

Utilização da Nanotecnologia para o desenvolvimento sustentável na indústria agro-alimentar

Tiago Leite Rodrigues

Dissertação submetida para a obtenção do grau de Mestre em
Energias Sustentáveis



Departamento de Engenharia Mecânica

22 de Julho de 2013

Relatório da Unidade Curricular de Dissertação/Projeto/Estágio do 2º ano do Mestrado em
Energias Sustentáveis

Candidato: Tiago Leite Rodrigues, N° 1070145, 1070145@isep.ipp.pt
Orientador: Dr.ª Ermelinda Manuela Pinto Jesus Garrido, EMG@isep.ipp.pt

Local: Centro de Inovação em Engenharia e Tecnologia Industrial (CIETI) –
Núcleo de Biomateriais e Nanotecnologias (NBIN)

Co-orientador: Dr.º Jorge Manuel Pinto de Jesus Garrido, JJG@isep.ipp.pt



Mestrado em Engenharia Energias Sustentáveis
Departamento de Engenharia Mecânica

22 de Julho de 2013

Agradecimentos

Gostaria de dedicar este espaço para o agradecimento a todos aqueles que contribuíram direta e indiretamente para a realização desta monografia.

Ao Instituto Superior de Engenharia do Porto (ISEP) e ao Centro de Inovação em Engenharia e Tecnologia Industrial (CIETI), nomeadamente ao Núcleo de Biomateriais e Nanotecnologia (NBIN) – Laboratório de Química Medicinal e (Bio) Ambiental, pelas instalações fornecidas.

Aos meus orientadores, Dr.^a Manuela Garrido e Dr.^o Jorge Garrido, por todo o acompanhamento e processo criativo bem como por toda a simpatia, apoio, disponibilidade e prestabilidade durante as várias etapas desta tese de mestrado.

Gostaria igualmente de agradecer a todos os elementos do CIETI que me acolheram como membro integrante, demonstrando paciência e amabilidade, destacando-se a Sílvia Maia, a Joana Teixeira, a Vânia Silva, a Maria João Magalhães, a Ana Ferreira, a Manuela Machado e a Sofia Benfeito bem como aos restantes colegas de laboratório.

Por fim, como não podia deixar de ser, agradeço aos meus pais e aos meus irmãos por todo o apoio prestado durante todas as etapas desta tese, tendo as suas palavras e gestos, tido um papel fulcral na concretização deste trabalho.

Resumo

O crescimento populacional esperado para os próximos anos conduzirá à necessidade de aumentar a produção agrícola de modo a satisfazer o aumento da procura. Nos últimos anos tem-se assistido a uma evolução tecnológica nos sistemas de produção que tem permitido aumentar a produtividade agrícola, por vezes à custa de elevados consumos de energia e com práticas nem sempre ambientalmente corretas.

Os desafios que se colocam atualmente são no sentido de melhorar a conservação de recursos escassos, como o solo e a água, de aumentar a eficiência de uso de fatores de produção, de encontrar novas culturas, do desenvolvimento da biotecnologia, da diminuição dos consumos energéticos e de melhorar ainda mais as tecnologias associadas à produção.

De maneira a responder aos desafios emergentes da procura por alimentos, da escassez de terrenos agrícolas aráveis bem como da existência de pragas de insetos e de ervas daninhas, os pesticidas tem vindo a ser usados com maior frequência, tendo-se assistido a uma contaminação dos solos e águas subterrâneas, causando deste modo um risco para a saúde dos seres vivos.

Neste sentido, vários fabricantes de pesticidas estão a desenvolver novas formulações contendo pesticidas encapsulados em nanopartículas como modo de aumentar a sua solubilidade em água, biodisponibilidade, volatilidade, estabilidade e eficácia. tendo por objetivo um desenvolvimento sustentável.

Neste trabalho, procedeu-se ao estudo do encapsulamento do herbicida Oxadiargil (5-*tert*-butil-3-[2,4-dicloro-5-(2-propiniloxi)fenil]-1,3,4-oxadiazol-2(3H)-ona) com a 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina (HP- β -CD). O estudo da formação do complexo de inclusão Oxadiargil - HP- β -CD foi realizado em diferentes meios, água desionizada, tampão acetato pH = 3,46 e pH = 5,34 e tampão fosfato pH = 7,45, com o objetivo de determinar e comparar a sua constante de estabilidade.

Verificou-se, em qualquer dos casos, a ocorrência de uma relação linear entre o aumento da solubilidade do Oxadiargil e o aumento da concentração de HP- β -CD, com um declive

inferior a um, o que indicia a formação de um complexo na proporção estequiométrica de 1:1.

Os resultados obtidos permitiram concluir que o processo de complexação Oxadiargil - HP- β -CD não é muito influenciado pela constituição e pelo pH do meio. De facto, as constantes de estabilidade obtidas para a água desionizada e soluções-tampão pH = 3,46, pH = 5,34 e pH = 7,45 foram de 919 ± 25 , 685 ± 13 , 623 ± 17 e 753 ± 9 , respetivamente.

A solubilidade do complexo obtido nos estudos realizados, em diferentes meios, é cerca de 23 a 32 vezes superior à observada para o Oxadiargil livre.

De forma a caracterizar o complexo Oxadiargil - HP- β -CD procedeu-se à sua síntese utilizando o método de “*kneading*”. O composto obtido foi caracterizado por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) tendo-se confirmado a formação de um complexo de inclusão na proporção estequiométrica de 1:1.

O complexo obtido é mais solúvel e porventura mais estável quimicamente. O encapsulamento permite uma redução da aplicação dos pesticidas diminuindo assim os custos e o impacto negativo no ambiente. Com a nanotecnologia é possível a libertação controlada dos pesticidas, aumentando a sua eficácia e fornecendo os meios necessários para um desenvolvimento sustentável.

Palavras-Chave

Agricultura, Sustentabilidade, Encapsulamento, Oxadiargil.

Abstract

The expected population growth over the next few years will lead to the need to increase the agricultural production to meet the increased demand. In recent years there has been a technological change in production systems that has allowed an increase in the agricultural productivity, sometimes at the expense of high energy consumption and not always environmentally friendly practices.

The current challenges are related to improve the conservation of scarce resources, such as soil and water, to increase the efficiency of use of production factors, finding new cultures, the development of biotechnology, the reduction of energy consumption and to further improve the technologies associated with production.

In order to meet the challenges of the emerging demand for food, the scarcity of arable land as well as the existence of insect pests and weeds, pesticides have been used more frequently, having witnessed a contamination of soils and groundwater, thereby causing a risk to the health of living beings.

In this way, several pesticides manufacturers are developing new formulations containing pesticides encapsulated in nanoparticles as a mean of increasing the solubility in water, bioavailability, volatility, stability and effectiveness with the objective of sustainable development.

In this essay, we proceeded to study the encapsulation of the herbicide Oxadiargyl (5-tert-butyl-3-[2,4-dichloro-5-(2-propinyloxy)phenyl]-1,3,4-oxadiazol-2(3H)-one) in 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CD). The study of the inclusion complex formation Oxadiargyl - HP- β -CD was performed in different means, deionized water, acetate buffer pH = 3,46 and pH = 5,34 and phosphate buffer pH = 7,45, in order to determine and compare their stability constant.

It was verified, in both cases, the occurrence of a linear relationship between the increase in solubility of Oxadiargyl and the increasing concentrations of HP- β -CD, with a slope less than one, which indicates the formation of a complex in stoichiometric ratio of 1:1.

Based on the results obtained it is possible to conclude that the complexation process Oxadiargyl - HP- β -CD isn't much influenced by the constitution and by the medium pH. In fact, the stability constants obtained for the deionized water and buffer solutions pH = 3,46, pH = 5,34 and pH = 7,45 were 919 ± 25 , 685 ± 13 , 623 ± 17 and 753 ± 9 , respectively.

The solubility of the complex obtained in studies performed, in different means, is about 23 to 32 times higher than that observed for the free Oxadiargyl.

In order to characterize the complex Oxadiargyl - HP- β -CD its synthesis has been proceeded using the "kneading" method. The obtained compound was characterized by Nuclear Magnetic Resonance (NMR) and it was confirmed the formation of an inclusion complex in a stoichiometric ratio of 1:1.

The complex obtained is more soluble and perhaps more chemically stable. Encapsulation allows a reduction in the application of pesticides thereby reducing the costs and the negative impact on the environment. Nanotechnology allows for a controlled release of pesticides, increasing its effectiveness and providing the means for sustainable development.

Keywords

Agriculture, Sustainability, Encapsulation, Oxadiargyl.

Índice

AGRADECIMENTOS	II
RESUMO	III
ABSTRACT	V
ÍNDICE	VII
ÍNDICE DE FIGURAS	IX
ÍNDICE DE TABELAS	XI
NOMENCLATURA	XIII
1. GENERALIDADES	1
1.1. CONTEXTUALIZAÇÃO	1
1.2. OBJETIVOS	2
1.3. CALENDARIZAÇÃO	2
1.4. ORGANIZAÇÃO DO RELATÓRIO	2
2. PRODUTOS FITOFARMACÊUTICOS	5
2.1. PESTICIDAS	5
2.1.1. CLASSIFICAÇÃO	7
2.1.2. RISCO TOXICOLÓGICO	7
2.1.3. ESTATÍSTICAS	9
2.1.4. HERBICIDAS.....	10
2.1.5. VANTAGENS / DESVANTAGENS	12
2.2. LEGISLAÇÃO	13
2.2.1. DIRETIVA SOBRE O USO SUSTENTÁVEL DOS PESTICIDAS	14
2.3. CICLODEXTRINAS	17
2.3.1. ESTRUTURA E PROPRIEDADES	17
2.3.2. ENCAPSULAMENTO	19
2.3.3. ENSAIOS DE AVALIAÇÃO DO ENCAPSULAMENTO	21
2.4. ESTADO DA ARTE.....	23
2.5. AGRICULTURA SUSTENTÁVEL	25
2.5.1. AGRICULTURA DE PRECISÃO	28
2.5.2. SISTEMAS DE DISTRIBUIÇÃO INTELIGENTES	28
2.5.3. OUTRAS APLICAÇÕES	29
3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	31
3.1. REAGENTES E SOLVENTES	31
3.2. EQUIPAMENTO E MATERIAL	32

3.3.	CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS	33
3.3.1.	ESTUDOS PRÉVIOS	33
3.3.2.	ENSAIOS DE SOLUBILIDADE EM ÁGUA DESIONIZADA.....	33
3.3.3.	ENSAIOS DE SOLUBILIDADE EM SOLUÇÃO-TAMPÃO PH = 3,46.....	35
3.3.4.	ENSAIOS DE SOLUBILIDADE EM SOLUÇÃO-TAMPÃO PH = 5,34.....	35
3.3.5.	ENSAIOS DE SOLUBILIDADE EM SOLUÇÃO-TAMPÃO PH = 7,45.....	36
3.3.6.	CARACTERIZAÇÃO DO COMPLEXO FORMADO POR RMN USANDO O MÉTODO KNEADING	37
4.	RESULTADOS OBTIDOS E DISCUSSÃO	39
4.1.	ESTUDO DA COMPLEXAÇÃO OXADIARGIL - HP-B-CD	39
4.1.1.	ENSAIOS DE SOLUBILIDADE DO OXADIARGIL E DO COMPLEXO	39
4.1.1.1.	ESTUDO EM ÁGUA DESIONIZADA	39
4.1.1.2.	ESTUDO NUMA SOLUÇÃO-TAMPÃO PH = 3,46.....	44
4.1.1.3.	ESTUDO NUMA SOLUÇÃO-TAMPÃO PH = 5,34.....	49
4.1.1.4.	ESTUDO NUMA SOLUÇÃO-TAMPÃO PH = 7,45.....	53
4.1.2.	ANÁLISE DOS COMPLEXOS POR RMN	57
5.	CONCLUSÕES E COMENTÁRIOS.....	61
5.1.	CONCLUSÕES.....	61
5.2.	TRABALHOS FUTUROS	62
	BIBLIOGRAFIA	65
	ANEXO A. RESULTADOS DAS AMOSTRAS ANALISADAS POR UV/VIS.....	69

Índice de Figuras

Figura 1	– Vendas de produtos fitofarmacêuticos por tipo de função [13].....	9
Figura 2	– Evolução mensal dos valores acumulados das vendas em 2012 [14]	10
Figura 3	– Estrutura molecular do Oxadiargil [17]	12
Figura 4	– Estrutura química da α -CD, β -CD e γ -CD [26]	18
Figura 5	– Estrutura química da HP- β -CD [29]	19
Figura 6	– Exemplo de um encapsulamento da molécula hóspede na ciclodextrina [31].....	20
Figura 7	– Solubilidade (mg CD/g H ₂ O da (□) α -CDs, (●) β -CDs e (○) γ -CDs em água em função da temperatura (K) [26].....	21
Figura 8	– Diagrama de solubilidade de fases [33]	21
Figura 9	– Espetros de UV da curva de calibração (água desionizada)	40
Figura 10	– Curva de calibração (água desionizada).....	41
Figura 11	– Espetros dos ensaios de solubilidade (água desionizada).....	41
Figura 12	– Diagrama de fases, de crescimento linear, de solubilidade das soluções C a H	42
Figura 13	– Espetros de UV/Vis da curva de calibração (solução-tampão pH = 3,46)	44
Figura 14	– Curva de calibração (solução-tampão pH = 3,46).....	45
Figura 15	– Espetros dos ensaios de solubilidade (solução-tampão pH = 3,46)	46
Figura 16	– Diagrama de fases, de crescimento linear, de solubilidade das soluções C a H	47
Figura 17	– Espetros de UV/Vis da curva de calibração (solução-tampão pH = 5,34)	49
Figura 18	– Curva de calibração (solução-tampão pH = 5,34).....	50
Figura 19	– Espetros dos ensaios de solubilidade (solução-tampão pH = 5,34)	51
Figura 20	– Diagrama de fases, de crescimento linear, de solubilidade das soluções C a H	52
Figura 21	– Espetros de UV/Vis da curva de calibração (solução-tampão pH = 7,45)	53
Figura 22	– Curva de calibração (solução-tampão pH = 7,45).....	54
Figura 23	– Espetros dos ensaios de solubilidade (solução-tampão pH = 7,45)	55
Figura 24	– Diagrama de fases, de crescimento linear, de solubilidade das soluções D a H	56
Figura 25	– Espectro de RMN de ¹ H do Oxadiargil	58
Figura 26	– Espectro de RMN de ¹ H do complexo Oxadiargyl – HP- β -CD obtidos pelo método de <i>kneading</i>	59
Figura 27	– Espectro de RMN de ¹ H da HP- β -CD.....	59
Figura 28	– Espetros dos ensaios de solubilidade em água desionizada.....	69
Figura 29	– Espetros dos ensaios de solubilidade em água desionizada.....	70
Figura 30	– Espetros dos ensaios de solubilidade em água desionizada.....	70
Figura 31	– Espetros dos ensaios de solubilidade em a água desionizada.....	71
Figura 32	– Espetros dos ensaios de solubilidade para uma solução-tampão pH = 3,46.....	72

Figura 33	– Espetros dos ensaios de solubilidade para uma solução-tampão pH = 3,46.....	72
Figura 34	– Espetros dos ensaios de solubilidade para uma solução-tampão pH = 3,46.....	73
Figura 35	– Espetros dos ensaios de solubilidade para uma solução-tampão pH = 3,46.....	73
Figura 36	– Espetros dos ensaios de solubilidade para uma solução-tampão pH = 3,46.....	74
Figura 37	– Espetros dos ensaios de solubilidade para uma solução-tampão pH = 3,46.....	74
Figura 38	– Espetros dos ensaios de solubilidade para uma solução-tampão pH = 5,34.....	75
Figura 39	– Espetros dos ensaios de solubilidade para uma solução-tampão pH = 5,34.....	75
Figura 40	– Espetros dos ensaios de solubilidade para uma solução-tampão pH = 5,34.....	76
Figura 41	– Espetros dos ensaios de solubilidade para uma solução-tampão pH = 7,45.....	77
Figura 42	– Espetros dos ensaios de solubilidade para uma solução-tampão pH = 7,45.....	77

Índice de Tabelas

Tabela 1	– Calendarização da dissertação	2
Tabela 2	– Símbolos e respetiva descrição da perigosidade dos pesticidas [3] [9] [10] [11] [12].	8
Tabela 3	– Propriedades das ciclodextrinas [25]	18
Tabela 4	– Tipo de libertação das nano e microcápsulas [38]	27
Tabela 5	– Oportunidades para a nanotecnologia na formulação de pesticidas [36]	30
Tabela 6	– Preparação das soluções de Oxadiargil para o estudo por UV/Vis para um volume de 25,00 mL em água desionizada.....	34
Tabela 7	– Preparação das soluções de Oxadiargil para o estudo por UV/Vis para um volume de 25,00 mL em solução-tampão pH = 3,46	35
Tabela 8	– Preparação das soluções de Oxadiargil para o estudo por UV/Vis para um volume de 25,00 mL em solução-tampão pH = 5,34	36
Tabela 9	– Preparação das soluções de Oxadiargil para o estudo por UV/Vis para um volume de 25,00 mL em solução-tampão pH = 7,45	37
Tabela 10	– Leitura das absorvâncias para as diferentes concentrações de Oxadiargil (água desionizada)	40
Tabela 11	– Cálculo da concentração do Oxadiargil.....	42
Tabela 12	– Estudo da solubilidade do Oxadiargil com concentrações crescentes de HP- β -CD por Espectrofotometria de UV/Vis (água desionizada)	43
Tabela 13	– Dados obtidos para a obtenção da constante de estabilidade (água desionizada)	44
Tabela 14	– Leitura das absorvâncias para as diferentes concentrações de Oxadiargil (solução-tampão pH = 3,46)	45
Tabela 15	– Cálculo da concentração do Oxadiargil.....	46
Tabela 16	– Estudo da solubilidade do Oxadiargil com concentrações crescentes de HP- β -CD por Espectrofotometria de UV/Vis (solução-tampão pH = 3,46).....	48
Tabela 17	– Dados obtidos para a obtenção da constante de estabilidade (pH = 3,46).....	49
Tabela 18	– Leitura das absorvâncias para as diferentes concentrações de Oxadiargil (solução-tampão pH = 5,34)	50
Tabela 19	– Cálculo da concentração do Oxadiargil.....	51
Tabela 20	– Estudo da solubilidade do Oxadiargil com concentrações crescentes de HP- β -CD por Espectrofotometria de UV/Vis (solução-tampão pH = 5,34).....	52
Tabela 21	– Dados obtidos para a obtenção da constante de estabilidade (pH = 5,34).....	53
Tabela 22	– Leitura das absorvâncias para as diferentes concentrações de Oxadiargil (solução-tampão pH = 7,45)	54
Tabela 23	– Cálculo da concentração do Oxadiargil.....	55

Tabela 24 – Estudo da solubilidade do Oxadiargil com concentrações crescentes de HP- β -CD por Espectrofotometria de UV/Vis (solução-tampão pH = 7,45).....	56
Tabela 25 – Dados obtidos para a obtenção da constante de estabilidade (pH = 7,45).....	57
Tabela 26 – Síntese da média das constantes de estabilidade obtidas para as diferentes soluções	57

Nomenclatura

Caracteres Gregos

$\alpha - CD$	–	Ciclodextrina alfa
$\beta - CD$	–	Ciclodextrina beta
$\gamma - CD$	–	Ciclodextrina gama
K	–	Constante de estabilidade

Abreviaturas

%	–	Por cento
AFM	–	Microscopia de Força Atómica
ANIPLA	–	Associação Nacional da Indústria Para a Proteção das Plantas
CATPF	–	Comissão de Avaliação Toxicológica dos Produtos Fitofarmacêuticos
CD	–	Ciclodextrina
CDs	–	Ciclodextrinas
CE	–	Comissão Europeia
CEE	–	Comunidade Económica Europeia
CEMUP	–	Centro de Materiais da Universidade do Porto
CIETI	–	Centro de Inovação em Engenharia e Tecnologia Industrial
CTP	–	Comissão de Toxicologia dos Pesticidas
D ₂ O	–	Água deuterada

DDT	– Diclorodifeniltricloroetano
DL	– Decreto-Lei
EC	– Concentrados para emulsão
EU	– União Europeia
GPS	– Sistema de Posicionamento Global
HP- β -CD	– 2-hidroxipropil- β -ciclodextrina
HPLC	– Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
ISEP	– Instituto Superior de Engenharia do Porto
IUPAC	– International Union of Pure and Applied Chemistry
MES	– Mestrado em Energias Sustentáveis
NBIN	– Núcleo de Biomateriais e Nanotecnologia
Oxadiargil	– 5-terc-Butil-3-[2,4-dicloro-5-(2-propiniloxi)fenil]-1,3,4-oxadiazol-2(3H)-ona
p.a.	– Pureza analítica
ppm	– Partes por milhão
QSAR	– Ensaio de Relação Quantitativa de Estrutura-Atividade
RMN	– Ressonância Magnética Nuclear
rpm	– Rotações por minuto
S ₀	– Solubilidade do pesticida na ausência da HP- β -CD
SBE- β -CD	– Sulfobutil éter beta-ciclodextrina
STM	– Microscopia de Varrimento por Efeito Túnel

TMS – Tetrametilsilano
UV/Vis – Ultravioleta Visível
vs – Versus

1. GENERALIDADES

1.1. CONTEXTUALIZAÇÃO

Para satisfazer as necessidades alimentares básicas de uma população humana em rápido crescimento torna-se prioritário desenvolver um sistema agrícola produtivo e sustentável. Da análise dos vários sistemas agrícolas é possível compreender o uso de todas as formas de energia e aprender como preservar os solos, a água e os recursos biológicos para as gerações futuras. A produção e aplicação de agroquímicos representam uma pequena parcela da energia usada na agricultura. Nos EUA a produção e aplicação destes produtos representam pouco mais de 5% do total de energia utilizada. Estudos descritos na literatura estimaram que a agricultura brasileira utilizava 21% da sua energia na forma de combustíveis, 58% na forma de fertilizantes, 14% na forma de agroquímicos e 6,8% para irrigação, transporte e outros. Esta dissertação surgiu do facto da indústria agroquímica demonstrar um crescente interesse na utilização de ciclodextrinas (CDs) na formação de complexos de inclusão com pesticidas, o que pode geralmente resultar em melhorias nas propriedades físico-químicas dos produtos formados relativamente aos pesticidas livres, nomeadamente no aumento da solubilidade e da biodisponibilidade, o aumento da estabilidade e na redução da toxicidade em seres vivos.

O trabalho apresentado nesta dissertação é prova para a conclusão do Mestrado em Energias Sustentáveis (MES). Inclui o procedimento, resultados experimentais e principais conclusões relativamente à análise do encapsulamento do Oxadiargil na HP- β -CD.

1.2. OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho baseia-se no estudo do encapsulamento de um pesticida usado em Portugal, o Oxadiargil, com a HP- β -CD. A formação do complexo de inclusão com a CD foi analisada em diferentes meios, soluções-tampão com valores de pH = 3,46, 5,34 e 7,45 e em água desionizada, por espectrofotometria de Ultravioleta Visível (UV/Vis). O complexo formado foi caracterizado por Ressonância Magnética Nuclear (RMN).

1.3. CALENDARIZAÇÃO

A motivação deste trabalho e a sua prossecução conduziu à calendarização apresentada na Tabela 1. Esta inclui um conjunto de fases, como por exemplo: o estudo de conceitos teóricos; elaboração de procedimentos experimentais; análise e tratamento de resultados e propostas de trabalhos futuros.

Tabela 1 – Calendarização da dissertação

ID	Nome das etapas	Início	Fim	Duração	Jan-13	Fev-13	Mar-13							Abr-13				Mai-13			Jul-13
					1	26	4	5	11	12	19	20	27	9	15	23	29	1	7	31	15
1	Estudo da teoria (Legislação em vigor, softwares e conceitos teóricos do tema abordado)	01-01-2013	31-05-2013	21s3d	[Activity bar]																
2	Realização de procedimentos experimentais e cálculos para a preparação das soluções-mãe e encapsulamento	26-02-2013	04-03-2013	1s	[Activity bar]																
3	Encapsulamento com água desionizada	05-03-2013	11-03-2013	1s	[Activity bar]																
4	Estudos prévios	12-03-2013	19-03-2013	1s1d	[Activity bar]																
5	Encapsulamento com pH = 3,46	20-03-2013	27-03-2013	1s1d	[Activity bar]																
6	Encapsulamento com pH = 5,46	09-04-2013	15-04-2013	1s	[Activity bar]																
7	Encapsulamento com pH = 7,45	23-04-2013	29-04-2013	1s	[Activity bar]																
8	Caracterização do complexo por RMN	01-05-2013	07-05-2013	1s	[Activity bar]																
9	Elaboração do Relatório Final	01-05-2013	15-07-2013	11s	[Activity bar]																

1.4. ORGANIZAÇÃO DO RELATÓRIO

Este relatório está organizado em duas partes distintas, sendo que uma tem um ênfase mais teórico e a outra um carácter mais experimental.

Na primeira parte inclui-se os capítulos 1 e 2. Na segunda parte, os capítulos 3, 4 apresentam todo o trabalho experimental desenvolvido. No capítulo 5, é apresentado as conclusões.

No capítulo 1 é apresentado o enquadramento e os objetivos do projeto bem como a calendarização e organização deste relatório.

No capítulo 2 são apresentados os conceitos teóricos sobre o tema abordado, os produtos fitofarmacêuticos. O objetivo é de consciencializar o leitor sobre este tipo de produtos e o impacto que estes podem ter na agricultura e sociedade em geral. Aborda-se também a legislação em vigor, o uso de ciclodextrinas, bem como o estado da arte e a agricultura sustentável.

No capítulo 3 encontram-se os procedimentos experimentais efetuados, reagentes, solventes, equipamento e material utilizados assim como a característica dos complexos.

No capítulo 4 são apresentados os resultados obtidos e feita a discussão dos mesmos.

No último capítulo, o 5º, são reunidas as principais conclusões e planos para o futuro.

Em anexo deste relatório, está incluído um conjunto de figuras produzidas no decorrer da fase prática deste trabalho.

2. PRODUTOS FITOFARMACÊUTICOS

A temática apresentada neste capítulo é sobre os produtos fitofarmacêuticos, a legislação em vigor e o estado da arte. É também abordada as ciclodextrinas e a utilização sustentável dos pesticidas.

2.1. PESTICIDAS

Com o aumento da população mundial e conseqüente aumento do consumo alimentar e procura por alimentos surge uma maior necessidade de adaptar a produção agrícola de modo a fazer face à nova realidade [1] [2].

Deste modo, os produtos fitofarmacêuticos, vulgo pesticidas, surgem como um dos instrumentos para atingir esse objetivo, ou seja, o combate aos inimigos naturais das culturas agrícolas, resultando numa menor perda das colheitas e aumento da produção [3].

Os pesticidas consistem em “produtos naturais ou obtidos a partir de síntese, destinados a proteger as plantas das doenças, pragas ou infestantes, mantendo-as saudáveis de forma a que estas possam exprimir todo o seu potencial produtivo, tanto no que se refere à quantidade como no que respeita à qualidade dos produtos agrícolas” [4]

Por sua vez, o Código de Conduta Internacional sobre a distribuição e uso de pesticidas apresenta uma definição mais alargada do mesmo [5].

