

Mestrado Integrado em Engenharia Química

Sistemas de libertação controlada de óleos essenciais: avaliação por espectroscopia de infravermelho

Tese de Mestrado

de

Fernando José da Costa Dias Martins

Desenvolvida no âmbito da unidade curricular de Dissertação

realizado em

Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto

Orientadora: Prof. Margarida Bastos

Co-orientador: Prof. Fernão D. Magalhães



Universidade do Porto

Faculdade de Engenharia

FEUP

Departamento de Engenharia Química

Setembro de 2014

Agradecimentos

A realização desta tese contou com várias pessoas, entre docentes, colegas e familiares.

À Professora Margarida Bastos, orientadora da tese, agradeço o apoio e as contribuições para a realização deste trabalho. À Joana Barbosa, pela disponibilidade em esclarecer dúvidas e corrigir certos passos no decorrer deste trabalho. Aos docentes que contribuíram para a conclusão desta tese. À minha família por me ter dado força e confiança ao longo desta etapa.

Ao Departamento de Engenharia Química e ao LEPABE por disponibilizar as instalações de pesquisa e os recursos para o desenvolvimento deste projeto.

À FEDER pelos fundos disponibilizados pelo Programa Operacional para Fatores de Competitividade - COMPETE e à Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT) sob os projetos NORTE-07-0124-FEDER-000025, Pest-C/EQB/UI0511 e PTDC/AGR-ALI/119270/2010 (COMPETE: FCOMP-01-0124-FEDER-019547) para financiar este trabalho.

Resumo

Os óleos essenciais têm múltiplas aplicações não só pelas características aromáticas mas também pelas propriedades de ação anti microbiana, anti séptica, por atuarem como analgésicos, antioxidantes características importantes para conservar em boas condições os alimentos.

Neste trabalho são utilizadas cápsulas com óleo essencial de laranja para avaliar a liberação controlada de óleos essenciais encapsulados. Inicialmente será:

- implementada a aplicação do método de espectroscopia no Infravermelho a misturas de um polímero e a um dos componentes do óleo de laranja;
- e posteriormente comparada aplicação da espectroscopia no Infravermelho *versus* análise termogravimétrica na caracterização da liberação controlada de óleos essenciais de cápsulas.

Nestes métodos são utilizadas as cápsulas em causa e misturas de policaprolactona com limoneno, em que o estudo das misturas por FT-IR é realizado para ser aplicado na avaliação da liberação controlada de limoneno, que é o principal componente do óleo de laranja em estudo.

Em termos de caracterização do tamanho das cápsulas, estas têm um diâmetro médio entre 50 e 60 μm , pela avaliação do teor de óleo por termogravimetria, estas cápsulas contêm cerca de 9,6 % de óleo. Em relação aos ensaios de liberação de óleo, foram obtidos valores de perda de 7,6 % e 4,3 % ao fim de 52 dias para as temperaturas de 40 °C e 23 °C respetivamente.

Após aplicados os diferentes métodos de análise, os resultados obtidos sugerem que em termos de comparação da evolução do teor de óleo essencial ao longo do tempo, o método termogravimétrico produz resultados muito próximos aos obtidos em ensaios gravimétricos de liberação controlada. Em relação aos ensaios de espectroscopia não foi possível concluir-se quanto à sua aplicabilidade na determinação do teor de óleo de laranja da cápsulas.

Palavras Chave (Tema): Espectroscopia no infravermelho, termogravimetria, óleo de laranja, limoneno, cápsulas

Abstract

The essential oils have many applications not only for their flavor characteristics but also by the properties of anti-microbial action, anti-septic, for acting as analgesics, antioxidants, important features for storing food in good conditions.

The essential orange oil capsules used in this study are to evaluate the controlled release of encapsulated essential oils. Initially will:

- Be implemented the infrared spectroscopy method to mixtures of a polymer and one of the components of this essential oil;
- And then will be compared the application of infrared spectroscopy *versus* thermogravimetric analysis to characterize the controlled release of essential oils from the capsules.

In these methods, both the capsules with essential oil and blends of polycaprolactone and limonene are used, and the mixtures evaluated by FT-IR are used to be applied in the evaluation of sustained release of limonene, which is the main constituent of orange oil used in this study.

In aspect of size characterization of the capsules, they have an average diameter between 50 and 60 micrometers, by the method of thermogravimetric analysis, these capsules contain about 9,6 % of the oil composition. In terms of controlled release of oil, the results were of 7,6 % and 4,3 % after 52 days for the temperatures of 40 °C e 23 °C respectively.

After applied the different methods of analysis, the results suggest that in terms of comparison of essential oil content over time, the thermogravimetric method produces results very close to those obtained in gravimetric trials of controlled release. Regarding spectroscopy tests it was not possible to conclude as to their applicability to determine the content of orange oil in capsules.

Declaração

Declara, sob compromisso de honra, que este trabalho é original e que todas as contribuições não originais foram devidamente referenciadas com identificação da fonte.

Assinar e datar

Índice

1	Introdução.....	5
1.1	Enquadramento e Apresentação do Projeto	5
1.2	Organização da Tese	7
2	Contexto e Estado da Arte	8
2.1	Extração sólido líquido.....	10
2.2	Espectroscopia de infravermelho	10
2.3	Termogravimetria.....	12
3	Materiais e métodos	14
3.1	Metodologia geral	14
3.2	Materiais e equipamento	16
3.3	Parte A - Avaliação do teor de óleo essencial em matriz de policaprolactona... 16	
3.3.1	Preparação de misturas de policaprolactona e limoneno.....	16
3.3.2	Análise por espectroscopia no infravermelho (FT-IR)	17
3.4	Parte B - Libertação controlada de óleos essenciais a partir de microcápsulas . 18	
3.4.1	Caraterização das microcápsulas de óleo de laranja	18
3.4.2	Teor de óleo por análise gravimétrica	21
3.4.3	Teor de óleo por análise termogravimétrica (TGA).....	22
4	Resultados e discussão	23
4.1	Parte A - Avaliação do teor de óleo essencial em matriz de policaprolactona... 23	
4.1.1	Análise qualitativa dos espectros de FT-IR de limoneno e policaprolactona	23
4.1.2	Calibração da determinação do limoneno por espectroscopia no infravermelho.....	26
4.2	Parte B - Libertação controlada de óleos essenciais a partir de microcápsulas . 30	
4.2.1	Caraterização das microcápsulas de óleo de laranja	30
4.2.2	Avaliação do teor de óleo determinado por análise gravimétrica.....	34
4.2.3	Avaliação do teor de óleo determinado por análise termogravimétrica (TGA)	36
4.2.4	Comparação estatística dos métodos.....	39
5	Conclusões	40

5.1	Conclusões gerais	40
5.2	Limitações e Trabalho Futuro	41
Anexo 1	Libertação controlada - análise gravimétrica.....	44
Anexo 2	Libertação controlada - infravermelho	47

Notação e Glossário

Lista de Siglas

FT-IR	Fourier Transform Infrared
TGA	Thermogravimetric analysis
DSC	Differential Scanning Calorimetry
DPV	Differential Pulse Voltammetry
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
ATR/MIR	Attenuated Total Reflectance/Mid-Infrared
PCL	Polycaprolactone
PVC	Polyvinyl chloride
OL	Óleo de laranja (Orange oil)

1 Introdução

1.1 Enquadramento e Apresentação do Projeto

Este trabalho enquadra-se num projeto que tem como objetivo encontrar alternativas aos inseticidas e fungicidas sintéticos que são prejudiciais à saúde humana, de modo a prevenir a contaminação por insetos e deterioração fúngica de alimentos. A utilização de extratos e óleos essenciais permitirá reduzir a utilização desses compostos que prejudicam o meio ambiente, devido a estes terem um elevado tempo de degradação, poluírem o ambiente, prejudicando por sua vez o Homem, pela contaminação dos alimentos consumidos.

Os óleos essenciais são uma mistura de substâncias voláteis extraídas de plantas, mais propriamente são compostos aromáticos voláteis. Estes óleos podem ser obtidos por processos de destilação, compressão ou por extração com recurso a solventes.

Atualmente são procurados pelas suas propriedades de ação anti microbiana, anti séptica, por atuarem como analgésicos, antioxidantes, ou até pela razão mais óbvia de proporcionarem um cheiro e sabor agradável. Por estas razões os óleos são utilizados na área de produtos alimentares, cosméticos, perfumes, na síntese de compostos aromáticos, remédios entre outros. ^[1]

Os principais componentes destes óleos são os terpenos, de fórmula química $(C_5H_8)_n$. Os terpenos podem ser classificados em diferentes grupos dependendo do número de unidades C_5 presentes (Tabela 1).

Tabela 1 - Classificação de terpenos

Número de unidades C_5	Fórmula	Classificação
1	C_5H_8	Hemiterpenos
2	$C_{10}H_{16}$	Monoterpenos
3	$C_{15}H_{24}$	Sesquiterpenos
4	$C_{20}H_{32}$	Diterpenos
5	$C_{25}H_{40}$	Sesterpenos
6	$C_{30}H_{48}$	Triterpenos
N	$(C_5H_8)_n$	Politerpenos

Neste trabalho será estudado o limoneno, um monoterpene cíclico encontrado no óleo de laranja com uma percentagem de cerca de 97% deste composto. Este terpeno possui dois isómeros, o *R*(-)-limoneno e o *S*(+)-limoneno como representados na figura seguinte, em que o isómero em estudo é o *S*-limoneno, sendo um dos componentes principais do óleo presente nas cascas de laranja.

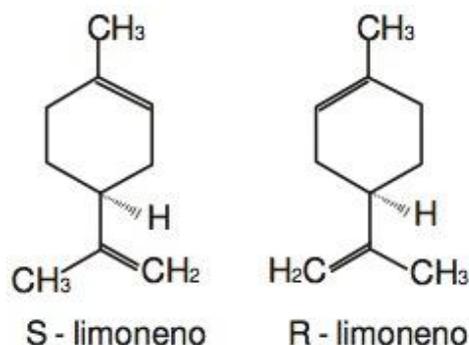


Figura 1 - Isómeros do limoneno

Este trabalho encontra-se dividido em duas partes, a primeira que consistiu em avaliar o teor do limoneno em matriz de policaprolactona através da análise dos espectros de infravermelho de misturas com diferentes quantidades deste composto, com o objetivo de calibrar e validar este método de análise, e a segunda que consistiu em realizar ensaios de liberação controlada do óleo de laranja a partir de microcápsulas, no qual foram caracterizadas estas cápsulas e determinado o teor de óleo essencial por diferentes métodos, por espectroscopia no infravermelho e por termogravimetria, de modo a acompanhar e verificar a possível comparação e equivalência destes dois métodos de análise.

Na primeira parte foram analisados os espectros de infravermelho de alguns polímeros para decidir qual seria o melhor para a análise quantitativa e foram preparadas misturas de polímero com limoneno de modo a estabelecer uma relação entre a quantidade de limoneno e a variação da intensidade de várias bandas no espectro.

Na segunda parte foram analisadas amostras de microcápsulas com óleo de laranja para ensaios de liberação de massa a diferentes temperaturas e por diferentes métodos para determinação do teor de óleo, sendo comparados os resultados obtidos pelos diferentes métodos.

1.2 Organização da Tese

Este trabalho está organizado em cinco capítulos, desde a introdução até às conclusões.

O capítulo 1 corresponde à introdução do trabalho realizado, desde a pesquisa sobre os compostos em estudo, até aos objetivos de cada parte. O capítulo 2 refere-se ao estado de arte, em que se descrevem os métodos utilizados e temas relacionados com o trabalho desenvolvido. O capítulo 3 refere as metodologias utilizadas como referência para a realização do trabalho, os materiais e equipamentos utilizados durante este processo e descreve os passos de cada etapa do trabalho realizado desde a preparação de amostras até à análise destas pelos equipamentos. O capítulo 4 refere-se aos resultados e discussão destes, em que são analisados os dados obtidos por cada método, são discutidos os principais pontos do trabalho, a existência de problemas ou influência externa que altere estes resultados. O capítulo 5 corresponde às conclusões gerais do trabalho, em que são referidos os principais resultados e que conclusões se podem retirar destes, quais os principais problemas que ocorreram durante o trabalho e quais os possíveis trabalhos futuros.

2 Contexto e Estado da Arte

A espectroscopia de infravermelho tem vindo a ser utilizada em grande parte para determinar quais os componentes presentes numa dada amostra, isto é, através da análise qualitativa identificar quais as ligações químicas da amostra por análise das bandas do espectro obtido, podendo também ser utilizada em análise quantitativa de um dado composto ou compostos presentes numa amostra, através da intensidade das bandas características dos compostos em análise.^{[9][16]}

A espectroscopia de infravermelho tem sido utilizada individualmente, ou em conjunto com outras técnicas, na caracterização da composição de óleos essenciais ^{[2][3]}. No entanto não existem muitos estudos de aplicação desta técnica à liberação controlada para a atmosfera de óleos essenciais, sendo mais frequente a sua aplicação à liberação controlada, em sistemas aquosos, dos princípios ativos encapsulados de determinados medicamentos ^[10]. As técnicas mais frequentes na liberação controlada de óleos essenciais de cápsulas têm sido aplicados na determinação gravimétrica em balança analítica ^[5], a cromatografia gasosa ^[2] e cromatografia líquida ^[4].

