

FERNANDA VITÓRIA LEIMANN

**MICROENCAPSULAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE CAPIM
LIMÃO UTILIZANDO O PROCESSO DE
COACERVAÇÃO SIMPLES**

FLORIANÓPOLIS

2008

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO TECNOLÓGICO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

FERNANDA VITÓRIA LEIMANN

**MICROENCAPSULAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE CAPIM
LIMÃO UTILIZANDO O PROCESSO DE
COACERVAÇÃO SIMPLES**

Dissertação submetida à Universidade Federal de Santa Catarina como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Engenharia Química.

Orientador: Prof. Dr. Ariovaldo Bolzan
Co-orientador: Prof. Dr. Ricardo Antonio Francisco Machado

Florianópolis, fevereiro de 2008.

MICROENCAPSULAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE CAPIM LIMÃO UTILIZANDO O PROCESSO DE COACERVAÇÃO SIMPLES

Fernanda Vitória Leimann

“Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de Mestre em Engenharia Química, Área de Concentração em Modelagem, Controle e Otimização de Processos, e aprovada em sua forma final pelo programa de Pós-graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Catarina.”

Prof. Dr. Ariovaldo Bolzan

Orientador

Prof. Dr. Ricardo Antonio Francisco
Machado
Co-orientador

Prof. Dr. Agenor Furigo Jr.
Coordenador do Programa de Pós-graduação em Engenharia Química

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Ariovaldo Bolzan
Presidente da Banca

Prof. Dr. Ricardo Antonio
Francisco Machado

Profa. Dra. Sandra Regina
Salvador Ferreira

Profa. Dra. Claudia Sayer

Profa. Dra. Elenara Maria Teixeira
Lemos Senna

"Você poderia me dizer, por favor, qual caminho eu devo seguir?"
"Isso depende muito de onde você deseja chegar."

(Lewis Carroll em "Alice no País das Maravilhas")

Dedico este trabalho aos meus pais Hamilton e Edilia e à minha irmã Ana Carolina por todo amor, compreensão e apoio que me deram em todos os momentos da minha vida.

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me dado força e coragem para realizar e concluir este trabalho.

Aos meus pais Hamilton e Edilia e à minha irmã Ana Carolina por me incentivarem com muito amor para que meus desejos e planos se realizassem e por sempre terem acreditado em mim.

Ao Odinei pelo amor, carinho, paciência, companheirismo e por sempre estar me incentivando e ensinando.

Aos professores Dr. Ariovaldo Bolzan e Dr. Ricardo Antonio Francisco Machado pela orientação, suporte e oportunidade de crescimento pessoal e profissional.

Aos Professores Dr. Pedro Henrique Hermes de Araújo, Dra. Claudia Sayer e Dra. Elenara Maria Teixeira Lemos pelas idéias e sugestões.

À Aline Geremias Nunes e à Narriman de Siqueira pelo auxílio no desenvolvimento deste trabalho e pela amizade.

Ao Thiago Staudt e à Denise Esteves Moritz (Engebio) pela ajuda e paciência durante as análises no microscópio ótico.

Aos demais colegas do LCP pela amizade e companhia durante estes dois anos.

Aos membros da banca pela participação, contribuições e sugestões.

Ao CNPq pelo apoio financeiro.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABELAS	xi
SIMBOLOGIA.....	xiii
RESUMO.....	xv
ABSTRACT	xvi
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	3
2.1. Objetivo geral.....	3
2.2. Objetivos específicos.....	3
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
3.1. Microcápsulas.....	4
3.2. Coacervação simples ou “salting out”	7
3.3. Poli(álcool vinílico) - PVA.....	9
3.4. Hidrogéis.....	12
3.5. Fatores importantes na obtenção de microcápsulas	15
3.6. Óleo essencial de capim limão	17
4. MATERIAL E MÉTODOS	20
4.1. Reagentes	20
4.2. Determinação do ponto de turvamento.....	21
4.3. Produção das microcápsulas de PVA reticulado contendo óleo essencial de capim limão.....	21
4.4. Determinação do intumescimento do hidrogel.....	23
4.5. Caracterização morfológica das microcápsulas.....	24
4.6. Distribuição de tamanho de partícula (DTP).....	24
4.7. Viscosidade relativa do óleo essencial em função da temperatura	25
4.8. Liberação do óleo essencial	26
4.9. Identificação e quantificação dos compostos do óleo essencial (GC-MS).....	27
4.10. Determinação da concentração mínima inibitória (CMI)	27

4.11. Quantificação do glutaraldeído presente no meio reacional por HPLC	28
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
5.1. Turvamento das soluções de PVA.....	30
5.2. Efeito do tipo de PVA na microencapsulação	32
5.3. Efeito da razão de reticulação	35
5.4. Efeito da temperatura de reação	37
5.5. Adição de N ₂ no meio de reação	40
5.6. Efeito da fração volumétrica de óleo essencial.....	41
5.7. Efeito da taxa de agitação	47
5.8. Morfologia durante a microencapsulação	50
5.9. Estabilidade do sistema: adição de PVP e SDS	53
5.10. Análises complementares.....	56
5.10.1. Caracterização do óleo essencial de capim limão.....	57
5.10.2. Efeito da concentração de Na ₂ SO ₄ no intumescimento do hidrogel.....	60
5.10.3. Quantificação do glutaraldeído.....	61
5.10.4. Morfologia das microcápsulas após a volatilização do óleo essencial	63
6. CONCLUSÕES	64
7. SUGESTÕES	67
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68
ANEXOS	75
Anexo A: Memória de cálculo	75
Anexo B: Análise de DTP: estabilização das médias de diâmetro das microcápsulas	78
Anexo C: Laudos de análise	79

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura de uma microcápsula.....	5
Figura 2. Estágios da coacervação simples ou <i>salting out</i> . (A) dispersão da fase hidrofóbica na solução polimérica, (B) separação de fases do polímero, (C) formação da parede das microcápsulas e (D) enrijecimento da parede através de reticulação (Souza, 2006).	8
Figura 3. Estrutura química do PVA parcialmente e completamente hidrolisado (DeMerlis e Schoneker, 2003).	10
Figura 4. Estrutura química do glutaraldeído	13
Figura 5. Reticulação do PVA com glutaraldeído (adaptado de Praptowidodo, 2005).	14
Figura 6. Planta de <i>Cymbopogon citratus</i>	18
Figura 7. Imagem do turvamento de soluções de PVA.	31
Figura 8. Intumescimento do hidrogel para PVAs: (▲) 78.000 Da, 88% _M (R2) e (●) 6.000 Da e 80% _M (R5).....	33
Figura 9. DTP das microcápsulas para PVAs: (a) 78.000 Da, 88% _M (R2) e (b) 6.000 Da e 80% _M (R5).	34
Figura 10. Intumescimento do hidrogel ao longo da reação para (●) X = 0,01% _M e (■) X = 0,1% _M (R1 e R3, respectivamente).	35
Figura 11. Imagens das microcápsulas para (a) e (b) X = 0,01% _M ; (c) X = 0,1% _M (R8 e R9, respectivamente).....	36
Figura 12. Imagens das microcápsulas produzidas a (a) 45°C e (b) 50°C (R3 e R2, respectivamente).....	38
Figura 13. DTP das microcápsulas produzidas a (a) 45°C e (b) 50°C (R3 e R2, respectivamente).....	38
Figura 14. Viscosidade relativa do óleo essencial em função da temperatura.	40
Figura 15. Imagens das microcápsulas para as frações volumétricas de (a) 3,4% _{V/V} e (b) 7,4% _{V/V} com razão de reticulação de 0,01% _M (R11 e R9, respectivamente).	42

Figura 16. DTP das microcápsulas para as frações volumétricas de 3,4% _{v/v} (a) e 7,4% _{v/v} (b) com razão de reticulação de 0,01% _M (R11 e R9, respectivamente).....	43
Figura 17. Imagens das microcápsulas para as frações volumétricas de (a) 3,4% _{v/v} e (b) 7,4% _{v/v} com razão de reticulação de 0,1% _M (R15 e R8, respectivamente).	44
Figura 18. DTP das microcápsulas para as frações volumétricas de (a) 3,4% _{v/v} e (b) 7,4% _{v/v} com razão de reticulação de 0,1% _M (R15 e R8, respectivamente).	44
Figura 19. Percentual de liberação do óleo essencial das microcápsulas produzidas com fração volumétrica de (■) 3,4% _{v/v} , (+) 7,4% _{v/v} (R15 e R8, respectivamente) e (●) óleo essencial puro para X = 0,1% _M	45
Figura 20. Morfologia das microcápsulas produzidas com (a) 500 rpm, (b) 700 rpm e (c) 900 rpm com $\varphi = 3,4\%_{v/v}$, 50°C e X = 0,1% _M (R15, R16 e R17, respectivamente).47	47
Figura 21. DTP das microcápsulas produzidas a (a) 500 rpm, (b) 700 rpm e (c) 900 rpm com $\varphi = 3,4\%_{v/v}$, 50°C e X = 0,1% _M (R15, R16 e R17, respectivamente).	48
Figura 22. Percentual de liberação do óleo essencial das microcápsulas produzidas com taxa de agitação de (●) 500 rpm, (■) 700 rpm (R15 e R16, respectivamente) e (+) óleo essencial puro para X = 0,1% _M , $\varphi = 3,4\%_{v/v}$ e 50°C.	49
Figura 23. Imagens (a) da emulsão óleo/PVA, (b) após a adição de Na ₂ SO ₄ , (c) após a temperatura de reação atingir 50°C, (d) logo após a adição de GA, (e) na 1ª hora de reação, (f) 2ª hora de reação e (g) 3ª hora de reação.	51
Figura 24. Imagens dos aglomerados de microcápsulas (a) antes de serem submetidos a ultra-som e (b) após 1 hora em banho de ultra-som (reação R8).....	52
Figura 25. Imagens das microcápsulas obtidas nos experimentos (a) sem aditivo (R15), com PVP como estabilizante (b) 0,1% _{p/v} (R12) e (c) 0,4% _{p/v} (R13) e (d) com SDS como surfactante 0,03% _{p/v} (R14).	53
Figura 26. Intumescimento dos hidrogéis das microcápsulas produzidas com adição de PVP (♦) 0,1% _{p/v} , (+) PVP 0,4% _{p/v} , (■) SDS 0,03% _{p/v} e (●) sem aditivo e com 50°C, X = 0,1% _M e $\varphi = 3,4\%_{v/v}$ (R12, R13, R14 e R15, respectivamente).	54
Figura 27. DTP das microcápsulas produzidas (a) com SDS e (b) sem SDS (R14 e R15, respectivamente).....	54
Figura 28. Percentual de óleo essencial liberado: microcápsulas produzidas (■) com SDS 0,03% _{p/v} e (●) sem SDS (reações R14 e R15, respectivamente).....	55

Figura 29. Cromatogramas das amostras de (A) óleo essencial puro (B) óleo essencial microencapsulado (reação R18).	58
Figura 30. Intumescimento do hidrogel em função da concentração de Na_2SO_4 (PVA de 78.000 Da, 88% _M , $\varphi = 7,4\%_{\text{v/v}}$, $X = 0,1\%_{\text{M}}$ e 50°C, referente a R2)......	60
Figura 31. Cromatograma de quantificação de glutaraldeído no meio de reação das amostras de 1 hora de reação (amostra 1) e de 3 horas de reação (amostra 2) da reação R15.....	61
Figura 32. Concentração de glutaraldeído em função do tempo de reação (reação R15).	62
Figura 33. Imagens das microcápsulas após a volatilização do óleo essencial (R3).63	
Figura 34. Estabilização das médias dos diâmetros das microcápsulas para análise de DTP (R2, R3, R5, R8, R9 e R11).	78
Figura 35. Estabilização das médias dos diâmetros das microcápsulas para análise de DTP (R14, R15, R16 e R17).....	79

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Procedimentos para obtenção de microcápsulas (Ré (1998), Cardoso (2000) e Alvim (2005)).	5
Tabela 2. Técnicas de preparação de hidrogéis poliméricos (Hennink e Nostrum, 2001).	12
Tabela 3. Tipos de PVA avaliados na microencapsulação.	20
Tabela 4. Condições experimentais utilizadas na microencapsulação.	23
Tabela 5. Ponto de turvamento para soluções de PVA 2% _{p/v} em função da temperatura e proporção mássica PVA:Na ₂ SO ₄ .	31
Tabela 6. Intervalos de confiança para diâmetros das microcápsulas para PVAs: 78.000 Da, 88% _M e 6.000 Da e 80% _M (R2 e R5).	34
Tabela 7. Intumescimento do hidrogel das microcápsulas em função da temperatura de reação (PVA 78.000 Da e 88% _M).	37
Tabela 8. Intervalos de confiança para diâmetro das microcápsulas produzidas a 45°C (R3) e 50°C (R2).	38
Tabela 9. Intumescimento do hidrogel das microcápsulas em função da adição de N ₂ (R8 e R10).	41
Tabela 10. Intumescimento do hidrogel das microcápsulas para frações volumétricas de 3,4% _{v/v} e 7,4% _{v/v} e razão de reticulação de 0,01% _M e 0,1% _M (R8, R9, R11 e R15).	42
Tabela 11. Intervalos de confiança para diâmetros das microcápsulas para as frações volumétricas de 3,4% _{v/v} (R11) e 7,4% _{v/v} (R9) com razão reticulação de 0,01% _M .	43
Tabela 12. Intervalos de confiança para diâmetro das microcápsulas para as frações volumétricas de 3,4% _{v/v} (R15) e 7,4% _{v/v} (R8) com razão reticulação de 0,01% _M .	45
Tabela 13. Intervalos de confiança para diâmetros das microcápsulas produzidas a 500 rpm (R15), 700 rpm (R16) e 900 rpm (R17) com $\varphi = 3,4\%_{v/v}$, 50°C e X = 0,1% _M .	48
Tabela 14. Intervalos de confiança para diâmetros das microcápsulas produzidas com SDS 0,03% _{p/v} (R14) e sem SDS (R15).	55
Tabela 15. Percentual relativo dos compostos identificados por espectrometria de massas para o óleo essencial puro e óleo essencial microencapsulado (R18).	58

Tabela 16. CMI para o óleo essencial puro e o óleo essencial encapsulado (R18).59

SIMBOLOGIA

C_n	-	concentração de glutaraldeído
CMI	-	concentração mínima inibitória
DMSO	-	dimetil sulfóxido
DNPH	-	dinitrofenilhidrazina
DPPH	-	2,2-difenil-1-picril-hidrazil
DTP	-	Distribuição de tamanho de partícula
GA	-	glutaraldeído
GH	-	grau de hidrólise
GP	-	grau de polimerização
I	-	intumescimento do hidrogel
L	-	comprimento do tubo capilar
m_a	-	massa de óleo essencial total acumulada
m_t	-	massa acumulada de óleo essencial no tempo “t”
M_w	-	massa molar média
N_2	-	nitrogênio
NaOH	-	hidróxido de sódio
Na_2SO_4	-	sulfato de sódio
O	-	solução opaca
PM	-	peso molecular
PVAc	-	poli(acetato de vinila)
PVA	-	poli(álcool vinílico)
PVP	-	poli(pirrolidona vinílica)
r	-	raio do tubo capilar
SDS	-	dodecil sulfato de sódio
T	-	solução transparente
t_r	-	tempo de reação
V	-	volume de líquido escoando no tubo capilar no tempo “t”

$V_{\text{óleo}}$	-	volume de óleo essencial
X	-	razão de reticulação
φ	-	fração volumétrica de óleo essencial no meio reacional
η_i	-	viscosidade
η_{rel}	-	viscosidade relativa
ρ_{GA}	-	densidade do glutaraldeído

RESUMO

A microencapsulação é capaz de aumentar o tempo de vida útil de compostos voláteis, presentes em produtos alimentícios e cosméticos. No presente trabalho são apresentados os resultados da microencapsulação do óleo essencial de capim limão (*Cymbopogon citratus*) com poli(álcool vinílico) reticulado com glutaraldeído através da técnica de coacervação simples ou *salting out*. Foram avaliados quatro tipos de PVA com diferentes massas molares e graus de hidrólise. Os resultados experimentais mostraram que PVAs de elevado grau de hidrólise apresentam baixa ativação superficial, não estabilizando o óleo essencial e não formando microcápsulas. A distribuição de tamanho das microcápsulas apresentou estreitamento e deslocamento para faixas de diâmetro menores com o aumento da temperatura de reação, com a diminuição da fração volumétrica e com o aumento da taxa de agitação. A absorção de água, ou intumescimento, das microcápsulas foi diminuída com o aumento da razão de reticulação utilizada. A adição de nitrogênio ao meio de reação foi avaliada e os resultados indicaram que a taxa de reação foi maior. Foram testados um estabilizante, poli(pirrolidona vinílica) e um surfactante, dodecil sulfato de sódio, para evitar a reticulação entre as microcápsulas. Somente o dodecil sulfato de sódio mostrou-se eficiente. O óleo essencial de capim limão foi avaliado antes e após ser microencapsulado quanto a sua composição e atividade antimicrobiana, avaliada por concentração mínima inibitória. Não foram observadas alterações que pudessem comprometer a sua atividade antimicrobiana. A liberação do óleo essencial microencapsulado foi avaliada por hidrodestilação das microcápsulas e foi comparada à hidrodestilação do óleo essencial puro mostrando que o óleo encapsulado é liberado a uma taxa menor. Por fim o glutaraldeído foi quantificado através de HPLC em função do tempo de reação, mostrando que sua maior parte é consumida na primeira hora de reação.

Palavras-chave: microencapsulação, Poli(álcool vinílico), glutaraldeído, óleo essencial, capim limão, coacervação simples.

ABSTRACT

Shelf life of volatile compounds in food and cosmetic products can be increased by microencapsulation. This work presents the results of the lemongrass essential oil (*Cymbopogon citratus*) microencapsulation with poly(vinyl alcohol) cross-linked with glutaraldehyde through simple coacervation or salting out method. Four types of PVA with different molecular weight and hydrolysis degree were evaluated. The experimental results showed that highly hydrolysed PVAs had low superficial activation, not stabilizing the essential oil nor forming microcapsules. The microcapsules size distribution became narrower and was displaced toward smaller sizes with the increase of the reaction temperature, with the decrease of the volumetric fraction and with the increase in the stirring rate. Microcapsules water absorption, or swelling, was decreased with the increase in cross-linking ratio. Nitrogen feeding to reaction medium showed an increase in reaction rate. A stabilizing agent (poly(vinyl pyrrolidone)) and a surfactant (sodium dodecil sulfate) were tested to avoid cross-linking between microcapsules. Only sodium dodecil sulfate was efficient. Lemongrass essential oil was evaluated before and after microencapsulation in respect to composition and minimum inhibitory concentration (MIC). Changes that could compromise the antimicrobial activity were not observed. The microencapsulated essential oil release was evaluated by microcapsules hydrodistillation and was compared to pure essential oil hydrodistillation, showing that encapsulated oil is released in a lower rate. Finally glutaraldehyde was quantified by HPLC in relation to reaction time, showing that almost all glutaraldehyde was consumed in the first hour.

Keywords: microencapsulation, poly(vinyl alcohol), glutaraldehyde, essential oil, lemongrass, simple coacervation.

1. INTRODUÇÃO

A microencapsulação foi usada no passado para mascarar o gosto desagradável de determinados ingredientes e também converter simplesmente líquidos em sólidos. Gouin (2004) destaca que nos últimos anos o conceito de liberação controlada do ingrediente encapsulado no lugar certo e no tempo certo se tornou mais e mais interessante. A liberação controlada dos ingredientes pode assegurar a dosagem adequada e melhorar a eficácia de aditivos nos alimentos, ampliando a escala de aplicação.

Muitos agentes ativos presentes em cosméticos são compostos instáveis como os óleos essenciais, como o óleo essencial de capim limão. Estes óleos podem reagir com outros componentes da formulação, tornando-se irritantes para a pele, podendo também volatilizar-se ou simplesmente oxidar-se. A microencapsulação se torna uma alternativa viável para aumentar a estabilidade destes compostos e permitir sua liberação controlada.

A microencapsulação proporciona aos óleos essenciais um grande número de benefícios para que sejam aplicados em produtos têxteis, agrotóxicos, produtos farmacêuticos e cosméticos. O uso de óleos essenciais na sua forma convencional pode ser limitado nestas aplicações, devido à sua alta volatilidade, além disso, podem ocorrer alterações nas suas propriedades, pelas condições do meio de aplicação. A proteção proporcionada pela parede polimérica evita que durante o armazenamento prolongado, ocorram alterações químicas e organolépticas.

A tecnologia de liberação controlada representa uma das áreas de fronteira da ciência a qual envolve aproximação científica multidisciplinar, como discute Majeti (2000). Algumas funções das microcápsulas são citadas por Souza (2006), como a proteção de determinado composto ou material dos efeitos da radiação ultravioleta, umidade ou do contato com oxigênio. Também as reações químicas entre duas espécies ativas podem ser evitadas pela separação física oferecida pela parede polimérica encapsulante. A microencapsulação pode ainda modificar a cor, a forma, o volume ou a fotossensibilidade da substância encapsulada e mascarar odor e/ou sabor

desagradável de princípios ativos. Nota-se nestes exemplos que a microencapsulação envolve conceitos de diversas áreas como a farmacêutica, a médica e de engenharia.

Os hidrogéis podem ser produzidos através da reticulação de polímeros hidrofílicos com aldeídos como o glutaraldeído, podendo assim ser utilizados como parede para as microcápsulas. Estes hidrogéis são capazes de absorver água, porém não são solubilizados, protegendo os compostos que estão encapsulados. A técnica mais empregada para produção de microcápsulas de hidrogéis é a coacervação, que permite encapsular substâncias hidrofóbicas como os óleos essenciais.

Dentro deste contexto este trabalho foi realizado com o intuito de produzir microcápsulas que contivessem óleo essencial de capim limão (*Cymbopogon citratus*), por este apresentar propriedades antimicrobianas. Foi utilizado o poli(álcool vinílico) como parede polimérica das microcápsulas e a formação do hidrogel foi realizada pela reticulação do mesmo com o glutaraldeído. O estudo foi realizado com ênfase nas características morfológicas das microcápsulas, na distribuição de tamanho das mesmas, no intumescimento do hidrogel e nas propriedades do óleo essencial após a microencapsulação. O presente trabalho está estruturado da seguinte forma:

- (1) Objetivos;
- (2) Revisão bibliográfica;
- (3) Material e métodos;
- (4) Resultados e discussão;
- (5) Conclusões;
- (6) Sugestões;
- (7) Referências bibliográficas;
- (8) Anexos.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

O objetivo geral deste trabalho consiste na produção de microcápsulas contendo óleo essencial de capim limão (*Cymbopogon citratus*) de PVA reticulado com glutaraldeído por coacervação simples.

2.2. Objetivos específicos

- Determinar o tipo de PVA mais adequado à produção das microcápsulas;
- Estudar a influência da temperatura e da adição de nitrogênio na produção das microcápsulas;
- Avaliar a distribuição de tamanho e a morfologia das microcápsulas em função da fração volumétrica de óleo essencial e da taxa de agitação;
- Avaliar o intumescimento do hidrogel de PVA reticulado com glutaraldeído das microcápsulas em função da razão de reticulação utilizada;
- Estudar a liberação do óleo essencial de capim limão;
- Avaliar a composição do óleo essencial de capim limão puro e do óleo essencial microencapsulado;
- Avaliar a atividade antimicrobiana através de concentração mínima inibitória do óleo essencial de capim limão puro e do óleo essencial microencapsulado;
- Determinar o consumo de glutaraldeído em função do tempo de reação.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste capítulo será apresentada a revisão bibliográfica que dá embasamento teórico para o desenvolvimento do trabalho aqui apresentado. Inicialmente serão apresentadas, de forma geral, as microcápsulas, aplicáveis tanto a fármacos quanto a alimentos. Em seguida serão discutidas as características e propriedades do poli(álcool vinílico) e dos hidrogéis. Logo serão discutidos os fatores que influenciam a liberação a partir das microcápsulas e por fim serão apresentadas as características do óleo essencial de capim limão.

3.1. *Microcápsulas*

As microcápsulas são empregadas em diferentes setores da indústria, desempenhando muitas funções. A proteção proporcionada pela parede polimérica das microcápsulas aumenta o tempo de vida útil de um composto volátil, ou seja, o tempo de prateleira de muitos produtos alimentícios e cosméticos é ampliado. A microencapsulação é de grande interesse para a indústria de alimentos pois aumenta a estabilidade de óleos, flavorizantes, vitaminas, etc. Gouin (2004) relata que a indústria de alimentos espera aumentar as propriedades dos ingredientes dos alimentos e tais propriedades podem na maioria das vezes somente serem obtidas com material microencapsulado.

Basicamente, as microcápsulas são formadas por um núcleo líquido, ou sólido, contendo o ingrediente ativo e uma parede polimérica que confina o ingrediente ativo, controla sua liberação e protege o material de efeitos nocivos. Um exemplo de estrutura de microcápsula se encontra na Figura 1.

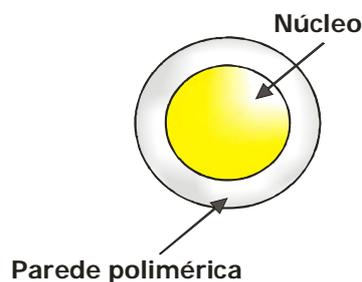


Figura 1. Estrutura de uma microcápsula.

A seleção da técnica de produção das microcápsulas bem como a definição do material formador da parede ou casca depende da função que as microcápsulas deverão desempenhar, do tamanho desejado, do meio de liberação e do material a ser encapsulado. Ré (1998), Cardoso (2000) e Alvim (2005) relatam que os procedimentos para obtenção das microcápsulas podem ser divididos nos grupos básicos apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Procedimentos para obtenção de microcápsulas (Ré (1998), Cardoso (2000) e Alvim (2005)).

Físico-químicos	Químicos	Físicos
- Coacervação simples ou complexa	- Polimerização interfacial	- “ <i>Spray drying</i> ”
- Separação por fase orgânica	- Inclusão molecular	- “ <i>Spray coating</i> ”
- Envolvimento lipossômico		- “ <i>Spray chilling</i> ”
		- Leito fluidizado
		- Extrusão
		- Centrifugação com múltiplos orifícios
		- Co-cristalização
		- Liofilização

De acordo com Nelson (2002), que trata da microencapsulação voltada para a indústria têxtil, o maior interesse na microencapsulação para este setor está atualmente

voltado para a aplicação de fragrâncias duráveis e hidratantes para pele em tecidos. Outras aplicações incluem repelentes de inseto, tinturas, vitaminas, agentes antimicrobianos e aplicações médicas, tais como antibióticos, hormônios e outras drogas.

As técnicas de microencapsulação e aplicações destas microcápsulas na indústria de alimentos são discutidas por Gouin (2004). De acordo com o autor, a tecnologia de leite fluidizado é uma maneira muito eficiente de aplicar uma camada uniforme de material encapsulador em partículas sólidas, sendo possível eficientemente processar partículas de 100 µm a alguns milímetros. A microencapsulação por extrusão é usada quase exclusivamente para o encapsulamento de flavorizantes e óleos voláteis e instáveis em matrizes de carboidrato. Um dos inconvenientes desta tecnologia é a formação de grandes partículas que limitam o uso de flavorizantes em aplicações onde o paladar é um fator crucial. O “*spray cooling/chilling*” é a tecnologia menos cara de encapsulamento e é usado rotineiramente para o encapsulamento de vários sais orgânicos, inorgânicos bem como para os ingredientes texturais, as enzimas, os flavorizantes e outros ingredientes funcionais para melhorar a estabilidade ao calor, retardar a liberação em ambientes úmidos, e/ou o converter ingredientes hidrofílicos líquidos em pós (sólidos). A tecnologia de “*spray drying*” é bem estabelecida, barata e direta, porém uma limitação dessa tecnologia é o número limitado dos materiais para encapsulação disponíveis. Quase todos os processos de *spray drying* na indústria de alimentos são realizados com formulações aquosas, logo o material da parede deve ser solúvel em água, em um nível aceitável.

A coacervação é usada tipicamente para encapsular óleos, óleos essenciais e flavorizantes. O conceito da microencapsulação por coacervação (simples ou complexa) é a separação das fases de um ou de muitos hidrocolóides da solução inicial e da deposição subsequente da fase recentemente formada em torno do ingrediente ativo suspenso ou emulsionado no meio da reação. Após este processo podem ser adicionados agentes reticulantes, formando o que é chamado de hidrogel. O poli(álcool vinílico) (PVA) é um polímero hidrofílico que pode ser utilizado como material de parede polimérica para em microcápsulas. O PVA deve ser reticulado para que possa ser utilizado em uma variedade de aplicações, especificamente nas áreas de ciências

médicas e farmacêuticas. A parede polimérica reticulada proporciona a proteção do material contido no núcleo das microcápsulas. A reticulação é uma forma de evitar a rápida dissolução dos polímeros solúveis em água. Caso não houvesse a reticulação no grau apropriado, as microcápsulas tenderiam a redissolver em água quando as condições de coacervação fossem revertidas (diminuição da temperatura ou da concentração salina do meio). Nos tópicos seguintes serão abordados mais amplamente os temas de coacervação e de produção de hidrogéis.

3.2. Coacervação simples ou “salting out”

De acordo com a definição da IUPAC (*“IUPAC Compendium of Chemical Terminology, eletronic version”*), a coacervação é a separação de duas fases líquidas em sistemas coloidais. A fase mais concentrada no componente coloidal é o coacervado, e a outra fase é a solução de equilíbrio.

Para que a separação de fases ocorra um eletrólito, como o sulfato de sódio, é adicionado à solução coloidal. Em geral, um aumento na concentração do eletrólito diminui a solubilidade das cadeias poliméricas na fase aquosa devido ao efeito “*salting out*”. Como resultado, unidades de repetição da mesma cadeia polimérica começam a interagir com as unidades de repetição mais próximas (da mesma cadeia), seguidos pela associação com cadeias vizinhas (formação de agregados). Na temperatura de separação de fases as cadeias poliméricas interagem através de forças de atração intensas e no caso da microencapsulação, os agregados poliméricos formados depositam-se ao redor das gotas da fase hidrofóbica dispersa, formando assim um filme protetor. A coacervação pode ocorrer quando toda solução de eletrólito é inicialmente adicionada e então a temperatura é gradualmente elevada atingindo então o ponto de turvamento (*“cloud point”*), ou mantendo-se a temperatura fixa e adicionando gradualmente a solução de eletrólito (Bachtsi e Kiparissides, 1996). Este processo pode ser observado na Figura 2, onde é apresentado um esquema dos estágios da

coacervação simples seguida da reticulação do polímero formador da parede polimérica.

