would expect that this limitation of  $H_{hei.dist}$  could be solved by choosing the minimum  $\delta$  allowed by binning process,  $\tilde{\delta}_{\min}$ . Nonetheless, even so  $H_{hei.dist}$  could be  $\delta$ -case dependent because different surfaces can have different  $\tilde{\delta}_{\min}$ .

## 2.2 Topographic Entropy from height matrix

As the topographic entropy is related to the degree of surface roughness uniformity we assume that to evaluate how uniform a surface is we need to know whether the height  $h_{ij}$  contribute or not to the uniformity. To help in this task we estimate the first and third quantiles  $Q_1$  and  $Q_3$ . Next, we compute the quantities  $\tilde{Q}_1 = Q_1 - 1.5|Q_3 - Q_1|$  and  $\tilde{Q}_3 = Q_3 + 1.5|Q_3 - Q_1|$  that represents whiskers in the statistical boxplot.

We assume that the contribution to the uniformity comes from the set of pixels whose height  $h_{ij}$  belongs to the region  $[\tilde{Q}_1, \tilde{Q}_3]$ , on the other hand the pixels whose  $h_{ij} \notin [\tilde{Q}_1, \tilde{Q}_3]$  have no contribution. We denote by **the pixels that has no contribution to the uniformity**. The smaller the

value of  $\eta$ , the more uniform is the surface. When  $\eta=0$ , one has a uniform surface.

$$\omega_{ij} = \begin{cases} 1, & h_{ij} \in [\tilde{Q}_1, \tilde{Q}_3] \\ 0, & \text{otherwise} \end{cases} \quad (4)$$

The above indexing can be interpreted as a mapping of a matrix of continuum values,  $\{h_{ij}\}_{i,j=1,\dots,N}$ , into a matrix of discrete values  $\{\omega_{ij}\}_{i,j=1,\dots,N}$ .

The contribution of each pixel to surface roughness uniformity is computed by

$$p_{ij} = \frac{\omega_{ij}}{\sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \omega_{ij}} \quad (5)$$

The topographic entropy is taken as the Shannon entropy,

$$H^{(2)} = -\sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N p_{ij} \log p_{ij} \quad (6)$$

where its normalized and centralized value is

$$H_{hei.matr}^{(2)} = \frac{H^{(2)} - H_{\min}^{(2)}}{H_{\max}^{(2)} - H_{\min}^{(2)}} \quad (7)$$

since  $H_{\min}^{(2)} \leq H^{(2)} \leq H_{\max}^{(2)}$ . Now we need to compute  $H_{\max}^{(2)}$  and  $H_{\min}^{(2)}$ . From the definition of  $\eta$  we have,

$$\sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \omega_{ij} = N^2 - \eta \quad (8)$$

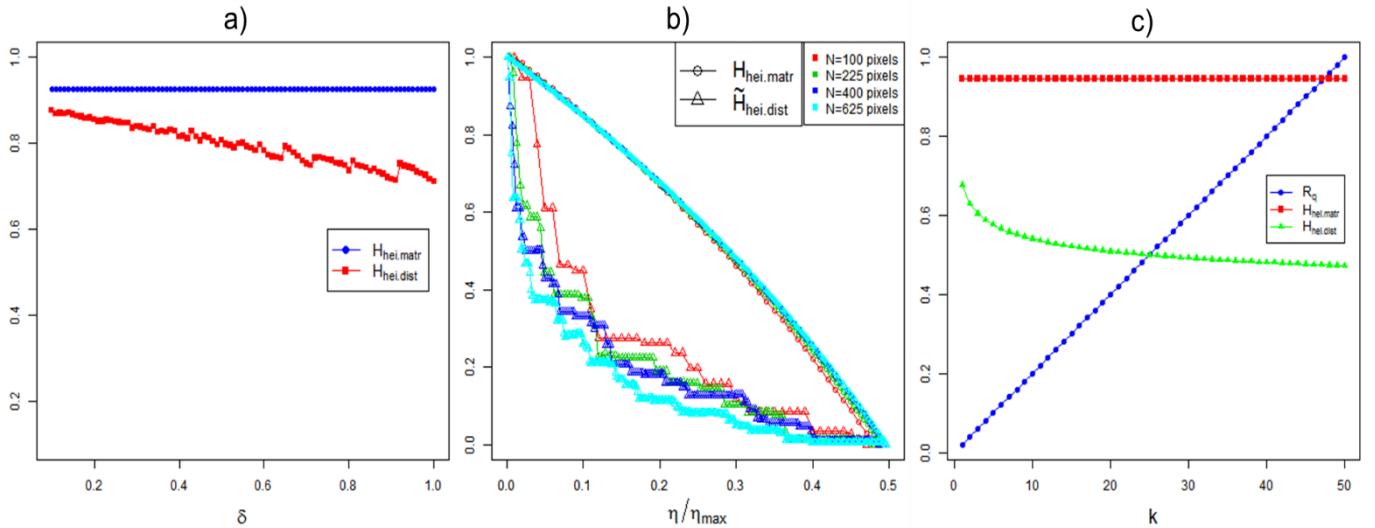
therefore

$$p_{ij} = \frac{\omega_{ij}}{N^2 - \eta} \quad (9)$$

The case  $H_{\max}^{(2)}$  corresponds to a uniform surface,  $\eta_{\min} = 0$ , hence  $p_{ij} = 1/N^2, \forall(i, j)$ , consequently  $H_{\max}^{(2)} = \log N^2$  (10)

The case  $H_{\min}^{(2)}$  corresponds to a surface with maximum  $\eta$ , that is  $\eta_{\max} = (1/2)N^2 - 2$  due to the region  $[\tilde{Q}_1, \tilde{Q}_3]$  in boxplot has, at least,  $(1/2)N^2 + 2$  pixels. As  $N \gg 1$ , we have  $p_{ij} = 1/(N^2/2)$  if  $h_{ij} \in [\tilde{Q}_1, \tilde{Q}_3]$  or  $p_{ij} = 0$  otherwise. Therefore

$$H_{\min}^{(2)} = \log(N^2/2) \quad (11)$$



**Figure 2:** Results for the 3 simulations outlined in subsection 2.3.(a) The entropies from Eq. 3 and 7 as a function of size of bins  $\delta$ . When  $\delta$  increase  $H_{hei.matr}$  remained steady, while  $H_{hei.dist}$  decrease as an overall trend. (b) The dependence of  $H_{hei.dist}$  and  $H_{hei.matr}$  on the normalized nonuniformity  $\eta/\eta_{max}$ . Since  $H_{hei.dist}$  does not depend directly on  $\eta$  we normalize and centralize  $H_{hei.dist}$  for an effective comparison with  $H_{hei.matr}$ , i.e, we use  $\tilde{H}_{hei.dist} = \frac{H_{hei.dist} - \min(H_{hei.dist})}{H_{hei.dist} - \max(H_{hei.dist})}$ . Notice that  $\tilde{H}_{hei.matr} = H_{hei.matr}$ . Even though in different ways, both entropies decrease when  $\eta/\eta_{max}$  rises. (c) Effect of increasing  $h_{ij}$  by a multiplicative factor  $k$  on the measures  $R_q$ ,  $H_{hei.dist}$  and  $H_{hei.matr}$ . One can see that  $R_q$  and  $H_{hei.dist}$  are negatively correlated, whereas and  $H_{hei.matr}$  and  $R_q$  are uncorrelated.

### 2.3 Numerical Simulation

Numerically, a random rough surface (RRS) can be generated by considering an initial mesh with  $N \times N$  pixels which will receive heights driven by the following rules:

- i)  $(x_i)_{i=1,\dots,N} \sim Unif(1, N)$
- ii)  $(y_i)_{i=1,\dots,N} \sim Unif(1, N)$
- iii)  $h(x_i, y_j)_{i,j=1,\dots,N} \sim Gau(\bar{h}, R_q)$

This means that there is no preferential direction on the plane x-y and surface heights are Gaussian distributed.

Once the RRS is generated, we compute both  $H_{hei.dist}$  and  $H_{hei.matr}$  for different  $\delta$ , changing from  $\delta_{min}$  to  $\delta_{max}$ .

Afterwards, we evaluate the performance of  $H_{hei.dist}$  and  $H_{hei.matr}$  in detecting topographic uniformity through the ensuing steps:

- i) A RRS with  $\eta_{min}=0$  is generated (uniform surface);

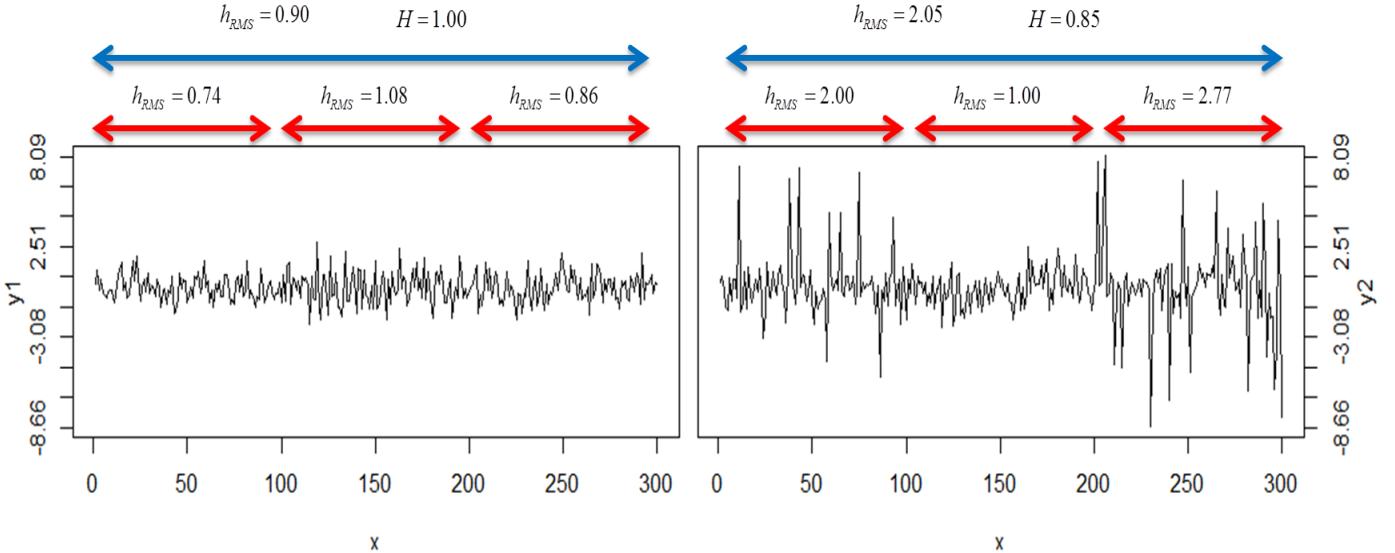
ii) For each iteration, a generated  $h'_{ij} \notin [\tilde{Q}_1, \tilde{Q}_3]$  replaces one  $h_{ij} \in [\tilde{Q}_1, \tilde{Q}_3]$ . In turn, it is computed  $H_{hei.dist}$  and  $H_{hei.matr}$ :

iii) The step (ii) carries on until  $\eta_{max}=(1/2)N^2-2$ .

As the third numerical experiment we analyze the behavior of  $R_q$ ,  $H_{hei.dist}$  and  $H_{hei.matr}$  when the height matrix increase by a multiplicative factor  $k$ , i.e.  $h_{ij} \rightarrow kh_{ij}, \forall (i, j)$ . The process  $h_{ij} \rightarrow kh_{ij}$  will enables us to estimate the correlation between  $R_q$ ,  $H_{hei.dist}$  and  $H_{hei.matr}$ .

### 3 Results and discussion

In this section we present results and discussion on the numerical simulation described in Subsection 2.3. Furthermore, we consider two surface profiles to discuss in more details the relationship between entropy and surface



**Figure 4:** Two surface profile numerically generated. The blue line indicate that  $H$  e  $R_q$  were computed for the entire profile, while the red lines indicate the subregion considered for computing  $R_q$ . For these set of subregions the standart error,  $\sigma/\sqrt{n}$ , of  $R_q$  are  $\varepsilon_{left}=0.10$  and  $\varepsilon_{right}=0.51$ .

roughness uniformity.

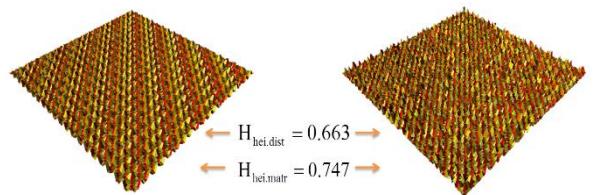
The common parameters throughout all simulations are:  $\bar{h} = 0$ ,  $R_q = 1$ . In Fig. 2(a) the surface has  $20 \times 20$  pixels and  $0.1 \leq \delta \leq 1.0$ , in Fig. 2(b) the surfaces have number of pixels from  $10 \times 10$  to  $25 \times 25$  and  $\delta = 0.0001$ , in Fig. 2(c) the surface has  $20 \times 20$  pixels and  $\delta = 0.0001$ . All the codes were implemented in programming language  $R$  [16].

Figure 2(a) shows how the measures  $H_{hei.dist}$  and  $H_{hei.matr}$  are affected when different choices of  $\delta$  are taken. As expected, one can see that  $H_{hei.matr}$  remained stable. On the other side,  $H_{hei.dist}$  had some increases for certain  $\delta$ , while this entropy declined as an overall trend.

Figure 2(b) shows how  $\tilde{H}_{hei.dist}$  and  $H_{hei.matr}$  change when the normalized quantity of nonuniformity on surface,  $\eta/\eta_{max}$ , rise. Both  $\tilde{H}_{hei.dist}$  and  $H_{hei.matr}$  decline when  $\eta/\eta_{max}$  increase, what is in accordance with our intuition for entropic measure: the smaller the uniformity, the smaller the entropy. However, such falls occur in distinct ways:  $H_{hei.matr}$  drop monotonically, whereas  $\tilde{H}_{hei.dist}$  decline sharply at the beginning, subsequently have some regions of constancy and

slight decrease. Such differences between drops of  $\tilde{H}_{hei.dist}$  and  $H_{hei.matr}$  might be explained by the fact that one height matrix determines univocally one surface, whereas the same height distribution can be associated to distinct surfaces

Figure 2(c) shows that  $H_{hei.matr}$  stays constant with increase, whereas  $H_{hei.dist}$  decrease and  $R_q$  increase. The measures  $H_{hei.dist}$  are  $R_q$  negatively correlated,  $cor(R_q, H_{hei.dist}) = -0.867$ , while  $R_q$  and  $H_{hei.matr}$  are uncorrelated. Therefore  $H_{hei.matr}$  can be taken as a complementary measure to  $R_q$



**Figure 3:** Both  $H_{hei.matr}$  and  $H_{hei.dist}$  do not take the height spatial distribution into account. In this case, two RRS were generated with the same height matrix and height distribution, but with different spatial configuration have the same  $H_{hei.matr}$  and  $H_{hei.dist}$ .