Martins *et al* ^[2] aplicaram apenas a técnica de cromatografia gasosa com espectrometria de massa (GC-MS) à quantificação do óleo de tomilho encapsulado e à identificação dos diferentes componentes monoterpénicos do óleo tomilho encapsulado com vista à integração das cápsulas em cosméticos. Por outro lado Yan-qun Li *et al* ^[3] efetuaram a análise e avaliação de componentes de óleo essencial de cascas de canela aplicando as técnicas de GC-MS e FT-IR, combinadas com uma análise quimiométrica, de modo a estabelecer uma estratégia para a identificação de espécies de plantas produtoras de óleo essencial e sua distribuição geográfica de modo a garantir a qualidade do óleo de canela para uso medicinal. A análise no infravermelho foi realizada na região de número de onda 4000 e 400 cm^{-1} , com uma resolução de 4 cm^{-1} , tendo sido realizados 5 replicados com 4 *scans* cada, resultando em 20 espectros que foram posteriormente analisados para determinar qualitativamente o óleo essencial em estudo, identificando os principais grupos associados ao óleo para um conjunto de 9 amostras diferentes.

Toro-Sanchez *et al* ^[4] utilizaram a técnica de espectroscopia de infravermelho nos estudos de liberação controlada de produtos voláteis de óleo essencial de tomilho a partir de cápsulas de β -ciclodextrina com o objetivo de utilizar este óleo como agente anti microbiano. Os ensaios de espectroscopia de infravermelho foram também realizados no intervalo de número de onda de 4000 a 400 cm^{-1} e com uma resolução de 4 cm^{-1} mas o número de *scans* foi de 64, tendo sido analisadas amostras do óleo de tomilho, da matriz de cápsulas, de um preparado

entre o óleo e as cápsulas e das cápsulas com o óleo encapsulado. A técnica de espectroscopia no infravermelho foi utilizada qualitativamente na identificação das bandas características do óleo e da matriz, mas a análise quantitativa foi realizada pelo método de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).

No desenvolvimento de formulações de libertação controlada com vista a utilização inseticida, Lopez *et al* ^[5] utilizaram o linalol, monoterpene presente nos óleos essenciais de várias espécies de plantas aromáticas. Este trabalho surgiu devido à particularidade de os monoterpenos serem bastante voláteis, sendo estudada a sua eficácia e a libertação de cápsulas preparadas com diferentes matrizes e por diferentes métodos (gelificação inversa, a captura de óleo em emulsão, a coacervação interfacial e a precipitação química). A avaliação da libertação do linalol para a atmosfera foi efetuada por análise gravimétrica em amostras secas das cápsulas (1 g em vials) mantidas a uma temperatura de 25 °C numa câmara de controlo de humidade, tendo a perda de massa sido determinada pela balança analítica, ao longo de 14 dias, usando como controlo uma amostra de linalol nas mesmas.

Os ensaios de análise quantitativa em espectroscopia no Infravermelho baseiam-se na altura ou área, em modo absorvância, de uma ou várias bandas características do composto em análise ou através da razão das bandas. Elaheh Konoz *et al* ^[6] aplicaram a espectroscopia no infravermelho para a quantificação do lorazepam, substância usada no tratamento de ansiedade, em várias formulações farmacêuticas, utilizando a altura e a área de várias bandas para obter as retas de calibração. As análises foram realizadas com 25 *scans* a uma resolução de 4 cm⁻¹ e foram avaliados os coeficientes de correlação, limites de deteção e desvios padrão relativos de modo a definir a banda a ou bandas (correspondente ao grupo carbonilo e outras ligações químicas) mais adequadas à quantificação do lorazepam. Takahashi *et al* ^[7] avaliou a possibilidade de aplicação da espectroscopia no infravermelho à determinação de índices de hidroxilo em polibutadienos hidroxilados e de grupos NCO em diisocianatos e pré-polímeros com grupo terminal NCO comparando com os métodos clássicos. As análises foram realizadas na região do espectro entre 4000 cm⁻¹ e 500 cm⁻¹, com 40 *scans* a uma resolução de 4 cm⁻¹. Para a determinação dos grupos hidroxilo foi obtida a curva de calibração usando a médias da absorvância (a altura) dos triplicados da banda característica do grupo hidroxilo a 3615 cm⁻¹. Do mesmo modo Souza *et al* ^[8] avaliaram a aplicação da espectroscopia no infravermelho para a quantificação de plastificantes em filmes comerciais de polímero PVC extensível. Para os espectros obtidos por FT-IR, foi utilizado um interferômetro da Bomem, MB-100, realizando 32 *scans* com resolução de 4 cm⁻¹, tendo no entanto sido medidas as áreas das bandas seleccionadas: a 1730 cm⁻¹ (correspondente ao grupo carbonilo do plastificante) e a 1251 cm⁻¹ (deformação angular de Cl-C-H) do polímero PVC puro.

2.1 Extração sólido líquido

Um dos processos para extrair o óleo essencial existente nas cápsulas é o processo de extração sólido-líquido contínua, realizada num extrator de Soxhlet e utilizando um solvente orgânico adequado. O extrato resultante é submetido a uma destilação de solvente para ser obtido o óleo essencial e o teor de óleo essencial pode ser determinado pela massa de óleo obtido após a destilação do solvente. Este processo permite também obter o óleo essencial para posterior caracterização por espectroscopia no infravermelho ou por cromatografia gasosa.

A análise do resíduo sólido por espectroscopia no infravermelho permitirá investigar a composição da matriz polimérica das cápsulas.

2.2 Espectroscopia de infravermelho

O método de análise de espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier, ou mais conhecido por *FT-IR*, é utilizado tanto para a análise qualitativa como quantitativa, tendo vindo a aumentar o uso desta técnica como modo de quantificar uma amostra.

Este método baseia-se na absorção de radiação infravermelha por parte das moléculas constituintes de um material, em que estas sofrem variação de estado vibracional.

A zona característica do da região infravermelho médio do espectros de radiação eletromagnética situa-se entre os comprimentos de onda de 2,5 μm e de 25 μm , o que corresponde ao número de onda de 4000 a 400 cm^{-1} (Figura 2).

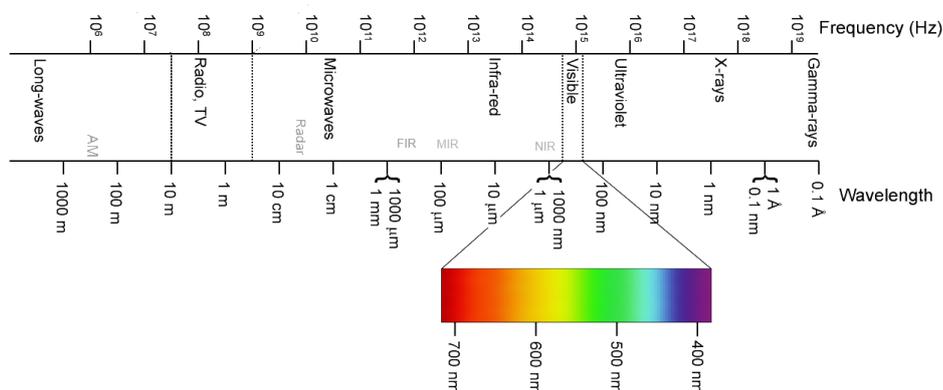


Figura 2 - Espectro de radiações eletromagnéticas (Adaptado de [17])

As radiações desta região provocam alterações no estado vibracional das moléculas quando absorvidas, sendo estas do tipo distensão (deformação axial) ou flexão (deformação angular). Esta alteração de estado vibracional ocorre em moléculas que possuam momento dipolar, dependendo do tipo de ligação e da vizinhança de um determinado grupo, o que leva a que apesar de uma dada região do espectro seja específica de uma ligação (região dos grupos funcionais, 4000 a 1500 cm^{-1}), haja outra região do espectro que funciona como impressão digital de uma dada molécula (1500 a 400 cm^{-1}).

Tendo isto em conta, as ligações podem ser relacionadas com as zonas do espectro como representado na figura 3.

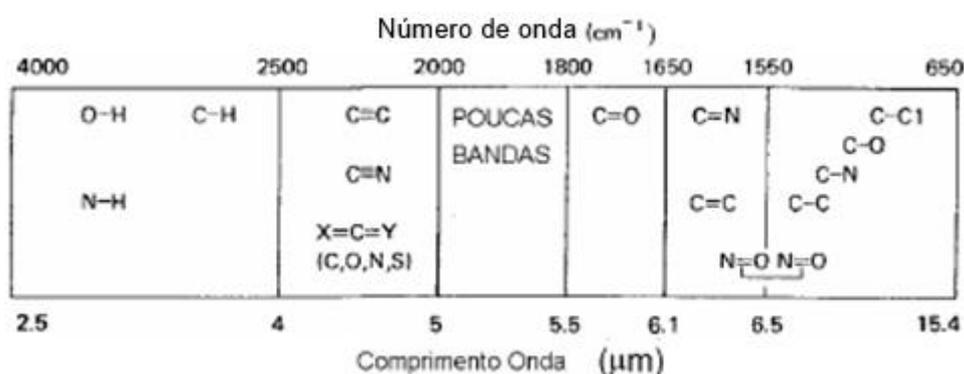


Figura 3 - Regiões de vibração de distensão de algumas ligações químicas (Adaptado de ^[18])

Vários estudos de análise quantitativa têm usado esta técnica baseando-se na identificação das bandas que permitam verificar a existência de um composto em estudo numa amostra, isto é a escolha das bandas deve ser realizada de modo a que a banda do composto possa ser identificada no espectro da amostra, permitindo estabelecer uma relação entre a variação da intensidade de absorvância de uma determinada radiação no espectro e a concentração do composto em estudo.

2.3 Termogravimetria

O método de análise termogravimétrica, ou *TGA*, é uma técnica que avalia a variação de massa de uma amostra em relação à temperatura ou tempo, em condições de atmosfera controlada.

Esta variação de massa da amostra é determinada pela diferença entre a massa do cadinho de referência e a massa do cadinho com a amostra a analisar. Estes cadinhos encontram-se num suporte de balança que faz parte do equipamento e permite avaliar ao longo do tempo a variação de massa da amostra em relação à referência conforme a temperatura aumenta.

Este equipamento fornece informação não só acerca da variação de massa, mas também é utilizado para análise quantitativa, em que os declives observados pelos dados fornecidos por este equipamento permitem determinar a quantidade de um ou mais compostos presentes na amostra. Por análise dos declives das várias regiões do termograma é possível determinar a quantidade de um ou mais compostos presentes na amostra.

A figura 4 apresenta uma relação de perda de massa de um óleo essencial de pimenta longa [12] com o aumento da temperatura (curva termogravimétrica), em que o declive refere-se à evolução da perda do óleo em amostra.

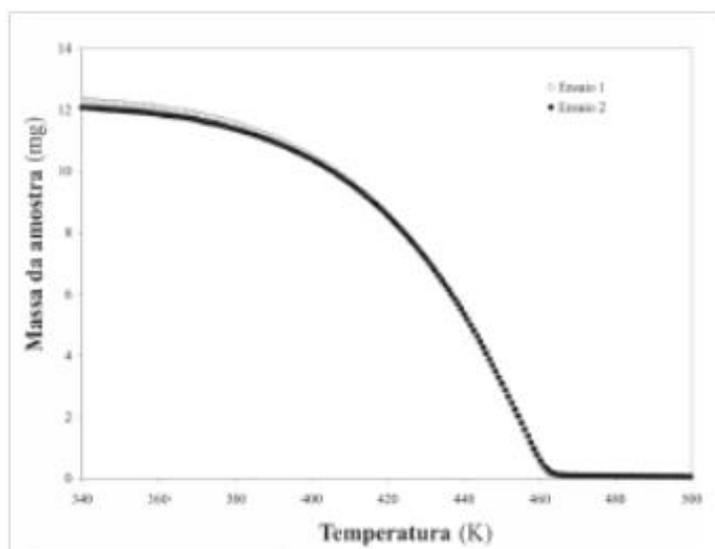


Figura 4 - Curva termogravimétrica de óleo essencial de pimenta longa. (Adaptada [12])

3 Materiais e métodos

3.1 Metodologia geral

Este trabalho foi realizado em duas partes: i) avaliação do teor de óleo essencial em matriz de policaprolactona para simular o estudo da libertação de óleo essencial por cápsulas e determinação por métodos de termogravimetria e espectroscopia no infravermelho (parte A), e ii) ensaios de libertação controlada de óleos essenciais a partir de microcápsulas de óleo de laranja e avaliação por gravimetria, termogravimetria e espectroscopia no infravermelho, além da caracterização morfológica das cápsulas (parte B).

Em relação à parte A, foram preparadas inicialmente misturas de policaprolactona com limoneno com o objetivo de estabelecer uma relação entre o teor de limoneno e a variação da intensidade do espectro no infravermelho. Para estas misturas foram utilizados diferentes teores de limoneno para estabelecer retas de calibração.

Após analisadas as misturas pelo equipamento de infravermelho, foram analisados os espectros de modo a verificar quais as bandas que melhor representavam a evolução do teor de limoneno com a variação da intensidade do espectro destas misturas. Foram realizadas 9 leituras para cada mistura de modo a obter dados concordantes e para diminuir os erros existentes em alguma leitura.

Nesta fase foram utilizadas duas metodologias, uma baseada no artigo de Toro-Sanchez *et al* [4] e outra baseada no artigo de Takahashi *et al* [7]. De acordo com a primeira foram preparadas amostras de policaprolactona com limoneno com diferentes quantidades a fim de estudar a influência da concentração no espectro da mistura e para verificar se é possível estabelecer uma reta de calibração por este método. Para a construção da reta de calibração foram utilizadas as alturas das bandas características de cada composto.

Para a obtenção de bons resultados para a reta de calibração foram também utilizados como base os artigos de Elaheh Konoz *et al* [6] e Jun Zhang [9], em que o primeiro serviu como base para escolha de bandas e análise de resultados, em que utilizaram diferentes bandas para estabelecer retas de calibração e compararam os valores de desvio padrão de modo a determinar qual a banda mais adequada para análise quantitativa.