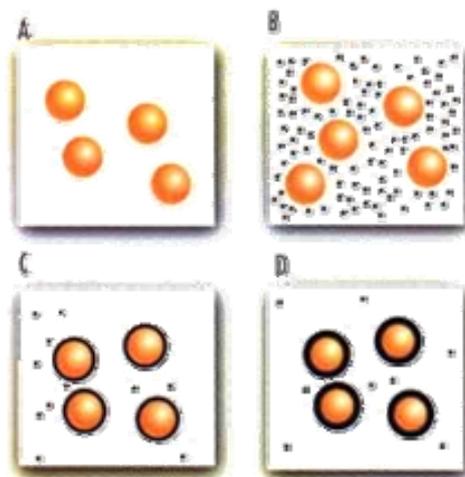


Figura 2. Estágios da coacervação simples ou *salting out*. (A) dispersão da fase hidrofóbica na solução polimérica, (B) separação de fases do polímero, (C) formação da parede das microcápsulas e (D) enrijecimento da parede através de reticulação (Souza, 2006).

Na Figura 2 (A) é representado o estágio inicial do processo onde somente existe a dispersão da fase hidrofóbica na solução polimérica. O estágio (B) mostra a separação de fase do polímero na solução aquosa, onde para determinada concentração de eletrólito, foi atingida a temperatura de separação de fases e o estágio (C) a formação da parede ao redor das gotas pela deposição dos agregados poliméricos na superfície do material hidrofóbico. O passo (D) representa o enrijecimento da parede polimérica com compostos capazes de formar ligações cruzadas com o polímero.

Já a coacervação complexa, de acordo com Ducel et al. (2004), é o processo de separação de fases baseada na desolvatação simultânea de polieletrólitos carregados opostamente induzida por modificações no meio. Esta separação de fases é dependente do pH, força iônica do meio e concentração do poli-íon. A gelatina é largamente utilizada na coacervação complexa associada a polissacarídeos que neutralizam suas cargas e assim formam um complexo. Normalmente a gelatina é positivamente carregada e a coacervação é induzida por colóides aniônicos como pectina, alginato, goma arábica e carboxi metil celulose.

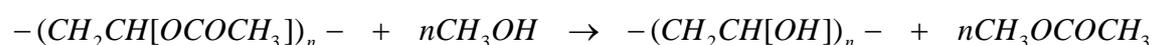
A produção de micropartículas coacervadas é pouco aplicável no caso da encapsulação de compostos hidrossolúveis, pois esses ficam dissolvidos na solução polimérica, não criando condições para a adsorção dos polímeros. Sendo assim, o núcleo fica fracamente retido na matriz sendo rapidamente liberado da cápsula (Schmitt et al., 1998).

A eficiência da microencapsulação por coacervação está associada às características dos polímeros envolvidos, do complexo formado e do núcleo a ser encapsulado. Tensão superficial do sistema, capacidade de adsorção dos polímeros ao núcleo disperso, polaridade do núcleo, viscoelasticidade do complexo, são propriedades de grande importância para a correta formação da parede e, conseqüentemente, interferem na eficiência de retenção do material. Em geral, compostos líquidos ou particulados de caráter hidrofóbico ou partículas sólidas de baixa solubilidade em água, são facilmente encapsulados por esse processo (Schmitt et al., 1998; Kruif et al., 2004).

A seguir serão apresentadas as propriedades e características do PVA, material empregado neste trabalho como parede das microcápsulas.

3.3. Poli(álcool vinílico) - PVA

O PVA foi obtido pela primeira vez em 1924, por Herrman e Haehnel, pela hidrólise do poli(acetato de vinila), que é a forma de obtenção comercial utilizada até hoje (Marten, 1985). O poli(álcool vinílico) é preparado pela hidrólise do poli(acetato de vinila) pois o monômero álcool vinílico somente existe na sua forma tautomérica, como acetaldeído. Embora a hidrólise deva ser realizada em condições ácidas, condições alcalinas na presença de um álcool são preferidas. (Sandler et al., 1998). A hidrólise do poli(acetato de vinila) (PVAc) é representada pela Equação 1.



Equação 1

O acetato de metila é um co-produto do processo. Em processos industriais, este produto é isolado por destilação como um azeotropo acetato de metil-metanol (Sandler et al., 1998). A reação de hidrólise não é completa, resultando em polímeros com certo grau de hidrólise que depende da extensão da reação e assim o PVA é sempre um copolímero de PVA e PVAc. O PVA possui uma estrutura química relativamente simples com um grupo hidroxil pendente como apresentado na Figura 3.

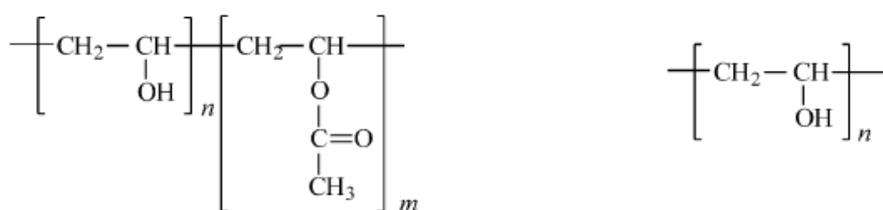


Figura 3. Estrutura química do PVA parcialmente e completamente hidrolisado (DeMerlis e Schoneker, 2003).

O grau de hidrólise e a massa molar são responsáveis por algumas características físico-químicas importantes do PVA. De acordo com Hassan e Peppas (2000), o grau de hidrólise, ou a quantidade de grupos acetato no polímero, tem um efeito global nas suas propriedades químicas, solubilidade e cristalização. Por exemplo, os graus de hidrólise e polimerização afetam a solubilidade do PVA em água. Para graus de hidrólise elevados a solubilidade do PVA aumenta com o aumento da temperatura. Os grupos hidrofóbicos residuais (acetato) afetam as pontes de hidrogênio intra e intermoleculares dos grupos hidroxil e também afetam a habilidade de cristalização do PVA. Faixas de hidrólise mais elevadas do PVA dificultam a sua cristalização bem como sua solubilização em água. PVAs de alto grau de hidrólise incham facilmente pela absorção de água porém não são dissolvidos. Takahashi, Honda e Ryocichi (2000) avaliaram o intumescimento de comprimidos de PVA, com grau de hidrólise entre 96 e 97,5 %, e obtiveram uma expansão de 500% a 37°C.

O PVA possui excelentes propriedades adesivas, de formação de filme e de emulsificação e também é resistente a óleos, graxas e solventes. O PVA é um material atático, ou seja, possui distribuição aleatória de suas unidades de repetição, porém exibe cristalinidade, suas cadeias formam regiões ordenadas tridimensionalmente,

denominadas de cristalitos. Possui elevada força elástica e flexibilidade e funciona como uma excelente barreira à permeação de aromas e oxigênio. Contudo estas propriedades são dependentes da umidade. A água age como um plastificante reduzindo sua força elástica (Marten, 1985).

O PVA é utilizado na indústria têxtil como agente de finalização e também pode ser incorporado na fabricação de vestimentas protetoras, sacos de lavanderia para os hospitais, esponjas, assim como em produtos de higiene. Também é largamente usado na fabricação de produtos de papel, sendo aplicado como agente de recobrimento fornecendo rigidez e sendo útil no selamento de caixas de papelão, por exemplo. O PVA é usado como espessante para tintas látex, colas brancas ou em outras misturas como cimentos baseados em gesso, como os usados para ladrilhos cerâmicos (DeMerlis e Schoneker, 2003).

Vários trabalhos abordam a polimerização em suspensão utilizando o PVA como estabilizante. Zerfa e Brooks (1996.a, b) estudaram a polimerização do cloreto de vinila, utilizando PVA e água como fase contínua, com diferentes concentrações da fase dispersa e condições de agitação. Chatzi e Kiparissides (1992) utilizaram PVA na concentração de 0,1 g/l como estabilizante na polimerização do estireno em suspensão. Konno et al. (1982) avaliaram os efeitos da concentração de PVA na distribuição de tamanho das partículas de poliestireno produzido em suspensão.

DeMerlis e Schoneker (2003) apresentaram uma revisão sobre a toxicidade do PVA em aplicações médicas e farmacêuticas onde as informações disponíveis na literatura científica foram avaliadas criticamente e concluíram que o PVA administrado oralmente é seguro além de ser conveniente no uso como revestimento para suplementos dietéticos e produtos farmacêuticos em forma de comprimidos e cápsulas. Em geral as aplicações do PVA na microencapsulação, sistemas de liberação controlada, membranas de pervaporação e aplicações biomédicas exigem que o PVA não seja solúvel em água, protegendo desta forma os compostos encapsulados ou incorporados. A absorção de água do PVA pode ser modificada através da formação de ligações cruzadas, produzindo assim um hidrogel. Estas aplicações serão citadas no item a seguir que trata de hidrogéis. Porém, alguns trabalhos utilizam o PVA sem reticulação. Morita, Honda e Takahashi (2000) desenvolveram um sistema de liberação

constituído de um núcleo em forma de comprimido contendo PVA e um agente de controle de intumescimento com um revestimento de material poroso para liberação do difumarato de emedastina. Rodrigues (1999) realizou a microencapsulação de rifampicina com sistema polimérico quitosana-PVA.

3.4. Hidrogéis

Certos materiais, quando em presença de água, são capazes de inchar rapidamente e reter grandes volumes de água nas suas estruturas. Estes materiais não se dissolvem na água e mantêm sua estrutura tridimensional. Tais estruturas de géis aquosos são chamadas hidrogéis. O termo hidrogel implica na situação em que material já está inchado na água. O hidrogel seco é chamado xerogel ou gel seco. Hennink e Nostrum (2001) descreveram e discutiram técnicas de preparação de hidrogéis, físicos e químicos, que são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Técnicas de preparação de hidrogéis poliméricos (Hennink e Nostrum, 2001).

Processo Químico	Processo Físico
- Polimerização radicalar	- Interações iônicas
- Reação química com grupos complementares (aldeídos; adição; condensação)	- Cristalização em sistemas homopoliméricos
- Aplicação de elevada energia de irradiação	- Interações protéicas
- Enzimas	- A partir de copolímeros de bloco e enxertados.
	- Pontes de hidrogênio

Nos géis reticulados quimicamente, ligações covalentes estão presentes entre diferentes cadeias poliméricas. Nos géis fisicamente reticulados, a dissolução é

prevenida por interações físicas, que existem entre diferentes cadeias poliméricas (Hennink e Nostrum, 2001).

Os hidrogéis podem ser usados como carreadores de fármacos (microcápsulas) que podem interagir com a mucosa do trato gastrointestinal, cólon, vagina, nariz e outras partes do corpo prolongando seu tempo de residência para liberação. De acordo com Peppas et al. (2000), a interação entre os hidrogéis e as glicoproteínas da mucosa provavelmente ocorre principalmente via pontes de hidrogênio. Portanto, materiais contendo uma densidade alta de grupos carboxílicos e hidroxílicos parecem ser promissores para este tipo de aplicação. Micromatrizes de liberação prolongada, baseadas em polímeros hidrofílicos, são de potencial interesse como forma de dosagem para medicamentos geriátricos e pediátricos (Gander, et al., 1989).

A utilização de hidrogéis em fase homogênea em produtos cosméticos é antiga, e conta com literatura vasta sobre seu uso em formulações como estabilizantes, texturizantes e excipientes. Porém, a sua utilização em fase heterogênea na encapsulação de agentes ativos para uso cosmético é relativamente recente, e segundo Oliveira (2004) a literatura sobre o assunto ainda é escassa.

O hidrogel de PVA é um exemplo de material não biodegradável que é produzido através de reações de reticulação com glutaraldeído, por exemplo, ou com outros dialdeídos. Alguns agentes comuns de ligações cruzada utilizados na preparação de hidrogéis incluem: glutaraldeído, acetaldeído, formaldeído e outros monoaldeídos. A estrutura química do glutaraldeído está representada na Figura 4. Segundo Bachtisi e Kiparissides (1996), quando estes agentes de ligação cruzada (ou de reticulação) são utilizados na presença de ácido sulfúrico, ácido acético e metanol, pontes de acetal se formam entre os grupos hidroxil pendentes das cadeias de PVA.



Figura 4. Estrutura química do glutaraldeído .

A reação de reticulação do PVA com glutaraldeído está representada na Figura 5.

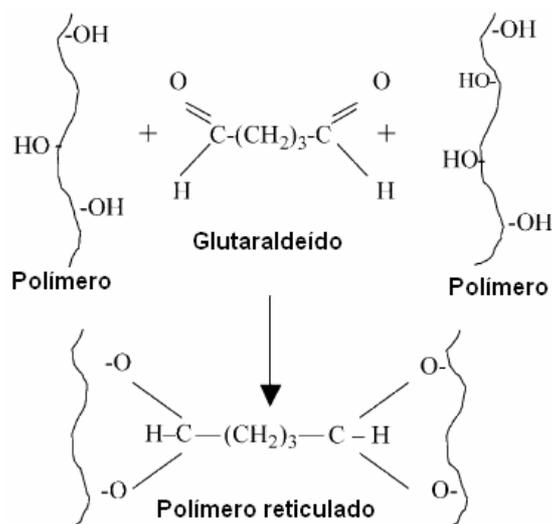


Figura 5. Reticulação do PVA com glutaraldeído (adaptado de Praptowidodo, 2005).

Vários estudos envolvendo estruturas de PVA e ou outros polímeros reticulados com glutaraldeído estão disponíveis na literatura sendo que alguns são apresentados a seguir. Peppas e Wright (1996) estudaram a difusão da teofilina, vitamina B12 e mioglobina através de membranas de PVA e Poli(ácido acrílico) reticuladas com glutaraldeído. Bachtzi e Kiparissides (1996) avaliaram a liberação controlada do óleo Santosol a partir de microcápsulas de PVA também reticulado com glutaraldeído. Bachtzi, Boutris e Kiparissides (1996) estudaram as características de distribuição de tamanho e morfologia de microcápsulas de óleo de silicone produzidas com diferentes tipos de PVA. Kim e Lee (1992) utilizaram um método de preparação de esferas grandes de poli(acetato de vinila) produzido em suspensão, onde uma dupla camada de revestimento era adicionada as esferas, sendo a primeira de PVA altamente reticulado e a segunda de PVA pouco reticulado com glutaraldeído. Neste trabalho foram estudadas como drogas modelo de liberação o acetaminofeno e a proxifilina. Hassan e Peppas (2000) e Paradossi et al. (2003) estudaram aplicações biomédicas para o hidrogel de PVA.

Praptowidodo (2005) estudou a separação de soluções etanol-água em membranas de PVA modificadas por meio de ligações cruzada com glutaraldeído. A autora observou que a reticulação com glutaraldeído diminui a hidrofiliabilidade do PVA e o fluxo através da membrana, pois existem espaços livres menores entre as cadeias poliméricas. Varshosaz e Koopaie (2006) produziram filmes de PVA reticulado com glutaraldeído e prolongaram a difusão de teofilina. Segundo os autores isto ocorreu devido à redução do tamanho da malha molecular do hidrogel proporcionada pela reticulação. A baixa absorção de água pelo hidrogel foi relacionada com as ligações cruzadas que impedem a mobilidade das cadeias de polímero, assim diminuindo a quantidade de água absorvida pelo polímero (Peppas e Wright, 1996). Quando o equilíbrio de absorção é atingido, a quantidade de água incorporada à estrutura tridimensional do hidrogel pode ser obtida gravimetricamente e calculada.

Os hidrogéis também podem ser preparados a partir de polímeros naturais, alguns exemplos utilizados para liberação controlada são: quitosana, alginato, colágeno, gelatina, ácido hialurônico e dextra. Embora os hidrogéis feitos de polímeros naturais não apresentem propriedades mecânicas adequadas e possam conter patógenos, eles oferecem várias propriedades vantajosas tal como biocompatibilidade inerente e biodegradabilidade. Os hidrogéis sintéticos, por outro lado, não possuem estas propriedades, porém polímeros sintéticos normalmente possuem estruturas bem definidas que podem ser modificadas para a obtenção de características de degradabilidade e funcionalidade (Lin e Metters, 2006).

3.5. Fatores importantes na obtenção de microcápsulas

A distribuição de tamanho das microcápsulas é um fator importante no desempenho e no controle na liberação e também na proteção do ativo encapsulado. Quanto maior a área superficial das microcápsulas, ou seja quanto menores forem seus diâmetros, mais rapidamente o ativo será liberado. O tamanho das microcápsulas no processo de coacervação simples pode ser controlado através da taxa de agitação

mantida durante o processo, pela viscosidade e fração volumétrica de material encapsulado e pelas características do material formador da parede polimérica das microcápsulas.

Bachtsi, Boutris e Kiparissides (1996) realizaram um estudo bastante completo da distribuição de tamanho de microcápsulas de PVA. Foram avaliados os fatores: taxa de agitação, viscosidade e fração volumétrica da fase interna, tipo de PVA e proporção mássica entre PVA e sulfato de sódio. Os autores observaram que, com o aumento da taxa de agitação, a distribuição de tamanho se desloca para diâmetros menores devido à associação da energia cinética turbulenta com o aumento no processo de quebra de gotas. Quanto às características da fase hidrofóbica, os autores observaram que a distribuição de tamanhos se torna mais estreita e diâmetros menores são obtidos com a diminuição da fração volumétrica e da viscosidade da fase dispersa. Para o tipo de PVA empregado, observaram que com o aumento da quantidade de grupos acetato (diminuição do grau de hidrólise) a resistência ao quebramento das gotas diminui permitindo que os diâmetros obtidos fossem menores. Hsieh, Chang e Gao (2006) observaram experimentalmente que com o aumento da taxa de agitação microcápsulas contendo óleo de citronela com diâmetros menores eram produzidos podendo aumentar assim a velocidade de liberação.

A reticulação também é um fator de grande importância nas microcápsulas produzidas com PVA pois influencia a absorção de água do hidrogel e conseqüentemente a difusão dos compostos através dos espaços da rede polimérica, ou seja, afeta tanto a liberação do material encapsulado quanto a sua proteção. Maji et al. (2007) concluíram que com o aumento da concentração de glutaraldeído as microcápsulas de gelatina reduziram significativamente a liberação do óleo de *Zanthoxylum limonella*. Bachtsi e Kiparissides (1996) observaram que o coeficiente de permeabilidade das microcápsulas diminui com o aumento da quantidade de glutaraldeído empregado na reticulação do PVA, ou seja, a proteção e a resistência ao transporte do material encapsulado aumenta. A espessura da parede polimérica, formada por PVA, também apresentou influência no coeficiente de permeabilidade, sendo esta dependente da quantidade de eletrólito indutor de separação de fase do PVA. O sulfato de sódio além de indutor de separação de fases foi utilizado como

inibidor do intumescimento das microcápsulas. Quando a força iônica do meio foi aumentada observou-se novamente a diminuição do coeficiente de permeabilidade, bem como a diminuição do intumescimento. Gohel e Amin (1999) e Chang et al. (2006) também avaliaram a liberação de compostos em função da reticulação com glutaraldeído e obtiveram resultados similares.

3.6. Óleo essencial de capim limão

Óleos essenciais e seus componentes vêm ganhando espaço e o interesse nas suas várias aplicações como produtos farmacêuticos, cosméticos, alimentícios, etc. Isto se deve à condição de segurança que apresentam por serem produtos naturais e possuírem larga aceitação por consumidores. Os óleos essenciais apresentam propriedades importantes como atividades antioxidante, antimicrobiana e antifúngica (Sachetti et al., 2005).

Entre as espécies reconhecidas como produtoras de óleo essencial anti-séptico presentes no ecossistema brasileiro, destacam-se alfavacão (*Ocimum gratissimum* L.), capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf.) e sálvia (*Salvia officinalis* L.). O óleo essencial de capim limão é constituído por mirceno, neral, geranial e outros compostos voláteis, sendo utilizado contra gripes, disenteria, dores de cabeça e também como calmante e antiespasmódico; além disso, possui atividade antimicrobiana (Pereira et al., 2004).

O capim limão ou *Lemongrass* (*Cymbopogon citratus*), apresentado na Figura 6, é conhecido popularmente como erva-cidreira, capim-cidreira, capim-cheiroso, capim-cidrilho ou capim-santo e é uma planta herbácea, aromática, perene, originária da Índia, de clima tropical, da família Gramineae (Poaceae).



Figura 6. Planta de *Cymbopogon citratus*

A atividade antimicrobiana do óleo essencial de capim limão foi avaliada por Onawunmi, Yisak, e Ogunlana (1984) que observaram, dentre seus três principais componentes, que o α -citrál (geranial) e o β -citrál (neral) apresentaram ação antimicrobiana isoladamente em organismos gram-negativos e gram-positivos. O terceiro componente, mirceno, não mostrou atividade observável quando isolado, no entanto quando misturado com qualquer um dos outros dois componentes identificados (geranial ou neral) foi observada uma atividade maior.

Sacchetti et al. (2005) compararam a atividade antioxidante e propriedades antimicrobianas de onze óleos essenciais com algumas peculiaridades, relacionado à composição química dos mesmos. Os autores utilizaram o óleo de *Thymus vulgaris* como referência. Os óleos essenciais que reduziram notavelmente os radicais livres de DPPH na análise de atividade anti-radicais livres foram *C. odorata*, *C. citratus*, *R. officinalis* e *C. longa*. Os resultados para a análise de difusão em disco para atividade antimicrobiana mostraram que os óleos de *C. citratus* e *T. x citriodorus* mostraram eficácia muito boa até mesmo melhor que do óleo referência, *T. vulgaris*. Segundo os autores, o geraniol e isômeros de citral provavelmente devem explicar tal eficácia.

Como discutido anteriormente, óleos essenciais são voláteis além de poderem ser oxidados. Desta forma a microencapsulação torna-se uma importante alternativa de estabilização destes óleos e também permite agregar valor aos produtos onde são inseridos, aumentando sua eficácia e prolongando sua ação. A estabilidade do material encapsulado após o processo de microencapsulação é muito importante.

Ramos (2006) comprovou a eficácia terapêutica das microcápsulas de goma arábica produzidas por *spray drying* que continham a fração volátil do óleo de copaíba, o qual possui como principal composto o β -cariofileno, responsável pela atividade antiinflamatória do mesmo. O autor demonstrou que o efeito inibitório da fração volátil do óleo de copaíba não encapsulado era a mesma da fração encapsulada.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Neste capítulo estão apresentados os reagentes que foram utilizados bem como os procedimentos adotados para os experimentos de microencapsulação e análises de caracterização das microcápsulas, da parede polimérica (hidrogel de PVA) e do óleo essencial.

4.1. Reagentes

Os PVAs utilizados neste trabalho foram adquiridos da Polysciences, Inc. A Tabela 3 apresenta os valores de grau de hidrólise e massa molar destes PVAs.

Tabela 3. Tipos de PVA avaliados na microencapsulação.

M_w [Da]	Grau de Hidrólise [% _M]
78.000	99,7
78.000	88
25.000	98
6.000	80

O óleo essencial de capim limão (Lemongrass), produzido através de hidrodestilação, foi adquirido da empresa Ferquima e suas características estão apresentadas no capítulo 9 (Anexos). O hidróxido de sódio p.a. utilizado para ajuste do pH das amostras e o dodecil sulfato de sódio (SDS) com 99% de pureza foram fornecidos pela Vetec. O ácido sulfúrico p.a. utilizado como catalisador da reticulação do PVA com o glutaraldeído foi fornecido pela Ecibra. A poli(pirrolidona vinílica) (PVP) de K30 com M_w igual a 40.000 Da foi fornecida pela Sigma-Aldrich. Os demais reagentes utilizados foram fornecidos pela Nuclear, sendo: ácido acético glacial p.a., etanol p.a., metanol p.a., solução de glutaraldeído (25%) e sulfato de sódio anidro p.a..

Nitrogênio fornecido pela White Martins foi utilizado em alguns experimentos para eliminar o oxigênio do meio reacional.

4.2. Determinação do ponto de turvamento

Para determinação do ponto de turvamento, onde ocorre a separação de fase do PVA, foram preparadas soluções aquosas com os tipos de PVA apresentados na Tabela 3, na concentração de 2%_{p/v}, e uma solução aquosa de sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄) na concentração de 20%_{p/v}. Em seguida foram colocados 15 ml de solução de PVA em diferentes tubos de ensaio que foram levados a um banho termocriostático (Microquímica MQBTC) com temperatura igual a 5°C. Em seguida a solução de Na₂SO₄ foi adicionada aos tubos de ensaio em volumes predeterminados de acordo com a proporção mássica entre PVA:Na₂SO₄ utilizada no teste (1:1, 1:2 ou 1:3). Após a homogeneização das misturas, a temperatura do banho termocriostático foi aumentada a uma taxa de 1°C/min e foi observado o comportamento do PVA a cada 5 °C, até que a mistura deixasse de apresentar transparência e se tornasse opaca. Este comportamento das soluções foi avaliado visualmente.

4.3. Produção das microcápsulas de PVA reticulado contendo óleo essencial de capim limão

Para produção das microcápsulas foram colocados 600 ml de solução aquosa de PVA 2%_{p/v} em um reator de borosilicato (FGG) encamisado de 1000 ml. Foi adicionado continuamente nitrogênio para remoção do oxigênio do meio reacional em alguns experimentos. Em seguida foi adicionado o óleo essencial de capim limão (em frações volumétricas de 3,4%_{v/v} ou 7,4%_{v/v}) e a mistura foi mantida a 10°C e com taxa de agitação igual a 500 rpm, 700 rpm ou 900 rpm por 20 minutos. Então foi adicionada a

solução de Na₂SO₄ 20%_{p/v}, sendo a proporção mássica entre PVA e Na₂SO₄ utilizada de acordo com a menor temperatura onde foi observado o ponto de turvamento. A temperatura então foi aumentada em 1°C/min até que o valor desejado para a reticulação fosse atingido (45°C ou 50°C) As temperaturas de reticulação utilizadas foram necessariamente maiores que a temperatura de turvamento, ou separação de fases. Após o sistema atingir a temperatura de reação, a solução de reticulação, composta por 0,17%_{v/v} de H₂SO₄, 16,7%_{v/v} de metanol, 5%_{v/v} de ácido acético glacial e solução de glutaraldeído 25% foi adicionada. A quantidade de solução de glutaraldeído 25% adicionada foi calculada de acordo com a razão de reticulação (X) descrita por Peppas e Wright (1996) que é apresentada na Equação 2.

$$X = \frac{\text{moles de GA}}{\text{moles hidrolisáveis de PVA por cadeia}} \quad \text{Equação 2}$$

Os experimentos de microencapsulação realizados são apresentados na Tabela 4, que mostra as condições experimentais empregadas. O procedimento de microencapsulação bem como as concentrações de PVA, fração volumétrica de óleo essencial e tempo de reação com do PVA com o glutaraldeído utilizados nos experimentos foram baseados principalmente nos trabalhos de Bachtisi, Boutris e Kiparissides (1996) e Bachtisi e Kiparissides (1996). Nas reações R11, R12 e R13 foram utilizados PVP ou SDS para avaliação da estabilidade das microcápsulas e estes foram adicionados 30 minutos após a adição do glutaraldeído. As concentrações de PVP e SDS foram utilizadas com base nos trabalhos de Gonçalves (2006) e Machado (2000) respectivamente. A mistura foi mantida por até 24 h. Ao final da reação o pH foi ajustado para aproximadamente 7,0 com solução 0,5 N de NaOH e as microcápsulas foram armazenadas sob refrigeração.

Tabela 4. Condições experimentais utilizadas na microencapsulação.

Reação	PVA	T [°C]	X [% _M]	φ [% _{V/V}]	Taxa de agitação [rpm]	t _r [h]	N ₂	PVP [% _{P/V}]	SDS [% _{P/V}]
R1	78.000 Da; 88% _M	45	0,01	7,4	500	24	-	-	-
R2	78.000 Da; 88% _M	50	0,1	7,4	500	24	-	-	-
R3	78.000 Da; 88% _M	45	0,1	7,4	500	24	-	-	-
R4	78.000 Da; 99,7% _M	50	0,01	7,4	500	10	-	-	-
R5	6.000 Da; 80% _M	50	0,1	7,4	500	10	-	-	-
R6	25.000 Da; 98% _M	50	0,01	7,4	500	10	-	-	-
R7	25.000 Da; 98% _M	50	0,01	3,4	500	3	X	-	-
R8	78.000 Da; 88% _M	50	0,1	7,4	500	3	X	-	-
R9	78.000 Da; 88% _M	50	0,01	7,4	500	3	X	-	-
R10	78.000 Da; 88% _M	50	0,1	7,4	500	3	-	-	-
R11	78.000 Da; 88% _M	50	0,01	3,4	500	3	X	-	-
R12	78.000 Da; 88% _M	50	0,1	3,4	500	3	X	0,1	-
R13	78.000 Da; 88% _M	50	0,1	3,4	500	3	X	0,4	-
R14	78.000 Da; 88% _M	50	0,1	3,4	500	3	X	-	0,03
R15	78.000 Da; 88% _M	50	0,1	3,4	500	3	X	-	-
R16	78.000 Da; 88% _M	50	0,1	3,4	700	3	X	-	-
R17	78.000 Da; 88% _M	50	0,1	3,4	900	3	X	-	-
R18	6.000 Da; 80% _M	50	0,1	7,4	500	10	-	-	-

4.4. Determinação do intumescimento do hidrogel

A determinação do intumescimento foi realizada através da retirada de uma amostra de cerca de 20 ml do meio de reação. O pH da amostra foi determinado com um pHmetro e então elevado para aproximadamente 7,0 com uma solução 0,5 N de NaOH. A amostra foi então seca em estufa de convecção forçada (Marconi MA035/5)

por 24 h a 60°C. Em seguida o aglomerado formado foi colocado em etanol para extração do óleo essencial por 24 h. Após este período o aglomerado foi novamente seco em estufa a 60°C e então colocado em água destilada onde permaneceu por mais 24 h. Após atingido o equilíbrio, o aglomerado foi colocado sobre um papel filtro para que o excesso de água fosse retirado. A amostra foi pesada em balança com precisão de 0,001 g (Gehaka BK300) sendo esta a massa de amostra úmida ou de polímero inchado. Após atingir massa constante, a massa de polímero seco foi determinada. O Intumescimento (I) do hidrogel de PVA pode ser calculado com a Equação 3.

$$I = \frac{(\text{massa polímero inchado} - \text{massa polímero seco})}{\text{massa polímero seco}} \quad [g_{H_2O} / g_{\text{polímero}}] \quad \text{Equação 3}$$

4.5. Caracterização morfológica das microcápsulas

Foi utilizado um microscópio ótico trinocular Bioval modelo L-2000A acoplado a uma câmera fotográfica Sony Cyber-shot (DSC-S650/S700). As imagens obtidas foram analisadas com aumentos de 40, 100 e 400 vezes.