It deserves to be noted that the entropy computed from Eq. 1 and 2 ignores the spatial correlation between the

measurement points [9]. Such drawback is not solved by Eq. 5 and 6, as illustrated in Fig. 3.

As one can see in Fig 2 and Fig. 3 the values of  $H_{hei.matr}$  and  $H_{hei.dist}$  are not the same, in general. These differences can be explained by the fact that  $H_{hei.dist}$  measures the uniformity regarding the uniform distribution  $p(n_k)_{k=1,\dots,B} = 1/B$ , while  $H_{hei.matr}$  measures the uniformity regarding the bidimensional uniform distribution  $p(x_i, y_j)_{i,j=1,\dots,N} = 1/N^2$ .

Even though both  $H_{hei.matr}$  and  $H_{hei.dist}$  do not include spatial information about the pixels  $(i,j)$ , one can conclude from the findings in Fig. 2 that  $H_{hei.matr}$  provides a more accurate way for ascertaining the topographic uniformity than  $H_{hei.dist}$  since  $H_{hei.matr}$  does not depend on an additional parameter, it has an univocal relationship with the uniformity degree and it is uncorrelated with  $R_q$ .

Now, as pointed out since the Section 1, the entropic approach is related to the degree of surface roughness uniformity. Indeed, we can interpret the topographic entropy as a measure of how uniform is the set of heights distributed on the entire surface. As an example, let us consider two surface profile as illustrated in Fig. 4. For simplicity, we denote  $H_{hei.matr}$  (*profile k*),  $k = 1,2$  just by  $H_k$ ,  $k = 1,2$ . One can see that, in the left profile, the difference among the measured  $R_q$  in distinct subregion is not considerable ( $\epsilon_{left} = 0.10$ ) what lead a high entropy (in this case the maximum value). Nonetheless, the right profile has a substantial difference among the three subregions ( $\epsilon_{right} = 0.51$ ) what decrease the entropy.

#### 4 Conclusion

We introduce the Shannon entropy as a measure of surface roughness uniformity. For numerically-generated randomly rough surface we compare the performance of estimation of the Shannon entropy from the height distribution,  $H_{hei.dist}$  and from the height matrix,  $H_{hei.matr}$ , regarding three aspects: dependence on an additional parameter, sensibility to surface roughness uniformity and correlation with  $R_q$ . The results show

that  $H_{hei.matr}$  is better suited for quantifying surface roughness uniformity than  $H_{hei.dist}$ .

The measure  $H_{hei.matr}$  can complement the information of  $R_q$  and consequently can contribute for characterization of rough surfaces.

It is important to stress that  $H_{hei.matr}$  is not able to detect spatial configuration of pixels on surface. In this perspective, extending this methodology to a more general one would be interesting. Additionally, further research might investigate the direct interplay between topography uniformity and surface phenomena such as friction and adhesion.

#### References

- [1] Yu, J. et al. Friction and adhesion of gecko-inspired PDMS flaps on rough surfaces *Langmuir*, 28, 2012.
- [2] Lorenz, B. et al. Adhesion: role of bulk viscoelasticity and surface roughness *J. Phys.: Condens. Matter* 25, 2013.
- [3] Assender, H. et al. How Surface Topography Relates to Materials' Properties, *Science*, 297, 2002.
- [4] Persson, B.N.J et al. On the nature of surface roughness with application to contact mechanics, sealing, rubber friction and adhesion, *J. Phys.: Condens. Matter*, 17, 2005.
- [5] Blossey, R. Self-cleaning surfaces-virtual realities *Nature Materials* 297, 2, 2003.
- [6] Butt, H. J. et al. Force measurements with the atomic force microscope: Technique, interpretation and applications, *Surface Science Reports*, 59, 2005.
- [7] Bitler, A. et al. Fractal properties of macrophages membrane studied by AFM, *Micron*, 43, 2012.
- [8] Shannon, C. E. A Mathematical Theory of Communication, *Bell Syst. Tech. J.*, 27, 1948.
- [9] Nosonovsky, M. Entropy in Tribology: in the Search for Applications, *Entropy*, 12, 2010.
- [10] Caticha A., Golan A. . An entropic framework for modeling economies, *Physica A*, 408, 2014.
- [11] Farina D., et al. The change in spatial distribution of upper trapezius muscle activity is correlated to contraction duration, *Journal of Electromyography and Kinesiology*, 18, 2008.
- [12] Kojadinovic I., J.-L. Marichal. Entropy of bi-capacities. *European Journal of Operational Research*, 178, 2007.

[13]Ganeshana B. et al. Hepatic entropy and uniformity: additional parameters that can potentially increase the effectiveness of contrast enhancement during abdominal CT. Clinical Radiology, 62, 2007.

[14]Zhou, Q. et al. A comparative study on clustering indices for distribution uniformity of nanoparticles in metal matrix nanocomposites, CIRP Journal of Manufacturing Science and Technology, 5, 2012.

[15]Kam, K.M. et al. On assessing spatial uniformity of particle distributions in quality control of manufacturing processes, J Manuf. Syst., 32, 2012.

[16]R Core Team R: A language and environment for statistical computing, Vienna, ISBN 3-900051-07-0, 2012.

# **4 ESTUDO DA SUPERHIDROFOBICIDADE DE FOLHAS DA ESPÉCIE VEGETAL *Thalia Geniculata* (LINEU, 1753)**

(Artigo submetido à revista *Journal of Colloid and Interface Science*)

# Estudo da Superhidrofobicidade de Folhas da Espécie Vegetal *Thalia geniculata* (LINEU, 1753)

**Sandro S. Figueiredo<sup>a</sup>; Rodrigo Prioli<sup>c</sup>; Robert R. M. Zamora<sup>b</sup>**

<sup>a</sup> Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Amapá –UNIFAP.

<sup>b</sup> Departamento de Física, Universidade Federal do Amapá – UNIFAP.

<sup>c</sup> Departamento de Física, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro – PUC/RIO.

Este trabalho teve como objetivo estudar a superhidrofobicidade das folhas de *Thalia geniculata* (Marantaceae). Para tanto, fez uma caracterização superficial com um microscópio de força atômica afim de mapear a morfologia da folha nas faces abaxial e adaxial. Foi determinado o ângulo de contato e constatou-se que a folha é superhidrofóbica, possuindo uma direção preferencial para o escoamento das gotículas de água. As microestruturas superficiais foram analisadas por microscopia eletrônica de varredura e verificou-se que as morfologias das duas faces são diferentes. A face abaxial é constituída por numerosas papilas epidérmicas distribuídas aleatoriamente e em grande número por toda a superfície. Elas apresentam um segundo nível de estruturas superficiais chamadas de nanocabelos. A face adaxial é desprovida de papilas, mas possui grandes dobras cuticulares e grandes placas de cera epicuticular. A remoção da cera com acetona não causou mudanças críticas no ângulo de contato e, por consequência, na energia superficial, a qual foi determinada teoricamente a partir das medições feitas do ângulo de contato.

**Palavras-chave:** Superhidrofobicidade. Estruturas superficiais. Ângulo de contato. Energia superficial. Cera epicuticular.

## 1 Introdução

O estudo das superfícies de folhas ganhou grande relevância principalmente após o trabalho de Barthlott, na década de 1970, em que o autor alemão descreveu o que hoje é conhecido por “efeito lótus” (BARTHLOTT & NEINHUIS, 1997; GAO & YAN, 2009). Mais recentemente, o interesse se voltou para as propriedades de superhidrofobicidade e de autolimpeza das plantas (KOCH & BARTHLOTT, 2009).

Muitas plantas possuem em suas folhas a hidrofobicidade como base do mecanismo de autolimpeza (MARMUR, 2004). Para Bhushan et al (2009), toda folha que possui a propriedade autolimpante é constituída por estruturas hierárquicas intrínsecas, o que reduz drasticamente tanto a área de contato da superfície com o líquido (BURTON & BHUSHAN, 2006; NEINHUIS & BARTHLOTT, 1997) quanto a adesão de

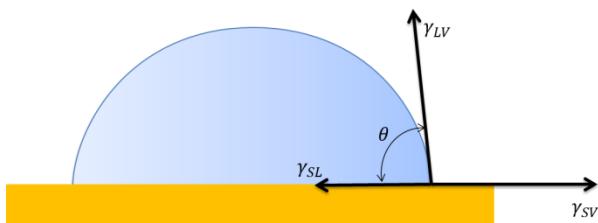
partículas e gotículas à superfície das folhas (BHUSHAN et al, 2009). Tadmor (2004) afirma que a forma de uma gotícula repousando sobre uma superfície sólida depende de fatores como a constituição da própria gotícula, o ar em torno dela e a superfície em que ela é colocada.

Para Koch e Barthlott (2009), o umedecimento de folhas das plantas é influenciado pelos agrupamentos das células epidérmicas, por dobras na cutícula e ainda por ceras epicuticulares que se distribuem sobre a superfície foliar. Para Burton e Bhushan (2006), as folhas são hidrofóbicas devido a presença de microprotuberâncias e um filme fino de cera na superfície. Liu e Li (2012) afirmam que as estruturas hierárquicas são a chave para a formação de superfícies superhidrofóbicas.

Uma das principais propriedades buscadas no estudo de superfície é a capacidade de repelir água, devido a sua vasta aplicabilidade no ramo tecnológico, tais como na indústria química, automobilística, construção civil

(BURKARTER, 2006) e também em sistemas em que se deseja controle sobre a adesão e atrito (BHUSHAN; JUNG, 2007). De acordo com Nosonovsky e Bhushan (2007-A), o enorme avanço da Nanotecnologia desde 1980 tem estimulado o desenvolvimento de novos materiais e novos desenhos de superfícies.

O parâmetro mais utilizado para analisar a hidrofobicidade de uma superfície é o ângulo de contato estático (*CA*) que uma gotícula apresenta quando está sobre a superfície sólida (KOCH & BARTHLOTT, 2009; SUBEDI, 2011), como ilustra a **Figura 1**. Nela, o ângulo de contato é tomado como equilíbrio entre as tensões interfaciais sólido-líquido ( $\gamma_{SL}$ ), sólido-ar ( $\gamma_{SV}$ ) e líquido-ar ( $\gamma_{LV}$ ) (KWOK; NEUMANN, 1999).



**Figura 1:** Representação do ângulo de contato de uma gotícula com uma superfície sólida.

É importante enfatizar que a superfície considerada acima é plana e lisa, ou seja, sem rugosidades. De acordo com a análise das tensões superficiais mostradas, pode-se concluir que para se atingir o equilíbrio é necessário que:

$$\gamma_{SL} + \gamma_{LV} \cdot \cos \theta = \gamma_{SV}.$$

O que leva à seguinte equação:

$$\cos \theta = \frac{\gamma_{SV} - \gamma_{SL}}{\gamma_{LV}},$$

a qual é conhecida como Equação de Young, pois foi proposta pela primeira vez pelo físico Thomas Young em 1805 (LAN et al, 2002).

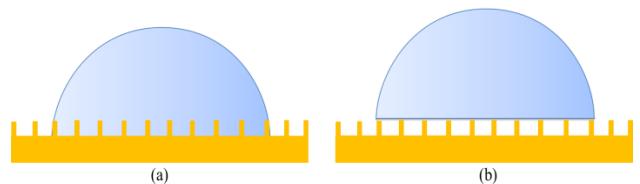
De acordo com Yuan e Lee (2013), quando o ângulo de contato está entre  $0^\circ$  e  $90^\circ$ , a

superfície é dita **hidrofílica**. Por sua vez, quando o ângulo de contato está entre  $90^\circ$  e  $150^\circ$ , a superfície é denominada hidrofóbica. Para ângulos superiores a  $150^\circ$ , fala-se em superhidrofobicidade (Zheng et al, 2007).

A equação de Young descreve o ângulo de contato para superfície sólida, lisa, plana, homogênea, inerte, insolúvel, não porosa e não deformável, condições que normalmente não são cumpridas por superfícies reais (CHAU et al, 2009; GAO & YAN, 2009).

Quando um líquido molha uma superfície rugosa (YAN et al, 2011) e hidrofóbica (SHIRTCLIFFE et al, 2010), dois tipos de estados de molhabilidade estáveis podem acontecer: o estado **homogêneo** e o estado **heterogêneo** (GAO & YAN, 2009).

Segundo Yan et al (2011), o estado homogêneo é aquele em que o líquido preenche completamente o espaço entre as estruturas rugosas da superfície. Por sua vez, um estado heterogêneo é aquele em que o líquido se posiciona acima das estruturas rugosas, tocando apenas o topo das rugosidades, não molhando, por tanto, completamente a superfície, como pode ser observado na **Figura 2**.



**Figura 2:** Modelos simplificados dos estados de molhabilidade de superfícies rugosas, o estado de Wenzel (a), em que o líquido penetra nos espaços entre as asperezas; e de Cassie-Baxter (b), no qual o líquido toca a superfície apenas no topo das estruturas, formando uma interface composta sólido-ar-líquido.

Segundo Yan et al (2011) no estado homogêneo, **Figura 2(a)**, a área de contato entre o líquido e a superfície sólida é maior que no estado heterogêneo, e maior também que o caso

ideal em que a superfície é considerada lisa, **Figura 1**. Do mesmo modo, percebe-se na **Figura 2(b)** que a parte do líquido que toca a superfície é pequena. Isso faz com que a energia livre de superfície em cada caso seja diferente (GAO & YAN, 2009). O caso homogêneo foi descrito por Wenzel, o qual chegou à seguinte equação para o ângulo de contato (KOCH et al, 2008):

$$\cos \theta_W = r \cdot \cos \theta,$$

em que  $r$  é o fator de rugosidade, entendido como a razão da área real da superfície rugosa com relação à área geométrica, isto é, a área da superfície caso não houvesse rugosidade;  $\theta_W$  é o ângulo de contato de Wenzel e  $\theta$  é o ângulo de Young (YAN et al, 2011).