Estes são definidos como:

“any substance or mixture of substances intended for preventing, destroying or controlling any pest, including vectors of human or animal disease, unwanted species of plants or animals causing harm during or otherwise interfering with the production, processing, storage, transport or marketing of food, agricultural commodities, wood and wood products or animal feedstuffs, or substances which may be administered to animals for the control of insects, arachnids or other pests in or on their bodies. The term includes substances intended for use as a plant growth regulator, defoliant, desiccant or agent for thinning fruit or preventing the premature fall of fruit, and substances applied to crops either before or after harvest to protect the commodity from deterioration during storage and transport”.

No entanto, na vigésima terceira sessão em Roma de 21 a 25 Maio de 2012, durante a atualização do referido Código, foram propostas alterações, estando uma delas relacionada com a definição de pesticidas [6].

Caso seja aprovada, este passará a definir-se como:

“any substance, or mixture of substances, or micro-organisms, including viruses, intended for [...] repelling, destroying or controlling any pest, including vectors of human or animal disease, nuisance pests, unwanted species of plants or animals causing harm during or otherwise interfering with the production, processing, storage, transport or marketing of food, agricultural commodities, wood and wood products or animal feedstuffs, or in the production or maintenance of ornamental plants, gardens, recreational facilities such as golf courses, or [...] which may be administered to animals for the control of insects, arachnids or other pests in or on their bodies. The term includes substances intended for use as plant growth regulators; defoliants; desiccants; agents for setting thinning [...] or preventing the premature fall of fruit, and substance applied to crops either before or after harvest to protect the commodity from deterioration during storage and transport”.

2.1.1. CLASSIFICAÇÃO

Os pesticidas podem ser classificados através do seu alvo de ação e da sua classe química.

Em relação ao primeiro ponto estes subdividem-se em fungicidas (combatem fungos), inseticidas (combatem insetos), acaricidas (combatem ácaros), herbicidas (combatem ervas classificadas como infestantes), nematicidas (combatem nemátodos), moluscicidas (combatem lesmas e caracóis), rodenticidas (combatem ratos), algicidas (combatem algas), bactericidas (combatem bactérias), reguladores de crescimento (interferem no desenvolvimento das plantas por forma a conseguir um maior controlo vegetativo), molhantes (visam uma melhor aderência da pulverização às espécies vegetais tratadas), atrativos/repulsivos (com efeitos sobre o comportamento dos organismos que se pretendem controlar) e adjuvantes (substâncias que se adicionam às caldas e lhes imprimem certas propriedades) [3] [4] [7] [8].








Em relação à classe química, para os pesticidas de utilização mais expressiva (inseticidas, herbicidas e fungicidas), estes podem-se dividir em organoclorados, organofosforados, carbamatos e piretróides; clorofenoxiacéticos, bupiridilos, triazinas, cloroacetoanilinas e fosfometilaminoácidos; e inorgânicos, arilmercuriais, alquilmercuriais, ditiocarbamatos, fentalamidas e clorofenóis, respetivamente [3].

2.1.2. RISCO TOXICOLÓGICO

Nos pesticidas a indicação da perigosidade de um produto é dada pela sua toxicidade, que é expressa nos rótulos pelos símbolos e precauções toxicológicas [4].

Assim, na Tabela 2 é apresentado os símbolos e a respetiva descrição da perigosidade.

Tabela 2 – Símbolos e respetiva descrição da perigosidade dos pesticidas [3] [9] [10] [11] [12]

Símbolo	Descrição
 Tóxico	Substâncias e preparações que, quando inaladas, ingeridas ou absorvidas através da pele, mesmo em pequena quantidade, podem causar a morte ou riscos de afeções agudas ou crónicas.
 Perigo sério para a saúde	Substâncias que por serem tóxicas, podem ser mortais por ingestão e penetração nas vias respiratórias, induzir malformações em fetos, alterar o funcionamento de certos órgãos ou provocar insuficiência respiratória.
 Corrosivo	Substâncias e preparações que, em contacto com tecidos vivos, podem exercer sobre estes uma ação destrutiva.
 Perigoso para a saúde	Substâncias e preparações que, quando inaladas, ingeridas ou absorvidas através da pele, podem causar a morte ou riscos de afeções agudas ou crónicas. Substâncias e preparações não corrosivas que, em contacto direto, prolongado ou repetido com a pele ou com as mucosas, podem provocar uma reação inflamatória.
 Inflamável	i) substâncias e preparações que podem aquecer até ao ponto de inflamação em contacto com o ar, a uma temperatura normal, sem emprego de energia; ou ii) substâncias e preparações no estado sólido, que se podem inflamar facilmente por breve contacto com uma fonte de inflamação e que continuam a arder ou a consumir-se após a retirada da fonte de inflamação; ou iii) substâncias e preparações no estado líquido, cujo ponto de inflamação é muito baixo; ou iv) substâncias e preparações que, em contacto com a água ou ar húmido, libertam gases extremamente inflamáveis em quantidades perigosas
 Perigoso para o ambiente	Muito tóxico ou tóxico para os organismos aquáticos com efeitos duradouros
 Explosivo	Substâncias explosivas ou instáveis, que podem reagir exotermicamente e com rápida libertação de gases, mesmo sem a intervenção do oxigénio do ar, ou explodir, em determinadas condições. Exemplos: picratos (usados nos fogos-de-artifício), azidas, metil-2,4,6-trinitrobenzeno.
Sem símbolo - isento	

A toxicidade dos pesticidas pode ainda ser dividida em quatro grandes grupos:

- Classe toxicológica I (rótulo vermelho): produto no qual se encontram substâncias ou compostos químicos considerados “altamente tóxicos” para o ser humano. Exemplo: os Fosforados e os Clorofosforados;

- Classe toxicológica II (rótulo amarelo): produto considerado medianamente tóxico para o ser humano. Exemplo: os Carbamatos e os Organoclorados;
- Classe toxicológica III (rótulo azul): produto considerado pouco tóxico para o ser humano;
- Classe toxicológica IV (rótulo verde): produto considerado “não tóxico” ao ser humano.

De referir que a cor dos rótulos é dada por lei e varia de acordo com a toxicologia do produto [9].

2.1.3. ESTATÍSTICAS

Uma forma indireta de avaliar o uso dos pesticidas na agricultura é através da sua venda.

Segundo as Estatísticas do Ambiente 2011, a comercialização dos pesticidas em Portugal rondou as 14 mil toneladas em 2011.

Verificou-se também que em termos de vendas o grupo dos fungicidas foi o mais importante, representando cerca de 71 por cento (%) do volume total de vendas, seguido dos herbicidas (14 %) e dos fungicidas do solo (8 %), como se verifica na Figura 1 [13].

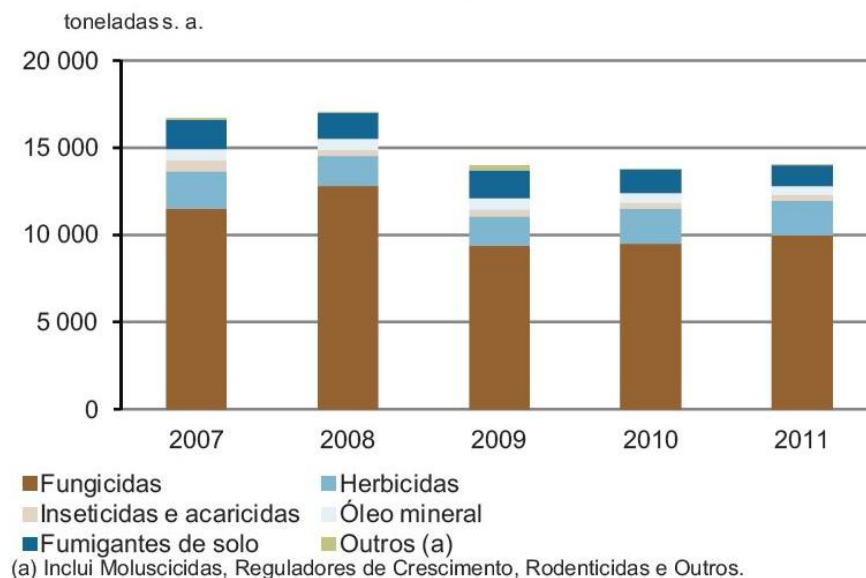


Figura 1 – Vendas de produtos fitofarmacêuticos por tipo de função [13]

Mais recentemente em 2012, segundo a Associação Nacional da Indústria Para a Proteção das Plantas (ANIPLA), as vendas de pesticidas totalizaram 109,5 milhões de euros (M€), registando um decréscimo de 5,4 % relativamente ao ano anterior.

Na Figura 2 é possível verificar a evolução mensal dos valores acumulados das vendas ao longo do ano de 2012 relativamente ao ano anterior.

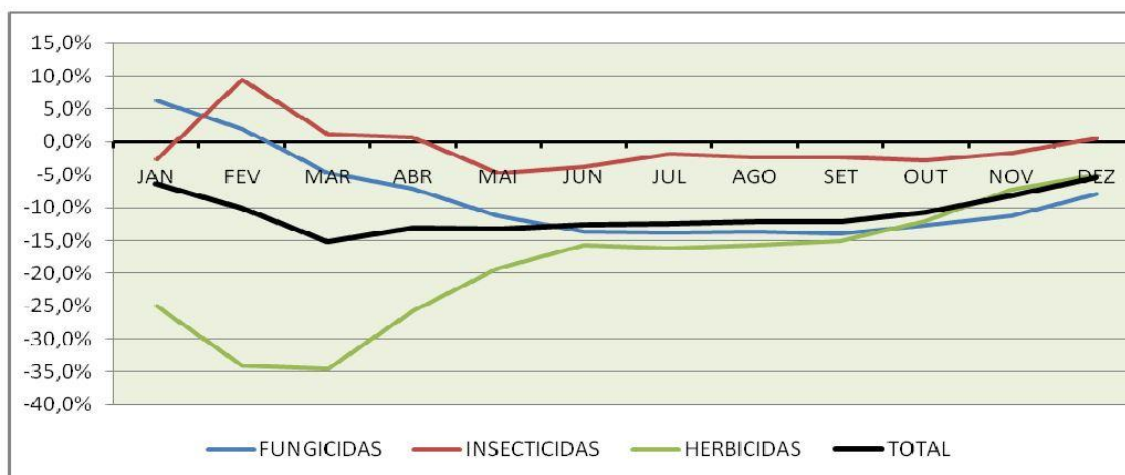


Figura 2 – Evolução mensal dos valores acumulados das vendas em 2012 [14]

Verifica-se um decréscimo na venda de herbicidas e fungicidas relativamente ao ano anterior, devido entre outros, a um Inverno extramente seco e a uma Primavera igualmente seca [14].

Nota: Estas estatísticas baseiam-se apenas no conjunto de empresas associadas da ANIPLA, que não representam o mercado total nacional de consumo de produtos fitofarmacêuticos.

2.1.4. HERBICIDAS

Os herbicidas são produtos fitofarmacêuticos que se destinam ao combate de infestantes, ou seja, são produtos químicos usados para manipular ou controlar a vegetação indesejável [15] [16]. Aplicam-se mais frequentemente no cultivo por filas, antes ou durante a plantação, para maximizar a produtividade das culturas, minimizando outro tipo de vegetação. Podem também ser aplicados na gestão das florestas para preparar áreas desmatadas para plantação, entre outros [16].

Segundo a legislação em vigor são avaliados em termos físico-químicos, toxicológicos, ecotoxicológicos, ambientais e de comportamento biológico.

Podem também ser baseados na origem ou grupo químico, com base na via de penetração, em relação à cultura e com base no modo de ação.

Com base na origem ou grupo químico é possível agrupá-los em inorgânicos e orgânicos.

Já com base na via de penetração (aplicação antes da instalação de culturas) podem ser agrupados em herbicidas de contacto, sistêmicos ou residuais. Os de contacto são aplicados sobre a superfície externa das plantas e afetam os tecidos que contactam. Os sistêmicos penetram nas plantas por múltiplas vias (folhas, raízes, gemas, caules, etc.) e movimentam-se a maior ou menor velocidade no interior das plantas através do xilema ou do floema. Os residuais são aplicados no solo sendo absorvidos pelas plantas e comportam-se como sistêmicos. A aplicação destes últimos exige que os solos estejam bem preparados com suficiente humidade à superfície [15] [16].

Em relação à cultura (época de aplicação) podem ser agrupados em herbicidas de: pré-sementeira/pré-transplante, aplicado no solo antes da sementeira/transplante; pré-emergência de aplicação direta ao solo, após a sementeira mas antes da emergência da cultura e pós-emergência, de aplicação com culturas e infestantes emergidas.

Com base no modo de ação, nos herbicidas é essencial conhecer os mecanismos de ação para compreender os fenómenos de resistência e definir estratégias que o evitem [15] [16].

Neste trabalho foi utilizado o herbicida Oxadiargil. O Oxadiargil ou 5-*terc*-butil-3-[2,4-dicloro-5-(2-propiniloxi)fenil]-1,3,4-oxadiazol-2(3*H*)-ona, Figura 3, é um herbicida seletivo que pertence ao grupo químico dos *oxadiazoles* [17].

Tem sido largamente utilizado para o controlo de ervas daninhas em pré-emergência quer em arroz quer em canas de açúcar. No entanto, também está a ser avaliado em girassóis, vegetais transplantados e em culturas perenes. Demonstra ter elevados níveis de segurança de colheita de culturas incluindo a couve-flor, repolho, brócolos, pimento e batatas.

Apresenta também uma série de características que o tornam particularmente adequado para as culturas hortícolas anuais, incluindo um período curto de atividade residual, ampla

utilização em diferentes tipos de ervas daninhas e utilização em diferentes tipos de solo [18].

Apresenta a seguinte fórmula química, $C_{15}H_{14}Cl_2N_2O_3$, e uma massa molecular de 341,19 g/mol [17].

Na Figura 3 está representada a sua estrutura molecular.

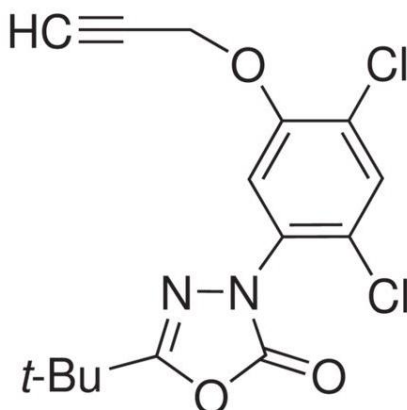


Figura 3 – Estrutura molecular do Oxadiargil [17]

A sua solubilidade em água desionizada (pH = 5,6) é de 0,37 mg/L a $20 \pm 1^\circ\text{C}$ (99,5 % puro), enquanto que nos solventes orgânicos, a 20°C , é na acetona de 250 g/L, no acetonitrilo de 94,6 g/L, no diclorometano maior do que 500 g/L, no acetato de etilo de 121,6 g/L, no metanol de 14,7 g/L, no n-heptano de 0,9 g/L, no n-octanol de 3,5 g/L e no tolueno de 77,6 g/L [19].

2.1.5. VANTAGENS / DESVANTAGENS

Os pesticidas apresentam-se como ferramentas eficazes e eficientes no controlo dos inimigos das culturas e na redução da mão-de-obra na agricultura.

Apresentam outras vantagens tais como a ajuda no desenvolvimento do total potencial das plantas; evitam as perdas das colheitas através do controlo direto das doenças, pragas e ervas infestantes, de uma forma eficiente e pouco dispendiosa; permitem manter a regularidade das produções e fazer previsões rigorosas sobre as colheitas; ajudam ao abastecimento dos mercados em contínuo, com produtos de qualidade, a preços acessíveis; contribuem para a manutenção dos preços dos produtos agrícolas dentro de níveis aceitáveis e asseguram uma produção economicamente rentável, que é, em simultâneo, ambiental e socialmente aceite [3].

No entanto, existem riscos potenciais que dependem das propriedades físico-químicas de cada produto fitofarmacêutico, da sua natureza toxicológica e da exposição a que os organismos ficam sujeitos, sendo evidente que a exposição mais ou menos prolongada a estes produtos ou seus derivados podem gerar problemas toxicológicos no Homem, nos seres vivos e no Ambiente.

Assim, alguns dos riscos potenciais dos pesticidas são os seguintes: riscos para a saúde humana e animal; formação de resíduos nos produtos e géneros agrícolas tratados; formação de resíduos no solo e na água; poluição do ar; persistência e acumulação na cadeia alimentar em resultado da sua difícil degradação; riscos para a biodiversidade e aumento de resistências nalguns organismos.

De salientar que o não seguimento das instruções contidas nos rótulos podem trazer consequências negativas de maior ou menor gravidade, para operadores, trabalhadores, consumidores, para organismos não visados e para o ambiente [3].

2.2. LEGISLAÇÃO

A Indústria Fitofarmacêutica é um dos sectores da economia portuguesa mais sujeita a legislação específica e rigorosa.

No entanto, segundo [20],destacam-se os seguintes:

- o Decreto-Lei (DL) 47 802 de 19/7/67, que deu início à homologação dos pesticidas agrícolas;
- o DL 48 988 de 8/5/69, que criou, a Comissão de Toxicologia dos Pesticidas (CTP), que estabeleceu o regime jurídico de classificação, embalagem e rotulagem dos pesticidas e dos adjuvantes de uso extemporâneo;
- o DL 294/88 de 24/8/88, que, três anos após a integração de Portugal na Comunidade Económica Europeia (CEE), adaptou, aos princípios constantes das diretivas comunitárias, a legislação anterior relativa à classificação, embalagem e rotulagem dos pesticidas;
- o DL 284/94, que extinguiu a CTP e procedeu à sua substituição pela Comissão de Avaliação Toxicológica dos Produtos Fitofarmacêuticos (CATPF) e procurou

iniciar a revisão do sistema de homologação, de acordo com a Diretiva 91/414/CEE;

- o DL 94/98 de 15 de Abril, que definiu as regras da homologação a adotar, após a eliminação das “inúmeras imprecisões de ordem formal e lacunas técnicas da legislação anterior”, “expurgando esses erros”;
- o DL 82/2003 de 23 de Abril, que transpôs para o direito nacional a Diretiva 1999/45/CE de 31 de Maio, que tornou obrigatória a inclusão, segurança, da informação disponível sobre classificação toxicológica e frases de risco e de segurança e alargou aos pesticidas a legislação anteriormente adotada para as substâncias químicas perigosas, nomeadamente:
 - a classificação toxicológica, incluindo as categorias: Explosivo (E), Comburente, Extremamente inflamável, Facilmente inflamável (F), Inflamável, Muito tóxico (T+), Tóxico (T), Nocivo (Xn), Corrosivo (C), Irritante (Xi) e Sensibilizante (Xi), e, ainda, Cancerígeno, Mutagénico, Tóxico para a Reprodução e Perigoso para o Ambiente;
 - as frases de risco correspondentes às várias categorias da classificação toxicológica;
- o DL 22/2004 de 22 de Janeiro, que completou os anexos IV e V da Diretiva 91/414/CEE relativos às frases de risco e frases de segurança a adotar com os pesticidas agrícolas [20].

2.2.1. DIRETIVA SOBRE O USO SUSTENTÁVEL DOS PESTICIDAS

Com o desenvolvimento mundial e avanço científico, a indústria fitofarmacêutica procura responder às necessidades de uma agricultura em evolução, procurando garantir a eficácia em relação aos inimigos das culturas e ao mesmo tempo respeitando o Homem e o ambiente [4].

Neste sentido, surgiu em 15 de Julho de 1991, através da Diretiva 91/414/CEE, a política de redução dos riscos dos pesticidas agrícolas da ainda CEE.

Na sequência dessa Diretiva, a União Europeia (EU) em 1992, tomou a iniciativa de elaborar uma outra sobre o uso sustentável dos pesticidas, com o objetivo de reduzir os riscos e os impactos do uso dos pesticidas na saúde humana e no ambiente, de modo a alcançar a necessária proteção das plantas.

Assim, em 23/10/07, foi definido o desenvolvimento de uma estratégia geral sobre o uso de pesticidas com vista [21]:

- à proibição da utilização dos pesticidas agrícolas mais tóxicos, entre os quais os cancerígenos, tóxicos para a reprodução, mutagénicos entre outros;
- planos de ação que permitam a redução do uso de pesticidas de 25% no prazo de cinco anos e de 50% em 10 anos;
- proibição ou uso muito restrito e condicionado de tratamentos por via aérea;
- adoção de zonas tampão de pelo menos 10 metros sem aplicação de pesticidas
- melhor consciencialização dos aplicadores em relação aos riscos dos pesticidas e para a inspeção do material de aplicação.

Finalmente em 2009, surge o “pacote no âmbito da estratégia temática para o uso sustentável dos pesticidas” do qual constam três diplomas do Conselho e do Parlamento Europeu relativos a pesticidas, nomeadamente, o Regulamento da Comissão Europeia (CE) n.º 1107/2009 de 21 de Outubro, relativo à colocação de pesticidas no mercado e que revoga a Diretiva 91/414/CEE; o regulamento (CE) n.º 1185/2009 de 25 de Novembro respeitante a estatísticas relativas a pesticidas e, ainda, a Diretiva (CE) n.º 128/2009 de 21 de Outubro que estabelece um quadro de ação a nível comunitário para uma utilização sustentável dos pesticidas [22].

Esta última diretiva leva a uma redução dos riscos e efeitos da sua utilização na saúde humana e no ambiente, em parte devido à redução da dependência do uso dos pesticidas, promoção do uso de alternativas não químicas, promoção da proteção integrada, da agricultura biológica e da compatibilidade e complementaridade com a legislação.

De acordo com as alíneas apresentadas na diretiva quadro do uso sustentável dos pesticidas, recai a atenção nos seguintes tópicos: formação, venda de pesticidas, inspeção

dos equipamentos de aplicação em utilização, pulverização aérea, informação e sensibilização do público, proteção do meio aquático e da água potável, uso em zonas específicas, manuseamento e armazenamento, gestão de embalagens e resíduos, e fomento da proteção integrada e agricultura biológica [23].

Relativamente à formação, e de acordo com o DL n.º 173/2005, de 21 de Outubro, é obrigatória para os intervenientes no processo de aplicação de pesticidas nas explorações agrícolas ou florestais, nas empresas de aplicação dos produtos em armazéns entre outros.

Em relação à venda de pesticidas, devem estar disponíveis no momento da venda pessoas qualificadas, de modo que os utilizadores profissionais tenham informação sobre a utilização dos pesticidas e aconselhamento específico sobre as instruções de segurança em matéria de saúde humana e ambiente. Por sua vez, os utilizadores não profissionais deverão receber informações gerais sobre as instruções de segurança em matéria de saúde humana e ambiente, entre as quais se destacam as seguintes categorias: os perigos (de uma forma geral), exposição e recomendações sobre o manuseamento, aplicação e armazenamento seguro dos produtos fitofarmacêuticos e eliminação das embalagens. No que diz respeito à inspeção de equipamentos de aplicação (DL 86/2010 de 15 de Julho), é obrigatória em equipamentos para uso profissional realizar inspeções periódicas. Estas inspeções são realizadas por inspetores devidamente qualificados por centros de inspeção oficialmente reconhecidos (Centros IPP) [23].

Outra medida igualmente importante neste DL faz uma alusão à redução da utilização de pesticidas e aos riscos que comporta a sua aplicação em zonas específicas, nomeadamente, nas zonas utilizadas pelo grande público ou por grupos sensíveis (parques, jardins, escolas), próximo de instalações de prestação de cuidados de saúde, em estradas, caminhos de ferro e superfícies impermeáveis. Nesta diretiva a pulverização aérea é proibida, com a exceção dos seguintes fatores [23]:

- Não existam alternativas viáveis ou existam vantagens claras em termos de menores efeitos na saúde humana e no ambiente relativamente a aplicações terrestres;
- Aprovação explícita dos pesticidas para aplicação aérea;

- Os utilizadores devem ser detentores do certificado de formação e as empresas responsáveis pela aplicação aérea devem ser certificadas pela autoridade competente;
- A área a pulverizar não se situa perto de áreas residenciais;
- As aeronaves estejam equipadas com acessórios para reduzir a dispersão dos pesticidas.

Por fim, o uso da proteção integrada e agricultura biológica tem como grande objetivo promover a proteção fitossanitária com baixa utilização de produtos fitofarmacêuticos. Para isso, devem ser disponibilizados aos utilizadores profissionais informações e instrumentos de monitorização dos inimigos das culturas e serviços de aconselhamento.

Para que tal aconteça deverá ser garantida a aplicação voluntária dos princípios gerais da Proteção Integrada, por todos os utilizadores profissionais e deverão ser estabelecidos os incentivos adequados para a aplicação desses princípios [23].

2.3. CICLODEXTRINAS

A primeira referência às ciclodextrinas (CDs) data de 1891 quando *Villers* descobriu um oligossacarídeo cíclico, produto da degradação enzimática do amido, nomeando o seu produto cristalino de “*cellulosine*” [24].

Mais tarde em 1903, *Schardinger* conseguiu isolar dois produtos cristalinos, que designou de dextrinas – alfa (α) e beta (β). Em 1935, isolou um novo tipo de dextrina, a dextrina γ [25].

Em 1942 as estruturas das ciclodextrinas α e β foram determinadas por cristalografia de raios X enquanto que em 1948, e em seguimento desse mesmo estudo, desenvolveu-se a análise da gama (γ) ciclodextrina e reconheceu-se a capacidade das ciclodextrinas na formação de complexos de inclusão [25].

2.3.1. ESTRUTURA E PROPRIEDADES

As CDs são oligossacarídeos de estrutura cíclica, constituídas por unidades D-glucopiranosose (glicose), unidas através de ligações do tipo α – (1,4). As CDs naturais

obtidas com maior rendimento são as α CD, β CD e γ CD com, 6, 7 e 8 unidades de glicose respectivamente, como se pode verificar na Figura 4 [24] [25].

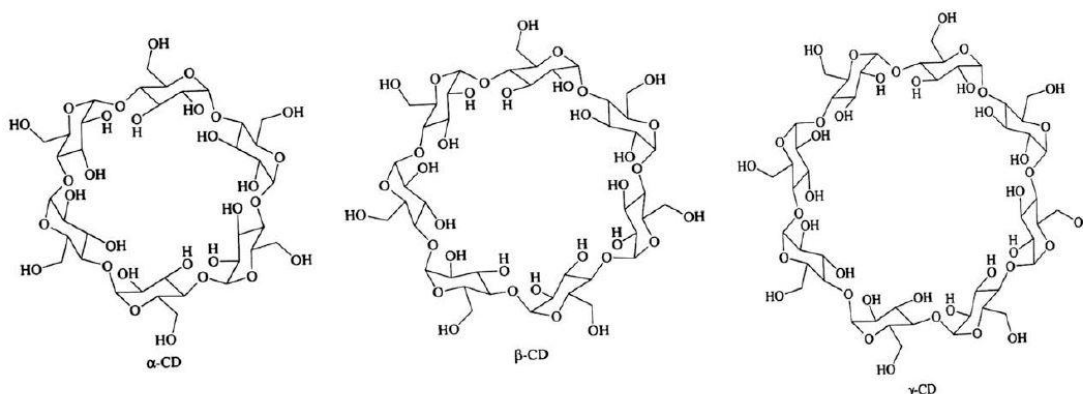


Figura 4 – Estrutura química da α -CD, β -CD e γ -CD [26]

Na Tabela 3 é possível analisar as propriedades das ciclodextrinas mais comuns.