O segundo método foi utilizado para a análise da influência da variação de um componente com o espectro, de modo a determinar qual a melhor banda para a análise quantitativa. Foi também analisada a linearidade dos diferentes componentes com o fim de determinar retas de calibração e validação do método.

Para a parte B foram caracterizadas morfologicamente as cápsulas, realizada extração contínua sólido-líquido para a determinação do teor de óleo essencial e posteriormente realizaram-se estudos de liberação de massa por parte das cápsulas com óleo de modo a avaliar quanto tempo e que quantidade de óleo continham estas cápsulas. Foram analisadas três amostras de cápsulas com óleo de laranja para cada temperatura, que libertaram massa nas condições de 110 °C, 40 °C e a 23 °C, num período de 52 dias em que a pesagem de cada amostra foi realizada de 3 em 3 dias. A metodologia utilizada nesta etapa foi baseada no artigo de Girish Reddy ^[10], no qual foi avaliada a liberação da substância telmisartan de cápsulas.

Para este trabalho utilizaram-se três amostras de microcápsulas com óleo para ensaios de liberação de massa para a atmosfera à temperatura de 23 °C. Durante cerca de 35 dias, estas cápsulas foram expostas ao ar e foram efetuadas medições de massa para determinar o perfil de perda.

Este processo continuou até que se definiu a temperatura da estufa para 110 °C para obter mais rapidamente as cápsulas sem óleo para posterior análise no *FT-IR*. Ao fim de cerca de 80 dias, estas cápsulas encontram-se sem óleo na sua composição.

3.2 Materiais e equipamento

Os reagentes utilizados neste trabalho foram hidroxietilcelulose (WeKcelo 300, WeiKem Chemical Co.), a polivinilpirrolidona (K30, Alfa Aesar) e a policaprolactona (CAPA-TM, Perstorp), limoneno a 96 % grau de pureza (Acros Organics), diclorometano e *n*-hexano, cápsulas com óleo essencial de laranja (DRUCKFARBEN SRL), cartuxos para extração (Macherey-Nagel).

Os equipamentos usados foram: balança analítica (Radwag, modelo AS1180); estufa (Scientific, series 9000); coulter (Beckman, modelo LS 230); espectrofotômetro de *FT-IR* (Bomem, modelo MB154) com célula *ATR/MIR* multi reflexão (Pike) e equipamento de análise termogravimétrica (TGA, Netzsch, 209 F1), evaporador rotativo (Buchi).

3.3 Parte A - Avaliação do teor de óleo essencial em matriz de policaprolactona

3.3.1 Preparação de misturas de policaprolactona e limoneno

Apesar de nesta etapa do trabalho terem sido utilizados três polímeros: policaprolactona (PCL), hidroxietilcelulose e polivinilpirrolidona, foi selecionada a caprolactona para avaliar possibilidade de efetuar a análise quantitativa do limoneno em misturas com uma matriz polimérica.

Para este estudo foi preparada inicialmente uma mistura de policaprolactona com limoneno (50 % : 50 %) a partir da qual foram preparadas as outras misturas por adição de polímero à mistura inicial, resultando na preparação de misturas com teor de limoneno inferior. Para tal foi pesado cerca de 1 g de policaprolactona e 1 g de limoneno, os quais foram misturados em almofariz de modo a obter uma mistura uniforme. A partir desta mistura foi retirado cerca de 0,3 g, massa que cada mistura deve ter para análise.

Tabela 2 - Composição das misturas de policaprolactona (PCL) e limoneno

% PCL/% Limoneno	Massa de PCL (g)	Massa de limoneno (g)
50/50	0,15	0,15
70/30	0,21	0,09
80/20	0,24	0,06
90/10	0,27	0,03
95/5	0,285	0,015

Estas misturas foram colocadas em *vials* e guardadas a -20°C de modo a minimizar a perda de óleo para obter valores mais próximos dos reais quando analisados pelos dois métodos, *FT-IR* e *TGA*.

3.3.2 Análise por espectroscopia no infravermelho (FT-IR)

Para esta análise foi utilizado o espectrofotómetro de *FT-IR* com célula *ATR/MIR* multi reflexão, a operar com 128 scans, com uma resolução de 4 cm^{-1} e na gama de número de onda entre 650 cm^{-1} e 4000 cm^{-1} . Foram obtidos os espectros dos diferentes polímeros e do limoneno para posterior análise das bandas características de cada composto e para averiguar quais as bandas mais adequadas que permitam distinguir o limoneno nas misturas de limoneno com a matriz polimérica escolhida.

O registo no FT-IR de cada amostra foi obtido após colocação de uma micro espátula de amostra sobre o cristal da célula de *ATR/MIR* tendo realizado 3 leituras de cada um dos triplicados. A célula foi limpa com acetona entre leituras de modo a evitar erros nas leituras.

Os registos foram inicialmente obtidos em modo de transmitância tendo-se identificado os grupos característicos de cada banda.

Os mesmos registos foram transformados em modo de absorvância e, em modo de segundas derivadas (opção "Derivative", Savitsky-Golay com 5 pontos) foi escolhido um conjunto de bandas que apresentavam alterações mais significativas com a variação da concentração de limoneno nas misturas de limoneno com policaprolactona, sendo posteriormente essas bandas usadas na obtenção de retas de calibração. Estas retas de calibração foram construídas analisando a variação das absorvâncias para cada mistura e a razão das absorvâncias para diferentes números de onda.^[8]

3.4 Parte B - Liberação controlada de óleos essenciais a partir de microcápsulas

3.4.1 Caracterização das microcápsulas de óleo de laranja

- **Determinação do teor de óleo de laranja das cápsulas por extração contínua sólido-líquida (extrator de soxhlet)**

A determinação do teor de óleo de laranja existente nas cápsulas foi efetuada por extração sólido líquido contínua (extrator de Soxhlet), tendo-se efetuado o estudo com 2 solventes diferentes (hexano e diclorometano). Foram pesadas cerca de 3 gramas das cápsulas de óleo de laranja e colocadas em cartuxas adequadas, tendo sido medido para um balão de fundo redondo (250 ml) o volume de solvente adequado à capacidade do extrator utilizado em cada um dos ensaios e adicionados reguladores de ebulição.

Após ligar o sistema de arrefecimento e de aquecimento, a extração contínua decorreu durante cerca de 3 horas, sendo o solvente posteriormente eliminado em evaporador rotativo e determinada a massa de óleo de laranja extraída. Foi efetuado um segundo ciclo de extração das amostras de cápsulas com cada um dos solventes em estudo de modo a confirmar a ocorrência da extração total do óleo de laranja por um dos solventes.

Para determinar a percentagem de óleo essencial extraído, foi utilizada a expressão:

$$\text{Teor de óleo essencial} = \frac{\text{Massa de óleo extraída}}{\text{Massa inicial de cápsulas}}$$

- **Determinação do tamanho médio das partículas (TMP)**

Nesta parte do trabalho efetuaram testes de caracterização do tamanho médio das partículas, de modo a determinar qual a distribuição do tamanho das partículas e o seu tamanho. A caracterização destas microcápsulas em termos da distribuição de tamanhos foi realizada recorrendo ao equipamento Coulter. É possível calcular o diâmetro destas partículas de diferentes maneiras, devido ao fato de estas serem irregulares.

Para a realização desta caracterização de tamanho, foi preparada uma dispersão das cápsulas de óleo de laranja, cerca de 2 g, em 50 ml de água para um gobelé de 100 ml. A leitura foi efetuada quando se atingiu um valor de PIDS (Polarization Intensity Differencial Scattering) 50% e obscuração de 45 %. Antes e depois da análise da amostra de cápsulas foi efetuada uma limpeza do sistema com água.

Esta análise fornece dados relativos à distribuição em número, isto é indica quantas partículas existem com um determinado diâmetro, e a partir desta distribuição é possível determinar as restantes distribuições discretas e cumulativas mássica, de área e de volume em função do diâmetro das partículas, para determinar qual o diâmetro médio destas partículas.^[11]

Para transformar as distribuições discreta e cumulativa numéricas em distribuições mássicas recorre-se às seguintes equações:

$$k_m = \frac{1}{\int_0^{\infty} x^3 f_N(x) dx}$$

Onde k_m é a constante mássica, x é o diâmetro das partículas e f_N é a distribuição cumulativa numérica. Tendo calculada esta constante, a distribuição mássica é calculada pela relação:

$$f_m = k_m x^3 f_n$$

Onde f_m é a distribuição discreta mássica e f_n é a distribuição discreta numérica.

Para determinar as distribuições discreta e cumulativa relativas à área, é calculada a constante relativa à área pela relação:

$$k_a = \frac{1}{\int_0^{\infty} x^2 f_N(x) dx}$$

Em que k_a é a constante da área. Após este cálculo, é determinada a distribuição em área pela expressão:

$$f_a = k_a x^2 f_n$$

Onde f_a é a distribuição discreta da área.

Para determinar as distribuições discreta e cumulativa numéricas de volume, é calculada a constante pela relação:

$$k_v = \frac{k_a}{\int_0^{\infty} x f_N(x) dx}$$

Onde k_v é a constante de volume. Determinada a constante, a distribuição em volume é calculada pela equação seguinte:

$$f_v = f_a \frac{k_v}{k_a}$$

Onde f_v é a distribuição discreta do volume.

Para efetuar o cálculo dos vários diâmetros recorreremos às expressões abaixo:

$$d_{am} = \frac{\sum d_p}{N}$$

Onde d_{am} é o diâmetro aritmético, d_p é o diâmetro das partículas e N é o número de partículas da amostra.

$$\ln(d_{gm}) = \frac{\sum \ln(d_p)}{N}$$

Onde d_{gm} é o diâmetro médio geométrico.

$$d_{sm}^2 = \frac{\sum d_p^2}{N}$$

Onde d_{sm} é o diâmetro médio superficial.

$$d_{vm}^3 = \frac{\sum d_p^3}{N}$$

Onde d_{vm} é o diâmetro médio volúmico.

$$d_{sdm} = \frac{d_{sm}^2}{d_{am}}$$

Onde d_{sdm} é o diâmetro médio superfície em relação ao diâmetro.

$$d_{vdm}^2 = \frac{d_{vm}^3}{d_{am}}$$

Onde d_{vdm} é o diâmetro médio volume em relação ao diâmetro.

$$d_{vsm}^2 = \frac{d_{vm}^3}{d_{sm}^2}$$

Onde d_{vsm} é o diâmetro médio volume em relação à área superficial.^[11]

3.4.2 Teor de óleo por análise gravimétrica

Após estes ensaios de extração, foram preparadas amostras de cápsulas para ensaios de libertação controlada de óleo a diferentes temperaturas com o objetivo de confirmar o teor de óleo e avaliar a evolução da perda de óleo ao longo do tempo.

Por análise gravimétrica, a determinação de percentagem de óleo de laranja presente nas cápsulas foi realizada preparando três amostras de cerca 1,51 g em caixa de Petri para libertar o óleo encapsulado a diferentes temperaturas (23, 40, 55 e 110 °C). As amostras foram pesadas em balança analítica em intervalos regulares de cerca de 3 dias, tendo-se acompanhado a perda de óleo ao longo de cerca de 2 meses.

Nestes ensaios a perda de massa de óleo foi calculada considerando-se que a massa das cápsulas é constante, o que leva a que a perda de massa seja apenas perda por parte do óleo, isto é:

$$\text{Massa óleo perdida} = \text{Massa inicial amostra} - \text{Massa actual amostra}$$

Para a determinação da percentagem de óleo existente nas cápsulas (ensaio a 110 °C), foi necessário fazer a razão da massa de óleo perdida pela massa inicial da amostra:

$$\% \text{ óleo essencial} = \frac{\text{Massa óleo perdida}}{\text{Massa inicial amostra}}$$

3.4.3 Teor de óleo por análise termogravimétrica (TGA)

O estudo da libertação do teor de óleo de laranja por TGA às diferentes temperaturas mencionadas na secção anterior (23 °C e 40 °C) foi efetuado numa quarta amostra colocada especificamente para este estudo, decorrendo durante o mesmo período de tempo que para a determinação gravimétrica (cerca de 2 meses).

Estes ensaios foram realizados com intervalo de 3 a 4 dias entre cada medição, onde se usou cerca de 6.5 mg pesadas na balança analítica para a análise por TGA. Para estas medições foram realizadas rampas de temperatura com uma taxa de aquecimento de 10 °C/min entre os 30 °C e os 600 °C, utilizando azoto como gás inerte. Entre cada leitura foi realizada a limpeza dos cadinhos, colocando estes no equipamento a uma taxa de aquecimento de 5 °C/min entre os 30 °C e os 850 °C.

A percentagem de óleo de laranja nas cápsulas foi determinada pela opção "Mass change" do software deste equipamento, escolhendo-se o intervalo de análise. O teor de óleo pode alternativamente ser determinado pela expressão seguinte:

$$\% \text{ óleo nas cápsulas} = 100\% - \text{percentagem do pico a cerca de } 170^{\circ}\text{C}$$

onde o valor da perda de massa a 170 °C corresponde ao valor de perda total de óleo de laranja.

A confirmação foi efetuada aplicando o tratamento pela primeira derivada de modo a verificar qual o valor aproximado da percentagem de óleo presente nas cápsulas, indicando através de picos as zonas de perda de óleo e de decomposição do material da matriz das cápsulas.

4 Resultados e discussão

4.1 Parte A - Avaliação do teor de óleo essencial em matriz de policaprolactona

4.1.1 Análise qualitativa dos espectros de FT-IR de limoneno e policaprolactona

Na etapa inicial do trabalho foram escolhidos três polímeros: policaprolactona, hidroxietilcelulose e polivinilpirrolidona para determinar qual destes seria aquele que permitiria possibilitar a análise quantitativa por FT-IR de um dos componentes principais do óleo de laranja, o limoneno, em misturas com o polímero, de modo a simular a situação de limoneno encapsulado na matriz polimérica escolhida. Estes polímeros têm as estruturas representadas pela figura 5.