Em seu trabalho publicado em 1944 (BORMASHENKO, 2008), Cassie e Baxter formularam uma equação para o ângulo de contato para o caso em que as gotículas não penetram nas estruturas rugosas da superfície, ou seja, molham apenas o topo das protuberâncias superficiais em uma fração de área denotada por  $f_s$  (YAN et al, 2011), formando uma interface composta sólido-líquido-ar (CHOI et al, 2009). Para Bico et al (1999) esta fração de área da superfície sólida realmente em contato com o líquido é o parâmetro principal na determinação do ângulo de contato, mesmo para superfícies com fator de rugosidade baixo.

Vale ressaltar que na representação do estado de Cassie-Baxter, **Figura 2(b)**, considera-se que os espaços entre as protuberâncias são muito menores que a curvatura do menisco devido ao peso do líquido (BORMASHENKO et al, 2012). Este estado é explicado pela equação:

$$\cos \theta_{CB} = f_s \cos \theta - (1 - f_s)$$

A equação acima é conhecida como Equação de Cassie-Baxter, na qual  $\theta_{CB}$  é o ângulo de Cassie-Baxter,  $\theta$  é o ângulo de Young e  $f_s$  é a área fracionada em que o líquido toca a superfície (SONG & ZHENG, 2014). Segundo Nosonovsky e Bhushan (2007-B), quando se tem uma interface composta, há um aumento considerável do ângulo de contato e diminuição da adesão do líquido à superfície.

Segundo Chau et al (2009), a vantagem da equação de Cassie-Baxter em relação à de Wenzel é que aquela descreve sistemas reais com uma precisão maior que esta. Contudo, a desvantagem do modelo de Cassie-Baxter é a dificuldade para se medir corretamente o parâmetro  $f_s$  em rugosidades superficiais aleatórias. Para Bhushan e Jung (2007), a distribuição das protuberâncias nas superfícies influencia se o estado de molhabilidade é homogêneo ou heterogêneo. Para Shirtcliffe et al (2010), o fato de um líquido penetrar ou não na região entre as estruturas é determinado tanto pelo custo da energia livre de superfície para molhar as partes superficiais mais baixas quanto pelo espaçamento das protuberâncias abaixo da gotícula. Para o autor, o espaçamento e a forma das protuberâncias determinam o ângulo de contato observado. Além disso, segundo ele, apenas superfícies com padrões aleatórios podem ser explicadas pelas equações de Cassie-Baxter e de Wenzel.

Para Marmur (2004), o estado heterogêneo de molhabilidade é o preferido pelos sistemas naturais por algumas razões: (a) o ângulo de contato é, na maioria dos sistemas, maior que o ângulo de Wenzel; (b) possui área de contato do sólido com o líquido é muito menor que no de Wenzel, mesmo quando o CA seja o mesmo para os dois estados. Contudo, segundo o autor, o estado termodinamicamente estável é aquele com menor ângulo de contato, ou seja, é o de Wenzel, considerando as superfícies rugosas das folhas. Sendo assim, o estado heterogêneo é dito ser *metaestável*.

Segundo Zheng et al (2008) há um gradiente de molhabilidade dos vales para o topo das papilas, uma espécie de “força motriz” que conduz a gotícula dos espaços entre as papilas ao topo das mesmas. Isso acontece porque microgotas são formadas na região hidrofóbica das folhas e de menor energia superficial, devido a umidade atmosférica, e crescem coalescendo com as microgotas vizinhas, ganhando um tamanho de modo que passa a tocar em várias papilas. As nanoestruturas que compõem a rugosidade das papilas, chamadas pelos autores de “nanocabelos” seriam os responsáveis, juntamente com a diferença de tensão superficial entre os vales e o topo, por elevar as gotículas.

Para Extrand (2011), os nanocabelos são um segundo nível de estruturas superficiais e sem elas a água facilmente penetraria nos espaços entre as protuberâncias papilosas e o ângulo de contato diminuiria drasticamente e a repelência da superfície às gotículas de água seria consideravelmente menor.

Neste trabalho, realizou-se um estudo sobre a hidrofobicidade em uma planta muito comum em áreas de ressaca do Estado do Amapá, a *Thalia geniculata*, que pertence à família das Marantaceae (ABDULLAH et al, 2008), cuja exsicata encontra-se no herbário do Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado do Amapá, IEPA, sob registro 018693.

Esta planta possui folhas em que a água escoa com extrema facilidade sobre suas duas faces, adaxial e abaxial. Busca-se, com este estudo, descobrir o porquê desta característica, descrever quais estruturas nas superfícies desta espécie fazem com que isto seja possível. Além de verificar a influência da cera epicuticular sobre esta hidrofobicidade.

Este trabalho se deu no Laboratório de Materiais, LABMAT, na Universidade Federal do Amapá, em parceria com o Laboratório Van de Graaff, da Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, bem como o Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e

Tecnologia, INMETRO, e está organizado como segue: na seção 2, encontram-se os detalhes experimentais utilizados para esta investigação. Na seção 3, estão os resultados e uma breve discussão dos mesmos. Por fim, a conclusão encontra-se na seção 4.

## 2 Materiais e Métodos

### 2.1 Instrumentação

Foi utilizado, para se mapear a topografia superficial das folhas, um microscópio de força atômica (AFM) da marca Nanusurf, modelo easyScan 2. As varreduras se deram a temperatura ambiente e em modo contato com ponta de silício PPP-CONT-20. Todas as imagens foram feitas com comprimento de varredura de  $110 \times 110 \mu\text{m}$  em folhas secas (BURTON & BHUSHAN, 2006), a partir de 24 horas após a coleta.

A face adaxial das folhas tanto frescas quanto secas representaram um problema ao AFM, principalmente devido a dois fatores: a camada de cera, a qual se adere à ponta do microscópio; e ao tamanho das suas estruturas, que são superiores à excursão vertical da cerâmica piezoelétrica do microscópio, o que reflete uma limitação do mesmo.

As imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura foram realizadas no aparelho de MEV ambiental, da marca Philips modelo XL30, com detector EDAX CDU, do laboratório Quanta, localizado no INMETRO, no Rio de Janeiro. Foram visualizadas as estruturas tanto da parte adaxial quanto abaxial, de folhas com e sem a cera epicuticular.

O ângulo de contato foi medido no Laboratório Van de Graaff na Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, PUC - RIO, em um goniômetro da marca Ramé-Hart utilizando-se água destilada deionizada sobre as amostras nas suas superfícies com cera e sem cera, na face adaxial e abaxial.

## 2.2 Amostras

Foram utilizadas como amostras as folhas de *Thalia geniculata*, a qual, segundo Kinupp (2007), é uma espécie amplamente utilizada como plantas ornamentais e carece de estudos fitoquímicos e bromatológicos. É amplamente distribuída por todo o território nacional e América Latina, mas com abundância na Região Norte (KINUPP, 2007). Suas folhas são extremamente repelentes à água e por este motivo apresentam aspecto sempre limpo, mesmo estando locais sujos. Daí o fato de a planta ser utilizada por nativos da região em rituais de passagem, de purificação e como remédio para algumas enfermidades (LAGNIKA et al, 2008). Suas folhas também são utilizadas por índios para a confecção de utensílios domésticos (FERREIRA, 2011).

As folhas foram coletadas no período matutino, lavadas em água corrente e conduzidas ao Laboratório de Materiais - LABMAT – da Universidade Federal do Amapá. Foram escolhidas folhas adultas, que não tivessem sido acometidas por fungos ou outras patologias e foram deixadas secar por 24 horas (BURTON & BHUSHAN, 2006).

Cortaram-se pedaços da parte central da folha com cerca de 1 cm de comprimento. Em seguida essas amostras foram divididas em dois grupos: o primeiro grupo foi conduzido diretamente ao AFM para realizar a varredura. O segundo grupo foi embebido em acetona P.A. ( $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{CO}$  P.M: 58,08 por aproximadamente 10 segundos, para a remoção da cera epicuticular. Deixou-se o solvente evaporar e as amostras foram conduzidas para a análise em AFM.

## 3 Resultados e discussões

### 3.1 Detalhes das estruturas superficiais

As imagens de microscopia eletrônica de varredura mostradas na **Figura 3** são da

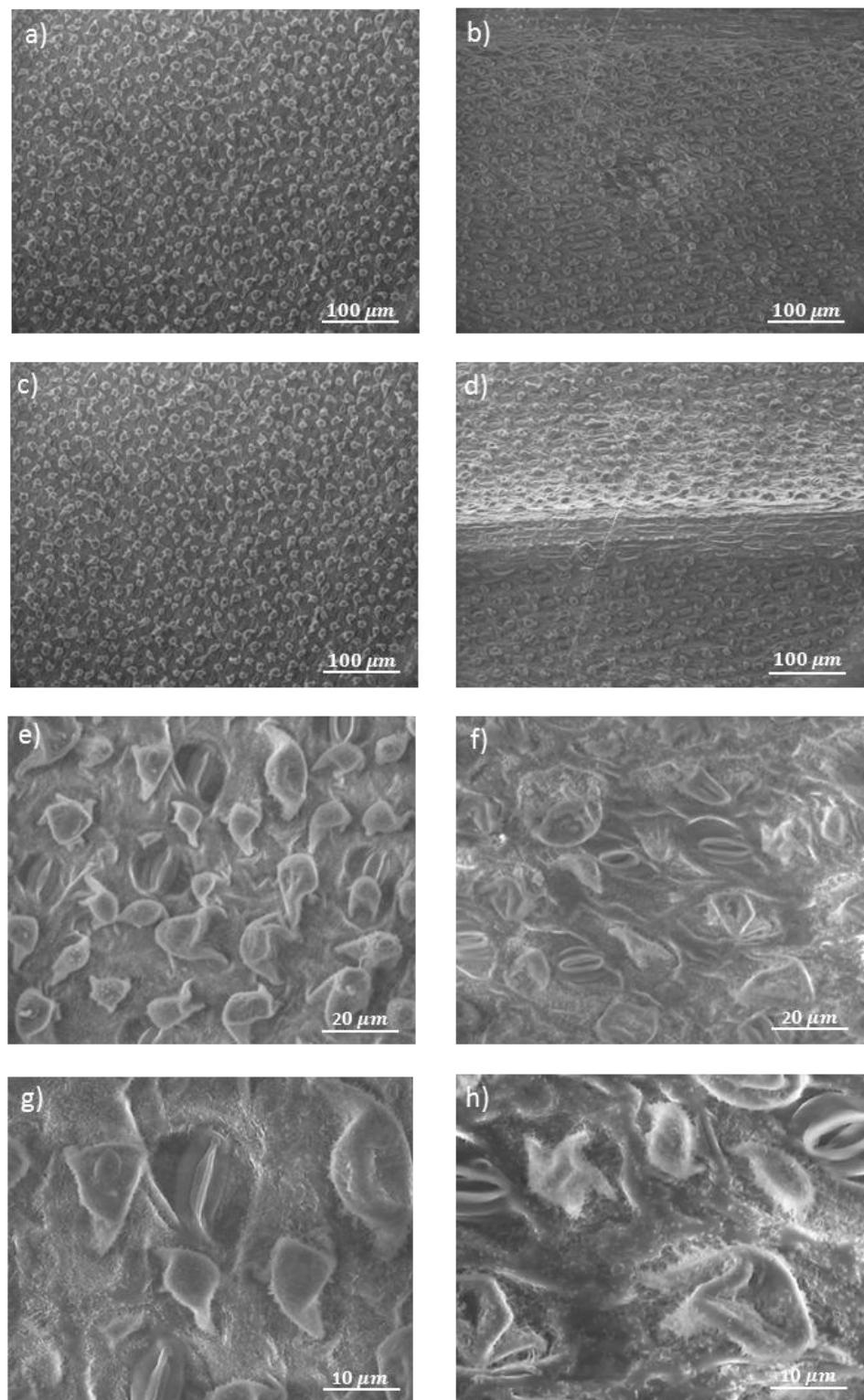
superfície abaxial e mostram que a mesma é amplamente recoberta por estruturas epidérmicas que se elevam irregularmente da superfície, com formas variadas e estão espalhadas aleatoriamente por toda a área analisada. Na figura, a coluna da esquerda se refere às amostras sem cera, enquanto que a coluna da direita se refere às amostras com cera.

As estruturas epidérmicas comentadas acima serão chamadas na literatura de papilas epidérmicas, outrora apenas papilas. Além delas, percebe-se a existência de inúmeros estômatos, os quais também se distribuem aleatoriamente por toda a superfície.