Verifica-se também que a Beta ciclodextrina (β -CD) é a que apresenta uma menor solubilidade em água. No entanto esta é a mais utilizada em estudos de encapsulamento por ser mais económica e acessível comercialmente, mas também por apresentarem uma cavidade de tamanho ideal para encapsular compostos aromáticos e heterocíclicos [25] [27].

Tabela 3 – Propriedades das ciclodextrinas [25]

Propriedades	α -ciclodextrina	β -ciclodextrina	γ -ciclodextrina
Número de unidades de glicose	6	7	8
Peso molecular (g/mol)	972	1135	1297
Solubilidade em água (g/100mL) 25°C	14,5	1,85	23,2
Diâmetro interno (Å)	4,7 - 5,3	6,0 - 6,5	7,5 - 8,3
Diâmetro externo (Å)	14,6	15,4	17,5
Altura do cone (Å)	7,9	7,9	7,9
Volume da cavidade (Å ³)	174	262	427

Além das CDs de origem natural, outras têm sido sintetizadas a partir das mesmas, sendo as mais comuns as β -CD substituídas. Assim, a 2-hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP- β -CD) é uma alternativa à α -CD, β -CD e γ -CD apresentando uma alta solubilidade aquosa (> 60

g/100mL a 25 °C), baixa toxicidade e bons resultados na encapsulação de outros compostos com o objetivo de aumentar a sua solubilidade [28]. Deste modo, utilizou-se esta ciclodextrina no decorrer do trabalho.

Na Figura 5, pode-se verificar a estrutura química da HP- β -CD:

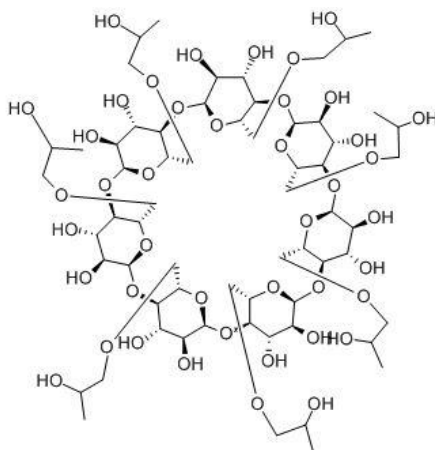


Figura 5 – Estrutura química da HP- β -CD [29]

2.3.2. ENCAPSULAMENTO

As ciclodextrinas têm como principal característica o facto de formarem compostos de inclusão, vulgo encapsulamento, em solução aquosa [25].

Apresentam uma superfície exterior hidrofílica permitindo a sua dissolução em água e contêm uma cavidade apolar, proporcionando uma matriz hidrofóbica, ou seja, é capaz de formar complexos de inclusão com vários tipos de moléculas hóspedes, sendo esta portanto uma vantagem da ciclodextrina [30].

Os fatores principais para o encapsulamento da molécula hóspede na ciclodextrina são: o tamanho relativo da ciclodextrina face ao composto a ser encapsulado e as interações termodinâmicas entre os diferentes componentes do sistema em causa, nomeadamente a ciclodextrina, o composto a encapsular e o solvente [25].

Na Figura 6, está representado o encapsulamento da molécula hóspede na ciclodextrina.

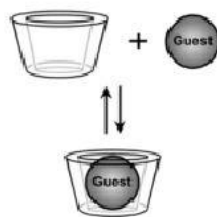


Figura 6 – Exemplo de um encapsulamento da molécula hóspede na ciclodextrina [31]

Os complexos podem ser formados em solução ou no estado cristalino, sendo a água o solvente de eleição.

No entanto, existem compostos que não são solúveis em água, fazendo com que a complexação seja muito demorada ou até mesmo impossível de se realizar. Nestes casos, poderá ser utilizado um solvente orgânico para dissolver o composto, devendo este apresentar características que facilitem a sua remoção por evaporação e a não complexação com a ciclodextrina.

O encapsulamento de um determinado hóspede na cavidade da CD apresenta inúmeras vantagens nomeadamente o aumento significativo da solubilidade de substâncias pouco solúveis; proteção de substâncias contra hidrólises, oxidações, entre outros; melhorias ao nível da biodegradação de alguns compostos quando complexados e possibilidade de mascarar determinados sabores e/ou odores menos agradáveis [25].

A capacidade de encapsulamento da ciclodextrina pode, contudo, ser afetada por diversas condicionantes mediante determinado composto, como por exemplo a temperatura.

O aquecimento pode aumentar tanto a solubilidade da ciclodextrina como do composto hóspede, ver Figura 7, levando deste modo a um aumento da probabilidade de ocorrência de complexação. Pode também desestabilizar o complexo formado [26].

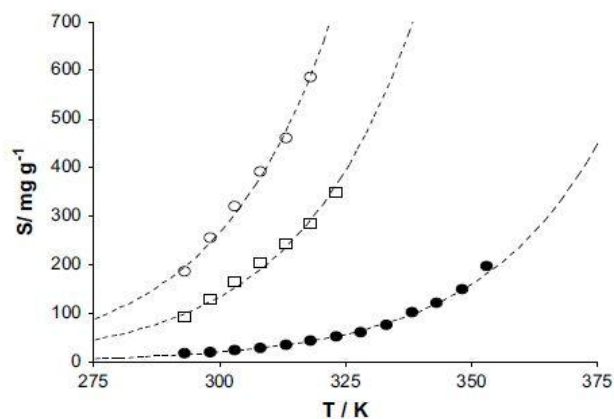


Figura 7 – Solubilidade (mg CD/g H₂O da (□) α-CDs, (●) β-CDs e (○) γ-CDs em água em função da temperatura (K) [26]

2.3.3. ENSAIOS DE AVALIAÇÃO DO ENCAPSULAMENTO

Após o encapsulamento de um composto hóspede na cavidade da molécula da ciclodextrina e conseqüente equilíbrio de complexação, procede-se a uma avaliação do complexo formado.

Uma das abordagens analíticas mais úteis e amplamente utilizadas neste contexto é o método de solubilidade de fase, descrito por *Higuichi e Connors* [32].

Um diagrama de solubilidade de fases é construído colocando a concentração molar total do objeto em estudo no eixo dos y e a concentração molar total da ciclodextrina no eixo dos x, como se verifica na Figura 8.

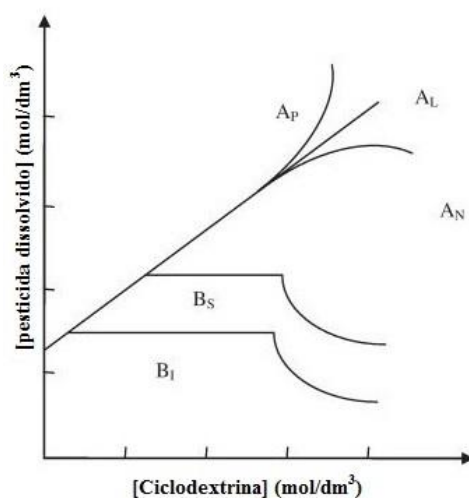


Figura 8 – Diagrama de solubilidade de fases [33]

Verifica-se também a divisão do diagrama de solubilidade de fases em duas categorias, tipo A e tipo B. As curvas do tipo A indicam a formação de complexos de inclusão solúveis, enquanto que as do tipo B, sugerem a formação de complexos de inclusão de baixa solubilidade [25].

A resposta do tipo B_S indica um complexo de solubilidade limitada enquanto que uma curva B_I são indicativos de complexos insolúveis. As curvas A são divididas em A_L (aumento linear de solubilidade do pesticida em função da concentração da ciclodextrina), A_P (desvio isotérmico positivo) e A_N (desvio isotérmico negativo).

As CDs incluindo a HP-β-CD e a Sulfobutil éter beta-ciclodextrina (SBE-β-CD) normalmente produzem complexos solúveis (exemplo, sistemas do tipo A).

Os diagramas do tipo A_L são de primeira ordem em relação à ciclodextrina e poderão ser de primeira ordem ou maior em relação à concentração de pesticida [25].

Se a inclinação de um sistema do tipo A_L for maior do que um, indica a existência de complexos de ordem superior. A inclinação menor do que um não exclui necessariamente complexação de ordem superior, mas a complexação de 1:1 é normalmente assumido na ausência de outra informação. Os sistemas do tipo A_P sugerem a formação de complexos de ordem superior, com respeito ao ligando de concentrações de ligando superiores, como por exemplo, SL₂, SL₃, SL_n. A estequiometria dos sistemas do tipo A_P podem ser avaliadas pelo ajuste da curva. Sistemas do tipo A_N são problemáticos e difíceis de interpretar.

Com este método não só é possível avaliar qualitativamente os complexos formados como também pode ser utilizado para a determinação das constantes de equilíbrio do sistema.

A constante de estabilidade (K) para cada complexo pode ser calculada através da equação da reta obtida, de acordo com a equação 1 [25]:

$$K = \frac{m}{S_0(1 - m)} \quad (1)$$

Onde S₀ é a solubilidade do pesticida na ausência da HP-β-CD e m o declive.

Atualmente pode recorrer-se a vários métodos para se fazer a avaliação do encapsulamento em ciclodextrina nomeadamente: espectrofotometria no Ultravioleta Visível (UV/VIS),

espectrofluorimetria, Ressonância Magnética Nuclear (RMN), Ensaios eletroquímicos, Microscopia de Força Atômica (AFM), Microscopia de Varrimento por Efeito Túnel (STM), Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) com detecção por espectroscopia de massa e detecção do índice de refração [31].

Estes métodos permitem fazer uma caracterização da formação do complexo, em termos de estequiometria e geometria, interpretação de associações supra moleculares em solução aquosa e a capacidade de fornecer informação qualitativa e quantitativa sobre os complexos formados [31].

Com as vantagens que a utilização das CDs tem apresentado, o interesse por estas tem vindo a aumentar significativamente.

De entre as diversas aplicações, destacam-se as seguintes: indústria cosmética e higiene pessoal, indústria alimentar e sabores, indústria farmacêutica e indústria agroquímica [25].

2.4. ESTADO DA ARTE

Hoje em dia, a atividade herbicida do Oxadiargil têm sido avaliada em diferentes culturas através de vários estudos, segundo o autor *M. Saber-Tehrani* e outros [34].

Por exemplo, na agricultura Mediterrânea, verifica-se que foram concebidos estudos para investigar a seletividade do Oxadiargil no cultivo de arroz em condições de seca ou em regadio e a sua eficácia contra a *E. crus-galli* sobre condições aeróbias (presença de oxigénio) e anaeróbias (ausência de oxigénio) [35].

Já na Austrália verifica-se a sua utilização em ervas daninhas, contribuindo para uma maior eficácia na eliminação das mesmas. As principais ervas daninhas controladas incluíam a *Amaranthus powellii* S.Watson, *Solanum nigrum* L., *Chenopodium album* L., *Nicandra physaloides* (L.) Gaertn., *Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv. E *Eleusine indica* (L.) Gaertn. O Oxadiargil demonstrou ter elevados níveis de segurança de culturas para colheitas incluído a couve-flor, o repolho, os brócolos, o pimento e as batatas [18].

Segundo o mesmo autor, verifica-se também a existência de diversas técnicas, incluindo a cromatografia gasosa/espectroscopia de massa, cromatografia gás-líquido/espectroscopia de massa, cromatografia gasosa com detetor de captura de eletrões e detecção eletroquímica de Oxadiargil em amostras sintéticas ou reais, para a determinação do Oxadiargil [34].

Já em relação à área das nanotecnologias e segundo a conferência internacional de aplicação de nanotecnologias na alimentação e agricultura, têm sido feitos progressos significativos na área do nanoencapsulamento e veículos nanoestruturados para a liberação controlada de pesticidas e fertilizantes.

Segundo a mesma, a produção vegetal é uma das áreas da nanotecnologia onde através de uma maior pesquisa e trabalho poderá contribuir para ultrapassar os desafios existentes no desenvolvimento agrícola sustentável [36].

As aplicações envolvendo a nanotecnologia tem o potencial de mudar a produção agrícola por permitirem uma melhor gestão e conservação dos “*inputs*” (por exemplo, fertilizantes, inseticidas, herbicidas, entre outros) para a produção vegetal e animal. Atualmente, tais tecnologias tem sido relatadas como estando a ser usadas na forma de nanosensores, nanopesticidas, adjuvantes de nanoescala e sistemas de distribuição inteligentes para pesticidas, reguladores de crescimento de plantas entre outros [37].

Muitas das empresas líderes mundiais em agroquímicos, *BASF*, *Bayer Crop Science*, *Syngenta*, estão a realizar pesquisa e desenvolvimento em novas formulações de pesticidas à nanoescala. Por exemplo, a empresa Monsanto já vende um número considerável de pesticidas microencapsulados [38].

Vários fabricantes de pesticidas estão a desenvolver pesticidas encapsulados em nanopartículas. Estes pesticidas podem ser controladamente libertados mediante a ocorrência de um estímulo ambiental (por exemplo, temperatura, humidade, luz).

Tecnologias como o encapsulamento e métodos de liberação controlada, estão a revolucionar o uso de produtos fitofarmacêuticos. Muitas empresas fizeram formulações que contêm nanopartículas dentro do intervalo de 100-250nm, permitindo assim uma dissolução mais eficaz em água do que as já existentes.

Algumas outras empresas utilizam suspensões de partículas em nanoescala (nano-emulsões), como por exemplo a *Syngenta*, que podem ser de água ou à base de óleo e contêm suspensões uniformes de nanopartículas de pesticida ou herbicida no intervalo de 200-400nm, que têm várias aplicações de medidas de prevenção, de tratamento ou de preservação do produto colhido [2].

Na China, o desenvolvimento da libertação controlada tem sido implementado ativamente desde o início do século, e apoiado pelo Programa Nacional de alta tecnologia de desenvolvimento e pesquisa.

Nos próximos anos, segundo o estudo de especialistas, está previsto aplicações da nanotecnologia para a produção agrícola em países em desenvolvimento. Estas incluem zeólitos nanoporosos para libertação lenta e dosagem eficiente de água e fertilizante para as plantas; nanocápsulas para a libertação de herbicidas; nanosensores para a monitorização da qualidade do solo e da fitossanidade; nanosensores para a deteção de pragas; nano partículas magnéticas para remoção de contaminantes do solo etc.

A estrutura regulatória nos países desenvolvidos está a impulsionar o desenvolvimento de pesticidas em nanoescala na direção de adjuvantes em nanoescala em vez de ingredientes de nanoescala-ativos [37].

Por fim, em relação às ciclodextrinas, verifica-se que estas já se encontram bastante difundidas e com aplicações em variados sectores, de acordo com os diversos estudos [25] [26] [39].

2.5. AGRICULTURA SUSTENTÁVEL

No sector da agricultura, os melhoramentos na eficiência dos herbicidas, pesticidas e fertilizantes, têm sido sujeitos a uma pesquisa considerável, apresentando os seguintes objetivos: melhorar a eficiência dos produtos enquanto reduzem o seu impacto negativo no ambiente, reduzir a sua taxa de escoamento, aumentar a sua solubilidade ou reduzir o contacto por parte dos trabalhadores com os pesticidas [40].

Como já foi referido, hoje em dia, o uso de químicos tais como pesticidas, fungicidas e herbicidas são a maneira mais rápida e barata de controlar os organismos que são prejudiciais à produção agrícola, incluindo vírus, bactérias, fungos, parasitas, ervas daninhas e insetos [41] [42].

No entanto, tendo em consideração que os pesticidas convencionais são perdidos para a atmosfera durante a aplicação, até 90%, através do escoamento ou decomposição e devido ao seu uso incontrolável, tem surgido muitos problemas, desde efeitos adversos na saúde humana, insetos polinizadores e animais domésticos bem como nos ecossistemas (devido à infiltração nos solos), como foi o caso do diclorodifeniltricloroetano (DDT).

Surge portanto uma necessidade urgente de encontrar alternativas para a implementação dos pesticidas atuais e encontrar formas de detecção de níveis de pesticidas rápidas e locais removendo-as ou degradando-as.

Nesse sentido, as práticas agrícolas sustentáveis apresentam-se como uma possível solução, bem como a utilização de CDs ou sistemas, desenvolvidos ou em desenvolvimento, baseados em nanotecnologias [41].

As práticas agrícolas sustentáveis incluem, normalmente, a rotação de culturas, que mitiguem as ervas daninhas, doenças, insetos e outras pragas e o risco de contaminação do solo por produtos químicos; estratégias de controlo de pragas que reduzem a necessidade de pesticidas, por práticas como a aferição/monitorização, tempo de plantações e controlo biológico de pragas; aumento do controlo mecânico/biológico de plantas daninhas, práticas de conservação do solo e da água e uso estratégico de adubos verdes e o uso de pesticidas naturais e sintéticos de uma forma que não apresentem perigo significativo para os seres humanos ou o meio ambiente [43].

Por sua vez, as ciclodextrinas podem ter um papel importante no ambiente, em termos de solubilização de contaminantes orgânicos, remoção de poluentes orgânicos e de metais pesados do solo, da água e da atmosfera.

No que ao tratamento da água diz respeito, a aplicação das CDs aumentam a ação estabilizadora, permite a encapsulação e a absorção dos contaminantes, ou seja, usando as CDs, as substâncias altamente tóxicas podem ser removidas do efluente industrial por formação de um complexo de inclusão.

Verificou-se também que os efluentes contendo compostos aromáticos ambientalmente inaceitáveis, como o fenol, p-clorofenol e a benzena, após tratamento com a β -CD reduziram consideravelmente os níveis deste hidrocarbonato aromático comparativamente com os seus níveis iniciais.

O aumento de solubilidade das CDs é usado para testes de descontaminação de solos [25].

Outra possível solução para este problema poderá ser a utilização inteligente de produtos químicos à escala nano, bem como outros tipos de nanotecnologia.

A nanotecnologia ajuda as ciências agrárias e reduz a poluição ambiental através da produção de pesticidas e fertilizantes químicos devido ao uso de nanopartículas e nanocápsulas com a capacidade de controlar ou retardar a entrega e aumentar a absorção [42].

As nano e microcápsulas podem ser projetadas para libertar a sua substância ativa, sob uma variedade de condições, como se pode verificar na Tabela 4.

Tabela 4 – Tipo de libertação das nano e microcápsulas [38]

Tipo de libertação	Descrição
Lenta	A cápsula liberta a sua carga lentamente durante um longo período de tempo (por exemplo, para uma entrega lenta de uma substância num corpo)
Rápida	O invólucro da cápsula quebra em contacto com uma superfície (por exemplo, quando o pesticida atinge uma folha)
Específica	O invólucro é concebido para quebrar quando um recetor molecular se liga a uma substância química específica (por exemplo, ao se deparar com um tumor ou uma proteína num corpo)
Por humidade	O invólucro quebra-se e liberta o conteúdo em presença de água (por exemplo, no solo)
Por calor	O invólucro liberta os ingredientes apenas quando o ambiente aquece acima de uma determinada temperatura
Por pH	O invólucro quebra apenas num ambiente ácido ou alcalino (por exemplo, no estômago ou dentro de uma célula)
Por ultra-sons	A cápsula liberta o composto devido a uma frequência de ultra-sons
Magnética	Uma partícula magnética na cápsula quebra o invólucro quando exposta a um campo magnético

De acordo com a indústria, o encapsulamento oferece as seguintes vantagens:

Atividade biológica mais duradoura, controle de pragas, redução da exposição do trabalhador aos pesticidas, melhora a segurança através da remoção de solventes inflamáveis, reduz os danos às culturas, menos pesticidas perdidos por evaporação, menos efeito sobre outras espécies, redução do impacto ambiental, previne a degradação dos

ingredientes ativos por luz solar e faz com que o pesticida concentrado seja mais seguro e fácil de manusear pelos produtores [38] [44].

2.5.1. AGRICULTURA DE PRECISÃO

Na produção vegetal a agricultura de precisão surge como uma importante área de estudo, para maximizar a produção (por exemplo, o rendimento das culturas), minimizando a aplicação dos fertilizantes, inseticidas, herbicidas, entre outros, através da monitorização de variáveis ambientais e da aplicação de ações específicas, a fim de atender às necessidades crescentes de sustentabilidade mundial. Tal é possível através da simplificação da gestão agrícola, reduzindo o desperdício e os custos laborais [2] [36] [38] [43].

A agricultura de precisão inclui as seguintes tecnologias: computadores, Sistemas de Posicionamento Global (GPS), sistemas de informação geográfica, aparelhos de deteção remoto e telecomunicações que servem para medir as condições ambientais, determinando se as culturas estão a crescer com uma eficiência máxima ou identificando com precisão a natureza e a localização de problemas [2] [43].

Com a ajuda de sensores inteligentes a agricultura de precisão permitirá o aumento da produtividade na agricultura, fornecendo informações precisas e ajudando os agricultores a tomar melhores decisões [43].

Pode também ajudar a reduzir o desperdício agrícola e conseqüentemente a poluição ambiental.

Por fim e uma vez que muitas das condições que o agricultor quer monitorizar (por exemplo, a presença de vírus nas plantas ou o nível de nutrientes do solo) operam em escala nanométrica, sensores com sensibilidade de nanoescala serão particularmente importantes na realização desta visão [38].

2.5.2. SISTEMAS DE DISTRIBUIÇÃO INTELIGENTES

No futuro, os dispositivos em nanoescala com novas propriedades podem ser usados para tornar os sistemas agrícolas “inteligentes”. Por exemplo, os dispositivos podem ser usados para identificar os problemas fitossanitários antes de se tornarem visíveis para o agricultor. Tais dispositivos podem ser capazes de responder a diferentes situações, aplicando as

medidas corretivas adequadas, caso contrário, alertam o agricultor para o problema respectivo. Deste modo, os dispositivos inteligentes irão agir como um sistema precoce de prevenção e alerta. Tais dispositivos podem ser utilizados para libertar e dosear os produtos químicos de uma maneira controlada e orientada [2].

Se o ingrediente ativo for combinado com um sistema de distribuição inteligente, o herbicida será apenas aplicado quando necessário de acordo com as condições presentes no campo. Solos infestados com plantas daninhas e sementes de ervas daninhas são suscetíveis de produzir rendimentos agrícolas mais baixos do que os solos onde as ervas daninhas são controladas. As melhorias na eficácia de herbicidas através da utilização de nanotecnologia pode resultar em maior produção de colheitas e menos danos para os trabalhadores agrícolas, que tem que remover fisicamente as ervas daninhas caso os herbicidas não sejam utilizados [45].

2.5.3. OUTRAS APLICAÇÕES

No que às águas subterrâneas e solo contaminado diz respeito, os pesquisadores pretendem usar as propriedades absorventes dos materiais nanoestruturados para transformar alguns resíduos contaminantes em produtos que são inofensivos para o ambiente e os seres humanos.

Melhorias nas técnicas de filtração continua a ser a principal opção para a recuperação de água. Na verdade, a evolução da nanotecnologia permitirá a fabricação de filtros cujo tamanho de rede medirá alguns nanómetros. Tais filtros podem eliminar as bactérias, os vírus e os metais pesados e produzir água potável, sem qualquer outro tratamento (químico, térmico, etc), sendo necessário. Este processo de filtração também pode ser utilizado para a dessalinização de água para fins de irrigação agrícola, em regiões que têm pouca água fresca.

Várias aplicações da nanotecnologia podem ser usadas para a reabilitação do solo. Foi mostrado, por exemplo, que a pulverização de diferentes tipos de nanopartículas em locais contaminados permitiu a rápida e económica eliminação de determinados metais pesados. Algumas nanotecnologias também podem permitir a recuperação e reciclagem de contaminantes que são derramados durante as atividades agrícolas [40].

Na Tabela 5 é possível verificar um resumo sobre as oportunidades existentes para a nanotecnologia na transformação da formulação de pesticidas.

Tabela 5 – Oportunidades para a nanotecnologia na formulação de pesticidas [36]

Propriedades desejáveis	Descrição do processo
Distribuição direcionada e liberação controlada	Libertação controlada da velocidade de ingredientes ativos, para manter a menor concentração efetiva para matar pragas e patógenos, no meio ambiente, de forma contínua e dinâmica
Solubilidade e dispersão para ingredientes insolúveis	Solução aquosa coloidal e nano-suspensões de pesticidas, substituem os concentrados para emulsão (EC) usados para evitar a poluição de solventes orgânicos
Estabilidade química	Biopesticidas nanoencapsulados, tais como antibióticos, estimulantes de crescimento e agentes bioativos, podem apresentar excelentes propriedades em termos de estabilidade, biodisponibilidade e persistência das substâncias químicas bioativas, restringindo a fotodegradação
Elevada biodisponibilidade	Redução do uso dos pesticidas na proteção das culturas
Maior duração da persistência	Redução da aplicação dos pesticidas e do respectivo custo laboral
Libertação controlada e modos de distribuição	Sistemas de distribuição de alta eficácia formulados e liberação controlada para pesticidas encapsulados em nanocápsulas e nanopartículas mesoporosas
Menos tóxico em relação à vida selvagem	Proteção da biodiversidade nos ecossistemas agrícolas
Poluição residual menor	Redução dos resíduos alimentares e fontes de poluição não pontuais devido à perda mínima dos pesticidas

3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

No presente capítulo mostrar-se-ão as técnicas utilizadas bem como os reagentes, solventes, material e equipamento respetivo para o estudo da determinação da solubilidade e complexação do herbicida Oxadiargil com a ciclodextrina HP- β -CD.

3.1. REAGENTES E SOLVENTES

O herbicida Oxadiargil bem como a HP- β -CD foram adquiridos à Sigma-Aldrich Química S.A. (Sintra, Portugal). A ciclodextrina utilizada apresentava uma pureza igual a 99 %. Todos os outros reagentes usados nos ensaios efetuados no decurso do trabalho laboratorial foram adquiridos à Merck (Lisboa, Portugal), eram de pureza analítica (p.a.), não tendo sido submetidos a qualquer purificação adicional. A água desionizada utilizada para a preparação das soluções era de pureza elevada, obtida através da filtração por filtros Millipore Milli-Q (resistividade $> 18 \text{ M}\Omega \text{ cm}$).

3.2. EQUIPAMENTO E MATERIAL

No decorrer do trabalho experimental foram usados vários equipamentos analíticos de diferentes proveniências.

Na pesagem dos reagentes utilizados, recorreu-se a uma balança analítica, marca Precisa, modelo 205 A Superbal-Series.

Para a determinação dos valores de pH utilizou-se um medidor de pH da marca Crison, modelo Basic 20.

Já na preparação das soluções, todo o material de vidro, nomeadamente pipetas e balões volumétricos, eram de classe A ou semelhante.

Relativamente às medições de volumes pequenos de solução, foram usadas micropipetas de capacidade variável (10 – 100 microlitros (μL) e de 100-1000 μL) da marca *Eppendorf Research*, pontas amarelas (0-100 μL) e pontas azuis (100-1000 μL).

Em relação à filtração foram utilizados filtros de seringa marca Chromafil, modelo Xtra PTFE 45/25 com uma porosidade de 0,45 micrómetros (μm).

Nos estudos relativos à encapsulação foi usado um agitador orbital, marca IKA, modelo KS 4000 i control. Para auxiliar na dissolução das soluções, utilizou-se um banho de ultrasons da marca VWR USC, modelo 100TH.

