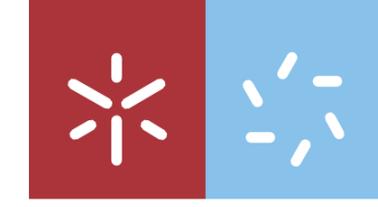


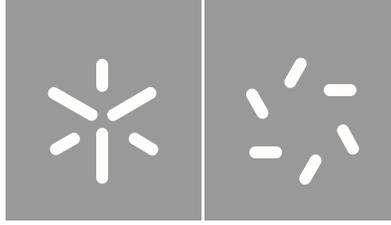


Diana Sofia Conde Pinto

Universidade do Minho
Escola de Ciências

Desenvolvimento de metodologias para caracterização de aditivos e materiais funcionalizados para libertação de agentes ativos





Universidade do Minho

Escola de Ciências

Diana Sofia Conde Pinto

**Desenvolvimento de metodologias para
caracterização de aditivos e materiais
funcionalizados para libertação de
agentes ativos**

Dissertação de Mestrado

Técnicas de Caracterização e Análise Química

Trabalho efetuado sob a orientação de

Doutora Sandra Maria Pinto Cerqueira

Mestre Regina Malgueiro

outubro de 2023

Despacho RT - 31 /2019 - Anexo 3

DIREITOS DE AUTOR E CONDIÇÕES DE UTILIZAÇÃO DO TRABALHO POR TERCEIROS

Este é um trabalho académico que pode ser utilizado por terceiros desde que respeitadas as regras e boas práticas internacionalmente aceites, no que concerne aos direitos de autor e direitos conexos.

Assim, o presente trabalho pode ser utilizado nos termos previstos na licença abaixo indicada.

Caso o utilizador necessite de permissão para poder fazer um uso do trabalho em condições não previstas no licenciamento indicado, deverá contactar o autor, através do RepositóriUM da Universidade do Minho.

Licença concedida aos utilizadores deste trabalho



Atribuição-NãoComercial-SemDerivações

CC BY-NC-ND

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

Agradecimentos

É com um carinho e um orgulho gigantes que agradeço a todas as pessoas que tornaram possível a conclusão de mais uma etapa da minha formação académica e da minha vida.

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer à orientadora da Universidade do Minho, a Doutora Sandra Maria Pinto Cerqueira por ter aceitado prontamente o meu pedido de orientação e por toda a ajuda e disponibilidade demonstrada ao longo deste percurso.

Gostaria de agradecer às minhas orientadoras no Instituto de I&D CeNTI, Regina Malgueiro, Sara Fernandes e Joana Araújo, por toda a simpatia, sugestões, exigência, partilha de conhecimentos e auxílio durante os últimos nove meses. Não podia deixar de agradecer ao Instituto de I&D CeNTI pela oportunidade e pela disponibilização em receber-me e facultar-me a realização do desenvolvimento de tema de dissertação nas suas instalações. Queria deixar um agradecimento a toda a equipa de Functional Materials do CeNTI, por me terem acolhido de forma tão calorosa e por me terem feito sentir parte da família. Um obrigado aos meus colegas de laboratório, em especial ao Sérgio Moreira, que se demonstraram sempre disponíveis para esclarecer as minhas dúvidas e auxiliar em todos os momentos precisos, sempre com uma paciência inesgotável.

Um agradecimento à Instituição Universidade do Minho, e a todos os professores da Escola de Ciências que me acompanharam, por me terem facultado todas as ferramentas e conhecimentos que me possibilitaram crescer a nível académico e profissional. Gostaria de agradecer à Doutora Maria Conceição Paiva e ao Engenheiro Maurício Malheiro por terem viabilizado a realização das análises termogravimétricas no Departamento de Engenharia de Polímeros da Universidade do Minho. É para mim um orgulho ter pertencido à Academia Minhota.

Ao meu querido mais querido, João, um obrigado do fundo do coração pelo apoio e paciência, por todos os conselhos e incentivos e por me animar em todos os momentos incondicionalmente. Um agradecimento muito especial, aos meus pais Paulo Pinto e Laura Santos e à minha irmã Inês Pinto, por sempre terem acreditado em mim, por apoiarem todas as minhas decisões e por todos os dias se mostrarem orgulhosos do meu percurso e da pessoa que eu sou.

O conjunto das pessoas mencionadas, tornaram a realização deste trabalho não só possível como mais prazeroso. E, contrariamente ao que se diz, a escrita da tese não tem de ser um processo aborrecido ou angustiante. Quando se está rodeado das pessoas certas, torna-se possível fazê-lo de forma leve e aprazível. Eu assumo ter sido muito feliz em todos os processos que levaram à conclusão desta dissertação. Um agradecimento final a todos por me tornarem uma pessoa melhor.

Declaração de integridade

Declaro ter atuado com integridade na elaboração do presente trabalho académico e confirmo que não recorri à prática de plágio nem a qualquer forma de utilização indevida ou falsificação de informações ou resultados em nenhuma das etapas conducente à sua elaboração.

Mais declaro que conheço e que respeitei o Código de Conduta Ética da Universidade do Minho.

Desenvolvimento de metodologias para caracterização de aditivos e materiais funcionalizados para liberação de agentes ativos

Resumo

Atualmente, o desenvolvimento de novos materiais com funcionalidades acrescidas tem sido um dos focos da investigação científica. A encapsulação surge como estratégia tecnológica promissora na possibilidade de incorporação e liberação controlada de substâncias ativas em novos materiais, tendo em vista a aplicabilidade em áreas como a indústria farmacêutica, têxtil, alimentar, cosmética, biomédica, entre outras. A integração destas substâncias ativas em diferentes substratos leva à criação de produtos inovadores com funcionalidades acrescidas e com capacidade de resposta às necessidades do mercado.

O objetivo da dissertação consistiu no desenvolvimento de sistemas encapsulados de base biológica e de novas metodologias de análise e caracterização do *loading* dos agentes ativos, bem como do seu perfil de liberação, quando presentes na forma de pó ou incorporados em substratos têxteis funcionalizados. Inicialmente, estudou-se a possibilidade de encapsulação do óleo essencial de eucalipto e de vitamina E, em sistemas biológicos de etilcelulose, ácido mirístico, ácido polilático e quitosano, através das técnicas de emulsão seguida de evaporação de solvente, coacervação e gelificação iônica. A evaporação de solvente revelou-se o melhor método de encapsulação face aos restantes, tendo sido obtidas partículas bem definidas através desta metodologia. As partículas de etilcelulose revelaram-se as mais promissoras, com uma dimensão compreendida entre os 0,2 e 2,7 μm , uma eficiência de encapsulação entre os 19,1 e 74,1% e com um *loading* máximo de 40,4%. As partículas de base celulósica com maior capacidade de liberação de agente ativo foram as de óleo essencial de eucalipto, tendo sido conseguida a liberação de 18,5%. Relativamente à liberação controlada por resposta ao estímulo de pH das partículas de quitosano, verificou-se uma maior capacidade de liberação de vitamina E em meio ácido (pH 3,0), face ao meio neutro (pH 7,4), tendo sido alcançada uma liberação máxima de 9,4 e 93,3%, respetivamente. As partículas de etilcelulose e óleo essencial de eucalipto foram aplicadas por *spray coating* com um *wet pickup* de 40 e 90% em substratos têxteis de algodão, para estudar a liberação do agente ativo, tendo sido verificada em ambos os casos, a capacidade de liberação do óleo essencial do sistema encapsulado integrado no têxtil. Assim, foi demonstrado que a incorporação de partículas de etilcelulose com óleo essencial de eucalipto é promissora para aplicações a nível têxtil.

Palavras-chave: encapsulação, funcionalização, liberação controlada, óleos essenciais.

Development of methodologies for characterizing additives and functionalized materials for releasing active agents

Abstract

The development of new materials with increased functionality has been, currently, the focus of scientific research. Encapsulation emerges as a promising technique in the possibility of incorporation and controlled release of active substances in new materials, in view of the possible applicability in areas such as the pharmaceutical, textile, food, cosmetics, biomedical industry, among others. The integration of these active substances in different substrates leads to the creation of innovative products with added functionality and responsiveness to market needs.

The objective of this dissertation consisted in the development of biologically-based encapsulated systems and new methodologies for analyzing and characterizing the loading of active agents, as well as their release profile, when present in powdered form or incorporated into functionalized textile substrates. Initially, it was studied the possibility of encapsulating eucalyptus essential oil and vitamin E in biological systems of ethylcellulose, myristic acid, polylactic acid and chitosan, using emulsion solvent evaporation, coacervation and ionic gelation techniques. Solvent evaporation proved to be the best encapsulation method compared to the others, with well-defined particles having been obtained by this methodology. Cellulose-based matrix particles proved to be the most promising, with a size between 0.2 and 2.7 μm and an encapsulation efficiency between 19.11 and 74.08% and with a maximum loading of 40.36%. The cellulose-based particles with the greatest capacity for releasing the active agent were those of eucalyptus essential oil, with a release of 18.5%. Regarding the controlled release in response to the pH stimulus of the chitosan particles, there was a greater ability to release vitamin E in an acid medium (pH 3.0), compared to a neutral pH medium (pH 7.4), achieving a maximum release of 9.4 and 93.3%, respectively. The ethylcellulose and eucalyptus essential oil particles were applied by spray coating with a wet pickup of 40 and 90% onto cotton textile substrates, to study the release of the active agent, and in both cases, the release capacity of the essential oil from the encapsulated system integrated into the textile was verified. Therefore, it was demonstrated that the incorporation of ethylcellulose particles with eucalyptus essential oil is promising for textile applications.

Keywords: controlled release, encapsulation, essential oils, functionalization.

Índice

Agradecimentos	iii
Declaração de integridade	iv
Resumo	v
Abstract	vi
Lista de abreviaturas, símbolos e acrónimos.....	x
Lista de figuras	xi
Lista de tabelas.....	xvi
1. Enquadramento	1
2. Objetivo	5
3. Introdução	6
3.1. Encapsulação.....	6
3.2. Agentes ativos	7
3.2.1. Óleo essencial de eucalipto.....	8
3.2.2. Vitamina E.....	8
3.3. Sistemas biológicos de encapsulação	9
3.3.1. Quitosano.....	9
3.3.2. Celulose e derivados.....	11
3.3.3. Ácido polilático	12
3.3.4. Ácidos gordos.....	14
3.4. Métodos de encapsulação	15
3.4.1. Emulsificação seguida de evaporação de solvente	15
3.4.2. Coacervação.....	18
3.4.3. Gelificação iónica.....	20
3.4.4. Liofilização	21
3.5. Mecanismos de libertação	22
3.5.1. Difusão.....	22
3.5.2. Erosão.....	23
3.5.3. Degradação.....	23
3.5.4. Expansão ou Intumescimento	23
3.6. Libertação controlada por estímulos externos.....	24
3.7. Metodologias para determinação da eficiência de encapsulação e <i>loading</i>	25
3.7.1. Métodos de extração do agente ativo.....	25
3.7.1.1. Destilação.....	25
3.7.1.2. Sonicação.....	26

3.7.1.3.	Soxhlet	26
3.7.2.	Determinação do teor de compostos fenólicos.....	27
3.7.3.	Determinação da atividade antioxidante	28
3.7.3.1.	Análise com 2,2-difenil-1-picrilhydrazil	28
3.7.3.2.	Análise com Ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)	29
3.7.3.3.	Análise do poder antioxidante de redução férrica	30
3.8.	Funcionalização de têxteis	31
4.	Técnicas de caracterização.....	33
4.1.	Microscopia ótica	33
4.2.	Microscopia eletrônica de varrimento	33
4.3.	Dispersão dinâmica de luz.....	34
4.4.	Análise termogravimétrica	34
4.5.	Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier – refletância total atenuada.....	35
4.6.	Espectroscopia de ultravioleta-visível	35
5.	Materiais e Métodos	37
5.1.	Materiais	37
5.2.	Síntese das partículas pelos diferentes métodos de encapsulação	37
5.2.1.	Síntese pelo método de evaporação de solvente	37
5.2.1.1.	Estudo do impacto das condições experimentais de síntese pelo método de evaporação de solvente no tamanho das partículas	38
5.2.2.	Síntese pelo método de coacervação	38
5.2.3.	Síntese pelo método de gelificação iônica.....	39
5.3.	Técnicas de caracterização dos materiais	40
5.3.1.	Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier – refletância total atenuada.	40
5.3.2.	Microscopia ótica.....	40
5.3.3.	Microscopia eletrônica de varrimento	40
5.3.4.	Dispersão dinâmica de luz	41
5.3.5.	Análise termogravimétrica.....	41
5.3.6.	Espectroscopia de ultravioleta-visível	41
5.3.6.1.	Determinação do <i>loading</i> e da eficiência de encapsulação	42
5.3.6.2.	Ensaio de liberação de agentes ativos.....	43
5.4.	Funcionalização de têxteis	43
6.	Resultados e discussão	45
6.1.	Caracterização Morfológica	45
6.1.1.	Partículas de etilcelulose.....	45
6.1.2.	Partículas de ácido mirístico	50
6.1.3.	Partículas de PLA	51

6.1.4.	Partículas de quitosano.....	53
6.2.	Caracterização Química.....	55
6.2.1.	Surfactantes.....	55
6.2.2.	Agentes ativos.....	57
6.2.3.	Partículas de etilcelulose.....	59
6.2.4.	Partículas de PLA.....	64
6.2.5.	Partículas de quitosano.....	66
6.3.	Caracterização Térmica.....	68
6.3.1.	Agentes ativos.....	68
6.3.2.	Partículas de etilcelulose.....	70
6.3.3.	Partículas de PLA.....	74
6.3.4.	Partículas de quitosano.....	76
6.4.	Determinação do <i>loading</i> e da eficiência de encapsulação.....	79
6.5.	Determinação da liberação dos agentes ativos das partículas.....	83
6.6.	Funcionalização têxtil.....	89
6.7.	Determinação da liberação dos agentes ativos dos têxteis funcionalizados.....	91
7.	Conclusão.....	96
7.1.	Sugestões para trabalhos futuros.....	98
	Referências.....	99
	Anexos.....	107
	Anexo I – Imagens capturadas por OM.....	107
	Anexo II – Curvas de calibração.....	110
	Anexo III – Estudos de liberação dos agentes ativos.....	114
	Anexo IV – Cálculos de incertezas.....	117

Lista de abreviaturas, símbolos e acrônimos

ABTS – 2,2'-azino-bis(ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)

DLS – Dispersão dinâmica de luz (do inglês *dynamic light scattering*)

DPPH – 2,2-difenil-1-picrilhidrazil

DTG – Termogravimetria diferencial

EE – Eficiência de encapsulação

Fe(II)-TPTZ – Complexo tripiridiltiazina ferrosa

Fe(III)-TPTZ – Complexo de tripiridiltiazina férrica

FRAP – Poder antioxidante de redução férrica

FTIR-ATR – Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier – refletância total atenuada (do inglês *Fourier transform infrared spectroscopy - attenuated total reflectance*)

HLB – Equilíbrio hidrofílico-lipofílico

LDD – Limite de detecção

LDQ – Limite de quantificação

OE – Óleo essencial

OM – Microscopia ótica (do inglês *optical microscopy*)

O/W – Óleo-em-água

O/W/O – Óleo-em-água-em-óleo

PBS – Tampão fosfato salino

PDI – Índice de polidispersão (do inglês *polydispersity Index*)

PEG – Polietilenoglicol

PEG 4000 – Polietilenoglicol 4000

PHB – Poli(hidroxibutirato)

PLA – Ácido polilático

PVA – Álcool polivinílico

SDS – Dodecil sulfato de sódio

SEM – Microscopia eletrônica de varrimento (do inglês *scanning electron microscopy*)

TGA – Análise termogravimétrica (do inglês *thermogravimetric analysis*)

TPP – Tripolifosfato

UV – Ultravioleta

UV-Vis – Ultravioleta visível

W/O – Água-em-óleo

W/O/W – Água-em-óleo-em-água

Lista de figuras

Figura 1 – Previsão de expansão do tamanho do mercado de microencapsulação até ao ano de 2030, adaptado da referência [3].	2
Figura 2 – Distribuição da incidência da estratégia tecnológica de encapsulação nos produtos do mercado no ano de 2021, adaptado da referência [3].	3
Figura 3 – Representação esquemática de morfologias de cápsulas: a) mononuclear, b) polinuclear, c) <i>multi-shell</i> e d) matriz, adaptada da referência [14].	6
Figura 4 – Estrutura química do principal composto do óleo essencial de eucalipto, o eucaliptol (1,8-cineol), adaptado da referência [22].	8
Figura 5 – Estrutura química dos tocoferóis e tocotrienóis do grupo da vitamina E, adaptado da referência [26].	9
Figura 6 – Estrutura química do quitosano, em que n representa o número de repetições da unidade estrutural delimitada entre parêntesis retos, adaptado da referência [29].	9
Figura 7 – Estrutura química da celulose, em que n representa o número de repetições da unidade estrutural, delimitada pelos parêntesis retos, adaptado da referência [40].	11
Figura 8 – Estrutura química do PLA, em que n representa o número de repetições da unidade estrutural, delimitada pelos parêntesis retos, adaptado da referência [50].	13
Figura 9 – Estrutura química do ácido mirístico, adaptado da referência [56].	14
Figura 10 – Representação esquemática de encapsulação pelo método de evaporação de solvente, através de emulsão simples (O/W): (1) dissolução do agente ativo num solvente orgânico contendo o polímero previamente dissolvido; (2) emulsão da fase orgânica, designada fase dispersa, numa fase aquosa, designada fase contínua; (3) evaporação do solvente e transformação das gotículas da fase dispersa em partículas sólidas; (4) recuperação e secagem das partículas, adaptada da referência [59].	15
Figura 11 – Tipos de emulsões presentes num sistema composto por óleo e água: a) emulsão simples óleo-em-água (O/W), b) emulsão simples água-em-óleo (W/O), c) emulsão múltipla (W/O/W) e d) emulsão múltipla (O/W/O), adaptada da referência [60].	16
Figura 12 – Representação esquemática da interação entre o sistema de surfactante e co-surfactante (SDS/PEG), adaptado da referência [67].	18
Figura 13 – Representação esquemática de encapsulação pelo método de coacervação simples, adaptado da referência [69].	19
Figura 14 – Representação esquemática de encapsulação pelo método de coacervação complexa, adaptado da referência [31].	20
Figura 15 – Representação esquemática de encapsulação pelo método de gelificação iónica, adaptado da referência [15].	21
Figura 16 – Representação esquemática de encapsulação pelo método de liofilização, adaptado da referência [76].	21
Figura 17 – Representação esquemática dos mecanismos de libertação de agentes encapsulados, adaptado da referência [11].	22
Figura 18 – Representação esquemática do extrator Clevenger, adaptado da referência [85].	26
Figura 19 – Representação esquemática do extrator Soxhlet, adaptado da referência [88].	27
Figura 20 – Representação esquemática da reação entre os compostos fenólicos e os derivados dos ácidos fosfotúngstico e fosfomolibdico em meio alcalino (a); Variação de cor observada no método de Folin-Ciocalteu (b), adaptado da referência [92].	28

Figura 21 – Representação esquemática da reação entre um antioxidante e o DPPH (a) e da variação de cor observada no método de DPPH (b), adaptado da referência [92].	29
Figura 22 – Representação esquemática da reação envolvida no método de ABTS com a síntese do cátion radical ABTS ^{•+} e reação entre este e um antioxidante (a) e da variação de coloração no método de ABTS (b), adaptado da referência [92].	30
Figura 23 – Representação esquemática da reação entre um antioxidante e o complexo (Fe(III)-TPTZ) (a) e da variação de cor observada no método de FRAP (b), adaptado da referência [92].	30
Figura 24 – Representação esquemática de funcionalização de têxteis pela técnica de pulverização, adaptado da referência [100].	31
Figura 25 – Imagens capturadas por SEM das partículas de etilcelulose e vitamina E, com SDS/PEG como conjunto de surfactantes, sintetizados por a) método de evaporação de solvente e b) método de coacervação e das partículas de etilcelulose e OE de eucalipto, com SDS/PEG como conjunto de surfactantes, sintetizados por c) método de evaporação de solvente e d) método de coacervação.	46
Figura 26 – Imagens capturadas por SEM das partículas de etilcelulose e vitamina E, com SDS/PEG 4000, sintetizados por a) método de evaporação de solvente e b) método de coacervação, com as respectivas dimensões e das partículas de etilcelulose e OE de eucalipto, com SDS/PEG, sintetizados por c) método de evaporação de solvente e d) método de coacervação, com as respectivas dimensões.	47
Figura 27 – Representação esquemática da dimensão média das partículas de etilcelulose, com ambos os agentes ativos e surfactantes, sintetizadas pelo método de evaporação de solvente, atendendo aos resultados obtidos pelas imagens de OM.	48
Figura 28 – Imagens capturas por SEM das partículas de etilcelulose sintetizadas pelo método de evaporação de solvente: a) etilcelulose + SDS/PEG 4000 + vitamina E, b) etilcelulose + SDS/PEG 4000 + OE de eucalipto, c) etilcelulose + tween 80 + vitamina E e d) etilcelulose + tween 80 + OE de eucalipto, com as respectivas dimensões.	49
Figura 29 – Imagens capturadas por OM das partículas de ácido mirístico com vitamina E, sintetizadas por a) método de evaporação de solvente e b) método de coacervação.	51
Figura 30 – Imagens capturadas por OM das partículas de PLA com vitamina E, sintetizadas por a) método de evaporação de solvente e b) método de coacervação.	51
Figura 31 – Imagens capturadas por SEM das partículas de PLA com a) vitamina E e b) OE de eucalipto.	52
Figura 32 – Imagens capturadas por SEM das partículas de PLA com a) vitamina E e b) OE de eucalipto, com respectivas dimensões.	52
Figura 33 – Imagens capturadas por SEM das partículas de quitosano, sintetizadas por a) método de gelificação iônica e b) método de coacervação.	53
Figura 34 – Imagens capturadas por SEM das partículas de quitosano, sintetizadas pelo método de gelificação iônica com a) vitamina E e b) OE de eucalipto.	54
Figura 35 – Imagens capturadas por SEM das partículas de quitosano, sintetizadas pelo método de coacervação com a) vitamina E e glutaraldeído e b) vitamina E e ácido tânico.	55
Figura 36 – Espetro de FTIR de SDS.	56
Figura 37 – Espetro de FTIR de PEG 4000.	56
Figura 38 – Espetro de FTIR de tween 80.	57
Figura 39 – Espetro de FTIR da Vitamina E.	58
Figura 40 - Espetro de FTIR do alfa-tocoferol citado na literatura, retirado da referência [107].	58
Figura 41 – Espetro de FTIR do acetato de tocoferol citado na literatura, retirado da referência [108].	58

Figura 42 – Espetro de FTIR do OE de eucalipto.	59
Figura 43 – Espetro de FTIR de etilcelulose.	60
Figura 44 – Representação gráfica dos espectros de FTIR da etilcelulose (—), SDS (—), PEG 4000 (—), Vitamina E (—) e das partículas de etilcelulose + vitamina E + SDS/PEG 4000 (—).	61
Figura 45 – Representação gráfica dos espectros de FTIR da etilcelulose (—), SDS (—), PEG 4000 (—), OE de eucalipto (—) e das partículas de etilcelulose + OE eucalipto + SDS/PEG 4000 (—).	62
Figura 46 – Representação gráfica dos espectros de FTIR da etilcelulose (—), tween 80 (—), Vitamina E (—) e das partículas de etilcelulose + vitamina E + tween 80 (—).	63
Figura 47 – Representação gráfica dos espectros de FTIR da etilcelulose (—), tween 80 (—), OE de eucalipto (—) e das partículas de etilcelulose + OE de eucalipto + tween 80 (—).	64
Figura 48 – Espetro de FTIR de PLA.	64
Figura 49 – Espetro de PLA Ingeo 2003D NaturalWork fornecido pela Resinex.	65
Figura 50 – Representação gráfica dos espectros de FTIR do PLA (—), tween 80 (—), Vitamina E (—) e das partículas de PLA + vitamina E + tween 80 (—).	65
Figura 51 – Representação gráfica dos espectros de FTIR do PLA (—), tween 80 (—), OE de eucalipto (—) e das partículas de PLA + OE eucalipto + tween 80 (—).	66
Figura 52 – Espetro de FTIR do quitosano.	67
Figura 53 – Representação gráfica dos espectros de FTIR do quitosano (—), tween 80 (—), vitamina E (—) e das partículas de quitosano com vitamina E sintetizadas pelo método de coacervação (—).	67
Figura 54 – Representação gráfica dos espectros de FTIR do quitosano (—), tween 80 (—), vitamina E (—) e das partículas de quitosano com vitamina E sintetizadas pelo método de gelificação iónica (—).	68
Figura 55 – Representação esquemática do termograma (—) e da derivada do termograma (DTG) (- - -) de Vitamina E.	69
Figura 56 – Representação esquemática do termograma (—) e da derivada do termograma (DTG) (- - -) do OE de eucalipto.	70
Figura 57 – Representação esquemática do termograma (—) e da derivada do termograma (DTG) (- - -) de etilcelulose.	71
Figura 58 – Representação gráfica dos termogramas de etilcelulose (—) e respetiva derivada (DTG) (- - -), da vitamina E (—) e respetiva derivada (- - -) e das partículas de etilcelulose com vitamina E e SDS/PEG 4000 (—) e respetiva derivada (- - -).	72
Figura 59 – Representação gráfica dos termogramas de etilcelulose (—) e respetiva derivada (DTG) (- - -), da vitamina E (—) e respetiva derivada (- - -) e das partículas de etilcelulose com vitamina E e tween 80 (—) e respetiva derivada (- - -).	73
Figura 60 – Representação gráfica dos termogramas de etilcelulose (—) e respetiva derivada (DTG) (- - -), do OE de eucalipto (—) e respetiva derivada (- - -) e das partículas de etilcelulose com OE de eucalipto e SDS/PEG 4000 (—) e respetiva derivada (- - -).	73
Figura 61 – Representação esquemática do termograma (—) e da derivada do termograma (DTG) (- - -) do PLA.	75
Figura 62 – Representação gráfica dos termogramas de PLA (—) e respetiva derivada (DTG) (- - -), da vitamina E (—) e respetiva derivada (- - -) e das partículas de PLA com vitamina E (—) e respetiva derivada (- - -).	75
Figura 63 – Representação esquemática do termograma (—) e da derivada do termograma (DTG) (- - -) de quitosano.	77