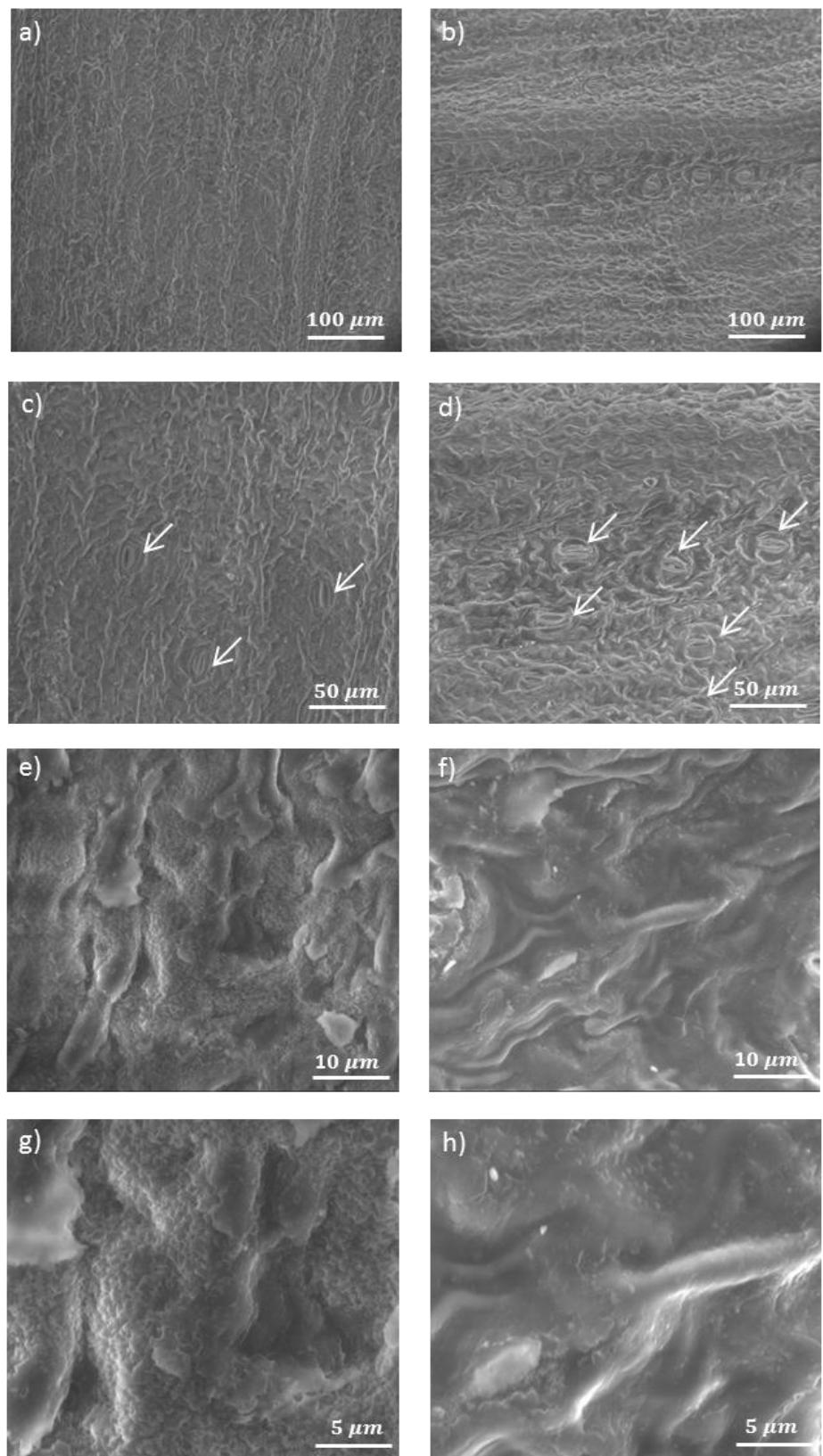
As imagens e) e f) da **Figura 3** mostram que a forma das papilas não segue um padrão, além disso, não possuem topo arredondado e convexo como a folha de lótus, *Nelumbo nucifera* (KOCH & BARTHLOTT, 2009), com algumas possuindo ainda certa deformação que parecem cavidades na sua parte superior. Suas bases são variadas, espessas e com algumas elongações e parecem um pouco contorcidas em torno do eixo vertical.

É possível verificar que, por toda a área superficial, exceto sobre os estômatos, há outra escala de estruturas, **Figura 3g** e h), a qual é chamada de **rugosidade hierárquica**, sendo estas fundamentais para o estabelecimento do estado de molhabilidade com maior ângulo de contato, pois causam um efeito maior sobre rugosidade superficial (WANG et al, 2014) e garantem à superfície a propriedade de autolimpeza (GAO & MCCARTHY, 2006).

Por outro lado, a análise da superfície adaxial, **Figura 4**, revela ausência de papilas, mas há abundância de estômatos e uma série de ondulações que, se não são maiores que as papilas, pelo menos garantem forte repelência à água. Koch e Barthlott (2009) chamam estas ondulações de dobras cuticulares e são, basicamente, estruturas na superfície que acontecem devido a intersecções da cutícula vegetal. Além disso, as imagens revelaram que



**Figura 3:** Imagens obtidas por MEV, em diferentes escalas, da superfície abaxial de *T. geniculata* em que as da coluna da esquerda são da amostra sem cera; enquanto que as da coluna da direita são da amostra com cera.



**Figura 4:** Imagens obtidas por MEV, em diferentes escalas, da superfície adaxial da *Thalia geniculata*, em que as da coluna da esquerda são da amostra sem cera, enquanto que as da coluna da direita são da amostra com cera.

os estômatos parecem seguir uma orientação preferencial em sua distribuição superficial, veja pelas setas nas **Figuras 4 c) e d)**.

Curiosamente, apesar da ausência das papilas epidérmicas e de estruturas hierárquicas, a face adaxial é tão hidrofóbica quanto a abaxial, porém, mais sensível à perda da cera epicuticular, como pode ser observado na seção seguinte.

### 3.1 Ângulo de Contato

O ângulo de contato é a medida mais simples para se obter indiretamente informações sobre a energia livre de determinada superfície (DAVID, NEUMANN, 2014). Por tanto, é uma técnica ideal para o estudo de superfícies hidrofóbicas (SUBEDI, 2011). Como comentado em seções anteriores, o ângulo de contato em superfícies hidrofóbicas deve ser maior que 90°, enquanto que para as superhidrofóbicas deve ser maior que 150° (NOSONOVSKY & BHUSHAN, 2007-B).

As medidas para a espécie estudada foram feitas de duas maneiras diferentes, devido às nervuras presentes nas folhas, tanto na superfície adaxial quanto na abaxial, ambas com e sem cera e são mostradas nas **Figuras 5 e 6**.

Os resultados revelaram que a cera exerce influência na hidrofobicidade da folha, provavelmente devido à sua constituição, uma vez que é formada por moléculas apolares, hidrocarbonetos alifáticos, enquanto que a água é formada por moléculas polares (KOCH & BARTHLOTT, 2009).

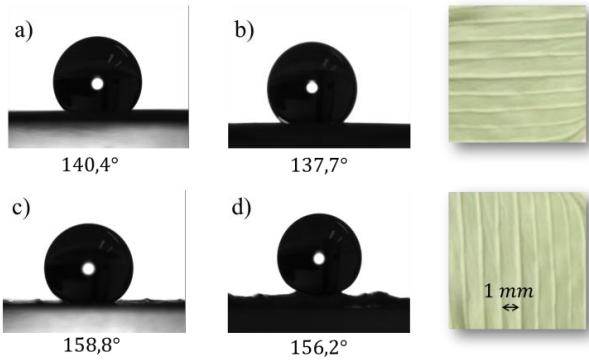
É possível afirmar também que a contribuição da remoção da cera sobre a superfície é mais perceptível na face adaxial, do que na abaxial. A explicação pode ser dada levando-se em consideração que os dois níveis de rugosidade superficial (papilas e nanocabelos), são as maiores responsáveis pela superhidrofobicidade, segundo Liu e Li (2012), e o solvente não desfaz a rugosidade hierárquica.

As folhas de *Thalia geniculata*, pelas medidas do ângulo de contato estático, mostraram que as nervuras existentes na superfície dão às gotículas uma direção preferencial para elas rolarem sobre a superfície, uma vez que os maiores valores do ângulo de contato ocorreram quando tais nervuras se encontraram paralelas ao medidor:  $158,8 \pm 0,35^\circ$  e  $156,2 \pm 0,07^\circ$  para a abaxial com e sem cera, respectivamente. Para a face adaxial, esta preferência continua evidente, com ângulos de  $158,3 \pm 0,44^\circ$  e  $146,7 \pm 0,46^\circ$ , para amostras com e sem cera, respectivamente, **Figuras 5 e 6**.

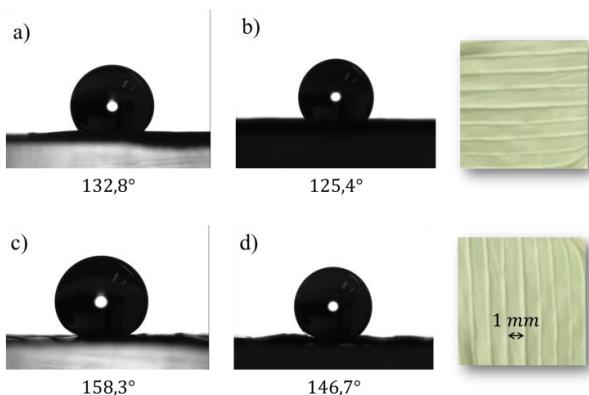
Quando as amostras foram colocadas na posição perpendicular ao medidor, obteve-se uma diminuição substancial do valor do ângulo de contato. Isso significa que as nervuras superficiais são adaptações desenvolvidas por esta espécie para dar uma direção preferencial no escoamento da água, uma vez que é muito mais fácil para uma gotícula seguir na direção de prolongamento das nervuras do que no sentido ortogonal a elas. Essa adaptação provavelmente se deve ao fato característico desta espécie vegetal de permanecer inclinada quase que completamente na vertical durante a noite ou em períodos chuvosos (COSTA et al, 2008). Em outras palavras, as nervuras direcionam a água para que esta não fique retida sobre a superfície foliar.

A superfície abaxial é superhidrofóbica, com valores do ângulo de contato que chegaram a  $158,8 \pm 0,35^\circ$ , **Figura 5c**). A explicação evolutiva para isto consiste em considerar que esta é a superfície da folha voltada para a área alagada e, por isso, está mais propícia à adesão de gotículas de água e patógenos. Esse maior valor do ângulo de contato acontece, do ponto de vista superficial, por causa das grandes papilas epidérmicas vastamente distribuídas por toda extensão foliar, como pode ser observado nas imagens de MEV. O grande número de papilas diminui o espaço vazio entre elas, dificultando que gotículas em suspensão penetrem nesses

espaços, ou seja, que haja uma transição do estado de Cassie-Baxter para o de Wenzel (GAO & YAN, 2009).



**Figura 5:** Ângulo de contato para a superfície abaxial em que a) e c) são para a amostra com cera, enquanto que b) e d) são para a amostra sem cera.



**Figura 6:** Ângulo de contato para a superfície adaxial em que a) e c) são para a amostra com cera, enquanto que b) e d) são para a amostra sem cera.

Na **Figura 5**, as imagens a) e b) são para o substrato posicionado numa direção perpendicular ao goniômetro. Esta visão frontal em que é feita a medida faz parecer que a superfície é lisa, cabendo então a análise de Young do ângulo de contato. Por sua vez, as imagens c) e d) são para o substrato na direção paralela ao aparelho. Esta visão frontal, contudo, mostra as nervuras da superfície, com a gotícula se posicionando entre duas delas e sendo sustentada por elas, cabendo a análise de Wenzel, ou ainda de Cassie-Baxter. Percebe-se

facilmente que nas amostras sem cera o ângulo de contato diminui substancialmente, em relação às com cera, para os dois modos de medição. Na **Figura 6** os resultados são mostrados para a superfície adaxial com cera, em a) e c), e sem cera, b) e d).

A superfície adaxial não possui papilas, apesar de apresentar elevado ângulo de contato, chegando a atingir 158,3°. Isto ocorre devido às dobras cuticulares e à camada de cera que cobre a superfície, em maior quantidade em relação à face abaxial. Como era de se esperar, também há uma direção preferencial para o escoamento das gotículas de água, determinada pelas nervuras da folha. Contudo, nesta face da folha elas não são tão elevadas quanto na abaxial.

Como mencionado anteriormente, para Bico et al (1999) a fração de área em contato com o líquido é o parâmetro principal na determinação do ângulo de contato, independente do fator de rugosidade que a superfície apresente. Sendo assim, mesmo sem papilas para manter as gotículas suspensas e sem nanocabelos para direcionar essa suspensão (ZHENG et al, 2008), as dobras cuticulares em combinação com as placas de cera dão à face adaxial um excelente nível de hidrofobicidade.

A análise desses valores muito próximos dos ângulos de contato, **Figuras 5 c)** e **6 c)**, mostrou que tanto as papilas quanto as nervuras superficiais são importantes para o baixo umedecimento das folhas desta planta. A importância, então, da vasta distribuição de papilas e suas rugosidades hierárquicas seria permitir que gotas coalescessem sobre a folha e se elevem da parte de menor energia superficial (vale entre as papilas) para a de maior (topo das papilas), como descrito por Zheng et al (2008) e por Extrand (2011). Os resultados estão, então, de acordo com Bhushan e Jung (2007) e Shirtcliffe (2010), os quais afirmam que os espaçamentos e a forma das protuberâncias superficiais determinam o ângulo de contato observado.

### 3.2 Caracterização superficial por AFM

Devido a limitação do alcance vertical do AFM, não foi possível fazer uma análise superficial da folha fresca. Logo, todos os dados expostos aqui são de folhas secas. Consideramos que não há perdas significativas para a pesquisa, pois as folhas secas continuam superhidrofóbicas, independentemente do tempo em que elas foram cortadas. Logo, pode-se dizer que o efeito do encolhimento causado pela desidratação da folha (BURTON & BHUSHAN, 2007) não influencia significativamente sua hidrofobicidade.

As análises foram feitas em folhas adultas, de aspecto saudável e secas em condições ambientais estáveis de temperatura e umidade relativa.

#### 3.2.1 Amostras com cera epicuticular

As imagens topográficas de AFM das superfícies foliares, apresentadas nas **Figuras 7 a) e b)**, estão de acordo com as obtidas em MEV, pois mostram a presença de grandes estruturas na epiderme foliar, as papilas, com alturas e extensão da base variáveis. Além disso, é possível verificar a presença de estômatos distribuídos pela superfície da folha, com extensão de aproximadamente  $30 \mu\text{m}$  de comprimento e  $20 \mu\text{m}$  de largura.