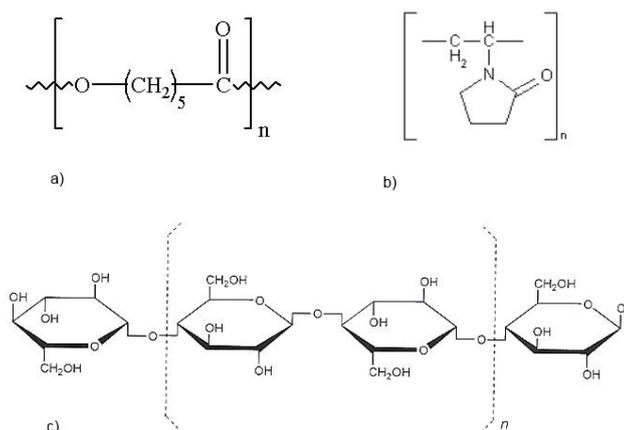


Figura 5 - Estruturas dos polímeros analisados: (a) policaprolactona; (b) polivinilpirrolidona e (c) hidroxietilcelulose

Foram obtidos os espectros do limoneno, de policaprolactona e da mistura de polímero com limoneno (Figura 6) para análise das bandas características de cada composto de modo a definir as bandas que permitiriam distinguir e quantificar o limoneno nas misturas preparadas com o polímero selecionado.

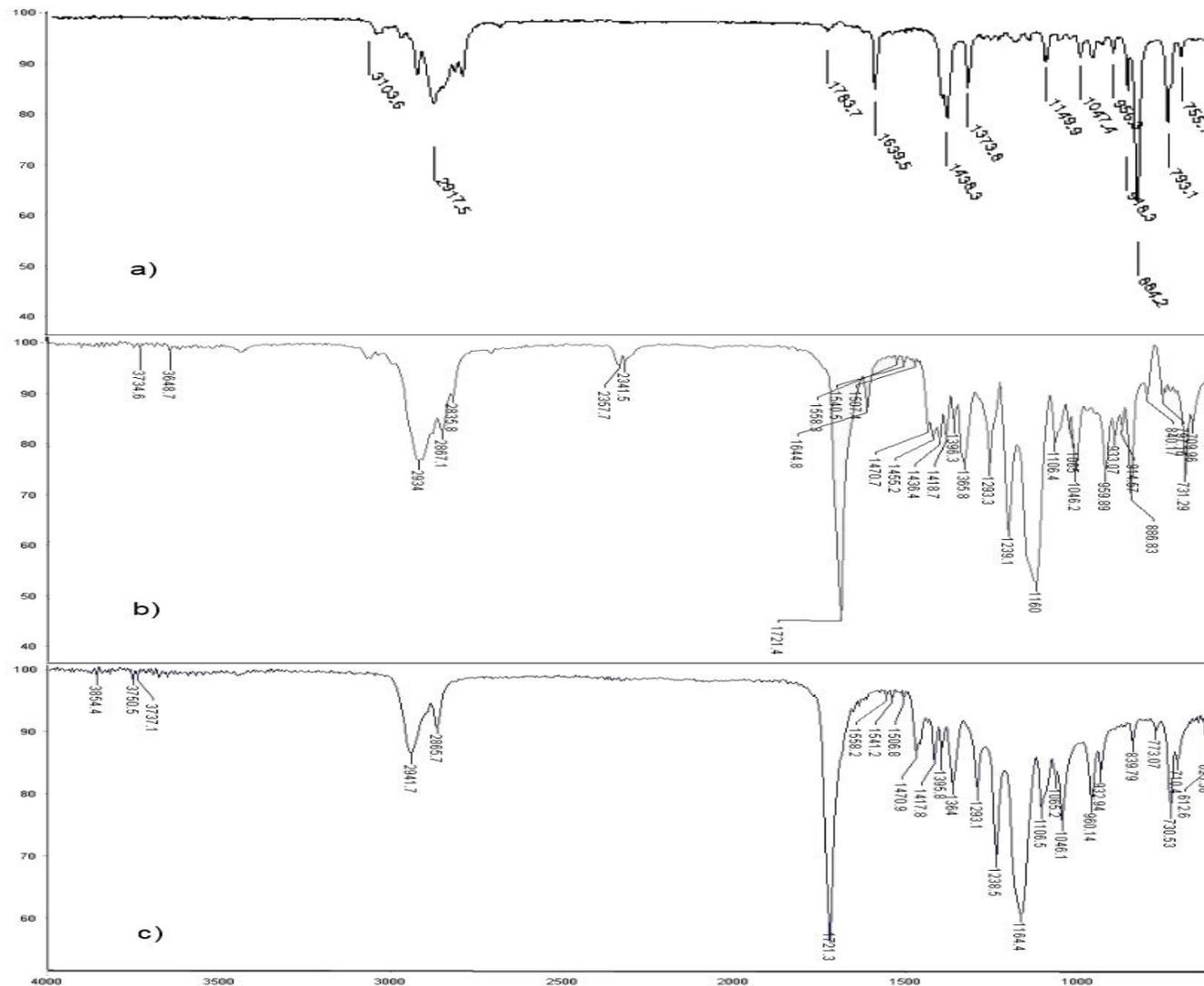


Figura 6 - Espectros de infravermelho de: (a) limoneno; (b) mistura 50%/50% e (c) polycaprolactona

Comparando os espectros de infravermelho de cada polímero com o espectro do limoneno, a policaprolactona aparenta ser o polímero que permitirá efetuar um melhor estudo de análise quantitativa, por ter a banda a $\approx 1720 \text{ cm}^{-1}$ (banda associada à ligação C=O do polímero), que juntamente com a banda a $\approx 1640 \text{ cm}^{-1}$ (banda associada à ligação C=C do limoneno) permitem distinguir os dois compostos, o que possibilitaria uma análise quantitativa da mistura dos compostos. Estas bandas serviram de ponto de partida para a análise dos espectros para acompanhar a evolução do teor de limoneno com a variação do espectro de infravermelho. Foram posteriormente selecionadas bandas adicionais para determinar quais as razões que melhor relacionariam o teor de limoneno com o espectro e que melhores resultados produziriam em termos de previsão da quantidade de limoneno presente na mistura. ^{[13][14]}

Após efetuados os registos dos espectros das misturas, foram analisados os espectros com base nas ligações existentes nestes dois compostos. A policaprolactona é composta por ligações carbono-carbono, carbono-hidrogénio, carbono-oxigénio e é um polímero de cadeia linear enquanto que o limoneno é composto por ligações carbono-hidrogénio e carbono-carbono, duas das quais são ligações duplas C=C.

Para avaliar o espectro e poder distinguir quais as bandas que pertencem a que composto, foram analisadas as bandas correspondentes às ligações existentes apenas num dos compostos da mistura. Como o polímero não possui ligações múltiplas carbono-carbono (C=C), estas bandas serviram para distinguir o limoneno da policaprolactona e a ligação carbono-oxigénio (C=O) presente no polímero serviu para distinguir a matriz polimérica do limoneno. ^{[13][14]}

Com estes aspectos foram selecionadas as bandas apresentadas na tabela 3.

Tabela 3 - Identificação dos grupos existentes nas misturas de PCL e Limoneno ^{[13][14]}

Banda (cm ⁻¹)	Linha de base (cm ⁻¹)	Grupo	Tipo de vibração	Denominação	Material
3060	3099 - 3058	=C-H	Distensão	A	PCL
1720	1801 - 1659	C=O	Distensão	B	PCL
1620	1659 - 1634	C=C	Distensão	C	Limoneno
1450	1468 - 1445	CH ₂	Flexão	D	Limoneno
1280	1317 - 1267	CH ₂	Flexão	E	PCL
1220	1267 - 1213	CH ₂	Flexão	F	PCL
1100	1122 - 1074	C-O	Distensão	G	PCL
910	924 - 905	R ₂ C=CH ₂	Flexão	H	Limoneno
880	908 - 868	R ₂ C=CH	Flexão	I	Limoneno
720	748 - 718	CH ₂	Flexão	J	PCL

4.1.2 Calibração da determinação do limoneno por espectroscopia no infravermelho

As misturas de limoneno e caprolactona foram analisadas por espectroscopia no infravermelho, em modo de absorvância e após a aplicação das segundas derivadas, tendo-se escolhido o conjunto de bandas que apresentavam alterações mais significativas com a variação da concentração de limoneno nas misturas de limoneno com policaprolactona. As bandas selecionadas foram usadas para a obtenção de retas de calibração, analisando, para cada mistura, a variação das absorvâncias dos picos com a concentração de limoneno bem como a razão das absorvâncias entre picos de limoneno e de polímero.

$$\text{Razão banda} = \frac{\text{Absorvância } X}{\text{Absorvância } Y}$$

As razões devem permitir uma melhor avaliação da variação da intensidade do espectro de infravermelho em relação a utilizarem-se apenas as intensidades das bandas. Tal permitirá a diminuição do erro relacionado com as medições, apesar de terem sido realizadas 9 leituras para cada mistura de modo a obter dados concordantes a quando da implementação do método.

Por outro lado, a razão entre as absorvâncias de 2 picos correspondentes a um determinado composto deverá manter-se constante nas diferentes misturas em análise.

Para a construção das retas de calibração, foram utilizadas as misturas de polímero com limoneno preparadas com percentagens de 50 %/50 %, 70 %/30 %, 80 %/20% , 90 %/10 % e 95 %/5 % para as bandas em estudo.

Posteriormente foi verificado se era possível aplicar estas retas para determinação da percentagem de limoneno através de novas leituras de espectro, através análise das misturas de polímero e limoneno com percentagens de 60 %/40 % e 75 %/25 %. Estes novos valores permitem validar (ou não) as retas previamente escolhidas e verificar qual a influência nos desvios associados à reta de calibração e à previsão da percentagem de limoneno numa dada amostra.

Esta escolha foi baseada no fato de ser possível ou não estabelecer uma relação linear entre a razão de altura da banda com a percentagem de limoneno. Alguns aspetos que permitem avaliar se os valores podem ser correlacionados por uma reta e com bons resultados são o fator de correlação, R , que deve ter um valor superior a 0,995, os erros associados à reta de calibração, S_a/a e S_b , que devem ser inferiores a 5% e o erro associado aos dados de validação destas retas, S_{x0} , que deve ser o menor possível e estas retas devem ter no mínimo 5 pontos. Com base nestes aspetos, foram escolhidas as retas que melhor se aproximam destes valores.

Tendo em conta estes aspetos, foram escolhidas as razões de banda C/B, C/E, C/F, C/G, C/J, D/B, D/E, D/F, D/G, D/J, H/B, H/E, H/F, H/G, H/J, I/B, I/E, I/F, I/G e I/J pelo fato de as bandas C, D, H e I estarem associadas ao limoneno e as bandas B, E, F, G e J estarem associadas ao polímero, o que permitiria verificar o aumento destas razões com a quantidade de limoneno presente na mistura. No entanto apenas as retas referidas na tabela 5 apresentavam valores de fator de correlação elevados e próximos de 0,995.

Tabela 4 - Retas de calibração para misturas de polímero e limoneno

Razão de banda	Reta de calibração	R		Razão de banda	Reta de calibração	R
C/B	$y = 0,0028x + 0,0406$	0,978		H/B	$y = 0,0022x + 5 \cdot 10^{-5}$	0,977
C/E	$y = 0,012x + 0,2351$	0,961		H/E	$y = 0,0099x + 0,0077$	0,974
C/F	$y = 0,0062x + 0,1244$	0,961		H/F	$y = 0,0050x + 0,0074$	0,966
C/G	$y = 0,0145x + 0,1852$	0,972		H/G	$y = 0,0107x + 0,0002$	0,978
C/J	$y = 0,0109x + 0,1681$	0,982		H/J	$y = 0,0084x + 0,0023$	0,978

Com estes dados verificou-se que as retas associadas às razões de banda D/ (Banda genérica) falham na previsão da quantidade de limoneno sendo por isso descartadas. As restantes razões de bandas apresentam valores previstos muito próximos dos valores reais e verificou-se que para valores abaixo dos 10% de limoneno, estas retas apresentam valores ligeiramente diferentes dos valores esperados.

Após as análises dos espectros para cada mistura e tendo em conta os critérios para escolher as bandas que melhor representam a evolução do teor do óleo, as razões que apresentam melhores resultados são as bandas C/B (1620 cm^{-1} /1750 cm^{-1}), C/J (1620 cm^{-1} /720 cm^{-1}), H/B (910 cm^{-1} /1750 cm^{-1}), H/G (910 cm^{-1} /1100 cm^{-1}) e H/J (910 cm^{-1} /720 cm^{-1}) para a etapa de calibração deste método de análise.

São representados nos gráficos seguintes, as bandas que melhor representam a relação linear de teor de limoneno com a variação de espectro.