Figura 64 – Representação gráfica dos termogramas da vitamina E (—) e respectiva derivada (- - -) e das partículas de quitosano com vitamina E, sintetizadas por coacervação (—) e respectiva derivada (- - -).	78
Figura 65 – Representação gráfica dos termogramas da vitamina E (—) e respectiva derivada (- - -) e das partículas de quitosano com vitamina E, sintetizadas por gelificação iônica (—) e respectiva derivada (- - -).	79
Figura 66 – Representação esquemática dos perfis de libertação da vitamina E das partículas de etilcelulose + vitamina E + SDS/PEG 4000 (•) e das partículas de etilcelulose + vitamina E + tween 80 (•): valores médios de percentagem de óleo libertado para cada amostra e respetivos valores de erro calculado pelo desvio padrão de três réplicas.	84
Figura 67 – Representação esquemática dos perfis de libertação da vitamina E das partículas de etilcelulose + vitamina E + SDS/PEG 4000 (•) e do OE de eucalipto das partículas de etilcelulose + OE de eucalipto + SDS/PEG 4000 (•): valores médios de percentagem de óleo libertado para cada amostra e respetivos valores de erro calculado pelo desvio padrão de três réplicas.....	86
Figura 68 – Representação esquemática do perfil de libertação da vitamina E das partículas de PLA + vitamina E + tween 80: valores médios de percentagem de óleo libertado para cada amostra e respetivos valores de erro calculado pelo desvio padrão de três réplicas.....	87
Figura 69 – Representação esquemática dos perfis de libertação da vitamina E das partículas de quitosano sintetizadas pelo método de gelificação iônica, em meio neutro (pH 7,4) (•) e em meio ácido (pH 3,0) (•): valores médios de percentagem de óleo libertado para cada amostra e respetivos valores de erro calculado pelo desvio padrão de três réplicas.	88
Figura 70 – Representação esquemática dos perfis de libertação da vitamina E das partículas de quitosano sintetizadas pelo método de coacervação, em meio neutro (pH 7,4) (•) e em meio ácido (pH 3,0) (•): valores médios de percentagem de óleo libertado para cada amostra e respetivos valores de erro calculado pelo desvio padrão de três réplicas.	89
Figura 71 – Fotografia da formulação de base aquosa de 60 g/L de partículas de etilcelulose juntamente com 10 g/L de Impranil Eco-DLS, preparada para a funcionalização de têxteis.	89
Figura 72 – Fotografia do estudo de dispersão das partículas de etilcelulose com o dispersante a) PVA, b) PEG e c) Poloxamer 188.....	90
Figura 73 – Fotografia da formulação de base aquosa de 60 g/L de partículas de etilcelulose juntamente com 10 g/L de Eco-DLS e Poloxamer 188 a 2%, preparada para a funcionalização de têxteis.....	91
Figura 74 – Representação esquemática dos perfis de libertação do OE de eucalipto das partículas de etilcelulose + SDS/PEG 4000, após a funcionalização dos têxteis com <i>wet pickup</i> de 40%: valores médios de absorvância para cada amostra e respetivos valores de erro calculado pelo desvio padrão de três réplicas.	92
Figura 75 – Representação esquemática dos perfis de libertação do OE de eucalipto das partículas de etilcelulose + SDS/PEG 4000, após a funcionalização dos têxteis com <i>wet pickup</i> de 40%. Resultados obtidos no ensaio com o provete da extremidade esquerda do substrato (•), provete central do substrato (•) e provete da extremidade direita do substrato (•): valores médios de absorvância para cada amostra e respetivos valores de erro calculado pelo desvio padrão de três réplicas.	93
Figura 76 – Representação esquemática dos perfis de libertação do OE de eucalipto das partículas de etilcelulose + SDS/PEG 4000, após a funcionalização dos têxteis com <i>wet pickup</i> de 90%: valores médios de absorvância para cada amostra e respetivos valores de erro calculado pelo desvio padrão de três réplicas.	94
Figura 77 – Representação esquemática dos perfis de libertação do OE de eucalipto das partículas de etilcelulose + SDS/PEG 4000, após a funcionalização dos têxteis com <i>wet pickup</i> de 90%. Resultados obtidos no ensaio com o provete da extremidade esquerda do substrato (•), provete central do substrato (•) e provete da extremidade direita do substrato (•): valores médios de absorvância para cada amostra e respetivos valores de erro calculado pelo desvio padrão de três réplicas.	95

Figura 78 – Imagem capturada por OM das partículas de etilcelulose e vitamina E, com SDS/PEG como conjunto de surfactantes, sintetizadas por evaporação de solvente, com uma velocidade de agitação de 8000 rpm durante 2 minutos.	107
Figura 79 – Imagem capturada por OM das partículas de etilcelulose e vitamina E, com SDS/PEG como conjunto de surfactantes, sintetizadas por evaporação de solvente, com uma velocidade de agitação de 4000 rpm durante 10 minutos.	108
Figura 80 – Imagem capturada por OM das partículas de etilcelulose e vitamina E, com SDS/PEG como conjunto de surfactantes, sintetizadas por evaporação de solvente, com uma velocidade de agitação de 8000 rpm durante 10 minutos.	108
Figura 81 – Imagens capturadas por OM das partículas de quitosano e vitamina E com glutaraldeído como agente reticulante a) na presença de óleo mineral e b) na ausência de óleo mineral.	109
Figura 82 – Imagens capturadas por OM das partículas de quitosano e vitamina E com ácido tânico como agente reticulante a) na presença de óleo mineral e b) na ausência de óleo mineral.	109
Figura 83 – Imagens capturadas por OM das partículas de a) quitosano e vitamina E e de b) quitosano e OE de eucalipto.	109
Figura 84 – Representação esquemática da curva de calibração da absorvância em função da concentração de vitamina E em etanol das soluções padrão.	110
Figura 85 – Representação esquemática da curva de calibração da absorvância em função da concentração de OE de eucalipto em etanol das soluções padrão.	111
Figura 86 – Representação esquemática da curva de calibração da absorvância em função da concentração de vitamina E em solução tampão de fosfato (pH 7,4) das soluções padrão.	112
Figura 87 – Representação esquemática da curva de calibração da absorvância em função da concentração de vitamina E em solução tampão de acetato (pH 3,0) das soluções padrão.	113
Figura 88 – Representação esquemática dos perfis de liberação da vitamina E das partículas de etilcelulose + vitamina E + SDS/PEG 4000 (•) e das partículas de etilcelulose + vitamina E + tween 80 (•): valores médios de absorvância para cada amostra e respectivos valores de erro calculado pelo desvio padrão de três réplicas.	114
Figura 89 – Representação esquemática dos perfis de liberação da vitamina E das partículas de etilcelulose + vitamina E + SDS/PEG 4000 (•) e do OE de eucalipto das partículas de etilcelulose + OE de eucalipto + SDS/PEG 4000 (•): valores médios de percentagem da absorvância para cada amostra e respectivos valores de erro calculado pelo desvio padrão de três réplicas.	114
Figura 90 – Representação esquemática do perfil de liberação da vitamina E das partículas de PLA + vitamina E + tween 80: valores médios de absorvância para cada amostra e respectivos valores de erro calculado pelo desvio padrão de três réplicas.	115
Figura 91 – Representação esquemática dos perfis de liberação da vitamina E das partículas de quitosano sintetizadas pelo método de gelificação iônica, em meio neutro (pH 7,4) (•) e em meio ácido (pH 3,0) (•): valores médios de absorvância para cada amostra e respectivos valores de erro calculado pelo desvio padrão de três réplicas.	115
Figura 92 – Representação esquemática dos perfis de liberação da vitamina E das partículas de quitosano sintetizadas pelo método de coacervação, em meio neutro (pH 7,4) (•) e em meio ácido (pH 3,0) (•): valores médios de absorvância para cada amostra e respectivos valores de erro calculado pelo desvio padrão de três réplicas.	116

Lista de tabelas

Tabela 1 – Exemplos de agentes ativos encapsulados com quitosano como material de revestimento.	10
Tabela 2 – Exemplos de agentes ativos encapsulados com derivados de celulose como material de revestimento.	12
Tabela 3 – Exemplos de agentes ativos encapsulados com derivados de PLA como material de revestimento. ...	13
Tabela 4 – Métodos de encapsulação[1, 8].....	15
Tabela 5 – Condições experimentais aplicadas no estudo do efeito da velocidade e tempo de agitação no tamanho das partículas de etilcelulose com vitamina E e SDS/PEG 4000 como conjunto de surfactantes.	38
Tabela 6 – Condições do estudo preliminar de dispersão de partículas de etilcelulose e OE de eucalipto.	44
Tabela 7 – Dimensões das partículas de etilcelulose com OE de eucalipto e com vitamina E sintetizadas pelo método de evaporação de solvente, analisadas por OM, SEM e DLS.....	47
Tabela 8 – Dimensões das partículas de etilcelulose e vitamina E sintetizadas pelo método de evaporação de solvente, alterando as condições de velocidade e tempo de agitação da emulsão, analisadas por OM e DLS.....	50
Tabela 9 – Dimensões das partículas de PLA sintetizadas pelo método de evaporação de solvente, analisadas por OM, SEM e DLS.	53
Tabela 10 – Temperaturas T_{onset} e T_{endset} da vitamina E obtidas experimentalmente e mencionadas na literatura. ...	69
Tabela 11 – Temperaturas T_{onset} e T_{endset} do OE de eucalipto obtidas experimentalmente e mencionadas na literatura.	69
Tabela 12 – Temperaturas T_{onset} e T_{endset} do polímero de etilcelulose obtidas experimentalmente e mencionadas na literatura.	70
Tabela 13 – Parâmetros obtidos a partir dos termogramas do polímero de etilcelulose e das partículas com matriz celulósica.....	74
Tabela 14 – Temperaturas T_{onset} e T_{endset} do polímero de PLA obtidas experimentalmente e mencionadas na literatura.	74
Tabela 15 – Parâmetros obtidos a partir dos termogramas do polímero de PLA e das partículas com matriz de PLA.....	76
Tabela 16 – Temperaturas T_{onset} e T_{endset} do polímero de quitosano obtidas experimentalmente e mencionadas na literatura.	76
Tabela 17 – Parâmetros obtidos a partir dos termogramas do polímero de quitosano e das partículas com matriz de quitosano.	78
Tabela 18 – Partículas selecionadas para os ensaios de extração e estudo do <i>loading</i> e eficiência de encapsulação.	79
Tabela 19 – Resultados dos rendimentos, <i>loadings</i> teórico e experimental e eficiência de encapsulação das partículas analisadas nos ensaios de extração.	81
Tabela 20 – Partículas selecionadas para os ensaios de libertação.	83
Tabela 21 – Quantidade de agente ativo libertado (%) nos ensaios de libertação ao fim das 7 horas.	84
Tabela 22 – Parâmetros estatísticos de regressão linear relativos à equação da reta da curva de calibração da vitamina E em etanol.....	110
Tabela 23 – Limites de detecção e de quantificação relativos à curva de calibração da vitamina E em etanol. ...	111

Tabela 24 – Parâmetros estatísticos de regressão linear relativos à equação da reta da curva de calibração do OE de eucalipto em etanol.	111
Tabela 25 – Limites de detecção e de quantificação relativos à curva de calibração do OE de eucalipto em etanol.	111
Tabela 26 – Parâmetros estatísticos de regressão linear relativos à equação da reta da curva de calibração da vitamina E em solução tampão de fosfato (pH 7,4).	112
Tabela 27 – Limites de detecção e de quantificação relativos à equação da reta da curva de calibração da vitamina E em solução tampão de fosfato (pH 7,4).	112
Tabela 28 – Parâmetros estatísticos de regressão linear relativos à equação da reta da curva de calibração de vitamina E em solução tampão de acetato (pH 3,0).	113
Tabela 29 – Limites de detecção e de quantificação relativos à equação da reta da curva de calibração da vitamina E em solução tampão de acetato (pH 3,0).	113

1. Enquadramento

Atualmente, o desenvolvimento de novos materiais com funcionalidades acrescidas tem sido o foco da investigação científica, tendo em vista a potencial aplicação em áreas como a indústria farmacêutica, têxtil, alimentar, cosmética, biomédica, entre outras. Esta incessante busca por materiais mais evoluídos, face aos já existentes no mercado, leva à implementação de tecnologias emergentes que permitam a obtenção de produtos diferenciados. Deste modo, a encapsulação surge como uma estratégia tecnológica poderosa para possibilitar a incorporação de substâncias ativas, tais como fragrâncias, agentes antimicrobianos e antioxidantes, em novos materiais. Consequentemente, a integração destas em diferentes substratos, leva à criação de produtos inovadores com funcionalidades acrescidas e de alto valor, em resposta às necessidades do mercado, proporcionando a capacidade de libertação das substâncias ativas segundo mecanismos selecionados e de forma controlada, atendendo ao objetivo final do produto [1]. Adicionalmente, a encapsulação de substâncias ativas, pode ainda contribuir para uma maior estabilidade e durabilidade de substâncias de interesse com carácter volátil ou facilmente degradáveis. Deste modo, a quantificação do *loading* da cápsula, isto é, a quantidade de substância ativa encapsulada e a monitorização dos perfis de libertação são aspetos importantes na validação do desempenho destes materiais, uma vez que são fatores cruciais para o desenvolvimento de potenciais produtos e respetivas aplicações [2]. Nesse sentido, as metodologias aplicadas para a análise e caracterização dos materiais pré e pós incorporação em formulações de funcionalização dos substratos, são fundamentais para o desenvolvimento de um novo produto. Atendendo aos materiais/reagentes utilizados no processo de encapsulação, a metodologia de análise aplicada pode divergir, necessitar de adaptação ou de novos desenvolvimentos [2]. No âmbito desta dissertação, será necessário adaptar e desenvolver métodos de análise direcionados para os produtos desenvolvidos, com vista a avaliar de forma expedita as suas características e possibilitar o aprimoramento das suas funcionalidades.

Em 2021, o tamanho do mercado global de produtos encapsulados foi avaliado em 10,9 biliões de dólares, com uma previsão de expansão a uma taxa de crescimento anual de 10,3% até ao ano de 2030, podendo atingir-se o valor de 25,9 biliões (Fig. 1) [3]. Com a crescente aceitação de materiais encapsulados nas indústrias das áreas alimentar, farmacêutica e agroquímica é estimado um impacto positivo na expansão das referidas indústrias. Segundo um estudo mais otimista, é estimada uma expansão mais promissora no mercado global de microencapsulação, com uma taxa de crescimento anual de 14% entre 2019 e 2028, podendo atingir-se um valor de 26,2 bilhões de dólares nesse mesmo ano [4].

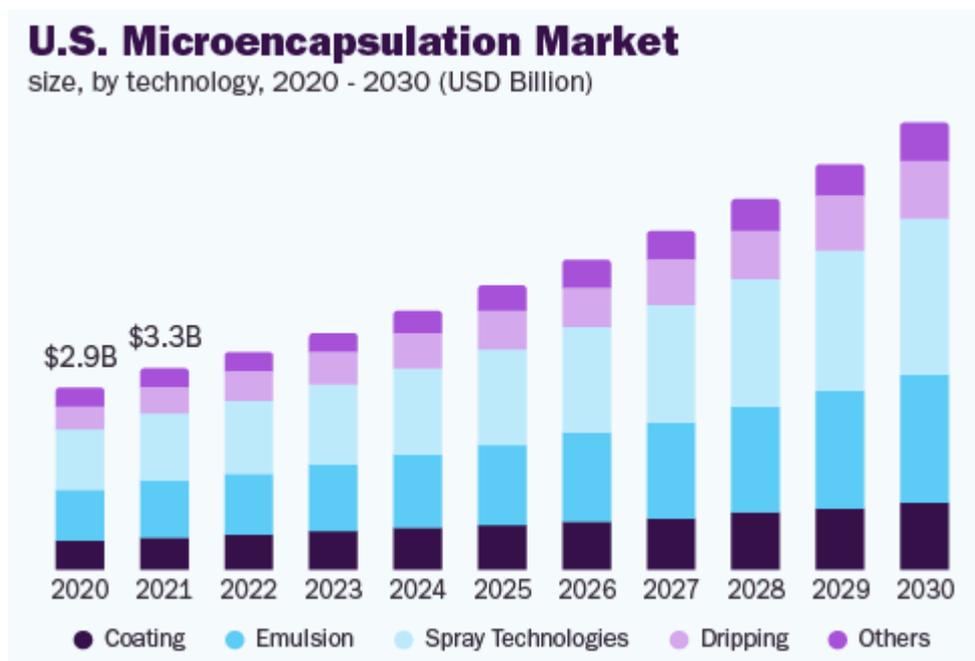


Figura 1 – Previsão de expansão do tamanho do mercado de microencapsulação até ao ano de 2030, adaptado da referência [3].

Segundo um estudo publicado em 2021, relativo à aplicação de produtos encapsulados em diferentes áreas de mercado, a secção de produtos farmacêuticos e de saúde representa a maior participação, com cerca de 66% (Fig. 2) [3]. Neste tipo de produtos, a estratégia tecnológica de encapsulação é utilizada maioritariamente para mascarar o sabor e odor de medicamentos, reduzir as propriedades higroscópicas e volatilidade dos agentes ativos, bem como para fornecer uma libertação direcionada e controlada [4]. Exemplos de aplicações da encapsulação na área farmacêutica, incluem os antibióticos, antioxidantes, probióticos e prebióticos, vitaminas, anti-inflamatórios e antineoplásicos [5].

Em segundo lugar no mercado de microencapsulação, com cerca de 10%, surge a indústria cosmética, de higiene pessoal e doméstica, pela necessidade de encapsulação de vários agentes ativos. Entre eles surgem agentes antioxidantes, pigmentos, fragrâncias, óleos essenciais, filtros solares, moléculas antienvhecimento, hidratantes e agentes bronzadores, que permitem ser incorporados em produtos eficazes, naturais e seguros, capazes de contribuir para a saúde e bem estar do consumidor [6]. Deste modo, a estratégia tecnológica de microencapsulação tem vindo a ganhar destaque pela aplicação no desenvolvimento de produtos como bálsamos, cremes e loções para a pele, produtos para cabelos, protetores solares, maquilhagem, saúde oral e perfumes. Até à data, várias empresas desenvolveram tecnologias inovadoras para a produção de cápsulas para fins cosméticos. É o exemplo das cápsulas de copolímeros de silicone, desenvolvidas pela empresa *Microcapsules of Techonologies*,

que permitem encapsular retinol, diidroxiaçerona, óleos naturais, entre outros e das microcápsulas *Sphera*, desenvolvidas pela empresa *Natural Odours and Polymers*, que permitem a libertação de vitaminas, óleos essenciais e fragrâncias na forma de pó fino, para cosméticos e higiene pessoal. A tecnologia desenvolvida pela empresa *Materium*, voltada para a produção de microesferas de sílica, com a capacidade de encapsular diferentes agentes ativos, para libertação prolongada em cosméticos e perfumes, surge como outro exemplo [6].

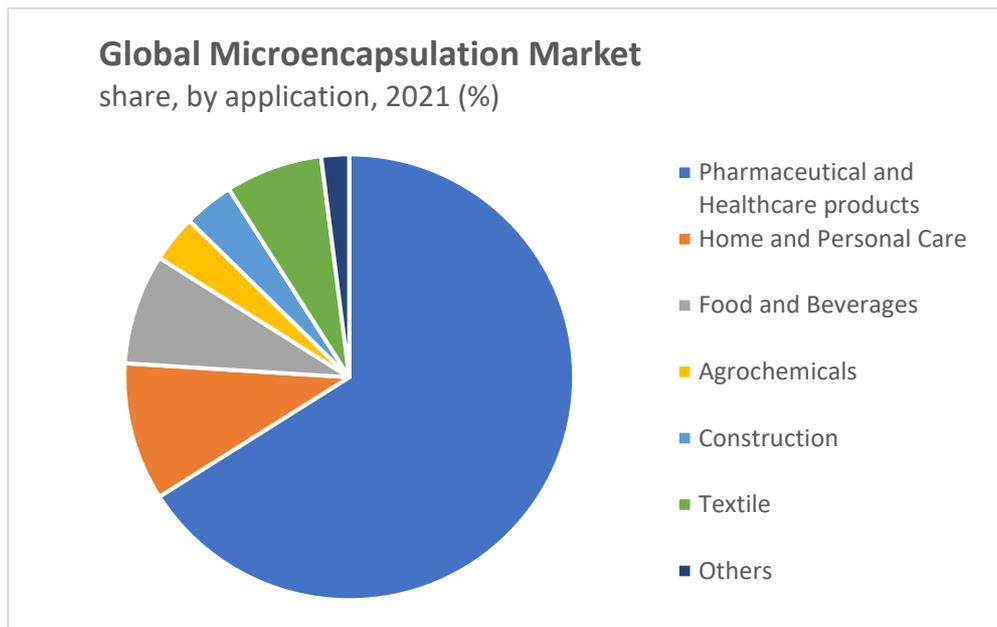


Figura 2 – Distribuição da incidência da estratégia tecnológica de encapsulação nos produtos do mercado no ano de 2021, adaptado da referência [3].

A indústria de alimentos e bebidas representou 8,0% do mercado de encapsulação em 2021, devido à necessidade de implementação de ingredientes funcionais, para melhorar as propriedades como o sabor, odor, cor e textura dos produtos e prolongar o tempo de vida útil dos mesmos [3, 4]. Desse modo, os agentes ativos aplicados na indústria alimentar incluem vitaminas, enzimas, aromatizantes, minerais e conservantes, com o intuito de produzir produtos alimentares funcionalizados e com mais nutrientes. Por exemplo, a encapsulação de agentes acidulantes, pode aumentar a vida útil de sabores cítricos e de alimentos ricos em amido, enquanto a encapsulação de ácido láctico e cítrico, permitem realçar o sabor de carnes curadas sem que estes reajam com os alimentos. Os adoçantes são degradados pela temperatura e humidade, pelo que a solução passa pela encapsulação do aspartame, de forma a protegê-lo contra as altas temperaturas e permitir a sua libertação lenta em produtos como pastilhas elásticas. Vitaminas e minerais são geralmente encapsulados e incorporados em cereais,

produtos lácteos e alimentos para animais de forma a evitar sabores desagradáveis e aumentar a estabilidade destes [7]. Produtos alimentares como carnes, laticínios, sumos, entre outros, podem ser funcionalizados pela adição de microcápsulas probióticas resultando, como nos casos anteriores, numa valorização do produto no mercado [5].

Na mesma tendência da indústria alimentar, o crescente interesse por produtos biológicos na área da agricultura, incentiva a aplicação da tecnologia de encapsulação para a produção de cápsulas biológicas. Nesse sentido, a encapsulação de substâncias bioativas como óleos essenciais, extratos vegetais e metabolitos fúngicos na produção de bioinsecticidas, biofungicidas, bioherbicidas e biofertilizantes é uma estratégia promissora, com uma representação de 3,4% no ano de 2021 [8].

Relativamente à aplicabilidade da tecnologia de encapsulação na indústria da construção, é esperada uma expansão de 3,6% da taxa de crescimento anual composta até ao ano de 2030, devido ao crescente interesse por materiais de construção com agentes ativos microencapsulados. Entre estes surgem os retardantes de chama, óleos minerais, surfactantes, poliuretano, agentes antimicrobianos e materiais termocrómicos [3].

A estratégia tecnológica de microencapsulação também se revela muito promissora na indústria têxtil, com uma representação de 7,0%, pela possibilidade de incorporação de novas propriedades nos produtos através da aplicação de agentes adicionais como fragrâncias, corantes, repelentes de insetos, materiais antimicrobianos ou materiais que armazenam/libertam calor (*Phase-change materials* (PCMs)) [9]. Como exemplo, surgem os produtos têxteis com sistema de controlo de temperatura, cuja principal característica reside na capacidade de mudar o seu estado de agregação dentro de uma gama de temperatura limitada, absorvendo ou expelindo calor. Para isso, são utilizados materiais de mudança de fase, sendo o mais adequado para utilização a nível têxtil, as parafinas encapsuladas em micropartículas. Um outro exemplo, são os têxteis com microcápsulas integradas com a capacidade de aumentar o fator de proteção solar e proteção antioxidante, pela incorporação de protetores solares e vitamina E, respetivamente. A encapsulação dos agentes referidos, permite aumentar a estabilidade dos mesmos e controlar a sua libertação. Microcápsulas com substâncias termocrómicas (substâncias que mudam de cor por ação da temperatura) são exemplo da aplicabilidade da tecnologia de encapsulação na estampagem de produtos têxteis, bem como as microcápsulas com aromas e óleos essenciais, que permitem a libertação controlada e por períodos mais longos das fragrâncias. Finalmente, a aplicação de microcápsulas com antibióticos/anti-inflamatórios em ligaduras/compressas médicas e tecidos com retardantes de chama microencapsulados são outros dois exemplos da aplicabilidade da estratégia tecnológica de encapsulação na área têxtil [9].

2. Objetivo

O objetivo deste trabalho consistiu no desenvolvimento de cápsulas funcionais baseadas em sistemas biológicos e implementação de novas metodologias de análise e caracterização do *loading* dos agentes ativos utilizados, e seu perfil de libertação dos sistemas encapsulados, quando presentes na forma de pó, ou incorporados em substratos funcionalizados.

Numa primeira fase do trabalho, procedeu-se à síntese de cápsulas, contendo óleos essenciais e vegetais, selecionando diferentes polímeros como material de revestimento. Para tal, recorreu-se a vários métodos de encapsulação, com o objetivo de perceber o impacto das diferentes metodologias nas propriedades das cápsulas e no *loading* e eficiência de encapsulação. A segunda fase, consistiu na análise e caracterização química, térmica e morfológica dos sistemas encapsulados, bem como no estudo dos perfis de libertação dos agentes ativos nas cápsulas ao longo do tempo. Numa terceira fase, procedeu-se à integração dos sistemas encapsulados em formulações poliméricas de base aquosa para revestimento, com o objetivo de funcionalizar substratos têxteis de algodão. Numa fase final, realizou-se a caracterização e validação dos substratos funcionalizados, de forma a perceber a influência dos mesmos e da formulação de acabamento, na libertação dos agentes ativos.

3. Introdução

Durante os últimos anos, a estratégia tecnológica de encapsulação tem despertado interesse na comunidade científica, pela capacidade de otimização e preservação das propriedades dos agentes ativos, o que justifica a sua evolução e aplicação em áreas tão diversas como a biomedicina, física, química, engenharia de materiais, entre outras [10, 11].

3.1. Encapsulação

A micro e a nanoencapsulação, surgem como estratégias tecnológicas utilizadas, à escala micrométrica e nanométrica, respetivamente, com o intuito de proteger e preservar as propriedades químicas, físicas e biológicas de substâncias ativas. Estas podem ser substâncias bioativas, voláteis e facilmente degradáveis e, através de um revestimento externo, é possível preservar a estabilidade dessas substâncias, bem como permitir a sua libertação controlada e sob condições pré-estabelecidas [12]. Deste modo, o composto encapsulado é normalmente designado de material revestido ou encapsulado, material do núcleo, agente ativo ou fase interna. O material usado como membrana externa protetora é normalmente designado de material de revestimento, cápsula, membrana transportadora ou fase externa [13]. Este último é geralmente constituído por polissacarídeos ou seus derivados, proteínas, lípidos ou polímeros sintéticos, para formar uma matriz ou invólucro em torno do agente a encapsular. A seleção do material que constitui o revestimento está intrinsecamente associada à natureza do agente ativo, ao processo de encapsulação e à aplicação final do produto [13]. Deste modo, as cápsulas podem apresentar diferentes morfologias, dependendo do número de núcleos e do processo de deposição do material de revestimento (Fig. 3).

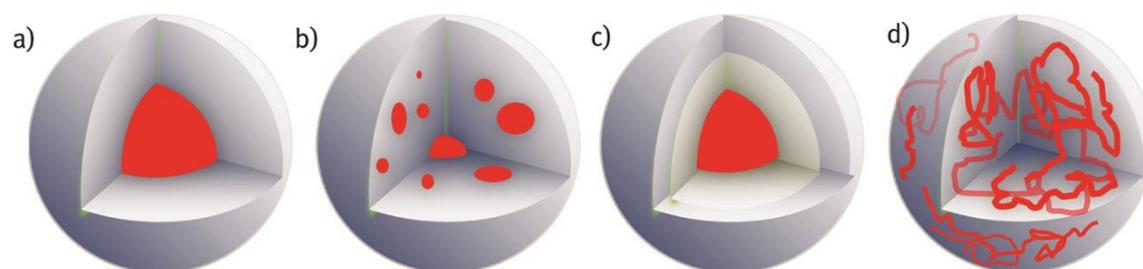


Figura 3 – Representação esquemática de morfologias de cápsulas: a) mononuclear, b) polinuclear, c) *multi-shell* e d) matriz, adaptada da referência [14].