O AFM pode fornecer o fator de rugosidade de uma superfície, o qual Wenzel sugere na sua equação de molhabilidade. De um conjunto de cinco imagens topográficas em modo contato e tamanho de varredura  $110 \mu\text{m}$ , obteve-se como média dos valores do fator de rugosidade  $r = 1,44 \pm 0,2$ . Isso significa que a área efetiva da superfície medida pelo AFM foi, em média,  $1,82 \times 10^{-8} \text{ m}^2$ , enquanto a área projetada, área que a superfície teria considerando-a plana, foi de  $1,2 \times 10^{-8} \text{ m}^2$ . Os dados revelaram também

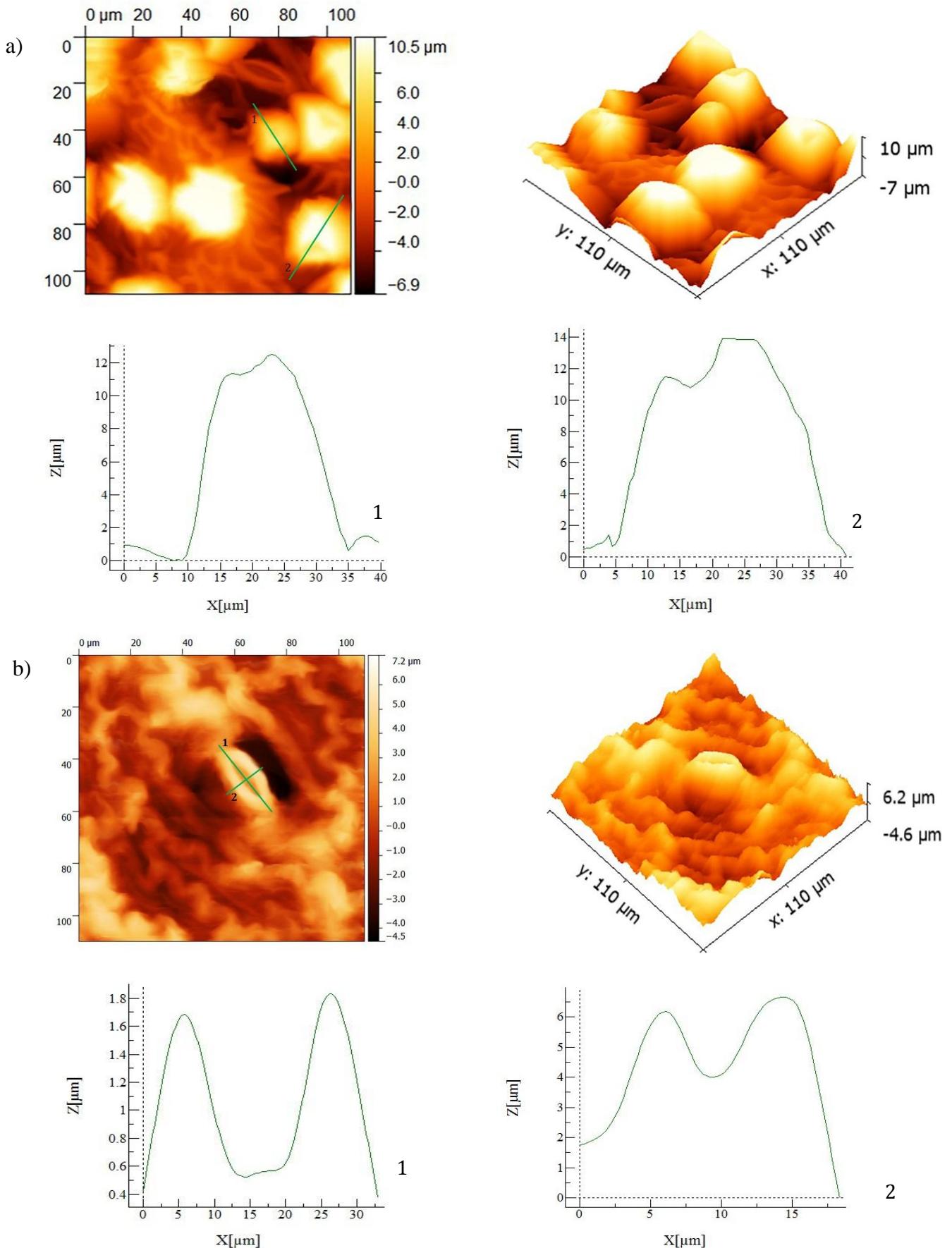
que a extensão média da base de uma papila variam de  $25 \mu\text{m}$  a cerca de  $35 \mu\text{m}$ , enquanto que sua altura pode superar  $15 \mu\text{m}$ , veja os perfis das **Figuras 7a) e 8a)**.

A **Figura 7b)** mostra a superfície adaxial e está de acordo com as imagens de MEV, contudo possui a vantagem de através dela poder se ter uma ideia da dimensão das dobras cuticulares, as quais estão em torno de  $5 \mu\text{m}$  de altura e são bastante extensas e irregulares, sendo, talvez, suficientes para formar a interface composta. Constatou-se que o fator de rugosidade para esta face da folha é menor, com valor médio  $r = 1,21 \pm 0,09$ . Isto leva a acreditar que a área superficial real desta face é pouco menor que a da face abaxial, considerando-se medidas com as mesmas escalas de comprimento.

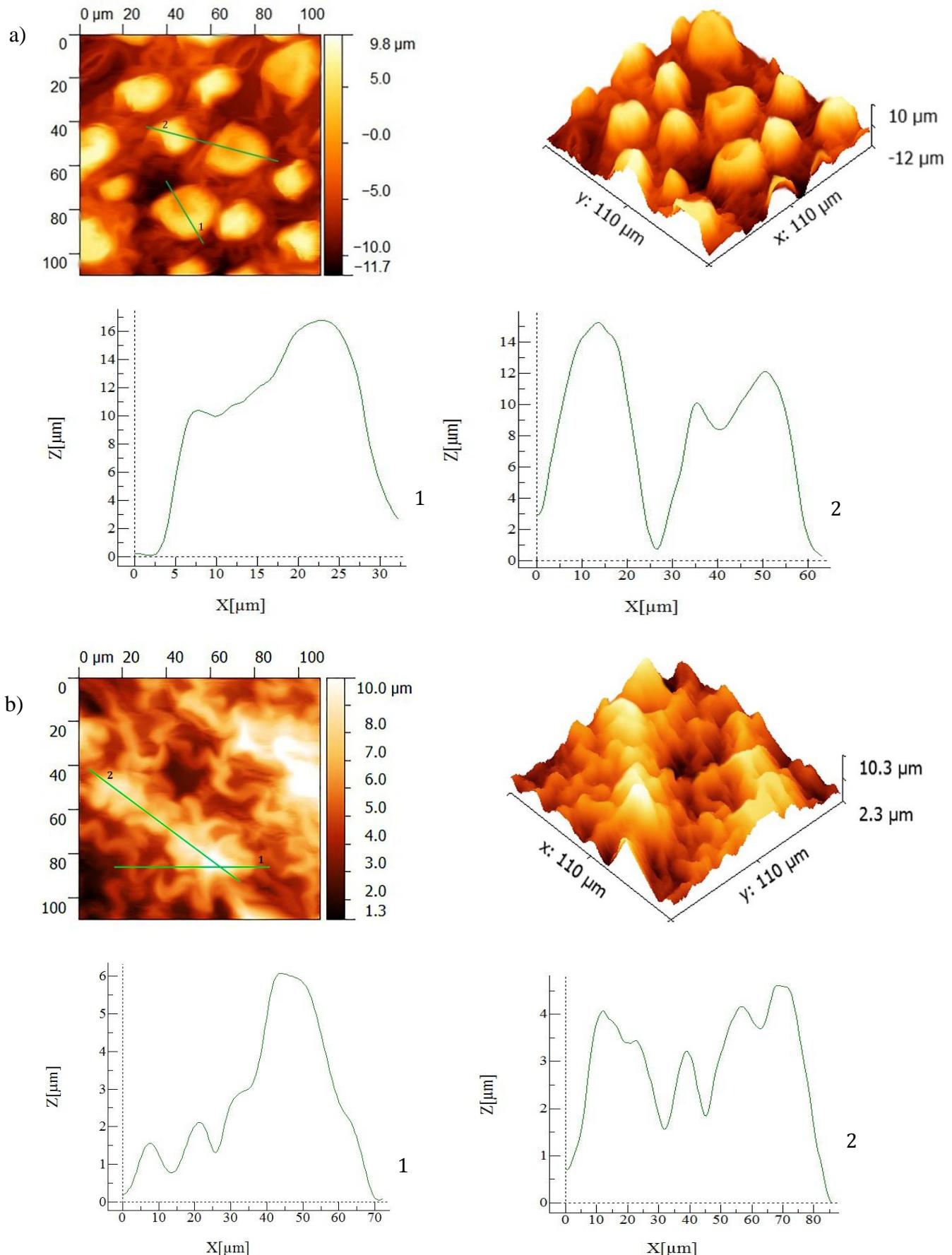
#### 3.2.2 Amostras sem cera epicuticular

A análise em AFM das amostras sem cera epicuticular, mostradas na **Figura 8**, revelaram uma pequena variação na área superficial média, talvez porque a cera se comporte como uma pequena camada macia revestindo certas estruturas, e após a sua remoção, tais estruturas tornam-se evidentes. O fator de rugosidade médio para as amostras sem cera, na face abaxial, foi de  $1,69 \pm 0,23$ , enquanto que para a face adaxial este valor foi de  $1,29 \pm 0,22$ .

Levando em consideração a equação de Wenzel, percebe-se que aumentando o fator de rugosidade, aumenta-se também o ângulo de contato. Isto pode compensar a perda da cera e fazer com que a superfície continue hidrofóbica. Contudo, isto pode aumentar o coeficiente de atrito da superfície foliar (BURTON & BHUSHAN, 2006) e torná-la mais adesiva, daí o ângulo de contato para as amostras sem cera ter sofrido uma pequena diminuição, em comparação com as amostras com cera.



**Figura 7:** Topografia, obtida de AFM, das superfícies a) abaxial e b) adaxial de folhas de *T. geniculata*, com cera, e seus respectivos perfis das estruturas superficiais. Em a) nos perfis 1 e 2 é possível avaliar as dimensões das papilas. Em b) os perfis 1 e 2 revelam as dimensões de um estômato.



**Figura 8:** Topografia, de AFM, das superfícies a) abaxial e b) adaxial de folhas de *T. geniculata*, sem cera, e seus respectivos perfis das estruturas superficiais. Em a) nos perfis 1 e 2 é possível avaliar as dimensões das papilas. Em b) os perfis 1 e 2 revelam detalhes das dobras cuticulares, as maiores chegam a atingir 6  $\mu\text{m}$  de altura e são superiores a 90  $\mu\text{m}$  de extensão.

### 3.3 Cálculo da energia livre de superfície

A energia livre de uma superfície sólida não é um parâmetro que pode ser medido diretamente (KLOUBEK, 1992). Assim sendo, para Kwok e Neumann (1999), dados os valores obtidos para o ângulo de contato, a energia livre de superfície passa a ser uma grandeza que pode ser mensurada, bastando apenas escolher o método adequado.

Numa medida de ângulo de contato, os valores de  $\gamma_{LV}$ ,  $\gamma_{SV}$  e  $\gamma_{SL}$  devem ser admitidos serem constantes durante o experimento (KWOK & NEUMANN, 1999).

Dentre os diversos métodos para se calcular a energia livre de superfícies apresentados por Zenkiewicz (2007), o mais adequado às medidas obtidas por ângulo de contato é o que utiliza a seguinte equação, a qual considera os ângulos de avanço e retrocesso de uma gotícula sobre uma superfície sólida:

$$\gamma_s = \gamma_L(\cos \theta_r - \cos \theta_a) \left[ \frac{(1 + \cos \theta_a)^2}{(1 + \cos \theta_r)^2 - (1 + \cos \theta_a)^2} \right]$$

em que  $\gamma_s$  é a energia livre de superfície do sólido,  $\gamma_L$  é a energia livre de superfície da água,  $\cos \theta_a$  é o ângulo de avanço da gotícula sobre a superfície e  $\cos \theta_r$  é o seu ângulo de retrocesso (ZENKIEWICZ, 2007).

A energia livre de superfície da água destilada é conhecida,  $\gamma_L = 72,8 \text{ erg/cm}^2$  (LIMA et al, 2006; WANG et al, 2014), os valores dos ângulo de avanço e retrocesso da gotícula de água sobre a superfície foram obtidos e teve-se como resultado para a energia livre de superfície da folha, para suas duas faces, com e sem cera, os dados expostos na **Tabela 1**.

A energia livre de superfície, juntamente com outros parâmetros físico-químicos, é um dos principais fatores no estudo de molhabilidade, pois determinam se uma folha será molhada ou não por determinado líquido (WANG et al, 2014).

Face	Com cera	Sem cera
Abaxial	0,99	2,01
Adaxial	1,46	7,72

Tabela 1: Energia livre de superfície ( $\text{erg/cm}^2$ ) de ambas as faces da folha de *T. geniculata*, em que é possível verificar o seu grande aumento após a remoção da cera epicuticular.

Os dados da tabela revelaram que a superfície foliar da *T. geniculata*, de modo geral, apresenta baixa energia superficial, especialmente devido ao seu filme de cera que a cobre. Contudo, a superfície adaxial, após a imersão em solvente teve um considerável aumento na energia livre de superfície, isso explica a diminuição do valor do seu ângulo de contato obtido, ou seja, a água se adere mais a superfície.

A análise da tabela leva a inferir também que a superfície abaxial, apesar de possuir maior fator de rugosidade devido às suas grandes papilas, possui sempre menor energia livre de superfície em relação à face adaxial, porque a área em contato com o líquido sempre é menor, devido ao seu segundo nível de rugosidade, ausente na outra face da folha.

### 4 Conclusão

As folhas de *Thalia Geniculata* são superhidrofóbicas, com ângulo de contato que chega a  $158,8 \pm 0,4^\circ$  na superfície abaxial, além de apresentarem uma adaptação à sua vida em áreas alagadas que direcionam as gotículas de água.

Apresentam um grande número de papilas por toda a extensão da face abaxial. Tais papilas possuem tamanho variado, com as maiores podendo chegar a  $17 \mu\text{m}$  de altura e largura de  $30 \mu\text{m}$ , quando a folha está seca. Estes valores devem ser maiores para folhas frescas, contudo a limitação do alcance vertical do AFM não permitiu estudá-las.

A face adaxial não apresenta papilas, mas possui outras estruturas rugosas muito extensas

e que se sobressaem aproximadamente a  $5 \mu\text{m}$  de altura.

Como ocorre nas folhas de lótus (EBERT & BHUSHAN, 2012), as folhas de *T. geniculata* também apresentam micro/nano rugosidades sobre as papilas, mas são ausentes sobre os estômatos.

A remoção da cera epicuticular diminuiu o ângulo de contato para as duas faces da folha, o que revela que sua adesão e sua energia livre de superfície são fatores afetados pela presença ou ausência da cera epicuticular.

A energia livre de superfície foi calculada para as duas faces da folha, com e sem cera, revelando que a superfície foliar possui, em geral, baixa energia livre de superfície e que as papilas, apesar de aumentarem o fator de rugosidade da folha, diminuem a energia livre de superfície.