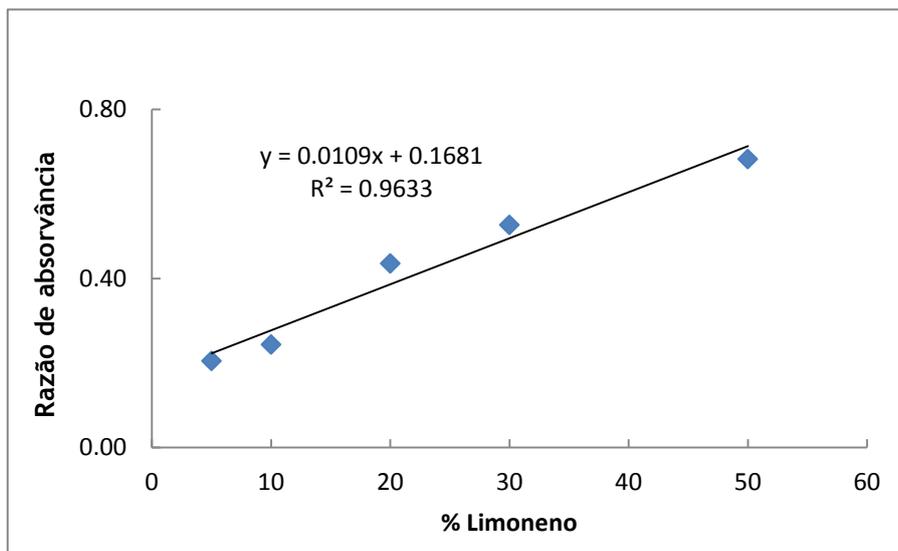


Figura 7 - Dados de calibração de misturas de PCL e limoneno para a razão de bandas C/J ($1620\text{ cm}^{-1} / 720\text{ cm}^{-1}$)

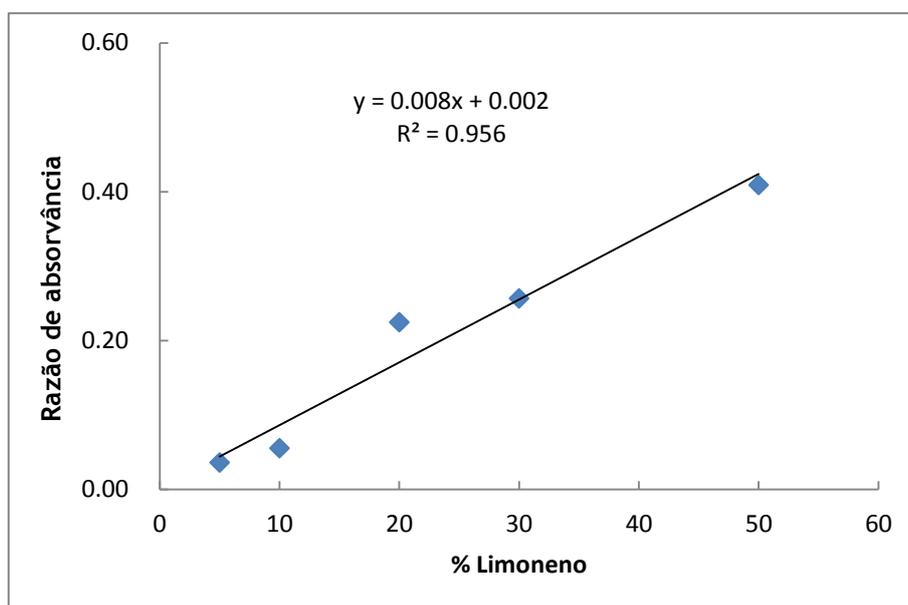


Figura 8 - Dados de calibração de misturas de PCL e limoneno para a razão das bandas H/J ($910\text{ cm}^{-1} / 720\text{ cm}^{-1}$)

Através de cálculos, este método apresenta valores limites de detecção da ordem de 15,1% a 16,5% de limoneno para as razões de banda C/B e C/J e para as razões H/B, H/G e H/J os valores limites de detecção são da ordem de 16,6% a 17,1% de limoneno.

4.2 Parte B - Liberação controlada de óleos essenciais a partir de microcápsulas

4.2.1 Caracterização das microcápsulas de óleo de laranja

- Determinação do teor de óleo de laranja das cápsulas por extração contínua sólido-líquida (extrator de soxhlet)

Na extração de soxhlet, o solvente que permitiu obter melhores resultados foi o diclorometano, com uma extração de 15% de óleo de laranja durante extrações de cerca 3 horas.

- Determinação do tamanho médio das partículas (TMP)

A análise de dispersão de capsulas pelo método de Polarization Intensity Differential Scattering (Coulter Counter) fornece dados relativos à distribuição em número, indicando quantas partículas (cápsulas) existem com um determinado diâmetro, e a partir desta distribuição foi possível determinar as restantes distribuições discretas e cumulativas mássica, de área e de volume em função do diâmetro das partículas, de modo a determinar qual o diâmetro médio destas cápsulas. As figuras 10 e 11 apresentam os valores cumulativos da distribuição em massa das cápsulas de óleo de laranja e ampliação da zona entre o diâmetro de 0 e 200 μm .

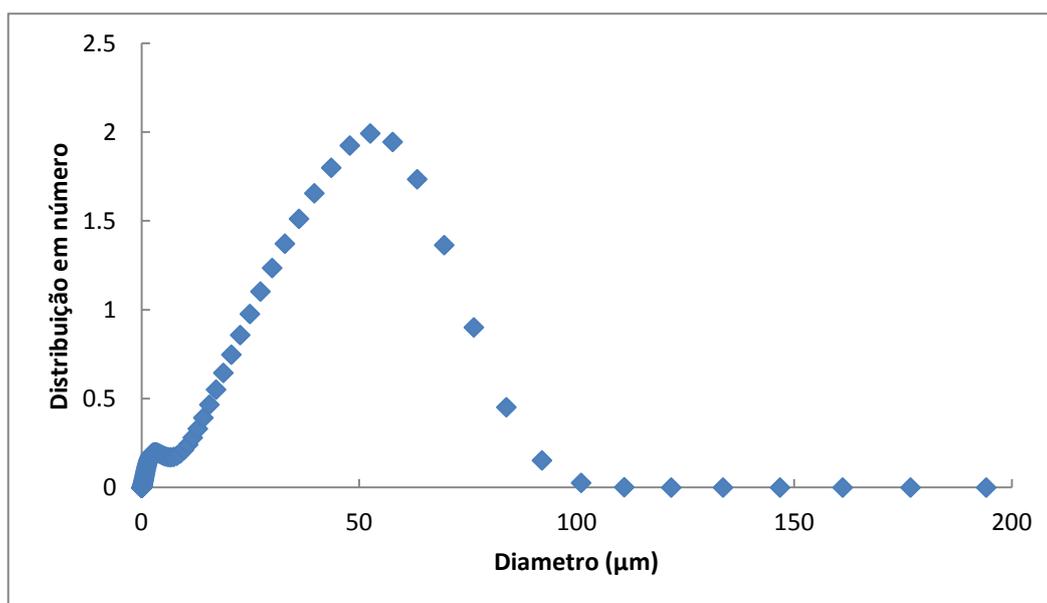


Figura 9 - Distribuição em número de microcápsulas com óleo de laranja

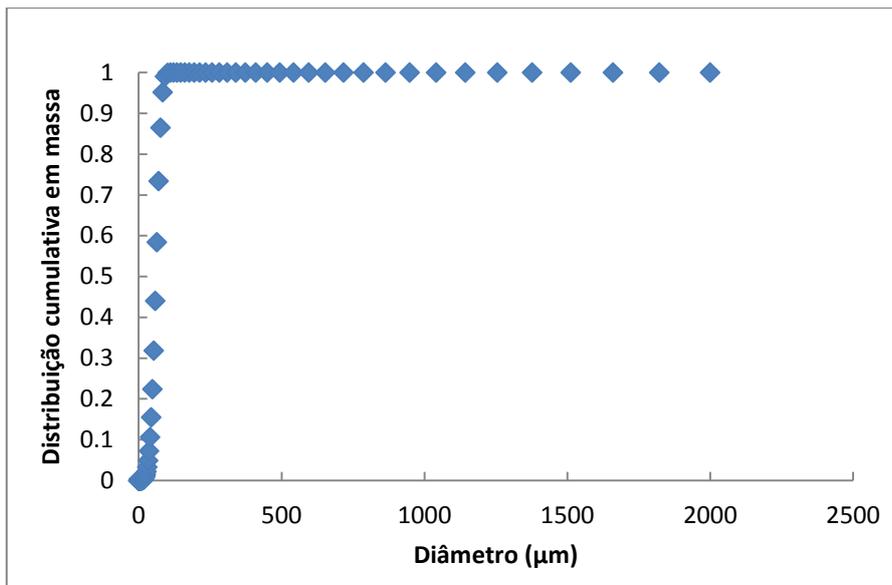


Figura 10 - Valores da distribuição cumulativa em massa de microcápsulas com óleo de laranja.

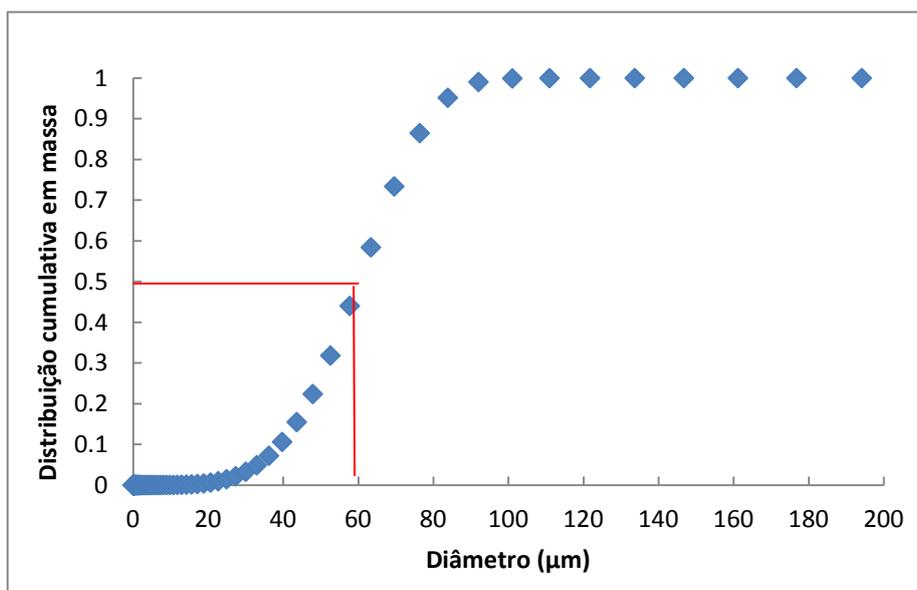


Figura 11 - Ampliação da distribuição cumulativa em massa de microcápsulas com óleo de laranja entre 0 e 200 μm .

Através destas relações, os resultados obtidos para o diâmetro médio destas partículas apontam para um diâmetro que varia entre 50 e 60 μm .

- **Análise qualitativa e semi quantitativa das cápsulas de óleo de laranja por FT-IR**

Com vista a avaliar a possibilidade de monitorizar a liberação controlada do óleo de laranja das capsulas por *FT-IR* foi obtido o espectro infravermelho de uma amostra de capsulas originais e da uma amostra constituída maioritariamente por matriz polimérica (amostra após liberação do óleo de alaranja a cerca de 110 °C durante cerca de 30 dias) (Figura 12).

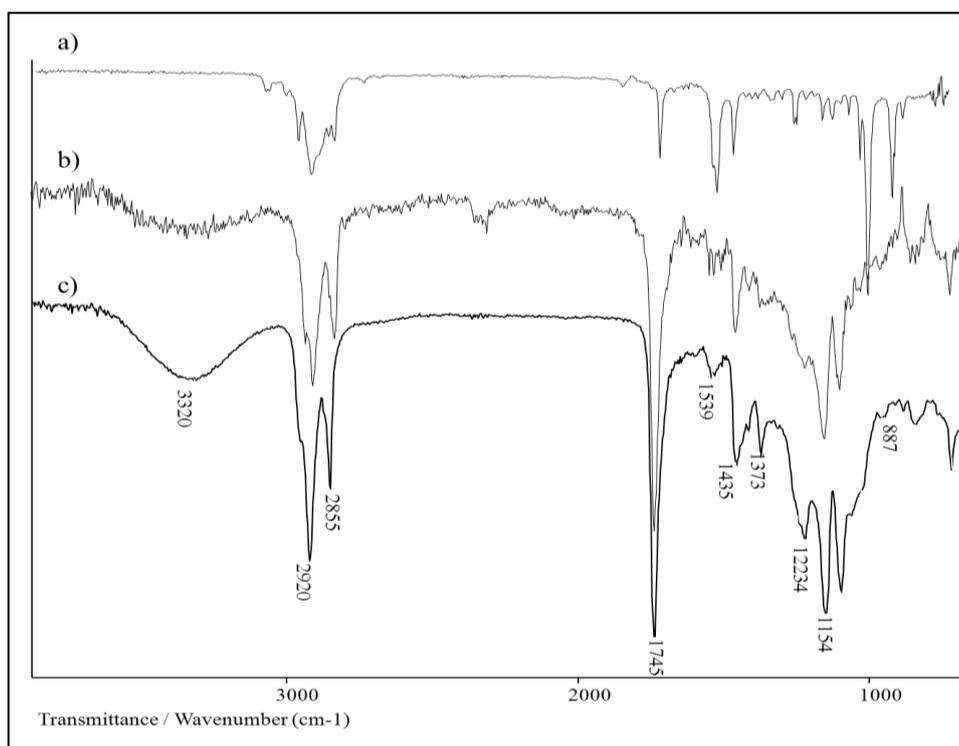


Figura 12 - Espectro de FT-IR de: (a) limoneno; (b) microcápsulas de óleo de laranja após 30 dias a 110 °C; (c) microcápsulas originais de óleo de laranja.

A continuação do ensaio de liberação controlada do óleo a 110 °C prosseguiu durante cerca de 80 dias, resultando em perda de massa de óleo de 11 %, em concordância com o valor obtido pela extração solido liquido com diclorometano, em que as cápsulas nesta fase podem ser constituídas por matriz polimérica.