Neste seguimento, surgem as cápsulas mononucleares (a), com apenas um núcleo revestido pela camada externa, as cápsulas polinucleares (b), que compreendem vários núcleos e as cápsulas com mais do que uma camada externa, designadas de *multi-shell* (c). Para além dos exemplos referidos,

existe o sistema matricial (d), no qual o material interno se encontra distribuído uniformemente por toda a fase externa. A escolha da morfologia é dependente da natureza do agente ativo e do produto no qual será incorporado [11].

3.2. Agentes ativos

A micro e nanoencapsulação permitem o aprisionamento de agentes ativos no interior de um material de revestimento, dando origem às micro e nanocápsulas. Esses agentes ativos podem incluir nutrientes, como vitaminas e minerais, enzimas, probióticos, óleos essenciais, antioxidantes, conservantes, fertilizantes, pesticidas, produtos farmacêuticos, entre outros [11].

Os óleos essenciais são misturas naturais, voláteis e hidrofóbicas provenientes de plantas e constituem uma fonte de diferentes compostos bioativos, como por exemplo, terpenos ou terpenóides e compostos fenólicos. Estes óleos exibem um odor intenso e apresentam propriedades antimicrobianas, antioxidantes e anti-inflamatórias [15, 16]. Por este motivo, o interesse em óleos essenciais emergiu como consequência da aplicabilidade das suas propriedades intrínsecas em áreas como a medicina, a indústria têxtil e alimentar [17]. No entanto, os óleos essenciais são compostos muito suscetíveis à degradação e volatilização quando expostos a fatores ambientais, tais como a luz, o calor e a humidade. Por esse motivo, a encapsulação surge como uma estratégia tecnológica poderosa, que permite proteger os óleos essenciais de fatores externos e, conseqüentemente evitar a degradação destes, bem como, promover a sua libertação controlada.

Os óleos vegetais são substâncias geralmente provenientes a partir de sementes das plantas, constituídos maioritariamente por triglicerídeos e quimicamente mais estáveis em comparação com os óleos essenciais. Os óleos vegetais possuem diversas propriedades funcionais, tais como, capacidade antioxidante, anti-inflamatória e antimicrobiana, devido aos compostos presentes em menor percentagem na sua constituição como os tocoferóis, esteróis, pigmentos, vitaminas e ácidos gordos livres [18, 19].

A encapsulação dos óleos essenciais e vegetais, possibilita a preparação de novos materiais com características inovadoras, inerentes às propriedades intrínsecas dos agentes ativos selecionados [15, 20, 21].

3.2.1. Óleo essencial de eucalipto

O óleo essencial de eucalipto é oriundo de diferentes espécies do género *Eucalyptus*. Este é constituído principalmente por um composto designado por eucaliptol (1,8-cineol), um terpeno monocíclico com uma ponte de éter entre os carbonos 1 e 8, e em menor percentagem por compostos com grupos éter, álcool, aldeído e cetona, como o citronelal, citronelol, ciclohexanol, α -pineno, metil eugenol, linalol, entre outros (Fig. 4).

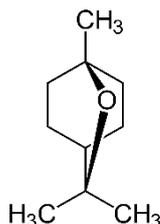


Figura 4 – Estrutura química do principal composto do óleo essencial de eucalipto, o eucaliptol (1,8-cineol), adaptado da referência [22].

Dependendo da espécie do género *Eucalyptus* a considerar, os constituintes presentes e a proporção destes pode variar. O óleo essencial de eucalipto tem sido amplamente utilizado na área alimentar, farmacêutica, da perfumaria e cosmética, devido à sua atividade antimicrobiana e antisséptica inerente. No entanto, devido à volatilidade dos componentes do óleo essencial de eucalipto, a sua vida útil e eficiência vêm-se reduzidas, principalmente quando em contacto com os fatores ambientais. Deste modo, a encapsulação do óleo essencial de eucalipto surge como um excelente método para solucionar e ultrapassar as questões referidas [22, 23].

3.2.2. Vitamina E

A vitamina E é o principal antioxidante natural lipossolúvel, sendo constituída por um grupo de oito compostos solúveis em gordura, que incluem quatro tocoferóis e quatro tocotrienóis (Fig. 5) [24]. A vitamina E possui a capacidade de proteger os tecidos da radiação ultravioleta (UV), retardando o fotoenvelhecimento e proporcionando um efeito hidratante. Devido às suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, tem sido amplamente utilizada em áreas como a indústria alimentar, farmacêutica e cosmética. No entanto, por se tratar de um composto relativamente instável e sensível a fatores externos, como as altas temperaturas, à presença de oxigénio e luz, a encapsulação da vitamina E revela ser uma metodologia eficaz na proteção e armazenamento deste agente ativo [25].

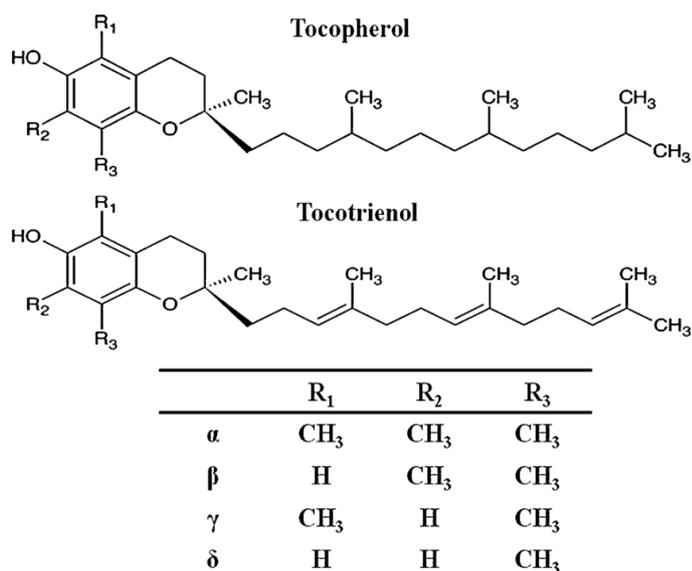


Figura 5 – Estrutura química dos tocoferóis e tocotrienóis do grupo da vitamina E, adaptado da referência [26].

3.3. Sistemas biológicos de encapsulação

Como foi referido anteriormente, o revestimento externo utilizado na encapsulação, pode ser constituído por polímeros sintéticos ou naturais, sendo que estes últimos revelam um maior interesse, devido às suas características de biodegradabilidade e biocompatibilidade [20]. Deste modo, polímeros biodegradáveis provenientes de fontes renováveis e sistemas de base biológica têm sido utilizados como uma alternativa promissora aos polímeros sintéticos [21]. Exemplos destes sistemas são os derivados de celulose, os ácidos gordos, o quitosano e o ácido polilático (PLA).

3.3.1. Quitosano

O quitosano é o segundo biopolímero mais abundante no mundo e muito utilizado na encapsulação de óleos essenciais, devido às suas características de biodegradabilidade, biocompatibilidade e disponibilidade [27, 28]. Trata-se de um polissacarídeo catiónico natural derivado da quitina por desacetilação (Fig. 6).

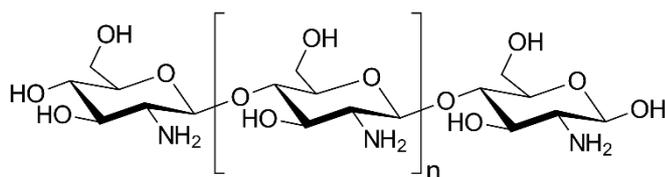


Figura 6 – Estrutura química do quitosano, em que n representa o número de repetições da unidade estrutural delimitada entre parêntesis retos, adaptado da referência [29].

O quitosano, sendo um biopolímero, apresenta-se como um material apropriado para a formação da parede de cápsulas, pela sua capacidade de formar redes estruturais densas e ainda por apresentar atividade antimicrobiana [29]. Para além disso, o quitosano é um polímero de elevado interesse, devido à sua sensibilidade ao pH, uma vez que apresenta uma alta solubilidade a pH ácido, o que já não acontece a pH neutro ou alcalino. A pH baixo, os grupos amino da cadeia lateral do quitosano são propensos a protonação, mantendo a cadeia numa conformação aberta, que por sua vez, permite a difusão do agente encapsulado. A libertação dos agentes ativos encapsulados na matriz de quitosano também pode ser controlada pela temperatura, uma vez que, os poros da parede de quitosano podem encolher ou fechar quando aquecidos [30]. Deste modo, o quitosano é considerado ideal para a encapsulação de óleos essenciais, bem como para a sua posterior libertação controlada por variação do pH ou da temperatura [27, 28].

Nos últimos anos, vários estudos têm vindo a ser realizados com o propósito de encapsular óleos essenciais, utilizando o quitosano como polímero de revestimento (Tabela 1).

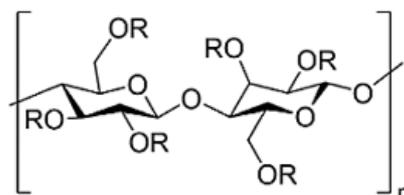
Tabela 1 – Exemplos de agentes ativos encapsulados com quitosano como material de revestimento.

Agente ativo	Método de encapsulação	Tamanho de partículas (nm)	Eficiência de encapsulação (%)	Capacidade de loading (%)	Referência
<i>Ocimum basilicum</i>	Emulsificação-gelificação iónica	198,7 – 373,4	50,39 – 51,3	7,22 – 19,78	[33]
Chá verde	Emulsificação-gelificação iónica	20 – 60	78 – 82	22,2	[15]
Hortelã pimenta	Emulsificação-gelificação iónica	20 – 60	22 – 81	23,1	[15]
Cravo	Emulsificação-gelificação iónica	223 – 444	55,8 – 73,4	-	[32]
Hortelã pimenta	Emulsificação-gelificação iónica	< 563,3	64 – 70	12,3 – 13,9	[34]
Vitamina E	Coacervação complexa	$(6,85 \pm 0,21) \times 10^3$	$73,17 \pm 0,64$	-	[25]
Limoneno	Coacervação	$(2,0 - 12,0) \times 10^3$	-	-	[35]
Citronela	Coacervação	$(225 \pm 24) \times 10^3$	94,7 – 98,2	-	[36]
Manjeriço	Dupla emulsão	$(5,06 - 5,83) \times 10^3$	-	-	[29]

Até ao momento, diferentes óleos essenciais, como por exemplo, os óleos de hortelã-pimenta, chá-verde, manjeriço e cravinho, foram encapsulados usando o quitosano como matriz de revestimento. Nestes estudos, são mencionados mecanismos de nanoencapsulação dos óleos essenciais anteriormente referidos através da gelificação iónica, bem como microencapsulação de limoneno, vitamina E e citronela, por coacervação [15, 25, 31, 32, 33].

3.3.2. Celulose e derivados

A celulose é um polissacarídeo de cadeia longa, composto por unidades de glicose (Fig. 7). Por ser considerado o recurso verde mais abundante e devido à sua biodegradabilidade, ausência de toxicidade e facilidade de introdução de novos grupos funcionais na sua estrutura, a celulose e os seus derivados surgem como material de revestimento com elevado potencial. Dentro dos derivados de celulose, os mais utilizados na encapsulação de óleos essenciais são a etilcelulose, metilcelulose e acetato de celulose [10, 37, 38, 39].



Derivados de celulose	Grupos R
Celulose	H
Metilcelulose	H ou CH ₃
Etilcelulose	H ou CH ₂ CH ₃
Acetato de celulose	H ou (C=O)CH ₃

Figura 7 – Estrutura química da celulose, em que n representa o número de repetições da unidade estrutural, delimitada pelos parêntesis retos, adaptado da referência [40].

A etilcelulose é um polissacarídeo linear derivado da celulose, em que o hidrogénio dos grupos hidroxilo nas unidades de glicose são substituídos por grupos etilo. Esta alteração permite a obtenção de um polímero com características mais hidrofóbicas e mais compatível com solventes orgânicos [41]. Atualmente, vários estudos relatam a aplicação de etilcelulose como matriz polimérica na encapsulação de óleos essenciais e vegetais (Tabela 2). Os óleos de colza e de linhaça, por exemplo, são encapsulados

em microcápsulas de etilcelulose, através do método de emulsão por evaporação de solvente e o óleo de lima e de alecrim são encapsulados pelo o método de coacervação [37, 38].

Tabela 2 – Exemplos de agentes ativos encapsulados com derivados de celulose como material de revestimento.

Agente ativo	Método de encapsulação	Tamanho de partículas (nm)	Eficiência de encapsulação (%)	Capacidade de loading (%)	Referência
Colza	Evaporação de solvente	(10–50)x10 ³	85 – 89	-	[38]
Linhaça	Evaporação de solvente	(10–50)x10 ³	85 – 89	-	[38]
Timol	Nanoprecipitação	420,0 ± 118,6	77	43,53	[39]
Alecrim	Coacervação	(10 – 90)x10 ³	-	30	[42]
Lima	Coacervação	(39 – 104)x10 ³	14	-	[37]

A metilcelulose é outra macromolécula derivada da celulose que, à semelhança da etilcelulose, possui características de biodegradabilidade e ausência de toxicidade. Nanocápsulas de metilcelulose e etilcelulose 1:1 (m/m) foram utilizadas na encapsulação de cinco compostos, através do método de nanoprecipitação. O carvacrol, a citronela, o eugenol, o terpinen-4-ol e o timol foram encapsulados, com o intuito de avaliar as capacidades antimicrobianas de cada composto [39].

O acetato de celulose é um outro derivado obtido através da acetilação da celulose, quando esta é colocada a reagir com ácido acético e anidrido acético na presença de ácido sulfúrico como catalisador [10]. Vários estudos têm sido realizados usando acetato de celulose como material de revestimento para encapsulação dos óleos de erva-príncipe, hortelã-pimenta e canela [10, 17].

3.3.3. Ácido polilático

O ácido polilático (PLA) é um poliéster alifático linear obtido a partir de monómeros de ácido láctico, um ácido orgânico de origem biológica produzido através do amido (Fig. 8). Deste modo, o PLA surge como outro material de grande interesse na encapsulação de óleos essenciais por ser um polímero biodegradável e biocompatível [21, 43].

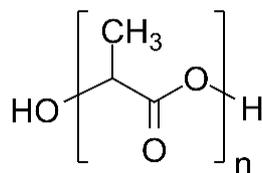


Figura 8 – Estrutura química do PLA, em que n representa o número de repetições da unidade estrutural, delimitada pelos parêntesis retos, adaptado da referência [50].

Vários são os estudos que descrevem a aplicação de PLA na encapsulação de óleos essenciais e outras substâncias através de métodos distintos (Tabela 3).

Tabela 3 – Exemplos de agentes ativos encapsulados com derivados de PLA como material de revestimento.

Agente ativo	Método de encapsulação	Tamanho de partículas (nm)	Eficiência de encapsulação (%)	Capacidade de loading (%)	Referência
Timol, eugenol e carvacrol	Coacervação	$(0,7 - 1,7) \times 10^3$	66,5 – 84,8	-	[44]
Tomilho	Coacervação	40×10^3	65	-	[45, 46]
Azoxistrobina	Evaporação de solvente	$(50 - 90) \times 10^3$	76,1– 86,5	-	[47]
Tocoferol	Nanoprecipitação	200–220	69	14,7	[51]
Carotenoides	Nanoprecipitação	$171,7 \pm 17,3$	83,6 – 88,6	-	[49]
Capim limão	Deposição interfacial	$113,6 \pm 60,3$	99	47,7 – 64,4	[52]

O óleo essencial de tomilho, o composto fenólico eugenol e os terpenos timol e carvacrol foram encapsulados utilizando a técnica de coacervação, tendo-se obtido microcápsulas em todos os casos [44, 45, 46]. Para além de óleos essenciais, outro tipo de compostos são passíveis de ser encapsulados utilizando o PLA, como por exemplo o composto fungicida azoxistrobina, encapsulado utilizando a técnica de evaporação de solvente e a vitamina E e os carotenoides, encapsulados através do método de nanoprecipitação [47, 48, 49].

3.3.4. Ácidos gordos

Os ácidos gordos de cadeia longa saturada têm sido aplicados na indústria farmacêutica como potenciais materiais a implementar no desenvolvimento de sistema de libertação de fármacos.

O ácido tetradecanóico, também designado de ácido mirístico, é um ácido gordo constituído por uma cadeia de hidrocarbonetos longa e saturada (14:0), com fórmula molecular $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$ (Fig. 9). Este é muito utilizado em inúmeras aplicações na indústria farmacêutica e alimentar, por se tratar de um composto abundante, não tóxico e biocompatível [53].

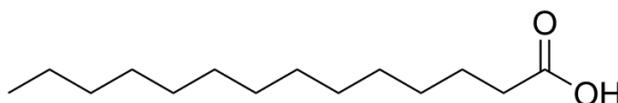


Figura 9 – Estrutura química do ácido mirístico, adaptado da referência [56].

O ácido mirístico apresenta uma maior solubilidade em pH alcalino do que em pH ácido, devido à ionização do grupo ácido carboxílico. Com base nesta propriedade, o seu potencial para encapsular é promissor e pode ser utilizado no desenvolvimento de novas formulações e de métodos de libertação controlada por estímulo do pH. Em estudos anteriores, o ácido mirístico foi utilizado como material de revestimento na área farmacêutica, para permitir a proteção e libertação controlada da proteína hemoglobina bovina encapsulada e de um antigénio. A diferença de solubilidade do material de revestimento, permitiu proteger o material ativo do meio gástrico (pH 1,2), devido à baixa solubilidade do ácido mirístico em condições ácidas e promover a libertação da proteína no meio intestinal, em pH alcalino (pH 8,8) [53, 54]. Para além da sensibilidade ao pH, o ácido mirístico revela um interesse acrescido devido ao seu baixo ponto de fusão (53,6 °C) que o torna sensível à temperatura, podendo ser responsivo também a este estímulo [55].

Este ácido gordo foi utilizado como material de revestimento em estudos de libertação da proteína hemoglobina bovina e de um antigénio recombinante adsorvido em esferas de sílica, através do método de evaporação de solvente [53, 54]. O ácido mirístico, juntamente com o quitosano, foram aplicados como materiais de revestimento em estudos de encapsulação dos óleos essenciais de cravo e cominho [57, 58].

3.4. Métodos de encapsulação

Existem descritos na literatura vários processos de encapsulação de óleos essenciais. Estes podem ser classificados como métodos físicos, químicos ou físico-químicos (Tabela 4) [8, 38]. Idealmente, o método de encapsulação deve ser simples, rápido e reprodutível. O método a aplicar depende das características físico-químicas do agente ativo e do material encapsulante, assim como de outros fatores como o tamanho e a forma de partícula, a aplicação final, o mecanismo de libertação e o custo de produção [1, 2].

Tabela 4 – Métodos de encapsulação [1, 8].

Métodos físicos	<i>spray drying</i> , liofilização, extrusão, eletrofiação
Métodos químicos	polimerização <i>in situ</i> , polimerização interfacial
Métodos físico-químicos	coacervação, nanoprecipitação, gelificação iónica, emulsificação seguida de evaporação de solvente

De seguida, serão descritos em maior detalhe os procedimentos de encapsulação mais relevantes no desenvolvimento do presente trabalho.

3.4.1. Emulsificação seguida de evaporação de solvente

O método de evaporação de solvente consiste em duas fases distintas: a emulsão entre a fase orgânica e a fase aquosa e a remoção do solvente por evaporação (Fig. 10).

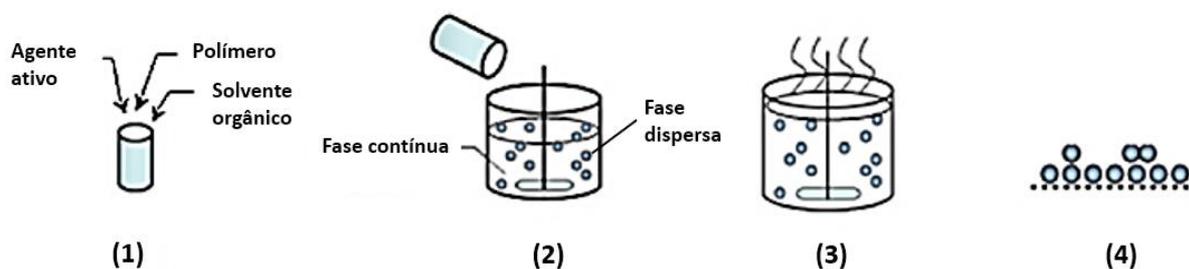


Figura 10 – Representação esquemática de encapsulação pelo método de evaporação de solvente, através de emulsão simples (O/W): (1) dissolução do agente ativo num solvente orgânico contendo o polímero previamente dissolvido; (2) emulsão da fase orgânica, designada fase dispersa, numa fase aquosa, designada fase contínua; (3) evaporação do solvente e transformação das gotículas da fase dispersa em partículas sólidas; (4) recuperação e secagem das partículas, adaptada da referência [59].

Numa primeira fase, o material encapsulante é dissolvido num solvente orgânico imiscível em água, como por exemplo, o diclorometano, o clorofórmio ou o acetato de etilo. De seguida, o agente ativo é dissolvido na solução polimérica, preparada no passo anterior, e é formada a fase orgânica da emulsão. A fase orgânica é posteriormente dispersa numa fase aquosa, geralmente água ou soluções aquosas ácidas, e dá-se a formação de pequenas gotículas na emulsão óleo-em-água (O/W). Com a remoção do solvente orgânico por evaporação através do fornecimento de calor e/ou de aplicação de baixas pressões, as micelas resultantes da emulsão solidificam e dão origem às partículas com o agente ativo encapsulado [47].

No caso anterior, a primeira etapa consiste numa emulsão simples, em que existem apenas duas fases distintas obtidas num só passo. Estas podem ser classificadas segundo o líquido que forma a fase contínua, sendo estas designadas por emulsão óleo-em-água (O/W) ou de emulsão água-em-óleo (W/O). Desta forma, quando a fase contínua é a solução aquosa, a emulsão é designada de (O/W) e possui gotas de óleo dispersas em água. Contrariamente ao caso anterior, quando a fase contínua é a solução oleosa, a emulsão recebe a designação de (W/O) e possui gotas de água dispersas em óleo. No entanto, existem outros tipos de emulsões que podem ser classificadas atendendo ao número de emulsões existentes, podendo ser simples ou múltiplas (Fig. 11) [60].

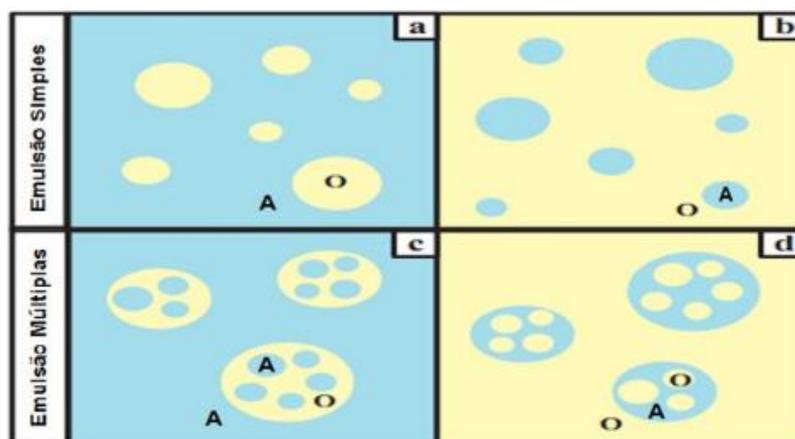


Figura 11 – Tipos de emulsões presentes num sistema composto por óleo e água: a) emulsão simples óleo-em-água (O/W), b) emulsão simples água-em-óleo (W/O), c) emulsão múltipla (W/O/W) e d) emulsão múltipla (O/W/O), adaptada da referência [60].

Recentemente, a técnica de emulsão múltipla, tem recebido bastante destaque em várias aplicações, por permitir um melhor controlo na libertação do agente ativo e na síntese de cápsulas com múltiplas camadas. O método de emulsão múltipla óleo-em-água-em-óleo (O/W/O) consiste na síntese de microcápsulas em dois passos, primeiramente dá-se a dispersão do óleo essencial numa solução

aquosa, que conduz a uma emulsão óleo-em-água (O/W) e numa segunda fase, a emulsão (O/W) é dispersa numa solução oleosa levando à produção de uma emulsão óleo-em-água-em-óleo (O/W/O), com posterior formação das cápsulas [61, 62]. No caso da emulsão múltipla água-em-óleo-em-água (W/O/W) sucede o inverso, em que primeiramente é adicionada a fase aquosa a um meio oleoso para permitir a formação da emulsão água-em-óleo (W/O), seguida da dispersão da emulsão numa fase aquosa externa [63].

Durante o processo de emulsão é muitas vezes adicionado um surfactante à solução, como agente estabilizador. Os surfactantes são moléculas que, devido à sua estrutura química, possuem um carácter anfifílico, uma vez que apresentam um grupo alquil longo de carácter hidrofóbico e um grupo polar, por vezes com um grupo iónico, de carácter altamente hidrofílico. Estas moléculas desempenham um papel importante na síntese de cápsulas através da técnica de evaporação de solvente, uma vez que facilita a preparação da emulsão, mantendo-a estável e minimizando a tendência de coalescência das micelas formadas, pela redução da tensão interfacial entre as fases. Adicionalmente, atendendo às características químicas de cada surfactante, estes influenciam o tamanho das partículas obtidas, devido ao rácio das componentes polar e apolar de cada surfactante. Os surfactantes são caracterizados pelo número de equilíbrio hidrofílico-lipofílico (HLB), que pode estar compreendido entre 1-20. Os surfactantes com um número de HLB entre 3 e 6, geralmente, os ésteres de glicerol, ésteres de ácido gordo de propileno glicol, ésteres de poliglicerol e ésteres de ácido gordo de sorbitol, são mais apropriados para estabilizar emulsões W/O, e aqueles com um número de HLB entre 8 e 16, geralmente proteínas, fosfolípidos, sais de potássio e sódio e alginatos, promovem a estabilidade de emulsões O/W [45, 64]. Deste modo, o valor de HLB do surfactante usado na síntese tem um impacto no tamanho das partículas e, geralmente, quanto menor o valor de HLB, menor o tamanho da partícula [62, 64]. Na síntese de microcápsulas, os surfactantes mais usualmente aplicados são o tween (8, 20, 40 e 80), span (20, 80 e 85), dodecil sulfato de sódio (SDS), álcool polivinílico (PVA), entre outros [31].

Por vezes, é referido o recurso a sistemas de surfactante e co-surfactante de forma a melhorar a estabilidade das emulsões. O co-surfactante é um composto com características estruturais anfifílicas, com uma cadeia hidrofóbica curta a média e um pequeno grupo hidrofílico terminal (geralmente um grupo hidroxilo característico dos álcoois). Quando usados em combinação, o complexo surfactante e co-surfactante possibilita a diminuição da tensão interfacial na emulsão, o que resulta na redução do tamanho de partículas [65]. Um exemplo de combinação de surfactantes é o sistema dodecil sulfato de sódio/polietilenoglicol (SDS/PEG). Devido à interação ião-dipolo entre as duas moléculas (Fig. 12), dá-se a criação de uma sinergia entre o SDS e o PEG, que por sua vez permite reduzir a tensão interfacial

e, conseqüentemente, diminuir o tamanho das gotículas na emulsão [66]. Deste modo, a seleção do surfactante é um fator importante na preparação de emulsões, para permitir o controle das gotículas e a estabilização da emulsão.

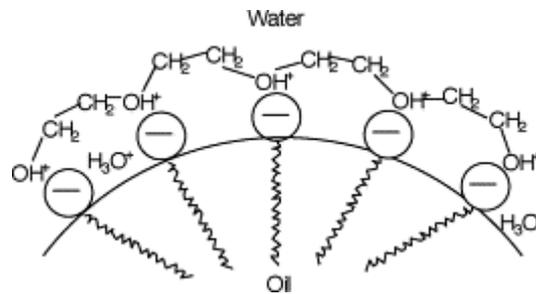


Figura 12 – Representação esquemática da interação entre o sistema de surfactante e co-surfactante (SDS/PEG), adaptado da referência [67].