O espectrofotómetro de UV/Visível era da marca Shimadzu, modelo UV-1800 PharmaSpec. A aquisição de dados era adquirida através do software “UVProbe 2.42” instalado num computador ligado ao espectrofotómetro.

Por fim, os espectros de RMN unidimensional de ^1H foram obtidos à temperatura ambiente num aparelho *Bruker Avance III 400*, sendo registados a 400,15 Mega Hertz (MHz) no Centro de Materiais da Universidade do Porto (*CEMUP*). Devido à baixa solubilidade do pesticida utilizou-se como solventes o metanol (CH_3OD) e a água deuterada (D_2O), todos com um grau de deuteração superior a 99,0 %. Os desvios químicos são expressos em ppm (partes por milhão) em relação ao tetrametilsilano (TMS), usado como referência interna.

3.3. CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS

Para a caracterização dos complexos foram feitos estudos prévios para, por exemplo, verificar a solubilidade do pesticida em água e em diferentes soluções-tampão. Inicialmente fez-se o estudo da solubilidade do Oxadiargil em água desionizada e depois em soluções-tampão com pH's de 3,46, 5,34 e 7,45 respectivamente. Por fim fez-se a sua caracterização por RMN.

3.3.1. ESTUDOS PRÉVIOS

Antes de se iniciar os ensaios de complexação foi necessário a realização de algumas experiências com o objetivo de avaliar a solubilidade do herbicida Oxadiargil em meio aquoso. Relativamente à preparação da solução-mãe, chegou-se à conclusão que a percentagem de 80% de metanol era a indicada, pois ocorria a solubilização completa do composto.

Fez-se também estudos para verificar a solubilização do mesmo em soluções-tampão com pH's iguais a 3,46, 5,34 e 7,45 e igual percentagem de metanol verificando-se igualmente a sua solubilização.

No que diz respeito aos ensaios de solubilidade chegou-se a um valor ótimo de 33,3 % de metanol. Assim, depois da filtração da solução, colocou-se 2 mL (66,7 %) da amostra em estudo e 1 mL (33,3 %) de metanol.

3.3.2. ENSAIOS DE SOLUBILIDADE EM ÁGUA DESIONIZADA

Para se efetuar o estudo de solubilidade em água desionizada traçou-se inicialmente uma curva de calibração.

Deste modo, preparou-se uma solução-mãe de Oxadiargil com uma concentração de $1,99 \times 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$. Pesou-se 0,0034 g de Oxadiargil e dissolveu-se em 5,00 mL de metanol. Para garantir a dissolução completa do mesmo, introduziu-se a solução num banho de ultra-sons durante cerca de 3 minutos.

Para o traçado da curva de calibração, prepararam-se soluções-padrão por diluição rigorosa da solução-mãe (80 % de metanol e 20 % água desionizada), com concentrações entre $5,00 \times 10^{-6} \text{ mol/dm}^3$ e $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol/dm}^3$. Traçaram-se os espectros de UV/Vis, para todas as

soluções no intervalo entre 190 nm e 400 nm. A curva de calibração foi obtida para o comprimento de onda de 287 nm.

Para os estudos da solubilidade começou-se por preparar uma solução-mãe de HP- β -CD com uma concentração de 35 mM. Para isso, para um balão volumétrico de 250,0 mL, pesou-se 12,7806 g de HP- β -CD e fez-se a marca até 250,0 mL com água desionizada. Para ajudar a dissolver melhor a ciclodextrina HP- β -CD em água desionizada, colocou-se a solução preparada num banho de ultra-sons durante 4 minutos.

De seguida procedeu-se à preparação de oito soluções pesando 0,0100 g de Oxadiargil e volumes crescentes de solução-mãe de HP- β -CD, ou seja, concentrações crescentes, perfazendo-se em seguida o volume até 25,00 mL com água desionizada, como se verifica na tabela seguinte. Deste modo obtiveram-se soluções com concentrações em HP- β -CD de 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 e 35 mM. Durante a realização deste estudo parte da massa de Oxadiargil pesada permaneceu insolúvel.

Na Tabela 6 apresenta-se resumidamente a preparação das soluções de Oxadiargil para o estudo do encapsulamento por UV/Vis em água desionizada.

Tabela 6 – Preparação das soluções de Oxadiargil para o estudo por UV/Vis para um volume de 25,00 mL em água desionizada

Solução	m Oxadiargil pesada (g)	V (HP- β -CD)(mL)	V H ₂ O (mL)	V final (mL)	[HP- β -CD] (mM)
A	0,0101	0,00	25,00		0
B	0,0103	3,57	21,43		5
C	0,0101	7,14	17,86		10
D	0,0103	10,71	14,29		15
E	0,0104	14,29	10,71	25,00	20
F	0,0100	17,86	7,14		25
G	0,0100	21,43	3,57		30
H	0,0103	25,00	0,00		35

Por fim, colocou-se papel de alumínio à volta dos matrizes para os proteger da radiação.

As soluções preparadas foram colocadas a agitar, no agitador orbital a 25 °C, a 100 rotações por minuto (rpm), durante cerca de 24 horas (h). Diariamente foram removidas alíquotas de cada uma das soluções em estudo que eram filtradas, diluídas adequadamente e analisadas por UV/Vis.

3.3.3. ENSAIOS DE SOLUBILIDADE EM SOLUÇÃO-TAMPÃO pH = 3,46

Idêntico ao procedimento anterior, com a exceção de que para o traçado da curva de calibração, prepararam-se soluções-padrão por diluição rigorosa da solução-mãe (80 % de metanol e 20 % solução-tampão pH = 3,46), com concentrações entre $5,0 \times 10^{-6}$ mol/dm³ e $8,0 \times 10^{-5}$ mol/dm³. Perfez-se também a marca dos 250,0 mL da solução-mãe de HP- β -CD com uma solução-tampão com um pH igual a 3,46.

Para preparar a solução-tampão com o pH respectivo, foi necessário pesar 0,500 g de acetato de sódio (NaOAC) e 2645 μ L de ácido acético (CH₃COOH) para um gobelé de 20 mL. De seguida transferiu-se quantitativamente para um balão volumétrico de 500,0 mL e perfez-se o volume com água desionizada.

Na Tabela 7 apresenta-se resumidamente a preparação das soluções de Oxadiargil para o estudo do encapsulamento por UV/Vis.

Tabela 7 – Preparação das soluções de Oxadiargil para o estudo por UV/Vis para um volume de 25,00 mL em solução-tampão pH = 3,46

Solução	m Oxadiargil pesada (g)	V (HP- β -CD)(mL)	V solução-padrão pH = 3,46 (mL)	V final (mL)	[HP- β -CD] (mM)
A	0,0100	0,00	25,00	25,00	0
B	0,0103	3,57	21,43		5
C	0,0100	7,14	17,86		10
D	0,0101	10,71	14,29		15
E	0,0101	14,29	10,71		20
F	0,0100	17,86	7,14		25
G	0,0104	21,43	3,57		30
H	0,0101	25,00	0,00		35

Por fim, colocou-se papel de alumínio à volta dos matrizes para os proteger da radiação.

As soluções preparadas foram colocadas a agitar, no agitador orbital a 25 °C, a 100 rpm, durante cerca de 24 h. Diariamente foram removidas alíquotas de cada uma das soluções em estudo que eram filtradas, diluídas adequadamente e analisadas por UV/Vis.

3.3.4. ENSAIOS DE SOLUBILIDADE EM SOLUÇÃO-TAMPÃO pH = 5,34

Idêntico ao procedimento inicial, com a exceção de que para o traçado da curva de calibração, prepararam-se soluções-padrão por diluição rigorosa da solução-mãe (80 % de metanol e 20 % solução-tampão pH = 5,34), com concentrações entre $5,0 \times 10^{-6}$ mol/dm³ e

$8,0 \times 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$. Perfez-se também a marca dos 250,0 mL da solução-mãe de HP- β -CD com uma solução-tampão com um pH igual a 5,34.

Para preparar a solução-tampão com pH igual a 5,34 pesou-se 5,6004 g de NaOAC e 505 μL de CH_3COOH para um gobelé de 20 mL. De seguida transferiu-se quantitativamente para um balão volumétrico de 500,0 mL e perfez-se o volume com água desionizada.

Na Tabela 8 apresenta-se resumidamente a preparação das soluções de Oxadiargil para o estudo do encapsulamento por UV/Vis.

Tabela 8 – Preparação das soluções de Oxadiargil para o estudo por UV/Vis para um volume de 25,00 mL em solução-tampão pH = 5,34

Solução	m Oxadiargil pesada (g)	V (HP- β -CD)(mL)	V solução-padrão pH = 5,34 (mL)	V final (mL)	[HP- β -CD] (mM)
A	0,0103	0,00	25,00	25,00	0
B	0,0103	3,57	21,43		5
C	0,0101	7,14	17,86		10
D	0,0103	10,71	14,29		15
E	0,0103	14,29	10,71		20
F	0,0102	17,86	7,14		25
G	0,0101	21,43	3,57		30
H	0,0103	25,00	0,00		35

Por fim, colocou-se papel de alumínio à volta dos matrizes para os proteger da radiação.

As soluções preparadas foram colocadas a agitar, no agitador orbital a 25 °C, a 100 rpm, durante cerca de 24 h. Diariamente foram removidas alíquotas de cada uma das soluções em estudo que eram filtradas, diluídas adequadamente e analisadas por UV/Vis.

3.3.5. ENSAIOS DE SOLUBILIDADE EM SOLUÇÃO-TAMPÃO pH = 7,45

Idêntico ao procedimento inicial, com a exceção de que para o traçado da curva de calibração, prepararam-se soluções-padrão por diluição rigorosa da solução-mãe (80 % de metanol e 20 % solução-tampão pH = 7,45), com concentrações entre $5,0 \times 10^{-6} \text{ mol/dm}^3$ e $8,0 \times 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$. Perfez-se também a marca dos 250,0 mL da solução-mãe de HP- β -CD com uma solução-tampão com um pH igual a 7,45.

Para preparar a solução-tampão com pH igual a 7,45 pesou-se 7,0509 g de di-Potássio Hidrogeno Fosfato Anidro (K_2HPO_4 - 0,2 M) e 1,3004 g de Fosfato de Potássio Monobásico (KH_2PO_4 - 0,2 M) para um gobelé de 20 mL. De seguida transferiu-se

quantitativamente para um balão volumétrico de 500,0 mL e fez-se o volume com água desionizada.

Na Tabela 9 apresenta-se resumidamente a preparação das soluções para o estudo do encapsulamento por UV/Vis.

Tabela 9 – Preparação das soluções de Oxadiargil para o estudo por UV/Vis para um volume de 25,00 mL em solução-tampão pH = 7,45

Solução	m Oxadiargil pesada (g)	V (HP- β -CD)(mL)	V solução-padrão pH = 7,45 (mL)	V final (mL)	[HP- β -CD] (mM)
A	0,0101	0,00	25,00	25,00	0
B	0,0102	3,57	21,43		5
C	0,0105	7,14	17,86		10
D	0,0102	10,71	14,29		15
E	0,0100	14,29	10,71		20
F	0,0100	17,86	7,14		25
G	0,0101	21,43	3,57		30
H	0,0100	25,00	0,00		35

Por fim, colocou-se papel de alumínio à volta dos matrizes para os proteger da radiação.

As soluções preparadas foram colocadas a agitar, no agitador orbital a 25 °C, a 100 rpm, durante cerca de 24 h. Diariamente foram removidas alíquotas de cada uma das soluções em estudo que eram filtradas, diluídas adequadamente e analisadas por UV/Vis.

3.3.6. CARACTERIZAÇÃO DO COMPLEXO FORMADO POR RMN USANDO O MÉTODO KNEADING

O complexo de inclusão do Oxadiargil com a ciclodextrina HP- β -CD foi preparado pelo método de *kneading*. Os produtos resultantes deste processo foram obtidos por mistura física das substâncias (numa relação molar de 1:1) num almofariz com uma quantidade mínima de etanol. Após a formação de uma pasta homogénea, o produto foi seco a 45 °C numa estufa sob vácuo.

4. RESULTADOS OBTIDOS E DISCUSSÃO

4.1. ESTUDO DA COMPLEXAÇÃO OXADIARGIL - HP- β -CD

4.1.1. ENSAIOS DE SOLUBILIDADE DO OXADIARGIL E DO COMPLEXO

Tendo como objetivo a análise do complexo formado relativamente ao Oxadiargil livre, efetuaram-se ensaios de solubilidade de acordo com o método descrito por *Higuchi e Connors* [30]. Este estudo foi realizado em diferentes meios (água desionizada, pH = 3,46, pH = 5,34 e pH = 7,45). Respetivamente para cada caso traçaram-se os espectros das soluções (A, B, C, D, E, F, G, H), por espectrofotometria de UV/Vis, no intervalo entre 190nm e 400nm à temperatura ambiente.

4.1.1.1. ESTUDO EM ÁGUA DESIONIZADA

Para a determinação da curva de calibração começou-se por traçar os espectros das diferentes soluções-padrão de Oxadiargil com concentrações compreendidas entre 5×10^{-6} mol/dm³ e 1×10^{-4} mol/dm³ e um comprimento de onda entre os 190 nm e os 400 nm. Na Figura 9 estão representados os espectros obtidos.

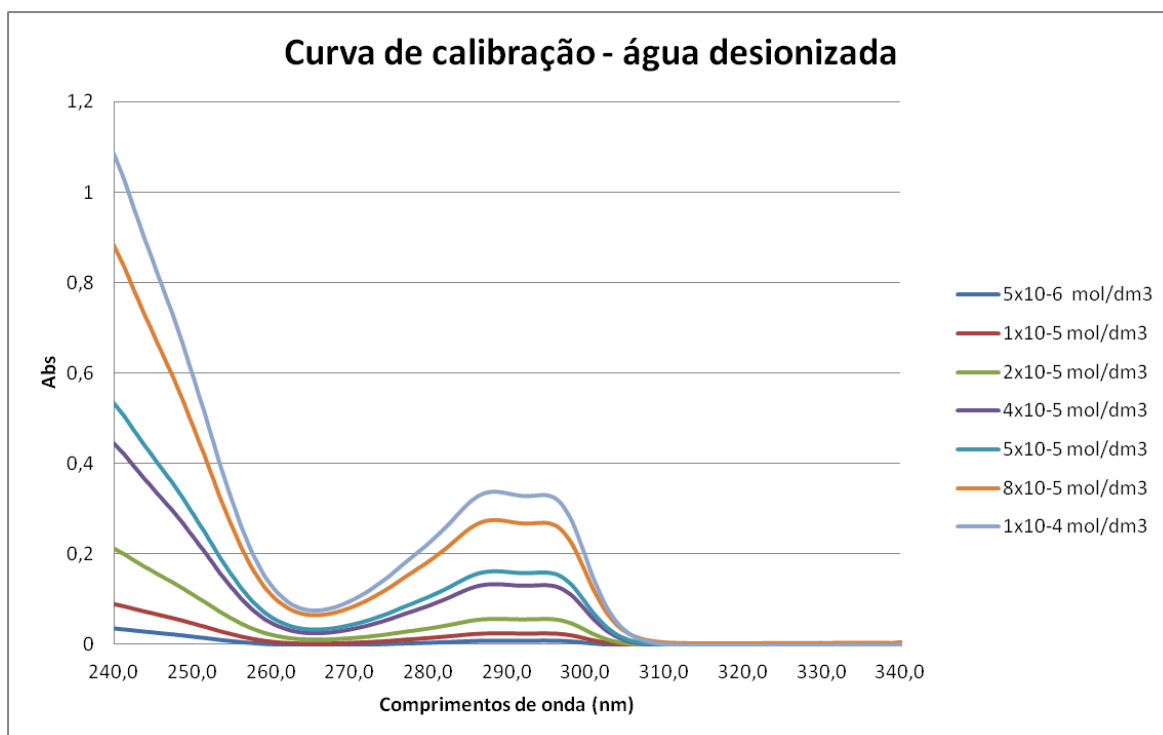


Figura 9 – Espectros de UV da curva de calibração (água desionizada)

De seguida e após a análise dos dados registou-se a absorvância ao comprimento de onda de 287 nm para as diferentes concentrações de Oxadiargil, como mostra a Tabela 10.

Tabela 10 – Leitura das absorvâncias para as diferentes concentrações de Oxadiargil (água desionizada)

Amostra	[Oxadiargil] (mol/dm ³)	Abs (287nm)
1	5,00E-06	0,0089
2	1,00E-05	0,0247
3	2,00E-05	0,0558
4	4,00E-05	0,1310
5	5,00E-05	0,1600
6	8,00E-05	0,2681
7	1,00E-04	0,3311

Através dos mesmos foi obtido uma curva de calibração, representada pela equação da reta, de declive 3428,6 e ordenada na origem de $-9,45 \times 10^{-3}$. O coeficiente de correlação obtido foi de 0,9995 (Figura 10).

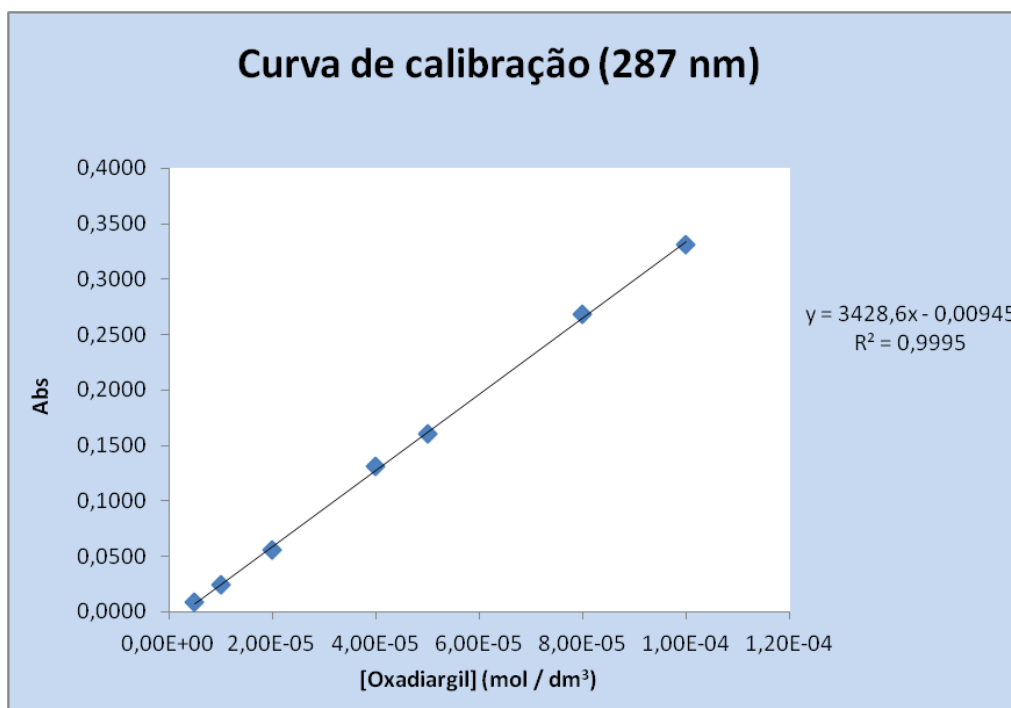


Figura 10 – Curva de calibração (água desionizada)

Traçaram-se os diagramas de fases, em que a solução A não contém HP- β -CD e as restantes soluções (Solução B a H) contém quantidades crescentes de HP- β -CD (ver capítulo 3, Tabela 6). Os espectros obtidos estão representados na Figura 11.

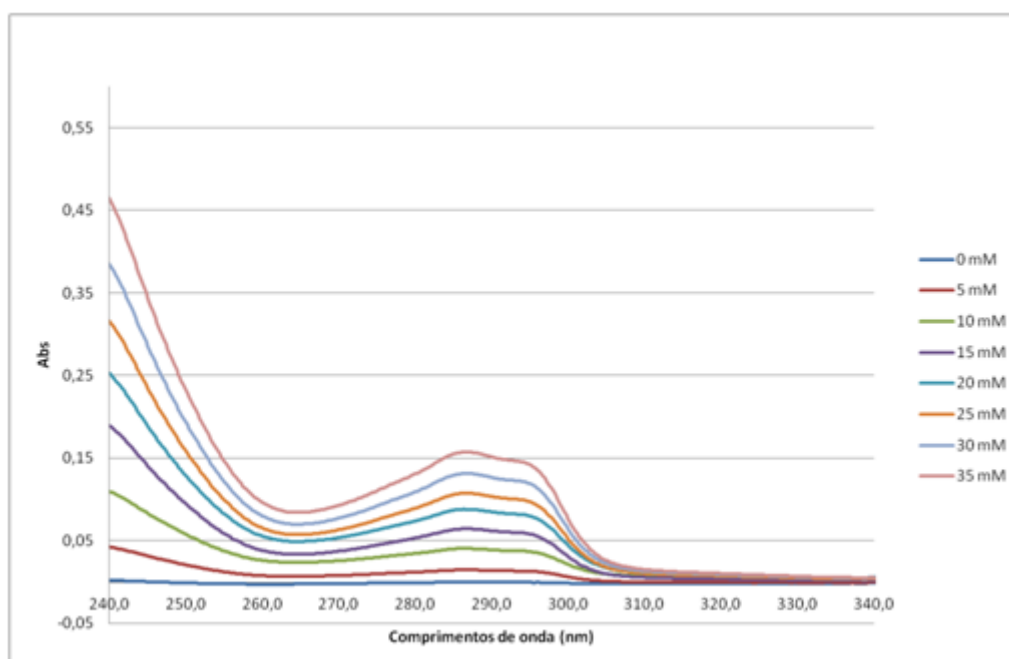


Figura 11 – Espectros dos ensaios de solubilidade (água desionizada)

Após a análise dos dados obtidos dos espectros, registou-se a absorvância para as diferentes concentrações de HP- β -CD, como mostra a Tabela 11, e calculou-se as respetivas concentrações de Oxadiargil em solução. Estas foram obtidas por interpolação na curva de calibração.

Tabela 11 – Cálculo da concentração do Oxadiargil

[HP- β -CD] (mM)	Absorvância (287 nm)	[HP- β -CD] - [Oxadiargil] diluída (mol/dm ³)	[HP- β -CD] - [Oxadiargil] (mol/dm ³)
10	0,0406	1,46E-05	2,19E-05
15	0,0644	2,15E-05	3,23E-05
20	0,0882	2,85E-05	4,27E-05
25	0,1075	3,41E-05	5,11E-05
30	0,1314	4,11E-05	6,16E-05
35	0,1574	4,86E-05	7,30E-05

Nota: Dada a solubilidade do Oxadiargil em água ser muito baixa, para as soluções de 0 e 5 mM de HP- β -CD, com o método utilizado neste trabalho, não se consegue visualizar bandas.

Para o traçado do diagrama de solubilidade de fases representou-se graficamente a concentração de Oxadiargil versus (vs) concentração HP- β -CD (Figura 12).

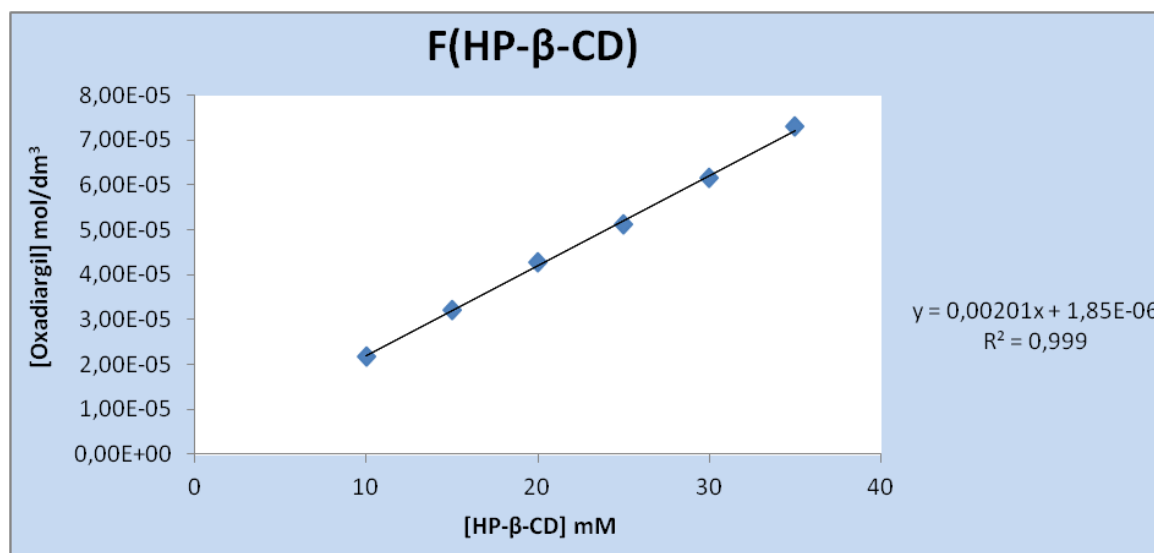


Figura 12 – Diagrama de fases, de crescimento linear, de solubilidade das soluções C a H

Como já foi abordado no capítulo 2, de acordo com *Higuchi e Connors*, o presente gráfico apresenta um crescimento linear de solubilidade, com um declive menor do que um.

Os restantes resultados obtidos (para outras medições), estão apresentados na Tabela 12 e no anexo A.

Tabela 12 – Estudo da solubilidade do Oxadiargil com concentrações crescentes de HP- β -CD por Espectrofotometria de UV/Vis (água desionizada)

Soluções	HP- β -CD (mM)	Absorvância (287 nm)	[HP- β -CD] - [Oxadiargil] (mol/dm ³)
C	10	0,0413	2,22E-05
D	15	0,0641	3,22E-05
E	20	0,0802	3,92E-05
F	25	0,1005	4,81E-05
G	30	0,1282	6,02E-05
H	35	0,1584	7,34E-05
C	10	0,0492	2,56E-05
D	15	0,0720	3,56E-05
E	20	0,0922	4,44E-05
F	25	0,1177	5,56E-05
G	30	0,1411	6,58E-05
H	35	0,1680	7,76E-05
C	10	0,0491	2,56E-05
D	15	0,0714	3,53E-05
E	20	0,0923	4,45E-05
F	25	0,1178	5,56E-05
G	30	0,1412	6,59E-05
H	35	0,1696	7,83E-05
C	10	0,0358	1,98E-05
D	15	0,0639	3,21E-05
E	20	0,0843	4,10E-05
F	25	0,1068	5,08E-05
G	30	0,1323	6,20E-05
H	35	0,1587	7,35E-05

De acordo com a equação 1, calculou-se a constante de estabilidade para cada complexo (K), a partir da ordenada na origem (S_0) e do declive (m), obtendo-se os resultados indicados na Tabela 13.

Tabela 13 – Dados obtidos para a obtenção da constante de estabilidade (água desionizada)

Água desionizada	Equação da reta ($y = mx + b$)	Declive (m)	Ordenada na origem (S_0) mol/dm ³	R ²	Constante de estabilidade (K)
	$y = 1,97E-03x + 2,86E-06$	1,97E-03	2,86E-06	0,998	690
	$y = 2,11E-03x + 3,13E-06$	2,11E-03	3,13E-06	0,998	676
	$y = 2,15E-03x + 2,28E-06$	2,15E-03	2,28E-06	0,998	945
	$y = 2,01E-03x + 1,85E-06$	2,01E-03	1,85E-06	0,999	1089
	$y = 1,99E-03x + 1,67E-06$	1,99E-03	1,67E-06	0,999	1194
	Média	2,05E-03	2,36E-06	0,998	919 ± 25

O valor médio da constante de estabilidade do complexo formado, K, obtido nas medições em água desionizada foi de 919 ± 25 .