4.6. Distribuição de tamanho de partícula (DTP)

Os diâmetros das microcápsulas foram determinados através das imagens obtidas no microscópio citado anteriormente, para tanto foi utilizado o *software Size Meter* (Size Meter, 2008). Em seguida a média dos diâmetros determinados no *software* foram avaliadas graficamente com relação ao número de medidas, até que um valor constante de média fosse obtido. Estas medidas estão apresentadas em no capítulo 9 (Anexos) na Figura 34 e na Figura 35. Em todos os casos a média estabilizou com

aproximadamente 250 microcápsulas então em todas as análises foram tomadas 300 microcápsulas para determinação da distribuição de tamanho de partícula (DTP) das microcápsulas. As medidas foram tomadas sempre com o mesmo aumento (100x). Também foram realizados testes de média (intervalos de confiança) para verificar diferença significativa entre as distribuições de tamanho.

4.7. Viscosidade relativa do óleo essencial em função da temperatura

A viscosidade relativa do óleo essencial de capim limão foi determinada experimentalmente em função da temperatura. No caso do escoamento laminar de um líquido através de um capilar a viscosidade é calculada pela equação de Poiseuille (Equação 4).

$$\eta = \frac{(\pi r^4 t P)}{8 V L} \quad \text{Equação 4}$$

Onde :

- P - Pressão hidrostática sobre o líquido;
- V - Volume do líquido que flui;
- r - Raio do capilar;
- L - Comprimento do capilar;
- t - Tempo de escoamento.

Então considerando a densidade constante pode-se calcular a viscosidade relativa do líquido, com a Equação 5.

$$\eta_{rel} = \frac{\eta_1}{\eta_2} = \frac{t_1}{t_2} \quad \text{Equação 5}$$

Como uma estimativa da variação da viscosidade do óleo essencial em função da temperatura, o tempo de escoamento no viscosímetro capilar Ubbelohde para 7 temperaturas na faixa de 35°C a 65°C foi avaliado. Como referência foi tomado o tempo de escoamento do óleo a 35°C (η_1).

4.8. Liberação do óleo essencial

A liberação do óleo essencial foi obtida através da hidrodestilação das microcápsulas em aparelho do tipo Clevenger. As microcápsulas foram filtradas sob vácuo (bomba vácuo Fisatom M830), lavadas triplamente com água destilada e uma vez com etanol para retirada do óleo essencial que não tenha sido microencapsulado. Em intervalos determinados de tempo o óleo essencial obtido foi retirado do aparelho e pesado em uma balança de precisão igual a 0,001 g (Gehaka BK 300). O procedimento foi repetido até não fosse observada mais extração de óleo das microcápsulas. A porcentagem liberada foi determinada com relação à massa total de óleo essencial acumulada como apresenta a Equação 6.

$$\% \text{ Liberado} = \frac{m_t \cdot 100}{m_a} \quad \text{Equação 6}$$

Onde:

- m_t - Massa de óleo acumulada no tempo "t" [g];
- m_a - Massa total de óleo acumulada [g].

4.9. Identificação e quantificação dos compostos do óleo essencial (GC-MS)

A análise de identificação e quantificação dos compostos do óleo essencial de capim limão foi realizada no Laboratório de Cromatografia do Instituto de Pesquisas Tecnológicas de Blumenau da FURB. Para tanto foi utilizado um cromatografo gasoso, modelo Varian CP-3800, acoplado a um espectrômetro de massas (GC-MS), modelo Saturn 2000. Foi utilizada uma coluna modelo CP-Sil 8 CB Low Bleed/MS (30 m x 0,25 mm). O gás de arraste utilizado foi hélio a vazão constante de 1 ml/min. As condições de temperatura utilizadas foram: temperatura do injetor de 250°C e à coluna foi aplicada temperatura de 50°C por 1 min e então esta foi elevada a 3°C/min até 240°C. No espectrômetro a temperatura utilizada no “*ion trap*” foi de 220°C, no “*manifold*” utilizou-se 80°C e na linha de transferência 240°C. Foi utilizado o software de gerenciamento *Saturn GC/MS Workstation 5.51*. Os compostos foram identificados por tentativa pela comparação do espectro de massas gerado pelo sistema com o espectro de massas da biblioteca NIST.

4.10. Determinação da concentração mínima inibitória (CMI)

A atividade antibacteriana foi avaliada através da determinação da concentração mínima inibitória (CMI) pelo método de microdiluição em caldo de cultivo. Esta análise foi realizada no Laboratório de Antibióticos do Departamento de Microbiologia e Parasitologia da Universidade Federal de Santa Catarina. Foram avaliados o óleo essencial puro e o óleo essencial microencapsulado, que foi extraído das microcápsulas por hidrodestilação. Foram adicionados 200 µl de dimetil sulfóxido (DMSO) a 200 µl de óleo essencial previamente esterelizado por autoclavação. Em seguida foram adicionado 600 µl de caldo Mueller- Hinton. Posteriormente foram preparadas diluições seriadas em concentrações na faixa de 89,3 mg/ml a 0,349 mg/ml. As diluições foram preparadas em placa de microdiluição de 96 furos com volumes de 100 µl. Como

controle de crescimento e de esterilidade foram utilizadas somente as misturas de meio de cultura e DMSO sem a adição de agentes antimicrobianos. Em cada orifício teste e de controle de crescimento foram adicionados 5 µl de inóculo bacteriano. As análises foram realizadas em duplicata e as placas foram incubadas por 24 horas a 36°C. A leitura das análises foi realizada primeiramente através da densidade ótica com uso de leitora de ELISA (modelo CLX800-BioTek Instrumentos, Inc.) e posteriormente com uso de 20 µl de revelador de crescimento bacteriano, o p-iodo nitro tetrazolium (INT – (2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5- phenyltetrazolium chloride diluído 1:1 em etanol).

A CMI foi considerada a menor concentração da substância que inibiu o crescimento bacteriano, sendo que a cor púrpura indica crescimento (Souza et al., 2005). Os resultados foram expressos em mg/ml.

4.11. Quantificação do glutaraldeído presente no meio reacional por HPLC

O padrão utilizado para a curva de calibração foi a própria solução de glutaraldeído 25% utilizada no trabalho. A análise foi realizada no Laboratório de Cromatografia do Instituto de Pesquisas Tecnológicas de Blumenau da FURB e a metodologia empregada na análise é referente ao trabalho de Menet et al. (1996). Para tanto foi utilizado um HPLC (modelo Varian Pro Star 230/310), uma coluna ChromSpher 5 C18 (250 X 4 mm), o software de gerenciamento *Star Chromatography Workstation 5.51*. O fluxo da fase móvel utilizado foi de 1 ml/min e a leitura foi feita em 355 nm. Para quantificação do glutaraldeído foi necessário realizar uma reação de derivatização, para isto procedeu-se da seguinte forma: em um vial com capacidade para 40 ml foram adicionados 10 ml de água destilada, 50 µl de amostra, 1 ml de solução 0,03 mol/l de dinitrofenilhidrazina (DNPH) preparada em acetonitrila e 10 µl de ácido clorídrico concentrado. O vial foi lacrado e aquecido a 70°C durante 30 min. A amostra então foi refrigerada e extraída três vezes com 1 ml de diclorometano. As fases orgânicas combinadas foram secas com Na₂SO₄ anidro, filtradas e concentradas a secura em evaporador rotatório a 40°C. O resíduo então foi suspenso em acetonitrila e aferido

para 5 ml. A solução resultante foi filtrada em membrana PTFE 0,45 μm e submetida à análise por cromatografia líquida de alta performance (HPLC).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Serão apresentados neste capítulo os resultados obtidos para a microencapsulação do óleo essencial de capim limão, onde o objetivo principal foi obter microcápsulas com características desejáveis, ou seja, sem aglomeração, com distribuição de tamanho estreita e bem definida e com boas características do hidrogel da parede polimérica, uma vez que destas características dependem a liberação e estabilidade do óleo essencial utilizado. Desta forma serão apresentadas as seguintes seções:

- (1) Turvamento das soluções de PVA;
- (2) Efeito do tipo de PVA na microencapsulação;
- (3) Efeito da razão de reticulação;
- (4) Efeito da temperatura de reação;
- (5) Adição de N₂ no meio de reação;
- (6) Efeito da fração volumétrica de óleo essencial;
- (7) Efeito da taxa de agitação;
- (8) Morfologia das microcápsulas ao longo da reação;
- (9) Estabilidade do sistema: adição de PVP e SDS;
- (10) Análises complementares.

5.1. Turvamento das soluções de PVA

A separação de fase do PVA ocorre em função da temperatura da solução e da concentração de eletrólito adicionado, massa molar e grau de hidrólise do polímero. Tal separação se caracteriza pelo turvamento da solução (Bachtsi e Kiparissides, 1996) como pode ser visto na Figura 7.



Figura 7. Imagem do turvamento de soluções de PVA.

Na Tabela 5 estão apresentados os resultados de turvamento para PVAs de diferentes graus de hidrólise e pesos moleculares, em diferentes concentrações de eletrólito (Na_2SO_4).

Tabela 5. Ponto de turvamento para soluções de PVA 2%_{p/v} em função da temperatura e proporção mássica PVA: Na_2SO_4 .

PVA	PVA: Na_2SO_4 [g:g]	5°C	10°C	15°C	20°C	25°C	30°C	35°C	40°C
78.000 Da 88% _M	1:1	T	T	T	T	T	T	T	O
	1:2	T	T	T	O	O	O	O	O
78.000 Da 99,7% _M	1:1	T	T	T	T	T	T	T	T
	1:3	T	T	T	O	O	O	O	O
6.000 Da 80% _M	1:1	T	T	T	T	T	T	O	O
	1:2	T	T	T	O	O	O	O	O
25.000 Da 98% _M	1:1	T	T	T	T	T	T	T	T
	1:3	T	T	T	T	T	T	O	O

T – Transparente;

O – Opaco.

Na Tabela 5 é possível observar que quanto maior a concentração de eletrólito em relação à massa de PVA, menor é a temperatura onde ocorre o turvamento. O PVA de 78000 Da e 99,7%_M apresentou separação de fase, dentro das condições estudadas somente na proporção mássica mais alta (1:3 a 20 °C). Este PVA possui elevada quantidade de grupos hidroxila, tendo assim maior afinidade com a fase aquosa e desta

forma faz-se necessária uma elevada concentração de eletrólito para que a separação de fases ocorra. Foi observado comportamento semelhante para o PVA de $M_w = 25.000$ Da e GH = 98%_M (turbamento com proporção mássica de 1:3 e 35°C).

Para os PVAs com grau de hidrólise iguais a 88%_M e 80%_M com a proporção mássica de 1:1 as temperaturas de separação de fases obtidas foram iguais a 40°C e 35°C respectivamente.

A seguir são apresentados os experimentos de microencapsulação que utilizam as proporções mássicas determinadas acima. Inicialmente foram realizados experimentos com duração de 24 horas com base na literatura. Alguns trabalhos onde este tempo de reticulação foi utilizado podem ser citados, como Bachtzi e Kiparissides (1996) realizaram reações de reticulação com glutaraldeído em microcápsulas de PVA e Gonçalves, et al. (2005) que produziram microcápsulas de quitosana reticulada com glutaraldeído.

5.2. Efeito do tipo de PVA na microencapsulação

Foram avaliados quatro tipos de PVA com diferentes graus de hidrólise e massas molares como já apresentado na Tabela 3. Os experimentos de microencapsulação onde foram utilizados os PVAs com grau de hidrólise mais elevados (99,7%_M e 98%_M) não apresentaram bons resultados (reações R4, R6 e R7). O óleo essencial não foi bem estabilizado e sua maior parte permaneceu livre no meio de reação, ou seja, não ocorreu de forma efetiva a formação da casca ao redor das gotas de óleo. Este comportamento foi avaliado visualmente durante o experimento. Lankveld e Lyklema (1972) (apud Bachtzi, Boutris, e Kiparissides, 1996) estudaram os efeitos da quantidade de grupos acetato e massa molar do PVA na adsorção do polímero para um sistema parafina-água. Eles mostraram que amostras de PVA com pequena quantidade de grupos álcool (ou seja, baixo grau de hidrólise) são mais superficialmente ativas que PVA com alto grau de hidrólise. Em relação a massa molar, também mostraram que

PVAs com elevada massa molar apresentam maior estabilização, devido à ativação superficial.

Com os tipos de PVA aqui testados foi possível observar somente o efeito do grau de hidrólise na estabilização e maior ativação superficial para os graus de hidrólise menores (88%_M e 80%_M), causando a diminuição da tensão interfacial.

A partir deste ponto os experimentos com os PVAs de 25.000 Da e 98%_M e de 78.000 Da e 99,7%_M foram descartados, devido à sua baixa eficiência na microencapsulação do óleo essencial.

O intumescimento do PVA de 78.000 Da e 88%_M (reação R2) e do PVA de 6.000 Da e 80%_M (R5) das microcápsulas, ambas produzidas nas condições de 50°C, X = 0,1%_M, fração volumétrica de 7,4%_{V/V} e 500 rpm são apresentados na Figura 8.

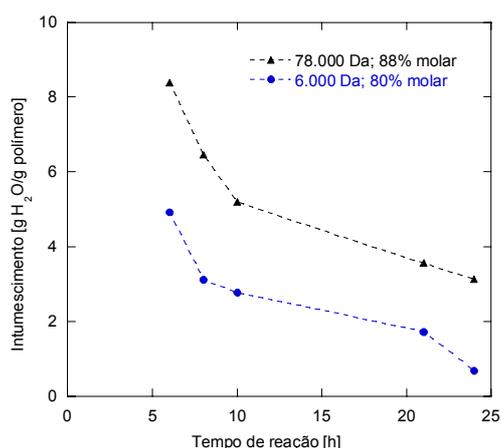
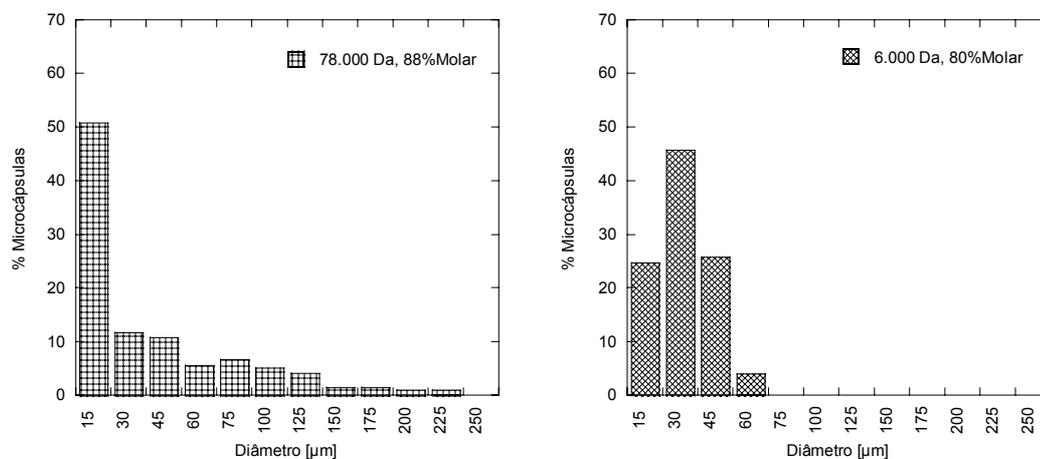


Figura 8. Intumescimento do hidrogel para PVAs: (▲) 78.000 Da, 88%_M (R2) e (●) 6.000 Da e 80%_M (R5).

As DTPs para o PVA de 78.000 Da e 88%_M e para o PVA de 6.000 Da; 80%_M, referentes aos experimentos R2 e R5 respectivamente, são apresentadas na Figura 9 e os intervalos de confiança dos diâmetros das microcápsulas são apresentados na Tabela 6.

(a) 78.000 Da e 88 %_M (R2)(b) 6.000 Da e 80 %_M (R5)Figura 9. DTP das microcápsulas para PVAs: (a) 78.000 Da, 88%_M (R2) e (b) 6.000 Da e 80%_M (R5).Tabela 6. Intervalos de confiança para diâmetros das microcápsulas para PVAs: 78.000 Da, 88%_M e 6.000 Da e 80%_M (R2 e R5).

PVA	Reação	Confiança -95% [μm]	Diâmetro Médio [μm]	Confiança +95% [μm]	Desvio Padrão [μm]	Erro [μm]
78.000 Da 88 % _M	(R2)	30,3	35,0	39,9	42,3	3,0
6.000 Da 80 % _M	(R5)	22,3	25,0	27,6	23,6	0,9

É importante notar que as análises de intumescimento ao longo do tempo fornecem informações sobre a reação, pois quanto menor o intumescimento maior a extensão da reação. Para ambos os PVAs analisados (Figura 8) o intumescimento diminui com o tempo o que é esperado, devido à formação das reticulações.

O PVA de 6.000 Da / 80%_M (R5) apresentou menor intumescimento que o PVA de 78.000 Da / 88%_M (R2) de acordo com os resultados apresentados na Figura 8. O PVA de 80%_M possui menor quantidade de grupos hidroxila, apresentando assim menor afinidade pela água.

Com relação à DTP apresentada na Figura 9, de acordo com Bachtisi, Boutris, e Kiparissides (1996), tipos de PVA com alta massa molar e parcialmente hidrolisados adsorvem de maneira mais forte à interface óleo/água, e assim diminuem a tensão interfacial do sistema produzindo gotas menores. Além disso, o diâmetro médio das gotas também pode ser diminuído pelo aumento de grupos acetato, ou seja, pela

diminuição do grau de hidrólise. Uma quantidade maior de grupos acetato diminui a resistência ao quebramento das gotas de óleo, permitindo assim que ocorra a diminuição do seu diâmetro médio. O PVA de grã de hidrólise igual a 80%_M quando comparado ao de 88%_M apresentou este comportamento, ou seja, foi observada uma contribuição maior do grau de hidrólise do que da massa molar.

Com os valores apresentados na Tabela 6, é possível concluir que existe diferença significativa entre os diâmetros das microcápsulas produzidas com os diferentes PVAs.

5.3. Efeito da razão de reticulação

O efeito da razão de reticulação foi estudado com intuito de verificar o comportamento do intumescimento do hidrogel de PVA. O intumescimento do hidrogel obtido em função do tempo de reação é apresentado na Figura 10, para as microcápsulas produzidas com PVA de 78.000 Da e 88%_M, a 45°C, fração volumétrica de 7,4%_{V/V}, 500 rpm por 24 horas sendo que na reação R1 foi utilizado 0,01%_M de reticulação e 0,1%_M na reação R2.

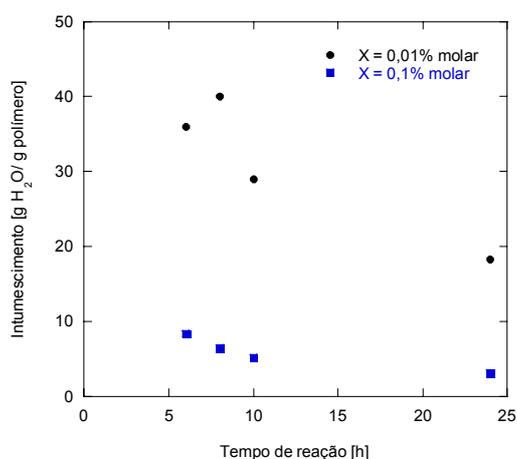


Figura 10. Intumescimento do hidrogel ao longo da reação para (●) X = 0,01%_M e (■) X = 0,1%_M (R1 e R3, respectivamente).

Na Figura 11 é apresentada a morfologia das microcápsulas produzidas em função da razão de reticulação: 0,01%_M (R8) e 0,1%_M (R9), ambas produzidas com $\varphi = 7,4\%_{v/v}$, 500 rpm, 50°C e adição de N₂, com aumento de 100 vezes. A amostra de microcápsulas produzidas com X = 0,01%_M foi observada por 5 minutos no microscópio como mostra a Figura 11 (b).

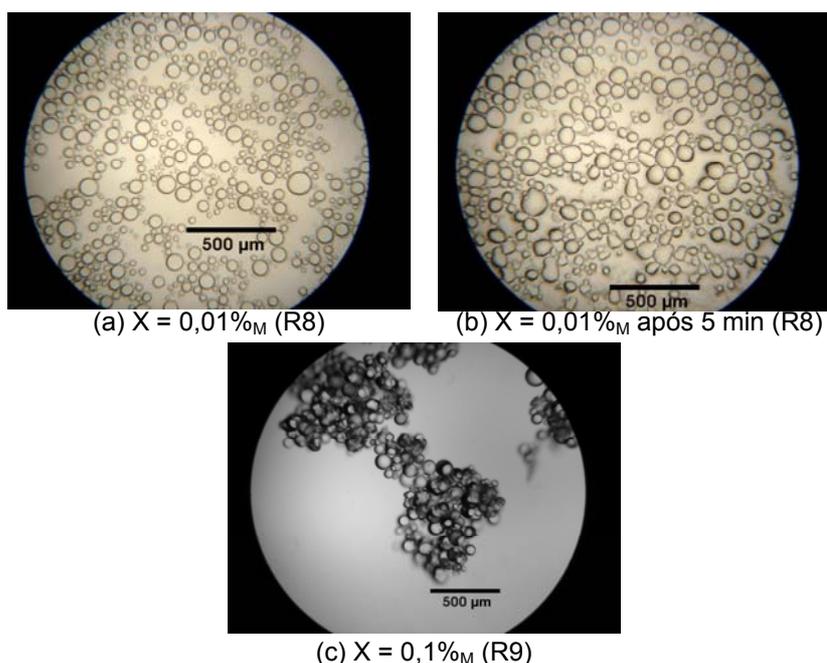


Figura 11. Imagens das microcápsulas para (a) e (b) X = 0,01%_M; (c) X = 0,1%_M (R8 e R9, respectivamente).

Na Figura 10 é possível observar que com o aumento da razão de reticulação a absorção de água do hidrogel foi menor. A diminuição do intumescimento do hidrogel assim como o aumento da razão de reticulação, foi da ordem de 10 vezes. As amostras anteriores a 6 horas de reação dissolveram-se na água durante a análise. Alguns autores também avaliaram o comportamento do hidrogel em função da razão de reticulação e observaram comportamentos semelhantes ao observado na Figura 10. Como exemplo, Praptowidodo (2005) estudou o intumescimento de membranas baseadas em PVA em função do tempo de reação com glutaraldeído e observou que o aumento da concentração de glutaraldeído influencia a extensão da reação de reticulação além de diminuir o intumescimento do hidrogel. Varshosaz e Koopaie (2002)

observaram que baixas razões de reticulação causam aumento significativo nas propriedades de intumescimento do hidrogel de PVA.

O aspecto final das microcápsulas está apresentado na Figura 11. As microcápsulas com a razão de reticulação maior mostraram formas esféricas bem definidas confirmando o enrijecimento do hidrogel, apesar dos aglomerados, que serão discutidos mais adiante. Para a razão de reticulação igual a 0,01%_M é visível que em um curto período de tempo as microcápsulas deformaram-se, como pode ser observado na Figura 11 (b). Esta condição de microencapsulação produz microcápsulas sem rigidez suficiente. Os resultados obtidos para a razão de reticulação de 0,01%_M tanto de intumescimento quanto de morfologia não são desejáveis.

5.4. Efeito da temperatura de reação

A variação na temperatura dos experimentos foi utilizada com intuito de verificar se há alguma influência na reticulação do PVA e na distribuição de tamanho das microcápsulas. A Tabela 7 apresenta o intumescimento do hidrogel produzido nas temperaturas de 45°C e 50°C (reações R3 e R2, respectivamente), e em 24 horas de reação do PVA de 78.000 Da, 88%_M com razão de reticulação de 0,1%_M as taxa de agitação de 500 rpm e fração volumétrica de 7,4%_{v/v} para ambas as reações.

Tabela 7. Intumescimento do hidrogel das microcápsulas em função da temperatura de reação (PVA 78.000 Da e 88%_M).

T [°C]	Reação	Intumescimento [g _{H2O} /g _{polímero}]
45	R3	2,6
50	R2	3,1

A morfologia das microcápsulas obtidas para 45°C (R3) e para 50°C (R2) é apresentada na Figura 12 com aumento de 40 vezes.

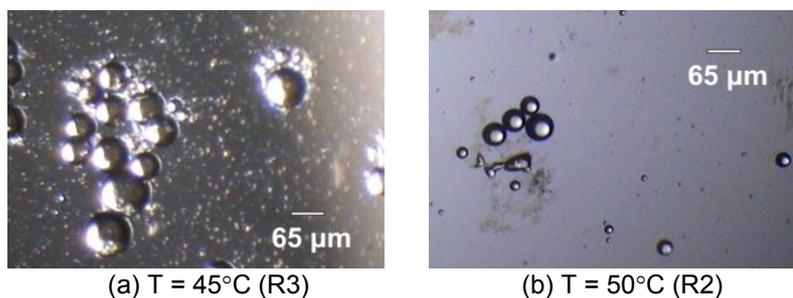


Figura 12. Imagens das microcápsulas produzidas a (a) 45°C e (b) 50°C (R3 e R2, respectivamente).

A DTP em função da temperatura do experimento para o PVA de 78.000 Da e 88%_M é apresentada na Figura 13. Os intervalos de confiança para os diâmetros das microcápsulas em função da temperatura são apresentados na Tabela 8 juntamente com as médias e desvio padrão.

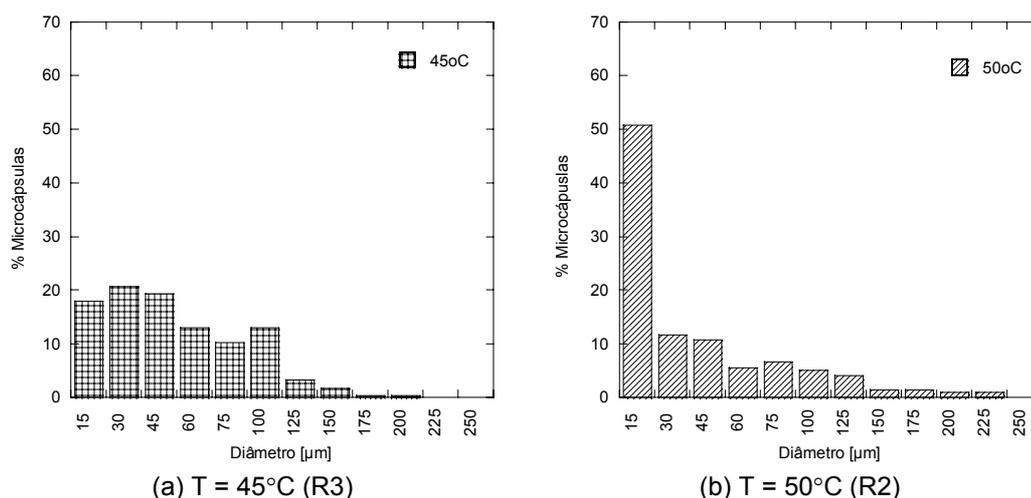


Figura 13. DTP das microcápsulas produzidas a (a) 45°C e (b) 50°C (R3 e R2, respectivamente).

Tabela 8. Intervalos de confiança para diâmetro das microcápsulas produzidas a 45°C (R3) e 50°C (R2).

T [°C]	Reação	Confiança -95% [µm]	Diâmetro Médio [µm]	Confiança +95% [µm]	Desvio Padrão [µm]	Erro [µm]
45	R3	41,6	45,3	49,0	32,6	1,9
50	R2	30,3	35,0	39,9	42,3	3,0

Com a Tabela 7 é possível concluir que na faixa estudada não foi observada alteração no intumescimento dos hidrogéis em função da temperatura, em função da baixa precisão da análise que somente mostra um indicativo da extensão da reação. Peppas e Wright (1996) produziram hidrogéis de PVA onde a reticulação foi realizada a

60°C. No trabalho aqui apresentado optou-se por não utilizar temperaturas de reticulação muito altas, já que existe a necessidade de que essa temperatura seja pelo menos igual à temperatura de separação de fases, a fim de evitar uma possível volatilização ou oxidação do óleo essencial durante o processo.

Para os dois experimentos as microcápsulas mostraram morfologia esférica bem definida, como pode ser visto na Figura 12. Também são observados aglomerados de PVA.

A distribuição apresentada na Figura 13 mostra uma larga faixa de diâmetros para as duas condições estudadas. É observado um aumento na quantidade de microcápsulas menores que 30 μm na temperatura de 50°C. De acordo com os intervalos de confiança apresentados na Tabela 8, existe diferença significativa entre as microcápsulas produzidas nas temperaturas de 45°C e 50°C. Isto provavelmente ocorreu em função da diminuição da viscosidade do óleo essencial em função da temperatura. Chatzi et al. (1991.a, b) estudaram o sistema constituído de estireno (1%_{v/v}) disperso em água e estabilizado com 0,1%_{p/v} de PVA e observaram que acréscimos na temperatura provocaram uma redução de tamanho e estreitamento do maior modo da distribuição.

Para verificar se este comportamento observado na distribuição de tamanho das microcápsulas é realmente função da viscosidade do óleo essencial foram feitas medidas do tempo de escoamento do óleo em função da temperatura em um viscosímetro Ubbelohde. Assim foi calculada a viscosidade relativa do óleo essencial em função da temperatura como pode ser visto na Figura 14.