3.4.2. Coacervação

A coacervação é um processo de encapsulação simples e muito utilizado com elevada eficiência de encapsulação [11]. Este baseia-se no fenômeno de dessolvatação do polímero da sua solução polimérica, dando origem a uma separação de fases em meio líquido, em que uma fase contém polímero, o coacervato, e a outra fase não. Posteriormente, o coacervato é depositado sobre o composto ativo, que se encontra suspenso ou emulsificado na fase sem polímero, dando origem às cápsulas. Deste modo, a coacervação pode ser resumida em três etapas principais: a formação de uma emulsão pela preparação de fases imiscíveis na mistura (agente ativo e a fase líquida contínua); a formação do revestimento pela deposição de uma camada de agente encapsulante ao redor do composto ativo, em resultado da mudança de pH, força iônica ou temperatura e a solidificação das cápsulas através do auxílio de técnicas de aquecimento, dessolvatação ou reticulação.

As técnicas de coacervação são divididas em dois grupos principais: orgânica e aquosa. A coacervação em fase aquosa permite encapsular materiais insolúveis em água, enquanto a coacervação em fase orgânica é usada para encapsulação de materiais hidrossolúveis [1, 68]. Para além disso, o processo de coacervação em fase aquosa pode ser classificado como simples ou complexo, atendendo ao número de biopolímeros empregues no processo e ao mecanismo de separação de fases envolvido [1, 31].

No caso da coacervação simples, apenas um biopolímero é aplicado e o processo de dessolvatação pode ser induzido por alteração da temperatura, por modificação do pH, por adição de um sal ou de um anti-solvente. O processo de coacervação simples pode ser dividido em três etapas: numa primeira fase dá-se a suspensão do agente ativo na solução polimérica (A), seguida da indução da

dessolvatação do polímero, com conseqüente formação de um sistema trifásico, que consiste no agente ativo disperso na fase líquida contínua e o coacervato (B). Posteriormente, dá-se a deposição do coacervato em redor do agente ativo (C) e, por último, a solidificação da parede da microcápsula (D) (Fig. 13) [69].

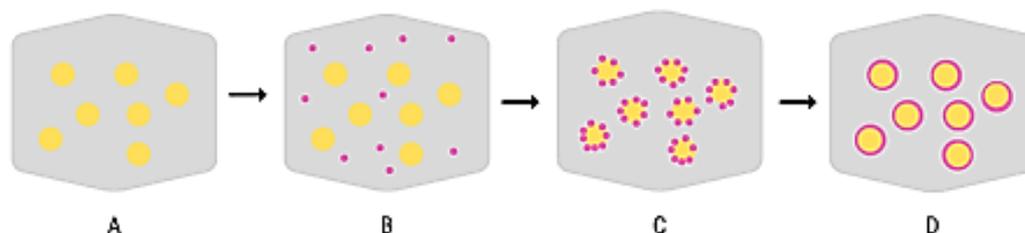


Figura 13 – Representação esquemática de encapsulação pelo método de coacervação simples, adaptado da referência [69].

A separação de fases induzida por alteração de temperatura requer que o polímero seja solúvel num solvente a uma certa temperatura e, com a alteração desta, se torne insolúvel resultando na precipitação do polímero. Este método é aplicável apenas a princípios ativos termoestáveis [70]. No caso de adição do sal, dá-se o processo de *salting out* pela ação de eletrólitos, como por exemplo o sulfato de sódio, que permite a precipitação do polímero pelo aumento da força iónica da fase aquosa provocando a diminuição da solubilidade do polímero. Outro processo consiste na dessolvatação do biopolímero pela adição de um anti-solvente, no qual o polímero não seja solúvel e que seja miscível em água, como é o caso da acetona, etanol ou metanol [69, 70]. Estas condições favorecem as interações macromolécula-macromolécula em detrimento das interações macromolécula-solvente, permitindo a formação das cápsulas [1, 31]. O fenómeno de dessolvatação do polímero por alteração de pH é maioritariamente aplicado no processo de coacervação complexa. No entanto, na literatura surgem alguns exemplos de aplicação deste método de precipitação do polímero no procedimento de coacervação simples. O método envolve a dissolução do agente ativo numa solução polimérica, seguida da precipitação gradual do polímero, cuja solubilidade depende do valor de pH. Deste modo, pela alteração do pH da solução, o polímero tende a tornar-se insolúvel e precipita, dando origem às duas fases [71].

A coacervação complexa envolve a presença de pelos menos dois polímeros de cargas opostas (Fig. 14). Numa primeira fase, dá-se a emulsificação do óleo a encapsular numa solução aquosa que contém os dois biopolímeros de cargas opostas a uma temperatura e pH específicos, geralmente acima da temperatura de gelificação e do ponto isoelétrico, respetivamente (1). Posteriormente, dá-se a separação da fase líquida pobre em polímero da fase rica em polímeros insolúveis, como resultado da

atração electrostática entre ambas, potenciada pelo ajuste de pH (2). De seguida, dá-se a deposição da fase coacervada ao redor do agente ativo, que se encontra suspenso no mesmo meio reacional, formando uma camada uniforme e originando as cápsulas (3). Numa última fase, ocorre a solidificação das paredes das cápsulas através da adição de agentes de reticulação (4) [1, 31].

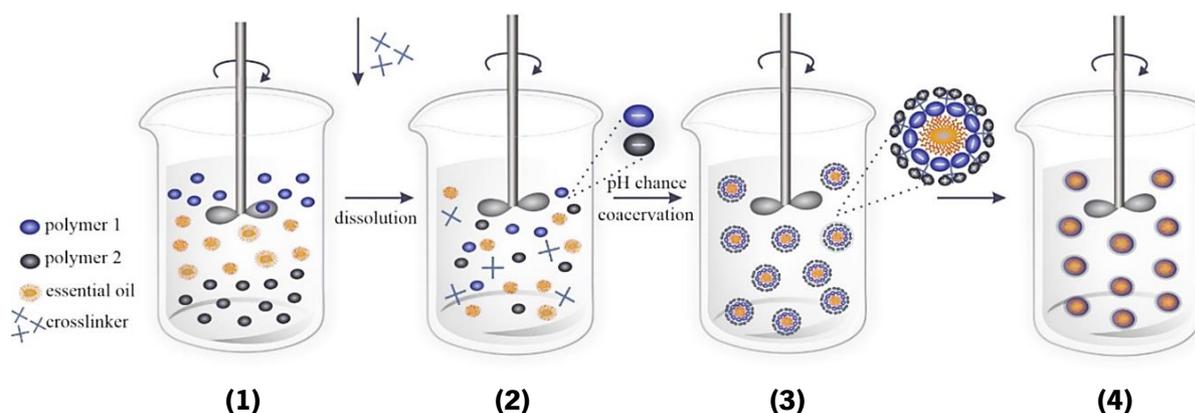


Figura 14 – Representação esquemática de encapsulação pelo método de coacervação complexa, adaptado da referência [31].

No entanto, o processo geral de coacervação não é linear e, atendendo ao polímero utilizado para formação da cápsula, nem sempre são necessárias as três etapas referidas anteriormente. Deste modo, a adição de reagentes adicionais, como reticulantes e surfactantes, a alteração das condições do meio reacional e o número de etapas necessárias no processo de coacervação vai estar dependente das características do polímero selecionado e da facilidade deste para formar membranas.

3.4.3. Gelificação iónica

A técnica de gelificação iónica é um método utilizado na síntese de cápsulas baseado em interações eletrostáticas entre iões com cargas opostas. Geralmente, são utilizados polímeros de quitosano ou alginato, por se tratarem de polímeros iónicos, juntamente com um ião reticulador. O polianião mais utilizado para reticulação na técnica de gelificação iónica é o tripolifosfato (TPP), uma vez que não é tóxico. No caso do quitosano, devido à elevada protonação dos grupos amina, quando este se encontra na presença de um agente aniónico, como o TPP, as cargas opostas resultam em reticulações e permitem a síntese de cápsulas de quitosano (Fig. 15). As propriedades das cápsulas podem diferir consoante as proporções de polímero e agente reticulante usados na reação. A gelificação iónica trata-se de um método de encapsulação de elevado interesse por ser de fácil execução e não exigir condições severas nem solventes agressivos [72, 73, 74].

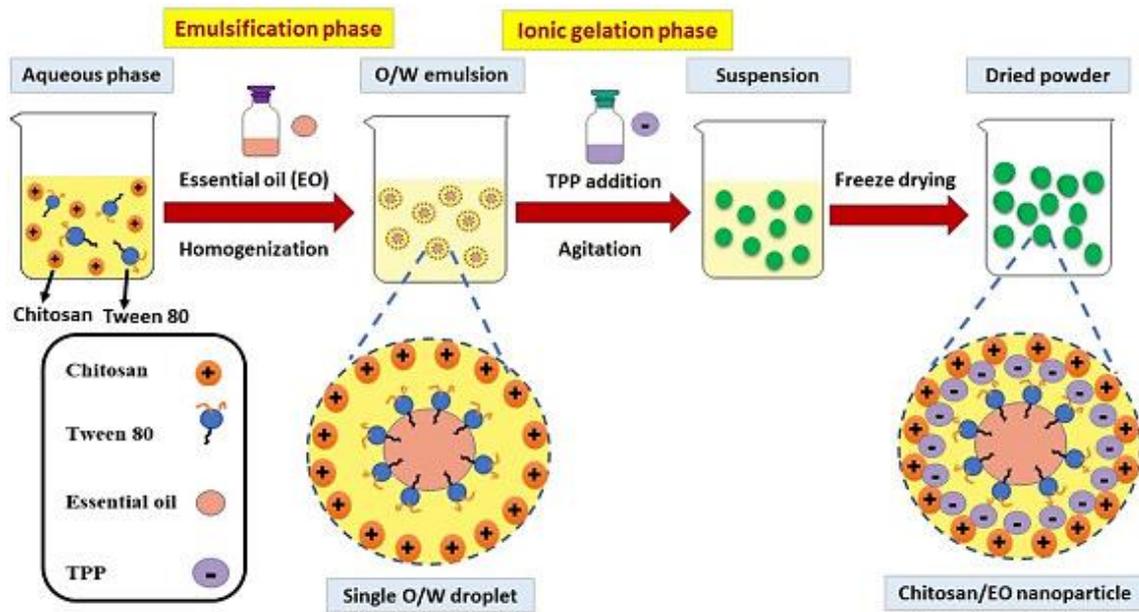


Figura 15 – Representação esquemática de encapsulação pelo método de gelificação iônica, adaptado da referência [15].

3.4.4. Liofilização

A liofilização é uma técnica de micro e nanoencapsulação frequentemente utilizada, que consiste num processo de desidratação por sublimação para converter os óleos essenciais encapsulados em pó (Fig. 16). Esta conversão, por vezes, é vantajosa para facilitar o manuseamento, armazenamento e transporte. A técnica de liofilização envolve três etapas principais, em que na primeira ocorre a produção da solução que contém o agente ativo e o material encapsulante, na segunda etapa a suspensão preparada é congelada, seguida da terceira etapa, em que se dá a remoção da água e do solvente orgânico (caso utilizado) por sublimação, com vácuo. Apesar de a sua execução ser simples, a encapsulação por liofilização é um método demorado e de custo elevado [11, 75].

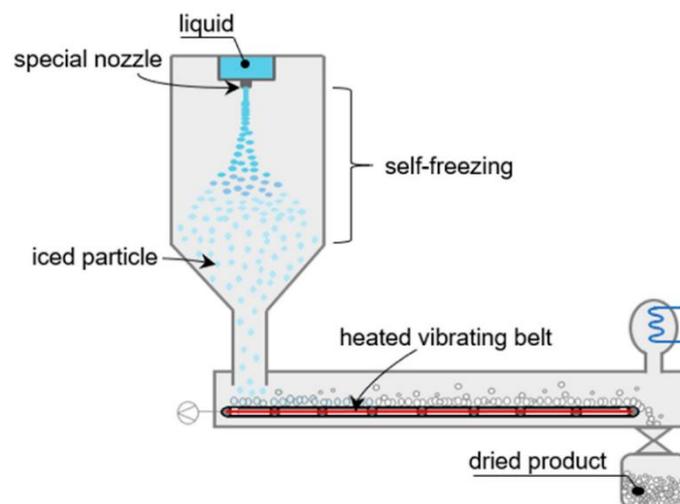


Figura 16 – Representação esquemática de encapsulação pelo método de liofilização, adaptado da referência [76].

3.5. Mecanismos de libertação

Como referido anteriormente, o perfil de libertação de um agente ativo é um fator crucial no desenvolvimento de produtos com funcionalidades acrescidas. Existem vários mecanismos de libertação do agente ativo encapsulado e estes incluem a difusão, a erosão do polímero, a degradação do polímero e a expansão da cápsula (do inglês *swelling*) (Fig. 17). A libertação também pode ser favorecida através de estímulos externos, como o ajuste do pH ou da temperatura, entre outros fatores. O perfil de libertação depende de vários parâmetros, como o valor de coeficiente de difusão, as características físico-químicas do agente ativo e do material de revestimento e o tamanho e forma das cápsulas [11].

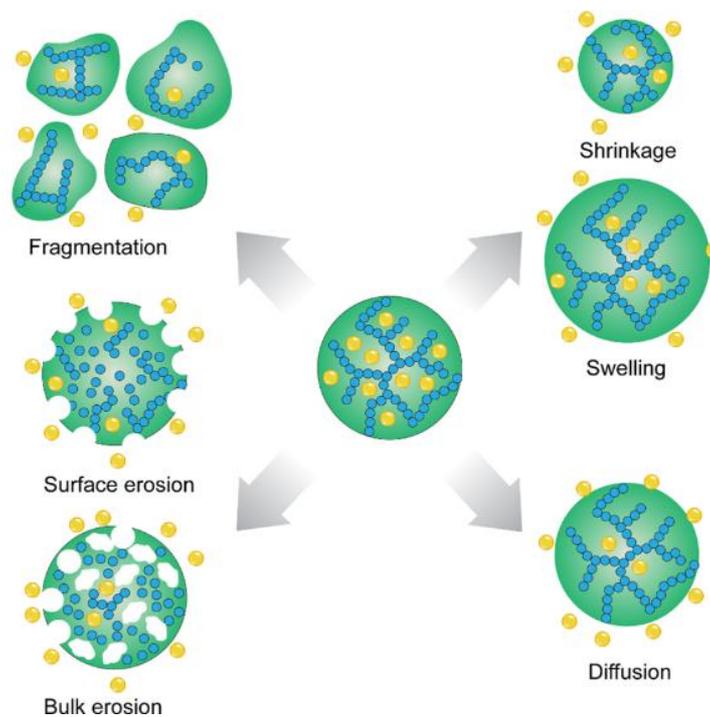


Figura 17 – Representação esquemática dos mecanismos de libertação de agentes encapsulados, adaptado da referência [11].

3.5.1. Difusão

O mecanismo de difusão envolve a libertação do agente ativo através da matriz encapsulante para o ambiente circundante, segundo um gradiente de concentração. A difusão é potenciada pela diferença de concentração do agente ativo no interior e exterior da membrana da cápsula, mantendo-se esta intacta ao longo do processo de libertação. Deste modo, como o agente ativo se encontra em maior concentração no interior da cápsula, este difunde-se pela membrana de revestimento. A taxa de libertação depende de vários fatores como o coeficiente de difusão, a proporção da composição da

cápsula, bem como as possíveis atrações eletrostáticas ou hidrofóbicas entre o revestimento e o agente encapsulado [11, 77].

3.5.2. Erosão

No mecanismo de erosão o agente ativo é libertado devido à erosão do agente encapsulante, e este pode ser classificado como erosão superficial ou erosão em massa. No primeiro caso, a erosão ocorre nos polímeros presentes na superfície da matriz, reduzindo lentamente a espessura desta, do exterior para o interior. Este fenómeno ocorre quando a taxa de erosão é maior do que a taxa de penetração da água no interior. O processo de erosão em massa ocorre quando se dá a penetração da água na maior parte do polímero, o que resulta na erosão homogénea de toda a matriz. Neste caso, a taxa de penetração da água é superior à taxa de erosão. A erosão da matriz pode ocorrer devido a processos de erosão física, química ou enzimática [11, 78].

3.5.3. Degradação

O mecanismo de degradação envolve a rutura física do revestimento, geralmente conseguido por aplicação de forças mecânicas, como cisalhamento ou compressão. O agente ativo é libertado por difusão, mas a uma taxa de libertação elevada, devido ao aumento da área superficial e à diminuição do caminho de difusão. Deste modo, a taxa de libertação do agente ativo é proporcional à área superficial do sistema de libertação [11, 78].

3.5.4. Expansão ou Intumescimento

O mecanismo de expansão, do inglês *swelling*, envolve a absorção de solvente por parte da matriz polimérica, sem que ocorra a sua dissolução. Este mecanismo de libertação ocorre principalmente em sistemas de matrizes de base hidrofílica, como alguns derivados de celulose, o quitosano e o alginato, entre outros [79]. Em sistemas controlados por expansão da matriz polimérica, a membrana sofre uma transição de um estado vítreo e rígido para um estado maleável, após a interação com o solvente. A absorção do solvente e conseqüente expansão da matriz, resulta num aumento do tamanho dos poros, o que por sua vez, permite a libertação do agente ativo encapsulado [11, 78].

3.6. Liberação controlada por estímulos externos

A liberação controlada de agentes ativos pode ser potenciada por estímulos externos que resultam em mudanças estruturais no material de revestimento. Um dos estímulos mais reportados na literatura é a alteração de pH. Essa alteração pode afetar a solubilidade do material de revestimento, que geralmente contém grupos sensíveis ao pH, propensos a protonação ou desprotonação e, conseqüentemente permitir a liberação do agente ativo [30]. Um dos exemplos mais referidos na literatura, como polímero responsivo ao estímulo de pH é o quitosano. Num estudo de encapsulação de carvacrol em partículas de quitosano, verificou-se uma maior liberação do agente ativo em condições ácidas (pH 3), relativamente aos outros dois meios em estudo (pH 7 e pH 11). A maior liberação de carvacrol em meio ácido resulta das características estruturais do polímero, que sofre expansão e dissolução parcial causadas pela repulsão de grupos amino livres protonados com as cadeias vizinhas [80]. Num outro estudo, a fragrância volátil, α -pineno, foi encapsulada numa matriz de polímero à base de ácido metacrílico, para conferir capacidade de resposta à variação de pH. A liberação do agente ativo é desencadeada a pH neutro ou ligeiramente alcalino, devido à desprotonação dos grupos carboxílicos do polímero [30].

A resposta à mudança de temperatura também promove a liberação do agente encapsulado e pode ocorrer por dois mecanismos distintos. O primeiro mecanismo designa-se de liberação sensível à temperatura, onde o material de revestimento colapsa ou expande quando exposto à temperatura crítica. Geralmente, quando a temperatura ultrapassa a temperatura crítica de solubilidade, a solubilidade dos polímeros termicamente responsivos diminui, o que resulta numa contração de volume e aumento da porosidade da parede da cápsula, permitindo a liberação do agente ativo [30]. No segundo mecanismo, designado de liberação ativada por difusão, o material de revestimento é exposto a um aumento de temperatura, permitindo a sua fusão e conseqüente liberação do agente encapsulado [81]. Num estudo que envolvia a encapsulação de um inseticida em microsferas de quitosano e gelatina, verificou-se a liberação controlada do agente ativo, segundo o estímulo da temperatura. Abaixo dos 20 °C, as interações intra e intermoleculares entre o quitosano e a gelatina, promovem a formação de pontes de hidrogénio que reforçam a estrutura da matriz de revestimento. No entanto, acima dos 20 °C, a estrutura polimérica sofre extensão da cadeia molecular da gelatina, com conseqüente formação de poros nas microsferas. Isto leva, a uma redução das interações de pontes de hidrogénio intermoleculares, promovendo a difusão e migração do agente ativo [82].

3.7. Metodologias para determinação da eficiência de encapsulação e *loading*

A determinação da eficiência de encapsulação e da capacidade de *loading* são fatores relevantes na caracterização dos sistemas encapsulados. Na literatura estão descritos vários métodos de quantificação destes dois parâmetros. Estes podem ser métodos diretos, quando envolvem maioritariamente a extração do agente encapsulado, seguida da quantificação deste através de técnicas de caracterização, ou por métodos indiretos como a determinação do teor de compostos fenólicos ou da atividade antioxidante.

Geralmente, a quantificação destes dois parâmetros é conseguida através de metodologias de análise baseadas na técnica de espectroscopia de ultravioleta-visível (UV-Vis), após a extração do agente ativo. Usualmente recorre-se ao processo de centrifugação como método de preparação da amostra para análise posterior da absorvância do sobrenadante no comprimento de onda máximo do agente ativo. Este mecanismo foi aplicado em vários estudos com óleos essenciais encapsulados, como é exemplo, o óleo de manjeriço, hortelã-pimenta, chá verde e cravinho [15, 33, 57].

No entanto, nem sempre é necessário recorrer ao processo de extração do agente ativo para quantificação dos parâmetros referidos. Após a preparação da amostra, por centrifugação e da análise do sobrenadante obtido, através da técnica de espectroscopia de UV-Vis, é possível fazer a quantificação de agente ativo presente no meio reacional por encapsular e fazer a diferença relativamente à quantidade de agente ativo inicialmente usada no processo de encapsulação.

3.7.1. Métodos de extração do agente ativo

3.7.1.1. Destilação

Num estudo realizado em microesferas com óleo de tomilho encapsulado, a extração foi conseguida pelo processo de destilação com auxílio do aparelho Clevenger, usualmente utilizado para extração de óleos essenciais (Fig. 18). As partículas foram colocadas num balão conectado na extremidade inferior do Clevenger, enquanto no condensador, conectado à extremidade superior, circulava éter de petróleo. O balão foi aquecido até à ebulição até não se registar nenhuma variação do volume de óleo extraído.

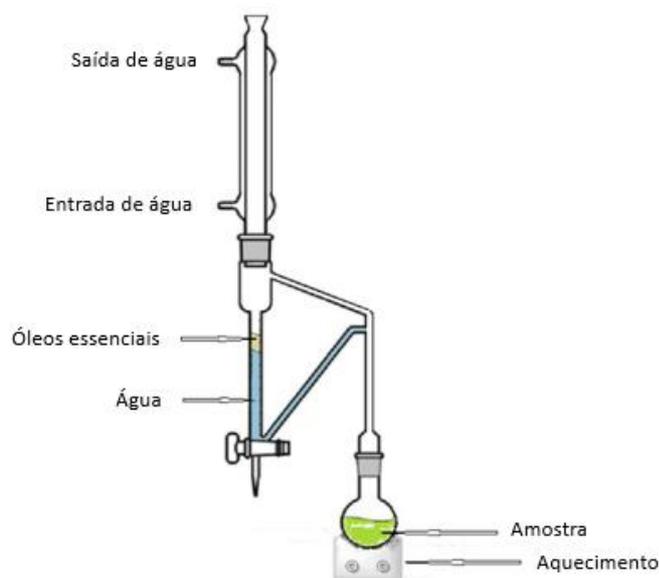


Figura 18 – Representação esquemática do extrator Clevenger, adaptado da referência [85].

O mesmo método de extração foi aplicado num estudo de encapsulação de óleo de limão. As partículas foram colocadas num balão, juntamente com uma solução de citrato de sódio para auxiliar a extração e libertação do óleo, enquanto no condensador, circulava etanol frio. A mistura foi aquecida até à ebulição e o processo decorreu até que a variação do volume de óleo extraído não fosse detetada no aparelho. A eficiência de encapsulação por este mecanismo é determinada considerando a relação entre a quantidade de óleo extraído após destilação e a quantidade inicial de óleo essencial [83, 84].

3.7.1.2. Sonicação

Num trabalho de investigação, a extração do óleo essencial de colza e de linhaça de microcápsulas de etilcelulose foi obtida por sonicação. Para isso, as microcápsulas foram adicionadas a uma solução de éter de petróleo e sujeitas a um banho de ultrassons. Nesse estudo, a quantificação do teor de óleo encapsulado foi analisada por gravimetria, através da comparação do peso das microcápsulas inicial e após extração [38].

3.7.1.3. Soxhlet

Num estudo de encapsulação do óleo essencial de coentro, este foi extraído pelo método de Soxhlet. Este método consiste numa extração sólido-líquido, baseado em refluxo, para extrair constantemente a amostra com solvente fresco, por meio do uso de calor (Fig. 19).

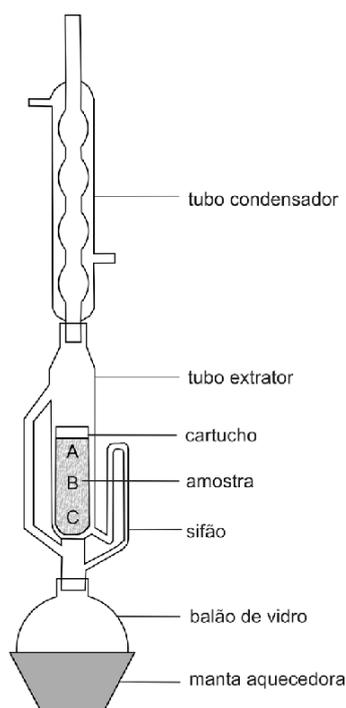


Figura 19 – Representação esquemática do extrator Soxhlet, adaptado da referência [88].

Na extração por Soxhlet, o solvente utilizado é vaporizado através da aplicação de uma fonte de calor e posteriormente condensado, num condensador de refluxo, de forma a gotejar no compartimento onde se encontra a amostra. Quando o solvente, carregado com o material extraído, atinge o nível do sifão, este é drenado novamente para o balão de vidro onde se encontrava inicialmente, juntamente com as substâncias dissolvidas da amostra. Este processo é repetido várias vezes durante um período predeterminado. Deste modo, o conteúdo total de óleo encapsulado pode ser quantificado por gravimetria, pela diferença entre a massa inicial das cápsulas e a massa obtida, após extração com Soxhlet [86, 87].

3.7.2. Determinação do teor de compostos fenólicos

Uma das metodologias mais descritas na literatura para a análise e caracterização do *loading* e libertação de óleos essenciais encapsulados, consiste na determinação do teor de compostos fenólicos, através do método de Folin-Ciocalteu, uma vez que estes se encontram em abundância nos óleos essenciais. Este método consiste na capacidade de redução do reagente de Folin-Ciocalteu, pela transferência de eletrões, em meio alcalino, a partir dos compostos fenólicos. Esta redução possibilita a consequente formação de um complexo azul, que pode ser quantificado por espectroscopia de UV-Vis. O reagente de Folin-Ciocalteu, inicialmente de coloração amarela, possui o complexo de ácido fosfomolibdico/ácido fosfotungstico ($H_3PMo_{12}O_{40}$)/($H_3PW_{12}O_{40}$), em que o molibdénio e o tungsténio estão

no estado de oxidação +6. Como resultado da reação com o agente redutor, forma-se o complexo de azul de molibdênio e de azul de tungstênio no estado de oxidação +5. Este complexo, de coloração azul, absorve a 765 nm e permite quantificar o teor de compostos fenólicos (Fig. 20).