A perda dos componentes voláteis do óleo de laranja é observada na figura 12 observando-se a redução da intensidade das bandas a 3320 e a 1540 cm⁻¹, quando se comparam os registos (c) e (b). O registo (a) corresponde a um dos componentes ao espectro do limoneno, composto que está descrito como sendo um dos componentes essenciais do óleo de laranja. No entanto

não foi a libertação do limoneno que resultou na diminuição da banda a 3320 cm^{-1} , dado essa banda corresponder a um ligação OH e tal banda não está presente no espectro do limoneno.

Na tabela 5 apresentam-se as várias bandas que surgem no espectro das cápsulas de óleo de laranja, bem como os correspondentes grupos funcionais responsáveis pela absorção das respetivas radiações.

Tabela 5 - Identificação dos grupos existentes nas cápsulas com óleo de laranja (OL)^{[13][14]}

Banda (cm^{-1})	Linha de base (cm^{-1})	Grupo	Tipo de vibração	Denominação	Material
3320	3582 - 3030	O-H	Distensão	A	OL
2900	3011 - 2881	CH_2	Distensão	B	OL e Matriz
1745	1842 - 1672	C=O	Distensão	C	Matriz
1620	1672 - 1582	C=C (alifático)	Distensão	D	OL
1540	1582 - 1490	C=C (aromático)	Distensão	E	OL
1435	1485 - 1402	CH_2	Flexão	F	Matriz
1230	1292 - 1196	CH_2	Flexão	G	Matriz
1154	1196 - 1128	C-O	Distensão	H	Matriz
1100	1128 - 1080	C-O	Distensão	I	Matriz
720	740 - 702	$(\text{CH}_2)_n$	Flexão	J	Matriz

De modo a averiguar quais as bandas que apresentavam variações mais significativas com a libertação do óleo de laranja a partir das cápsulas (componentes voláteis) e quais as que se mantêm constantes (componentes da matriz polimérica) foi aplicado o tratamento das segundas derivadas aos registos obtidos a partir de uma amostra do ensaio de libertação controlada a $40\text{ }^\circ\text{C}$. A elevada intensidade da banda do grupo carbonilo do tipo éster (1745 cm^{-1}) e a ausência de variação desta banda permitiram concluir que a matriz polimérica deverá ser à base de poliéster.^{[13][14]}

À medida que o óleo de laranja foi sendo libertado observou-se a diminuição da intensidade de bandas (a 3320 , 1540 cm^{-1}) correspondendo ao desaparecimento de compostos voláteis do óleo. Estas bandas permitem efetuar uma análise semi quantitativa, juntamente com as

bandas que caracterizam a matriz destas cápsulas, que em teoria não variam de intensidade dado que a única perda de massa corresponde à perda de óleo de laranja.

4.2.2 Avaliação do teor de óleo determinado por análise gravimétrica

Nestes ensaios de libertação controlada a perda de massa de óleo foi calculada considerando-se que a massa da matriz polimérica das cápsulas é constante, o que leva a que a perda de massa seja apenas perda por parte do óleo. Através deste cálculo foi possível acompanhar a evolução da perda de massa de óleo destas cápsulas e quanto tempo seria necessário até todos os compostos voláteis do óleo de laranja terem sido libertados. Para a determinação da percentagem de óleo existente nas cápsulas, o raciocínio foi semelhante, tendo-se calculado a razão da massa perdida de óleo de laranja pela massa inicial da amostra de cápsulas.

Para acompanhar a evolução da libertação do óleo de laranja das cápsulas e avaliar o tempo necessário para a libertação de todos os seus componentes voláteis, os ensaios de perda de massa decorreram durante 52 dias a 40 °C, amostras A, e a 23 °C, amostras B. Os dados relativos às determinações periódicas de massa destes ensaios são representados nas tabelas A1.1 a A1.6 e na figura 13 e 14.

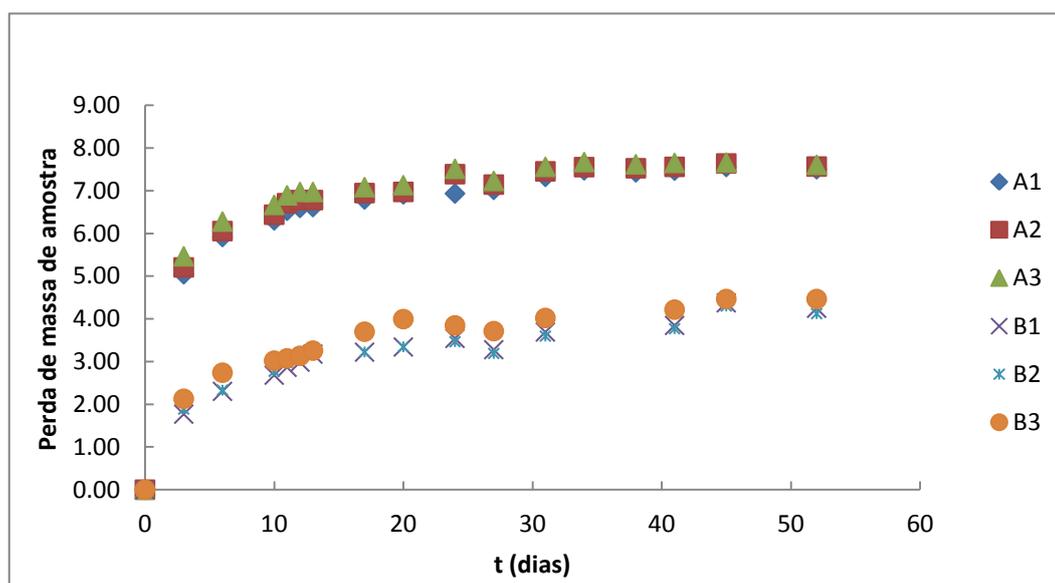


Figura 13 - Evolução da perda de óleo em amostras a 40 °C, amostras A, e a 23 °C, amostras B

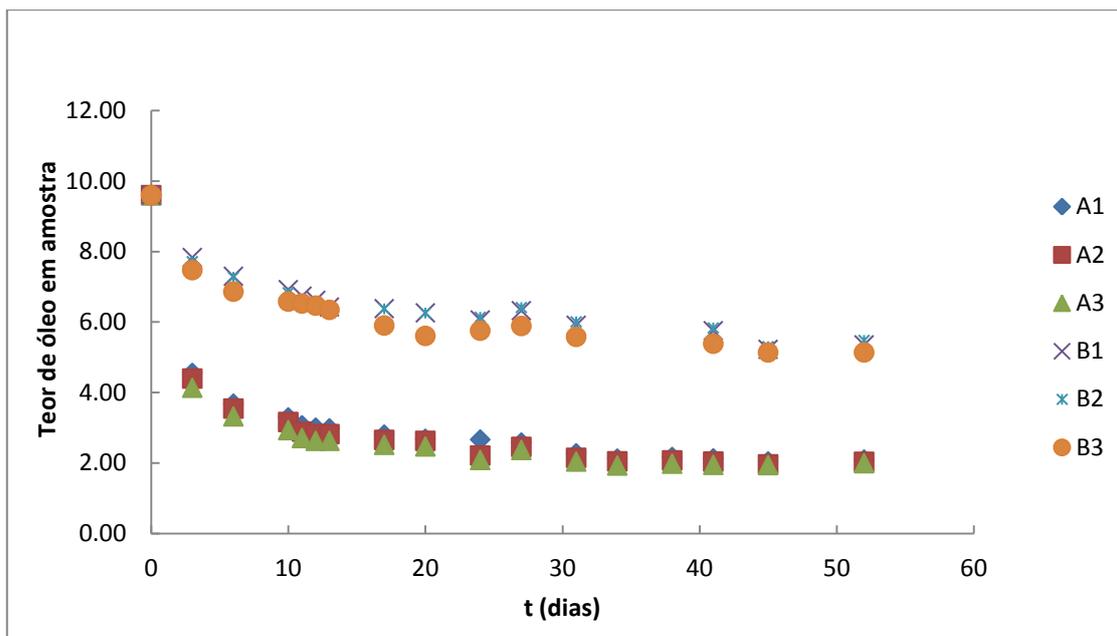


Figura 14 - Evolução da libertação controlada de óleo a 40 °C, amostras A, e a 23 °C, amostras B

Por análise das pesagens periódicas, verifica-se que ao fim de cerca de 2 meses as cápsulas que estiveram a uma temperatura mais elevada, a 40 °C, perderam cerca de 7,6 % da massa de amostra inicial e as cápsulas à temperatura de 23 °C e mesmo tempo de secagem perderam cerca de 4,3 % da massa de amostra inicial. Considerando que o teor de óleo nas cápsulas determinado foi de cerca de 13,5%, ao fim de 52 dias a 23 e 40 °C, as cápsulas ainda contêm cerca de 68,2 % e 43,7 % do óleo inicial respetivamente.

No conjunto de amostras a 23 °C, foi analisada a variação da perda de massa no caso de existir alteração no fenómeno de condução natural por parte do ar. Uma das amostras que se encontrava mais próximo da origem da movimentação do ar, perdia ligeiramente mais massa que as restantes pelo que se trocou a sua posição com uma amostra que não estava sob a influência deste fenómeno e foi verificado que a nova amostra passou a perder mais massa.

4.2.3 Avaliação do teor de óleo determinado por análise termogravimétrica (TGA)

A determinação do teor de óleo de laranja presente nas cápsulas em estudo foi confirmada pela análise da curva termogravimétrica obtida com as cápsulas antes de se iniciarem os ensaios de libertação controlada (Figura 15).

Observam-se dois patamares, um associado à evaporação dos componentes do óleo de laranja presentes nas cápsulas em estudo (temperatura entre 160 e 190 °C) e outro associado à degradação do material das cápsulas (temperatura entre 250 e 330 °C).

A percentagem de perda de massa da amostra entre 160 e 190 °C corresponderá ao teor de óleo de laranja encapsulado, sendo esse valor de 9,6 %.

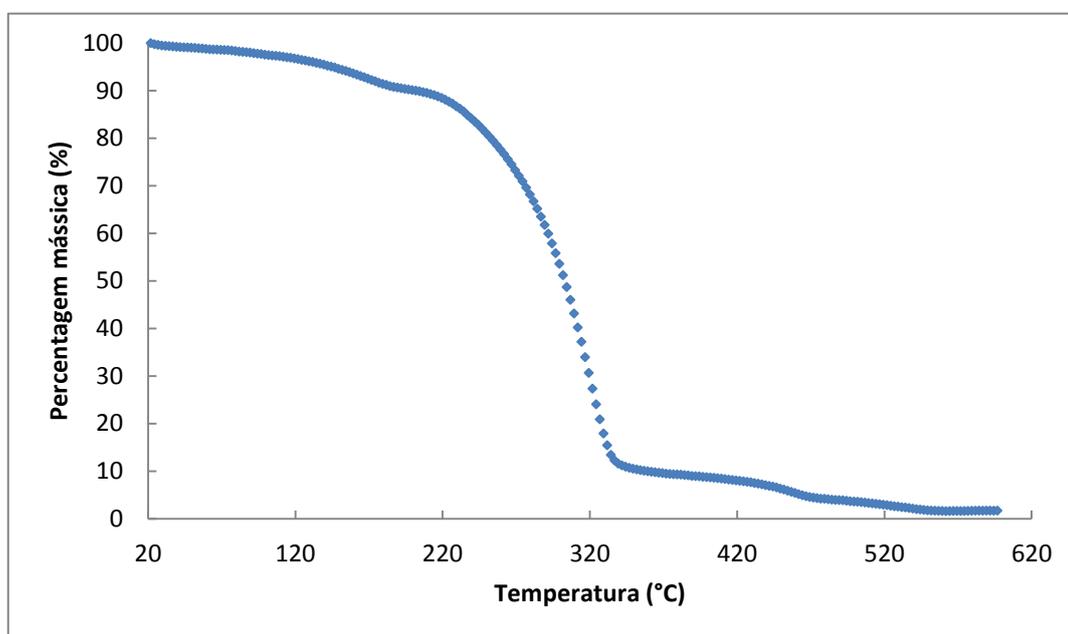


Figura 15 - Curva termogravimétrica de microcápsulas com óleo de laranja

À medida que decorre a libertação controlada de óleo de laranja das cápsulas é esperado verificar-se uma diminuição do patamar associado ao óleo, podendo assim comparar estes resultados com os ensaios de perda de massa por análise gravimétrica.

Apesar de processo de TGA para a determinação do teor de óleo remanescente nas cápsulas possibilitar a utilização de amostras muito pequenas, na ordem de 200 vezes inferior às utilizadas para determinação por análise gravimétrica, esse processo é mais moroso e muito mais dispendioso tendo por tal apenas sido analisada uma amostra por data de amostragem.

Comparando a evolução da perda do óleo de laranja pelo método gravimétrico e pelo método termogravimétrico (Figuras 16 e 17), os valores encontram-se muito próximos para o ensaio

efetuado a 40 °C mas sempre ligeiramente inferiores, enquanto que existe uma maior variabilidade nos resultados do ensaio a 23 °C, como resultado da alteração da exposição da amostra a fenômenos de condução natural do ar, fenômeno este acentuado pelo fato de ser analisada uma amostra por TGA.