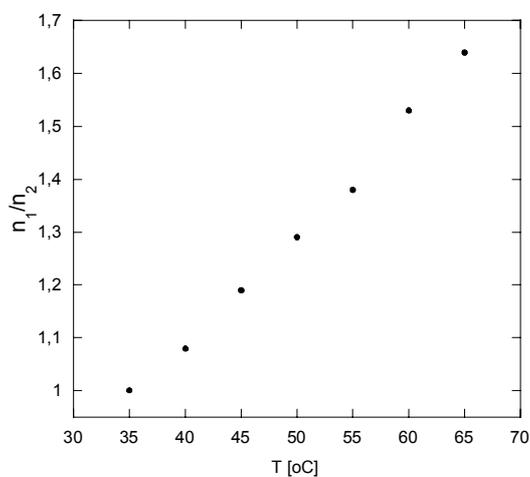


Figura 14. Viscosidade relativa do óleo essencial em função da temperatura.

Como pode ser observado na Figura 14, ocorre uma diminuição de aproximadamente 10% na viscosidade entre as temperaturas de 45°C e 50°C. A viscosidade dos líquidos é muito sensível à temperatura (Reid e Sherwood, 1968). Esta diferença na viscosidade pode explicar o maior quebramento das gotas e a conseqüente produção de cápsulas menores. Bachtzi, Boutris e Kiparissides (1996) afirmam que líquidos de alta viscosidade, quando mantidos sob agitação, exibem uma grande resistência ao quebramento e deformação do que líquidos pouco viscosos. Conseqüentemente eles formam gotas grandes. Em geral é observado um deslocamento na DTP quando a viscosidade interna é elevada. Desta forma o tamanho final das microcápsulas está relacionado à temperatura de microencapsulação.

5.5. Adição de N_2 no meio de reação

Foi estudado o comportamento da reticulação com a adição de nitrogênio ao meio de reação. A literatura não reporta o uso de nitrogênio durante a reticulação com glutaraldeído. Como usualmente o nitrogênio é utilizado com a função de expulsar o oxigênio do meio reacional, no caso de reações de polimerização que são inibidas pela

presença de oxigênio, decidiu-se realizar um teste durante a reticulação das microcápsulas.

O intumescimento das microcápsulas das reações com nitrogênio (reação R8) e sem nitrogênio (R10) é apresentado na Tabela 9. As demais condições experimentais utilizadas foram: PVA de 78.000 Da e 88%_M, 50°C, taxa de agitação de 500 rpm e razão de reticulação de 0,1%_M para ambas as reações.

Tabela 9. Intumescimento do hidrogel das microcápsulas em função da adição de N₂ (R8 e R10).

Adição de N ₂	Reação	Intumescimento [g _{H2O} /g _{polímero}]
Sim	R8	1,1
Não	R10	10,8

Os resultados obtidos sugerem que a reticulação do PVA com o glutaraldeído é influenciada pela adição de N₂, devido ao aumento na taxa de reação. Isto representa, além da diminuição do tempo de reação, uma garantia de que o glutaraldeído é consumido rapidamente, evitando que seus resíduos permaneçam em excesso. Com esta avaliação foi possível reduzir o tempo de reticulação das microcápsulas de 24 horas para 3 horas de processo.

5.6. Efeito da fração volumétrica de óleo essencial

Uma forma de modificar a distribuição de tamanho das microcápsulas é alterando a fração volumétrica do óleo essencial. Esta alteração gera mudanças principalmente na sua liberação. Para estudar este comportamento foram utilizadas as frações volumétricas de 3,4%_{V/V} e 7,4%_{V/V} nos experimentos com razão de reticulação de 0,01%_M e 0,1%_M. As demais condições experimentais utilizadas foram: temperatura igual a 50°C, taxa de agitação de 500 rpm e 3 horas de reação. A Tabela 10 apresenta o grau de intumescimento para as frações volumétricas em função da razão de reticulação. A morfologia das microcápsulas de razão de reticulação igual a 0,01%_M

para as frações volumétricas de 7,4%_{v/v} e 3,4%_{v/v}, reações R9 e R11 respectivamente, é apresentada na Figura 15.

Tabela 10. Intumescimento do hidrogel das microcápsulas para frações volumétricas de 3,4%_{v/v} e 7,4%_{v/v} e razão de reticulação de 0,01%_M e 0,1%_M (R8, R9, R11 e R15).

X [% _M]	φ [% _{v/v}]	Reação	Intumescimento [g _{H2O} /g _{polímero}]
0,01	3,4	R11	39,3
	7,4	R9	40,2
0,1	3,4	R15	4,0
	7,4	R8	1,1

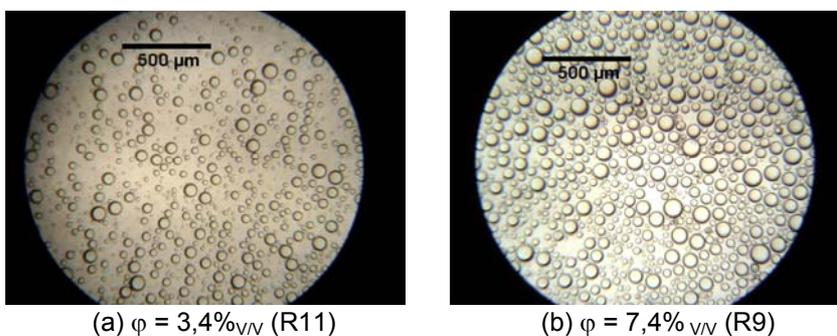


Figura 15. Imagens das microcápsulas para as frações volumétricas de (a) 3,4%_{v/v} e (b) 7,4%_{v/v} com razão de reticulação de 0,01%_M (R11 e R9, respectivamente).

Na Figura 16 são apresentadas as DTPs das microcápsulas produzidas com razão de reticulação de 0,01%_M para as frações volumétricas de 7,4%_{v/v} e 3,4%_{v/v}, reações R9 e R11 respectivamente. A Tabela 11 mostra os intervalos de confiança para os diâmetros as mesmas microcápsulas.

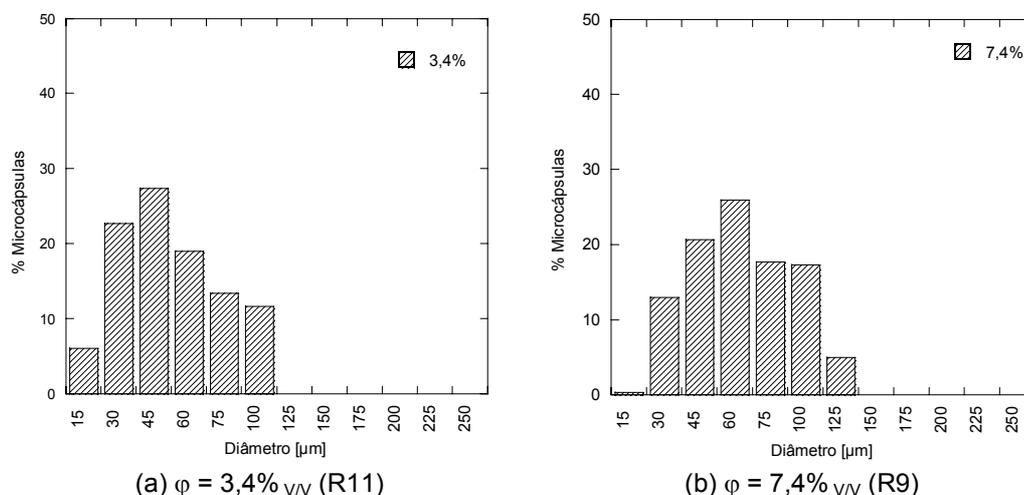


Figura 16. DTP das microcápsulas para as frações volumétricas de 3,4%_{v/v} (a) e 7,4%_{v/v} (b) com razão de reticulação de 0,01%_M (R11 e R9, respectivamente).

Tabela 11. Intervalos de confiança para diâmetros das microcápsulas para as frações volumétricas de 3,4%_{v/v} (R11) e 7,4%_{v/v} (R9) com razão reticulação de 0,01%_M.

φ [% _{v/v}]	Reação	Confiança -95% [μm]	Diâmetro Médio [μm]	Confiança +95% [μm]	Desvio Padrão [μm]	Erro [μm]
3,4	R11	48,0	50,4	52,8	21,3	1,3
7,4	R9	53,8	56,4	58,9	22,7	1,2

Mantendo-se a mesma razão de reticulação, a Tabela 10 indica que valores semelhantes de intumescimento foram encontrados para as frações volumétricas avaliadas. Os hidrogéis das microcápsulas de razão de reticulação mais baixa apresentam elevada absorção de água.

Na Figura 15 é possível observar que a fração volumétrica mais baixa produziu microcápsulas menores. Não ocorreu aglomeração das microcápsulas devido à baixa reticulação utilizada. Como já mencionado anteriormente, algumas horas após o armazenamento as microcápsulas deformaram-se.

Analisando a Figura 16 é observado um deslocamento da faixa de diâmetros. No caso da fração volumétrica de 7,4%_{v/v} foram obtidas microcápsulas de até 150 μm. Por outro lado, para 3,4%_{v/v} foram obtidas microcápsulas de no máximo 125 μm e a distribuição tornou-se mais estreita. Na Tabela 11, os intervalos de confiança mostram que existe diferença significativa entre os diâmetros para as frações volumétricas estudadas.

A morfologia das microcápsulas produzidas com razão de reticulação de 0,1%_M para as frações volumétricas de 7,4%_{V/V} e 3,4%_{V/V}, reações R8 e R15 respectivamente, é apresentada na Figura 17. As DTPs das microcápsulas produzidas com razão de reticulação de 0,1%_M para as frações volumétricas de 3,4%_{V/V} e 7,4%_{V/V}, reações R15 e R8 respectivamente, são apresentadas na Figura 18. Os intervalos de confiança dos diâmetros obtidos são apresentados na Tabela 12 e a porcentagem liberada de óleo essencial das microcápsulas produzidas com razão de reticulação de 0,1%_M em função da fração volumétrica é apresentada na Figura 19.

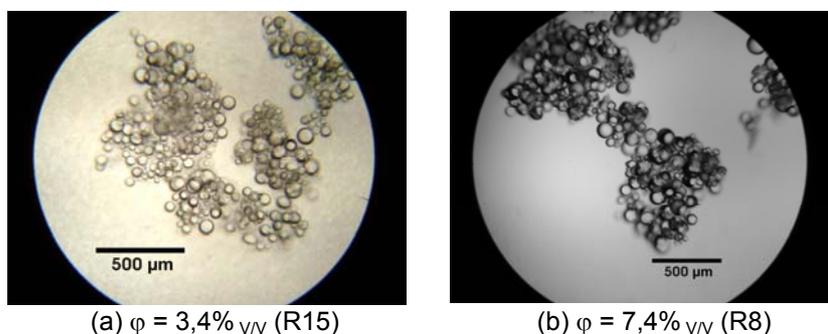
(a) $\phi = 3,4\%_{V/V}$ (R15)(b) $\phi = 7,4\%_{V/V}$ (R8)

Figura 17. Imagens das microcápsulas para as frações volumétricas de (a) 3,4%_{V/V} e (b) 7,4%_{V/V} com razão de reticulação de 0,1%_M (R15 e R8, respectivamente).

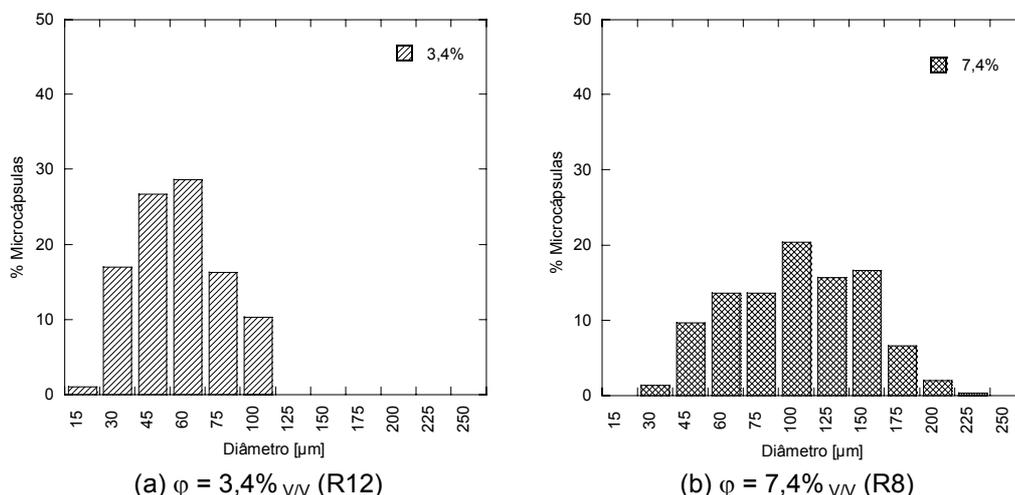
(a) $\phi = 3,4\%_{V/V}$ (R12)(b) $\phi = 7,4\%_{V/V}$ (R8)

Figura 18. DTP das microcápsulas para as frações volumétricas de (a) 3,4%_{V/V} e (b) 7,4%_{V/V} com razão de reticulação de 0,1%_M (R15 e R8, respectivamente).

Tabela 12. Intervalos de confiança para diâmetro das microcápsulas para as frações volumétricas de 3,4%_{v/v} (R15) e 7,4%_{v/v} (R8) com razão reticulação de 0,01%_M.

ϕ [% _{v/v}]	Reação	Confiança -95% [μm]	Diâmetro Médio [μm]	Confiança +95% [μm]	Desvio Padrão	Erro [μm]
3,4	R15	45,7	47,8	50,0	18,8	1,0
7,4	R8	89,1	93,6	98,1	39,6	2,3

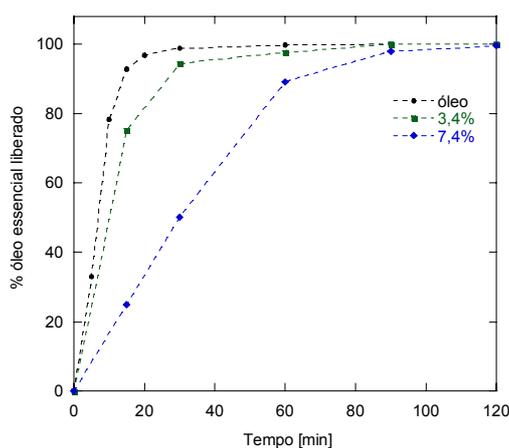


Figura 19. Percentual de liberação do óleo essencial das microcápsulas produzidas com fração volumétrica de (■) 3,4%_{v/v}, (+) 7,4%_{v/v} (R15 e R8, respectivamente) e (●) óleo essencial puro para $X = 0,1\%_M$.

Como pode ser visto na Figura 17 formaram-se aglomerados maiores que 1 mm, isto foi observado para todos os experimentos realizados com razão de reticulação de 0,1%_M.

Na Figura 18 se observa que a DTP apresentou deslocamento para uma região de tamanhos menores e tornou-se estreita quando a fração volumétrica foi diminuída de 7,4%_{v/v} para 3,4%_{v/v}, mesmo comportamento observado na Figura 16. Os intervalos de confiança novamente identificaram diferença significativa para o diâmetro em função da fração volumétrica (Tabela 12). Alguns trabalhos que estudaram a DTP em função da fração volumétrica em sistemas sem reação utilizando PVA como estabilizante confirmam os resultados encontrados. Bachtisi, Boutris e Kiparissides (1996) discutem a influência da fração volumétrica na distribuição de tamanho de gotas e óleo de silicone em solução de PVA 1%_{p/v} e mostram que é evidente que com o aumento da fração volumétrica a DTP muda para diâmetros maiores e ocorre um alargamento da distribuição. Zerfa e Brooks (1996.a, b) estudaram a polimerização do cloreto de vinila,

utilizando PVA e água como fase contínua. Os autores mostraram que acréscimos na fração volumétrica da fase dispersa levam a um espalhamento da curva de distribuição. De acordo com Shinnar (1961) este deslocamento ocorre devido ao amortecimento do fluxo turbulento que promove a formação de partículas grandes (moda superior) e ao quebramento erosivo que forma partículas pequenas (moda inferior).

A liberação do óleo essencial foi avaliada com auxílio de um aparelho de hidrodestilação Clevenger. Usualmente a literatura reporta a quantificação da liberação de óleos essenciais através de cromatografia gasosa (Shaikh, Bhosale e Singhal, 2006), espectrofotometria (Sibanda et al., 2004; Maji et al., 2007; Bachtzi e Kiparissides 1996) e análise termogravimétrica (Chang et al., 2006; Hsieh, Chang e Gao, 2006). Foram realizados testes com espectrofotometria, porém não foram obtidos bons resultados. A análise tomada como estabilidade não apresenta resultados de liberação devido à perda de umidade do hidrogel além do óleo essencial. Como neste sistema a liberação se dá através do intumescimento do polímero reticulado, a técnica de hidrodestilação foi utilizada com intuito de avaliar a liberação deste óleo a partir das microcápsulas de hidrogel de PVA.

A amostra de fração 3,4%v/v apresentou liberação próxima à do óleo essencial puro (Figura 19). Isto pode ser atribuído à condição extrema avaliada pois a liberação ocorre junto à ebulição da água. Na prática esta condição provavelmente não seria utilizada em uma aplicação das microcápsulas. Porém apesar da condição extrema, os resultados fornecem informação suficiente sobre a liberação.

As microcápsulas produzidas com 3,4%_{v/v} possuem maior área superficial que as produzidas com 7,4%_{v/v}, assim sua liberação é mais rápida, como pode ser observado na Figura 19. O efeito do diâmetro médio das microcápsulas na liberação foi avaliado por Bachtzi e Kiparissides (1996). Os resultados mostraram que além da maior área superficial, as microcápsulas de diâmetro médio menores possuem menor espessura de parede polimérica amplificando assim o efeito da liberação. Hsieh, Chang e Gao (2006) também observaram que a taxa de liberação do óleo essencial de citronela é maior para microcápsulas de diâmetro menor devido ao aumento na área superficial.

5.7. Efeito da taxa de agitação

Outra maneira de alterar a distribuição de tamanho das microcápsulas é a taxa de agitação. Para que esta avaliação fosse feita a taxa de agitação foi empregada em três níveis: 500 rpm, 700 rpm e 900 rpm, referentes aos experimentos R15, R16 e R17 respectivamente. Foi mantida a fração volumétrica de 3,4%_{v/v} por ter apresentado distribuições mais estreitas de diâmetro e a razão de reticulação foi mantida a 0,1%_M pelas características finais desejáveis de intumescimento.

A morfologia das microcápsulas produzidas com razão de reticulação de 0,1%_M, fração volumétrica de 3,4%_{v/v}, temperatura de reação de 50°C e 500 rpm (R15), 700 rpm (R16) e 900 rpm (R17) é apresentada na Figura 20.

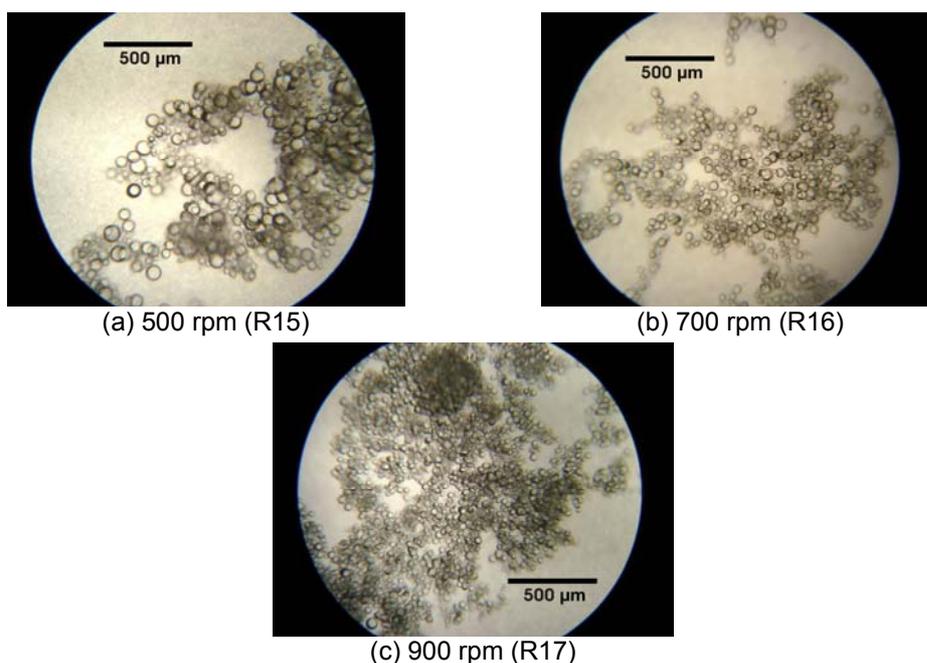


Figura 20. Morfologia das microcápsulas produzidas com (a) 500 rpm, (b) 700 rpm e (c) 900 rpm com $\phi = 3,4\%_{v/v}$, 50°C e $X = 0,1\%_M$ (R15, R16 e R17, respectivamente).

As DTPs das microcápsulas produzidas com razão de reticulação de 0,1%_M, fração volumétrica de 3,4%_{v/v}, temperatura de reação de 50°C e 500 rpm (R15), 700 rpm (R16) e 900 rpm (R17) são apresentadas na Figura 21. Os intervalos de confiança obtidos pra os diâmetros das microcápsulas em função da taxa de agitação são

apresentados na Tabela 13 e na Figura 22 é apresentada a liberação do óleo essencial em função da taxa de agitação para 500 rpm (R15) e 700 rpm (R16). As microcápsulas produzidas com taxa de agitação de 900 rpm não foram avaliadas devido à aglomeração excessiva.

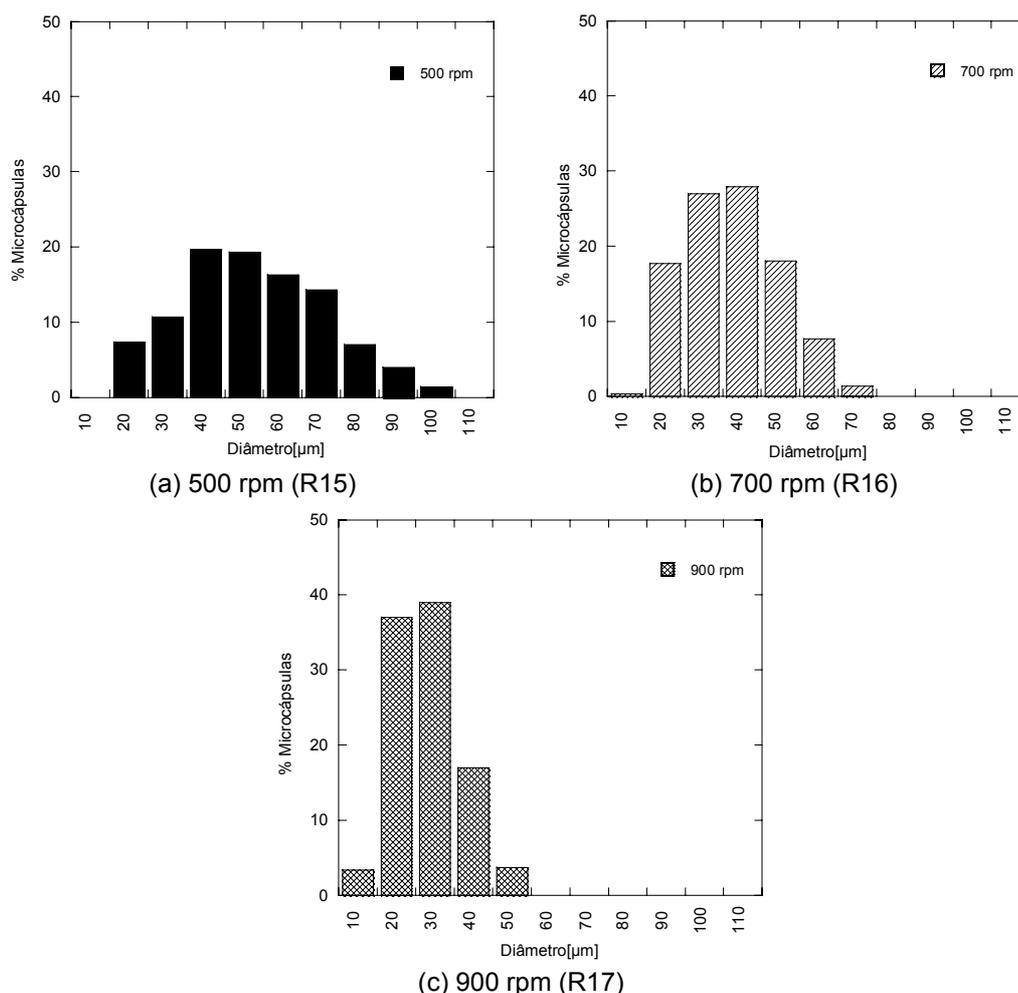


Figura 21. DTP das microcápsulas produzidas a (a) 500 rpm, (b) 700 rpm e (c) 900 rpm com $\phi = 3,4\%_{v/v}$, 50°C e $X = 0,1\%_M$ (R15, R16 e R17, respectivamente).

Tabela 13. Intervalos de confiança para diâmetros das microcápsulas produzidas a 500 rpm (R15), 700 rpm (R16) e 900 rpm (R17) com $\phi = 3,4\%_{v/v}$, 50°C e $X = 0,1\%_M$.

Taxa de Agitação [rpm]	Reação	Confiança -95% [μm]	Diâmetro Médio [μm]	Confiança +95% [μm]	Desvio Padrão [μm]	Erro [μm]
500	R15	45,7	47,8	50,0	18,8	1,0
700	R16	31,1	32,4	33,8	12,1	0,7
900	R17	22,4	23,3	24,3	8,4	0,5

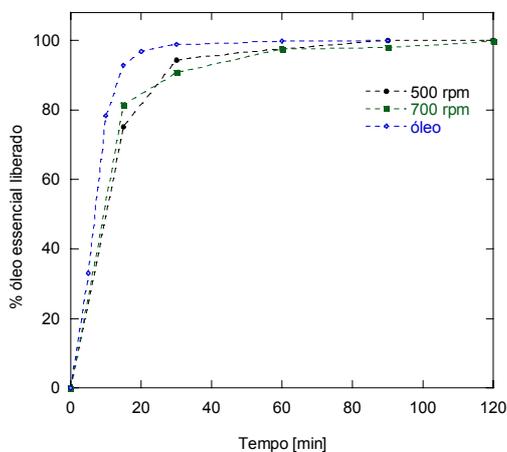


Figura 22. Percentual de liberação do óleo essencial das microcápsulas produzidas com taxa de agitação de (●) 500 rpm, (■) 700 rpm (R15 e R16, respectivamente) e (+) óleo essencial puro para $X = 0,1\%_M$, $\varphi = 3,4\%_{v/v}$ e 50°C .

Na Figura 20 é possível observar que novamente formaram-se aglomerados maiores que 1 mm. Analisando as DTPs obtidas é visível que a distribuição se torna mais estreita e menores diâmetros são obtidos, através do deslocamento da distribuição, com o aumento na taxa de agitação. A análise dos intervalos de confiança, apresentada na Tabela 13, mostra diferença significativa entre todos os tratamentos. O efeito da taxa de agitação foi estudado também por Bachtisi, Boutris e Kiparissides (1996) e Chatzi et al. (1991.a, b) que obtiveram resultados semelhantes. Bachtisi, Boutris e Kiparissides (1996) afirmam que a energia cinética turbulenta associada aumenta com a taxa de agitação ocorrendo maior quebra das gotas. Chatzi et al. (1991.a, b) observaram que acréscimos na frequência de agitação causaram uma mudança de ambos os modos da distribuição para as regiões de menor diâmetro pois a alta intensidade de turbulência é mais efetiva no quebra das gotas.

Na análise de liberação do óleo essencial através de hidrodestilação apresentada na Figura 22, o primeiro ponto obtido para 700 rpm apresenta maior liberação que a 500 rpm, porém após este ponto não foi observada diferença entre a liberação das cápsulas produzidas nestas condições. A condição extrema de temperatura utilizada na análise pode ter causado uma aproximação da amostra de óleo essencial puro à liberação do óleo essencial das microcápsulas produzidas com 500 rpm (Figura 19), novamente esta pode ser a causa deste comportamento

observado na Figura 22. Mesmo assim é visível que as microcápsulas produzem uma barreira à volatilização do óleo essencial.

5.8. Morfologia durante a microencapsulação

Com intuito de investigar a formação dos aglomerados de microcápsulas foi avaliada a morfologia das microcápsulas antes e ao longo da reação. A morfologia das microcápsulas durante os passos que antecedem o início da reação e nas 3 horas de reação é apresentada na Figura 23. No experimento foram utilizadas as condições: PVA com 78.000 Da e 88%_M, temperatura de 50°C, taxa de agitação igual a 500 rpm, fração volumétrica de 7,4%_{v/v} e razão de reticulação de 0,1%_M (reação R8). A Figura 23 (a) mostra a dispersão de óleo essencial na solução de PVA 2%_{p/v} no início do experimento, quando a temperatura é igual a 10°C. Os passos seguintes mostram a morfologia logo após a adição do eletrólito, ainda com temperatura igual a 10°C (b), ao atingir a temperatura de 50°C (c) e após a adição de glutaraldeído (GA) (d). Os passos seguintes são da primeira hora de reação (e), segunda hora de reação (f) e terceira hora de reação (g).