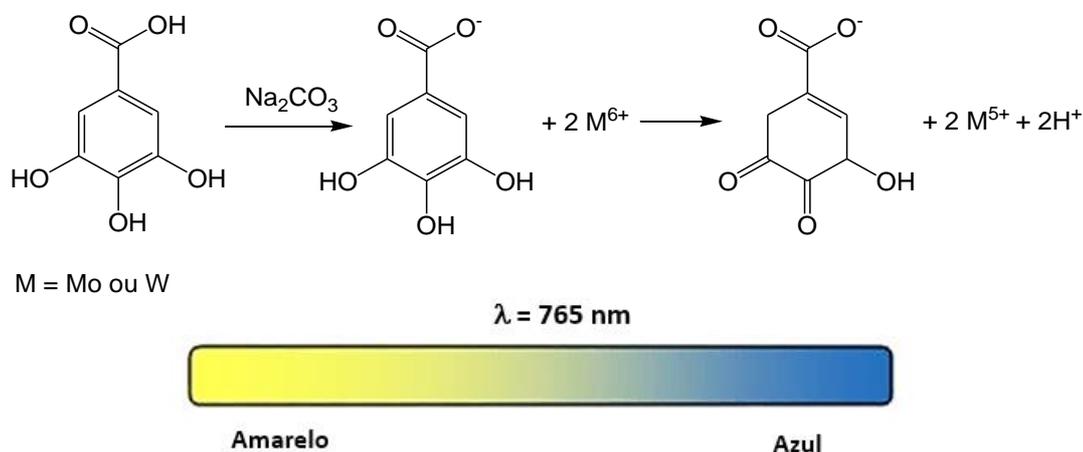


Figura 20 – Representação esquemática da reação entre os compostos fenólicos e os derivados dos ácidos fosfotúngstico e fosfomolibdico em meio alcalino (a); Variação de cor observada no método de Folin-Ciocalteu (b), adaptado da referência [92].

Através de uma curva de calibração, geralmente com o ácido gálico como padrão, é possível correlacionar a intensidade da cor e a concentração de fenóis presentes na amostra, sendo o resultado expresso em equivalente de ácido gálico [89]–[91].

3.7.3. Determinação da atividade antioxidante

A determinação da atividade antioxidante é outra metodologia aplicada na análise do *loading* de cápsulas com compostos, tais como os óleos essenciais e a vitamina E. Esta determinação pode ocorrer por diferentes métodos, sendo os mais utilizados o método de 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), o método de 2,2'-azino-bis(ácido 3-etilbenzotiazolona-6-sulfônico) (ABTS) e o método de poder antioxidante redutor férrico (FRAP). Os três métodos referidos podem ser divididos em dois grupos, atendendo ao reagente oxidante. No caso dos métodos de DPPH e ABTS são usados produtores de radicais orgânicos e no caso do método de FRAP são usados iões metálicos para oxidação [91].

3.7.3.1. Análise com 2,2-difenil-1-picrilhidrazil

O método de análise com 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) baseia-se na capacidade de eliminação de radicais livres, como é exemplo o DPPH ($C_{18}H_{12}N_5O_6$), através da transferência de um átomo

de hidrogénio por parte das moléculas antioxidantes, neste caso, os óleos encapsulados. Trata-se de um método simples e rápido, em que o composto a analisar é misturado com a solução de DPPH e a absorvância é registada. O DPPH é um radical livre e estável devido à deslocalização do eletrão. Essa deslocalização origina a cor violeta intensa, cuja absorção em solução de etanol ocorre na faixa entre 515-520 nm. Quando ocorre a transferência de um átomo de hidrogénio dos agentes oxidantes, o eletrão ímpar do átomo de nitrogénio do DPPH fica na sua forma reduzida com conseqüente perda da cor violeta (Fig. 21). A descoloração resultante é proporcional em relação ao número de eletrões absorvidos [93].

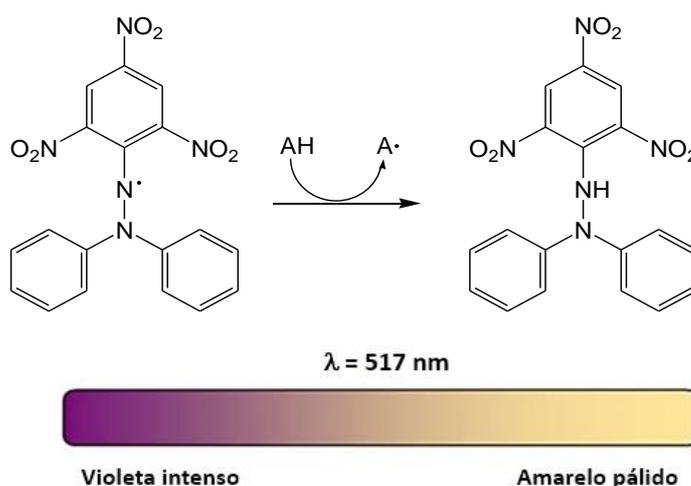


Figura 21 – Representação esquemática da reação entre um antioxidante e o DPPH (a) e da variação de cor observada no método de DPPH (b), adaptado da referência [92].

3.7.3.2. Análise com Ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)

A análise com o ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS) baseia-se na interação entre um antioxidante e o catião radical ABTS^{•+} pré-gerado. O radical ABTS é um composto cromóforo quimicamente estável, com alta solubilidade em água e apresenta um máximo de absorvância a 734 nm [92]. Normalmente, o ABTS^{•+} é gerado por meio da reação do ABTS com persulfato de potássio, dando origem a uma solução de cor verde-azulada profunda. Pela adição de um composto antioxidante, ocorre a redução do ABTS^{•+} a ABTS e conseqüente perda de coloração do meio reacional (Fig. 22). A eliminação do radical ABTS^{•+} pode ser facilmente detetada quantitativamente, por espectroscopia de UV-Vis, devido à diminuição da intensidade de cor e da absorção a 730-734 nm [94].

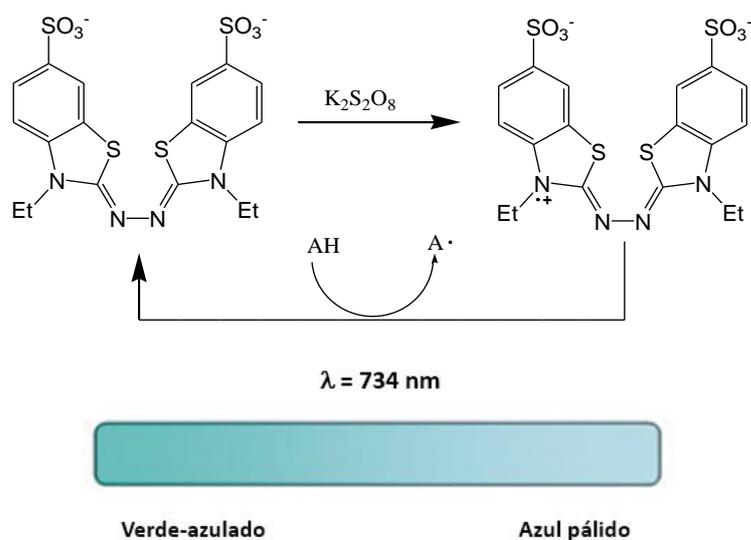


Figura 22 – Representação esquemática da reação envolvida no método de ABTS com a síntese do catião radical ABTS^{•+} e reação entre este e um antioxidante (a) e da variação de coloração no método de ABTS (b), adaptado da referência [92].

3.7.3.3. Análise do poder antioxidante de redução férrica

A análise do poder antioxidante de redução férrica (FRAP) é um método baseado na capacidade de redução do complexo de tripiridiltriazina férrica (Fe(III)-TPTZ), por parte dos antioxidantes, dando origem ao complexo tripiridiltriazina ferrosa (Fe(II)-TPTZ), um produto de coloração azul (Fig. 23).

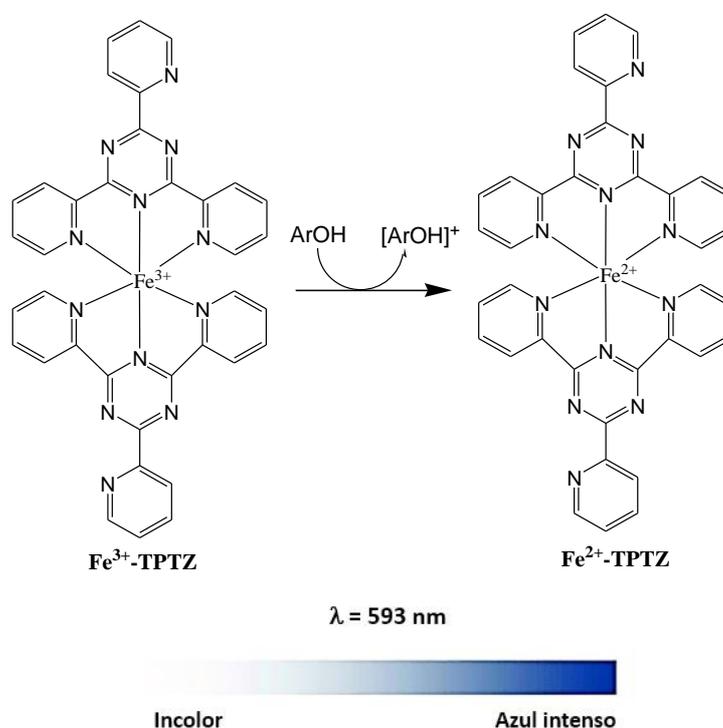


Figura 23 – Representação esquemática da reação entre um antioxidante e o complexo (Fe(III)-TPTZ) (a) e da variação de cor observada no método de FRAP (b), adaptado da referência [92].

Esta reação de redução de Fe(III) a Fe(II) ocorre em ambiente ácido e permite determinar a atividade antioxidante através da intensificação da cor azul, que é passível de ser quantificada por espectroscopia de UV-Vis a 593 nm [92, 95].

3.8. Funcionalização de têxteis

A funcionalização de produtos têxteis com a incorporação de materiais encapsulados tem proporcionado uma evolução nesta indústria, com conseqüente crescimento do seu valor no mercado [96]. Nesse sentido, a encapsulação surge como forma de incorporação de agentes ativos em substratos têxteis, conferindo propriedades funcionais como atividade antimicrobiana e antioxidante, repelência a insetos, proteção UV, fragrâncias, termorregulação e retardantes de chama [97].

A incorporação de cápsulas nos produtos têxteis pode ser alcançada por via de várias técnicas, tais como, esgotamento (do inglês *exhaustion*), foulardagem (do inglês *padding*), pulverização (do inglês *spray coating*) e impressão (do inglês *printing*) [97].

O método de pulverização (*spray coating*), de interesse para o presente trabalho, trata-se de uma técnica simples, rápida e de baixo custo. A formulação que contém o agente ativo é atomizada e pulverizada no tecido através do bico de pulverização, presente na pistola, sob ação de ar comprimido, numa câmara fechada (Fig. 24). A subsequente secagem e cura adicional é realizada por tratamento térmico a alta temperatura num tapete de secagem, para termofixar as cápsulas no tecido [97]–[99].

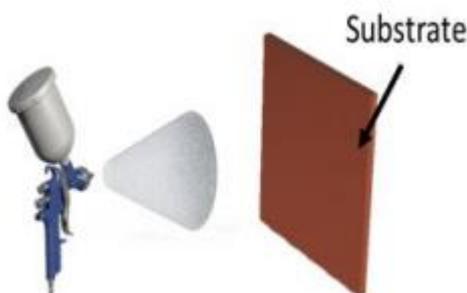


Figura 24 – Representação esquemática de funcionalização de têxteis pela técnica de pulverização, adaptado da referência [100].

O processo de fixação das cápsulas em substratos têxteis consiste numa etapa crítica para garantir a durabilidade e eficácia das propriedades acrescidas do tecido [101]. As cápsulas devem ser formuladas para aplicação em tecidos sem alterar significativamente o produto têxtil. Deste modo, a formulação com as cápsulas a fixar no substrato têxtil pode incluir agentes de reticulação, aglutinantes,

pigmentos, surfactantes e agentes espessantes de controlo de viscosidade [96]. O método de adesão envolve o uso de ligantes que podem ser resinas sintéticas, tais como resinas de ureia, melanina-formaldeído, poliuretano, resinas epóxi, resinas de acetato de vinila e reticulantes polifuncionais, como por exemplo, ácidos policarboxílicos ou reticulantes à base de formaldeído [96, 101].

4. Técnicas de caracterização

As metodologias utilizadas para a caracterização das partículas e dos reagentes usados para a síntese das mesmas, serão abordadas ao longo deste capítulo, no qual será dada ênfase à utilidade que cada uma das metodologias para a obtenção dos resultados experimentais.

4.1. Microscopia ótica

A microscopia ótica (OM) é uma técnica que permite obter imagens ampliadas de objetos de reduzidas dimensões, com o auxílio de um sistema de lentes óticas ao qual se aplica um feixe de radiação luminosa. O conjunto de lentes responsável pela ampliação da imagem é constituído pelo sistema de oculares e pelo sistema de objetivas, sendo que, a ampliação total resulta do produto da capacidade de ampliação de ambos os sistemas. O microscópio ótico possui quatro objetivas montadas no revólver com magnitudes de ampliação diferentes, 4×, 10×, 40× e 100×, correspondendo a ampliações de imagem de 4, 10, 40 e 100 vezes, relativamente à visualização a olho nu.

A presente técnica foi de grande importância na análise morfológica das partículas sintetizadas e na determinação da sua dimensão.

4.2. Microscopia eletrónica de varrimento

A microscopia eletrónica de varrimento, (do inglês *scanning electron microscopy* – SEM) é uma técnica que permite examinar e registar a topografia da superfície das amostras em estudo, pela obtenção de imagens de alta resolução, numa gama de ampliação superior à conseguida através de OM.

O princípio de funcionamento baseia-se na incidência de um feixe de eletrões num ponto da amostra, que é depois arrastado pela superfície desta. As amostras são percorridas por um feixe de eletrões, primeiramente condensado por uma lente de condensação e, subsequentemente focado por uma lente objetiva. A interação do feixe com a amostra provoca a libertação de eletrões secundários por parte da superfície desta, e estes são detetados e usados na formulação da imagem.

O recurso a esta técnica permitiu perceber a morfologia das partículas sintetizadas e estimar a dimensão das mesmas.

4.3. Dispersão dinâmica de luz

A técnica de dispersão dinâmica de luz (do inglês *dynamic light scattering* – DLS) é aplicada na caracterização da distribuição de tamanho de partículas, emulsões e moléculas dispersas ou dissolvidas num líquido. Esta técnica baseia-se no conceito de movimento Browniano, no qual as partículas em suspensão movem-se aleatoriamente devido às colisões com as moléculas de solvente. Durante esse processo, um feixe de luz monocromática incide numa célula que contém a amostra. Quando a luz atinge a partícula em movimento aleatório provoca um desvio de Doppler, alterando o comprimento de onda da luz, estando esta relacionada com o tamanho das partículas. Para além da medição do tamanho das partículas, a análise de DLS permite concluir sobre a homogeneidade da amostra através do índice de polidispersão (do inglês *polydispersity index* – PDI). O PDI varia entre 0 e 1, consoante a gama de diâmetros encontrados em relação à média de diâmetros. Quanto maior o intervalo de diâmetros, mais dispares são os tamanhos, o que resulta num PDI mais elevado.

As amostras a serem analisadas pela técnica de DLS devem ser translúcidas e homogéneas e não precipitar no fundo da cuvete, recipiente onde são contidas as amostras durante a análise. Qualquer tipo de precipitação, confirma a presença de partículas maiores e que podem estar relacionadas a uma dispersão inadequada, comprometendo a análise.

A técnica de DLS foi de elevada importância na caracterização do tamanho das partículas sintetizadas e para perceber o efeito das diferentes variáveis e condições de síntese na dimensão destas.

4.4. Análise termogravimétrica

A análise termogravimétrica (do inglês *thermogravimetric analysis* – TGA) é uma técnica de análise na qual se monitoriza a variação de massa de uma determinada amostra ao longo do tempo e em função da temperatura em atmosfera controlada. O programa de temperaturas pode ser dinâmico ou isotérmico. No primeiro caso, a amostra é sujeita a um gradiente de temperatura, segundo velocidades de aquecimento pré-determinadas. No segundo caso, a amostra é sujeita a uma temperatura constante durante um certo intervalo de tempo. As amostras analisadas pela técnica de TGA podem estar no estado sólido ou líquido e a massa da amostra a analisar é reduzida, podendo variar entre 1-100 mg.

O equipamento de TGA é composto por uma termobalança, no qual é colocado o cadinho com a amostra e onde ocorre a pesagem contínua desta, um forno com um sistema de controlo da atmosfera no seu interior e um sistema de registo dos resultados. A técnica de TGA é mais utilizada para medições qualitativas, mas permite medições quantitativas.

O resultado das medições de TGA é apresentado segundo uma curva termogravimétrica que pode ser apresentada na forma integral ou diferencial. Na sua forma integral é representada a perda de massa, absoluta ou em percentagem, em função da temperatura ou do tempo, conforme se trate de um ensaio dinâmico ou isotérmico, respetivamente. Na sua forma diferencial, a perda de massa e a temperatura a que ocorre este processo é determinada por integração da curva da forma integral.

Esta técnica foi de elevada importância na caracterização térmica dos polímeros e dos agentes ativos usados na síntese das partículas, bem como para a caracterização das mesmas. As variações de peso obtidas pelo método de TGA permitiram avaliar a estabilidade térmica das partículas sintetizadas.

4.5. Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier – refletância total atenuada

A espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (do inglês *Fourier transform infrared spectroscopy* – FTIR) é uma técnica de espectroscopia vibracional utilizada na caracterização química de amostras. Esta técnica mede as frequências de vibração das ligações intramoleculares, originando um espectro de absorvância ou transmitância cujas bandas são indicativas das frequências de vibração das ligações da amostra. Certos grupos de átomos originam bandas numa gama de frequências, independentemente da restante estrutura da molécula, denominando-se estas de bandas de absorção características dos grupos funcionais. Desta forma, é possível tirar ilações sobre a composição de uma dada amostra. A refletância total atenuada (do inglês *attenuated total reflectance* – ATR) é uma técnica que pode ser acoplada na análise por FTIR, que permite a avaliação direta de amostras no estado sólido e líquido, sem que seja necessária uma preparação prévia das mesmas.

A técnica de FTIR foi de elevada importância na caracterização química dos reagentes usados na síntese das partículas, bem como na caracterização e análise destas.

4.6. Espectroscopia de ultravioleta-visível

A espectroscopia ultravioleta-visível (UV/VIS) é uma técnica que permite determinar a presença e a concentração de compostos que absorvem radiação na gama do visível (400 nm a 800 nm) e ultravioleta (100 nm a 400 nm) do espectro eletromagnético. Nestas faixas de energia, a radiação interage com a amostra, promovendo transições eletrónicas moleculares. A absorção de energia resulta na promoção de eletrões do estado fundamental para níveis de maior energia. Quando estes transitam para um estado de energia inferior, parte ou toda a energia absorvida é libertada. O comprimento de onda utilizado na quantificação do composto em análise, corresponde ao valor para qual se obtém o

máximo de absorvância e que coincide com o comprimento de onda correspondente à energia necessária para ocorrer a transição eletrônica.

A determinação da concentração dos compostos é conseguida por aplicação da lei de Lambert-Beer (Equação 1) que relaciona a absorvância com a concentração da espécie, na qual A representa a absorvância da amostra, ϵ representa o coeficiente de absorção molar, C representa a concentração do composto na amostra e l representa o comprimento ótico da célula.

$$A = \epsilon l C \quad \text{Equação 1}$$

Esta técnica foi de elevada importância para determinar o *loading* e a eficiência de encapsulação das cápsulas sintetizadas, bem como, para traçar os perfis de libertação de cada agente ativo nas cápsulas e nos têxteis funcionalizados.

5. Materiais e Métodos

Ao longo desta secção serão enumerados os materiais utilizados no desenvolvimento do trabalho experimental, bem como os procedimentos adotados para a síntese e análise das partículas obtidas e dos substratos funcionalizados.

5.1. Materiais

Os reagentes utilizados na síntese de partículas ao longo do trabalho experimental incluem etilcelulose (AC190965000, 48% ethoxyl content), SDS (AC226145000, 85%), ácido mirístico (AC156961000, 99%), carbonato de sódio (AC447102500, 99,5%), fornecidos por Acros Organics. O acetato de etilo (E/0900/21,99,8%) e o ácido acético glacial (A/0400/PB17) foram fornecidos pela Fischer Scientific. O Tween 80 (P1754), o Glutaraldeído (814393.1000), a solução de Poloxamer 188 (P5556, 10%), Álcool polivinílico (PVA) e Polietilenoglicol (PEG, 435465) foram fornecidos pela Sigma Aldrich. O PLA Ingeo 2003D NaturalWork foi fornecido pela Resinex. O quitosano (ChitoClear-HQG10, DDA > 95%) foi fornecido pela Primex. O Polietilenoglicol 4000 (PEG 4000, 203-473-3) foi fornecido pela VWR Chemicals. O ácido tânico (A17022) foi fornecido pela Alfa Aesar. O ligante Impranil Eco-DLS foi fornecido pela Covestro. A vitamina E foi fornecida pela Bionanoplus e o óleo essencial (OE) de eucalipto *globulus* fornecido pela Naturitas.

5.2. Síntese das partículas pelos diferentes métodos de encapsulação

5.2.1. Síntese pelo método de evaporação de solvente

A fase orgânica foi preparada pela dissolução de 1,8 g de polímero encapsulante em 90 mL de acetato de etilo com recurso a agitação, no caso de etilcelulose e ácido mirístico, e com recurso a agitação e temperatura (130 °C), no caso do PLA, seguida da adição de 0,9 g de agente ativo (OE de eucalipto e vitamina E). A fase aquosa foi preparada pela dissolução de 1,05 g de tween 80 em 210 mL de água. Após a adição da fase orgânica à fase aquosa, a emulsão foi obtida com recurso a um homogeneizador (Unidrive x 1000D CAT), a uma velocidade de 8000 rpm durante 10 minutos. Depois de obtida a emulsão, recorreu-se ao evaporador rotativo para evaporar o solvente orgânico (45 °C, a 121 mbar), seguida da transferência da dispersão para falcons de 50 mL, para centrifugação a 9000 rpm durante 20 minutos. De seguida, eliminou-se o surfactante por meio de lavagens, pela eliminação do sobrenadante e posterior ressuspensão das partículas em água e centrifugação nas mesmas condições anteriores. Este procedimento de lavagem foi realizado 3 vezes. O *pellet* recolhido foi deixado

a secar à temperatura ambiente e obtido um pó de coloração branca. O método descrito foi baseado num procedimento experimental implementado internamente pelo CeNTI.

Esta síntese foi ainda testada, para os dois agentes ativos, com os polímeros de etilcelulose e ácido mirístico com um conjunto de surfactantes distinto, onde o tween 80 foi substituído por 0,73 g de SDS e 1,79 g de PEG 4000. No caso desta última síntese com o ácido mirístico, o processo de centrifugação foi realizado a 14 000 rpm durante 20 minutos.

5.2.1.1. Estudo do impacto das condições experimentais de síntese pelo método de evaporação de solvente no tamanho das partículas

De forma a estudar o efeito das condições experimentais no tamanho das partículas (tempo e velocidade de agitação de emulsão), foram sintetizadas partículas de etilcelulose com vitamina E e o conjunto de surfactantes SDS/PEG 4000, fazendo alterar os fatores em estudo. O processo de síntese foi mantido como referido anteriormente, excetuando a fase de homogeneização, conforme apresentado na Tabela 5.

Tabela 5 – Condições experimentais aplicadas no estudo do efeito da velocidade e tempo de agitação no tamanho das partículas de etilcelulose com vitamina E e SDS/PEG 4000 como conjunto de surfactantes.

Conjunto de partículas	Velocidade de agitação (rpm)	Tempo de agitação (minutos)
1	8000	10
2	8000	2
3	4000	10

5.2.2. Síntese pelo método de coacervação

A fase orgânica foi preparada pela dissolução de 0,72 g de polímero encapsulante em 100 mL de acetona com recurso a agitação, no caso da etilcelulose e do ácido mirístico, e com recurso a agitação e temperatura (130 °C) no caso do PLA. A fase aquosa foi preparada pela dissolução de 1 g de PVA em 200 mL de água, com recurso a agitação, seguida da adição de 1,32 g de agente ativo (OE de eucalipto e vitamina E). Após a adição do agente ativo, recorreu-se ao homogeneizador durante 5 minutos a 5000 rpm, para permitir a formação de uma emulsão O/W. De seguida, a emulsão preparada foi colocada sob agitação lenta (~100 rpm) e adicionou-se a fase orgânica lentamente (gota a gota), de forma a permitir a precipitação do polímero em volta das micelas formadas pela emulsão. Posteriormente, recorreu-se ao evaporador rotativo, para evaporar o solvente orgânico (60 °C, a 556 mbar), seguida da

transferência da dispersão para falcons de 50 mL, para centrifugação a 9000 rpm, durante 20 minutos. De seguida, eliminou-se o surfactante por meio de lavagens, pela eliminação do sobrenadante e posterior ressuspensão das cápsulas em água e centrifugação nas mesmas condições anteriores. Este procedimento de lavagem foi realizado 3 vezes. O *pellet* recolhido foi deixado a secar à temperatura ambiente e obtido um pó de coloração branca. O método descrito foi baseado num procedimento experimental implementado internamente pelo CeNTI.

No caso da síntese das partículas de quitosano, a fase aquosa foi preparada pela adição de 2 g de tween 80 a 20 g de uma solução de quitosano 2% (p/v) em ácido acético 2% (p/v). De seguida a fase aquosa foi homogeneizada durante 10 minutos, a 6000 rpm. Posteriormente, adicionou-se 2 g de agente ativo à fase aquosa e recorreu-se ao homogeneizador durante 10 minutos, a 6000 rpm, para permitir a formação de uma emulsão O/W. De seguida, o pH da solução foi ajustado pela adição de uma solução de carbonato de sódio (10 g/L) até um pH de 10. De seguida, metade do volume da emulsão obtida foi adicionado, gota a gota, a 20 mL de uma solução de óleo mineral, enquanto a outra metade do volume da emulsão permaneceu intacta. Para ambas as soluções preparadas, com e sem óleo mineral, adicionou-se gota a gota 1 mL de glutaraldeído, como agente reticulante, e deixou-se sobre agitação durante 1 hora, a 35 °C. Finalmente, as cápsulas sintetizadas foram centrifugadas a 9000 rpm, durante 20 min e lavadas com água. O sobrenadante foi descartado e o *pellet* seco à temperatura ambiente e obtido um pó de coloração amarela [29].

O mesmo procedimento foi aplicado para a síntese de cápsulas de quitosano com um outro agente reticulante, em que o glutaraldeído foi substituído pelo ácido tânico, na mesma proporção.

5.2.3. Síntese pelo método de gelificação iónica

Uma solução de quitosano 1% (p/v) foi preparada em 1% (p/v) de ácido acético. Em seguida, foi adicionado 0,5% (p/v) de tween 80, como surfactante, e deixado sobre agitação durante 2 horas. O pH da solução foi ajustado pela adição de uma solução de hidróxido de sódio 1 M, até se atingir um valor de pH de 5,3. Posteriormente, foram adicionados 4 mL de óleo essencial à solução de quitosano e recorreu-se ao homogeneizador a 11000 rpm, durante 15 minutos, para formar a emulsão. Em seguida, foram adicionados à emulsão, sob agitação em banho de gelo e gota a gota, 40 mL de solução de hidróxido de sódio (1 M) e ácido tânico 0,4% (p/v). A agitação foi mantida em banho de gelo por 1 hora, seguida da transferência da dispersão para falcons de 50 mL, para posterior centrifugação a 3500 rpm, durante 1 hora, a 4 °C. De seguida, as partículas foram lavadas três vezes com água a 9000 rpm

durante 15 minutos. O *pellet* recolhido foi deixado a secar à temperatura ambiente e obtido um pó de coloração amarela [102].