A vantagem em se utilizar o AFM para fazer a varredura das folhas é que suas imagens podem fornecer dados superficiais como fator de rugosidade, dimensão das estruturas superficiais, dentre outras; no entanto as rugosidades hierárquicas não perceptíveis ao AFM, sendo necessário o uso de MEV para se der maiores detalhes estruturais.

Este estudo tem sua relevância por abordar uma espécie de planta extremamente abundante na região amazônica, a qual é tida por muitos como planta daninha, por se disseminar muito rápido por áreas alagadas. Além disso, pode servir como base para estudos futuros para a fabricação de materiais biomiméticos na indústria, com a finalidade de se conseguir superfícies autolimpantes.

## Referências

ABDULLAH, Y.; SCHNEIDER, B.; PETERSEN, M. Occurrence of rosmarinic acid, chlorogenic acid and rutin in Marataceae species. *Phytochemistry letters*, v.1, p. 199-203, 2008.

ASSENDER, H.; BLIZNYUK, V.; PORFYRAKIS, K. How Surface Topography Relates to Materials' Properties. *Science*, v.297, p.973-976, 2002.

BARTHLOTT, W.; NEINHUIS, C. Purity of the sacred lotus, or escape from contamination in biological surfaces. *Planta*, v.202, p.1-8, 1997.

BHUSHAN, B.; JUNG, Y. C. Wetting study of patterned surfaces for superhydrophobicity. *Ultramicroscopy*, v.107, p.1033-1041, 2007.

BICO, J.; MARZOLIN, C.; QUÉRÉ, D. Pearl drops. *Europhys. Lett.* v.47, n.2, p.220-226, 1999.

BORMASHENKO, E.; GENDELMAN, O.; WHYMAN, G. Superhydrophobicity of Lotus Leaves versus Birds Wings: Different Physical Mechanisms Leading to Similar Phenomena. *Langmuir*, v.28, p. 14992-14997, 2012.

BORMASHENKO, E. Why does the Cassie-Baxter equation apply? *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, v.324, p. 47-50, 2008.

BURKARTER, E. **Construção de Imagens por Padrões Hidrofóbico/Hidrofílico**. Dissertação (Mestrado). Setor de Ciências Exatas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba-PR, 94 p., 2006.

BURTON, Z.; BHUSHAN, B. Surface characterization and adhesion and friction properties of hydrophobic leaf surfaces. *Ultramicroscopy*, v.106, p.709-719, 2006.

BHUSHAN, B.; JUNG, Y. C.; KOCH, K. Micro-, nano- and hierarchical structures for superhydrophobicity, self-cleaning and low adhesion. *Phil. Trans. R. Soc. A*, v.367, p.1631-1672, 2009.

CHAU, T. T.; BRUCKARD, W. J.; KOH, P. T. L.; NGUYEN, A. V. A review of factors that affect contact angle and implications for flotation practice. *Advances in Colloid and Interface Science*, v.150, p.106-115, 2009.

CHOI, W.; TUTEJA, A.; MABRY, J. M.; COHEN, R. E.; MCKINLEY, G. H. A modified Cassie-Baxter relationship to explain contact angle hysteresis and anisotropy on non-wetting textured surfaces. *Journal of Colloid and Interface Science*, v.339, p.208-216, 2009.

- COSTA, F.; ESPINELLI, F.; FIGUEIREDO, F. **Guia de Marantáceas: da reserva Ducke e da Rebio Uatumã**. Manaus: INPA, 156 p., 2008.
- DAVID, R. NEUMANN, A. W. Contact Angle Patterns on Low-Energy Surfaces. **Advances in Colloid and Interface Science**. v.206, p.46–56, 2014.
- EBERT, D.; BHUSHAN, B. Durable Lotus-effect surfaces with hierarchical structure using micro- and nanosized hydrophobic silica particles. **Journal of Colloid and Interface Science**, v.368, p. 584-591, 2012.
- EXTRAND, C. W. Repellency of the Lotus Leaf: Resistance to Water Intrusion under Hydrostatic Pressure. **Langmuir**, v.27, p.6920-6925, 2011.
- FERREIRA, T. B. **Manejo, gestão de recursos naturais e luta pela terra pelos Borari de Novo Lugar – TI Maró, Santarém, Pará**. Dissertação (Mestrado). Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento Rural. Universidade Federal do Pará. Belém-PA, 198 p., 2011.
- GAO, N.; YAN, Y. Modeling Superhydrophobic Contact Angles and Wetting Transition. **Journal of Bionic Engineering**, v.6, p.335-340, 2009.
- GAO, L.; MCCARTHY, J. The “Lotus Effect” explained: two reasons why two length scale of topography are important. **Langmuir**, v.22, p.2966-2967, 2006.
- KOCH, K.; BARTHLOTT, W. Superhydrophobic and superhydrophilic plant surface: an inspiration for biomimetic materials. **Phil. Trans. R. Soc. A**, v.367, p.1487-1509, 2009.
- KOCH, K.; BHUSHAN, B.; BARTHLOTT, W. Diversity of structure, morphology and wetting of plant surfaces. **Soft Matter**, v.4, p.1943-1963, 2008.
- KWOK, D. Y.; NEUMANN, A. W. Contact angle measurement and contact angle interpretation. **Advances in Colloid and Interface Science**, v.81, p.167-249, 1999.
- KLOUBEK, J. Development of methods for surface free energy determination using contact angles of liquids on solids. **Advances in Colloid and Interface Science**, v.38, p.99-142, 1992.
- LAN, C. N. C.; WU, R.; LI, D. HAIR, M. L. Study of the advancing and receding contact angles: liquid sorption as a cause of contact angle hysteresis. **Advances in Colloid and Interface Science**, v.96, p.169-191, 2002.
- LAGNIKA, L.; ATTIOUA, B.; WENIGER, B.; KAISER, M.; SANNI, A.; VONTHRON-SENECHEAU C. Phytochemical Study and Antiprotozoal Activity of Compounds Isolated from Thalia geniculata. **Pharmaceutical Biology**, v. 46, n.3, p.162-165, 2008.
- LIMA, E. M. C. X.; SILVA, W. J.; MOURA, J. S.; FAOT, F.; CURY, A. A. D. B. Evaluation of surface characteristics of Ti-6Al-4V and Titite alloys used for implant abutments. **Braz Oral Res.**, v.20, n. 4, p. 307-311, 2006.
- LINEU, C. **Species Plantarum**, 2: 1193-1753, 1753.  
Disponível em:  
<<http://www.ipni.org/ipni/idPlantNameSearch.do?id=798255-1>>  
Acesso em: março de 2015.
- LIU, Y.; LI, G. A new method for producing “Lotus Effect” in a biomimetic shark skin. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 388, p. 235-242, 2012.
- MARMUR, A. The Lotus Effect: Superhydrophobicity and Metastability. **Langmuir**, v. 20, p. 3517-3519, 2004.
- NEINHUIS, C.; BARTHLOTT, W. Characterization and distribution of water-repellent, self-cleaning plant surfaces. **Annals of Botany**, v.79, p.667-677, 1997.
- NOSONOVSKY, M.; BHUSHAN, B. (A) Hierarchical roughness makes superhydrophobic states stable. **Microelectronic Engineering**, v.84, p.382-386, 2007.
- NOSONOVSKY, M.; BHUSHAN, B. (B) Hierarchical roughness optimization for biomimetic superhydrophobic surfaces. **Ultramicroscopy**, v.107, p.969-979, 2007.
- PERSSON, B. N. J.; ALBOHR, O.; TARTAGLINO, U.; VOLOKITIN, A. I; TOSATTI, E. On the nature of surface roughness with application to contact mechanics, sealing, rubber

friction and adhesion. **J. Phys.: Condens. Matter**, v.17, p.1-62, 2005.

SHIRTCLIFFE, N. J.; MCHALE, G.; ATHERTON, S.; NEWTON, M. I. An introduction to superhydrophobicity. **Advances in Colloid and Interface Science**, v.161, p.124-138, 2010.

SONG, C.; ZHENG, Y. Wetting-controlled strategies: From theories to bio-inspiration. **Journal of Colloid and Interface Science**, v.427, p.2–14, 2014.

SUBEDI, D. P. Contact angle measurement for the surface characterization of solids. **The Himalayan Physics**, v. 2, p.1-4, 2011.

WANG, H.; SHI, H.; LI, Y.; WANG, Y. The Effects of Leaf Roughness, Surface Free Energy and Work of Adhesion on Leaf Water Drop Adhesion. **PLoS ONE**, v.9, n.9, p.1-10, 2014.

YAN, Y. Y.; GAO, N.; BARTHLOTT, W. Mimicking natural superhydrophobic surfaces and grasping the wetting process: A review on recent progress in preparing superhydrophobic surfaces. **Advances in Colloid and Interface Science**, v.169, p.80-105, 2011.

YUAN, Y.; LEE, T. R. Contact Angle and Wetting Properties. **In Surface Science Techniques**. BRACCO, G.; HOLTS, B. 2013. XXIII, 663 p.

ZENKIEWICZ, M. Methods for the calculation of surface free energy of solids. **Journal of Achievements in Materials and Manufacturing Engineering**, v.24, p.137-145, 2007.

ZHENG, Y.; HAN, D.; ZHAI, J.; JIANG, L. *In situ* investigation on dynamic suspending of microdroplet on lotus leaf and gradient of wettable micro- and nanostructure from water condensation. **Appl. Phys. Lett**, v.92, p.084106-1 – 084106-3, 2008.

## 5 PRESENÇA DE POLIFENÓIS NAS FOLHAS DA ESPÉCIE VEGETAL *Thalia Geniculata* (LINEU, 1753)

## Presença de polifenóis nas folhas da espécie vegetal *Thalia geniculata* (LINEU, 1753)

Sandro S. Figueiredo<sup>a</sup>; Jesus Rodrigues<sup>b</sup>; Robert R. M. Zamora<sup>c</sup>.

<sup>a</sup> Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Amapá –UNIFAP

<sup>b</sup> Laboratório de Pesquisa em Fármacos, Universidade Federal do Amapá – UNIFAP

<sup>c</sup> Departamento de Física, Universidade Federal do Amapá – UNIFAP

Este trabalho teve por princípio norteador a realização de uma breve análise sobre o potencial uso terapêutico da espécie vegetal *Thalia geniculata*. Esta planta é vastamente distribuída por áreas tropicais e subtropicais de todo o planeta e é amplamente utilizada por nativos da África e da América do Sul para o tratamento de doenças. É uma espécie que possui poucos estudos fitoquímicos, mas trabalhos recentes têm demonstrado que suas partes aéreas possuem forte potencial antimonalárico. No presente estudo fez-se um extrato etanólico de suas folhas, o qual foi analisado por espectroscopia na faixa do ultravioleta, onde se verificou máximos de absorção na região de compostos polifenólicos.

**Palavras-chave:** *Thalia geniculata*. Potencial terapêutico. UV. Extrato etanólico.

### 1 Introdução

O uso de espécies vegetais para o tratamento e a cura de certas enfermidades é uma prática tão antiga quanto o ser humano (MACIEL et al, 2002). No Brasil, o Ministério da Saúde determina priorizar a investigação de plantas medicinais e a implantação da fitoterapia como prática oficial de medicina (SANTOS et al, 2011).

As plantas possuem diversos compostos chamados metabólitos secundários, os quais representam, segundo Gobbo-Neto e Lopes (2007), a interface química entre as plantas e o ambiente, ou seja, a síntese dos mesmos é afetada por condições ambientais.

Dentre os compostos que fazem parte dos metabólitos secundários, estão os polifenóis, os quais são substâncias fundamentais no desenvolvimento vegetal, pois contribuem para a adaptação da planta ao meio, oferecendo resistência a patógenos e a predadores (SAITO et al, 1998).

Além disso, os polifenóis também são fundamentais para a fisiologia da planta,

sua pigmentação, crescimento e, ainda, sua reprodução (SAITO et al, 1998).

Sua presença nas espécies vegetais depende de diversos fatores, como grau de maturação, variedades dentro de uma família ou ainda a fatores externos (PORTER et al, 1991).

Este artigo teve por objetivo avaliar a presença de polifenóis nas folhas da espécie vegetal *Thalia geniculata*, dado que é uma espécie com pouco estudo fitoquímico e pouco se sabe sobre seu potencial terapêutico.

Contudo, estudos recentes demonstraram uma elevada concentração de ácido rosmarínico em suas folhas.

O ácido rosmarínico é um composto fenólico natural, sendo um éster dos ácidos cafeicos. Apresenta diversas atividades biológicas, a citar: antisséptica, antioxidante, anti-inflamatória, antiviral, hipoglicemiante, antitumoral e neuroprotetora (OLIVEIRA, 2010; FURTADO et al, 2015).

## 2 A *Thalia geniculata* (Marantaceae)

*Thalia geniculata* é uma planta perene que cresce no sub-bosque de florestas alagadas. Suas flores possuem uma coloração violeta e a espécie possui um complexo processo de polinização (LEY & CLAßEN-BOCKHOFF, 2009). Dependendo das condições ambientais, a *Thalia geniculata* pode chegar a 2,0 m de altura (ZEILHOFER & SCHESSL, 2000). De acordo com Seeliger et al (1998), *T. geniculata* é comum em áreas de águas tropicais e subtropicais e é abundante durante a primavera e o verão.

É usada em países da África no tratamento de doenças parasitárias como a malária. Lagnika et al (2008) isolou cinco compostos das partes aéreas da planta e avaliou sua atividade biológica contra os parasitas *Plasmodium falciparum*, *Trypanosoma rhodesiense*, *Trypanosoma cruzi* e *Leishmania donovani*, obtendo atividade significativa contra *P. falciparum* e *L. donovani*.

Está entre as espécies que mais contribuem para a captura e retenção de carbono, o que pode ser comprovado pelas análises dos solos onde crescem esta e outras espécies pluviais (MARÍN-MUÑIZ et al, 2014).

De acordo com Costa et al (2008), as suas folhas apresentam nervuras paralelas e possuem um pulvino, o qual pode ser de cor avermelhada ou não. Além disso, suas folhas duram de 10 meses a dois anos.