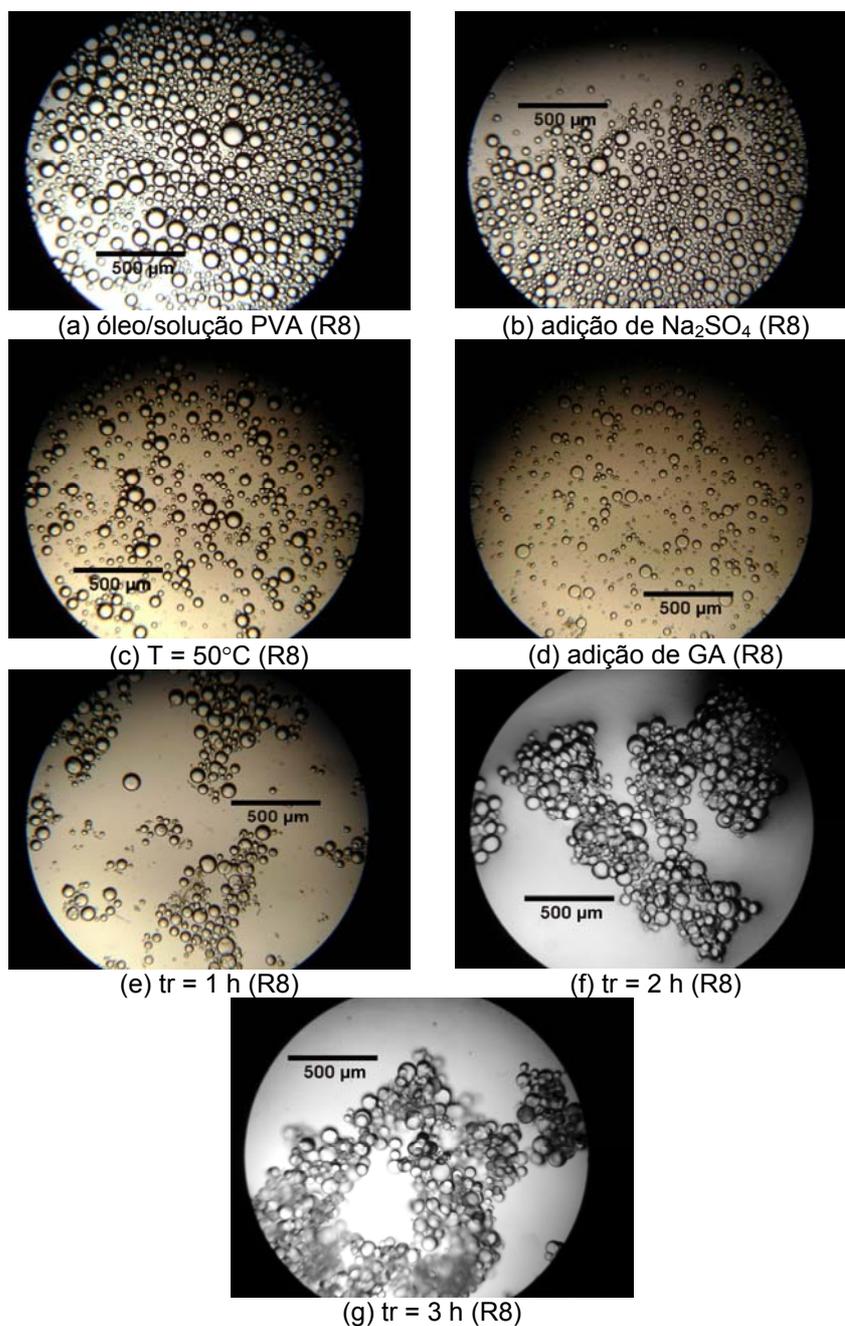


Figura 23. Imagens (a) da emulsão óleo/PVA, (b) após a adição de Na_2SO_4 , (c) após a temperatura de reação atingir 50°C , (d) logo após a adição de GA, (e) na 1ª hora de reação, (f) 2ª hora de reação e (g) 3ª hora de reação.

É possível observar na Figura 23 (a), (b) que o diâmetro das microcápsulas é maior que na Figura 23 (c). Ao atingir 50°C o diâmetro das microcápsulas diminui, devido à diminuição da viscosidade do óleo em função da temperatura, como já discutido anteriormente. Como a parede polimérica de PVA em torno das gotas de óleo

essencial ainda não possui rigidez suficiente, ainda ocorre quebraimento das gotas neste passo.

Em 1 hora de reação (Figura 23 (e)) as microcápsulas possuem formas esféricas e não são observados aglomerados. Após a segunda hora de reação (Figura 23 (f)) os aglomerados começam a ser observados. Estes aglomerados podem ser formados devido à perda de estabilidade do sistema pela migração do PVA da solução aquosa para a casca das microcápsulas ou pela reticulação entre as microcápsulas.

A técnica de microencapsulação por coacervação é conhecida por produzir estruturas em “cacho de uva”. Para verificar se os aglomerados formados são resultados da perda de estabilidade ou se ocorre reticulação entre as microcápsulas foi realizado um teste em banho de ultra-som durante 1 hora. Foram retiradas amostras para verificação no microscópio da permanência ou não dos aglomerados. Na Figura 24 são apresentadas fotos das microcápsulas antes e depois do tratamento com ultra-som.

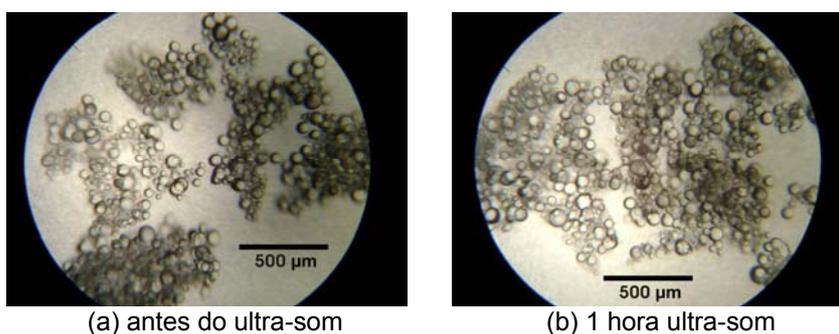


Figura 24. Imagens dos aglomerados de microcápsulas (a) antes de serem submetidos a ultra-som e (b) após 1 hora em banho de ultra-som (reação R8).

Como pode ser observado na Figura 24, o ultra-som não foi capaz de dispersar as microcápsulas, sugerindo que os aglomerados sejam produzidos pela reticulação entre as mesmas.

5.9. Estabilidade do sistema: adição de PVP e SDS

Para tentar contornar o problema da aglomeração das microcápsulas foram feitos testes utilizando PVP K30 e dodecil sulfato de sódio (SDS) durante a reticulação. Decidiu-se testar o PVP e o SDS por atuarem de formas distintas na estabilização. O PVP possui o mesmo mecanismo de estabilização que o PVA, ou seja, atua por estabilização estérica, já o SDS atua como surfactante iônico. Foram realizadas formulações com 3,4%_{v/v} de fração volumétrica, razão de reticulação de 0,1%_M, taxa de agitação de 500 rpm e temperatura de reação de 50°C. Na Figura 25 são apresentados os resultados obtidos para a reação sem aditivo (a), a reação com PVP K30 na concentração de 0,1%_{p/v} (b), a reação com PVP K30 na concentração de 0,4%_{p/v} (c) e a reação com SDS na concentração de 0,03%_{p/v}, sendo estas as reações R15, R12, R13 e R14 respectivamente.

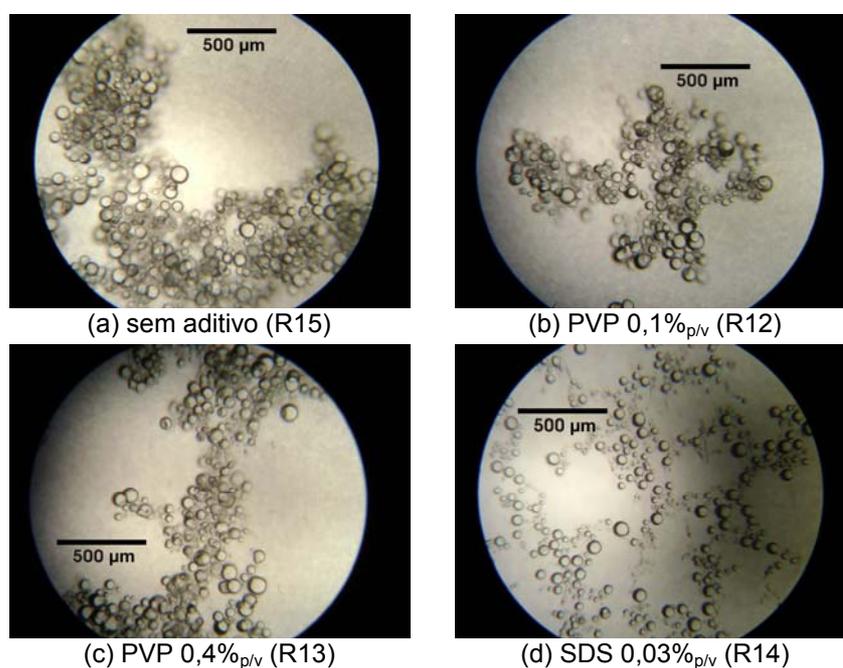


Figura 25. Imagens das microcápsulas obtidas nos experimentos (a) sem aditivo (R15), com PVP como estabilizante (b) 0,1%_{p/v} (R12) e (c) 0,4%_{p/v} (R13) e (d) com SDS como surfactante 0,03%_{p/v} (R14).

Foi avaliado o intumescimento do hidrogel das microcápsulas para verificar se não ocorre retardo na reticulação. Os intumescimentos das microcápsulas produzidas

com as reações R15, R12, R13 e R14 são apresentados na Figura 26 em função do tempo de reação.

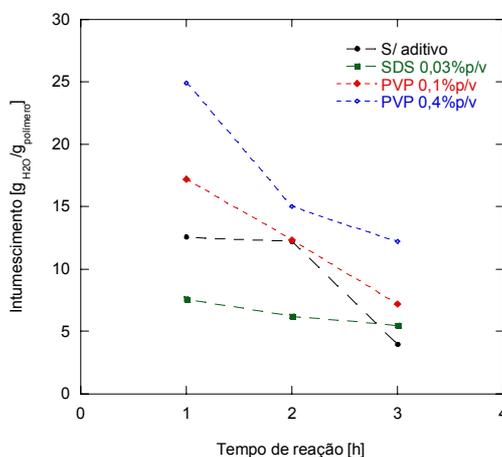
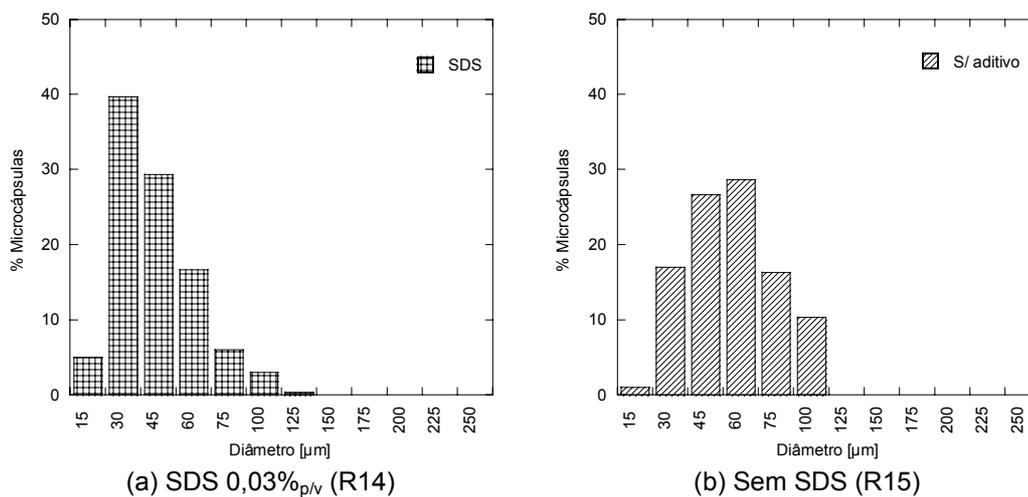


Figura 26. Intumescimento dos hidrogéis das microcápsulas produzidas com adição de PVP (♦) 0,1%p/v, (+) PVP 0,4%p/v, (■) SDS 0,03%p/v e (●) sem aditivo e com 50°C, $X = 0,1\%$ e $\varphi = 3,4\%$ (R12, R13, R14 e R15, respectivamente).

As DTPs dos experimentos com e sem SDS (R14 e R15, respectivamente) são apresentadas na Figura 27 e na Tabela 14 os intervalos de confiança para os diâmetros das microcápsulas são apresentados.



(a) SDS 0,03%p/v (R14) (b) Sem SDS (R15)
Figura 27. DTP das microcápsulas produzidas (a) com SDS e (b) sem SDS (R14 e R15, respectivamente).

Tabela 14. Intervalos de confiança para diâmetros das microcápsulas produzidas com SDS 0,03%_{p/v} (R14) e sem SDS (R15).

Adição de SDS	Reação	Confiança -95% [μm]	Diâmetro Médio [μm]	Confiança +95% [μm]	Desvio Padrão [μm]	Erro [μm]
Não	R15	45,7	47,8	50,0	18,8	1,0
Sim	R14	34,1	36,0	37,9	16,8	1,0

A liberação do óleo essencial microencapsulado com uso de SDS foi avaliada também para verificar se ocorre algum desvio do comportamento quando comparado à reação sem aditivo. Esta análise é apresentada na Figura 28.

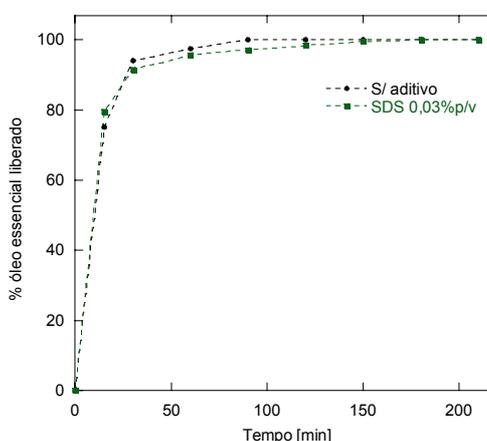


Figura 28. Percentual de óleo essencial liberado: microcápsulas produzidas (■) com SDS 0,03%_{p/v} e (●) sem SDS (reações R14 e R15, respectivamente).

As microcápsulas dos experimentos onde foi adicionado PVP K30 (Figura 25(b) e (c)) aglomeraram da mesma forma que na reação sem aditivo (Figura 25 (a)). Já as microcápsulas do experimento com SDS não aglomeraram (Figura 25 (d)). Desta forma o surfactante SDS mostrou-se eficiente evitando que as microcápsulas reticulassem entre si.

Avaliando o intumescimento das microcápsulas produzidas com os dois aditivos, na Figura 26, é possível observar que o hidrogel onde a concentração de PVP utilizada foi de 0,4%_{p/v} apresentou baixa reticulação pelo elevado intumescimento obtido. Já para a concentração mais baixa (0,1%_{p/v}) este efeito foi menos acentuado. O hidrogel do experimento com SDS apresentou resultado similar ao experimento sem aditivo, mostrando que não interfere na reação. Park, Shin e Lee (2001) obtiveram resultados

similares para a produção de microcápsulas de uréia-formaldeído contendo óleo de limão por polimerização interfacial *in situ*. Os autores avaliaram a morfologia e a DTP das microcápsulas utilizando vários estabilizantes, dentre eles o PVA e o SDS e experimentalmente observaram que ao usar PVA como estabilizante a taxa de reação era lenta, já com SDS a taxa de reação era melhor que a citada anteriormente. Desta forma podemos concluir que o mecanismo de estabilização do PVP prejudica a reticulação das microcápsulas uma vez que forma uma camada de cadeias poliméricas em torno das mesmas, impedindo que o glutaraldeído presente na água entre em contato com a parede polimérica. Além disso o PVP não foi capaz de impedir a aglomeração.

Na Figura 27 é possível observar que as microcápsulas do experimento com SDS apresentaram menores diâmetros, pois como surfactante o SDS protege da coalescência as microcápsulas que ainda não possuem parede polimérica rígida no início do processo de reticulação.

A liberação do óleo essencial das microcápsulas produzidas com SDS, apresentada na Figura 28, não mostrou-se diferente das microcápsulas produzidas sem aditivo. Este dado é importante para que o uso do SDS possa ser validado.

Como visto acima, com o uso do SDS contornou-se o problema da aglomeração das microcápsulas, não ocorreu deformação na sua morfologia nem alteração no seu intumescimento e na liberação do óleo essencial.

5.10. Análises complementares

A seguir serão apresentadas as análises que complementam o desenvolvimento da produção das microcápsulas de óleo essencial. Desta forma serão apresentados os seguintes tópicos:

- (1) Caracterização do óleo essencial de capim limão;
- (2) Efeito da concentração de Na_2SO_4 no intumescimento do hidrogel;

- (3) Quantificação do glutaraldeído;
- (4) Morfologia das microcápsulas após a volatilização do óleo essencial.

5.10.1. Caracterização do óleo essencial de capim limão

O óleo essencial foi caracterizado antes e após a microencapsulação para verificar se ocorrem alterações na sua composição e na sua atividade antimicrobiana. Foram identificados e quantificados os compostos do óleo essencial por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas e a atividade antimicrobiana foi avaliada por concentração mínima inibitória com os microorganismos *E. coli* e *S. aureus*.

A composição do óleo essencial utilizado nos experimentos foi avaliada para verificar a presença dos compostos responsáveis pela atividade antimicrobiana do óleo. Na Figura 29 são apresentados os cromatogramas das amostras de óleo essencial puro e óleo essencial microencapsulado, sendo este referente ao experimento onde foram empregadas as seguintes condições para produção das microcápsulas: PVA de 6.000 Da e 80%_M, 50°C, razão de reticulação de 0,1%_M, fração volumétrica de 7,4%_{V/V} e tempo de reação de 10 horas (reação R18). Na Tabela 15 são apresentados os compostos identificados pela espectrometria de massa nas amostras analisadas pela cromatografia gasosa.

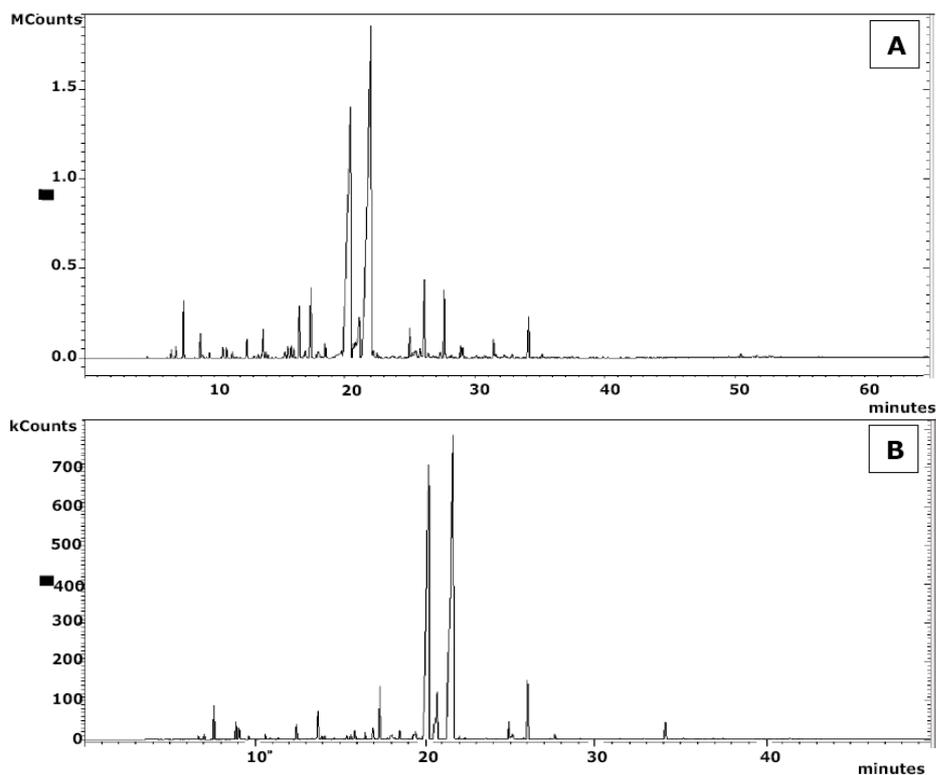


Figura 29. Cromatogramas das amostras de (A) óleo essencial puro (B) óleo essencial microencapsulado (reação R18).

Tabela 15. Percentual relativo dos compostos identificados por espectrometria de massas para o óleo essencial puro e óleo essencial microencapsulado (R18).

Composto	Óleo essencial puro	Óleo essencial microencapsulado
α -pinene	0,136	0,111
3-Carene	0,201	0,156
Camphene	1,049	1,005
β -citral (Neral)	36,548	32,789
α -citral(Gerania)	43,356	42,411
isogeraniol	0,014	0,072
α -cyclocitral	0,292	0,35
terpineol	0,14	0,142
cis-Verbenol	1,495	0,265
m-Eugenol	0,014	0,734
2,3-dehydro 1,8-Cineole	0,049	0,378
Geranyl n-butyrate	2,661	2,619
β -caryophyllene	1,998	0,055

A atividade antimicrobiana foi avaliada para as mesmas amostras que foram analisadas por cromatografia gasosa. A análise realizada foi de Concentração Mínima Inibitória (CMI) e os resultados são apresentados na Tabela 16.

Tabela 16. CMI para o óleo essencial puro e o óleo essencial encapsulado (R18).

Bactéria testada	CMI [mg/ml] Óleo essencial puro	CMI [mg/ml] Óleo microencapsulado
<i>Escherichia coli</i>	22,32	22,32
<i>Staphylococcus aureus</i>	2,79	2,79

Avaliando o percentual relativo dos compostos apresentados na Tabela 15 conclui-se que o óleo microencapsulado possui percentual relativo menor que o apresentado pelo óleo essencial original, porém esta diferença é muito pequena. Existem duas possíveis explicações para esta perda, a perda pode ter ocorrido em função da solubilidade destes compostos na água e outra por degradação de uma parte deles por oxidação. Os compostos α -citral e β -citral são os principais responsáveis pelo mecanismo de ação antimicrobiana do óleo essencial de capim limão e como apresentado na Tabela 15 são os compostos encontrados em maior quantidade. Onawunmi, Yisak, e Ogunlana (1984) observaram que o α -citral e o β -citral apresentaram ação antimicrobiana em organismos gram-negativos e gram-positivos.

Como pode ser observado na Tabela 16 os óleos microencapsulado e o óleo essencial puro apresentaram a mesma CMI para *E. coli* (22,32 mg/mL) e para *S. aureus* (2,79 mg/mL). Isto mostra que apesar da pequena diminuição no percentual relativo dos compostos com atividade antimicrobiana do óleo após a microencapsulação, não houve alteração na sua atividade antimicrobiana. Este dado é muito importante pois mostra que apesar das condições empregadas como temperatura e meio reacional ácido (pH de aproximadamente 2,4) que poderiam agredir de alguma forma o óleo essencial, este permanece com suas propriedades inalteradas.

5.10.2. Efeito da concentração de Na_2SO_4 no intumescimento do hidrogel

O intumescimento do hidrogel de PVA em água é função principalmente do seu grau de reticulação. Além disso, na presença de uma solução de eletrólito o comportamento do intumescimento é alterado. Este é um dado importante para o armazenamento das microcápsulas que é feito em solução aquosa. Esse comportamento é possível de ser avaliado na Figura 30, onde a amostra analisada foi obtida no experimento onde foi utilizado o PVA de 78.000 Da e 88%_M, fração volumétrica de 7,4%_{V/V}, 50°C, 500 rpm e com 24 horas de reação (reação R2).

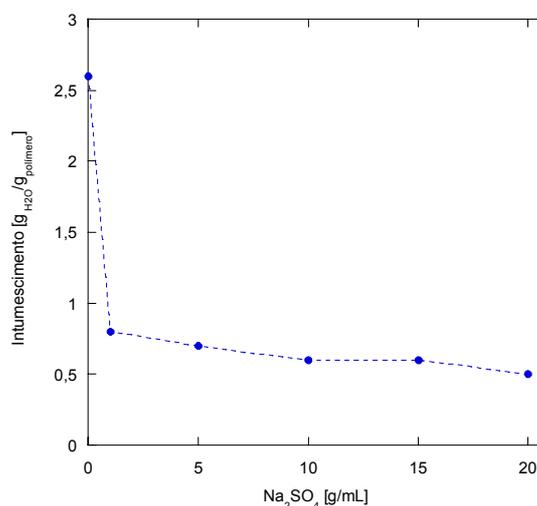


Figura 30. Intumescimento do hidrogel em função da concentração de Na_2SO_4 (PVA de 78.000 Da, 88%_M, $\varphi = 7,4\%$ _{V/V}, $X = 0,1\%$ _M e 50°C, referente a R2).

É possível observar na Figura 30 que com o aumento da concentração de eletrólito a absorção de água pelo hidrogel diminui e tende a tornar-se constante. Apesar dessa inibição, a absorção de água não é nula. Este comportamento também foi observado por Batchsi e Kiparissides (1996) na liberação de óleo Santosol. Com o aumento da força iônica do meio de liberação pela adição e aumento de concentração de cloreto de sódio, houve uma diminuição na taxa de liberação. Isto é atribuído à contração dos espaços da rede polimérica por onde o óleo difunde. Takahashi, Honda e Ryocichi (2000) avaliaram o intumescimento de comprimidos de PVA em soluções dos

sais trisódio citrato dihidratado, cloreto de sódio e sulfato de sódio em concentrações de até 10% e observaram o mesmo comportamento apresentado na Figura 30.

5.10.3. Quantificação do glutaraldeído

O glutaraldeído foi quantificado nas amostras de uma hora de reação e três horas de reação do experimento R15 ($\varphi = 3,4\%_{v/v}$, $X = 0,1\%_M$, taxa de agitação de 500 rpm, temperatura de reação de 50°C e com uso de N_2) sendo que a amostra consistia em água do meio reacional. Os cromatogramas obtidos das soluções analisadas são apresentados na Figura 31 e as concentrações referentes ao início da reação (tempo igual a zero), a primeira hora e terceira hora de reação são apresentadas na Figura 32.

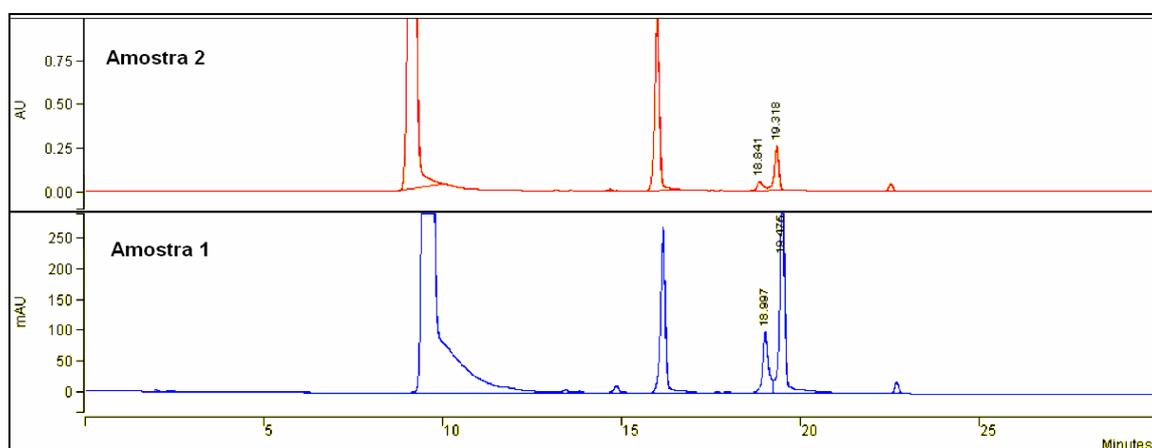


Figura 31. Cromatograma de quantificação de glutaraldeído no meio de reação das amostras de 1 hora de reação (amostra 1) e de 3 horas de reação (amostra 2) da reação R15.

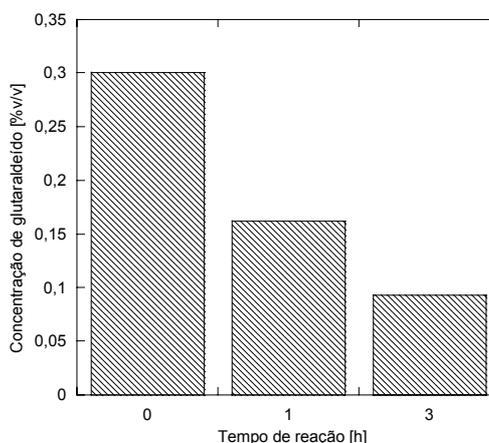


Figura 32. Concentração de glutaraldeído em função do tempo de reação (reação R15).

O percentual de glutaraldeído presente nas amostras de acordo com os resultados apresentados nas Figura 31 e Figura 32 foi de 0,1617%_{v/v} para a amostra da primeira hora de reação e 0,093%_{v/v} para a amostra da terceira hora de reação. De acordo com a formulação da reação, a concentração inicial de glutaraldeído no meio de reação era de 0,3%_{v/v}. A primeira hora de reação mostrou maior consumo de glutaraldeído. Provavelmente neste período existe maior quantidade de grupos hidroxila disponíveis e com fácil acesso ao glutaraldeído. Supõem-se duas hipóteses para o período seguinte: (1) que o glutaraldeído tenha dificuldade de difundir através da parede polimérica já reticulada na superfície para alcançar os grupos hidroxila ainda não reticulados, diminuindo assim a taxa de reação ou (2) como a taxa de reação é diretamente proporcional à concentração de reagente, a diminuição da concentração de glutaraldeído diminui a taxa de reação.

Como ainda existe glutaraldeído em excesso em relação aos limites de exposição, que de acordo com a ficha de MSDS é de 0,05 ppm, provavelmente seja necessário um tempo de reação maior para que o glutaraldeído seja totalmente consumido. De qualquer forma, esta concentração não é referente ao resíduo sobre as microcápsulas lavadas e armazenadas em solução de Na₂SO₄, mas ao que permanece na solução do meio de reação, porém por se tratar de um reagente altamente nocivo faz-se necessária sua remoção da água.

5.10.4. Morfologia das microcápsulas após a volatilização do óleo essencial

A morfologia das microcápsulas foi observada após a volatilização do óleo essencial, conforme apresentado na Figura 33 (reação R3).



Figura 33. Imagens das microcápsulas após a volatilização do óleo essencial (R3).