4.1.1.2. ESTUDO NUMA SOLUÇÃO-TAMPÃO PH = 3,46

Para a determinação da curva de calibração começou-se por traçar os espectros das diferentes soluções-padrão de Oxadiargil com concentrações compreendidas entre 5×10^{-6} mol/dm³ e 1×10^{-4} mol/dm³ e um comprimento de onda entre os 190 nm e os 400 nm. Na Figura 13 estão representados os espectros obtidos.

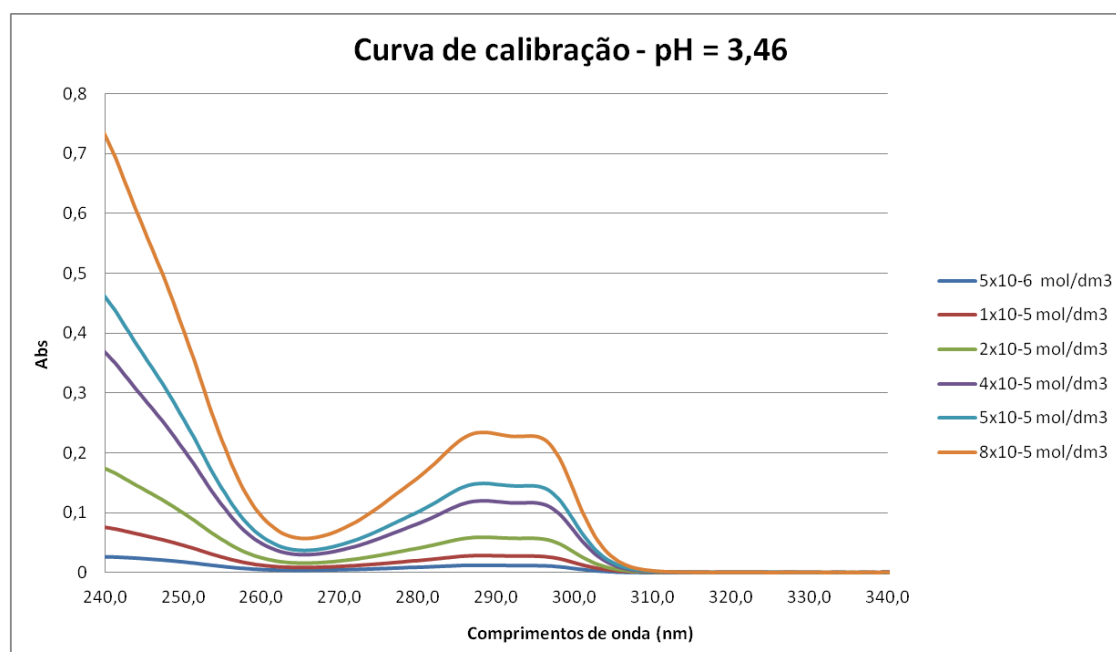


Figura 13 – Espectros de UV/Vis da curva de calibração (solução-tampão pH = 3,46)

De seguida e após a análise dos dados registou-se a absorvância ao comprimento de onda de 287 nm para as diferentes concentrações de Oxadiargil, como se verifica na Tabela 14.

Tabela 14– Leitura das absorvâncias para as diferentes concentrações de Oxadiargil (solução-tampão pH = 3,46)

Amostra	[Oxadiargil] (mol/dm ³)	Abs (287 nm)
1	5,00E-06	0,0116
2	1,00E-05	0,0273
3	2,00E-05	0,0567
4	4,00E-05	0,1163
5	5,00E-05	0,1488
6	8,00E-05	0,2340

Através dos mesmos foi obtido uma curva de calibração representada pela equação da reta de declive 2974 e ordenada na origem de $- 2,5 \times 10^{-3}$. O coeficiente de correlação obtido foi de 0,9997 (Figura 14).

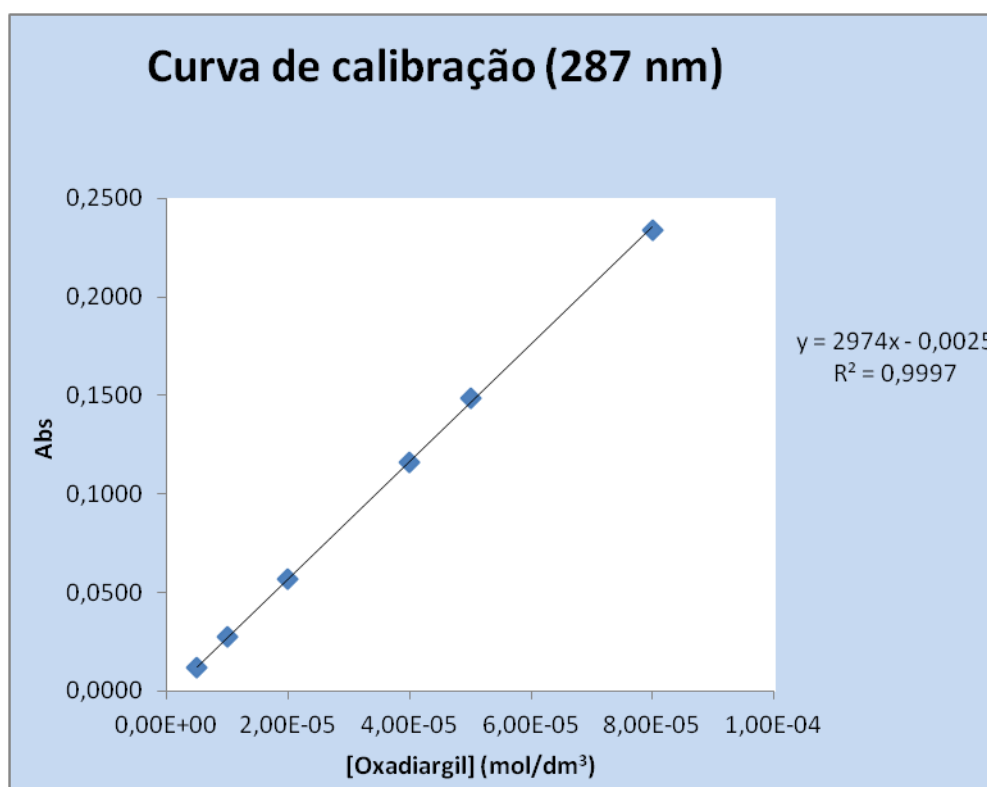


Figura 14 – Curva de calibração (solução-tampão pH = 3,46)

Em seguida efetuou-se o estudo, do comportamento ao longo do tempo das soluções saturadas. Traçaram-se os espectros de UV/Vis das soluções de A a H, em que a solução A não contém HP- β -CD e as restantes soluções contém quantidades crescentes de HP- β -CD (ver capítulo 3 – Tabela 7). Os espectros obtidos estão representados na Figura 15.

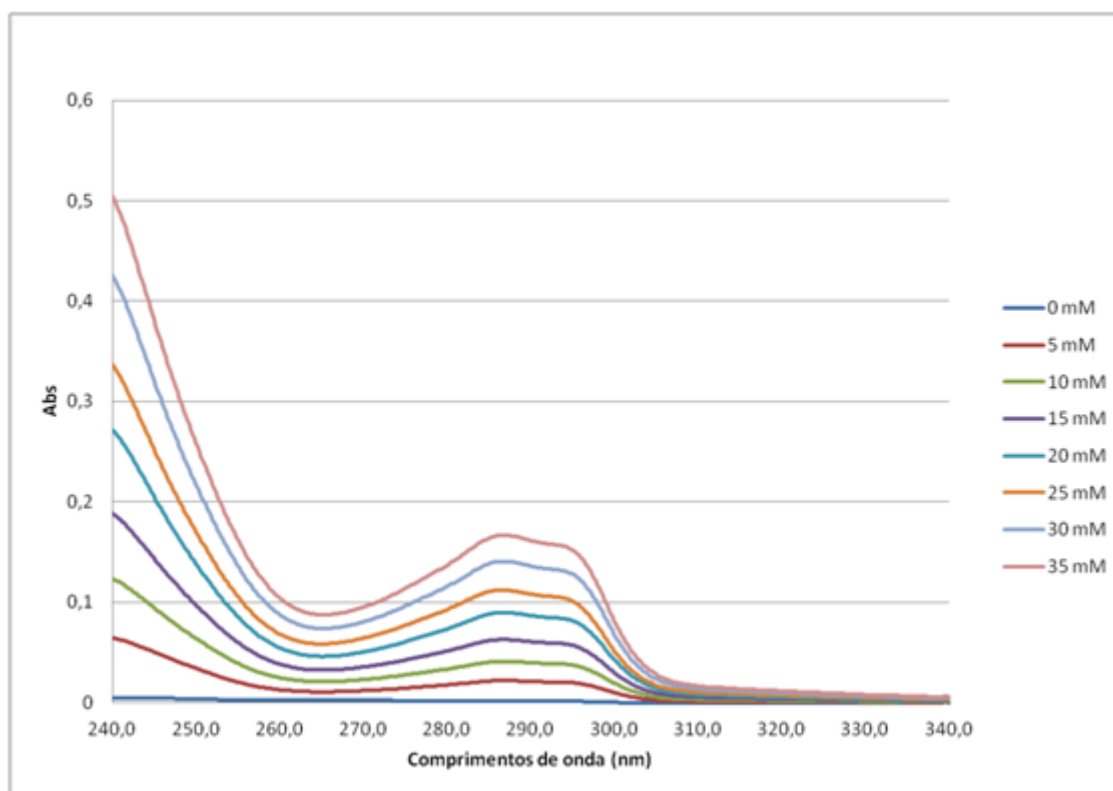


Figura 15 – Espectros dos ensaios de solubilidade (solução-tampão pH = 3,46)

Após a análise dos dados obtidos dos espectros, registou-se a absorvância para as diferentes concentrações de HP- β -CD, como mostra a Tabela 15, e calculou-se as respetivas concentrações de Oxadiargil com HP- β -CD. Estas foram obtidas por interpolação na curva de calibração.

Tabela 15 – Cálculo da concentração do Oxadiargil

[HP- β -CD] (mM)	Absorvância (287 nm)	[HP- β -CD] - [Oxadiargil] diluída (mol/dm ³)	[HP- β -CD] - [Oxadiargil] (mol/dm ³)
10	0,0410	1,46E-05	2,60E-05
15	0,0627	2,19E-05	3,51E-05
20	0,0896	3,10E-05	4,64E-05
25	0,1120	3,85E-05	5,58E-05
30	0,1406	4,81E-05	6,78E-05
35	0,1667	5,69E-05	7,88E-05

Para o traçado do diagrama de solubilidade de fases representou-se graficamente a concentração de Oxadiargil vs concentração HP- β -CD (Figura 16).

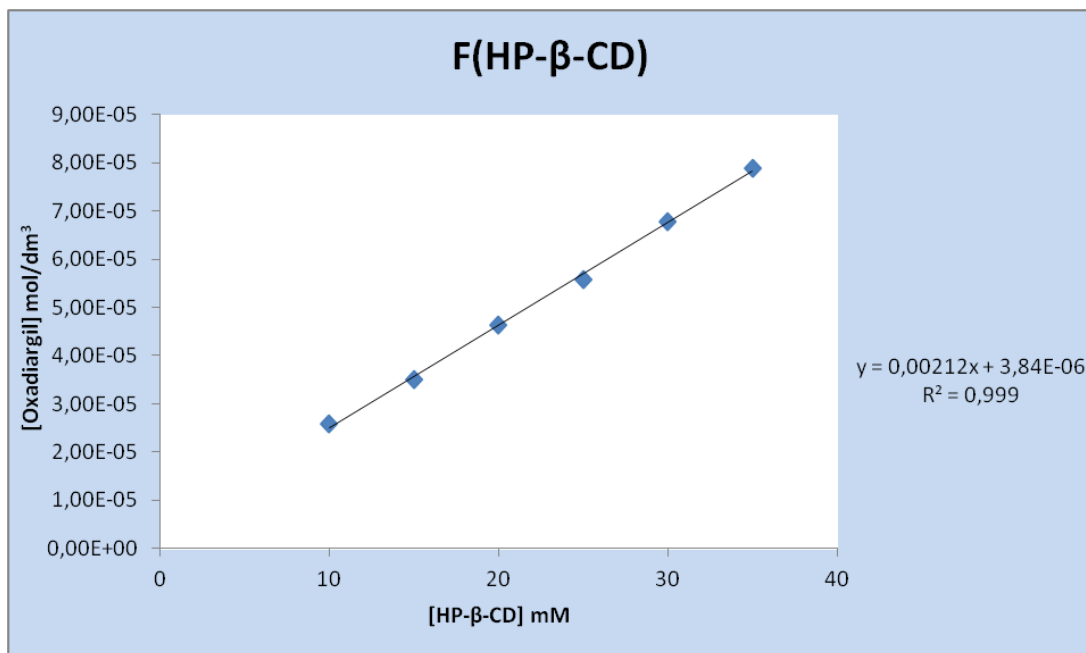


Figura 16 – Diagrama de fases, de crescimento linear, de solubilidade das soluções C a H

Tal como o diagrama de fases para a água desionizada, o presente gráfico apresenta um crescimento linear de solubilidade, com um declive menor do que um.

Os restantes resultados obtidos, estão apresentados na Tabela 16 e no anexo A.

Tabela 16 – Estudo da solubilidade do Oxadiargil com concentrações crescentes de HP- β -CD por Espectrofotometria de UV/Vis (solução-tampão pH = 3,46)

Soluções	HP- β -CD (mM)	Absorvância (287 nm)	[HP- β -CD] - [Oxadiargil] (mol/dm ³)
C	10	0,0435	2,50E-05
D	15	0,0663	3,46E-05
E	20	0,0935	4,60E-05
F	25	0,1105	5,31E-05
G	30	0,1397	6,54E-05
H	35	0,1734	7,96E-05
C	10	0,0408	2,42E-05
D	15	0,0633	3,37E-05
E	20	0,0882	4,42E-05
F	25	0,1055	5,14E-05
G	30	0,1342	6,35E-05
H	35	0,1651	7,65E-05
C	10	0,0347	2,19E-05
D	15	0,0550	3,04E-05
E	20	0,0789	4,05E-05
F	25	0,1030	5,06E-05
G	30	0,1284	6,13E-05
H	35	0,1513	7,09E-05
C	10	0,0466	2,67E-05
D	15	0,0655	3,46E-05
E	20	0,0880	4,41E-05
F	25	0,1119	5,41E-05
G	30	0,1437	6,75E-05
H	35	0,1729	7,97E-05
C	10	0,0366	2,65E-05
D	15	0,0566	3,66E-05
E	20	0,0770	4,69E-05
F	25	0,0986	5,78E-05
G	30	0,1237	7,05E-05
H	35	0,1460	8,17E-05
C	10	0,0374	2,54E-05
D	15	0,0548	3,42E-05
E	20	0,0746	4,42E-05
F	25	0,0970	5,55E-05
G	30	0,1213	6,77E-05
H	35	0,1416	7,80E-05

De acordo com a equação 1, calculou-se o K para cada complexo, a partir da ordenada na origem (S_0) e do m, obtendo-se os resultados indicados na Tabela 17.

Tabela 17 – Dados obtidos para a obtenção da constante de estabilidade (pH = 3,46)

Solução tampão pH = 3,46	Equação da reta ($y = mx + b$)	Declive (m)	Ordenada na origem (S_0) mol/dm ³	R ²	Constante de estabilidade (K)
	$y = 2,15E-03x + 2,82E-06$	2,15E-03	2,82E-06	0,998	764
	$y = 2,06E-03x + 3,02E-06$	2,06E-03	3,02E-06	0,997	684
	$y = 2,12E-03x + 3,84E-06$	2,12E-03	3,84E-06	0,999	553
	$y = 1,92E-03x + 3,13E-06$	1,92E-03	3,13E-06	0,997	615
	$y = 2,14E-03x + 3,01E-06$	2,14E-03	3,01E-06	0,991	712
	$y = 2,22E-03x + 3,40E-06$	2,22E-03	3,40E-06	0,998	654
	$y = 2,14E-03x + 2,64E-06$	2,14E-03	2,64E-06	0,997	812
	Média	2,11E-03	3,12E-06	0,997	685 ± 13

O valor médio da constante de estabilidade do complexo formado, K, obtido nas medições em solução-tampão pH = 3,46 foi de 685 ± 13.

4.1.1.3. ESTUDO NUMA SOLUÇÃO-TAMPÃO PH = 5,34

Para a determinação da curva de calibração começou-se por traçar os espectros das diferentes soluções-padrão de Oxadiargil com concentrações compreendidas entre $5,00 \times 10^{-6}$ mol/dm³ e $1,00 \times 10^{-4}$ mol/dm³ e um comprimento de onda entre os 190 nm e os 400 nm. Na Figura 17 estão representados os espectros obtidos.

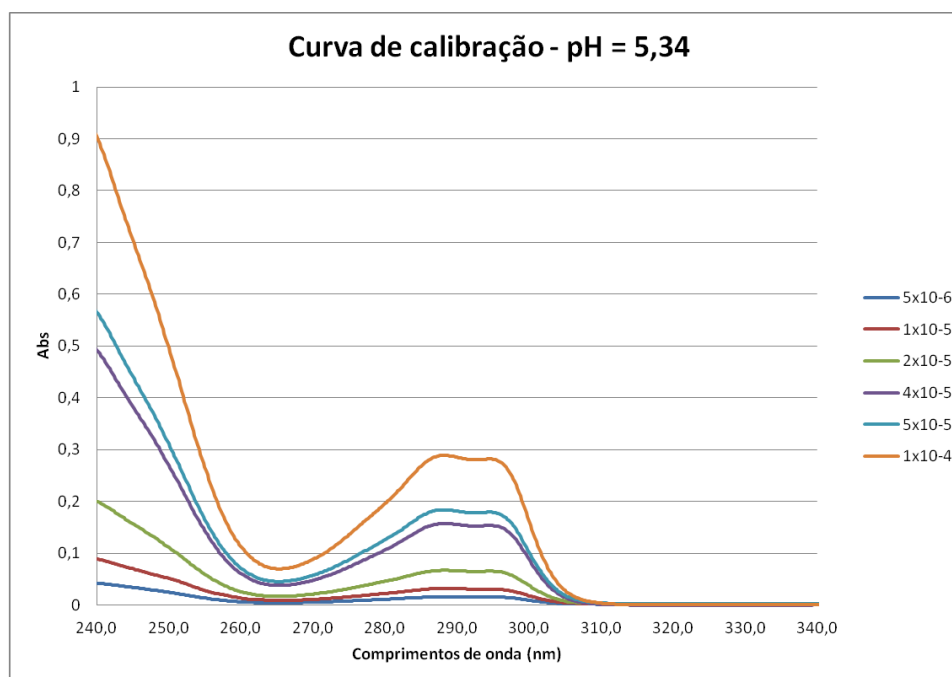


Figura 17 – Espectros de UV/Vis da curva de calibração (solução-tampão pH = 5,34)

De seguida e após a análise dos dados registou-se a absorvância ao comprimento de onda de 287 nm para as diferentes concentrações de Oxadiargil, como mostra a Tabela 18.

Tabela 18 – Leitura das absorvâncias para as diferentes concentrações de Oxadiargil (solução-tampão pH = 5,34)

Amostra	[Oxadiargil] (mol/dm ³)	Abs (287 nm)
1	5,00E-06	0,0158
2	1,00E-05	0,0318
3	2,00E-05	0,0699
4	4,00E-05	0,1571
5	5,00E-05	0,1838
6	8,00E-05	0,2888

Através dos mesmos foi obtido uma curva de calibração representada pela equação da reta de declive 3691,7 e ordenada na origem de $-1,6 \times 10^{-3}$. O coeficiente de correlação obtido foi de 0,997 (Figura 18).

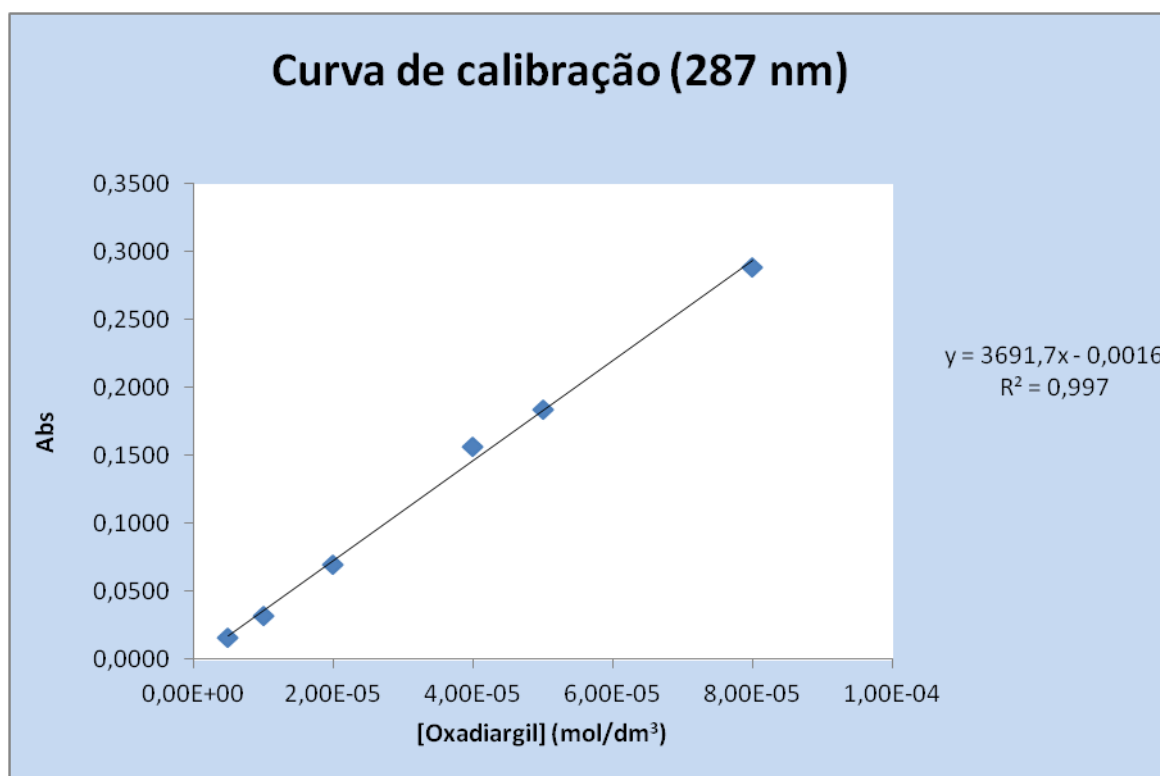


Figura 18 – Curva de calibração (solução-tampão pH = 5,34)

Em seguida efetuou-se o estudo, do comportamento ao longo do tempo das soluções saturadas. Traçaram-se os espectros de UV/Vis das soluções de A a H, em que a solução A não contém HP- β -CD e as restantes soluções contém quantidades crescentes de HP- β -CD (ver capítulo 3 – Tabela 8). Os espectros obtidos estão representados na Figura 19.

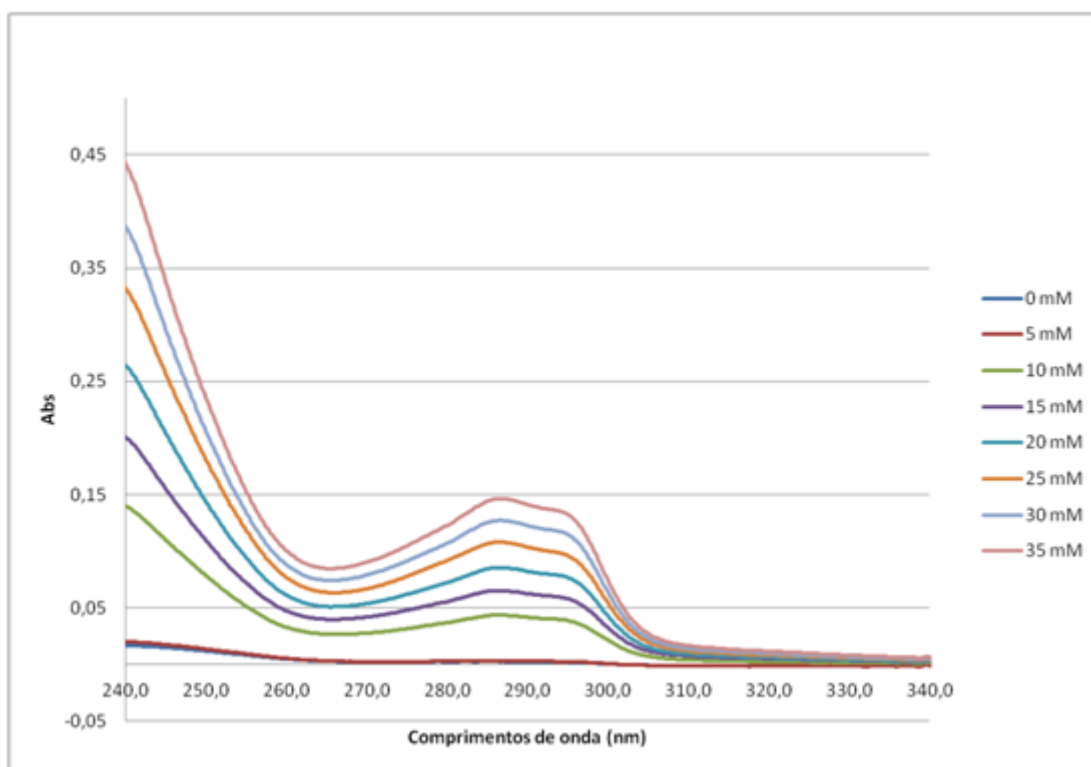


Figura 19 – Espectros dos ensaios de solubilidade (solução-tampão pH = 5,34)

Após a análise dos dados obtidos dos espectros, registou-se a absorvância para as diferentes concentrações de HP- β -CD, como mostra a Tabela 19, e calculou-se as respectivas concentrações de Oxadiargil com HP- β -CD. Estas foram obtidas por interpolação na curva de calibração.

Tabela 19 – Cálculo da concentração do Oxadiargil

[HP- β -CD] (mM)	Absorvância (287 nm)	[HP- β -CD] - [Oxadiargil] diluída (mol/dm ³)	[HP- β -CD] - [Oxadiargil] (mol/dm ³)
10	0,0436	1,27E-05	1,91E-05
15	0,0652	1,86E-05	2,79E-05
20	0,0855	2,42E-05	3,62E-05
25	0,1079	3,03E-05	4,54E-05
30	0,1271	3,55E-05	5,32E-05
35	0,1464	4,07E-05	6,11E-05

Para o traçado do diagrama de solubilidade de fases representou-se graficamente a concentração de Oxadiargil vs concentração HP- β -CD (Figura 20).