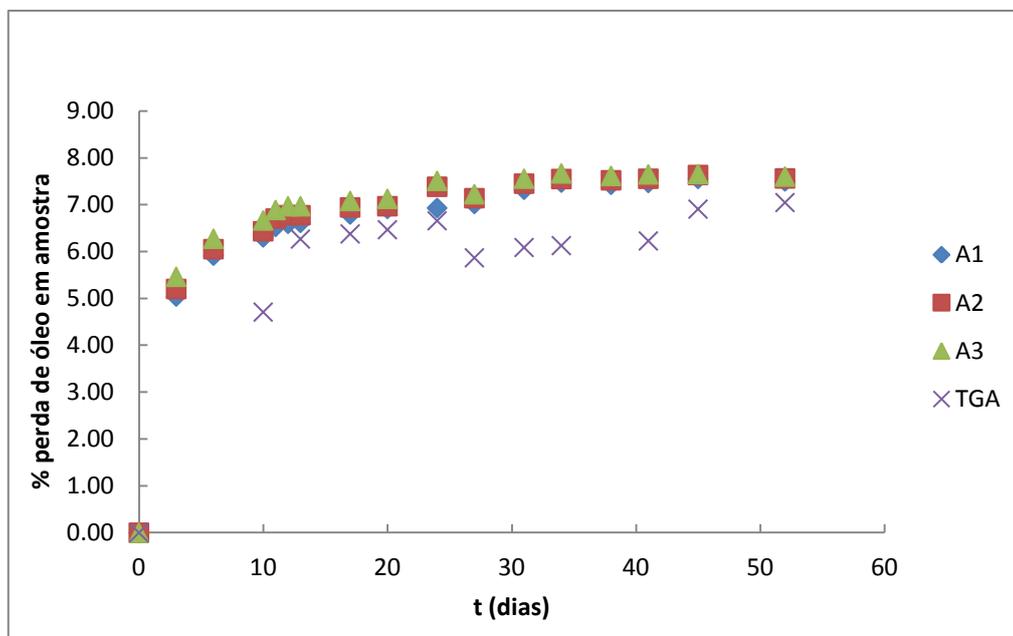


Figura 16 - Comparação da perda de óleo de laranja determinada por análise gravimétrica e termogravimétrica a 40°C

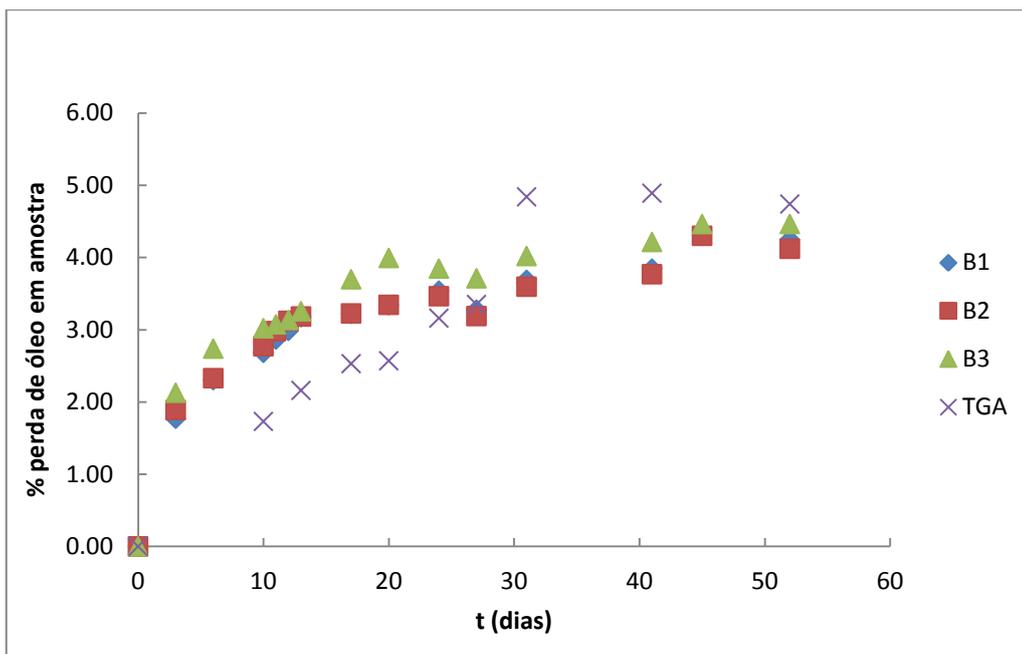


Figura 17 - Comparação da perda de óleo de laranja determinado por análise gravimétrica e termogravimétrica a 23°C

Ao fim dos 52 dias de ensaio de liberação, o teor de óleo de laranja, determinado por TGA, presente nas cápsulas foi 1,31 %, em 9,4 do valor inicial, e 3,4 %, em relação a 9,4 % do valor inicial respectivamente para as amostras a 40 e 23 °C.

4.2.4 Comparação estatística dos métodos

Para a determinação estatística de métodos os resultados comparados foram entre o TGA e a libertação controlada de óleo essencial, visto que para o método de FT-IR os resultados não apresentam uma evolução semelhante.

O teste de hipótese utilizado é de se as médias são iguais de modo a concluir que este método é válido. Na figura seguinte o H_0 representa esta hipótese, com μ_1 e μ_2 referentes às médias dos valores de cada método de análise. Neste teste são calculados os valores de t_{obs} pela expressão representada na figura 19.

$$\begin{cases} H_0: \mu_1 = \mu_2 \\ H_1: \mu_1 \neq \mu_2 \end{cases}$$

Figura 18 - Teste de hipóteses

$$t_{obs} = \frac{(\bar{x} - \bar{y})}{s_p \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$$

Figura 19 - Determinação da rejeição do teste de hipótese

Onde s_p refere-se ao desvio padrão das diferenças entre os valores dos dois métodos, n_1 e n_2 referem-se ao número de dados de cada método de análise e \bar{x} e \bar{y} referem-se às médias de cada método de análise.

Após este cálculo, os valores de t_{obs} são de 1,0749 e 0,3216, para 40 °C e 23 °C respetivamente.

Para valores com um índice de confiança de 95%, os valores de $t_{\alpha/2}$, que são de 1,7171 e 1,7341 para 40 °C e 23 °C respetivamente, e para o teste bilateral verificou-se que tanto os valores de t_{obs} a 40 °C e 23 °C encontram-se abaixo dos valores deste teste, em que o critério de rejeição da hipótese é de o t_{obs} ser maior que $t_{\alpha/2}$ e menor que $-t_{\alpha/2}$. Retira-se que este método de análise por termogravimetria é um método adequado comparado com a libertação controlada.

5 Conclusões

5.1 Conclusões gerais

Em relação às misturas de polímero com limoneno, verificou-se que é possível estabelecer uma relação linear entre quantidade de limoneno e a variação do espectro até um dado teor deste composto com bons resultados para a determinação do teor do mesmo.

Nos ensaios de determinação do tamanho médio de partículas, os resultados apontam para valores na ordem dos 50 a 60 μm de diâmetro de partículas.

Em relação à liberação controlada de óleo de laranja das microcápsulas, as amostras analisadas por gravimetria durante mês e meio apresentaram uma perda de óleo de 7,55 % a 40 °C e de 4,3 % a 23 °C. Ainda nos ensaios decorridos a 23 °C, verificou-se que a amostra que esteve mais próxima da origem de fenômenos de convecção teve tendência para perder mais óleo em comparação com as restantes amostras.

Pela a análise termogravimétrica, verificou-se que as amostras de cápsulas a 40 °C perderam cerca de 8,3 % e para a temperatura de 23 °C a perda foi de cerca de 6,2 %, valores que estão ligeiramente acima quando comparados com os ensaios de liberação controlada avaliados por análise gravimétrica. Esta diferença pode estar relacionada com o fato de a balança analítica não estar corretamente calibrada, com fenômenos de movimentação de ar que influenciam a perda de óleo.

Pela a análise por espectroscopia no infravermelho, os resultados não apresentam semelhança com os ensaios de perda de massa, isto é não se verifica uma evolução de variação de espectro com o teor de óleo do mesmo modo que se verifica por perda de massa.

Conclui-se que este método de análise por espectroscopia de infravermelho não é o mais adequado para a determinação de teor de óleo essencial. Este problema pode ser devido ao fato de o óleo essencial ter diversos compostos que podem ter diferentes taxas de liberação, que podem alterar o equilíbrio entre adsorção/desorção o que provoca variações significativas na análise quantitativa dos resultados obtidos.

5.2 Limitações e Trabalho Futuro

Neste trabalho vários aspetos podem influenciar os resultados tais como a má calibração da balança analítica, o fato de o óleo essencial em causa ser relativamente volátil, o fato de fenómenos de convecção ocorrerem aumentando o erro nas medições de teor de óleo.

Referências

1. Haneke, Karen E, Turpentine (Turpentine Oil, Wood Turpentine, Sulfate Turpentine, Sulfite Turpentine): Review of Toxicological Literature. *Integrated Laboratory Systems*, 2002 (National Institute of Environmental Health Sciences).
2. Isabel M. Martins *et al*, Microencapsulação de óleo de tomilho por coacervação. *Journal of Microencapsulation*, 26 (8), 667-675 (2009).
3. Yan-qun Li *et al*, Análise e avaliação de componentes de óleo essencial de cascas de canela por GC-MS e FT-IR. *Industrial Crops and Products*, 41, 269-278 (2013).
4. C.L. Del Toro-Sanchez *et al*, Liberação controlada de produtos voláteis de óleo essencial de tomilho a partir de cápsulas de β -ciclodextrina. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 67, 431-441 (2010).
5. M. D. Lopez *et al*, Desenvolvimento de formulações para melhorar a liberação controlada de linalool como agente pesticida. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 1187-1192 (2012).
6. Elaheh Konozi *et al*, Análise Quantitativa de Lorazepam em Formulações Farmacêuticas através de Espectroscopia de FT-IR. *E-Journal of Chemistry*, 9, 2232-2238 (2012).
7. Marta F. K. Takahashi *et al*, Determinação de Índices de Hidroxila em Polibutadienos Hidroxilados e de Grupos NCO em Diisocianatos e Pré-polímeros por FT-IR. Artigo científico (1996).
8. Michele Lemos de Souza *et al*, Aplicação de Espectroscopia Raman e IR na Identificação e Quantificação de Plastificantes em Filmes Comerciais de PVC Esticável. *Química Nova*, 32, 1452-1456 (2009).
9. Jun Zhang, Análise e caracterização de produtos de consumo por espectroscopia FT-IR, Raman, correlação ATR a duas dimensões e Quimiometria: Desenvolvimento de Método e Validação para a Quantificação Simultânea de Poli(Dimetilsiloxano) e Decametilciclopentasiloxano em Produtos para Proteção da Pele por FT-IR. Tese de doutoramento, Universidade de New Jersey, Estados Unidos da América.
10. Girish Reddy, Design and Evaluation of Sustained Release Capsule of Telmisartan. *International Journal of Advances in Pharmacy, Biology and Chemistry*, 2277-4688 (2012).
11. Martin J. Rhodes, Introduction to particle technology. 2ª edição, 2008.

12. Marco Aurélio Cremasco, Braga Pina Nazareno, Análise termogravimétrica de óleo essencial de pimenta longa. *Acta Amazonica*, 41 (2), 275-278 (2011).
13. Robert M. Silverstein, Francis X. Webster, Spectrometric identification of organic compounds. 6ª edição, 1997.
14. Lampman *et al*, Spectroscopy. 4ª edição, 2012.
15. J. Araujo *et al*, Determinação de Azitromicina em Formulações Farmacêuticas por Voltametria de Pulso Diferencial (DPV): Comparação com Análise por FT-IR. *Portugaliae Electrochimica Acta* 24, 71-81 (2006).
16. Abdul Rohman, Arini Musfiroh, Ela Gondo Wijaya, Determinação Quantitativa de Poli(Dimetilsiloxano) Dióxido de Sílica em Suspensão e em Tablets Através de Espectroscopia de FT-IR. *Global Journal of Pharmacology* 7, 270-275 (2013).
17. Louis E. Kelner, Electromagnetic Spectrum, Centro de Energia Solar da Flórida, Estados Unidos da América.
18. Lúcia Santos, Espectroscopia de infravermelho, Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, 2007.

Anexo 1 Libertação controlada - análise gravimétrica

Tabela A1.1 - Perda de massa de óleo de laranja das cápsulas a 40 °C

t (dias)	Perda de óleo em A1	Perda de óleo em A2	Perda de óleo em A3
0	1,513	1,516	1,514
3	1,437	1,437	1,431
6	1,424	1,425	1,419
10	1,418	1,419	1,413
11	1,414	1,415	1,409
12	1,413	1,414	1,408
13	1,413	1,414	1,408
17	1,410	1,411	1,406
20	1,408	1,411	1,406
24	1,408	1,404	1,399
27	1,407	1,408	1,404
31	1,402	1,403	1,399
34	1,399	1,402	1,398
38	1,401	1,402	1,398
41	1,400	1,402	1,398
45	1,399	1,401	1,398
52	1,399	1,402	1,399

Tabela A1.2 - Percentagem de perda de óleo de laranja em relação à massa de amostra a 40 °C

t (dias)	% perda óleo em A1	% perda óleo em A2	% perda óleo em A3
0	0,000	0,000	0,000
3	5,043	5,203	5,464
6	5,915	6,054	6,276
10	6,305	6,437	6,666
11	6,530	6,707	6,891
12	6,596	6,780	6,970
13	6,616	6,780	6,970
17	6,794	6,945	7,082
20	6,913	6,971	7,129
24	6,933	7,386	7,512
27	7,019	7,142	7,228
31	7,323	7,452	7,558
34	7,475	7,551	7,670
38	7,429	7,525	7,618
41	7,469	7,558	7,651
45	7,555	7,637	7,657
52	7,502	7,564	7,604

Tabela A1.3 - Percentagem de perda de óleo de laranja em relação à massa de óleo total a 40 °C

t (dias)	% perda óleo total em A1	% perda óleo total em A2	% perda óleo total em A3
0	0,000	0,000	0,000
3	52,422	54,090	56,796
6	61,491	62,934	65,244
10	65,544	66,910	69,295
11	67,880	69,721	71,631
12	68,567	70,475	72,455
13	68,773	70,475	72,455
17	70,628	72,189	73,622
20	71,865	72,463	74,103
24	72,071	76,782	78,086
27	72,964	74,245	75,133
31	76,125	77,467	78,567
34	77,705	78,496	79,734
38	77,224	78,221	79,185
41	77,636	78,564	79,528
45	78,529	79,387	79,597
52	77,980	78,633	79,048