5.3. Técnicas de caracterização dos materiais

A caracterização e avaliação do desempenho dos materiais desenvolvidos no decorrer deste trabalho de investigação, foram efetuados recorrendo às técnicas de FTIR-ATR, OM, SEM, DLS, TGA e UV-Vis. Esta avaliação permitiu uma caracterização estrutural, morfológica e térmica dos materiais em causa.

5.3.1. Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier – refletância total atenuada

A caracterização química das partículas e dos reagentes utilizados na síntese destas foi efetuada por intermédio do equipamento FTIR-ATR da Perkin-Elmer, modelo Spectrum 100, ao qual está associado o software SPECTRUM. O equipamento encontrava-se programado para adquirir dados espectrais no modo de transmitância, num intervalo compreendido entre 650 cm^{-1} e 4000 cm^{-1} , após 16 varrimentos e com uma resolução de 4 cm^{-1} . O branco consistiu na leitura do espetro de transmitância do ar. Os valores espectrais de transmitância obtidos foram expressos em percentagem, após a correção com a linha de base obtida previamente.

5.3.2. Microscopia ótica

O tamanho e forma das partículas sintetizadas foram averiguados recorrendo a um microscópio ótico de luz transmitida, da marca Leica, modelo DM 2500 M. Para isso, as partículas secas naturalmente, foram dispersas numa lâmina, para posterior captura da imagem. As imagens obtidas pelo poder de ampliação das objetivas 20 vezes e 50 vezes, permitiram o cálculo do diâmetro das partículas sintetizadas.

5.3.3. Microscopia eletrónica de varrimento

Com o intuito de confirmar a forma e o tamanho das partículas sintetizadas, recorreu-se à técnica de SEM. As análises foram efetuadas do SEMAT (serviços de caracterização de materiais da Universidade do Minho) com o equipamento NanoSEM – FEI Nova 200 (FEG/SEM). As imagens fornecidas permitiram a visualização das partículas numa ampliação de 500 vezes a 200000 vezes.

5.3.4. Dispersão dinâmica de luz

Para determinar o tamanho das partículas sintetizadas recorreu-se ao estudo da distribuição do tamanho de partículas em suspensão pela técnica de dispersão dinâmica de luz, no equipamento DLS Zetasizer. O equipamento estava programado para adquirir apenas os dados relativos ao tamanho de partícula. Para tal, uma alíquota da suspensão de partículas antes e após o processo de lavagem e remoção do sobrenadante foram recolhidas, seguindo-se a análise das mesmas. De cada suspensão foi recolhido 1 mL e adicionado a uma cuvette de plástico e esta inserida no equipamento para aquisição dos dados.

5.3.5. Análise termogravimétrica

A caracterização termogravimétrica das partículas sintetizadas foi realizada no equipamento TGA 209 F1 Libra da marca Netzsch. As análises foram realizadas na presença de um fluxo de ar sintético, num programa de temperatura entre 30 °C e 700 °C, a uma velocidade de aquecimento de 20 °C/min. As amostras foram previamente colocadas à temperatura ambiente e sujeitas a uma humidade relativa de 50%, e depositadas no interior de um cadinho de Alumina (85 µL), promovendo um espalhamento uniforme. As análises de cada amostra foram realizadas em duplicado e segundo a norma ISO 11358:1997(E) "*Plastics – Thermogravimetry (TG) of polymers – General principles*". Após a obtenção dos termogramas, calculou-se as respetivas derivadas e determinou-se as temperaturas de início (T_{onset}) e fim (T_{endset}) de cada etapa de perda de massa das amostras.

Todas as análises termogravimétricas foram executadas no equipamento acima referido, com a exceção da amostra de quitosano. Por avaria do equipamento em causa, a referida amostra foi analisada na termobalança da marca TA Instruments, modelo Q500 existente do Departamento de Engenharia de Polímeros da Universidade do Minho. A análise da amostra foi efetuada nas mesmas condições do equipamento anteriormente utilizado.

5.3.6. Espectroscopia de ultravioleta-visível

Para a determinação do *loading* e da eficiência de encapsulação das partículas sintetizadas, recorreu-se ao equipamento de espectroscopia ultravioleta visível da marca Perkin Elmer, modelo Lambda 35 UV/VIS Spectrometer. Para isso, foram preparadas soluções etanólicas dos agentes ativos, num intervalo de concentrações entre 0,025–0,15 mg/mL para a vitamina E e entre 1,0–3,5 mg/mL para o OE de eucalipto. Procedeu-se à aquisição dos espectros de absorvância dos respetivos agentes

ativos, começando pela solução mais diluída até à mais concentrada. O solvente etanol foi utilizado como referência durante a aquisição dos espectros.

O varrimento dos espectros ultravioleta-visível de todas as soluções referidas foi realizado na gama de comprimento de onda entre os 700 e os 200 nm, a uma velocidade de 480 nm/min e com *s/it* 1. Os valores de absorvância registados na banda de absorção máxima foram utilizados para a posterior construção das curvas de calibração de ambos os agentes ativos, as quais são apresentadas no Anexo II, (Fig. 84-85).

Para o estudo do efeito do estímulo de pH na libertação dos agentes ativos nas partículas de quitosano, procedeu-se à construção de duas curvas de calibração em dois meios de libertação diferentes. Para isso, foram preparadas soluções de vitamina E em tampão fosfato salino (pH 7,4) e em tampão acetato (pH 3,0), num intervalo de concentrações entre 0,050–2,50 mg/mL. Procedeu-se à determinação dos espectros de absorvância da vitamina E em ambos os meios de libertação, e os valores de absorvância registados na banda de absorção máxima foram utilizados para a posterior construção das curvas de calibração, as quais são apresentadas no Anexo II.

5.3.6.1. Determinação do *loading* e da eficiência de encapsulação

O *loading* e a eficiência de encapsulação das partículas sintetizadas foram determinadas por espectroscopia de UV-Vis após extração do agente ativo encapsulado com etanol. Para isso, 100 mg de partículas secas foram dispersas em 25 mL de etanol e homogeneizadas durante 5 minutos a 5000 rpm. De seguida, a suspensão foi centrifugada durante 10 minutos a 9000 rpm, e o sobrenadante foi analisado no espectrofotómetro UV-Vis, de forma a determinar a absorvância máxima, em triplicado, nos comprimentos de onda 284 nm e 273 nm, para vitamina E e para o OE de eucalipto, respetivamente [15, 103]. A solução de etanol foi utilizada como referência.

A quantidade de agente ativo extraído foi calculada com base na curva de calibração de cada agente ativo no meio de extração. O *loading* e a eficiência de encapsulação foram determinadas segundo as equações 2 e 3, respetivamente.

$$\textit{loading} (\%) = \frac{\textit{massa de óleo encapsulado}}{\textit{massa de partículas secas}} \times 100 \quad \text{Equação 2}$$

$$\textit{EE} (\%) = \frac{\textit{massa de óleo encapsulado}}{\textit{massa de óleo adicionado para encapsulação}} \times 100 \quad \text{Equação 3}$$

5.3.6.2. Ensaios de liberação de agentes ativos

Os perfis de liberação dos agentes ativos das partículas sintetizadas foram determinados por espectroscopia de UV-Vis, como já foi referido. Nos testes de liberação, inicialmente as amostras são acondicionadas num banho termostático (Lab. Companion, BS-11) a 37 °C, sob agitação a 120 rpm. No caso das partículas de etilcelulose e PLA, 100 mg de partículas secas foram adicionadas a 30 mL de solução de liberação (etanol 40%) [21, 34]. No caso das partículas de quitosano, os testes de liberação foram realizados em meios distintos com diferentes valores de pH: solução tampão fosfato salino (PBS, pH 7,4) e tampão acetato (pH 3,0) [15, 104]. Para isso, 30 mg de partículas secas de quitosano foram adicionadas a 30 mL de solução tampão, para o estudo do efeito do estímulo de pH na liberação do agente ativo. Para todas as amostras em estudo, em intervalos de tempo pré-definidos (15, 30 e 45 minutos, 1, 1,5, 2, 3, 5 e 7 horas), foi retirada uma alíquota de 5 mL, a qual foi centrifugada a 9000 rpm, durante 5 minutos. Após a análise do sobrenadante, a alíquota previamente retirada é devolvida ao meio de liberação para as análises posteriores, de forma a manter o volume final em agitação. Os meios de liberação foram usados como referência. A quantidade de agente ativo libertado foi calculada com base na curva de calibração de cada óleo, no meio de liberação respetivo (Anexo II, Fig. 84-87).

A capacidade de liberação dos agentes ativos dos têxteis foi determinada por espectroscopia de UV-Vis. Os testes foram realizados nas mesmas condições referidas anteriormente. Para isso, foram retiradas amostras de 5x5 cm de provetes distintas do tecido e colocadas em 30 mL de solução de liberação de etanol (40%) a 37 °C sob agitação constante a 120 rpm. Em intervalos de tempo pré-definidos (15, 30 e 45 minutos, 1, 1,5, 2, 3, 5, 7, 24, 28, 32, 48 e 55 horas), foi retirada uma alíquota de 5 mL e analisada por espectroscopia UV-Vis. O meio de liberação foi usado como referência. A quantidade de agente ativo libertado foi calculada com base na curva de calibração do agente ativo em etanol (Anexo II, Fig. 84-85).

5.4. Funcionalização de têxteis

Com o intuito de funcionalizar substratos têxteis de algodão (tecido 100% algodão), foram realizados estudos preliminares de dispersão, para perceber a melhor composição da formulação a aplicar. Para tal, foram preparadas 8 formulações, em 10 mL de água, com as partículas de etilcelulose e OE de eucalipto, segundo a Tabela 6.

Tabela 6 – Condições do estudo preliminar de dispersão de partículas de etilcelulose e OE de eucalipto.

Formulação 1	Etilcelulose (60 g/L)
Formulação 2	Partículas (60 g/L)
Formulação 3	Partículas (60 g/L) + PVA (2%)
Formulação 4	Partículas (60 g/L) + PEG (2%)
Formulação 5	Partículas (60 g/L) + Poloxamer 188 (2%)
Formulação 6	Partículas (60 g/L) + PVA (2%) + Eco-DL (10 g/L)
Formulação 7	Partículas (60 g/L) + PEG (2%) + Eco-DLS (10 g/L)
Formulação 8	Partículas (60 g/L) + Poloxamer 188 (2%) + Eco-DLS (10 g/L)
Formulação liofilizada	Partículas liofilizadas (60 g/L) + Poloxamer 188 (2%) + Eco-DLS (10 g/L)

Numa primeira formulação foi estudada a dispersão do polímero encapsulante (60 g/L) em água sem a adição de dispersantes. O mesmo foi realizado na segunda formulação, substituindo o polímero pelas partículas de etilcelulose e OE de eucalipto secas à temperatura ambiente. Nas formulações 3, 4 e 5 foi estudada a dispersão das partículas na presença de três dispersantes distintos PVA, PEG e Poloxamer 188, respectivamente, numa concentração de 2% (p/v). Nas formulações 6, 7 e 8 foi estudada a dispersão das partículas, nas mesmas condições anteriores, juntamente com 10 g/L do ligante Impranil Eco-DLS.

Num outro estudo preliminar, a dispersão das partículas em água, após a evaporação do solvente orgânico, não foi deixada secar à temperatura ambiente e foi armazenada no congelador para posterior liofilização. De seguida, testou-se a estabilidade da formulação contendo as partículas liofilizadas (60 g/L), juntamente com o dispersante Poloxamer 188 (2%) e o ligante Eco-DLS (10 g/L).

Para a funcionalização de têxteis 100% algodão, foi preparada uma formulação de 100 mL contendo Poloxamer 188 (2%) como dispersante, 10 g/L de partículas liofilizadas e 10 g/L de eco-DLS, com o auxílio de um agitador mecânico (RS Lab-13 Pro 20) a uma velocidade de agitação de 700 rpm, durante três horas. Posteriormente, a formulação foi aplicada em substratos de tamanho A5, com o auxílio de uma pistola de *spray* Dexter, com uma pressão de 4 Bar. Após a aplicação da formulação, o têxtil foi levado a secar num forno Infradyer, a uma temperatura de 100 °C, durante 1 minuto. Num primeiro ensaio, o processo de aplicação da formulação e secagem, foi apenas realizado uma vez. Num segundo ensaio, o processo de aplicação da formulação, seguida da secagem no forno foi repetida várias vezes, de forma a se obter uma *wet-pickup* alto (*wet pickup* de 90%) (Equação 4).

$$wet\ pickup\ (\%) = \frac{m_{têxtil\ húmido} - m_{têxtil\ seco}}{m_{têxtil\ húmido}} \times 100 \quad \text{Equação 4}$$

6. Resultados e discussão

Ao longo desta secção serão apresentados e discutidos os resultados obtidos no desenvolvimento do trabalho experimental associado à dissertação de mestrado.

6.1. Caracterização Morfológica

Após a síntese das partículas com os diferentes materiais de revestimento e por diferentes métodos de encapsulação, procedeu-se à avaliação do efeito dos parâmetros variáveis em cada síntese, nas características das partículas finais obtidas.

6.1.1. Partículas de etilcelulose

Iniciando pelas partículas de etilcelulose, estas foram preparadas pelos métodos de evaporação de solvente e por coacervação simples, com dois agentes ativos diferentes, o OE de eucalipto e a vitamina E, tendo sido obtidas com ambos os métodos, partículas de forma esférica (Fig. 25). No entanto, verifica-se alguma coalescência de partículas pelo processo de coacervação, contrariamente ao que acontece pelo método de evaporação de solvente, em que se confirma a presença de partículas bem definidas e individualizadas. Isto é indicativo de que o processo de evaporação de solvente é o mais adequado para a encapsulação de ambos os agentes ativos em matriz de base celulósica ou ainda, que as condições de síntese usadas no método de coacervação não foram as mais adequadas. Deste modo, seria vantajoso estudar as melhores condições de síntese no processo de coacervação, ajustando alguns parâmetros, tais como, a concentração e tipo de surfactante, a velocidade de adição da solução de polímero ou o tempo de agitação, de forma a otimizar o processo e alcançar partículas individualizadas.

Relativamente à dimensão das partículas sintetizadas, também se verifica uma divergência nos resultados, atendendo aos dois métodos utilizados. Isto já seria esperado, uma vez que, segundo a literatura, as dimensões das partículas sintetizadas divergem consoante o método de encapsulação aplicado [105]. Atendendo aos resultados obtidos pelas imagens de SEM das partículas de etilcelulose e OE de eucalipto ou vitamina E (Fig. 26), verifica-se que as dimensões das partículas sintetizadas pelo método de evaporação de solvente são superiores relativamente às partículas sintetizadas por coacervação. Isto vai de encontro com o referido na literatura, que reportam que a síntese por evaporação de solvente permite atingir partículas de maiores dimensões [105].

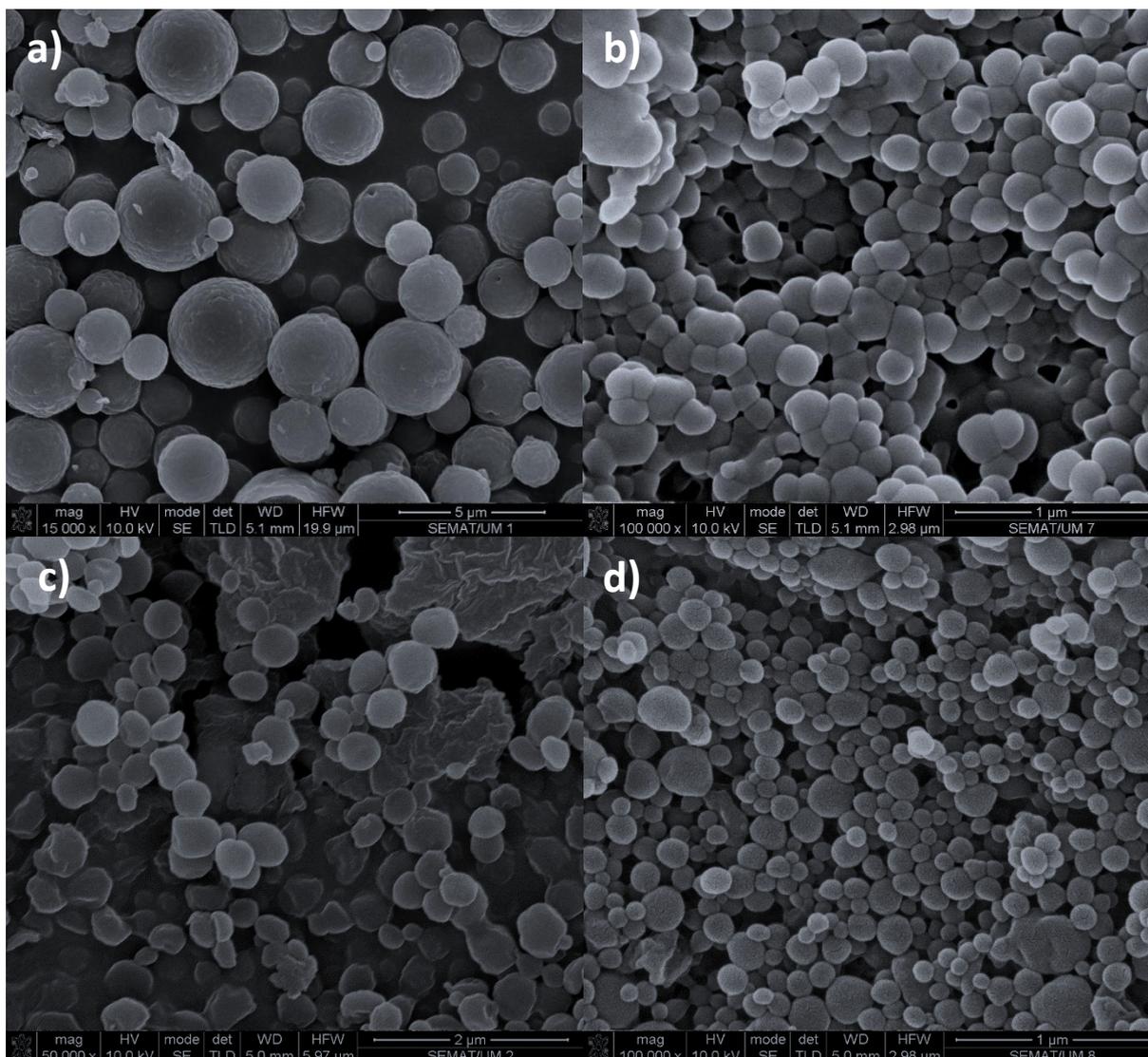


Figura 25 – Imagens capturadas por SEM das partículas de etilcelulose e vitamina E, com SDS/PEG como conjunto de surfactantes, sintetizados por a) método de evaporação de solvente e b) método de coacervação e das partículas de etilcelulose e OE de eucalipto, com SDS/PEG como conjunto de surfactantes, sintetizados por c) método de evaporação de solvente e d) método de coacervação.

Para além do estudo do impacto do método de encapsulação adotado nas características finais das partículas, outros parâmetros foram estudados, entre os quais, a influência de diferentes surfactantes e de diferentes agentes ativos a encapsular. Para isso, foram sintetizadas, através do método de evaporação de solvente, partículas com surfactantes distintos (SDS/PEG 4000 e tween 80) e com agentes ativos distintos (OE de eucalipto e vitamina E), de forma a perceber o impacto desses parâmetros no tamanho das partículas obtidas (Tabela 7). As dimensões das partículas foram determinadas por OM, SEM e DLS e os resultados comparados entre os 3 métodos.

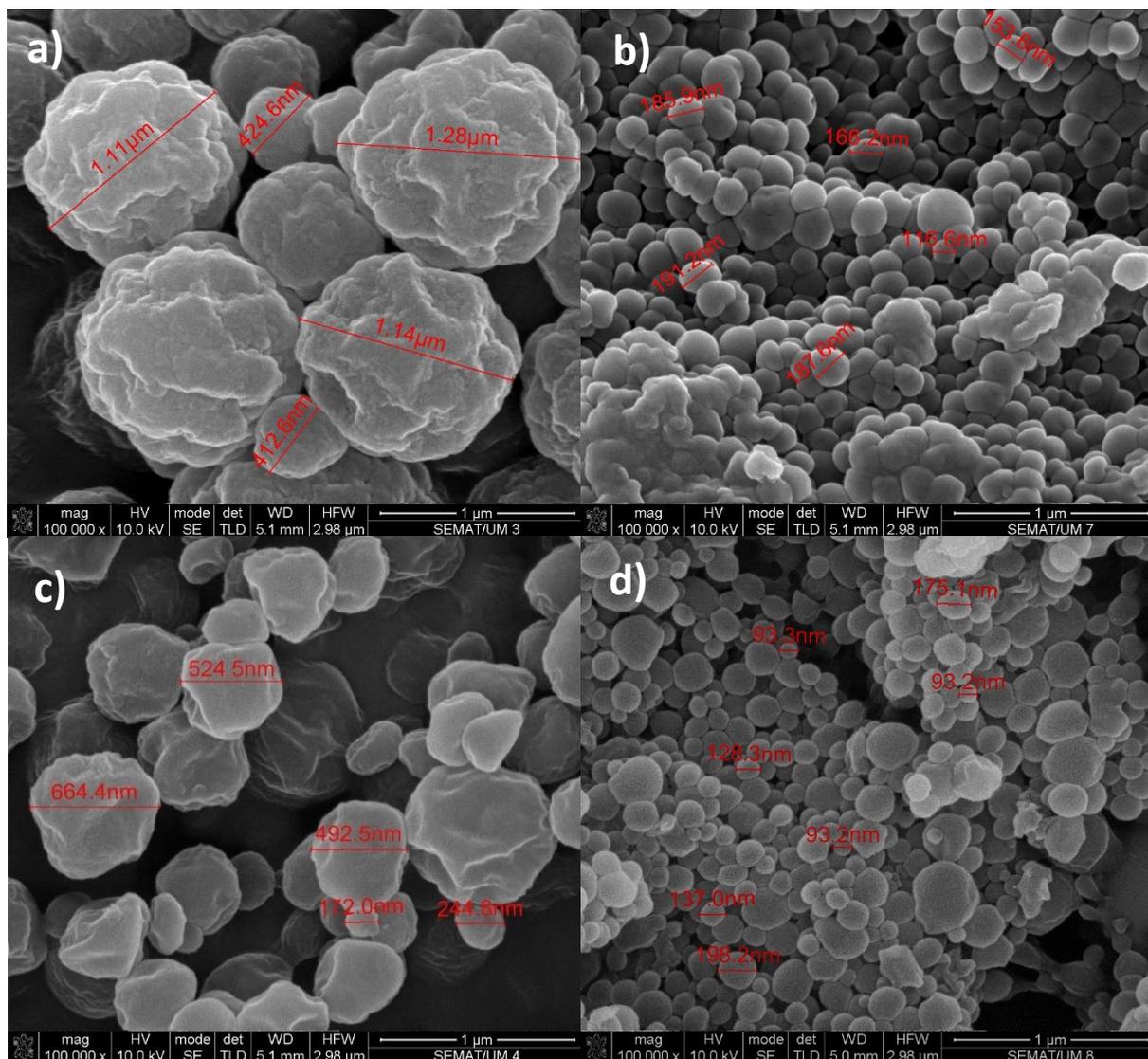


Figura 26 – Imagens capturadas por SEM das partículas de etilcelulose e vitamina E, com SDS/PEG 4000, sintetizados por a) método de evaporação de solvente e b) método de coacervação, com as respectivas dimensões e das partículas de etilcelulose e OE de eucalipto, com SDS/PEG, sintetizados por c) método de evaporação de solvente e d) método de coacervação, com as respectivas dimensões.

Primeiramente, recorreu-se à análise por OM e DLS para o estudo da forma e dimensão das partículas sintetizadas. Atendendo à Tabela 7, destaca-se a divergência dos valores obtidos entre as duas técnicas de análise aplicadas. De forma a confirmar as dimensões das partículas obtidas, recorreu-se a uma terceira análise por SEM, que por sua vez, comprovou que as dimensões das partículas vão de encontro com as obtidas por OM. Por esse motivo, assumiu-se que os resultados de DLS não seriam os mais indicados para as análises posteriores. A divergência de valores pode ser explicada pela incapacidade do equipamento de detetar a totalidade das partículas sintetizadas, e por sua vez, estar a detetar apenas vestígios de polímero e das partículas de menores dimensões. As partículas observadas no OM e SEM, por serem de maiores dimensões, podem depositar na cuvette e, por isso, não serem

detetadas pelo equipamento de DLS, o que justificaria a diferença de tamanhos observada entre os métodos de DLS e microscopia.

Tabela 7 – Dimensões das partículas de etilcelulose com OE de eucalipto e com vitamina E sintetizadas pelo método de evaporação de solvente, analisadas por OM, SEM e DLS.

Partículas de etilcelulose	OM (nm)	SEM (nm)	DLS (nm)
SDS/PEG 4000 + vitamina E (8000 rpm, 2 minutos)	$(1,1 - 2,7) \times 10^3$	$(0,9 - 2,7) \times 10^3$	$51,4 \pm 0,9$
SDS/PEG 4000 + vitamina E (8000 rpm, 10 minutos)	$(1,0 - 1,4) \times 10^3$	-	$22,80 \pm 0,18$
Tween 80 + vitamina E	$(1,3 - 2,0) \times 10^3$	$(0,2 - 1,3) \times 10^3$	$3,85 \pm 0,19$
SDS/PEG 4000 + OE eucalipto	$(0,6 - 1,0) \times 10^3$	137,0 – 398,9	$6,08 \pm 0,07$
Tween 80 + OE eucalipto	$(0,9 - 1,5) \times 10^3$	172,0 – 664,4	$8,05 \pm 0,12$

Relativamente às partículas de etilcelulose com vitamina E, sintetizadas com o conjunto de surfactantes SDS/PEG 4000, apenas as que foram sujeitas a um menor tempo de agitação foram selecionadas para análise por SEM, uma vez que apresentaram partículas mais individualizadas e uniformes quando visualizadas por OM (Anexo I, Fig. 78). Comparando os resultados de OM das partículas com vitamina E, presentes na Tabela 7 e na Fig. 27, nota-se um ligeiro aumento do tamanho de partículas, quando o conjunto de surfactantes SDS/PEG 4000 é substituído por tween 80.

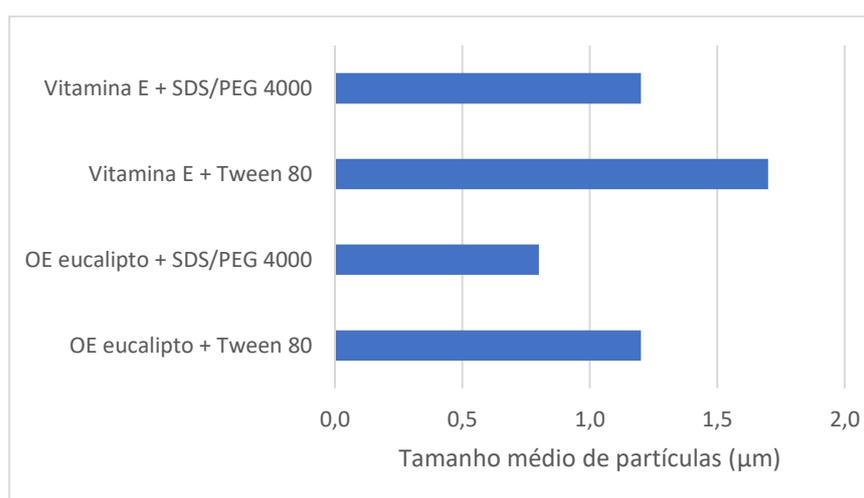


Figura 27 – Representação esquemática da dimensão média das partículas de etilcelulose, com ambos os agentes ativos e surfactantes, sintetizadas pelo método de evaporação de solvente, atendendo aos resultados obtidos pelas imagens de OM.