Na morfologia das microcápsulas após a volatilização do óleo essencial não foi observado nenhum rompimento aparente da parede polimérica. Esta observação sugere que a volatilização do óleo essencial ocorreu pela difusão do óleo essencial através da parede polimérica, sem que esta fosse rompida. Além disso, este resultado mostra que as microcápsulas de PVA reticulado com glutaraldeído apresentam resistência suficiente para proteger o óleo essencial encapsulado.

6. CONCLUSÕES

Através dos resultados apresentados no capítulo anterior e com base na revisão bibliográfica é possível concluir que as microcápsulas de PVA reticulado com glutaraldeído contendo óleo essencial de capim limão foram produzidas com êxito.

Por meio da análise de ponto de turvamento foi possível obter os parâmetros de temperatura e proporção mássica entre PVA e sulfato de sódio para realização da microencapsulação. Concluiu-se que é necessária uma maior quantidade de eletrólito ou temperaturas mais elevadas para que a separação de fases ocorra, para os PVAs com grau de hidrólise elevado.

Os PVAs de grau de hidrólise elevados (25.000 Da e 98%_M; 78.000 Da e 99,7%_M) apresentaram pouca atividade superficial, não encapsulando o óleo essencial devido à elevada quantidade de grupos hidrofílicos.

A razão de reticulação é determinante para que sejam obtidas microcápsulas suficientemente rígidas e que mantenham sua forma. Além disso a maior razão de reticulação estudada (0,1%_M) produziu microcápsulas com menor absorção de água, ou seja, seu intumescimento foi menor.

As temperaturas estudadas mostraram influência sobre a viscosidade do óleo essencial, alterando assim o diâmetro das microcápsulas para tamanhos menores.

Os resultados indicam que a reticulação do PVA com o glutaraldeído é influenciada pela adição de nitrogênio no meio reacional. Foi observado que com o uso de nitrogênio, atingiu-se um intumescimento muito menor que um hidrogel produzido com o mesmo tempo de reação sem N₂, ou seja, houve um aumento na taxa de reação.

As frações volumétricas de óleo essencial estudadas influenciaram significativamente a distribuição de tamanho das microcápsulas. Além de uma maior quantidade de diâmetros menores serem obtidos, a diminuição da fração volumétrica também gera um deslocamento da curva de distribuição para faixas de diâmetros menores. A liberação do óleo essencial das microcápsulas de fração volumétrica menor, que possuem diâmetros menores, foi muito mais rápida do que das microcápsulas de fração volumétrica maior. Este comportamento é devido à maior área

superficial destas microcápsulas, que permite que o óleo seja liberado mais rapidamente.

As taxas de agitação avaliadas no trabalho apresentaram diferença significativa na distribuição de tamanhos das microcápsulas obtidas. A liberação do óleo essencial das microcápsulas apresentou comportamento parecido, possivelmente pela condição extrema de temperatura utilizada na análise.

Com a análise da morfologia das microcápsulas ao longo da reação foi possível identificar o ponto onde são formados os aglomerados. Após as microcápsulas terem permanecido em banho de ultra-som foi possível concluir que os aglomerados são formados por reticulação entre as microcápsulas.

A formação dos aglomerados foi evitada pela adição de um surfactante (SDS) ao meio de reação. Os testes com o estabilizante PVP não apresentaram bons resultados, retardando a reticulação do PVA e não mostrando eficiência na estabilização das microcápsulas. As microcápsulas produzidas com SDS apresentaram menores diâmetros e a distribuição obtida foi mais estreita. Além disso não ocorreu alteração no intumescimento do hidrogel. O comportamento da liberação do óleo essencial das microcápsulas produzidas com SDS também foi semelhante ao observado anteriormente.

A análise de liberação mostrou que o óleo essencial microencapsulado possui taxa de liberação menor que o óleo essencial puro para todas as amostras avaliadas. Com os resultados apresentados é possível concluir que uma maior proteção é proporcionada ao óleo essencial quando se utiliza uma razão de reticulação alta, fração volumétrica alta e ou taxa de agitação menor produzindo assim microcápsulas com diâmetros maiores, ou seja, com menor área superficial.

Os principais compostos que apresentam atividade antimicrobiana do óleo essencial de capim limão não se perderam durante a microencapsulação. Uma pequena diferença foi apresentada no percentual relativo porém a análise de concentração mínima inibitória mostrou que os dois óleos avaliados atuam nas mesmas concentrações.

A concentração de eletrólito no meio aquoso onde as microcápsulas estão armazenadas influenciou o intumescimento do hidrogel.

A maior parte do glutaraldeído é consumida na primeira hora de reação. As três horas de reação não são suficientes para consumir todo o glutaraldeído presente na formulação, sendo necessário um tempo maior de reação ou então um processo posterior para retirada do mesmo do meio de reação por tratar-se de um composto altamente tóxico.

A manipulação da taxa de agitação e da fração volumétrica possibilitou que fossem obtidas microcápsulas na faixa de 15 μm a 250 μm . A razão de reticulação igual a 0,1%_M é suficiente para que as microcápsulas tenham rigidez e apresentem intumescimento adequado para a liberação do óleo essencial. O glutaraldeído não é totalmente consumido durante as três horas de reação, sendo necessário um tempo maior de reação ou outro processo capaz de eliminá-lo. O óleo essencial microencapsulado não perde seus principais compostos e conseqüentemente suas propriedades de atividade antimicrobiana.

7. SUGESTÕES

A partir da avaliação dos resultados apresentados neste trabalho podem ser sugeridos alguns pontos para serem desenvolvidos em trabalhos futuros:

- Reduzir a quantidade de glutaraldeído residual do processo;
- Avaliar outros tipos de agentes de reticulação, como outros aldeídos;
- Estudar maiores concentrações de PVA;
- Trabalhar com um sistema mais simples, como por exemplo, utilizando limoneno ao invés de óleo essencial de capim limão, simplificando algumas análises como a de liberação;
- Avaliar a eficiência da microencapsulação;
- Utilizar um planejamento experimental para otimizar a eficiência de microencapsulação;
- Estudar as propriedades do hidrogel como a massa molar média entre as ligações cruzadas, a densidade de reticulação e a porcentagem de gel;
- Utilizar outros surfactantes ou estabilizantes como a lecitina, Tween 80 devido à toxicidade do SDS quando utilizado para administração oral.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVIM, I. D. **Produção e Caracterização de Micropartículas Obtidas por Spray Drying e Coacervação Complexa e seu Uso para Alimentação de Larvas de Peixe.** Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005, 243 p.

ARANHA, I. B.; LUCAS, E. F. Poli(Álcool Vinílico) Modificado com Cadeias Hidrocarbônicas: Avaliação do Balanço Hidrófilo/Lipófilo. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 11, n. 4, p. 174-181, 2001.

BACHTSI, A. R.; BOUTRIS, C. J.; KIPARISSIDES, C. Production of Oil-Containing Cross-linked Poly(vinyl alcohol) Microcapsules by Phase Separation: Effect of Process Parameters on the Capsule Size Distribution. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 60, p. 9-20, 1996.

BACHTSI, A. R.; KIPARISSIDES, C. Synthesis and Release Studies of Oil-Containing Poly(vinyl alcohol) Microcapsules Prepared by Coacervation. **Journal of Controlled Release**, v. 38, p. 49-58, 1996.

BARANAUSKIEN, R; RIMANTAS, P.; DEWETTINCKB, V. K.; VERHÉC, R. Properties of Oregano (*Origanum vulgare L.*), Citronella (*Cymbopogon nardus G.*) and Marjoram (*Majorana hortensis L.*) Flavors Encapsulated Into Milk Protein-Based Matrices. **Food Research International**, v. 39, p. 413-425, 2006.

BERTHOLD, A.; CREMER, K.; KREUTER, J. Preparation and Characterization of Chitosan Microspheres as Drug Carrier for Prednisolone Sodium Phosphate as Model for Anti-inflammatory Drugs. **Journal of Controlled Release**, v. 39, p. 17-25, 1996.

CARDOSO, F. S. N. **Produção de Microencapsulados de Amido com Recobrimento em Leito Fluidizado.** Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2000, 65p.

CHANG, C. Release Properties on Gelatin-Gum Arabic Microcapsules Containing Camphor Oil with Added Polystyrene. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 50, p. 136-140, 2006.

CHATZI, E. G.; KIPARISSIDES, C. Dynamic Simulation of Bimodal Drop Size Distributions in Low-coalescence Batch Dispersion Systems. **Chemical Engineering Science**, v. 47, p. 445-456, 1992.

CHATZI, E. G.; KIPARISSIDES, C. Drop Size Distributions in High Holdup Fraction Dispersion Systems: Effect of the Degree of Hydrolysis of PVA Stabilizer. **Chemical Engineering Science**. v. 49, p. 5039-5052, 1994.

CHIEN, Yie W. **Novel Drug Delivery Systems**. 2. ed. New York: Marcel Dekker, 1991.

DEMERLIS, C.C.; SCHONEKER, D.R. Review of the Oral Toxicity of Poly(vinyl alcohol) (PVA). **Food and chemical Toxicology**, v. 41, p. 319-326. 2003.

DUCEL, V.; RICHARD, J.; SAULNIERA, P.; POPINEAUC, Y.; BOURY, F. Evidence and Characterization of Complex Coacervates Containing Plant Proteins: Application to the Microencapsulation of Oil Droplets. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 232, p. 239-247, 2006.

GANDER, B.; GURNY, R.; DOELKER, E.; PEPPAS, N. A. Effect of Polymeric Network Structure on Drug Release from Cross-linked Poly(vinyl alcohol) Matrices. **Pharmaceutical Research**, v. 6, p. 578-584, 1989.

GOHEL, M. C.; AMIN, A. F. Formulation Design and Optimization of Modified-Release Microspheres of Diclofenac Sodium. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 2, n. 25, p. 247-251, 1999.

GONÇALVES, O. H. **Obtenção de Partículas Casca-Núcleo Expansíveis Via polimerização em Suspensão**. 118 f, Qualificação (Doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

GONÇALVES, V. L. LARANJEIRA, M. C. M.; FÁVERE, V.; PEDROZA, R. C. Effect of Crosslinking Agents on Chitosan Microspheres in Controlled Release of Diclofenac Sodium. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 15, n. 1, p. 6-12, 2005.

GOUIN, S. Micro-encapsulation: Industrial Appraisal of Existing Technologies and Trends. **Trends in Food Science & Technology**, v. 15, p. 330-347, 2004.

HASSAN, C. M.; PEPPAS, N. A. Structure and Applications of Poly(vinyl alcohol) Hydrogels Produced by Conventional Crosslinking or by Freezing/Thawing Methods. **Advances in Polymer Science**, v. 153, p. 37-65, 2000.

HENNINK, W. E.; NOSTRUM, C. F. Van. Novel Crosslinking Methods to Design Hydrogels. **Advanced Drug Delivery Reviews**, p. 13-36. 2001.

HONG, K.; PARK, S. Melamine Resin Microcapsules Containing Fragrant Oil: Synthesis and Characterization. **Materials Chemistry and Physics**, v. 58, p. 128-131, 1999.

HSIEH, W.C.; CHANG, C. P.; GAO, Y. L. Controlled Release Properties of Chitosan Encapsulated Volatile Citronella Oil Microcapsules by Thermal Treatments. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 53, p. 209–214, 2006.

IUPAC Compendium of Chemical Terminology, Eletronic Version. Disponível em: <http://goldbook.iupac.org/C01116.html> . Acesso em julho de 2006.

KIM, C.; LEE, P. I. Composite Poly(vinyl alcohol) Beads for Controlled Drug Delivery. **Pharmaceutical Research**, v. 9, n. 1, p. 10-16, 1992.

KONNO, M.; ARAI, K.; SAITO, S. The effect of stabilizer on coalescence of dispersed drops in suspension polymerization of styrene. **Journal of Chemical Engineering of Japan**, v. 15, p. 131-135, 1982.

KRUIF, C. G.; WEINBRECK, F.; VRIES R. Complex Coacervation of Proteins and Anionic Polysaccharides. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 9, p. 340–349, 2004.

LIN, C.; METTERS, A. T. Hydrogels in Controlled Release Formulations: Network Design and Mathematical Modeling. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 58, p. 1379-1408, 2006.

MACHADO, R. A. F. **Modelagem e simulação da distribuição de tamanho de partículas em sistemas de polimerização em suspensão**. 210 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2000.

MADENE, A., JACQUOT, M.; SCHER, J.; DESOBRY, S. Flavour Encapsulation and Controlled Release – a Review. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 41, p. 1-21. 2006.

MAJI, T. K.; BARUAH, I.; DUBE, S.; HUSSAIN, M. R. Microencapsulation of *Zanthoxylum limonella* oil (ZLO) in Glutaraldehyde Crosslinked Gelatin for Mosquito Repellent Application. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 840-844, 2007.

MAJETI, N. V.; KUMAR, R. Nano and Microparticles as Controlled Drug Delivery Devices. **Journal of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences**, v. 2, n. 3, p. 234-258, 2000.

MARTEN, F. L. “Vinyl alcohol polymers”, em: **Encyclopedia of Polymer Science and Engineering**, vol. 17, H. F. Mark, N. M. Bikales, C. G. Overberger & G. Menges, John-Wiley, New York (1985).

MENET, M. C. GUEYLARD D.; FIEVET M. H.; THUILLIER A. Fast Specific Separation and Sensitive Quantification of Bactericidal and Sporidical Aldehydes by High-Performance Liquid Chromatography: Example of Glutaraldehyde Determination. **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, v. 692, n. 1, p. 79-86, 1997.

MORITA, R.; HONDA, R.; TAKAHASHI, Y. Development of oral controlled release preparations, a PVA swelling controlled release system (SCRS) I. Design of SCRS and its release controlling factor. **Journal of Controlled Release**. V 63, p. 297-304, 2000.

NIST – National Institute of Standards and Technology. Disponível em: www.nist.gov . Acesso em maio de 2007.

NELSON, G. Application of Microencapsulation in Textiles. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 242, p. 55-62, 2002.

OLIVEIRA, A. P. C. de. **Produção e Caracterização de Partículas de Hidrogéis para Aplicações em Cosméticos**. 157 f, Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

ONAWUNMI, G. O; YISAK, W. A.; OGUNLANA, E. O. Antibacterial Constituents in the Essential Oil of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. **Journal Of Ethnopharmacology**, v. 12, p. 279-283. 1984.

OTTENBRITE, R. M.; KIM, S. W. **Polymeric Drugs and Drug Delivery Systems**. Lancaster: CRC Press, 2000.

PARADOSSI, G.; CAVALIERI, F.; CHIESSI, E.; SPAGNOLI, C.; COWMAN, M. K. Poly(vinyl alcohol) as versatile biomaterial for potential biomedical applications. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, n.14, p.687-691, 2003.

PARK, S.; SHIN, Y.; LEE, J. Preparation and Characterization of Microcapsules Containing Lemon Oil. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 241, p.502-508, 2001.

PEPPAS, N.A.; HUANG, Y.; TORRES-LUGO, M.; WARD, J. H.; ZHANG, J. Physicochemical Foundations and Structural Design of Hydrogels in Medicine and Biology. **Annual Review of Biomedical Engineering**, v. 02, p.9-29, 2000 (a).

PEPPAS, N. A.; BURES, P.; LEOBANDUNG, W.; ICHIKAWA, H. Hydrogels in Pharmaceutical Formulations. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 50, p.27-46, 2000 (b).

PEPPAS, N. A.; WRIGHT, S. L. Solute Diffusion in Poly(vinyl alcohol)/Poly(acrylic acid) Interpenetrating Networks. **Macromolecules**, v. 29, p.8798-8804, 1996.

PEREIRA, R. S.; SUMITA, T. C.; FURLAN, M. R.; JORGE, A. O. C.; UENO, M. Atividade Antibacteriana de Óleos Essenciais em Cepas Isoladas de Infecção Urinária. **Revista de Saúde Pública**, v. 38, n. 2, p.326-328, 2004.

PRAPTOWIDODO, V. S. Influence of Swelling on Water Transport Through PVA-Based Membrane. **Journal of Molecular Structure**, v. 739, p.207-212, 2005.

RAMOS, M. F. de S. **Desenvolvimento de Microcápsulas Contendo a Fração Volátil de Copaíba por Spray Drying: Estudo da Estabilidade e Avaliação Farmacológica**. 114 f. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2006.

RÉ M. I. Microencapsulation by spray drying. **Drying Technology**, p. 1195-1236. 1998.

REID, R. C.; PRAUSNITZ, J. M; SHERWOOD, T. K. **The Properties of Gases and Liquids**. 3rd. ed. New York: McGraw-Hill, 1977. 688p.

REID, R. C.; SHERWOOD, T. K. **Propiedades de los Gases y Liquidos: su Estimacion y Correlacion**. Barcelona: Editorial Hispano America, 1968. 719p.

RESS, N. B.; HAILEY, J. R.; MARONPOT, R. R.; BUCHER, J. R.; TRAVLOS, G. S.; HASEMAN, J. K.; ORZECH, D. P.; JOHNSON, J. D.; HEJTMANCIK, M. R. Toxicology and Carcinogenesis Studies of Microencapsulated Citral in Rats and Mice. **Toxicological Sciences**, v. 71, p.198-206, 2003.

RODRIGUES, B. de C. **Microencapsulação e Liberação Controlada do Fármaco Rifampicina Utilizando o Sistema Polimérico Quitosana-PVA**. 1999. 84 f. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 1999.

SACCHETTI, G.; MAIETTI, S.; MUZZOLI, M.; SCAGLIANTI, M.; MANFREDINI, S.; RADICE, M.; BRUNI, R. Comparative Evaluation of 11 essential Oils of Different Origin. **Food Chemistry**, v. 91, p.621-632, 2005.

SANDLER, S. R.; KARO, W.; BONESTEEL, J.; PEARCE, E. **Polymer Synthesis and Characterization: a Laboratory Manual**, 1998. Academic Press.

SCHMITT, C.; SANCHEZ, C.; DESOBRY-BANON, S.; HARDY, J. Structure and Technofunctional Properties of Protein-polysaccharide complexes: A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 38, p. 689 – 753, 1998.

SHINNAR, R. On the Behaviour of Liquid Dispersions in Mixing Vessels, **Journal of Fluid Mechanics**, v. 10, p. 259-275, 1961.

SIZE METER. Disponível em: <http://lcp.enq.ufsc.br/>. Acesso em julho de 2006.

SLIWKA, W. Microencapsulation. **Angewandte Chemie. International Edition**, v. 14, n. 8, p.539-550, 1975.

SOUZA, M. S. M. de. **Ativos Microencapsulados Encontram Mais Aplicações.** Química e Derivados. Disponível em: <http://www.quimica.com.br/revista/qd388/microencap.1.htm>. Acesso em agosto de 2006.

SOUZA, S. M.; MONACHE, F. D.; SOUZA, A. S. J. Antibacterial Activity of Coumarins. **Zeitschrift Für Naturforschung C-A Journal Of Biosciences**, Alemanha, v. 60, n. 9/10, p. 693-700, 2005.

VARSHOSAZ, J.; KOOPAIE, N. Cross-linked Poly (vinyl alcohol) Hydrogel : Study of Swelling and Drug Release Behaviour. **Iranian Polymer Journal**, v. 11, n. 2, p.123-131, 2002.

YULIANI, S.; TORLEY, P. J.; D'ARCY B.; NICHOLSON T.; BHANDARI B. Extrusion of Mixtures of Starch and D-limonene Encapsulated with β -cyclodextrin: Flavour Retention and Physical Properties. **Food Research International**, v. 39, p.318-331, 2006.

ZERFA, M.; BROOKS, B. W. Drop Coalescence Processes in Suspension Polymerization of Vinyl Chloride. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 60, p. 2077-2086, 1996.a.

ZERFA, M.; BROOKS, B. W. Prediction of vinyl chloride drop sizes in stabilised liquid-liquid agitated dispersion. **Chemical Engineering Science**, v. 51, pp. 3223-3233, 1996.b.

ANEXOS

Anexo A: Memória de cálculo

- Volume de glutaraldeído em função da razão de reticulação:

$$X = 0,1\%_M$$

$$\text{PVA: } M_w = 78.000 \text{ Da e GH} = 88\%_M$$

$$m_{\text{PVA}} = 12 \text{ g}$$

$$GP = \frac{M_w}{PM_{\text{monômero}}} = \frac{78.000}{44} = 1,773 \cdot 10^3 \frac{\text{monômeros}}{\text{cadeia}}$$

$$\text{Moles de PVA} = \frac{12}{78.000} = 1,538 \cdot 10^{-4}$$

$$\text{Mol de unidade de repetição} = GP \cdot \text{Moles de PVA} = 1,773 \cdot 10^3 \cdot 1,538 \cdot 10^{-4} = 2,727 \cdot 10^{-1}$$

$$\text{Moles hidrolisáveis de PVA por cadeia} = \frac{\text{Mol de unidade de repetição} \cdot \text{GH}}{100}$$

$$\text{Moles hidrolisáveis de PVA por cadeia} = \frac{2,727 \cdot 10^{-1} \cdot 88}{100} = 2,4 \cdot 10^{-1}$$

$$X = \frac{\text{moles de GA}}{\text{moles hidrolisáveis de PVA por cadeia}} = 0,1$$

$$\text{Moles de GA} = 0,1 \cdot 2,4 \cdot 10^{-1} = 2,4 \cdot 10^{-2}$$

$$m_{\text{GA}} = \text{Moles de GA} \cdot PM_{\text{GA}} = 2,4 \cdot 10^{-2} \cdot 100,12 = 2,403 \text{ g}$$

$$V_{GA} = \frac{m_{GA}}{\rho_{GA}} = \frac{2,403}{1,062} = 2,263ml$$

$$V_{solução\ 25\% GA} = \frac{V_{GA} \cdot 100}{25} = 9,05ml$$

- Fração volumétrica de óleo essencial [%_{v/v}]:

Para proporção mássica PVA:Na₂SO₄ de 1:1.

$$V_{\text{óleo}} = 26,74ml$$

$$V_{\text{solução PVA 2\%p/v}} = 600ml$$

$$V_{\text{solução Na}_2\text{SO}_4\ 20\%p/v} = 60\ ml$$

$$V_{\text{solução de reticulação}} = 100\ ml$$

$$\varphi = \frac{V_{\text{óleo}}}{V_{\text{total de reação}}} \cdot 100$$

$$\text{onde: } V_{\text{total de reação}} = V_{\text{óleo}} + V_{\text{solução PVA}} + V_{\text{solução Na}_2\text{SO}_4} + V_{\text{solução de reticulação}}$$

$$\varphi = \frac{26,74}{786,74} = 3,4\%_{v/v}$$

- Concentração de glutaraldeído:

As amostras de 1 e 3 horas de reação foram diluídas antes da análise de HPLC devido à adição de solução de NaOH para elevar o pH até aproximadamente 7. Os valores obtidos na análise são referentes às amostras diluídas. A seguir são apresentados os cálculos da concentração real de glutaraldeído na reação.

Amostra de 1 hora de reação:

$$C_{2 \text{ HPLC}} = 0,14\%_{\text{v/v}}$$

$$V_{\text{ar}} = 1 \text{ ml}$$

$$V_{\text{NaOH}} = 0,155 \text{ ml}$$

$$M_1 = M_2$$

$$V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$1 \cdot C_1 = 1,155 \cdot 0,0014$$

$$C_1 = 0,001617 \frac{\text{ml GA}}{\text{ml solução}}$$

$$C_1 = 0,1617\%_{\text{v/v}}$$

Amostra de 3 horas de reação:

$$C_{2 \text{ HPLC}} = 0,08\%_{\text{v/v}}$$

$$V_{\text{ar}} = 1 \text{ ml}$$

$$V_{\text{NaOH}} = 0,162 \text{ ml}$$

$$M_1 = M_2$$

$$V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$1 \cdot C_1 = 1,162 \cdot 0,0008$$

$$C_1 = 0,00093 \frac{\text{ml GA}}{\text{ml solução}}$$

$$C_1 = 0,093\%_{\text{v/v}}$$

Anexo B: Análise de DTP: estabilização das médias de diâmetro das microcápsulas

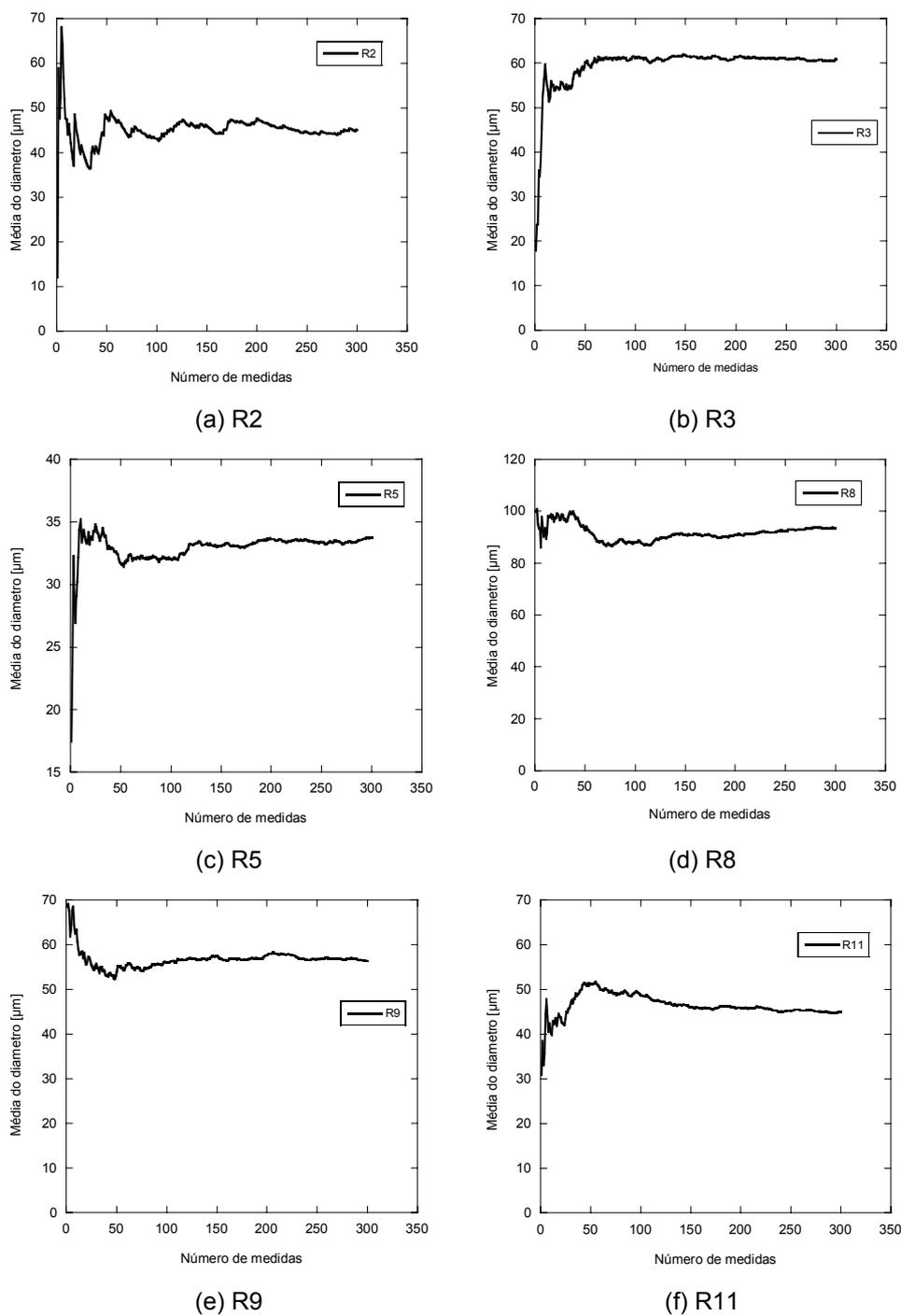


Figura 34. Estabilização das médias dos diâmetros das microcápsulas para análise de DTP (R2, R3, R5, R8, R9 e R11).

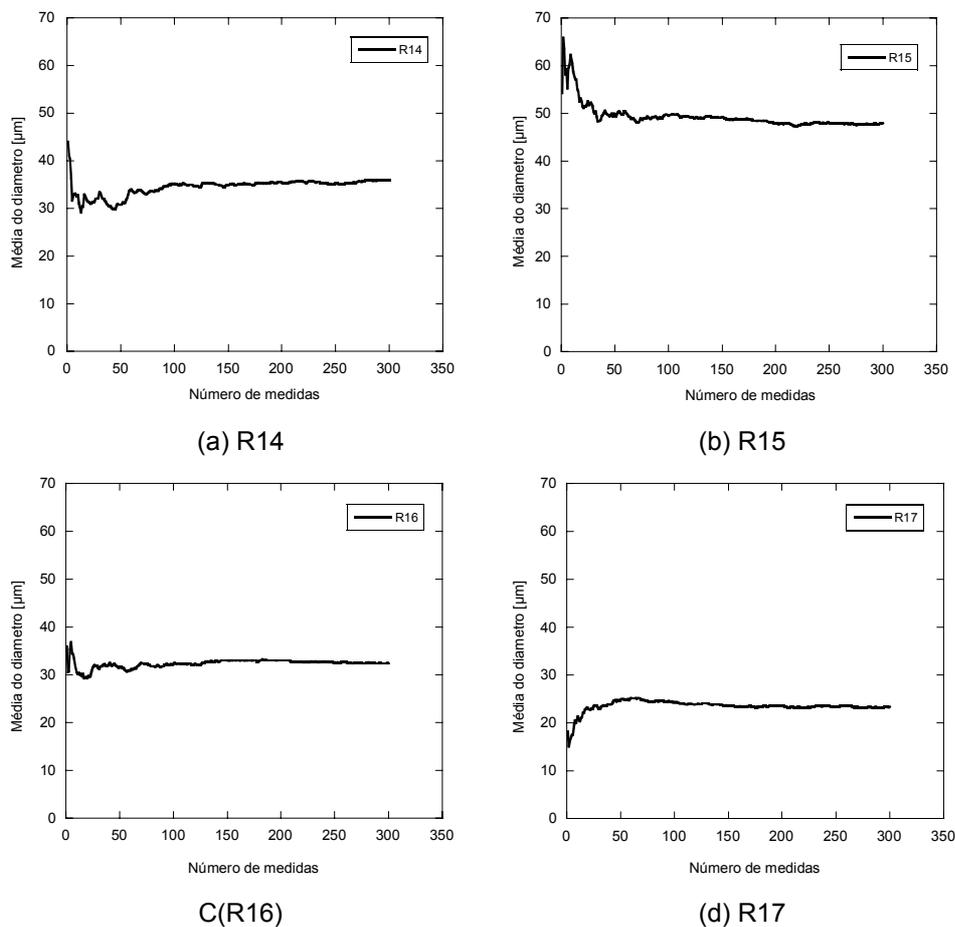


Figura 35. Estabilização das médias dos diâmetros das microcápsulas para análise de DTP (R14, R15, R16 e R17).