Tabela A1.4 - Perda de massa de óleo de laranja das cápsulas a 23°C

t (dias)	Perda de óleo em B1	Perda de óleo em B2	Perda de óleo em B3
0	1,743	1,674	1,490
3	1,712	1,643	1,458
6	1,702	1,635	1,449
10	1,696	1,628	1,445
11	1,693	1,625	1,444
12	1,691	1,622	1,443
13	1,687	1,621	1,442
17	1,686	1,620	1,435
20	1,684	1,618	1,430
24	1,681	1,616	1,433
27	1,685	1,621	1,435
31	1,678	1,614	1,430
41	1,676	1,611	1,427
45	1,666	1,602	1,424
52	1,669	1,605	1,424

Tabela A1.5 - Percentagem de perda de óleo de laranja em relação à massa de amostra a 23°C

t (dias)	% perda óleo em B1	% perda óleo em B2	% perda óleo em B3
0	0,000	0,000	0,000
3	1,768	1,887	2,128
6	2,301	2,329	2,738
10	2,680	2,771	3,020
11	2,864	2,980	3,074
12	2,984	3,124	3,134
13	3,174	3,183	3,255
17	3,220	3,225	3,698
20	3,340	3,344	3,993
24	3,541	3,464	3,846
27	3,277	3,189	3,711
31	3,690	3,595	4,020
41	3,845	3,769	4,215
45	4,373	4,300	4,463
52	4,247	4,121	4,463

Tabela A1.6 - Percentagem de perda de óleo de laranja em relação à massa de óleo a 23°C

t (dias)	% perda óleo total em B1	% perda óleo total em B2	% perda óleo total em B3
0	0,000	0,000	0,000
3	18,374	19,618	22,116
6	23,922	24,212	28,464
10	27,859	28,806	31,394
11	29,768	30,979	31,952
12	31,021	32,469	32,580
13	32,990	33,090	33,836
17	33,467	33,524	38,441
20	34,720	34,766	41,510
24	36,808	36,008	39,975
27	34,063	33,152	38,580
31	38,359	37,373	41,789
41	39,969	39,174	43,813
45	45,458	44,699	46,394
52	44,145	42,837	46,394

Anexo 2 Liberação controlada - infravermelho

Tabela A2.1 - Absorvância das bandas de infravermelho de cápsulas de óleo de laranja (amostra A4) a 40 °C

t (dias)	Gama de números de onda (cm ⁻¹)									
	3582-3030 (A)	3011-2881 (B)	1842-1672 (C)	1672-1582 (D)	1582-1490 (E)	1485-1402 (F)	1292-1196 (G)	1196-1128 (H)	1128-1080 (I)	740-702 (J)
	Altura do pico									
0	0,0457	0,1696	0,2918	0,0098	0,0166	0,0783	0,0617	0,1264	0,0904	0,0406
3	0,0356	0,1601	0,3152	0,0170	0,0172	0,0781	0,0455	0,1456	0,0986	0,0415
10	0,0235	0,0877	0,2110	0,0022	0,0229	0,0609	0,0366	0,0979	0,0665	0,0208
20	0,0283	0,1304	0,2545	0,0082	0,0141	0,0639	0,0357	0,1139	0,0781	0,0327
24	0,0328	0,1586	0,3136	0,0076	0,0193	0,0797	0,0458	0,1467	0,1035	0,0438
27	0,0322	0,1422	0,2735	0,0078	0,0157	0,0687	0,0396	0,1294	0,0907	0,0373
31	0,0469	0,1633	0,2690	0,0105	0,0167	0,0705	0,0550	0,1159	0,0887	0,0405
34	0,0296	0,1332	0,2464	0,0090	0,0156	0,0674	0,0412	0,1171	0,0834	0,0356
38	0,0249	0,1177	0,2359	0,0069	0,0086	0,0605	0,0352	0,1113	0,0781	0,0314
41	0,0206	0,0813	0,1407	0,0069	0,0118	0,0401	0,0304	0,0703	0,0554	0,0230
45	0,0186	0,0833	0,1901	0,0113	0,0133	0,0464	0,0382	0,1038	0,0664	0,0316
52	0,0288	0,1417	0,2857	0,0072	0,0180	0,0736	0,0360	0,1283	0,0845	0,0341

Tabela A2.2 - Absorvância das bandas de infravermelho de cápsulas de óleo de laranja (amostra B4) a 23 °C

t (dias)	Gama de números de onda (cm ⁻¹)									
	3582-3030 (A)	3011-2881 (B)	1842-1672 (C)	1672-1582 (D)	1582-1490 (E)	1485-1402 (F)	1292-1196 (G)	1196-1128 (H)	1128-1080 (I)	740-702 (J)
	Altura do pico									
0	0,0457	0,1696	0,2918	0,0098	0,0166	0,0783	0,0617	0,1264	0,0904	0,0406
10	0,0261	0,1223	0,2310	0,0092	0,0110	0,0620	0,0374	0,1211	0,0835	0,0324
20	0,0216	0,1244	0,2394	0,0081	0,0112	0,0618	0,0378	0,1260	0,0845	0,0339
24	0,0470	0,1667	0,2766	0,0127	0,0397	0,0851	0,0620	0,1171	0,0907	0,0429
27	0,0490	0,1644	0,2689	0,0108	0,0395	0,0828	0,0597	0,1186	0,0897	0,0390
31	0,0497	0,1589	0,2524	0,0109	0,0231	0,0718	0,0623	0,1038	0,0812	0,0368
41	0,0244	0,1352	0,2660	0,0070	0,0087	0,0632	0,0354	0,1181	0,0736	0,0289
45	0,0263	0,1367	0,2796	0,0073	0,0119	0,0708	0,0407	0,1277	0,0832	0,0313
52	0,0244	0,1352	0,2660	0,0070	0,0087	0,0632	0,0354	0,1181	0,0736	0,0289

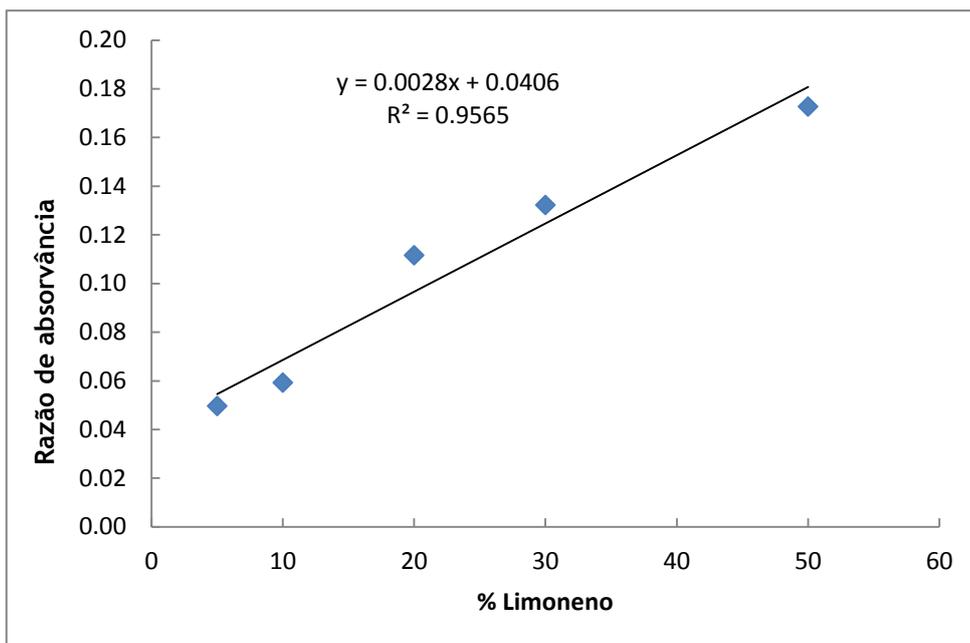


Figura A1 - Reta calibração para a razão das bandas C/B (1620 cm⁻¹ / 1720 cm⁻¹)

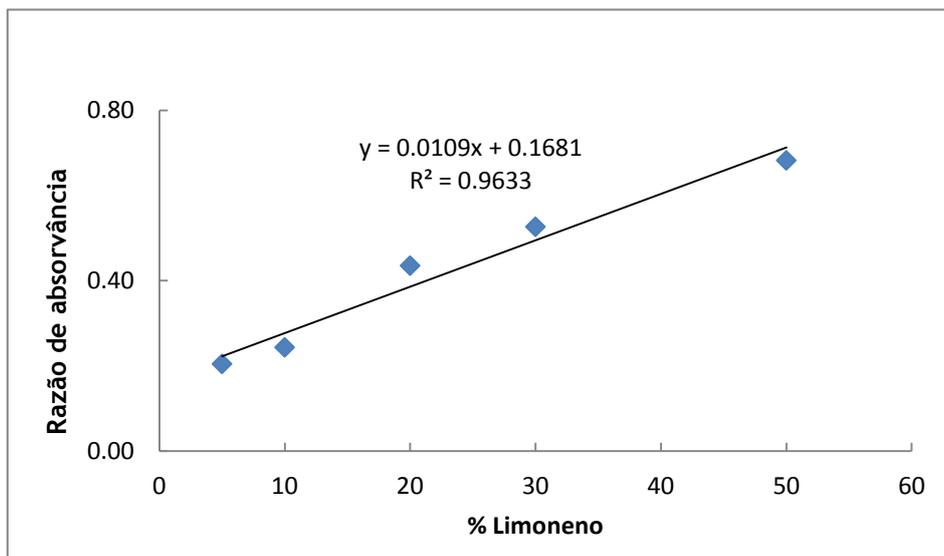


Figura A2 - Reta calibração para a razão das bandas C/J (1620 cm⁻¹ / 720 cm⁻¹)

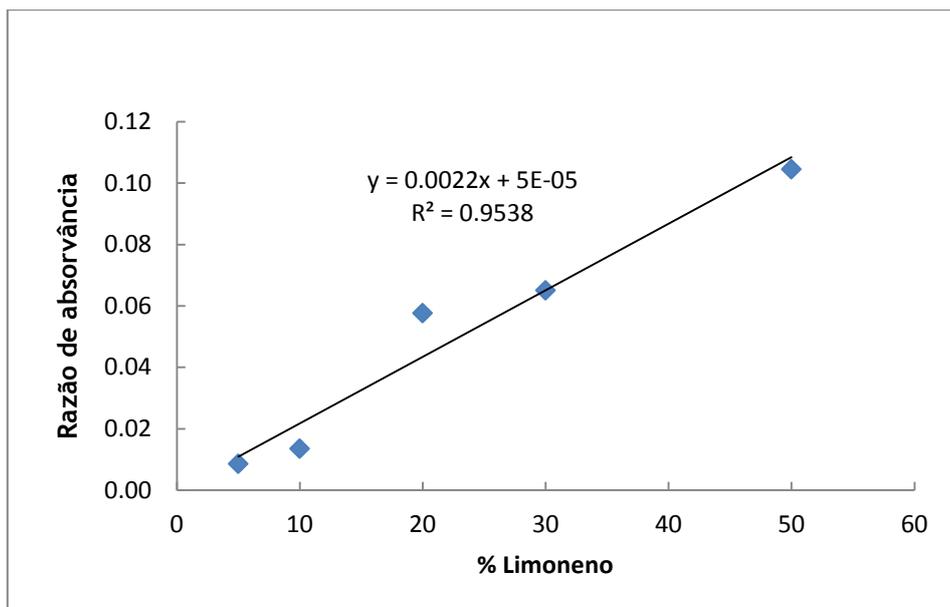


Figura A3 - Reta calibração para a razão das bandas H/B (910 cm⁻¹ / 1720 cm⁻¹)

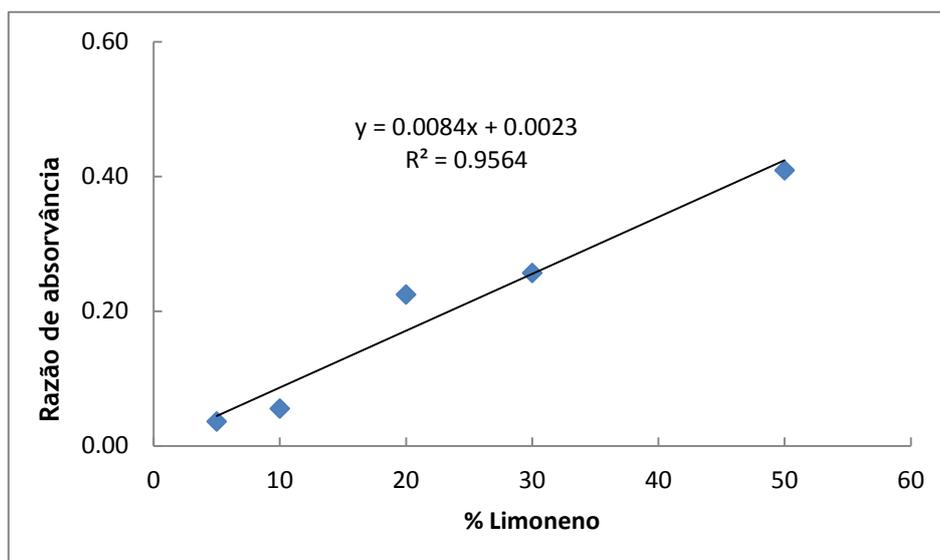


Figura A4 - Reta calibração para a razão das bandas H/J (910 cm⁻¹ / 720 cm⁻¹)