O mesmo se verifica nas partículas de OE de eucalipto como agente ativo, em que se observa um ligeiro aumento das partículas quando sintetizadas com o surfactante tween 80. Este resultado vem

de encontro ao referenciado em estudos anteriores, em que para o mesmo conjunto de surfactantes em estudo, foi detetada a diminuição de tamanho de partículas quando o conjunto de surfactantes SDS/PEG 4000 foram empregues, face ao tween 80 [66, 106]. A variação de tamanho das partículas consequente da alteração de surfactantes, pode ser explicada devido à sinergia entre o surfactante e co-surfactante (SDS/PEG 4000). A interação ião-dipolo estabelecida pelas duas moléculas resulta numa redução da repulsão eletrostática entre os grupos de carga da molécula de SDS, o que por sua vez, possibilita a diminuição da tensão interfacial e, consequentemente, a dimensão das partículas [66, 106].

Comparando as partículas de etilcelulose com o mesmo surfactante e as mesmas condições de síntese, nota-se novamente uma divergência de tamanhos com a alteração apenas do agente ativo a encapsular (Fig. 28).

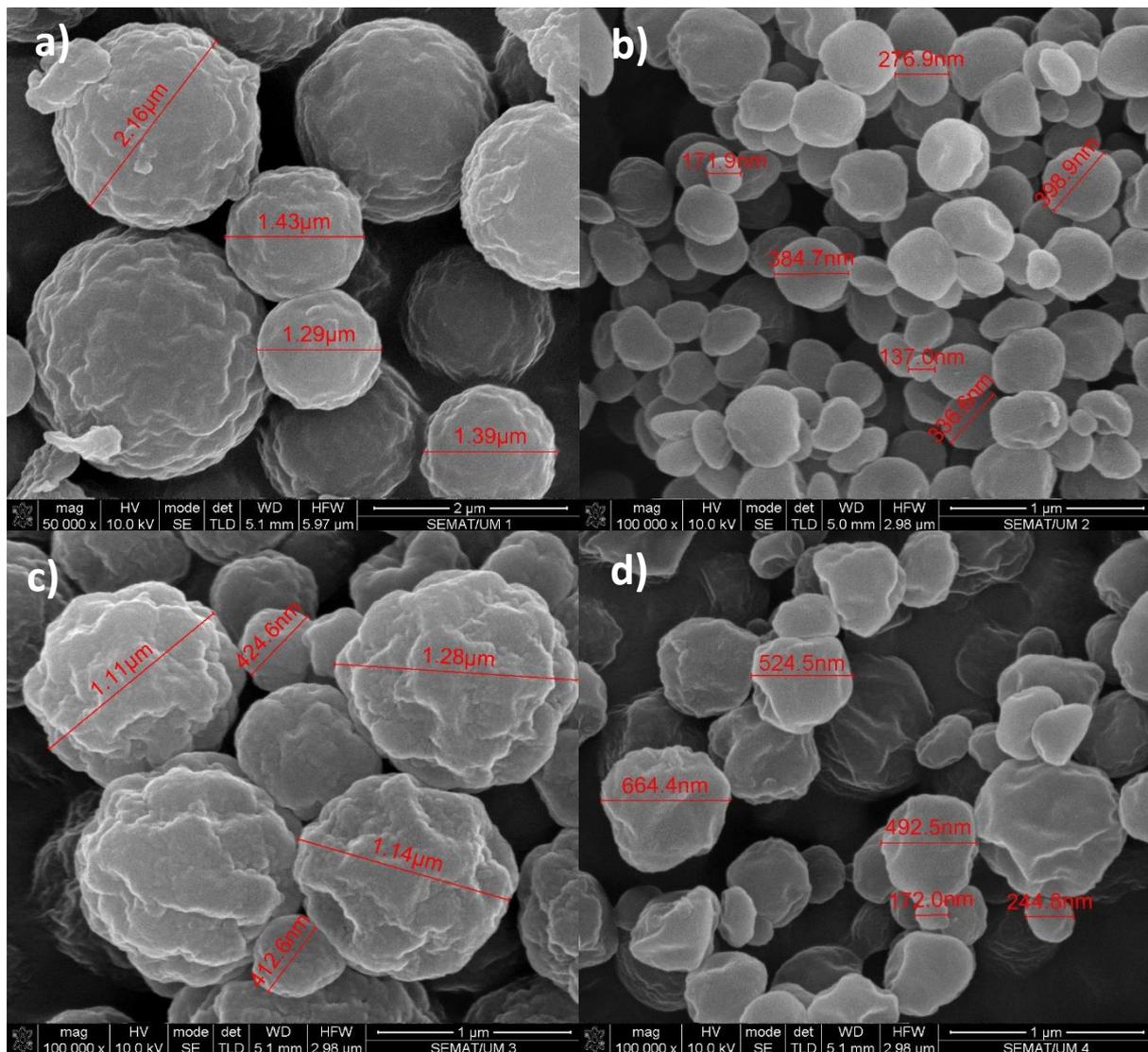


Figura 28 – Imagens capturas por SEM das partículas de etilcelulose sintetizadas pelo método de evaporação de solvente: a) etilcelulose + SDS/PEG 4000 + vitamina E, b) etilcelulose + SDS/PEG 4000 + OE de eucalipto, c) etilcelulose + tween 80 + vitamina E e d) etilcelulose + tween 80 + OE de eucalipto, com as respetivas dimensões.

Ademais, em ambos os conjuntos de partículas com SDS/PEG 4000 e tween 80, verifica-se uma redução da dimensão de partículas resultantes das sínteses com OE de eucalipto. Isto pode ser explicado pela dimensão das moléculas de agente ativo a encapsular, uma vez que, a vitamina E possui uma maior massa molar (430,71 g/mol), relativamente ao OE de eucalipto (154,25 g/mol).

Para além dos parâmetros anteriormente discutidos, as condições de síntese no método de evaporação de solvente foram alvo de estudo, nomeadamente, o efeito da velocidade e tempo de agitação da emulsão, no tamanho final das partículas de etilcelulose com vitamina E e o conjunto de surfactantes SDS/PEG 4000. Segundo os resultados presentes na Tabela 8, obtidos através das imagens capturadas por OM (Anexo I, Fig. 78-80), verifica-se uma influência de ambos os fatores em estudo no tamanho das partículas obtidas. De facto, quando o tempo de agitação é diminuído de 10 para 2 minutos, notou-se um aumento da dimensão das partículas, segundo os dois métodos de análise usados. O mesmo se verificou quando se reduziu a velocidade de agitação de 8000 para 4000 rpm, mantendo o fator tempo inalterável. Estes resultados vão de encontro aos citados na literatura, que confirmam a influência da velocidade de agitação, utilizada na síntese da emulsão, no tamanho de partículas, verificando-se uma diminuição destas com o aumento do número de rotações [36].

Tabela 8 – Dimensões das partículas de etilcelulose e vitamina E sintetizadas pelo método de evaporação de solvente, alterando as condições de velocidade e tempo de agitação da emulsão, analisadas por OM e DLS.

Velocidade de agitação (rpm)	Tempo de agitação (min)	Tamanho de partículas (nm)	
		OM	DLS
8000	10	(1,0 – 1,4) $\times 10^3$	(22,80 \pm 0,18) $\times 10^3$
8000	2	(1,1 – 2,7) $\times 10^3$	(51,42 \pm 0,99) $\times 10^3$
4000	10	(1,0 – 3,3) $\times 10^3$	(28,11 \pm 0,11) $\times 10^3$

6.1.2. Partículas de ácido mirístico

As partículas com o ácido mirístico como material de revestimento, foram preparadas pelos mesmos métodos referidos anteriormente. No entanto, o ácido gordo aplicado não se revelou um bom material de revestimento, uma vez que, pelas imagens obtidas por OM, não se verificou a presença de cápsulas uniformes (Fig. 29). Por esse motivo, as partículas de ácido gordo não prosseguiram para estudos posteriores.

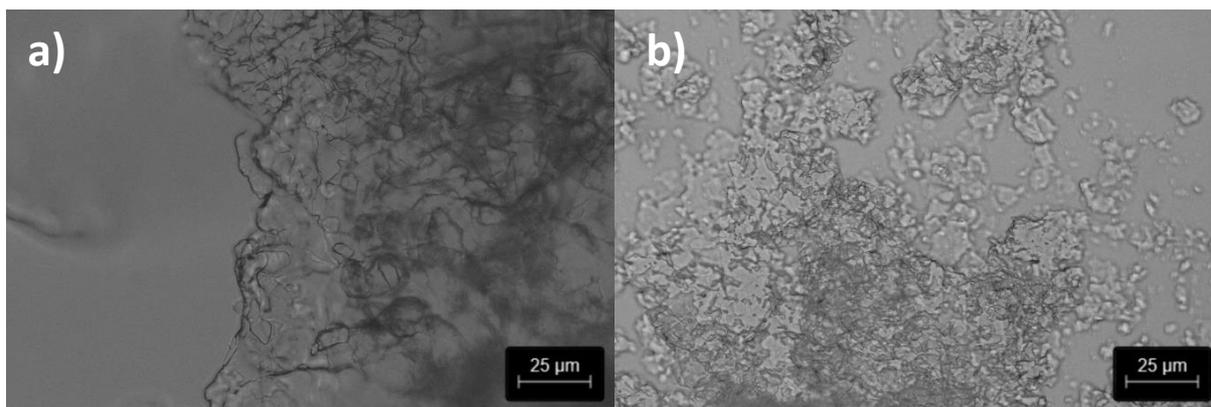


Figura 29 – Imagens capturadas por OM das partículas de ácido mirístico com vitamina E, sintetizadas por a) método de evaporação de solvente e b) método de coacervação.

6.1.3. Partículas de PLA

As partículas de PLA também foram sintetizadas pelos métodos de evaporação de solvente e de coacervação, e através do primeiro método, foi possível obter-se partículas esféricas e bem definidas (Fig. 30). No entanto, o método de coacervação não se revelou eficaz nesta síntese com o PLA como material de revestimento, uma vez que não se verificou a presença de partículas definidas nas imagens de OM. Contrariamente ao desejado, foi observado apenas a presença de filmes de polímero, pelo que o método de coacervação foi descartado como método de encapsulação com a matriz de PLA.

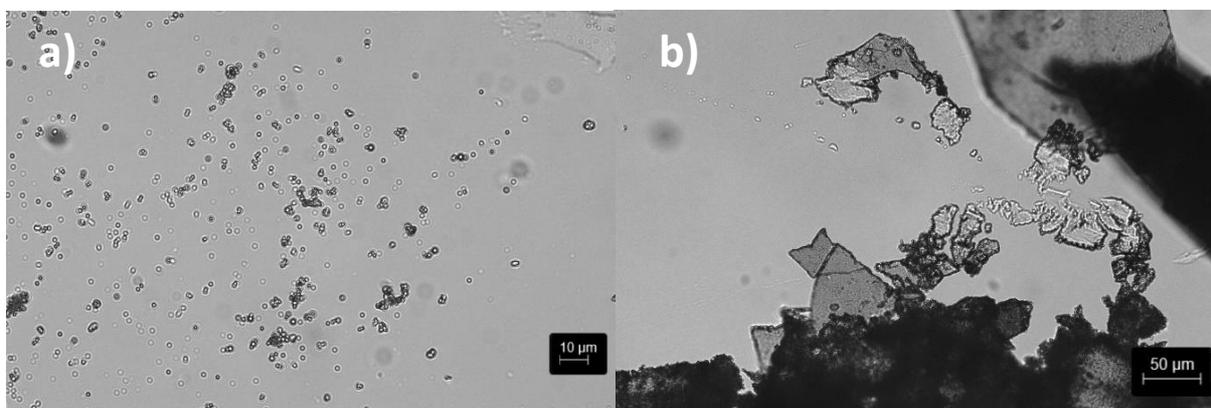


Figura 30 – Imagens capturadas por OM das partículas de PLA com vitamina E, sintetizadas por a) método de evaporação de solvente e b) método de coacervação.

Focando nas imagens obtidas por SEM das partículas de PLA sintetizadas pelo método de evaporação de solvente, com ambos os agentes ativos, nota-se a presença de algumas partículas bem individualizadas, no entanto, observa-se ainda alguma coalescência destas (Fig. 31 e 32). Isto sugere que a síntese das partículas teria de ser otimizada e estudado o efeito de alguns parâmetros, tais como,

a velocidade de agitação, alteração de surfactante ou a quantidade do mesmo e a necessidade de adição de agentes de reticulação, com o intuito de evitar a coalescência das micelas e otimizar o processo de encapsulação. Para além disto, observa-se a presença de vários filamentos de polímero que não formou cápsulas e, por isso, não encapsulou o agente ativo (Fig. 31). Ainda pela análise das imagens é possível observar-se uma elevada distribuição de tamanho de partículas, pelo que se conclui que estas são heterogêneas entre si relativamente às suas dimensões.

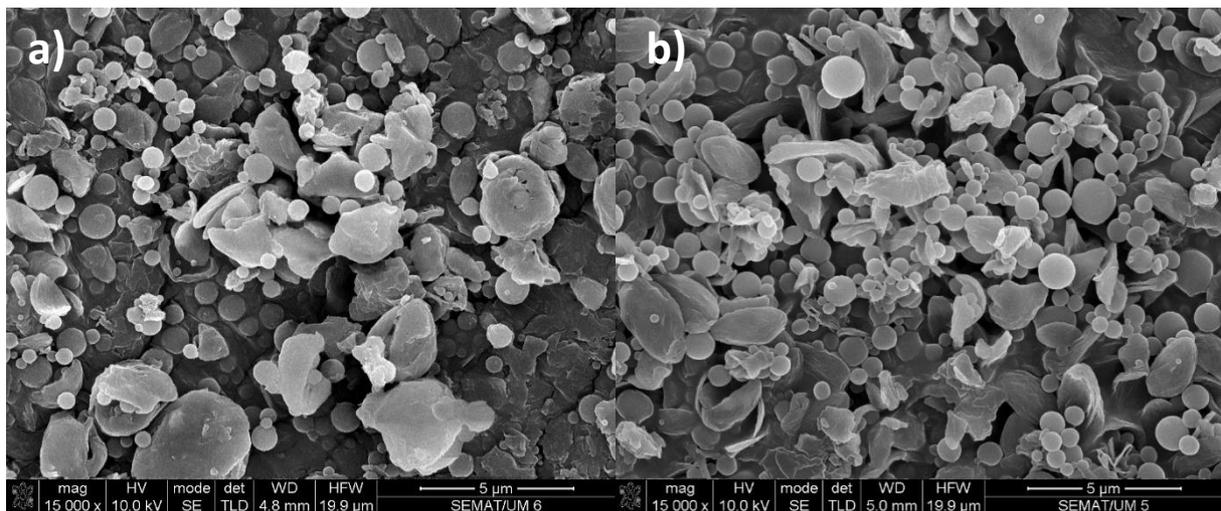


Figura 31 – Imagens capturadas por SEM das partículas de PLA com a) vitamina E e b) OE de eucalipto.

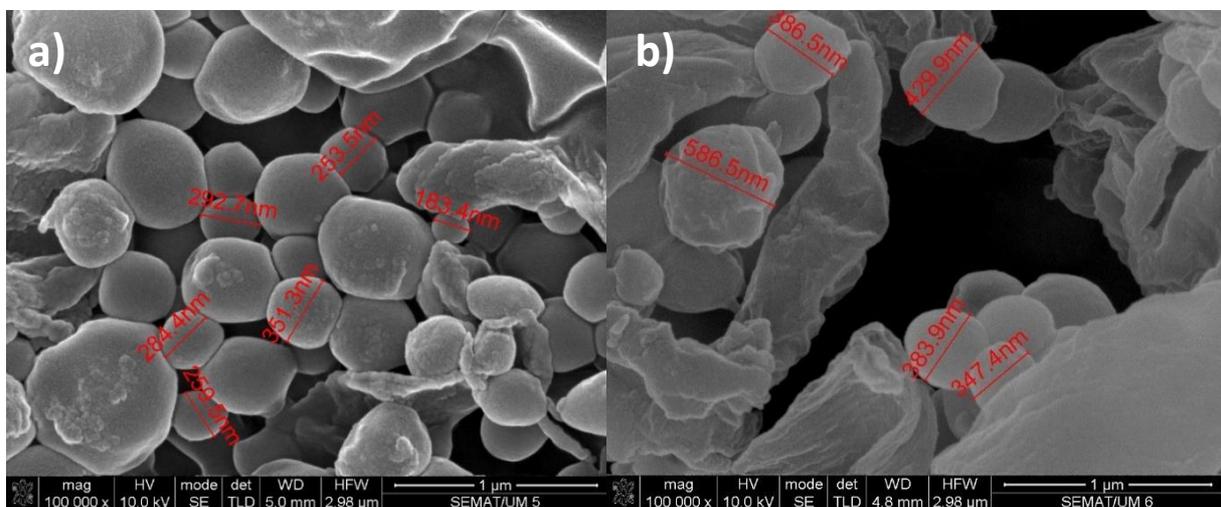


Figura 32 – Imagens capturadas por SEM das partículas de PLA com a) vitamina E e b) OE de eucalipto, com respetivas dimensões.

Contrariamente ao observado nas partículas de etilcelulose, no caso das partículas de PLA como matriz de revestimento, não é notória uma divergência nas dimensões das partículas atendendo ao agente ativo a encapsular (Tabela 9). De facto, as dimensões das partículas de OE de eucalipto apresentam a mesma ordem de grandeza das dimensões das partículas de vitamina E.

Tabela 9 – Dimensões das partículas de PLA sintetizadas pelo método de evaporação de solvente, analisadas por OM, SEM e DLS.

Partículas de PLA	OM (nm)	SEM (nm)	DLS (nm)
Vitamina E + tween 80	$(1,6 - 2,2) \times 10^3$	183,4 – 514,2	$182,9 \pm 12,8$
OE eucalipto + tween 80	$(1,0 - 1,2) \times 10^3$	157,1 – 644,2	$96,22 \pm 0,44$

6.1.4. Partículas de quitosano

Relativamente às partículas de quitosano, estas foram sintetizadas pelos métodos de gelificação iônica e de coacervação. No primeiro caso, verifica-se pelas imagens capturadas por SEM (Fig. 33), a presença de partículas com um formato quase esférico, no entanto, pouco definidas. Isto pode ser indicativo de que as condições de síntese utilizadas não foram as mais indicadas. No caso da coacervação, verifica-se a presença de partículas muito coalescidas, mais uma vez, devido possivelmente à coalescência de micelas durante a precipitação.

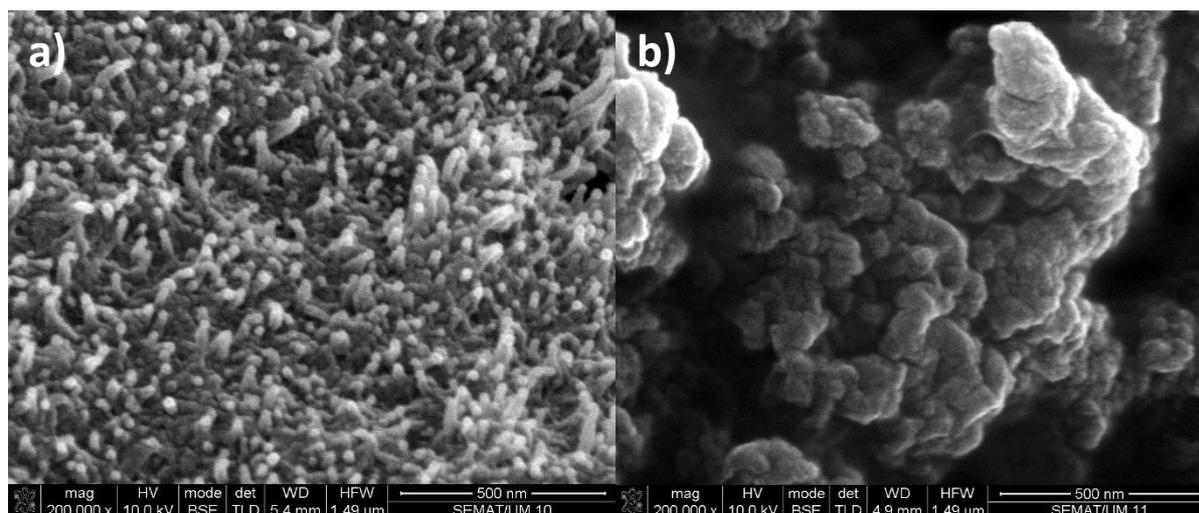


Figura 33 – Imagens capturadas por SEM das partículas de quitosano, sintetizadas por a) método de gelificação iônica e b) método de coacervação.

Com base na análise das imagens capturadas pelo OM das partículas de quitosano (Anexo I, Fig. 81-83) e do estudo da eficiência de encapsulação das mesmas, foram selecionadas apenas algumas partículas para posterior análise por SEM, para confirmação do tamanho e forma destas. Entre elas surgem as partículas de quitosano sintetizadas pelo método de coacervação com vitamina E e o glutaraldeído como agente reticulante, na presença de óleo mineral; as partículas de quitosano com vitamina E e com ácido tânico como agente reticulante, na ausência de óleo mineral e as partículas de

quitosano sintetizadas pelo método de gelificação iônica com os dois agentes ativos (OE de eucalipto e vitamina E).

Pelo método de gelificação iônica nota-se uma diferença de resultados atendendo ao agente ativo encapsulado (Fig. 34). No caso das partículas com vitamina E como agente ativo, não ocorreu a formação de partículas esféricas, tendo-se formado, em contrapartida, um filme de polímero possivelmente com o agente ativo retido no mesmo. Relativamente ao OE de eucalipto, verifica-se a presença de pequenas partículas pouco definidas, na ordem dos nanômetros. Estes resultados são indicativos de que, o processo de encapsulação pelo método de gelificação iônica, utilizando o quitosano como matriz de revestimento, parece ser mais favorável para a encapsulação de OE de eucalipto, em comparação com a vitamina E.

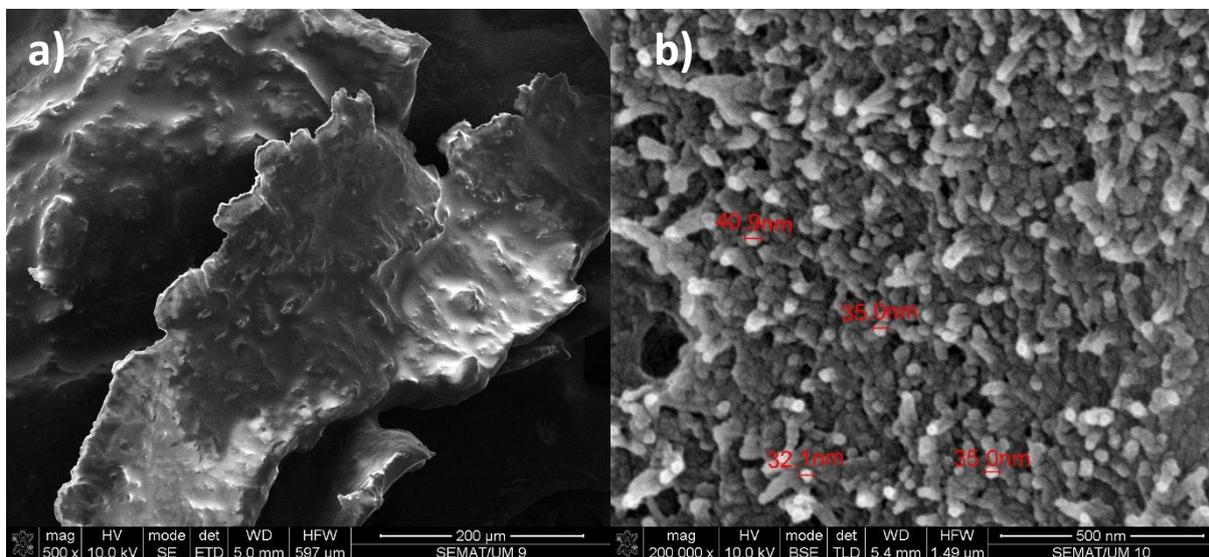


Figura 34 – Imagens capturadas por SEM das partículas de quitosano, sintetizadas pelo método de gelificação iônica com a) vitamina E e b) OE de eucalipto.

Pelo método de coacervação apenas foram sintetizadas partículas com vitamina E e foi estudado o efeito de dois reticulantes distintos, o glutaraldeído e o ácido tânico, utilizados para reforçar a parede das cápsulas. Em ambos os casos, verificou-se a coalescência das partículas e a ausência de partículas individualizadas e bem definidas (Fig. 35). Deste modo, assume-se que a alteração de agente reticulante não surtiu um efeito significativo no tamanho e formato das partículas e, por esse motivo, outras condições de síntese devem ser estudadas de forma a otimizar o processo de encapsulação. Para além disso, também se conclui que o método de coacervação utilizado, à semelhança da gelificação iônica, não se revelou ser apropriado para encapsular a vitamina E em revestimento de quitosano.

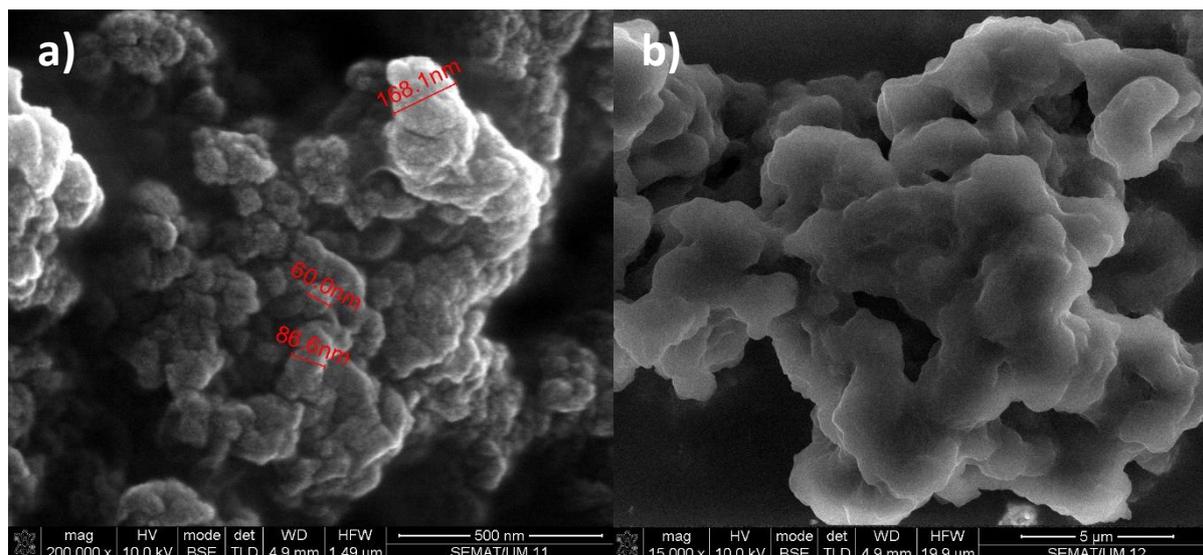


Figura 35 – Imagens capturadas por SEM das partículas de quitosano, sintetizadas pelo método de coacervação com a) vitamina E e glutaraldeído e b) vitamina E e ácido tânico.

6.2. Caracterização Química

A caracterização química dos reagentes utilizados para a síntese das partículas foi conseguida através da técnica de FTIR-ATR, que permitiu identificar cada um dos compostos pela presença de picos e bandas característicos. Foi ainda realizada a caracterização química das partículas sintetizadas, com o objetivo de averiguar a presença de agente ativo e surfactantes na superfície destas. Para isso, realizou-se uma análise comparativa dos picos presentes nos espectros das partículas sintetizadas e dos picos característicos das ligações de cada reagente usado na síntese das mesmas.