Anexo C: Laudos de análise

Na análise de HPLC para quantificação do glutaraldeído a amostra número 2 é referente à terceira hora de reação e não à segunda hora.



**LABORATÓRIO DE CROMATOGRAFIA
RELATÓRIO DE ENSAIO**



DQ-137 - Revisão 04 - Data 06/02/2007

Relatório de Ensaio N° : **66699**

Página 1 de 4

DATA DE EMISSÃO: 16 / 01 / 2008 DIGITADO POR: Alberto W. Jr. RUBRICA:
ORDEM DE SERVIÇO N° : 50475

1. DADOS DO CLIENTE

CLIENTE : **Fernanda Vitória Leimann**
ENDEREÇO : Laboratório de Controle de Processos – LCP
UFSC

2. DADOS DA AMOSTRA

N° DE AMOSTRAS : 02.
TIPO DE AMOSTRA : Solução.
DATA DE COLETA : -- / -- / 2007 HORA : -- h -- min
DATA DE ENTREGA : 26 / 10 / 2007 HORA : 17 h 16 min
AGENTE DE ENTREGA : Correios.
AMOSTRAGEM : A realização da amostragem é de inteira responsabilidade do cliente.
OBSERVAÇÕES : Cliente forneceu solução padrão 25% usada para quantificação.

IDENTIFICAÇÃO DO:		VOLUME DA AMOSTRA (mL)	TIPO DE FRASCO/ ACONDICIONAMENTO		
IPTB/FURB	Cliente		<input checked="" type="checkbox"/> Vidro	<input type="checkbox"/> Plástico	<input type="checkbox"/> Refrigerado
66699-1	Amostra 1 – amostra de 1h de reação.	50	<input checked="" type="checkbox"/> Vidro	<input type="checkbox"/> Plástico	<input type="checkbox"/> Refrigerado
66699-2	Amostra 2 – amostra de 2h de reação.	50	<input checked="" type="checkbox"/> Vidro	<input type="checkbox"/> Plástico	<input type="checkbox"/> Refrigerado

3. DADOS ANALÍTICOS

SERVIÇOS SOLICITADOS	MÉTODOS	PROCEDIMENTOS TÉCNICOS
Determinação de Glutaraldeído em solução.	CLAE/UV	---

DATA DE INÍCIO DOS ENSAIOS: 06 / 12 / 2007

DATA DE TÉRMINO DOS ENSAIOS : 20 / 12 / 2007



LABORATÓRIO DE CROMATOGRAFIA
RELATÓRIO DE ENSAIO



DQ-137 Revisão: 04 Data: 06/02/2007

Relatório de Ensaio N° : 66699

Página 2 de 4

4. RESULTADOS

4.1 Determinação de Glutaraldeído em solução.

	Código IPTB/FURB		Unidade
	66699-1	66699-2	
Glutaraldeído*	0,14	0,08	%

* resultado médio de análise realizada em triplicata.

5. INFORMAÇÕES ADICIONAIS

5.1 Demonstrativo da análise.

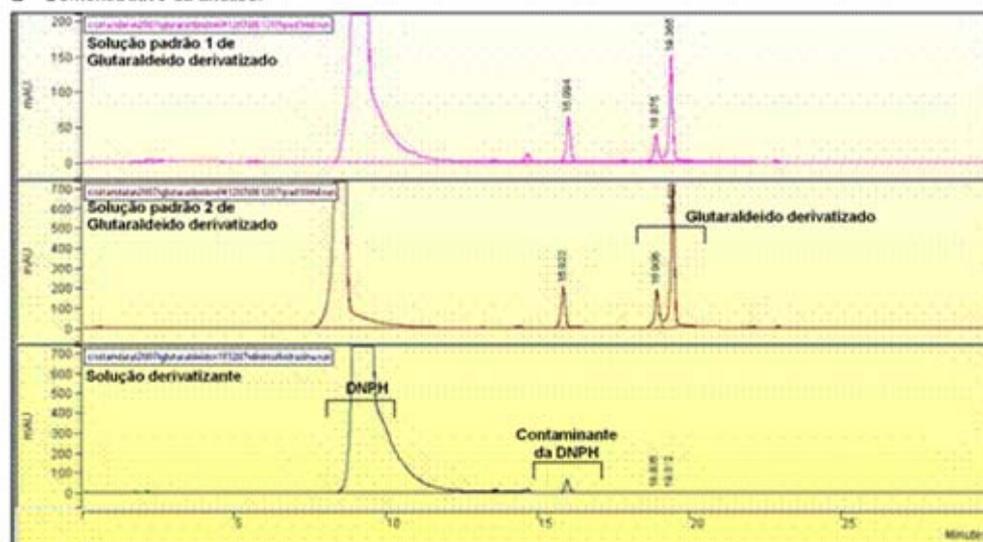


Figura 1. Cromatogramas obtidos das soluções padrões e da solução derivativante.



LABORATÓRIO DE CROMATOGRAFIA
RELATÓRIO DE ENSAIO



DQ-137 Revisão: 04 Data: 06/02/2007

Relatório de Ensaio N° : 66699

Página 3 de 4

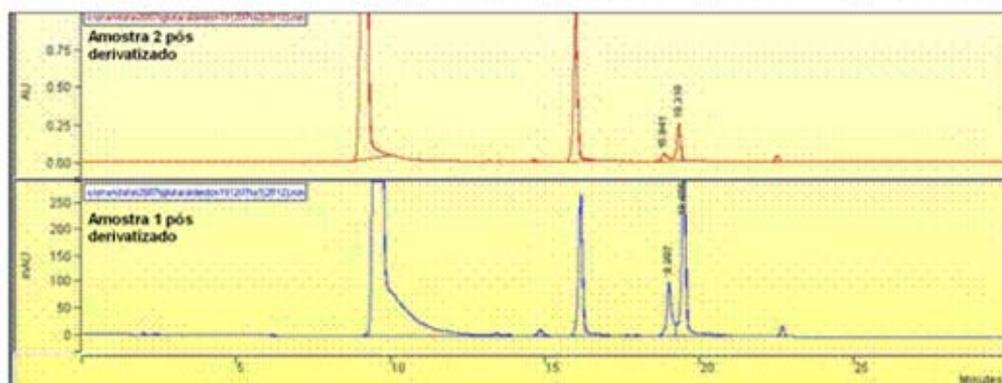


Figura 2. Cromatogramas obtidos das soluções analisadas.

Resumo do método:

Equipamento Varian Pro Star 230/310 – coluna ChromSpher 5 C18 (250 x 4 mm)

Software de Gerenciamento: Star Chromatography Workstation 5.51

Condições analíticas:

Fase móvel: fluxo 1 mL min⁻¹

Programa de gradiente

Tempo (min)	CH ₃ CN	H ₂ O
3	30%	70%
25	100%	0%
35	100%	0%

Detector: UV 355 nm

Reação de derivatização: em um vial com capacidade para 40 mL são adicionados 10 mL de H₂O destilada, 50 µL de amostra, 1 mL de solução 0,03 mol L⁻¹ de Dinotrofenilhidrazina (DNPH) preparada em acetonitrila e 10 µL de HCl conc. O vial é lacrado e aquecido à 70 °C durante 30 minutos. A amostra é refrigerada e extraída 3 x 1 mL de CH₂Cl₂. As fases orgânicas são combinadas, secas com Na₂SO₄ anidro, filtradas e concentradas a securo em evaporador rotatório à 40 °C. O resíduo então é suspenso em CH₃CN e aferido para 5 mL. A solução resultante foi filtrada em membrana PTFE 0,45 µm e submetida à análise por CLAE.

INSTITUTO DE PESQUISAS TECNOLÓGICAS DE BLUMENAU

Rua São Paulo, 3250 – Itoupava Seca - CEP 89030-000 - Blumenau SC - Fone: (47) 221-6062 - Fax: (47) 221-6001
C.N.P.J.: 82.662.958/0001-02 - Inscrição Estadual: 250.974.665 – www.ipib.furb.br - ipib@furb.br



LABORATÓRIO DE CROMATOGRAFIA
RELATÓRIO DE ENSAIO



DQ-137 Revisão: 04 Data: 06/02/2007

Relatório de Ensaio N° : 66699

Página 4 de 4

- O conteúdo deste Relatório somente poderá ser reproduzido por inteiro. A reprodução de partes requer aprovação por escrito do IPTB-FURB.
- A contestação dos resultados dos ensaios deverá ser formalizada no prazo de quinze dias após a emissão do Relatório de Ensaio.
- O pedido de reensaio na amostra estará sujeito à quantidade e condições de conservação da mesma.

Termo de Responsabilidade

O presente Relatório foi emitido em uma via original e representa um registro preciso e verdadeiro dos resultados obtidos, conforme os procedimentos analíticos específicos para cada ensaio. Todos os resultados brutos e observações referentes aos ensaios realizados, foram registrados e permanecerão arquivados no IPTB-FURB durante o período de cinco anos.

O IPTB-FURB assume responsabilidade dos resultados obtidos, restritos às amostras analisadas pelo Instituto.

Alberto Wisniewski Junior - MSc
CRQ XIII - 13100531
Gerente Técnico



**LABORATÓRIO DE CROMATOGRAFIA
RELATÓRIO DE ENSAIO**



DQ-137 Revisão: 04 Data: 06/02/2007

Relatório de Ensaio N° : **65834**

Página 1 de 15

DATA DE EMISSÃO: 18 / 06 / 2007 DIGITADO POR: Alberto W. Jr. RUBRICA:
ORDEM DE SERVIÇO N° : 47205

1. DADOS DO CLIENTE

CLIENTE : FEESC – Fundação de Ensino e Engenharia de Santa Catarina.
ENDEREÇO : Campus Universitário – CTC – UFSC – Trindade
Florianópolis – SC

2. DADOS DA AMOSTRA

N° DE AMOSTRAS : 02
TIPO DE AMOSTRA : Óleo Essencial.
DATA DE COLETA : -- / -- / 2007 HORA : -- h -- min
DATA DE ENTREGA : 08 / 06 / 2007 HORA : 16 h 00 min
AGENTE DE ENTREGA : Correlos.
AMOSTRAGEM : A realização da amostragem é de inteira responsabilidade do cliente.
OBSERVAÇÕES :

IDENTIFICAÇÃO DO:		VOLUME DA AMOSTRA (mL)	TIPO DE FRASCO/ ACONDICIONAMENTO		
IPTB/FURB	Cliente		<input checked="" type="checkbox"/> Vidro	<input type="checkbox"/> Plástico	<input type="checkbox"/> Refrigerado
65834-1	AM1 – Encapsulado	10	<input checked="" type="checkbox"/> Vidro	<input type="checkbox"/> Plástico	<input type="checkbox"/> Refrigerado
65834-2	AM2 – OE Capim Limão	10	<input checked="" type="checkbox"/> Vidro	<input type="checkbox"/> Plástico	<input type="checkbox"/> Refrigerado

3. DADOS ANALÍTICOS

SERVIÇOS SOLICITADOS	MÉTODOS	PROCEDIMENTOS TÉCNICOS
Análise de Composição por Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massas.	CG/EM	---

DATA DE INÍCIO DOS ENSAIOS: 11 / 06 / 2007

DATA DE TÉRMINO DOS ENSAIOS : 11 / 06 / 2007



LABORATÓRIO DE CROMATOGRAFIA
RELATÓRIO DE ENSAIO



DQ-137 Revisão: 04 Data: 06/02/2007

Relatório de Ensaio N° : 65834

Página 2 de 15

4. RESULTADOS

4.1 Análise de Composição por Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massas. Amostra 65834-1

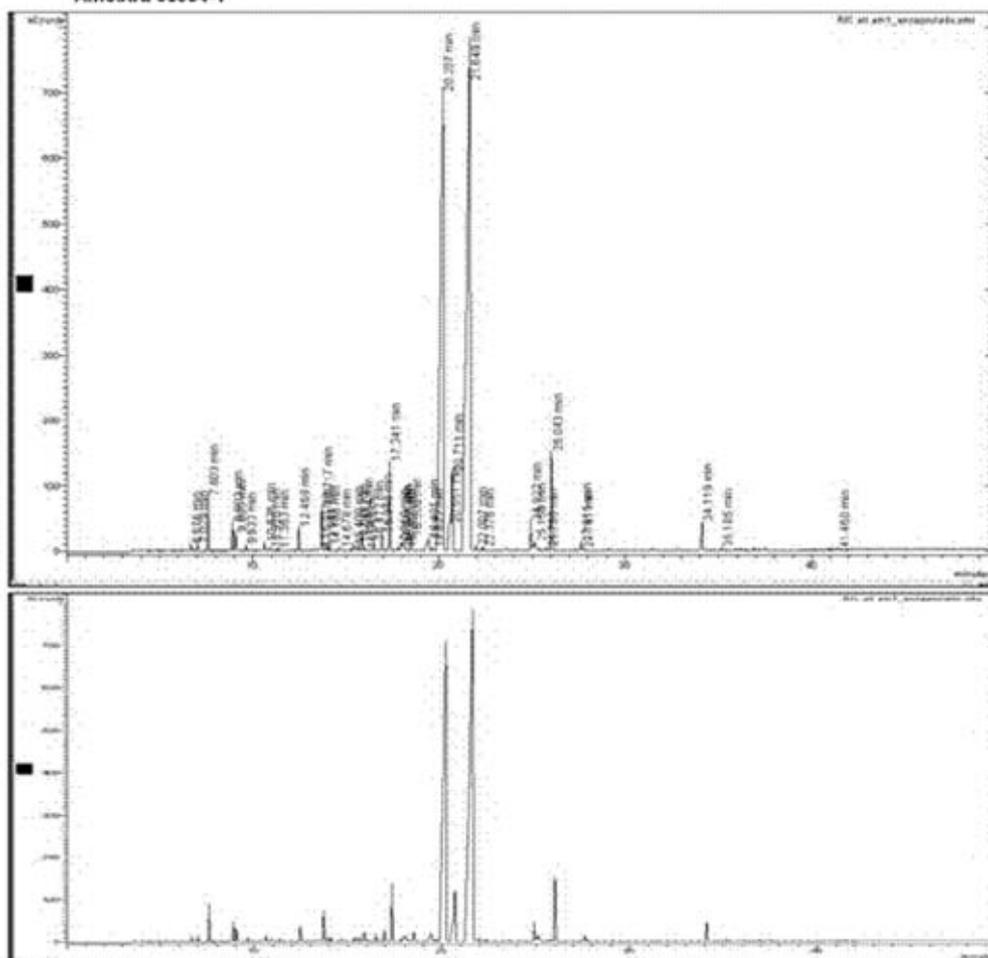


Figura 1. Cromatograma de Ions Totais (TIC) para a amostra 65834-1



LABORATÓRIO DE CROMATOGRAFIA
RELATÓRIO DE ENSAIO



DQ-137 Revisão: 04 Data: 06/02/2007

Relatório de Ensaio N° : **65834**

Página 3 de 15

Tabela 1. Resultado da integração TIC para a amostra 65834-1.

Picos	Tempo de Retenção (min)	Área	% relativo
1	6.676	23850	0.111
2	7.029	33515	0.156
3	7.603	225211	1.049
4	8.903	127088	0.592
5	9.083	81095	0.378
6	9.633	27155	0.126
7	10.636	41876	0.195
8	10.926	15568	0.073
9	11.363	12291	0.057
10	12.469	115743	0.539
11	13.63	14838	0.069
12	13.717	229904	1.071
13	13.944	30477	0.142
14	14.108	27304	0.127
15	14.678	10566	0.049
16	15.4	47566	0.222
17	15.648	37466	0.175
18	15.884	75087	0.35
19	16.049	11960	0.056
20	16.472	56974	0.265
21	16.949	111619	0.52
22	17.341	480282	2.237
23	17.813	15503	0.072
24	17.974	60170	0.28
25	18.061	70449	0.328
26	18.222	16878	0.079
27	18.5	81735	0.381
28	19.431	176225	0.821
29	19.635	23056	0.107
30	20.207	7846082	36.548
31	20.551	169573	0.79
32	20.711	789353	3.677
33	21.649	9307588	43.356
34	22.007	30220	0.141
35	22.376	15486	0.072
36	24.923	157649	0.734
37	25.158	34952	0.163
38	25.78	11783	0.055
39	26.043	562212	2.619
40	27.615	50018	0.233
41	27.741	11724	0.055
42	34.119	175776	0.819
43	35.185	13797	0.064
44	41.46	10396	0.048



LABORATÓRIO DE CROMATOGRAFIA RELATÓRIO DE ENSAIO



DQ-137 Revisão: 04 Data: 06/02/2007

Relatório de Ensaio N° : **65834**

Página 4 de 15

4.2 Análise de Composição por Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massas. Amostra 65834-2

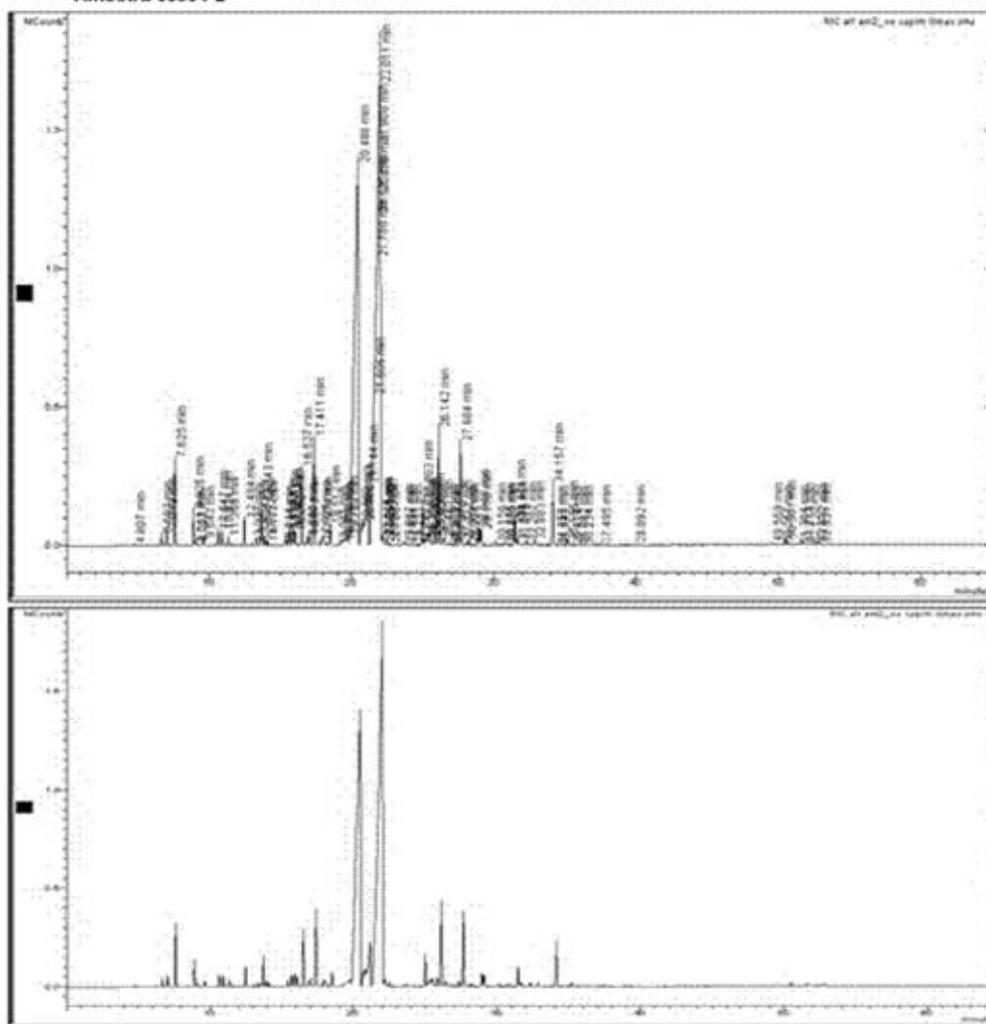


Figura 2. Cromatograma de Ions Totais (TIC) para a amostra 65834-2.



LABORATÓRIO DE CROMATOGRAFIA
RELATÓRIO DE ENSAIO



DQ-137 Revisão: 04 Data: 06/02/2007

Relatório de Ensaio N°: 65834

Página 5 de 15

Tabela 2. Resultado da integração TIC para a amostra 65834-2.

Picos	Tempo de Retenção (min)	Área	% relativo				
1	4.807	12437	0.015	39	21.78	5115274	6.153
2	6.693	113409	0.136	40		8528215	10.259
3	7.049	167096	0.201	41		3273981	3.938
4	7.625	835894	1.005	42		2394980	2.881
5	8.926	408821	0.492	43		3927809	4.725
6	9.053	40827	0.049	44		12016452	14.455
7	9.097	27841	0.033	45	22.145	83857	0.101
8	9.643	94849	0.114	46	22.215	96799	0.116
9	10.647	190856	0.23	47	22.305	18088	0.022
10	10.934	165668	0.199	48	22.505	102734	0.124
11	11.369	111647	0.134	49	22.709	15191	0.018
12	12.484	323801	0.39	50	23.667	45130	0.054
13	13.037	27530	0.033	51	23.834	39310	0.047
14	13.352	76119	0.092	52	24.281	27057	0.033
15	13.633	69662	0.084	53	24.84	11451	0.014
16	13.743	576085	0.693	54	25.003	688040	0.828
17	13.952	116529	0.14	55	25.218	136443	0.164
18	14.117	46552	0.056	56	25.39	246194	0.296
19	15.244	13513	0.016	57	25.503	259397	0.312
20	15.406	135735	0.163	58	25.83	209390	0.252
21	15.668	235013	0.283	59	25.938	21918	0.026
22	15.9	242762	0.292	60	26.142	2211898	2.661
23	16.062	179523	0.216	61	26.44	132641	0.16
24	16.527	1243195	1.495	62	26.829	19683	0.024
25	16.86	37885	0.046	63	26.998	25599	0.031
26	16.972	166770	0.201	64	27.375	100527	0.121
27	17.411	2102910	2.53	65	27.684	1660674	1.998
28	17.829	60800	0.073	66	27.772	23329	0.028
29	17.974	264215	0.318	67	28.083	22212	0.027
30	18.512	300532	0.362	68	28.226	47648	0.057
31	19.041	11744	0.014	69	28.948	245150	0.295
32	19.348	58546	0.07	70	29.118	243684	0.293
33	19.528	134305	0.162	71	30.156	55865	0.067
34	19.769	450589	0.542	72	30.775	59241	0.071
35	20.488	27233686	32.759	73	30.9	31638	0.038
36	20.663	246141	0.296	74	31.471	385564	0.464
37	20.852	142374	0.171	75	31.561	66435	0.08
38	21.144	2152892	2.59	76	31.676	78324	0.094
				77	32.287	55743	0.067
				78	32.883	81007	0.097
				79	34.157	1014508	1.22

INSTITUTO DE PESQUISAS TECNOLÓGICAS DE BLUMENAU

Rua São Paulo, 3250 – Itoupava Seca - CEP 89030-000 - Blumenau SC - Fone: (47) 221-6062 - Fax: (47) 221-6001
C.N.P.J.: 82.662.958/0001-02 - Inscrição Estadual: 250.974.665 – www.ipib.furb.br - ipib@furb.br



LABORATÓRIO DE CROMATOGRAFIA
RELATÓRIO DE ENSAIO



DQ-137 Revisão: 04 Data: 06/02/2007

Relatório de Ensaio N° : **65834**

Página 6 de 15

80	34.359	13310	0.016
81	34.543	14395	0.017
82	35.196	81620	0.098
83	35.414	14422	0.017
84	35.882	13195	0.016
85	36.234	13550	0.016
86	37.495	31565	0.038
87	39.892	16428	0.02
88	49.559	29648	0.036

89	50.257	13111	0.016
90	50.501	87240	0.105
91	51.384	16326	0.02
92	51.714	43836	0.053
93	52.12	11635	0.014
94	52.682	50912	0.061
95	52.931	43233	0.052

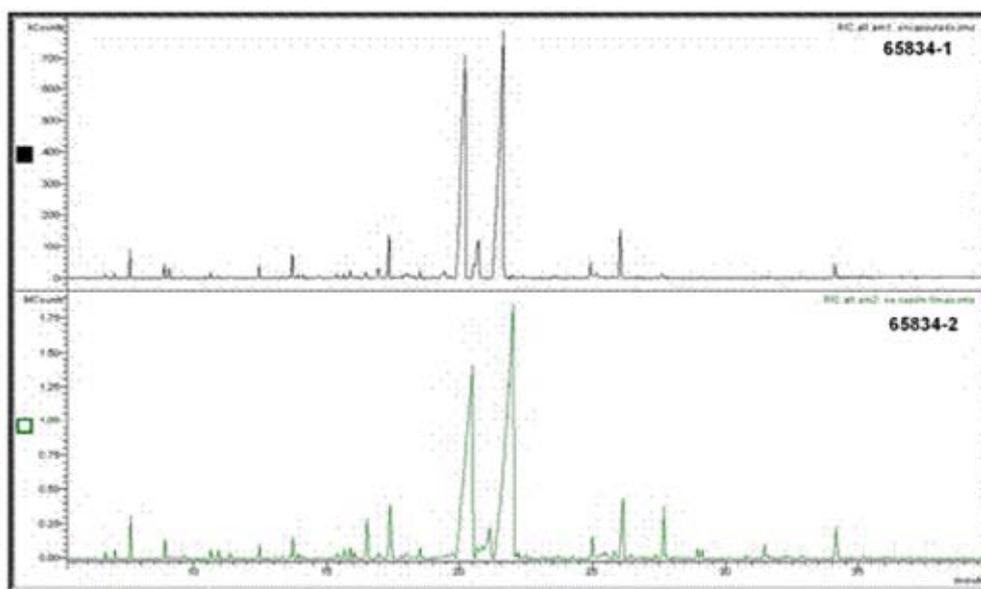


Figura 3. Cromatogramas de Ions Totais (TIC) para as amostras 65834-1 e 65834-2.