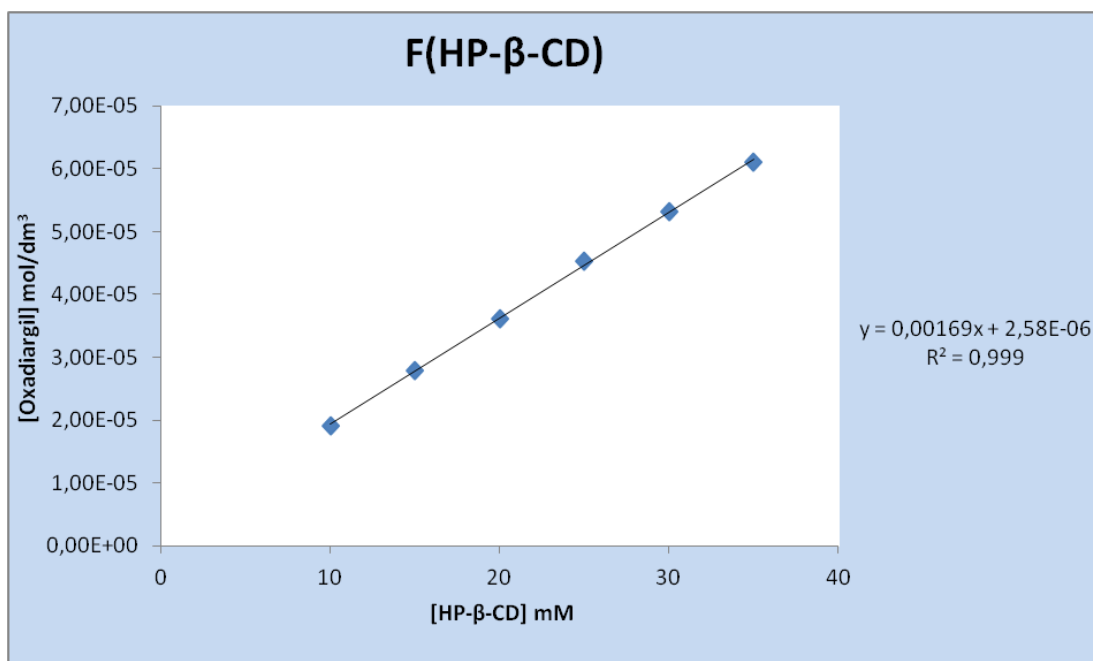


Figura 20 – Diagrama de fases, de crescimento linear, de solubilidade das soluções C a H

O presente gráfico apresenta um crescimento linear de solubilidade, com um declive menor do que um.

Os restantes resultados obtidos, estão apresentados na Tabela 20 e no anexo A.

Tabela 20 – Estudo da solubilidade do Oxadiargil com concentrações crescentes de HP-β-CD por Espectrofotometria de UV/Vis (solução-tampão pH = 5,34)

Soluções	HP-β-CD (mM)	Absorvância (287 nm)	[HP-β-CD] - [Oxadiargil] (mol/dm ³)
C	10	0,0403	2,12E-05
D	15	0,0548	2,71E-05
E	20	0,0700	3,33E-05
F	25	0,0942	4,31E-05
G	30	0,1072	4,84E-05
H	35	0,1331	5,89E-05
C	10	0,0475	2,07E-05
D	15	0,0639	2,74E-05
E	20	0,0851	3,61E-05
F	25	0,1077	4,53E-05
G	30	0,1277	5,35E-05
H	35	0,1493	6,23E-05
C	10	0,0474	2,07E-05
D	15	0,0647	2,77E-05
E	20	0,0865	3,66E-05
F	25	0,1070	4,50E-05
G	30	0,1275	5,34E-05
H	35	0,1480	6,18E-05

De acordo com a equação 1, calculou-se o K para cada complexo, a partir da ordenada na origem (S_0) e do declive, obtendo-se os resultados indicados na Tabela 21.

Tabela 21 – Dados obtidos para a obtenção da constante de estabilidade (pH = 5,34)

	Equação da reta ($y = mx + b$)	Declive (m)	Ordenada na origem (S_0) mol/dm ³	R ²	Constante de estabilidade (K)
Solução tampão pH = 5,34	$y = 1,62E-03x + 2,10E-06$	1,62E-03	2,10E-06	0,996	773
	$y = 1,69E-03x + 2,90E-06$	1,69E-03	2,90E-06	0,998	584
	$y = 1,69E-03x + 2,58E-06$	1,69E-03	2,58E-06	0,999	656
	$y = 1,66E-03x + 3,48E-06$	1,66E-03	3,48E-06	0,999	478
	Média	1,67E-03	2,77E-06	0,998	623 ± 17

O valor médio da constante de estabilidade do complexo formado, K, obtido nas medições em solução-tampão pH = 5,34 foi de 623 ± 17 .

4.1.1.4. ESTUDO NUMA SOLUÇÃO-TAMPÃO pH = 7,45

Para a determinação da curva de calibração começou-se por traçar os espectros das diferentes soluções-padrão de Oxadiargil com concentrações compreendidas entre 5×10^{-6} mol/dm³ e 1×10^{-4} mol/dm³ e um comprimento de onda entre os 190 nm e os 400 nm. Na Figura 21 estão representados os espectros obtidos.

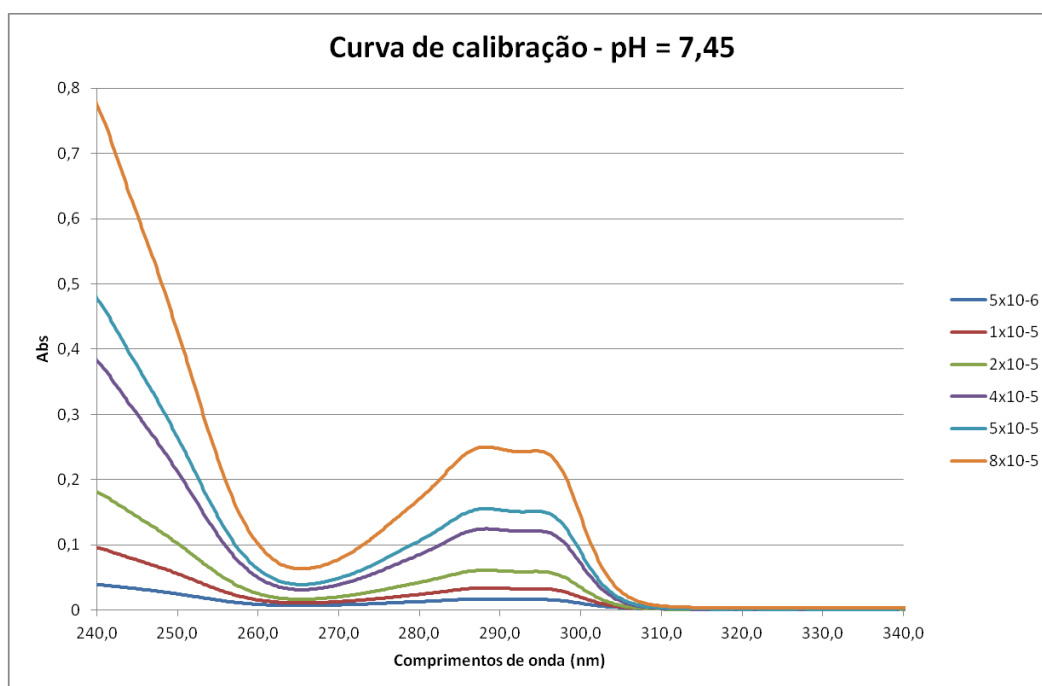


Figura 21 – Espectros de UV/Vis da curva de calibração (solução-tampão pH = 7,45)

De seguida e após a análise dos dados registou-se a absorvância ao comprimento de onda de 287 nm para as diferentes concentrações de Oxadiargil, como mostra a Tabela 22.

Tabela 22 – Leitura das absorvâncias para as diferentes concentrações de Oxadiargil (solução-tampão pH = 7,45)

Amostra	[Oxadiargil] (mol/dm ³)	Abs (287 nm)
1	5,00E-06	0,0162
2	1,00E-05	0,0327
3	2,00E-05	0,0591
4	4,00E-05	0,1212
5	5,00E-05	0,1513
6	8,00E-05	0,2439

Através dos mesmos foi obtido uma curva de calibração representada pela equação da reta de declive igual a 3029,6 e ordenada na origem de $0,6 \times 10^{-3}$ mol/dm³. O coeficiente de correlação obtido foi de 0,9997 (Figura 22).

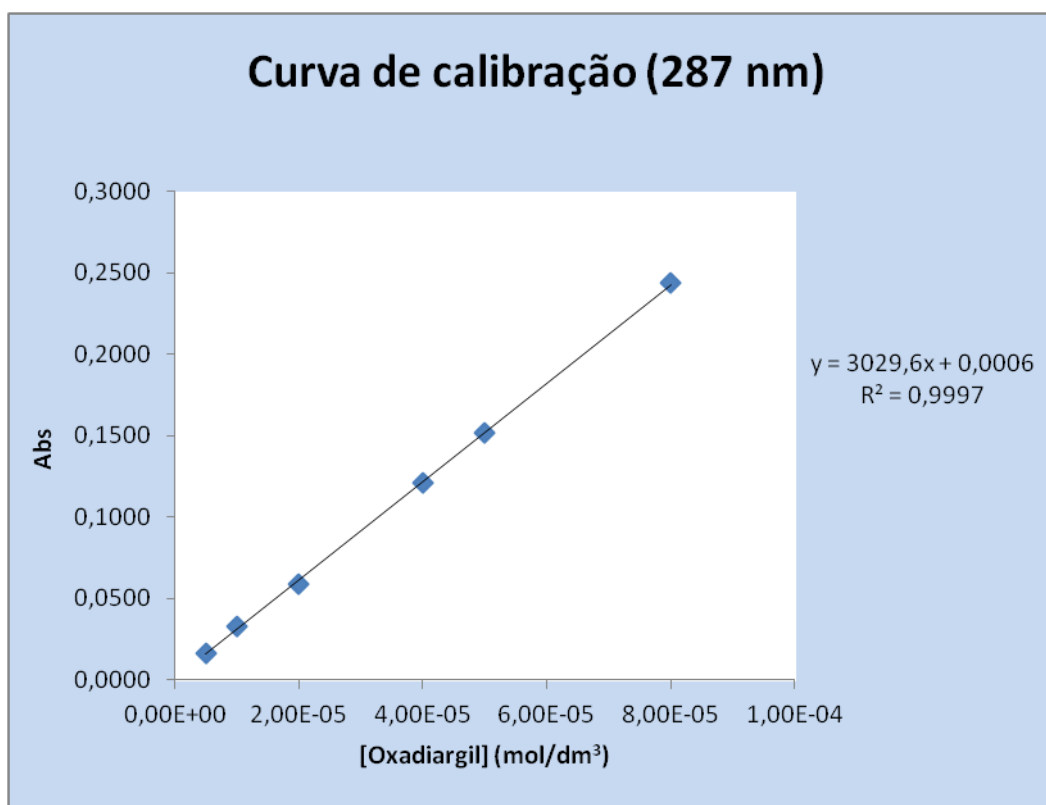


Figura 22 – Curva de calibração (solução-tampão pH = 7,45)

Em seguida efetuou-se o estudo, do comportamento ao longo do tempo das soluções saturadas. Traçaram-se os espectros de UV/Vis das soluções de A a H, em que a solução A

não contém HP- β -CD e as restantes soluções contém quantidades crescentes de HP- β -CD (ver capítulo 3 – Tabela 9). Os espectros obtidos estão representados na Figura 23.

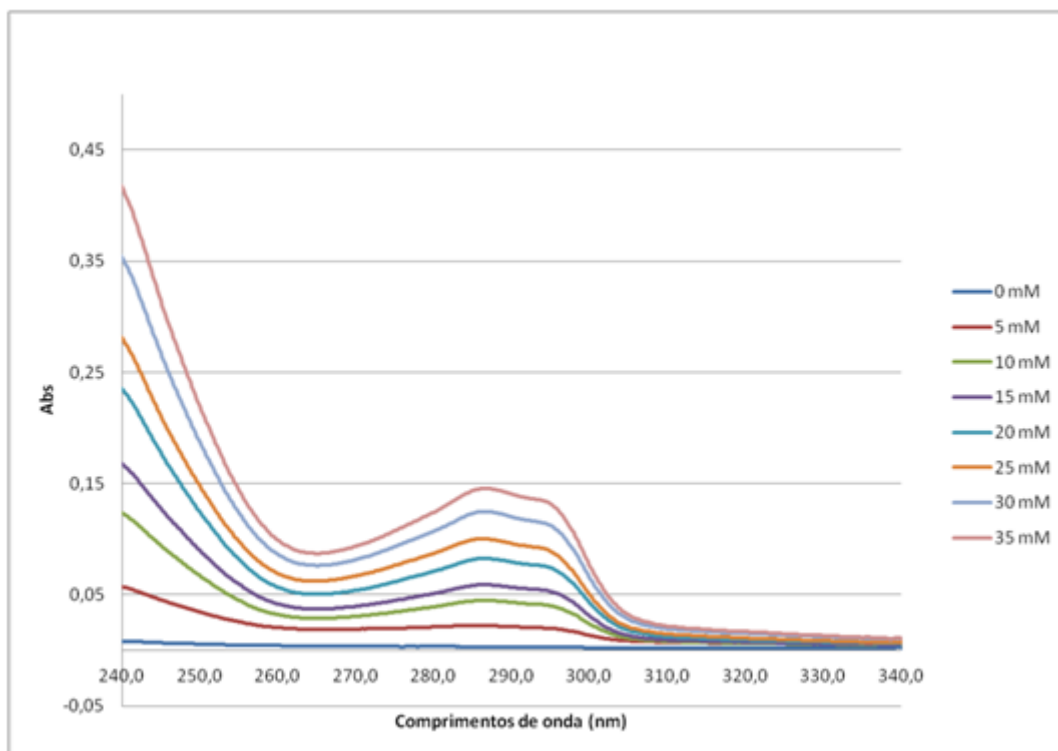


Figura 23 – Espectros dos ensaios de solubilidade (solução-tampão pH = 7,45)

Após a análise dos dados obtidos dos espectros, registou-se a absorvância para as diferentes concentrações de HP- β -CD, como mostra a Tabela 23, e calculou-se as respetivas concentrações de Oxadiargil com HP- β -CD. Estas foram obtidas por interpolação na curva de calibração.

Tabela 23 – Cálculo da concentração do Oxadiargil

[HP- β -CD] (mM)	Absorvância (287 nm)	[HP- β -CD] - [Oxadiargil] diluída (mol/dm ³)	[HP- β -CD] - [Oxadiargil] (mol/dm ³)
15	0,0591	1,93E-05	3,46E-05
20	0,0827	2,71E-05	4,62E-05
25	0,1003	3,29E-05	5,50E-05
30	0,1248	4,10E-05	6,71E-05
35	0,1456	4,79E-05	7,74E-05

Para o traçado do diagrama de solubilidade de fases representou-se graficamente a concentração de Oxadiargil vs concentração HP- β -CD (Figura 24).

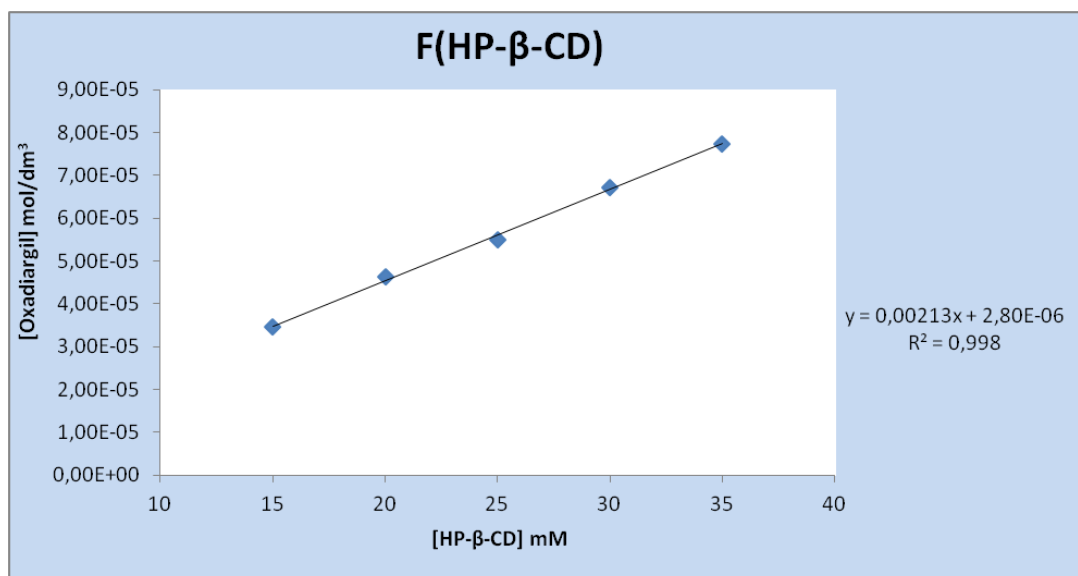


Figura 24 – Diagrama de fases, de crescimento linear, de solubilidade das soluções D a H

Tal como os outros gráficos apresentados para as soluções-tampão de diferentes pH's, este apresenta também um crescimento linear de solubilidade, com um declive menor do que um.

Os restantes resultados obtidos, estão apresentados na Tabela 24 e no anexo A.

Tabela 24– Estudo da solubilidade do Oxadiargil com concentrações crescentes de HP-β-CD por Espectrofotometria de UV/Vis (solução-tampão pH = 7,45)

Soluções	HP-β-CD (mM)	Absorvância (287 nm)	[HP-β-CD] - [Oxadiargil] (mol/dm ³)
C	10	0,0334	2,27E-05
D	15	0,0614	3,66E-05
E	20	0,0787	4,51E-05
F	25	0,0956	5,35E-05
G	30	0,1236	6,74E-05
H	35	0,1441	7,75E-05
C	10	0,0479	2,85E-05
D	15	0,0608	3,49E-05
E	20	0,0831	4,59E-05
F	25	0,1028	5,57E-05
G	30	0,1258	6,71E-05
H	35	0,1481	7,81E-05

De acordo com a equação 1, calculou-se o K para cada complexo, a partir da ordenada na origem (S_0) e do declive, obtendo-se os resultados indicados na Tabela 25.

Tabela 25 – Dados obtidos para a obtenção da constante de estabilidade (pH = 7,45)

	Equação da reta ($y = mx + b$)	Declive (m)	Ordenada na origem (S_0) mol/dm ³	R ²	Constante de estabilidade (K)
Solução tampão pH = 7,45	$y = 2,10E-03x + 3,24E-06$	2,10E-03	3,24E-06	0,994	650
	$y = 2,13E-03x + 2,80E-06$	2,13E-03	2,80E-06	0,998	762
	$y = 2,15E-03x + 2,54E-06$	2,15E-03	2,54E-06	0,999	848
	Média	2,13E-03	2,86E-06	0,997	753 ± 9

O valor médio da constante de estabilidade do complexo formado, K, obtido nas medições em solução-tampão pH = 7,45 foi de 753 ± 9.

Na Tabela 26 é possível verificar os valores médios do S_0 , do m, do R² e do K para as diferentes soluções. Verifica-se que o processo de complexação Oxadiargil – HP- β -CD não é muito influenciado pela pH do meio. Esta pequena diferença observada era esperada, uma vez que de acordo com as propriedades físicas e químicas do Oxadiargil [17], não existe qualquer função química que possa ser facilmente ionizada e/ou torne a substância ionizável ao longo do intervalo de pH estudado.

Tabela 26 – Síntese da média das constantes de estabilidade obtidas para as diferentes soluções

Soluções	S_0 (mol/dm ³)	m	R ²	K
Água desionizada	2,36E-06	2,05E-03	0,998	919 ± 25
Solução tampão pH = 3,46	3,12E-06	2,11E-03	0,997	685 ± 13
Solução tampão pH = 5,34	2,77E-06	1,67E-03	0,998	623 ± 17
Solução tampão pH = 7,45	2,86E-06	2,13E-03	0,997	753 ± 9

4.1.2. ANÁLISE DOS COMPLEXOS POR RMN

A elucidação estrutural por espectroscopia de ressonância magnética de ¹H (Figura 25, Figura 26 e Figura 27) permitiu afirmar que o complexo de inclusão resultante da mistura do Oxadiargil com a HP- β -CD foi obtido com sucesso. Comparando os diferentes espectros verifica-se que os picos referentes ao complexo de inclusão Oxadiargil - HP- β -CD, sofrem um pequeno deslocamento químico em relação à sua posição inicial, sugerindo, desta forma, a interação do Oxadiargil com os prótons da HP- β -CD, localizadas dentro ou fora da cavidade da ciclodextrina.

A estequiometria do complexo formado pelo método de “*kneading*” foi determinada comparando os valores de integração de RMN de ¹H entre os prótons t-Butilo do

Oxadiargil e os prótons H1' e H1'* da HP- β -CD. A razão entre o Oxadiargil e a HP- β -CD no complexo de inclusão foi de 1:1.

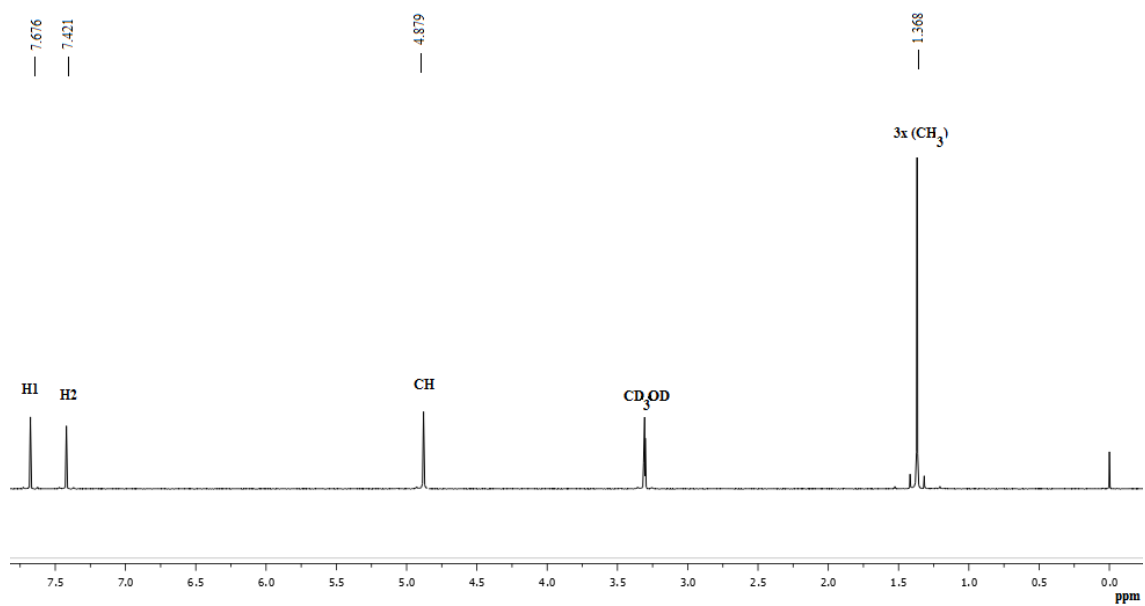
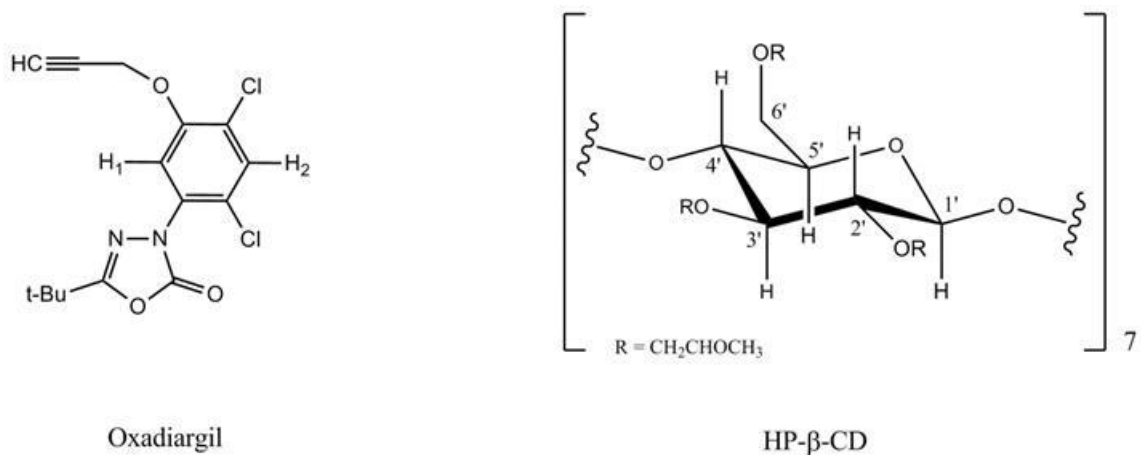


Figura 25 – Espectro de RMN de ^1H do Oxadiargil

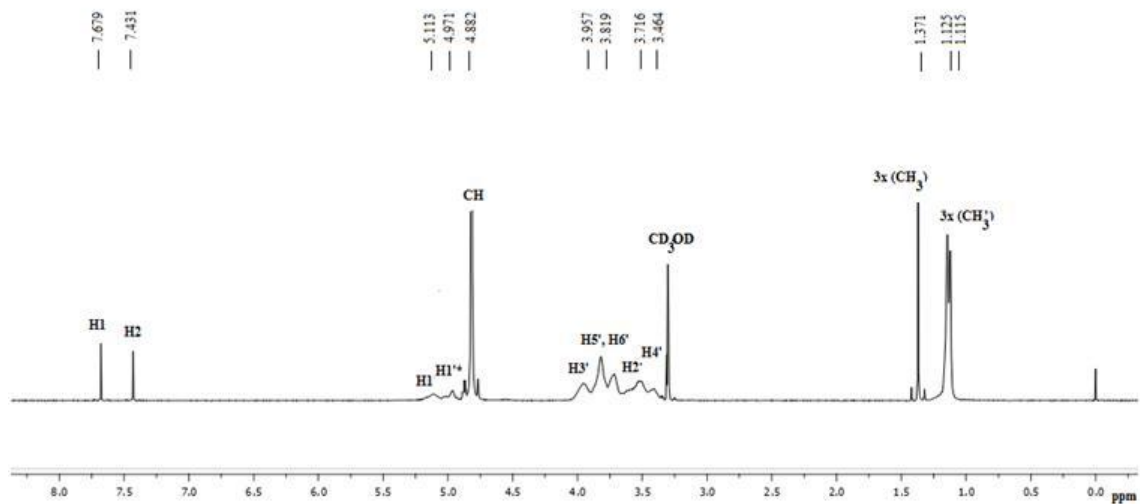


Figura 26 – Espectro de RMN de ^1H do complexo Oxadiargyl – HP- β -CD obtidos pelo método de *kneading*

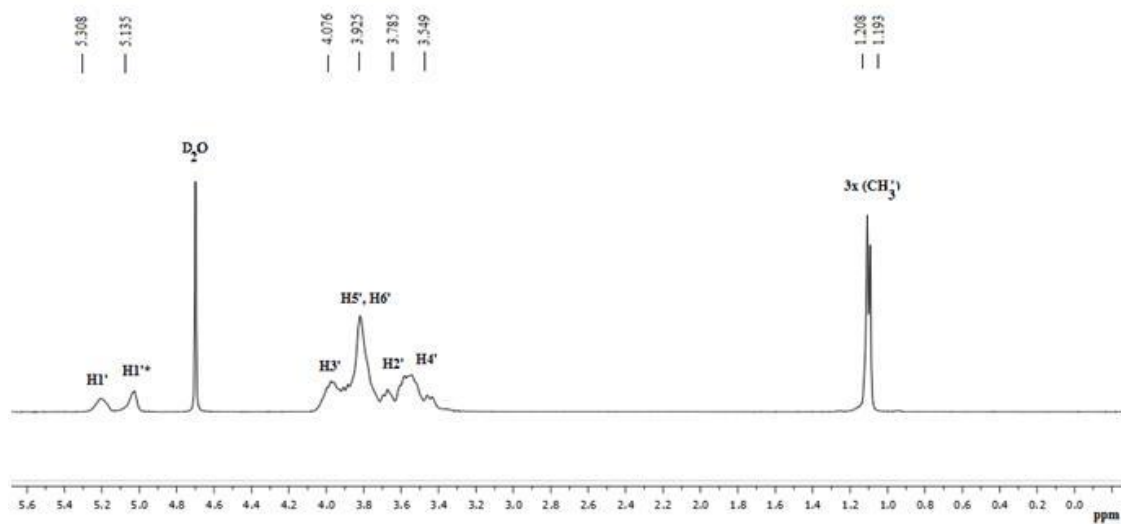


Figura 27 – Espectro de RMN de ^1H da HP- β -CD

5. CONCLUSÕES E COMENTÁRIOS

Neste último capítulo são apresentadas as conclusões do trabalho realizado. São igualmente perspectivados desenvolvimentos futuros.