As folhas também apresentam um pigmento sensível à luz que, graças à presença do pulvino, faz com que elas sejam móveis, ficando na vertical durante a noite enquanto que ao nascer do dia voltam à posição horizontal (COSTA et al, 2008).

Abdullah et al (2008) encontrou pela primeira vez a ocorrência de ácido

rosmarínico na família das Marantaceae. Em *T. geniculata*, a concentração desse ácido nas folhas, obtida por HPLC, foi de  $2,75 \pm 0,04\%$ .

Para Corrêa e Pena (1984) (apud KINUPP, 2007, p. 237) esta espécie fornece rizomas comestíveis assados, sendo também possível a extração de fécula alimentar e analéptica similar ao polvilho da araruta. As folhas jovens depois de cozidas podem ser consumidas como hortaliças.

Segundo Kinupp (2007), é uma espécie amplamente utilizada como plantas ornamentais e carece de estudos fitoquímicos e bromatológicos. É amplamente distribuída por todo o território nacional, mas com abundância na Região Norte (KINUPP, 2007).

## 3 Materiais e métodos

Foi feito o extrato etanólico das folhas maduras de *T. geniculata*, as quais foram secas em estufa de ar quente e circulante a 40°C e depois transformadas em pó.

Foi pesada uma quantidade de 35 g, em que foi adicionado um volume de 500 mL de álcool etílico 70° GL. Agitou-se e em seguida o extrato etanólico foi filtrado, rendendo uma porção de aproximadamente 250 mL.

Para a determinação da concentração de polifenóis, foi utilizado 0,5 mL de extrato etanólico, juntamente com 10 mL de água destilada, mais 1,0 mL de reagente de Folin e 2,0 mL de carbonato de sódio ( $Na_2CO_3$ ). Após cinco minutos, a solução foi conduzida ao aparelho UV mini-1240 da Shimadzu para a obtenção de sua absorvância.

Para a medição do PH foi utilizado medidor de PH MPA210, da MS Tecnopen. Para isso, utilizou-se 1 mL do extrato juntamente com 10 mL de água destilada.

## 4 Resultados

### 4.1 UV do extrato etanólico das folhas

O espectro de absorção na região do UV das amostras foi determinado na região na faixa de comprimento de onda entre 200 e 800 nm, como pode ser consultado na **Tabela 1**.

Pico	$\lambda$ (nm)
1	270
2	330
3	400
4	500
5	650

**Tabela 1:** Picos de absorção do espectro UV-vis do extrato etanólico das folhas da *T. geniculata*. O pico de absorção máxima ocorreu aproximadamente em 330 nm, banda característica do ácido rosmarínico isolado e de flavonoides.

Verifica-se a ocorrência de absorção entre os comprimentos de onda de 270 nm a 330 nm, o que está dentro da banda de absorção compostos fenólicos e polifenólicos, como os flavonoides (PARK et al, 1998; VILA, 2006).

A intensidade do pico de absorção máxima em aproximadamente 330 nm é o pico característico do ácido rosmarínico isolado (OLIVEIRA, 2010), o qual é abundante nas folhas de *T. geniculata* (ABDULLAH et al, 2008).

Há também um conjunto de bandas entre 500 nm e 700 nm, com uma absorção máxima em aproximadamente 650 nm, na região do vermelho (PRIMO, 2006).

Também há um pico de absorção na chamada banda B, ou banda se Soret, que ocorre por volta de 400 nm, isto indica a

presença de carotenoides (ZERAIK & YARIWAKE, 2008).

### 4.2 Concentração de Polifenóis

A concentração de polifenóis foi feita a partir da absorvância do extrato etanólico das folhas da *T. geniculata* com comprimento de onda  $\lambda = 760\text{ nm}$ .

A curva de concentração para o ácido pigálico, utilizado como reagente de Folin é:

$$C = \frac{ABS + 0,0078}{1,824}.$$

Onde  $C$  é a concentração, dada em %, e  $ABS$  é o pico de absorvância a 760 nm.

A partir daí, foi possível determinar a concentração, em percentual, de polifenóis, obtidos pelo extrato etanólico das folhas, a qual foi de  $27,05 \pm 1,54\%$ .

Esta concentração demonstra um elevado potencial farmacológico da *T. geniculata*, revelando a necessidade maiores estudos fitoquímicos sobre esta espécie.

### 4.3 PH do extrato alcoólico das folhas

O PH do extrato foliar da *T. geniculata* demonstrou que há uma elevada concentração de ácido, pois obteve como potencial hidrogeniônico 5,34.

Este valor reforça os resultados de Abdullah et al (2008), o qual encontrou uma elevada concentração de ácido rosmarínico nas folhas desta espécie.

## 5 Conclusão

A *Thalia geniculata* é uma espécie vegetal pouco explorada pela comunidade científica, mas o uso das partes da planta,

principalmente as folhas, é bem difundido por povos antigos da África e Amazônia.

As plantas são grande reserva de componentes biologicamente ativos e podem fornecer bons produtos que são estruturalmente únicos ou que têm alguns mecanismos de ação.

Os dados obtidos das concentrações de polifenóis e da absorvância em UV sugerem necessidade de investigação mais detalhada sobre o potencial farmacológico das folhas de *T. geniculata*.

Além do seu potencial farmacológico, deve-se explorá-la também pela sua capacidade de bioindicador, afim de detectar e solucionar problemas relacionados ao ambiente.

## Referências

ABDULLAH, Y.; SCHNEIDER, B.; PETERSEN, M. Occurrence of rosmarinic acid, chlorogenic acid and rutin in Marataceae species. **Phytochemistry letters**, v.1, p.199-203, 2008.

CORRÊA, M. P.; PENA, L. A. apud KINUPP, A. F. **Plantas alimentícias não-convencionais da região metropolitana de Porto Alegre, RS**. Tese (Doutorado). Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre-RS, 2007, 562 p.

COSTA, F.; ESPINELLI, F.; FIGUEIREDO, F. **Guia de Marantáceas**: da reserva Ducke e da Rebio Uatumã. Manaus: INPA, 2008. 156 p.

FURTADO, R. A.; OLIVEIRA, B. R.; SILVA, L.; CLETO, S. S.; MUNARI, C. C.; CUNHA, W. R.; TAVARES, D. C. Chemopreventive effects of rosmarinic acid on rat colon carcinogenesis. **European Journal of Cancer Prevention**, v. 24, n. 2, p. 106-112, 2015.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais\_ Fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Quim. Nova**, v. 30, n. 2, p.374-381, 2007.

KINUPP, A. F. **Plantas alimentícias não-convencionais da região metropolitana de Porto Alegre, RS**. Tese (Doutorado). Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre-RS, 2007, 562 p.

LAGNIKA, L.; ATTIOUA, B.; WENIGER, B.; KAISER, M.; SANNI, A.; VONTHRON-SENECHEAU, C. Phytochemical study and antiprotozoal activity of compounds isolated from *Thalia geniculata*. **Pharmaceutical Biology**, v.46, n.3, p. 162-165, 2008.

LEY, A. C.; CLAßEN-BOCKHOFF, R. Pollination syndromes in African Marantaceae. **Annals of Botany**, v. 104, p.41-56, 2009.

LINEU, C. **Species Plantarum**, 2: 1193-1753, 1753.

Disponível em:

<<http://www.ipni.org/ipni/idPlantNameSearch.do?id=798255-1>>

Acesso em: março de 2015.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA JR, V. F. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Quim. Nova**, v.25, n.3, p.429-438, 2002.

MARÍN-MUÑIZ, J. L.; HERNÁNDEZ, M. E.; MORENO-CASASOLA, P. Comparing soil carbon sequestration in coastal freshwater wetlands with various geomorphic features and plant communities

- in Veracruz, Mexico. **Plant Soil**, v. 378, p.189-203, 2014.
- OLIVEIRA, K. B. **Determinação do ácido rosmariníco em *Salvia officinalis* L., Lamiaceae, e avaliação de sua toxicidade e influência na melanogênese**. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Paraná, Curitiba-PR, 2010. 134p.
- PARK, Y. K.; IKEGAKI, M.; ABREU, J. A. S.; Estudo da preparação dos extratos de própolis e suas aplicações. **Ciênc. Tecnol. Aliment**, v.18, n.3, 1998.
- PORTER, L. J.; MA, Z.; CHAN, B. G. Cacao procyanidins: major flavanoids and identification of some minor metabolites. **Phytochemistry**, v.30, n.5, p.1657-1663, 1991.
- PRIMO, F. L. **Estudos fotofísicos e in vitro em modelo animal do fármaco fotosensibilizador Foscan® incorporado em nanoemulsão: avaliação como sistema de liberação em terapia fotodinâmica do câncer de pele**. Dissertação (Mestrado), Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto-SP, 2006. 126p.
- SAITO, M.; HOSOYAMA, H.; ARIGA, T.; KATAOKA, S.; YAMAJI, N. Antiulcer activity of grape seed extract and procyanidins. **J. Agric. Food Chem.**, v.46, p.1460-1464, 1998.
- SANTOS, R. L.; GUIMARÃES, G. P.; NOBRE, M. S. C.; PORTELA, A. S. Análise sobre a fitoterapia como prática integrativa no Sistema Único de Saúde. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v.13, n.4, p.486-491, 2011.
- SEELIGER, U.; ODEBRECHT, C.; CASTELLO, J. P. Os ecossistemas costeiro e marinho do extremo sul do Brasil. Editora ecoscientia. Rio Grande do Sul. 1998. Disponível em: <<http://www2.furg.br/instituto/io/ecoveco/ecomidia/livros/Os%20Ecossistemas%20Costeiro%20e%20Marinho%20do%20Extremo%20Sul%20do%20Brasil.pdf>> Acesso em: Janeiro de 2015.
- VILA, F. C. **Identificação dos flavonoides com atividade antioxidante da cana-de-açúcar (*saccharum officinarum* L.)**. Dissertação (Mestrado). Universidade de São Paulo, São Carlos-SP, 2006. 68p.
- ZEILHOFER, P.; SCHESSL, M. Relationship between vegetation and environmental conditions in the northern Pantanal of Mato Grosso, Brazil. **Journal of Biogeography**, v.27, p.159-168, 2000.
- ZERAIK, M. L.; YARIWAKE, J. H. Extração de β-caroteno de cenouras: uma proposta para disciplinas experimentais de química. **Quim. Nova**, v.31, n.5, p. 1259-1262, 2008.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos resultados, como considerações finais tem-se que:

- Este trabalho propôs a introdução da entropia de Shannon como uma medida de uniformidade superficial, e constatou que as matrizes de pixels obtidas de imagens topográficas de AFM apresentam resultado mais consistentes em se tratando da rugosidade superficial do que o histograma de alturas. Em outras palavras, podemos concluir que a entropia como um parâmetro de análise de superfície complementa a informação fornecida pelo RMS.
- As folhas da *Thalia geniculata* são superhidrofóbicas e suas faces apresentam morfologia diferentes. A face abaxial apresenta uma vasta quantidade de papilas epidérmicas com um segundo nível de rugosidade, o que certamente garante seu elevado ângulo de contato, como ocorre com as folhas lótus. Para a superfície adaxial, no entanto, esse papel é desempenhado pela grande quantidade de dobras cuticulares existente em combinação com a maior quantidade de cera epicuticular nesta face, em relação à abaxial.
- O espectro UV do extrato etanólico das folhas secas mostrou pico de absorção máxima característico do ácido rosmarínico, o que confirma a presença de polifenóis nas folhas da espécie. Sendo, portanto, necessário um estudo mais a fundo para se averiguar o potencial terapêutico da *Thalia geniculata*.
- As folhas da espécie estudada podem ser aplicadas em diversos estudos futuros, abrangendo tanto a área farmacológica quanto estudos físicos.

## REFERÊNCIAS

- ABDULLAH, Y.; SCHNEIDER, B.; PETERSEN, M. Occurrence of rosmarinic acid, chlorogenic acid and rutin in Marataceae species. **Phytochemistry letters**, v.1, p. 199-203, 2008.
- ALBERT, L. H. B.; FILHO, R. V. Micromorfologia foliar de espécies de Sida spp. (guanxumas). **Planta Daninha**, v.20, n.3, p.337-342, 2002.
- ASSENDER, H.; BLIZNYUK, V.; PORFYRAKIS, K. How Surface Topography Relates to Materials' Properties. **Science**, v.297, p.973-976, 2002.
- BARTHLOTT, W.; NEINHUIS, C. Purity of the sacred lotus, or escape from contamination in biological surfaces. **Planta**, v.202, p.1-8, 1997.
- BHUSHAN, B.; JUNG, Y. C. Wetting study of patterned surfaces for superhydrophobicity. **Ultramicroscopy**, v.107, p.1033-1041, 2007.
- BHUSHAN, B.; JUNG, Y. C.; KOCH, K. Micro-, nano- and hierarchical structures for superhydrophobicity, self-cleaning and low adhesion. **Phil. Trans. R. Soc. A**, v.367, p.1631-1672, 2009.
- BICO, J.; MARZOLIN, C.; QUÉRÉ, D. Pearl drops. **Europhys. Lett.** v.47, n.2, p.220-226, 1999.
- BITLER, A.; DOVER, R.; SHAI, Y. Fractal properties of macrophages membrane studied by AFM, **Micron**, v.43, n.12, p. 1239-1245, 2012.
- BLOSSEY, R. Self-cleaning surfaces-virtual realities. **Nature Materials**, v.297, n.2, p.301-306, 2003.
- BORMASHENKO, E.; GENDELMAN, O.; WHYMAN, G. Superhydrophobicity of Lotus Leaves versus Birds Wings: Different Physical Mechanisms Leading to Similar Phenomena. **Langmuir**, v.28, p. 14992-14997, 2012.
- BORMASHENKO, E. Why does the Cassie-Baxter equation apply? **Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects**, v.324, p. 47-50, 2008.
- BURKARTER, E. **Construção de Imagens por Padrões Hidrofóbico/Hidrofílico**. Dissertação (Mestrado). Setor de Ciências Exatas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba-PR, 94 p., 2006.
- BURTON, Z.; BHUSHAN, B. Surface characterization and adhesion and friction properties of hydrophobic leaf surfaces. **Ultramicroscopy**, v.106, p.709-719, 2006.
- BUTT, H. J.; CAPPELLA, B.; KAPPL, M. Force measurements with the atomic force microscope: Technique, interpretation and applications. **Surface Science Reports**, v.59, p.1-152, 2005.
- CATICHA, A.; GOLAN, A. An entropic framework for modeling economies, **Physica A**, v.408, p.149-163, 2014.
- CHAU, T. T.; BRUCKARD, W. J.; KOH, P. T. L.; NGUYEN, A. V. A review of factors that affect contact angle and implications for flotation practice. **Advances in Colloid and Interface Science**, v.150, p.106-115, 2009.
- CHOI, W.; TUTEJA, A.; MABRY, J. M.; COHEN, R. E.; MCKINLEY, G. H. A modified Cassie-Baxter relationship to explain contact angle hysteresis and anisotropy on non-wetting textured surfaces. **Journal of Colloid and Interface Science**, v.339, p.208-216, 2009.