LABORATÓRIO DE CROMATOGRAFIA
RELATÓRIO DE ENSAIO

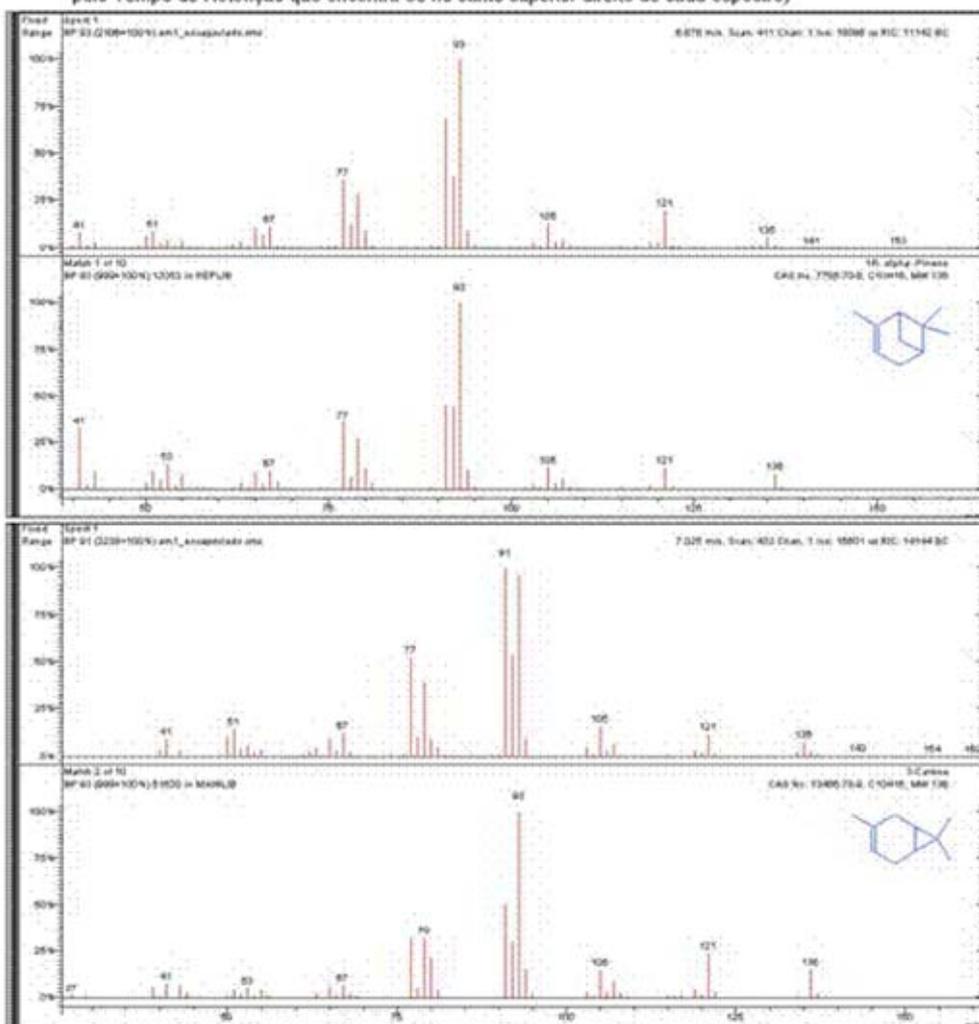


DQ-137 Revisão: 04 Data: 06/02/2007

Relatório de Ensaio N° : 65834

Página 7 de 15

4.3 Espectros de massas dos principais picos encontrados nas amostras. (o espectro superior é referente ao composto da amostra e o inferior é a sugestão de estrutura. Os picos poderão ser identificados pelo Tempo de Retenção que encontra-se no canto superior direito de cada espectro)





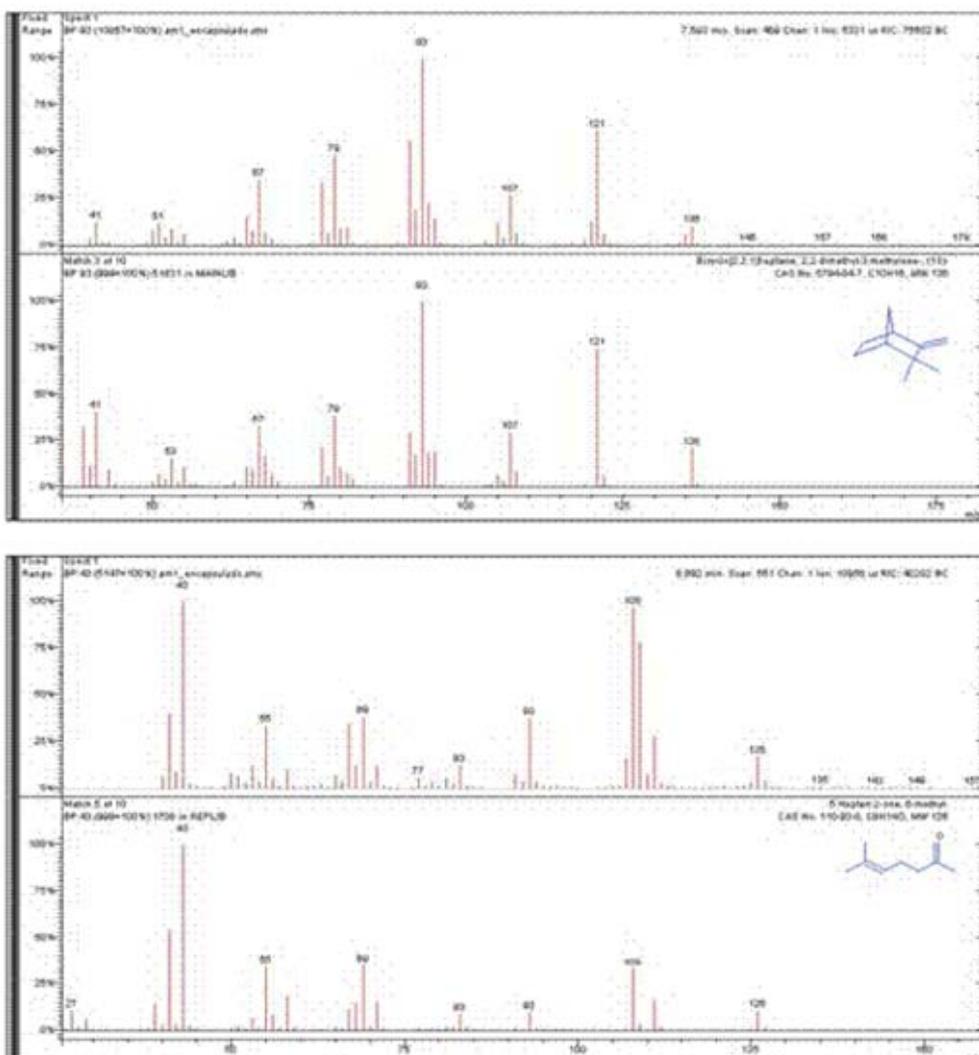
LABORATÓRIO DE CROMATOGRAFIA
RELATÓRIO DE ENSAIO



DQ-137 Revisão: 04 Data: 06/02/2007

Relatório de Ensaio Nº: 65834

Página 8 de 15



INSTITUTO DE PESQUISAS TECNOLÓGICAS DE BLUMENAU
Rua São Paulo, 3250 – Itoupava Seca - CEP 89030-000 - Blumenau SC - Fone: (47) 221-6062 - Fax: (47) 221-6001
C.N.P.J.: 82.662.958/0001.02 - Inscrição Estadual: 250.974.665 – www.ipib.furb.br - ipib@furb.br



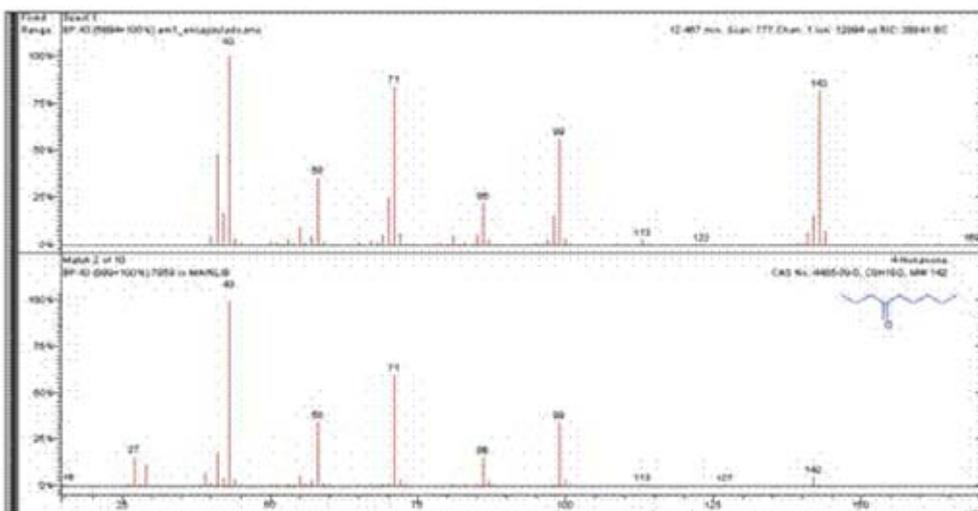
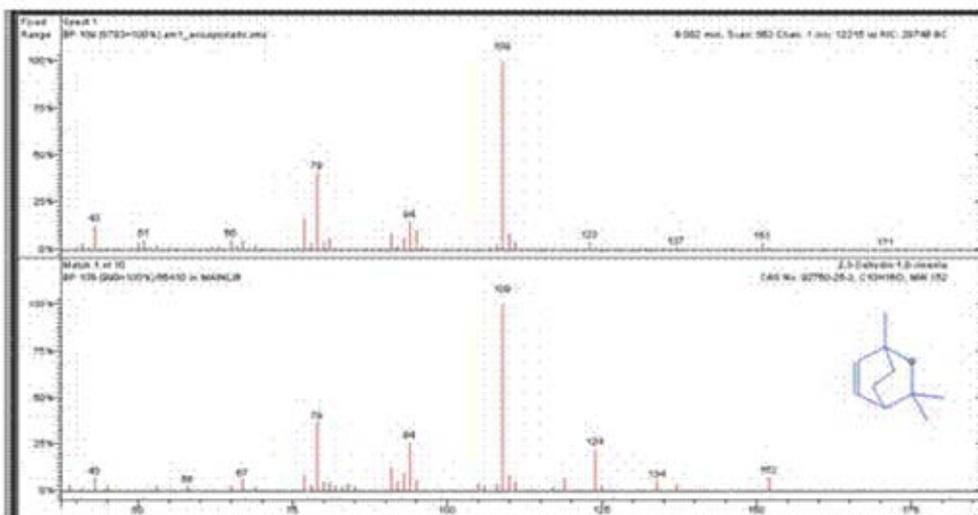
LABORATÓRIO DE CROMATOGRAFIA
RELATÓRIO DE ENSAIO



DQ-137 Revisão: 04 Data: 06/02/2007

Relatório de Ensaio Nº: 65834

Página 9 de 15



INSTITUTO DE PESQUISAS TECNOLÓGICAS DE BLUMENAU
Rua São Paulo, 3250 – Itoupava Seca - CEP 89030-000 - Blumenau SC - Fone: (47) 221-6062 - Fax: (47) 221-6001
C.N.P.J.: 82.662.958/0001.02 - Inscrição Estadual: 250.974.665 – www.ipib.furb.br - ipib@furb.br



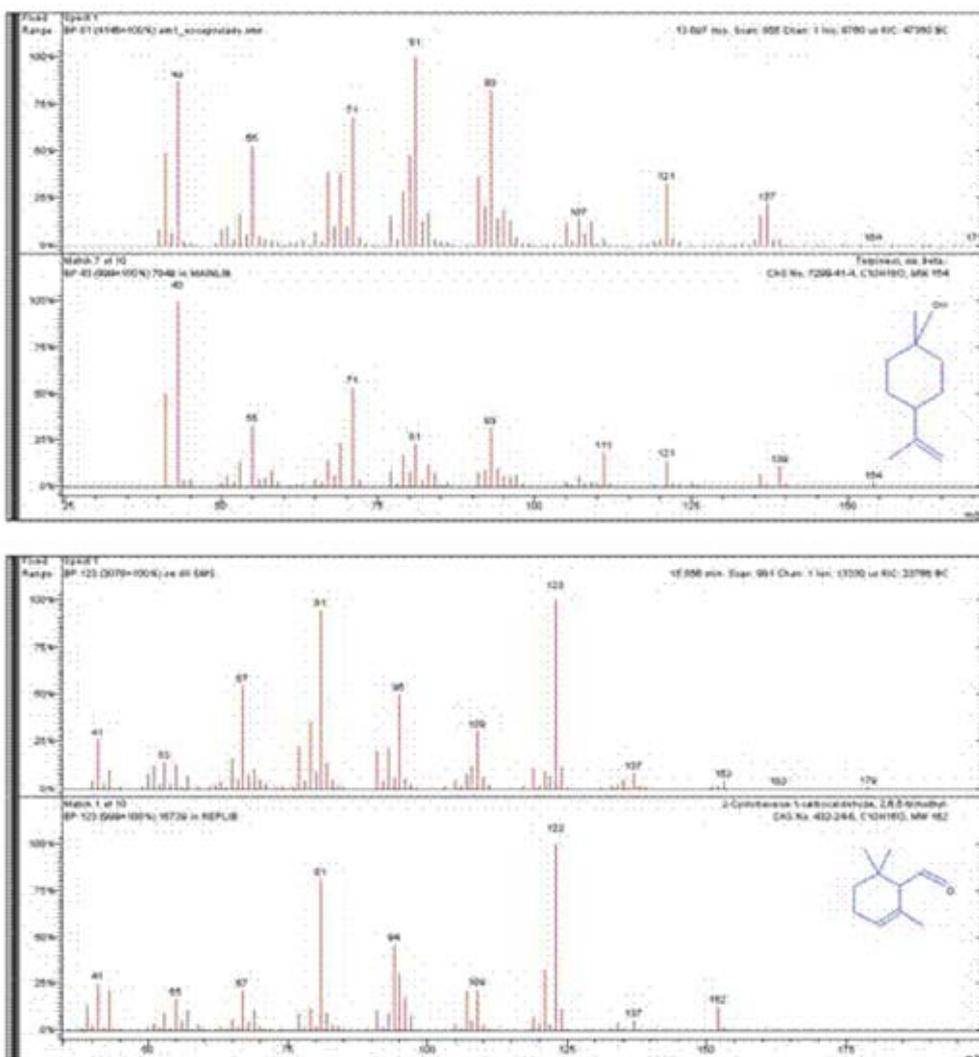
LABORATÓRIO DE CROMATOGRAFIA
RELATÓRIO DE ENSAIO



DQ-137 Revisão: 04 Data: 06/02/2007

Relatório de Ensaio N°: 65834

Página 10 de 15



INSTITUTO DE PESQUISAS TECNOLÓGICAS DE BLUMENAU
Rua São Paulo, 3250 – Itoupava Seca - CEP 89030-000 - Blumenau SC - Fone: (47) 221-6062 - Fax: (47) 221-6001
C.N.P.J.: 82.662.958/0001.02 - Inscrição Estadual: 250.974.665 – www.ipib.furb.br - ipib@furb.br



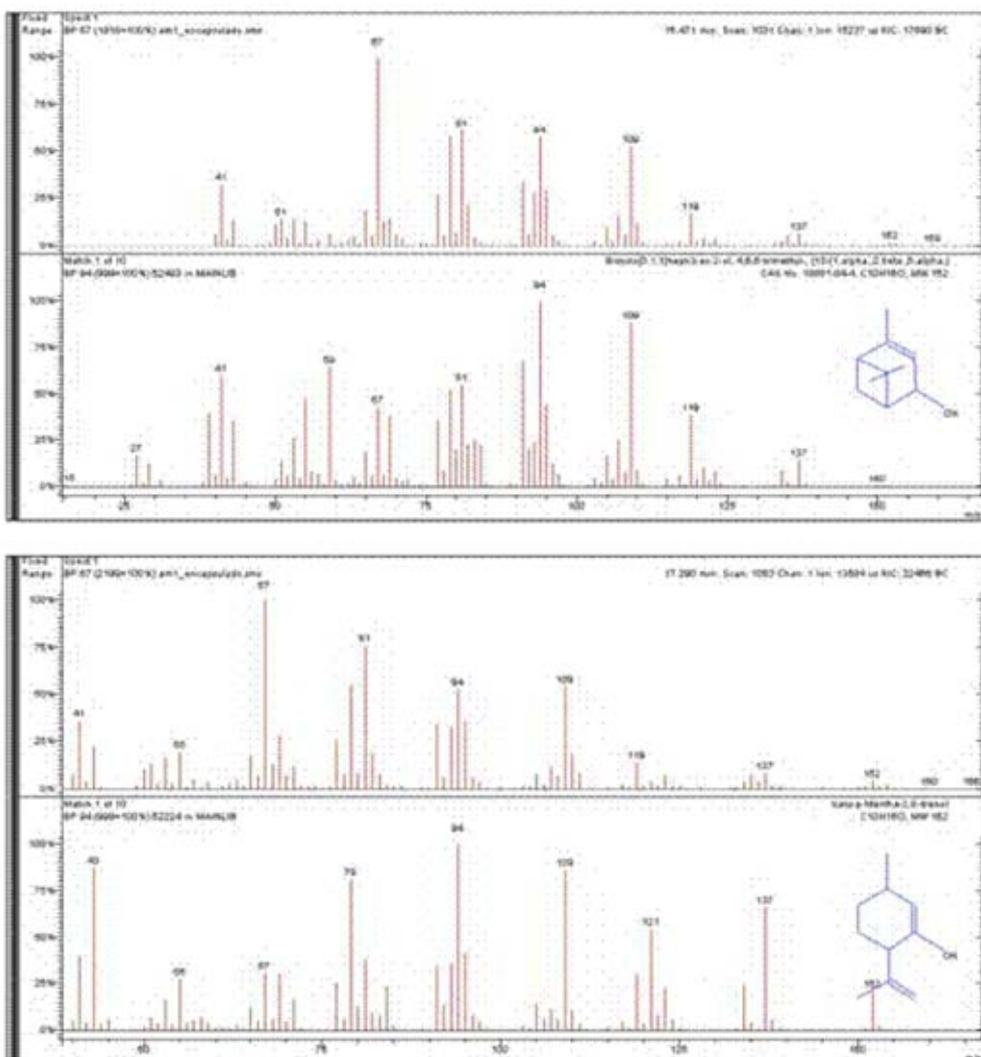
LABORATÓRIO DE CROMATOGRAFIA
RELATÓRIO DE ENSAIO



DQ-137 Revisão: 04 Data: 06/02/2007

Relatório de Ensaio Nº: 65834

Página 11 de 15



INSTITUTO DE PESQUISAS TECNOLÓGICAS DE BLUMENAU
Rua São Paulo, 3250 – Itoupava Seca - CEP 89030-000 - Blumenau SC - Fone: (47) 221-6062 - Fax: (47) 221-6001
C.N.P.J.: 82.662.958/0001.02 - Inscrição Estadual: 250.974.665 – www.ipib.furb.br - ipib@furb.br



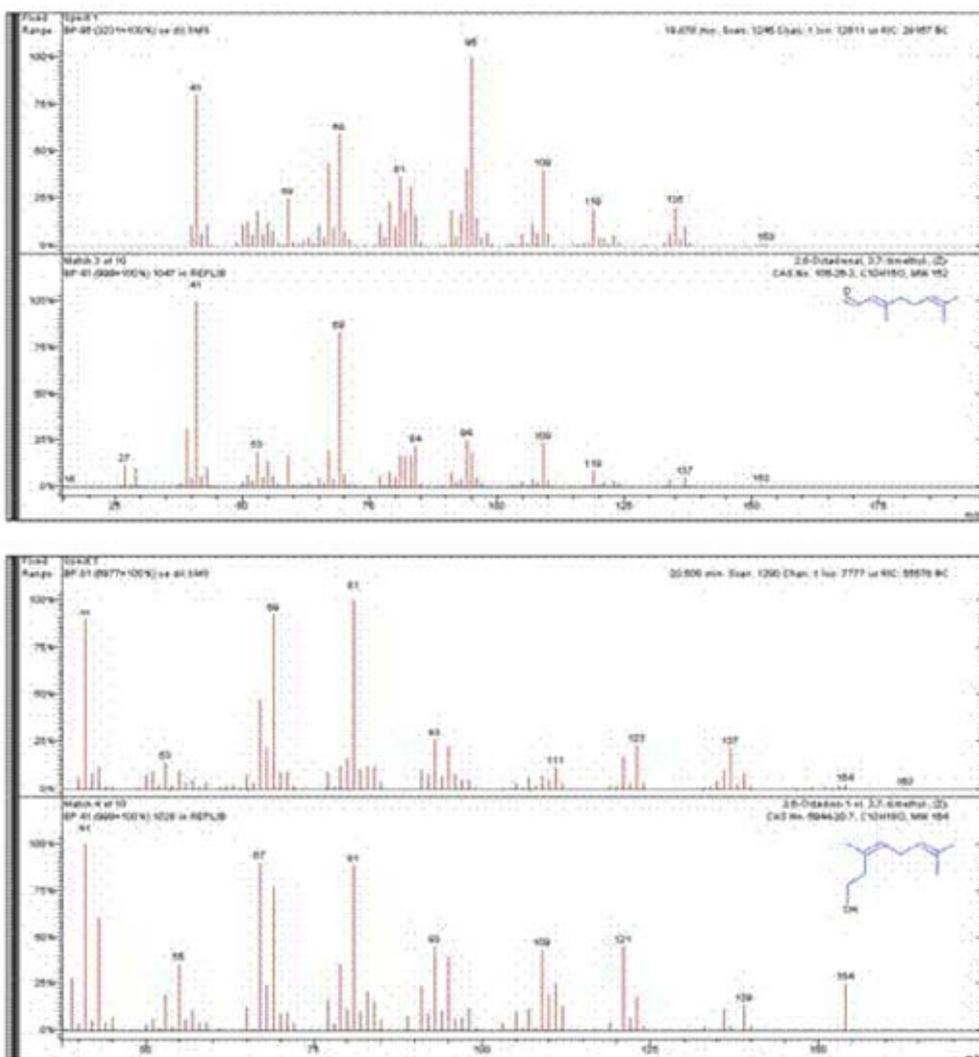
LABORATÓRIO DE CROMATOGRAFIA
RELATÓRIO DE ENSAIO



DQ-137 Revisão: 04 Data: 06/02/2007

Relatório de Ensaio N° : 65834

Página 12 de 15



INSTITUTO DE PESQUISAS TECNOLÓGICAS DE BLUMENAU
Rua São Paulo, 3250 – Itoupava Seca - CEP 89030-000 - Blumenau SC - Fone: (47) 221-6062 - Fax: (47) 221-6001
C.N.P.J.: 82.662.958/0001.02 - Inscrição Estadual: 250.974.665 – www.ipib.furb.br - ipib@furb.br



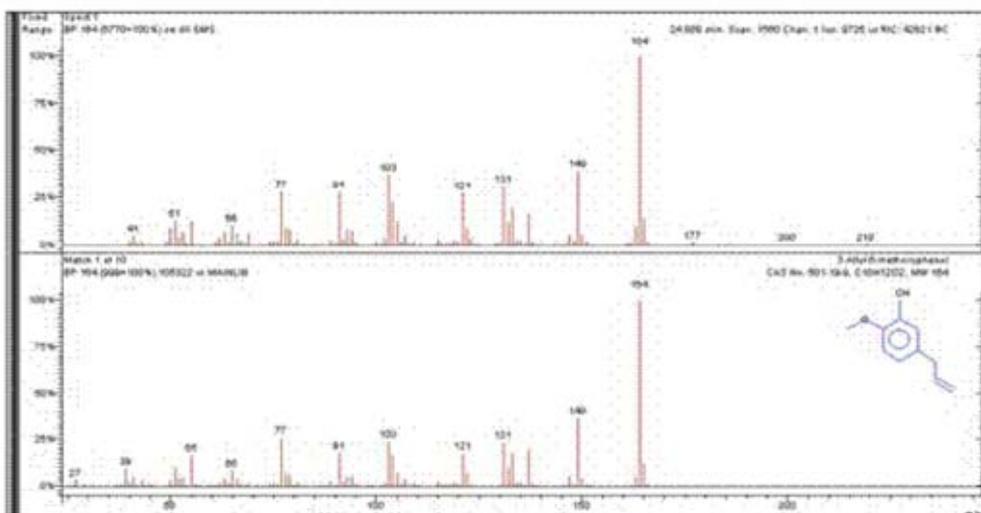
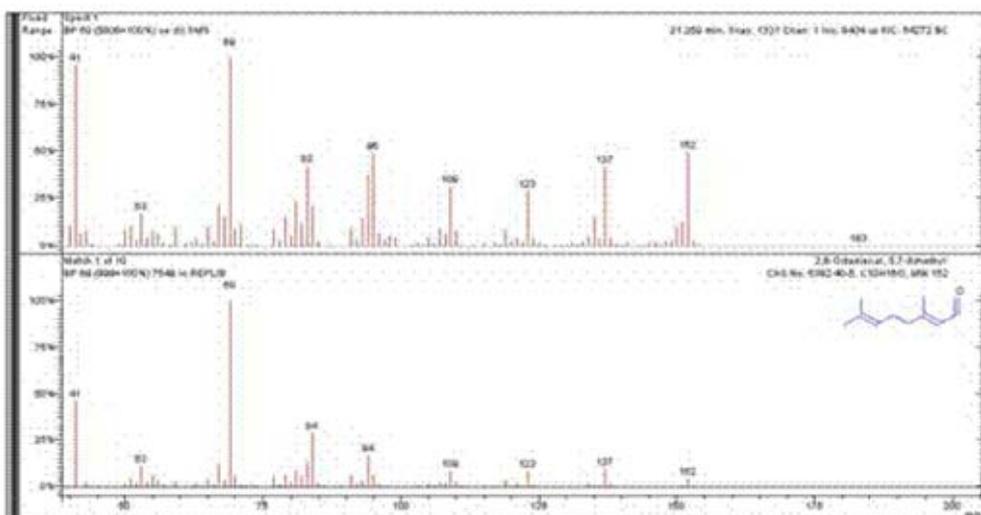
LABORATÓRIO DE CROMATOGRAFIA
RELATÓRIO DE ENSAIO



DQ-137 Revisão: 04 Data: 06/02/2007

Relatório de Ensaio N° : 65834

Página 13 de 15



INSTITUTO DE PESQUISAS TECNOLÓGICAS DE BLUMENAU
Rua São Paulo, 3250 – Itoupava Seca - CEP 89030-000 - Blumenau SC - Fone: (47) 221-6062 - Fax: (47) 221-6001
C.N.P.J.: 82.662.958/0001.02 - Inscrição Estadual: 250.974.665 – www.ipib.furb.br - ipib@furb.br



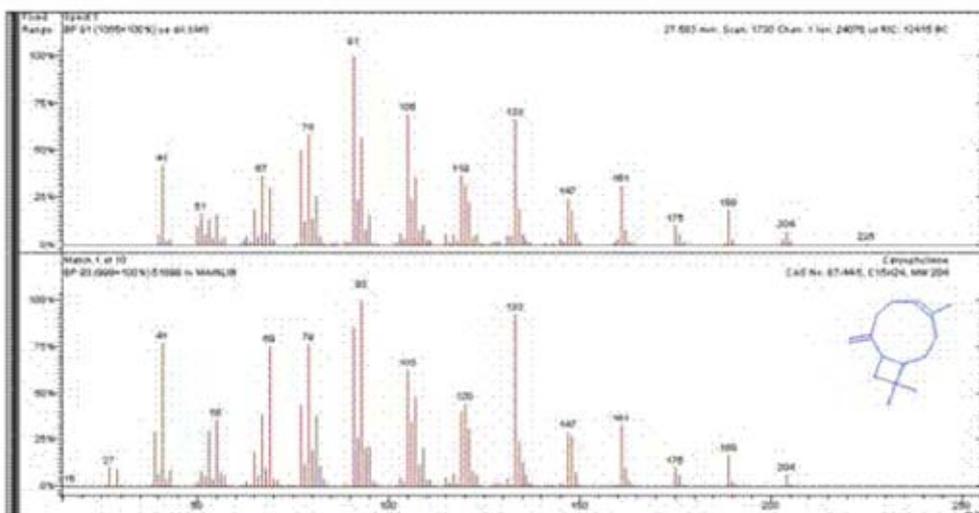
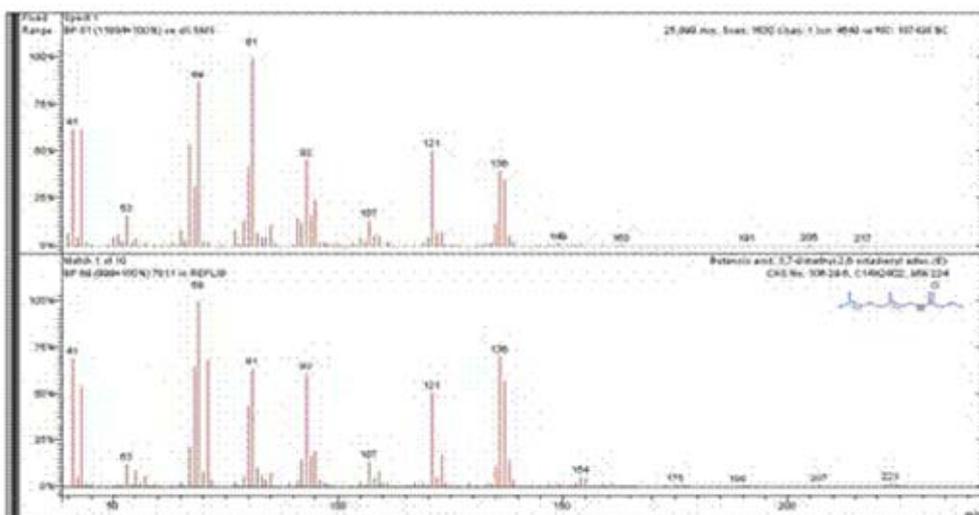
LABORATÓRIO DE CROMATOGRAFIA
RELATÓRIO DE ENSAIO



DQ-137 Revisão: 04 Data: 06/02/2007

Relatório de Ensaio N°: 65834

Página 14 de 15



INSTITUTO DE PESQUISAS TECNOLÓGICAS DE BLUMENAU
Rua São Paulo, 3250 – Itoupava Seca - CEP 89030-000 - Blumenau SC - Fone: (47) 221-6062 - Fax: (47) 221-6001
C.N.P.J.: 82.662.958/0001.02 - Inscrição Estadual: 250.974.665 – www.ipib.furb.br - ipib@furb.br



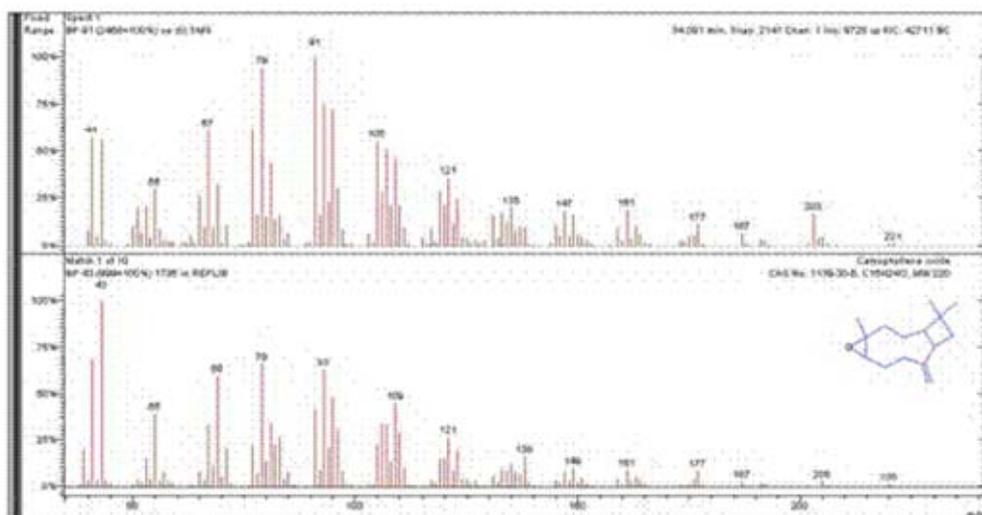
LABORATÓRIO DE CROMATOGRAFIA
RELATÓRIO DE ENSAIO



DQ-137 Revisão: 04 Data: 06/02/2007

Relatório de Ensaio N°: 65834

Página 15 de 15



5. INFORMAÇÕES ADICIONAIS

- O conteúdo deste Relatório somente poderá ser reproduzido por inteiro. A reprodução de partes requer aprovação por escrito do IPTB-FURB.
- A contestação dos resultados dos ensaios deverá ser formalizada no prazo de quinze dias após a emissão do Relatório de Ensaio.
- O pedido de reensaio na amostra estará sujeito à quantidade e condições de conservação da mesma.

Termo de Responsabilidade

O presente Relatório foi emitido em uma via original e representa um registro preciso e verdadeiro dos resultados obtidos, conforme os procedimentos analíticos específicos para cada ensaio. Todos os resultados brutos e observações referentes aos ensaios realizados, foram registrados e permanecerão arquivados no IPTB-FURB durante o período de cinco anos.

O IPTB-FURB assume responsabilidade dos resultados obtidos, restritos às amostras analisadas pelo Instituto.

Alberto Wisniewski Junior - MSc
CRQ XIII - 13100531
Gerente Técnico

INSTITUTO DE PESQUISAS TECNOLÓGICAS DE BLUMENAU
Rua São Paulo, 3250 - Itoupava Seca - CEP 89030-000 - Blumenau SC - Fone: (47) 221-6082 - Fax: (47) 221-6001
C.N.P.J.: 82.662.958/0001.02 - Inscrição Estadual: 250.974.665 - www.iptb.furb.br - iptb@furb.br