5.1. CONCLUSÕES

Atualmente grande parte da inovação no sector agrícola passa pela melhoria da eficiência dos herbicidas que são utilizados de forma extensiva. De facto, o aumento da eficiência dos produtos fitossanitários podem permitir reduzir o seu impacto negativo no meio ambiente e reduzir os efeitos nocivos relacionados com o contacto por parte dos trabalhadores que utilizam essas substâncias.

Com vista a reduzir o impacto ambiental dos pesticidas no meio ambiente e aumentar a sua solubilidade e biodisponibilidade efetuou-se o estudo do encapsulamento do herbicida Oxadiargil, usando a HP- β -CD. A obtenção destes complexos crê-se que dará origem a um aumento da solubilidade e da estabilidade química deste herbicida, apresentando também outras vantagens entre as quais um menor contacto com o solo para um melhor controlo dos pesticidas, redução dos danos às culturas, menos perdas por evaporação e prevenção da degradação de ingredientes ativos por luz solar.

As análises realizadas usando a espectrofotometria de UV/Vis, permitiram verificar a existência de uma relação linear entre o aumento da solubilidade do pesticida Oxadiargil e o aumento da concentração da HP- β -CD.

O estudo da complexação do herbicida com a HP- β -CD em diferentes meios permitiu verificar que o processo de complexação não é muito influenciado pela constituição e pelo pH do meio. De facto, as constantes de estabilidade obtidas para a água desionizada e soluções-tampão pH = 3,46, pH = 5,34 e pH = 7,45 foram de 919 ± 25 , 685 ± 13 , 623 ± 17 e 753 ± 9 , respetivamente.

A pequena diferença observada era esperada, uma vez que de acordo com as propriedades físicas e químicas do Oxadiargil [19], não existe qualquer função química que possa ser facilmente ionizada e/ou torne a substância ionizável ao longo do intervalo de pH estudado.

A solubilidade do complexo obtido nos estudos realizados, em diferentes meios, é aproximadamente 23 a 32 vezes superior à observada para o Oxadiargil livre.

A análise do complexo Oxadiargil - HP- β -CD por RMN permitiu confirmar a formação de um complexo de inclusão na proporção estequiométrica de 1:1.

Em suma o nanoencapsulamento fornece os meios para um desenvolvimento sustentável: menos materiais, menos água, menos energia e menos resíduos para uma produção mais eficaz.

5.2. TRABALHOS FUTUROS

No seguimento dos estudos efetuados, considera-se que seria apropriado, para o caso do Oxadiargil, efetuar ensaios que visem a avaliação da estabilidade e toxicidade do complexo face ao pesticida livre bem como o estudo das suas características recorrendo a outro tipo de técnicas com limites de deteção mais baixos, como por exemplo o HPLC e os métodos eletroquímicos.

Poderá também ser feito a comparação dos resultados obtidos experimentalmente com estudos teóricos, nomeadamente, Ensaios de Relação Quantitativa de Estrutura-Atividade (QSAR).

Em tom de conclusão, a conjugação de todos os resultados permitirá inferir do potencial da tecnologia de encapsulamento na melhoria e redução do impacto ambiental de poluentes orgânicos persistentes bem como numa diminuição de custos.

Bibliografia

- [1] GATÓN, P.; GUTIÉREZ, F. J. ; MUSSONS, M. L. & ROJO, R. — *Nanotechnology and Food Industry*. Centro Tecnológico CARTIF. Parque Tecnológico de Boecillo, Valladolid, Espanha. Scientific, Health and Social Aspects of the Food Industry, pp. 95-128, 2012.
- [2] JOSEPH, T. & MORRISON, M. — *Nanotechnology in Agriculture and Food*. A Nanoforum report, Abril 2006. Consult. 20 de Jan. 2013, disponível em <http://www.nanoforum.org>
- [3] SIMÕES, J. S. — *Utilização de Produtos Fitofarmacêuticos na Agricultura*. 1ª ed. Porto. © SPI – Sociedade Portuguesa de Inovação, 2005. ISBN 972-8589-48-4
- [4] *Manual Técnico – Segurança na Utilização de Produtos Fitofarmacêuticos*. ANIPLA/ECPA
- [5] *International Code of Conduct on the Distribution and Use of Pesticides adopted by the Hundred and Twenty-third Session of the FAO Council in November 2002*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Roma, 2003. ISBN 92-5-104914- 9.
- [6] *Twenty-third Session. Update of the International Code of Conduct on the Distribution and Use of Pesticides*. Roma, 21-25 Maio de 2012.
- [7] DUARTE, M. P. & FERNANDO, A. L. — *Uso de Pesticidas em Portugal*. Universidade Nova de Lisboa. Faculdade de Ciências e Tecnologia. Departamento de Ciências e Tecnologia da Biomassa, 2011. Consult. 22 de Jan. 2013, disponível em http://www.ipq.pt/backfiles/evento_cs04_20111012/FCT_AnaLuisaFernando.pdf
- [8] RIBEIRO, R. A. P. — *Contaminação Ambiental por Pesticidas: Análise Metodológica*. Tese de Mestrado em Engenharia Química apresentada no Instituto Superior de Engenharia do Porto em Outubro de 2010.
- [9] VILARINHO, F. — *Pesticidas*. Instituto Nacional de Saúde, 2011. Consult. 25 de Jan. 2013, disponível em <http://repositorio.insa.pt/bitstream/10400.18/772/1/Pesticidas%202011.pdf>
- [10] QUEIRÓS, M. A. & SIMÕES, S. T. S. — *Técnicas Laboratoriais de Química*. Bloco I. Porto editora, 2003.
- [11] *Pictogramas CRE*. European Chemicals Agency (ECHA). Consult. 26 de Jan. 2013, disponível em <http://echa.europa.eu/pt/chemicals-in-our-life/clp-pictograms>.
- [12] *Regulamento do parlamento europeu e do conselho relativo à classificação, rotulagem e embalagem de substâncias e misturas, que altera e revoga as diretivas 67/548/CEE e 1999/45/CE, e altera o regulamento (CE) N.º 1907/2006*. União Europeia. Parlamento Europeu, Estrasburgo 2008.

- [13] INE, I.P. — *Estatísticas do Ambiente 2011*. Lisboa – Portugal, 2012. ISBN 978-989-25-0154-3.
- [14] *Mercado Nacional de Agroquímicos Caiu 5,4% em 2012*. Comunicado de Imprensa. AgroNotícias, 15 de Fevereiro 1013. Consult. 10 de Mar. 2013, disponível em <http://www.agroportal.pt/x/agronoticias/2013/02/18.htm>
- [15] HENRIQUES, M. & OLIVEIRA, A. B. — *Guia dos Produtos Fitofarmacêuticos. Lista Dos Produtos Com Venda Autorizada*. Ministério da Agricultura, do Mar, do Ambiente e do Ordenamento do Território. Direção-Geral de Alimentação e Veterinária. Lisboa de 2012.
- [16] SUTER II, G.W. & TODD, B. — *Herbicides*. Caddis Volume 2: Sources, Stressors & Responses. EPA – United States Environmental Protection Agency. Consult. 20 de Mar. 2013, disponível em http://www.epa.gov/caddis/ssr_herb_int.html
- [17] SIGMA-ALDRICH. *Ficha de Dados de Segurança*. Material Safety Data Sheet. Consult. 25 de Mar. 2013, disponível em <http://www.sigmaaldrich.com/MSDS/MSDS/DisplayMSDSPage.do?country=PT&language=pt&productNumber=33966&brand=FLUKA&PageToGoToURL=http%3A%2F%2Fwww.sigmaaldrich.com%2Fcatalog%2Fproduct%2Ffluka%2F33966%3Fflang%3Dpt>
- [18] FROST, P. R. & HINGSTON, T. L. — *Evaluation of oxadiargyl herbicide in various Australian horticultural crops*. Fourteenth Australian Weeds Conference. New South Wales, Setembro 2004. ISBN 9780975248805
- [19] EUROPEAN COMISSION — *Oxadiargyl*. Health & Consumer Protection Directorate-General. 28 de Novembro 2002. Consult. 22 de Mar. 2013, disponível em <http://ec.europa.eu/food/plant/protection/evaluation/newactive/oxadiargyl.pdf>
- [20] AMARO, P. — *Pesticidas, saúde e ambiente e os tabus dos pesticidas em portugal*. Ver. De Ciências Agrárias [online]. Vol. 31, n.º 2, pp. 201-216, 2008. ISSN 0871-018x. Consult. 25 de Mar. 2013, disponível em <http://www.scielo.gpeari.mctes.pt/pdf/rca/v31n2/v31n2a22.pdf>
- [21] AMARO, P. — *A política de redução dos riscos dos pesticidas em Portugal*. ISA/Press, Dezembro de 2007. ISBN 978-972-8669-28-7.
- [22] OLIVEIRA, B. — *A directiva quadro do uso sustentável de produtos fitofarmacêuticos*. Direção Geral de Agricultura e Desenvolvimento Rural – Chefe de Divisão de Homologação e de Avaliação Toxicológica, Ecotoxicológica, Ambiental e da Identidade de Produtos Fitofarmacêuticos, 2010.
- [23] CAVACO, M.; LEITÃO, A. & OLIVEIRA, B. — *Implementação da “Directiva Quadro do Uso Sustentável de Pesticidas” – situação actual e perspectivas futuras*. Simpósio Anipla – “Nova legislação de produtos Fitofarmacêuticos”, 20 a 21 de Maio de 2010.
- [24] COELHO, P.; OLIVEIRA, R. & SANTOS, D. — *Ciclodextrinas: Formação de complexos e sua aplicação farmacêutica*. Revista da Faculdade de Ciências da

Saúde. Porto: Edições Universidade Fernando Pessoa. ISSN 1646-0480.6, pp. 70-83, 2009.

- [25] DEL VALLE, E. M. M. — *Cyclodextrins and their uses: a review*. Departamento de Engenharia Química, Universidade de Salamanca, Plaza de los Caidos. Process Biochemistry, 2003.
- [26] ASTRAY, G.; GONZALEZ-BARREIRO, C.; MEJUTO, J. C. & SIMAL-GÁNDARA, J. — *A review on the use of cyclodextrins in foods*. Food Hydrocolloids 23 (2009) 1631-1640.
- [27] DIAS, J. M. C. — *Promoção da solubilidade de cromonas recorrendo ao uso de ciclodextrinas*. Tese submetida à Faculdade de Ciências da Universidade do Porto para a obtenção do grau de Mestre em Química em Setembro de 2012.
- [28] GOULD, S. & SCOTT, R. C. — *2-Hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CD): A toxicology review*. Food and Chemical Toxicology 43 (2005) 1451-1459
- [29] Chemical Book. — *(2-Hydroxypropyl)- β -cyclodextrin*. Consult. 30 de Mar. 2013, disponível em http://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB6204503.htm
- [30] TEIXEIRA, A. C. L. S. *Interação de fármacos com ciclodextrinas: formação de complexos de inclusão em solução*. Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Ciclo integrado em Ciências Farmacêuticas. Porto, 2012.
- [31] SANTOS, M. A. M. D. — *Redução do impacto ambiental de poluentes orgânicos persistentes*. Dissertação de Mestrado em Engenharia Química e apresentada no Instituto Superior de Engenharia do Porto, na especialidade de Ramo Tecnologias de Protecção Ambiental em Outubro de 2010.
- [32] CONNORS, K. A. & HIGUCHI, T. — *Phase-solubility techniques*. Adva Anal Chem Instr, 4 (1965) pp. 117-212.
- [33] CHEN, A.; DONG, L. & SUN, D. — *Study on the effect of solvent on the inclusion of hydroxypropyl- β -cyclodextrin with three kinds of coumarins by phase solubility method*. Fluid Phase Equilibria 341 (2013) 42-47.
- [34] ARVAND, M.; HUSAIN, S. W.; POURHABIB, A. & SABER-TEHRANI, M. — *Enhanced Electrocatalytic Reduction of Oxadiargyl and Its Determination on 2-(4-(4-Acetylphenyl)diazanyl)phenylamino)-ethanol Modified Graphene-Paste Electrode*. Electroanalysis 24, N.º 12 (2012) 2395-2404.
- [35] FROUD-WILLIAMS, R. J. & GITSOPOULOS, T. K. — *Effects of oxadiargyl on direct-seeded rice and Echinochloa crus-galli under aerobic and anaerobic conditions*. European Weed Research Society 44 (2004) 329-334.
- [36] FAO — *International Conference on Food and Agriculture Applications of Nanotechnologies*. NANOAGRI 2010. Report of Technical Round Table Sessions. São Pedro, SP, Brasil, 20-25 de Junho de 2010.

- [37] ABBOTT, L.; GRUÈRE, G. & NARROD, C. — *Agriculture, Food, and Water Nanotechnologies for the Poor: Opportunities and Constraints*. International Food Policy Research Institute (IFPRI), Junho de 2011.
- [38] *Down on the farm. The Impact of Nano-Scale Technologies on Food and Agriculture*. Etc group. Novembro de 2004.
- [39] SZEJTLI, J. & SZENTE, L. — *Cyclodextrins as food ingredients*. Trends in Food Science & Technology 15 (2004) 137-142.
- [40] *Ethical Issues of Nanotechnologies in Agri-Food Sector*. Commission de l'éthique en science et en technologie. Québec, 2011. ISBN: 978-2-550-66311-9.
- [41] MORRISON, M. & ROBINSON, D. K. R. — *Nanotechnology Developments for the Agrifood Sector - Report of the ObservatoryNano*. Maio de 2009. Consult. 10 Abr. 2013, disponível em <http://www.observatorynano.eu>.
- [42] MOUSAVI, S. R. & REZAEI, M. — *Nanotechnology in Agriculture and Food Production*. J. Appl. Environ. Biol. Sci., 1, n.º 10 (2011) 414-419. ISSN: 2090-4215.
- [43] INGLE, A. & RAI, M. — *Role of nanotechnology in agriculture with special reference to management of insect pests*. Appl Microbiol Biotechnol, 94 (2012) 287-293.
- [44] CORTES/LOBOS, R. — *Can Agri-food Nanotechnology contribute to achieve the Millennium Development Goals in Developing Countries?*. Technology Policy Assessment Center TPAC, 30 Abril de 2011.
- [45] ABBOTT, L.; GRUÈRE, G. & NARROD, C. — *Agriculture, Food, and Water Nanotechnologies for the Poor: Opportunities, Constraints, and Role of the Consultative Group on International Agricultural Research*. International Food Policy Research Institute (IFPRI), Fevereiro de 2011.

Anexo A. Resultados das amostras analisadas por UV/Vis

Neste anexo são mostradas as restantes figuras dos espectros dos ensaios de solubilidade realizados para as diversas soluções (água desionizada, solução-tampão pH = 3,46, solução-tampão pH = 5,34 e solução-tampão pH = 7,45).

Espectros dos ensaios de solubilidade em água desionizada

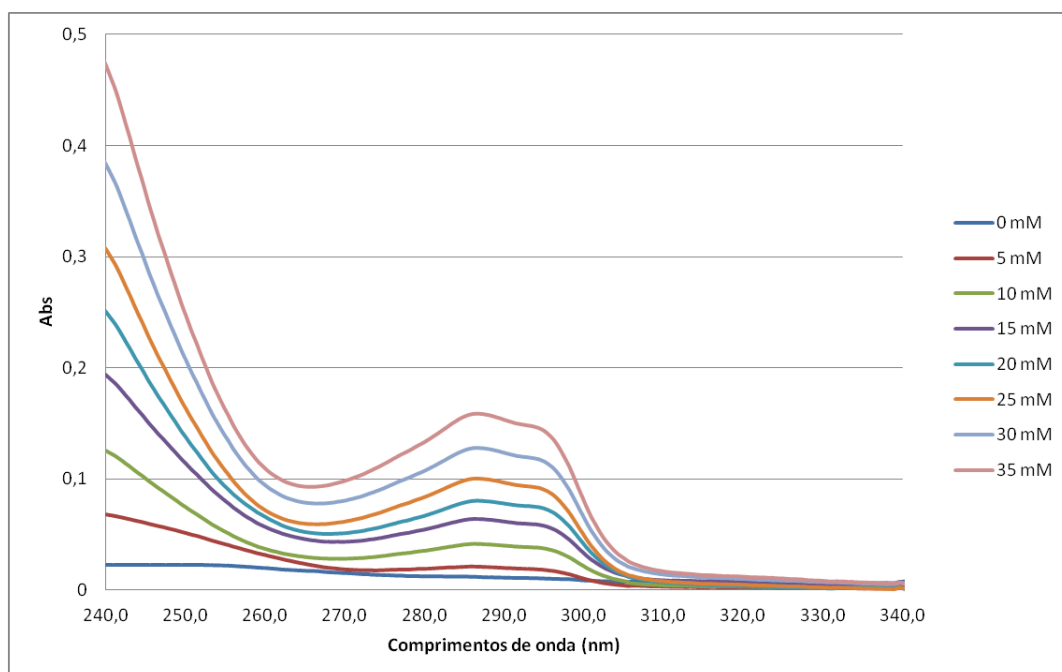


Figura 28 –Espectros dos ensaios de solubilidade em água desionizada

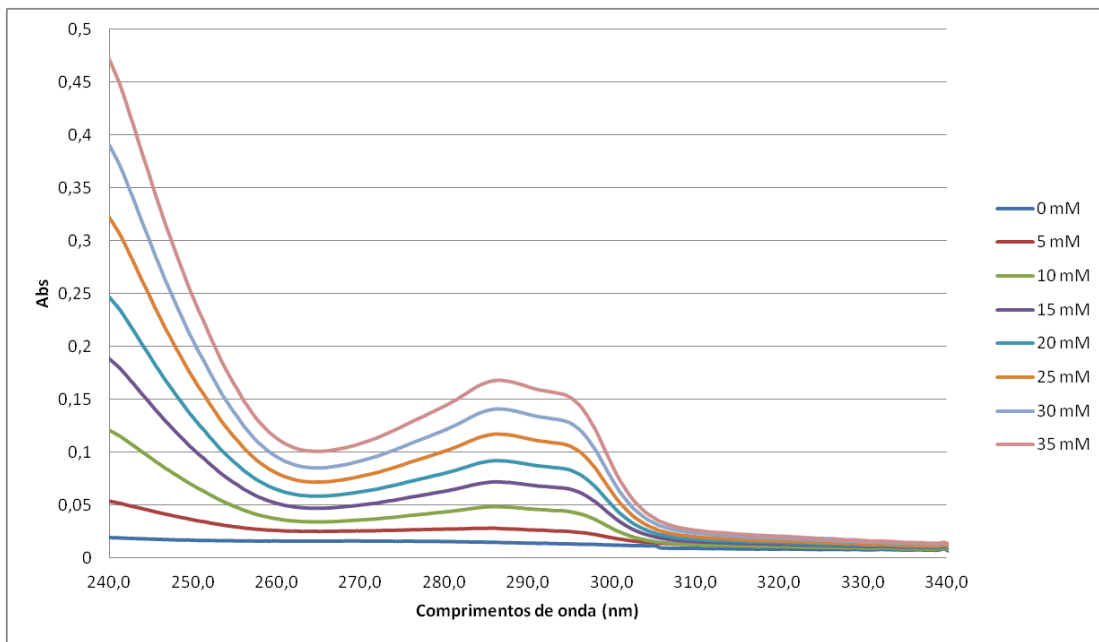


Figura 29 –Espetros dos ensaios de solubilidade em água desionizada

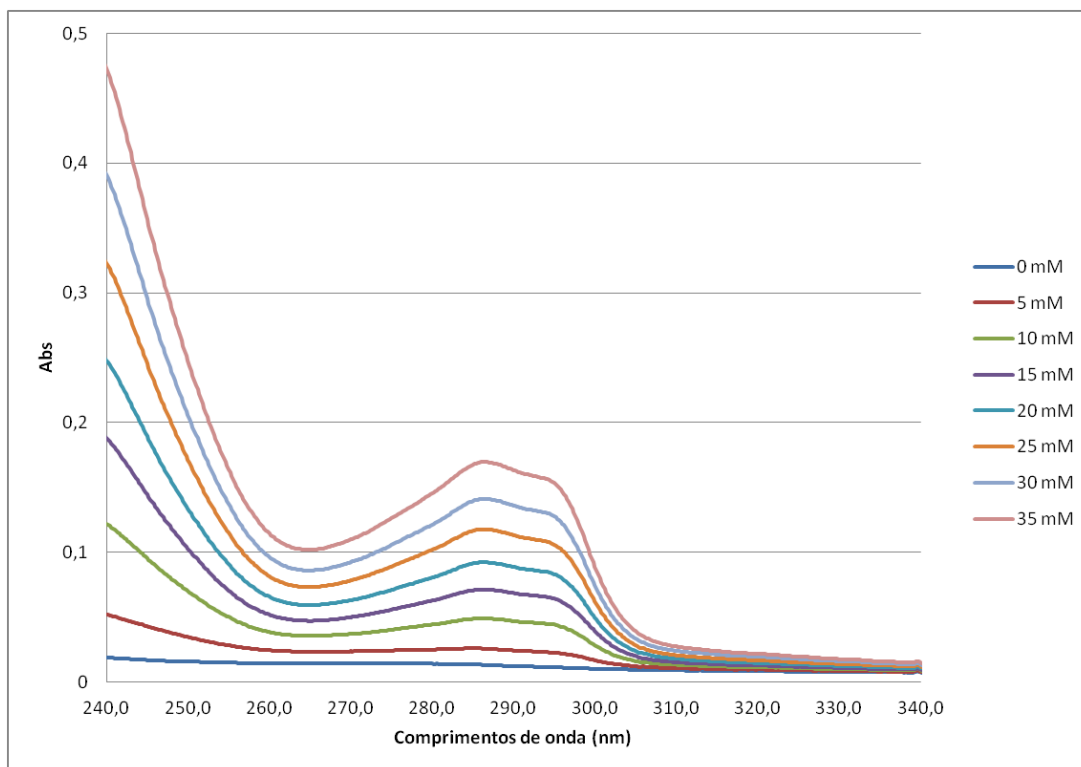


Figura 30 –Espetros dos ensaios de solubilidade em água desionizada

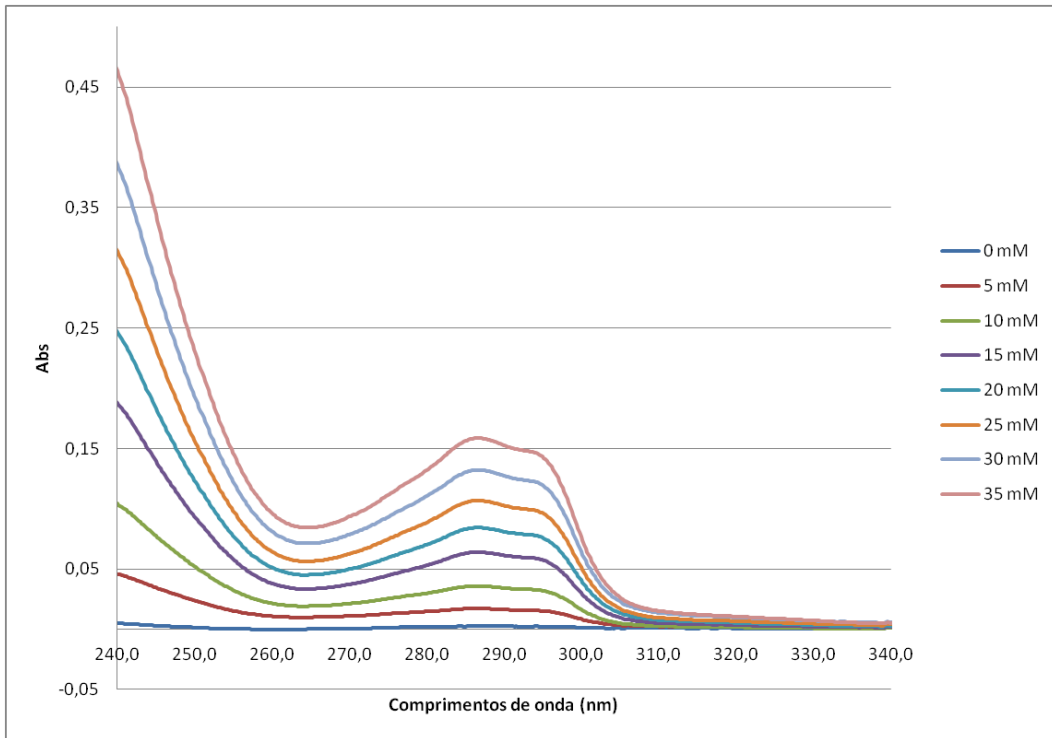


Figura 31 –Espetros dos ensaios de solubilidade em a água desionizada

Espetros dos ensaios de solubilidade em tampão acetato pH = 3,46

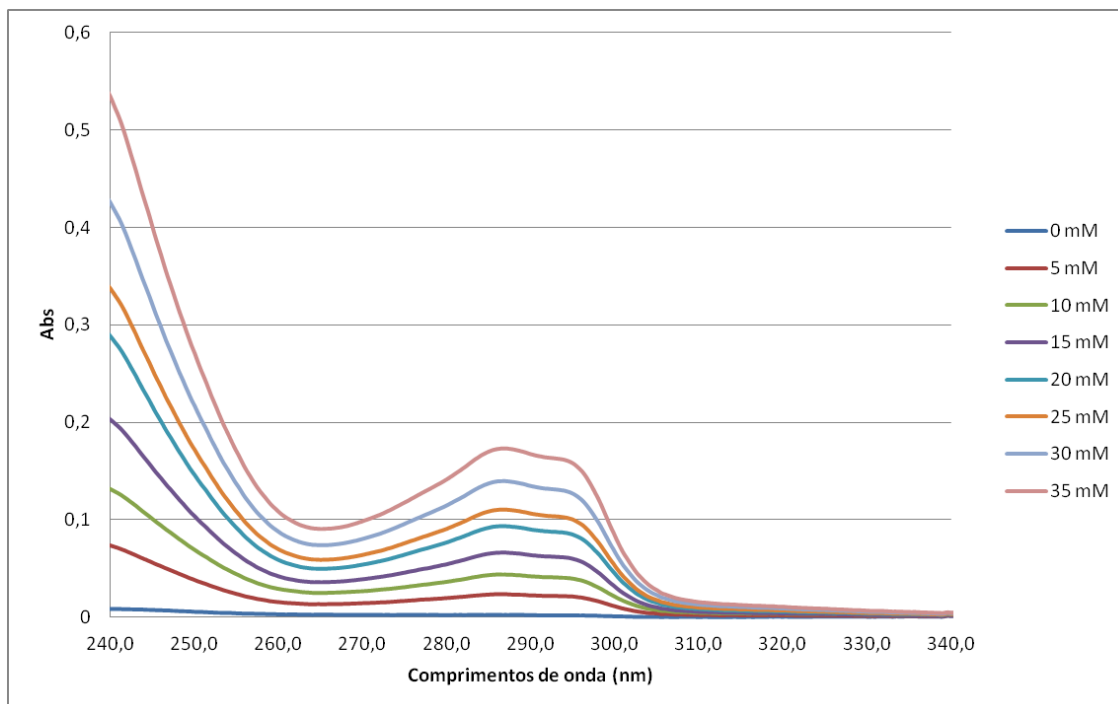


Figura 32 – Espetros dos ensaios de solubilidade para uma solução-tampão pH = 3,46