- CORRÊA, M. P.; PENA, L. A. apud KINUPP, A. F. **Plantas alimentícias não-convencionais da região metropolitana de Porto Alegre, RS.** Tese (Doutorado). Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre-RS, 2007, 562 p.
- COSTA, F.; ESPINELLI, F.; FIGUEIREDO, F. **Guia de Marantáceas: da reserva Ducke e da Rebio Uatumã.** Manaus: INPA, 156 p., 2008.
- DAVID, R. NEUMANN, A. W. Contact Angle Patterns on Low-Energy Surfaces. **Advances in Colloid and Interface Science.** v.206, p.46–56, 2014.
- EBERT, D.; BHUSHAN, B. Durable Lotus-effect surfaces with hierarchical structure using micro- and nanosized hydrophobic silica particles. **Journal of Colloid and Interface Science.** v.368, p. 584-591, 2012.
- ENSIKAT, H.J.; BOESE, M.; MADER, W.; BARTHLOTT, W.; KOCH, K. Crystallinity of plant epicuticular waxes: electron and X-ray diffraction studies. **Chemistry and Physics of Lipids.** v.144, p.45–59, 2006.
- EXTRAND, C. W. Repellency of the Lotus Leaf: Resistance to Water Intrusion under Hydrostatic Pressure. **Langmuir**, v.27, p.6920-6925, 2011.
- FARINA, D.; LECLERC, F.; ARENDT-NIELSEN, L.; BUTTELLI, O.; MADELEINE, P. The change in spatial distribution of upper trapezius muscle activity is correlated to contraction duration. **J. Electromyog. Kinesiol.**, v.18, n.1, p16-25, 2008.
- FERREIRA, T. B. **Manejo, gestão de recursos naturais e luta pela terra pelos Borari de Novo Lugar – TI Maró, Santarém, Pará.** Dissertação (Mestrado). Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento Rural. Universidade Federal do Pará. Belém-PA, 198 p., 2011.
- FURTADO, R. A.; OLIVEIRA, B. R.; SILVA, L.; CLETO, S. S.; MUNARI, C. C.; CUNHA, W. R.; TAVARES, D. C. Chemopreventive effects of rosmarinic acid on rat colon carcinogenesis. **European Journal of Cancer Prevention**, v. 24, n. 2, p. 106-112, 2015.
- GANESHANA, B.; MILES, K. A.; YOUNG, R. C.; CHATWIN, C. R. Hepatic entropy and uniformity: additional parameters that can potentially increase the effectiveness of contrast enhancement during abdominal CT. **Clinical Radiology**, v.62, n.8, p.761-768, 2007.
- GAO, N.; YAN, Y. Modeling Superhydrophobic Contact Angles and Wetting Transition. **Journal of Bionic Engineering**, v.6, p.335-340, 2009.
- GAO, L.; MCCARTHY, J. The “Lotus Effect” explained: two reasons why two length scale of topography are important. **Langmuir**, v.22, p.2966-2967, 2006.
- GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais\_ Fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Quim. Nova**, v. 30, n. 2, p.374-381, 2007.
- GUO, Z. G.; LIU, W. M.; SU, B. L. A stable lotus-leaf-like water-repellent copper. **Appl. Phys. Lett.**, v.92, p.063104-1 – 063104-3, 2008.

YU, J.; CHARY, S.; DAS, S.; TAMELIER, J.; TURNER, K. L; ISRAELACHVILI, J. N. Friction and adhesion of gecko-inspired PDMS flaps on rough surfaces. **Langmuir**, v.28, p.11527-11534, 2012.

KAM, K. M.; ZENG, L.; ZHOU, Q.; TRAN, R.; YANG, J. On assessing spatial uniformity of particle distributions in quality control of manufacturing processes, **J Manuf. Syst.**, v.32, p.154-166, 2012.

KINUPP, A. F. **Plantas alimentícias não-convencionais da região metropolitana de Porto Alegre, RS.** Tese (Doutorado). Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre-RS, 2007, 562 p.

KOCH, K.; BARTHLOTT, W. Superhydrophobic and superhydrophilic plant surface: an inspiration for biomimetic materials. **Phil. Trans. R. Soc. A**, v.367, p.1487-1509, 2009.

KOCH, K.; BHUSHAN, B.; BARTHLOTT, W. Diversity of structure, morphology and wetting of plant surfaces. **Soft Matter**, v.4, p.1943-1963, 2008.

KOJADINOVIC I.; MARICHAL; J.-L. Entropy of bi-capacities. **European Journal of Operational Research**, v.178, p.168-184, 2007.

KWOK, D. Y.; NEUMANN, A. W. Contact angle measurement and contact angle interpretation. **Advances in Colloid and Interface Science**, v.81, p.167-249, 1999.

KLOUBEK, J. Development of methods for surface free energy determination using contact angles of liquids on solids. **Advances in Colloid and Interface Science**, v.38, p.99-142, 1992.

KREGER, D. R. **An X-ray study of waxy coatings from plants:** Comparative Investigations, and the Application of a New Micro-Method for X-Ray Diffraction to Structural Problems with Ancillary Observations under the Polarising and the Electron Microscope. Gravenhage: Recueil des Travaux Botaniques Néerlandais, 1948. 736 p.

LAN, C. N. C.; WU, R.; LI, D. HAIR, M. L. Study of the advancing and receding contact angles: liquid sorption as a cause of contact angle hysteresis. **Advances in Colloid and Interface Science**, v.96, p.169-191, 2002.

LAGNIKA, L.; ATTIOUA, B.; WENIGER, B.; KAISER, M.; SANNI, A.; VONTHRON-SENECHEAU C. Phytochemical Study and Antiprotozoal Activity of Compounds Isolated from Thalia geniculata. **Pharmaceutical Biology**, v. 46, n.3, p.162-165, 2008.

LEY, A. C.; CLAßEN-BOCKHOFF, R. Pollination syndromes in African Marantaceae. **Annals of Botany**, v. 104, p.41-56, 2009.

LIMA, E. M. C. X.; SILVA, W. J.; MOURA, J. S.; FAOT, F.; CURY, A. A. D. B. Evaluation of surface characteristics of Ti-6Al-4V and Tilite alloys used for implant abutments. **Braz Oral Res.**, v.20, n. 4, p. 307-311, 2006.

LINEU, C. **Species Plantarum**, 2: 1193-1753, 1753. Disponível em: <<http://www.ipni.org/ipni/idPlantNameSearch.do?id=798255-1>> Acesso em: março de 2015.

LIU, Y.; LI, G. A new method for producing “Lotus Effect” in a biomimetic shark skin. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 388, p. 235-242, 2012.

LORENZ, B.; KRICK, B. A.; MULAKALURI, N.; SMOLYAKOVA, M.; DIELUWEIT, S.; SAWYER, W. G.; PERSSON, B. N. Adhesion: role of bulk viscoelasticity and surface roughness. **J. Phys.: Condens. Matter**, v.25, p.1-16, 2013.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA JR, V. F. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Quim. Nova**, v.25, n.3, p.429-438, 2002.

MARÍN-MUÑIZ, J. L.; HERNÁNDEZ, M. E.; MORENO-CASASOLA, P. Comparing soil carbon sequestration in coastal freshwater wetlands with various geomorphic features and plant communities in Veracruz, Mexico. **Plant Soil**, v. 378, p.189-203, 2014.

MARMUR, A. The Lotus Effect: Superhydrophobicity and Metastability. **Langmuir**, v. 20, p. 3517-3519, 2004.

MOREIRA, A. D. R.; BOVE, C. P. Plantas aquáticas do horto botânico do museu nacional do Rio de Janeiro. **Arquivos do Museu Nacional**, Rio de Janeiro, v.66, n.3, p.1-18, 2008.

NEINHUIS, C.; BARTHLOTT, W. Characterization and distribution of water-repellent, self-cleaning plant surfaces. **Annals of Botany**, v.79, p.667-677, 1997.

NOSONOVSKY, M. Entropy in Tribology: in the Search for Applications. **Entropy**, v.12, n.6, p.1345-1390, 2010.

NOSONOVSKY, M.; BHUSHAN, B. (A) Hierarchical roughness makes superhydrophobic states stable. **Microelectronic Engineering**, v.84, p.382-386, 2007.

NOSONOVSKY, M.; BHUSHAN, B. (B) Hierarchical roughness optimization for biomimetic superhydrophobic surfaces. **Ultramicroscopy**, v.107, p.969-979, 2007.

OLIVEIRA, K. B. **Determinação do ácido rosmarínico em *Salvia officinalis* L., Lamiaceae, e avaliação de sua toxicidade e influência na melanogênese**. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Paraná, Curitiba-PR, 2010. 134p.

PARK, Y. K.; IKEGAKI, M.; ABREU, J. A. S.; Estudo da preparação dos extratos de própolis e suas aplicações. **Ciênc. Tecnol. Aliment**, v.18, n.3, 1998.

PERSSON, B. N. J.; ALBOHR, O.; TARTAGLINO, U.; VOLOKINTIN, A. I; TOSATTI, E. On the nature of surface roughness with application to contact mechanics, sealing, rubber friction and adhesion. **J. Phys.: Condens. Matter**, v.17, p.1-62, 2005.

PORTER, L. J.; MA, Z.; CHAN, B. G. Cacao procyanidins: major flavanoids and identification of some minor metabolites. **Phytochemistry**, v.30, n.5, p.1657-1663, 1991.

PRIMO, F. L. **Estudos fotofísicos e in vitro em modelo animal do fármaco fotosensibilizador Foscan® incorporado em nanoemulsão: avaliação como sistema de liberação em terapia fotodinâmica do câncer de pele**. Dissertação (Mestrado), Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto-SP, 2006. 126p.

R Core Team R: A language and environment for statistical computing, Vienna, ISBN 3-900051-07-0, 2012.

- ROUND, A. N.; YAN, B.; DANG, S.; ESTEPHAN, R.; STARK, R. E.; BATTEAS, J. D. The influence of water on the nanomechanical behavior of the plant biopolyester cutin as studied by AFM and solid-state NMR. **Biophysical Journal**, v.79, p.2761-2767, 2000.
- SAITO, M.; HOSOYAMA, H.; ARIGA, T.; KATAOKA, S.; YAMAJI, N. Antiulcer activity of grape seed extract and procyandins. **J. Agric. Food Chem.**, v.46, p.1460-1464, 1998.
- SANTOS, R. L.; GUIMARÃES, G. P.; NOBRE, M. S. C.; PORTELA, A. S. Análise sobre a fitoterapia como prática integrativa no Sistema Único de Saúde. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v.13, n.4, p.486-491, 2011.
- SEELIGER, U.; ODEBRECHT, C.; CASTELLO, J. P. Os ecossistemas costeiro e marinho do extremo sul do Brasil. Editora ecoscientia. Rio Grande do Sul. 1998.
- SHANNON, C. E. A Mathematical Theory of Communication, **Bell Syst. Tech. J.**, v.27, p.379-423, 1948.
- SHIRTCLIFFE, N. J.; MCHALE, G.; ATHERTON, S.; NEWTON, M. I. An introduction to superhydrophobicity. **Advances in Colloid and Interface Science**, v.161, p.124-138, 2010.
- SONG, C.; ZHENG, Y. Wetting-controlled strategies: From theories to bio-inspiration. **Journal of Colloid and Interface Science**, v.427, p.2-14, 2014.
- SUBEDI, D. P. Contact angle measurement for the surface characterization of solids. **The Himalayan Physics**, v. 2, p.1-4, 2011.
- VILA, F. C. **Identificação dos flavonoides com atividade antioxidante da cana-de-açúcar (*saccharum officinarum* L.).** Dissertação (Mestrado). Universidade de São Paulo, São Carlos-SP, 2006. 68p.
- WANG, H.; SHI, H.; LI, Y.; WANG, Y. The Effects of Leaf Roughness, Surface Free Energy and Work of Adhesion on Leaf Water Drop Adhesion. **PLoS ONE**, v.9, n.9, p.1-10, 2014.
- YAN, Y. Y.; GAO, N.; BARTHLOTT, W. Mimicking natural superhydrophobic surfaces and grasping the wetting process: A review on recent progress in preparing superhydrophobic surfaces. **Advances in Colloid and Interface Science**, v.169, p.80-105, 2011.
- YUAN, Y.; LEE, T. R. Contact Angle and Wetting Properties. In **Surface Science Techniques**. BRACCO, G.; HOLTS, B. 2013. XXIII, 663 p.
- ZEILHOFER, P.; SCHESSL, M. Relationship between vegetation and environmental conditions in the northern Pantanal of Mato Grosso, Brazil. **Journal of Biogeography**, v.27, p.159-168, 2000.
- ZENKIEWICZ, M. Methods for the calculation of surface free energy of solids. **Journal of Achievements in Materials and Manufacturing Engineering**, v.24, p.137-145, 2007.
- ZERAIK, M. L.; YARIWAKE, J. H. Extração de β-caroteno de cenouras: uma proposta para disciplinas experimentais de química. **Quim. Nova**, v.31, n.5, p. 1259-1262, 2008.
- ZHENG, Y.; HAN, D.; ZHAI, J.; JIANG, L. *In situ* investigation on dynamic suspending of microdroplet on lotus leaf and gradient of wettable micro- and nanostructure from water condensation. **Appl. Phys. Lett**, v.92, p.084106-1 – 084106-3, 2008.

ZHOU, Q.; ZENG, L.; DECICCO, M.; LI, X.; ZHOU, S. A comparative study on clustering indices for distribution uniformity of nanoparticles in metal matrix nanocomposites, **CIRP Journal of Manufacturing Science and Technology**. v.5, p.348-356, 2012.