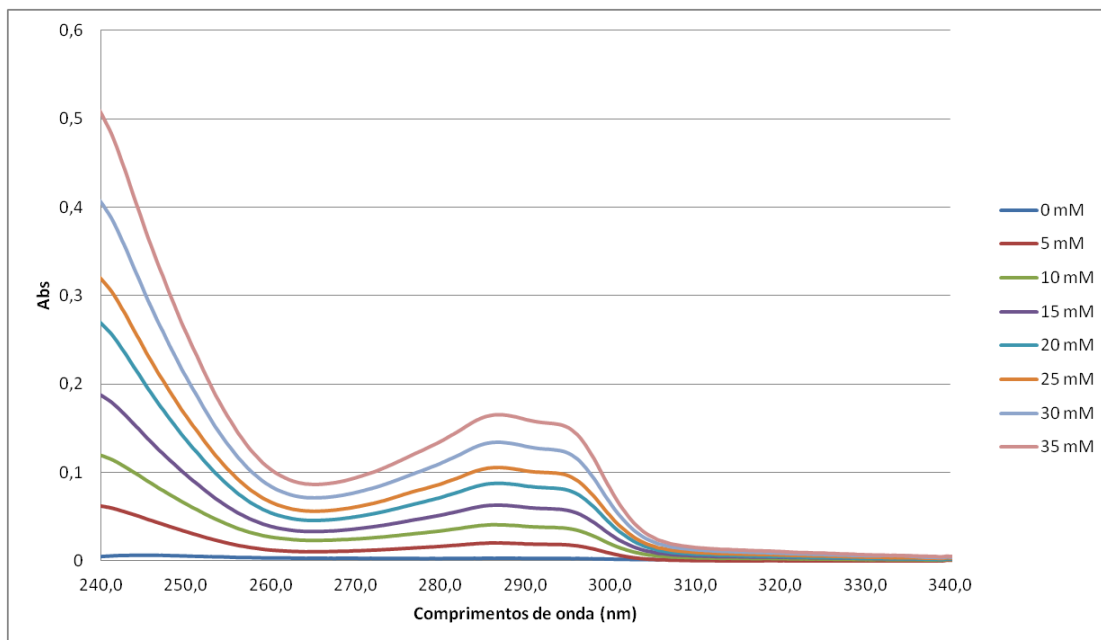


Figura 33 – Espetros dos ensaios de solubilidade para uma solução-tampão pH = 3,46

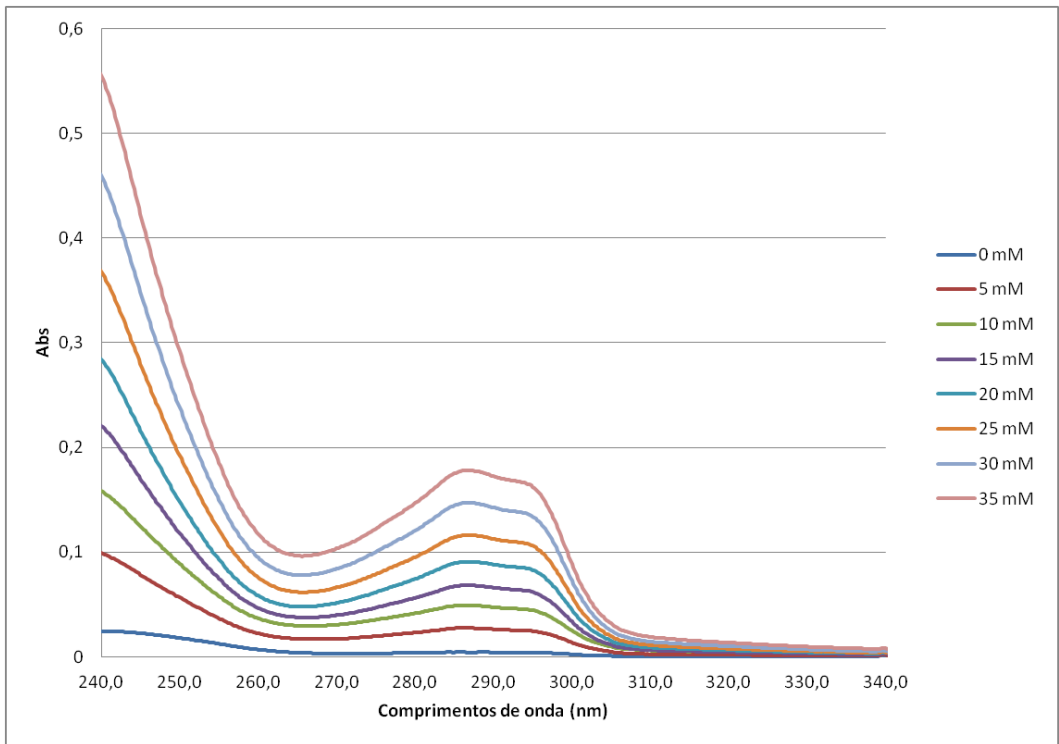


Figura 34 –Espectros dos ensaios de solubilidade para uma solução-tampão pH = 3,46

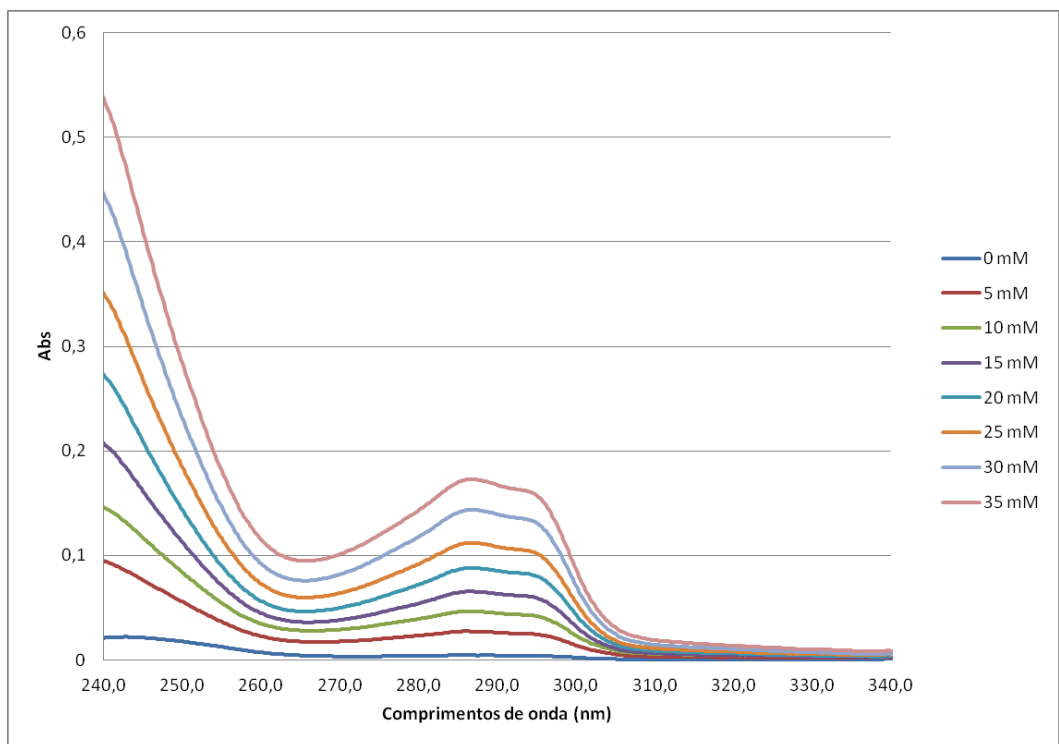


Figura 35 –Espectros dos ensaios de solubilidade para uma solução-tampão pH = 3,46

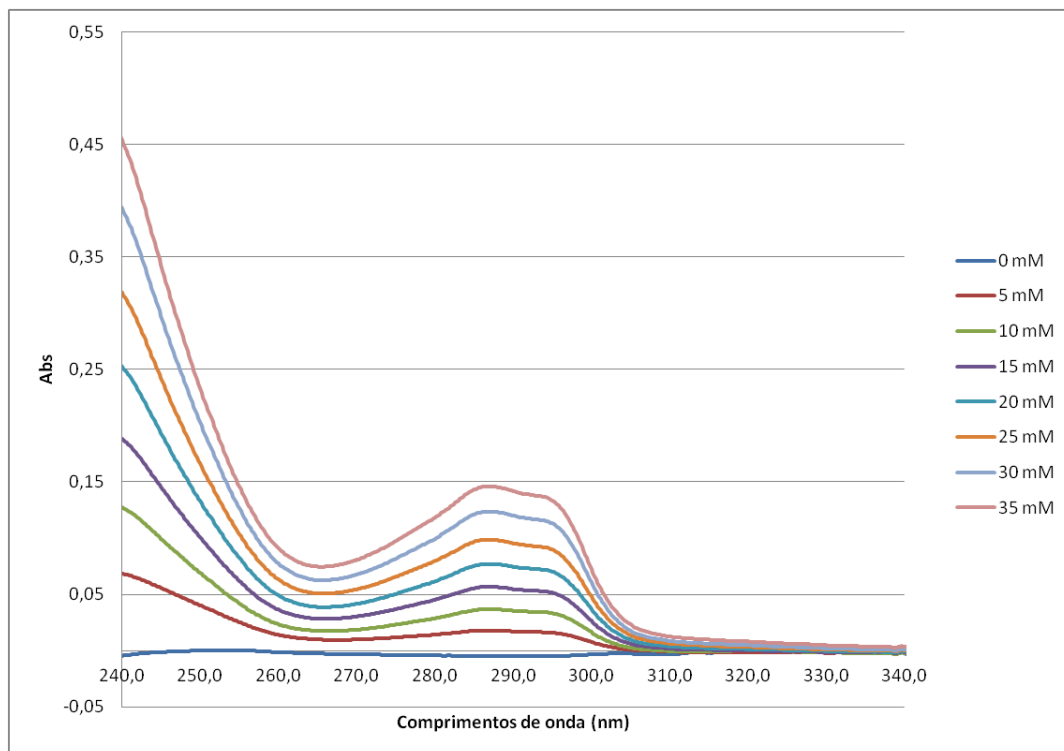


Figura 36 –Espetros dos ensaios de solubilidade para uma solução-tampão pH = 3,46

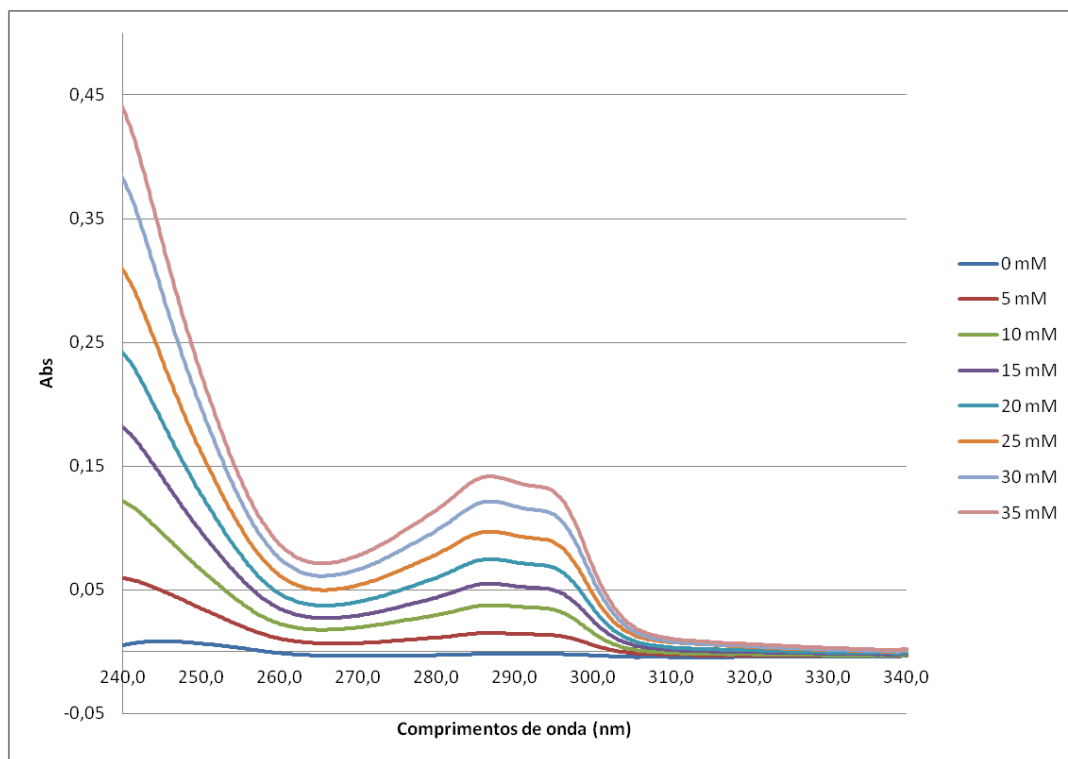


Figura 37 –Espetros dos ensaios de solubilidade para uma solução-tampão pH = 3,46

Epetros dos ensaios de solubilidade em tampão acetato pH = 5,34

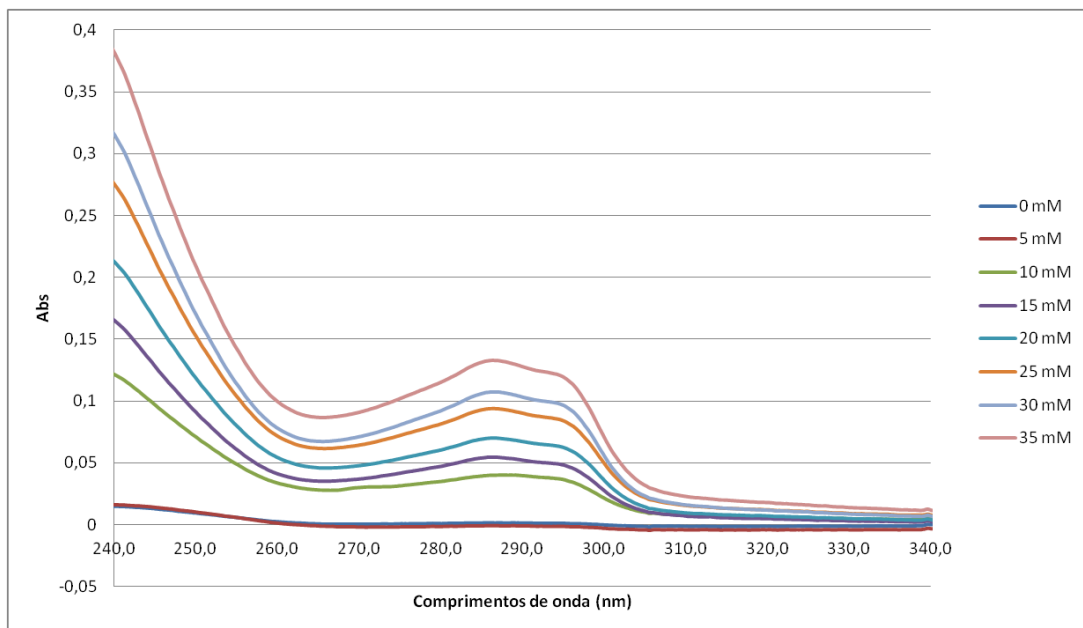


Figura 38 – Espectros dos ensaios de solubilidade para uma solução-tampão pH = 5,34

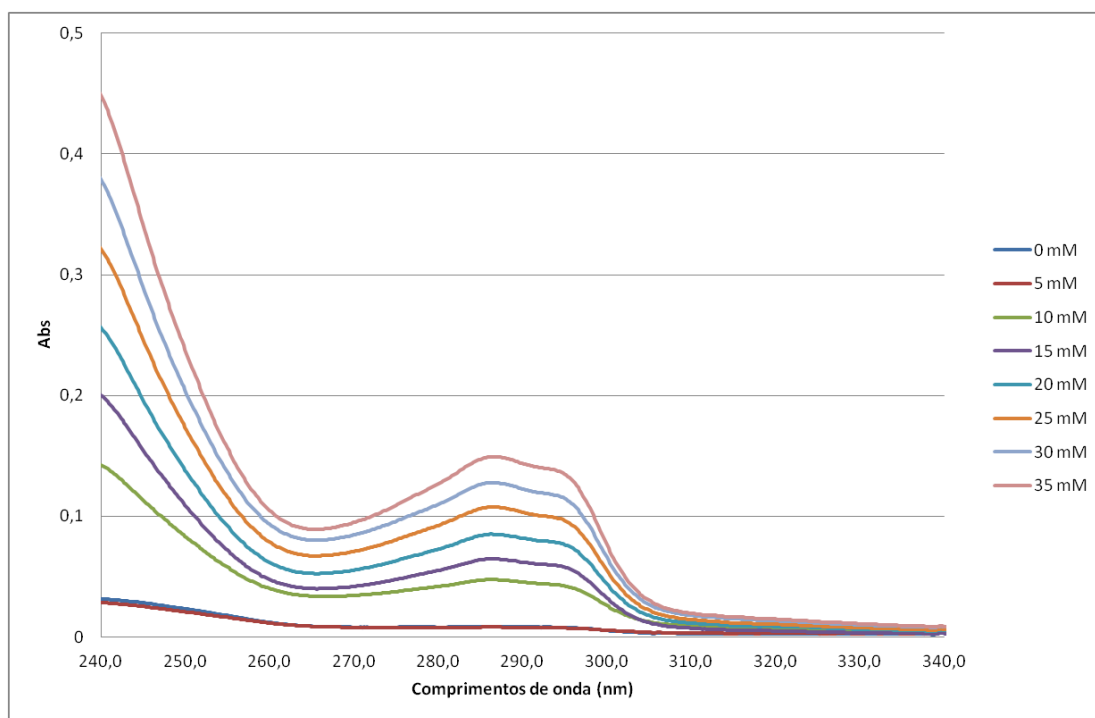


Figura 39 – Espectros dos ensaios de solubilidade para uma solução-tampão pH = 5,34

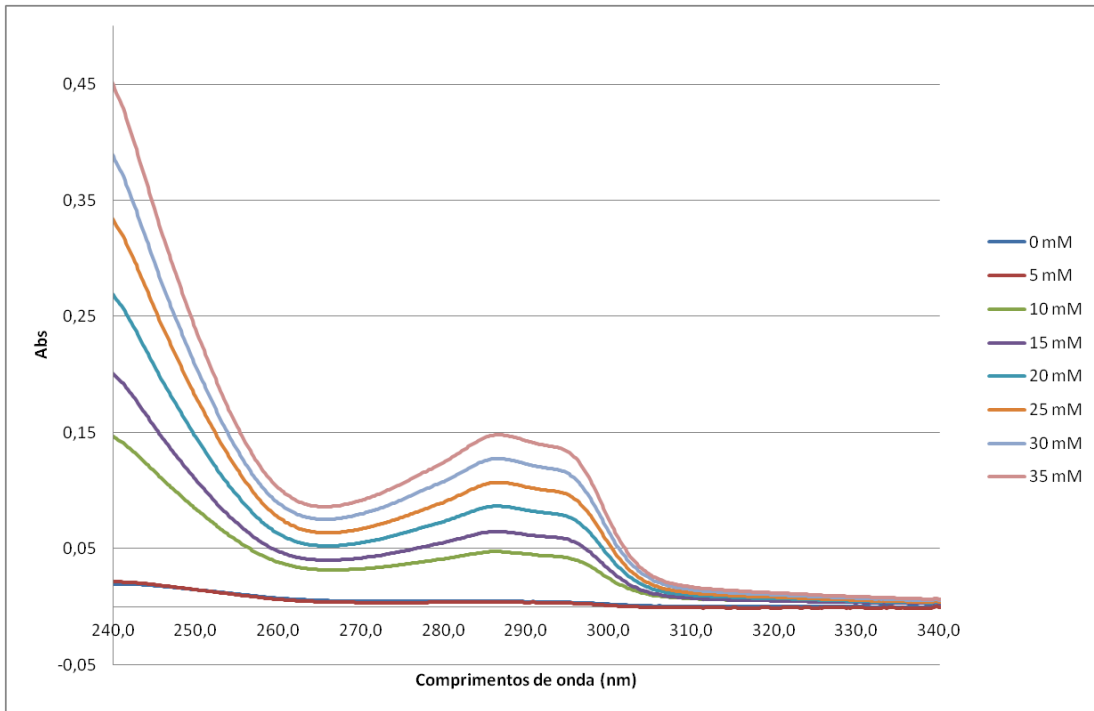


Figura 40 –Espetros dos ensaios de solubilidade para uma solução-tampão pH = 5,34

Espetros dos ensaios de solubilidade em tampão fosfato pH = 7,45

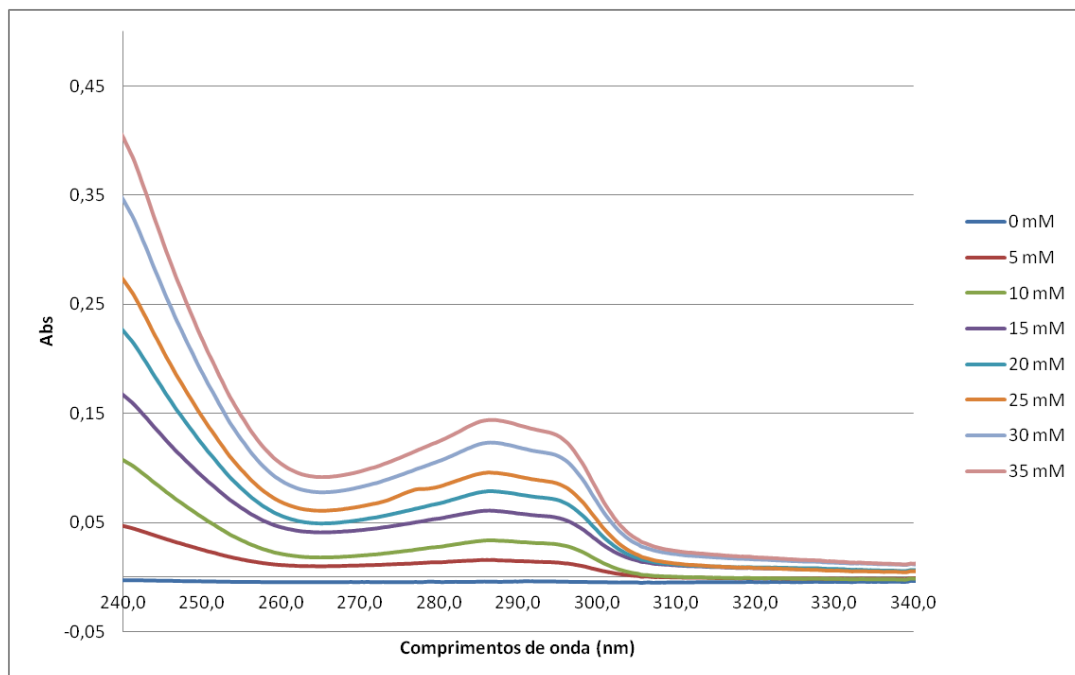


Figura 41 – Espetros dos ensaios de solubilidade para uma solução-tampão pH = 7,45

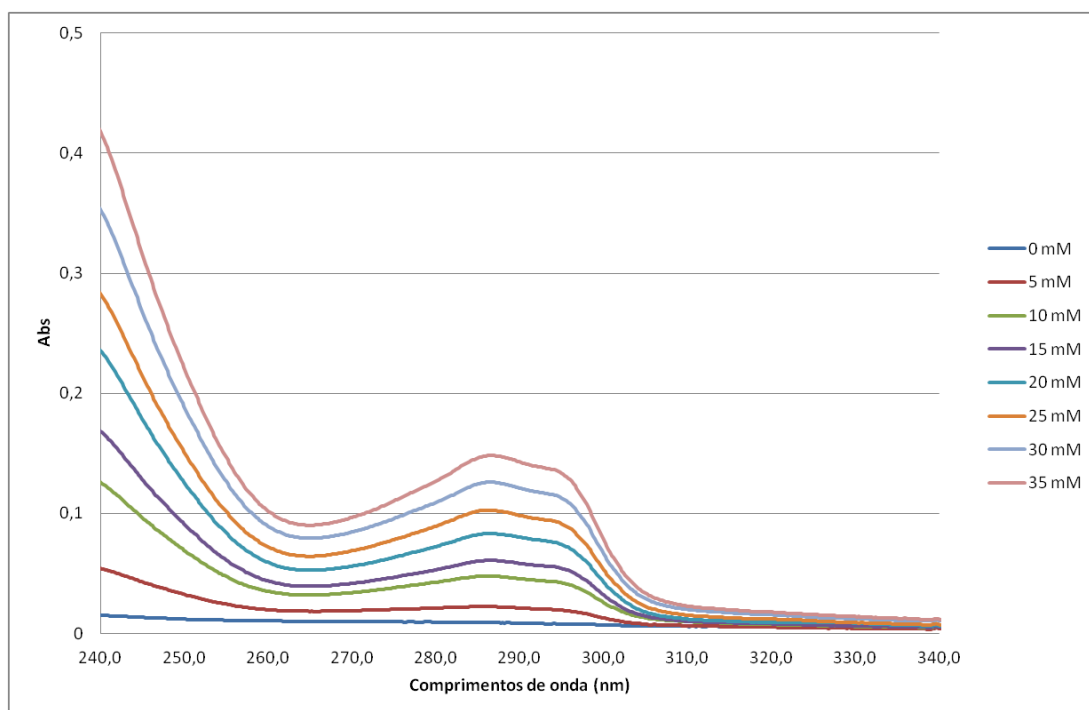


Figura 42 – Espetros dos ensaios de solubilidade para uma solução-tampão pH = 7,45