6.2.1. Surfactantes

Em relação ao espectro de SDS (Fig. 36), surgem bandas características a número de onda 3462 cm^{-1} correspondente às ligações de O-H e a 2917 e 2850 cm^{-1} relativas às vibrações de alongamento das ligações de C-H. Para além disso, o SDS também é caracterizado pelas bandas que surgem a 1468 e 1216 cm^{-1} correspondentes às vibrações das ligações C-H e C-C, respetivamente. A vibração de alongamento da ligação S=O é caracterizada por picos entre os 950 e 1100 cm^{-1} , que no espectro obtido corresponde ao pico que surge a número de onda 1081 cm^{-1} .

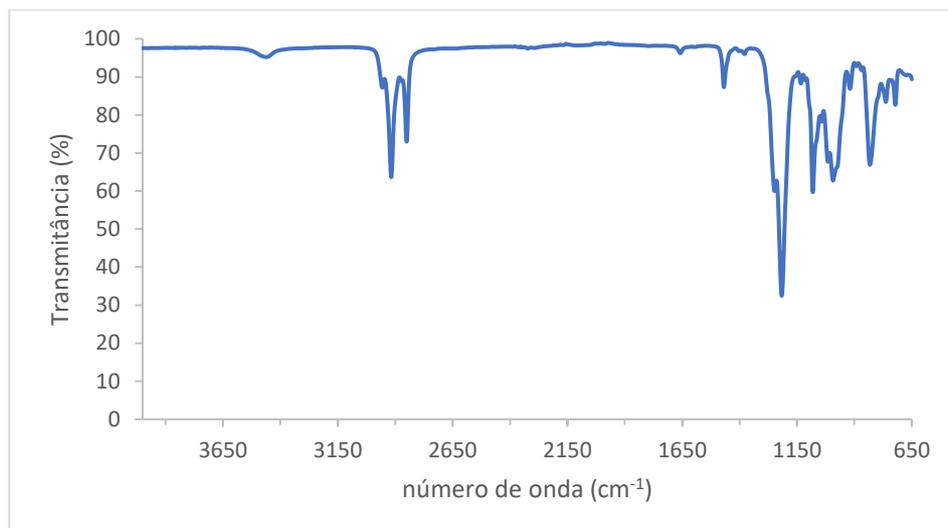


Figura 36 – Espectro de FTIR de SDS.

O espectro de PEG 4000 (Fig. 37) apresenta bandas características das ligações de C-H a número de onda 2881 cm^{-1} , no caso das vibrações de alongamento e a 1467 cm^{-1} , no caso das vibrações de torção. Para além disso, surge uma banda correspondente à ligação C-C a número de onda 1240 cm^{-1} e outras duas bandas a 1099 e 1059 cm^{-1} relativas à ligação O-C.

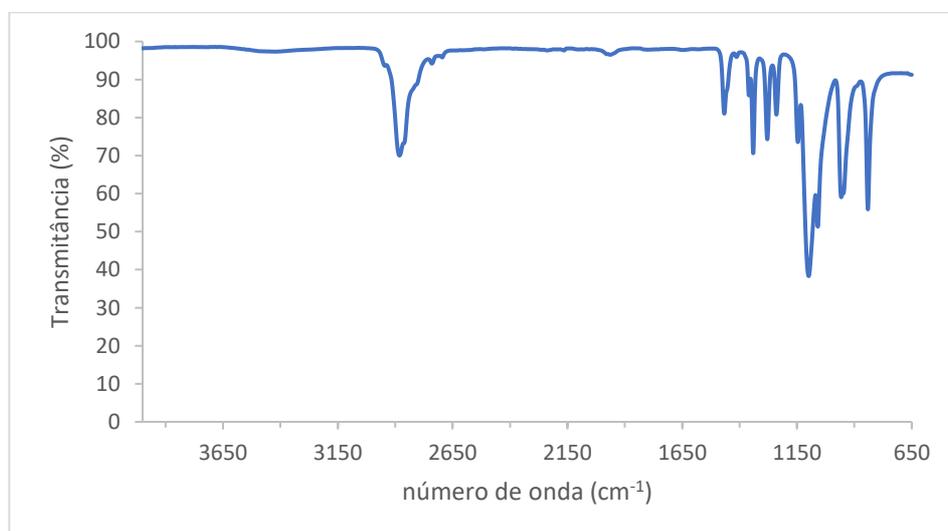


Figura 37 – Espectro de FTIR de PEG 4000.

No espectro de tween 80 (Fig. 38) surge uma banda característica da ligação O-H a um número de onda 3491 cm^{-1} e duas bandas correspondentes às vibrações de alongamento das ligações de C-H a 2921 e 2859 cm^{-1} . Para além disto, o tween 80 é caracterizado pela presença de uma banda a 1735 cm^{-1} que resulta das vibrações da ligação C=O do éster e uma outra a 1644 cm^{-1} correspondente à ligação

C=C. A número de onda 1248 e 1095 cm^{-1} surgem duas bandas características da ligação C-C e da ligação C-O-C, correspondente ao grupo funcional éter.

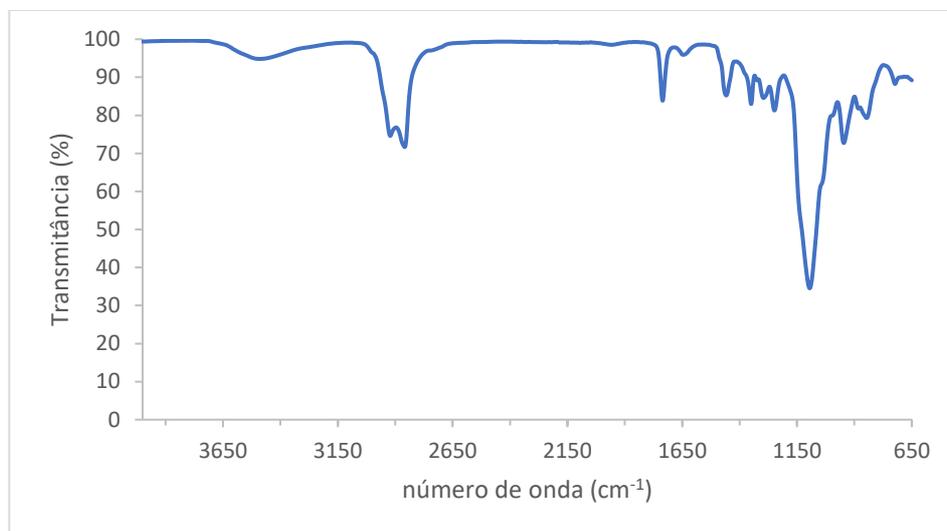


Figura 38 – Espectro de FTIR de tween 80.

6.2.2. Agentes ativos

Em relação ao espectro da vitamina E (Fig. 39), surgem picos característicos das vibrações de alongamento das ligações C-H a número de onda 2927 e 2866 cm^{-1} . Para além disso, surge um pico de maior intensidade a 1758 cm^{-1} , possivelmente relacionado com as vibrações da ligação C=O, resultante do deslocamento eletrónico no anel aromático. Este aspeto pode ser confirmado pelo espectro obtido, uma vez que não se verifica um pico na zona acima dos 3000 cm^{-1} característica da ligação O-H. As vibrações das ligações do anel aromático encontram-se presentes no espectro a 1462 cm^{-1} . A número de onda 1204 e 1077 cm^{-1} surgem duas bandas respeitantes à ligação éter C-O-C e à ligação C-C, respetivamente. Por outro lado, o surgimento do pico a 1758 cm^{-1} característico da ligação C=O e a ausência da banda correspondente às vibrações da ligação de O-H, pode ser indicativo de que a vitamina E usado nas sínteses, pode não ser tocoferol 100% puro, mas sim uma mistura com acetato de tocoferol. De facto, fazendo a comparação dos espectros de FTIR citados na literatura do tocoferol (Fig. 40) e do acetato de tocoferol (Fig. 41), nota-se uma maior proximidade do espectro obtido com este último.

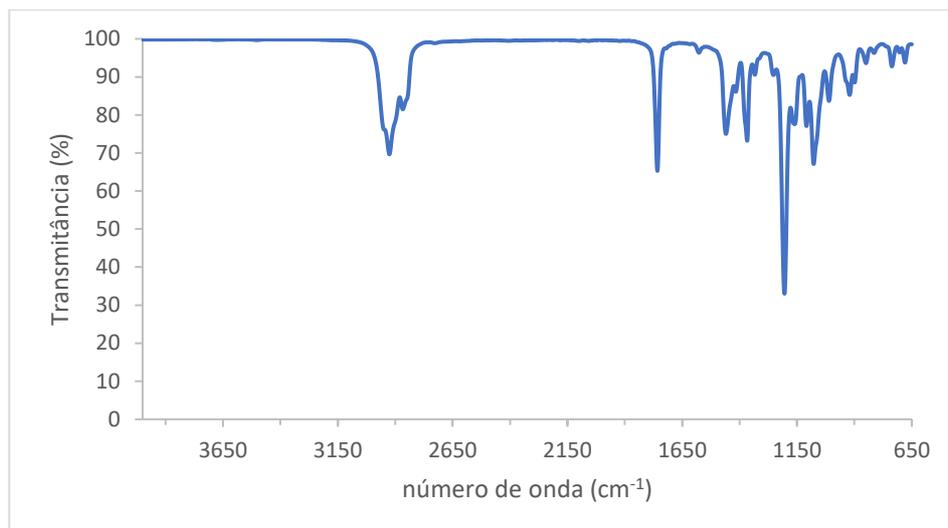


Figura 39 – Espetro de FTIR da Vitamina E.

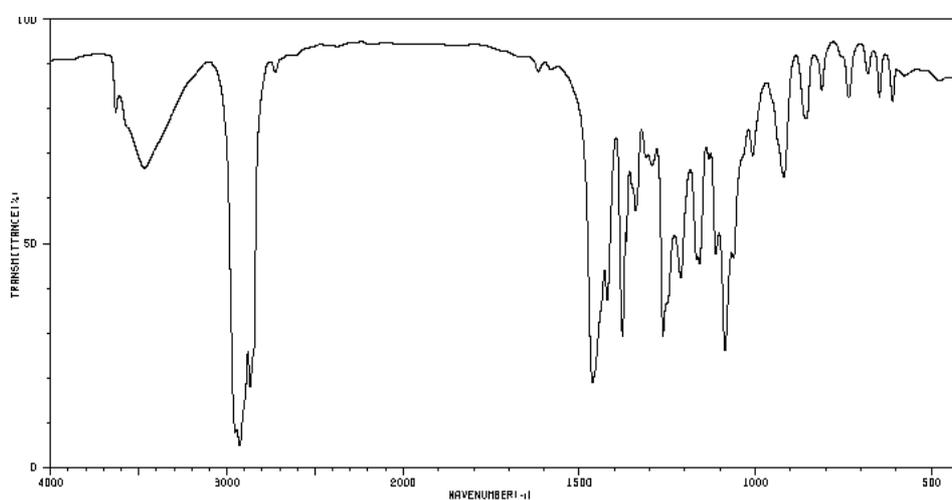


Figura 40 - Espetro de FTIR do alfa-tocoferol citado na literatura, retirado da referência [107].

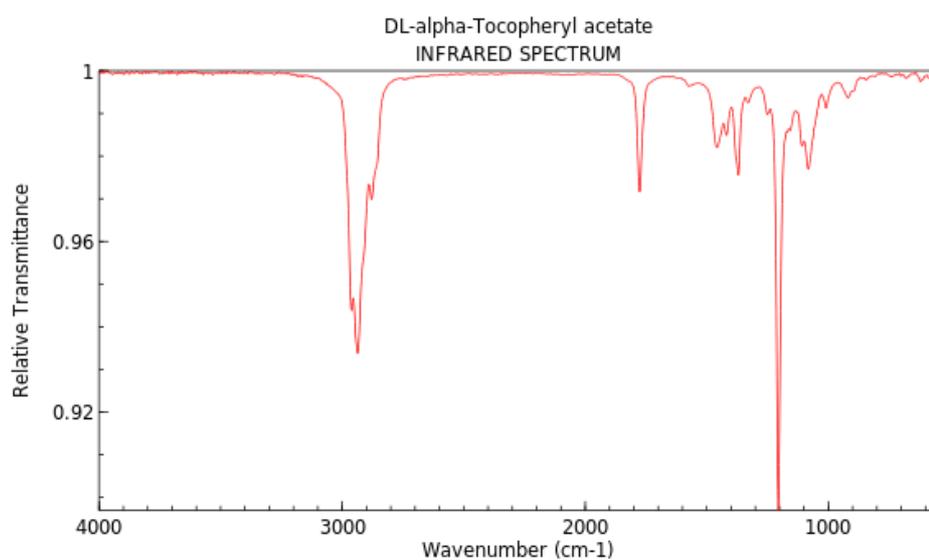


Figura 41 – Espetro de FTIR do acetato de tocoferol citado na literatura, retirado da referência [108].

Na análise do espectro do OE de eucalipto (Fig. 42) teve-se em consideração a estrutura do principal componente deste, o eucaliptol. A número de onda 2967 e 2923 cm^{-1} surgem picos característicos das vibrações de alongamentos das ligações de C-H e a 1375 e 1215 cm^{-1} surgem os picos correspondentes às vibrações de torção das mesmas. Para além disso, surge um pico a 1079 cm^{-1} , característico da ligação éter C-O-C, e um pico a 984 cm^{-1} relativo às ligações C-C.

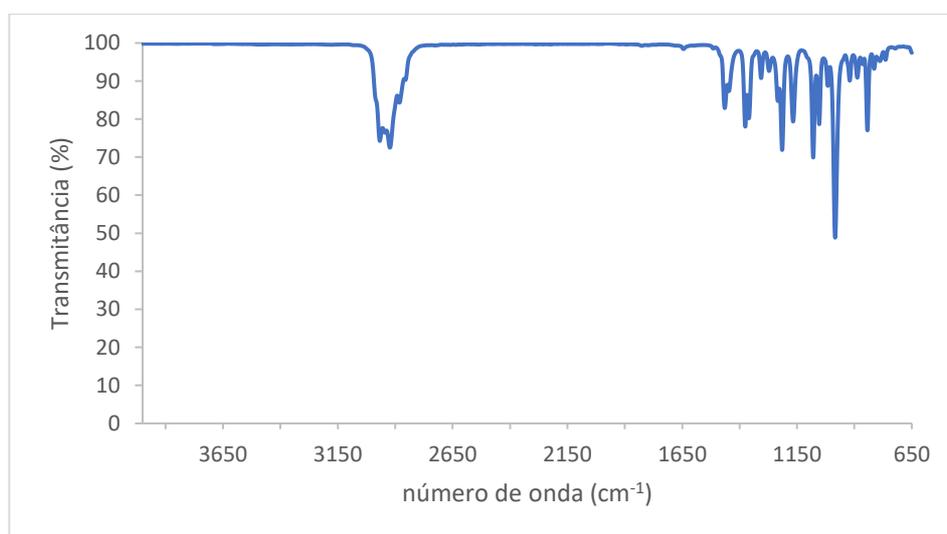


Figura 42 – Espectro de FTIR do OE de eucalipto.

6.2.3. Partículas de etilcelulose

O espectro de etilcelulose (Fig. 43) é caracterizado pela presença de uma banda a 3464 cm^{-1} correspondente às ligações de O-H e de duas bandas a número de onda 2918 e 2851 cm^{-1} correspondentes às vibrações de alongamento das ligações de C-H. Para além disso, surge um pico a 1080 cm^{-1} relativo à ligação C-O-C, característica do grupo funcional éter. A número de onda 1469 e 1217 cm^{-1} , surgem duas bandas respeitantes às vibrações de torção das ligações de C-H e às ligações de C-C, respetivamente [109].

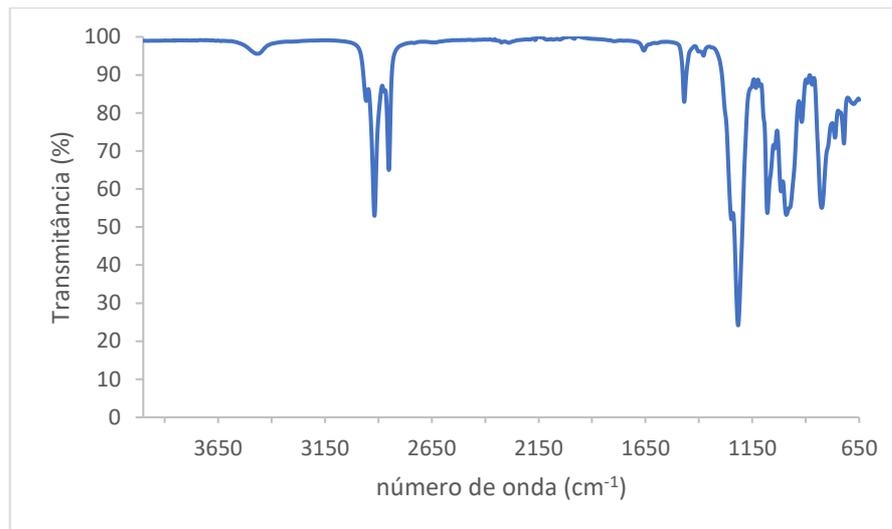


Figura 43 – Espectro de FTIR de etilcelulose.

No espectro de FTIR das partículas de etilcelulose com vitamina E, sintetizadas com o complexo SDS/PEG 4000 (Fig. 44) é possível identificar a presença de picos característicos referentes às ligações de O-H, C-H e C-C a número de onda 3470 cm^{-1} , 2932 cm^{-1} e 1208 cm^{-1} , respectivamente. No entanto, devido à semelhança de espectros de etilcelulose com os dos surfactantes, não é possível afirmar com certeza de que os picos referidos anteriormente no espectro das partículas em questão, surgem devido às vibrações das ligações correspondentes apenas ao polímero. A número de onda 1758 cm^{-1} surge um pico bem definido, que não se encontra presente no espectro do polímero, estando relacionado com as vibrações da ligação C=O da vitamina E. Esta informação permite deduzir a presença do agente ativo na superfície das partículas, levando à conclusão de que nem todo o agente ativo utilizado na síntese das partículas foi encapsulado pela matriz de etilcelulose. Simultaneamente, a presença do pico característico da vitamina E, pode ser indicativo de que as partículas sintetizadas adquiriram uma morfologia de sistema matricial. A número de onda 1053 cm^{-1} , verifica-se a presença de uma banda larga, possivelmente, resultante da sobreposição das vibrações de ligação O-C e S=O, referentes ao polímero e aos surfactantes SDS e PEG 4000. Isto pode ser indicativo da presença de surfactante nas partículas sintetizadas e, por esse motivo, a quantidade de lavagens efetuadas podem não ter sido suficientes para a remoção total dos surfactantes livres.

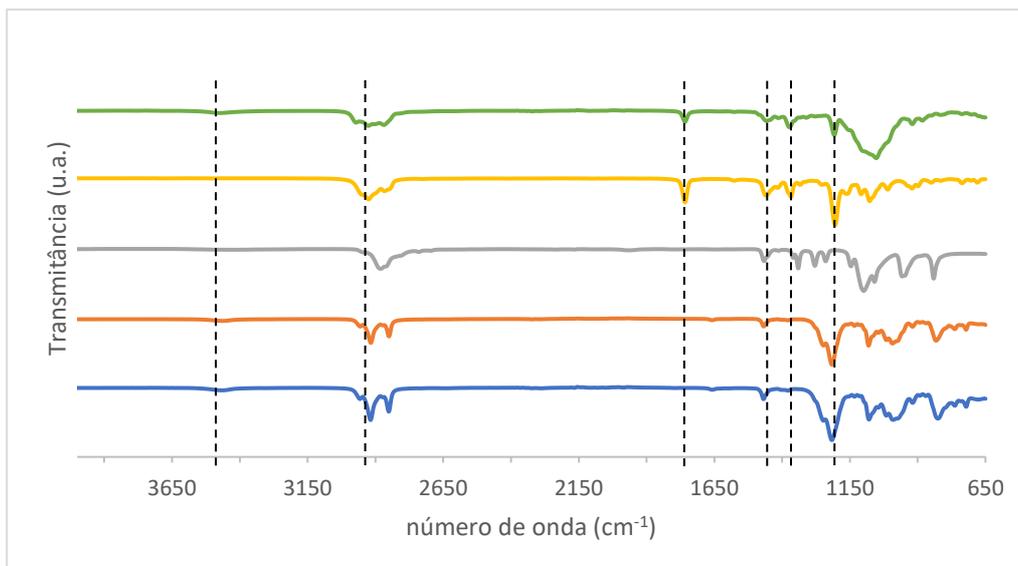


Figura 44 – Representação gráfica dos espectros de FTIR da etilcelulose (—), SDS (—), PEG 4000 (—), Vitamina E (—) e das partículas de etilcelulose + vitamina E + SDS/PEG 4000 (—).

No espectro de FTIR das partículas de etilcelulose e OE de eucalipto, juntamente com o complexo SDS/PEG 4000 (Fig. 45) é possível identificar os picos característicos mencionados anteriormente referentes às ligações do polímero de etilcelulose ou do conjunto dos surfactantes. A número de onda 1053 cm^{-1} verifica-se a presença de uma banda larga, possivelmente, resultante da sobreposição das vibrações de ligação O-C e S=O, referentes ao polímero e aos surfactantes SDS e PEG 4000 que sugerem a presença de surfactante na superfície das partículas sintetizadas. Relativamente ao OE de eucalipto, não se verifica a presença de nenhum pico característico das ligações do agente ativo, uma vez que estes podem estar mascarados por picos dos restantes reagentes. Deste modo, não é possível concluir com certeza, sobre a presença de agente ativo na superfície das partículas em questão. Através dos dados de SEM, conclui-se que a encapsulação do OE de eucalipto pelas diversas técnicas foi mais eficiente do que a encapsulação com a Vitamina E, uma vez que se obtiveram partículas bem definidas e de menor dimensão. Isto reflete-se nos resultados de FTIR, pela ausência de OE de eucalipto livre.

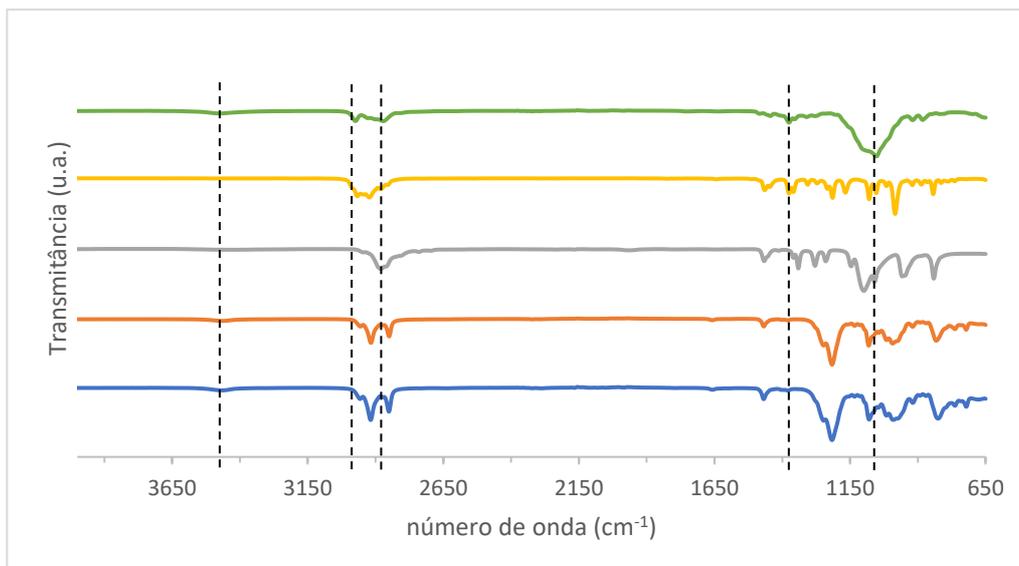


Figura 45 – Representação gráfica dos espectros de FTIR da etilcelulose (—), SDS (—), PEG 4000 (—), OE de eucalipto (—) e das partículas de etilcelulose + OE eucalipto + SDS/PEG 4000 (—).

Relativamente ao espectro de FTIR das partículas de etilcelulose e vitamina E com o surfactante tween 80 (Fig. 46) é possível identificar mais uma vez os picos característicos referentes às ligações de O-H, C-H e C-C a número de onda 3465 cm^{-1} , 2904 cm^{-1} e 1204 cm^{-1} . No entanto, devido à semelhança de espectros de etilcelulose com o do surfactante, não é possível afirmar com certeza de que os picos referidos anteriormente no espectro das partículas em questão, surgem devido às vibrações das ligações correspondentes apenas ao polímero. Para além disso, surgem picos a número de onda 1761 e 1210 cm^{-1} , que possivelmente correspondem às vibrações de ligação do C=O e da ligação éter C-O-C da vitamina E, respetivamente. Estes resultados são indicativos de que a vitamina E não foi totalmente encapsulada na matriz de etilcelulose, tendo provavelmente ficado alguma porção desta na superfície das partículas.

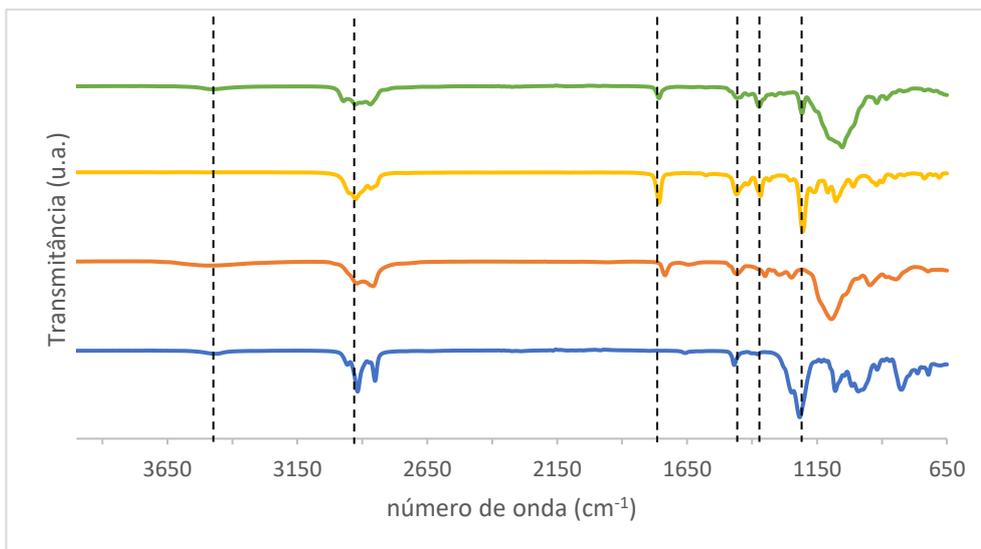


Figura 46 – Representação gráfica dos espectros de FTIR da etilcelulose (—), tween 80 (—), Vitamina E (—) e das partículas de etilcelulose + vitamina E + tween 80 (—).

No espectro de FTIR das partículas de etilcelulose e OE de eucalipto com o tween 80 como surfactante (Fig. 47) é possível identificar alguns picos característicos a número de onda 1365 cm^{-1} e 2871 cm^{-1} das vibrações das ligações C-H. No entanto, devido à semelhança dos espectros dos reagentes utilizados, não é possível determinar com clareza se os picos referidos são correspondentes às ligações do polímero de etilcelulose, do surfactante ou do agente ativo. Para além disso, verifica-se a presença de uma banda larga a 1056 cm^{-1} que possivelmente corresponde à sobreposição das vibrações da ligação éter C-O-C do surfactante e do polímero. Mais uma vez, pode ser indicativo da presença de surfactante nas partículas sintetizadas. Uma vez que não é possível identificar um pico característico das ligações do OE de eucalipto, que não esteja mascarada por picos dos reagentes, não é possível concluir sobre a presença de agente ativo na superfície das partículas.

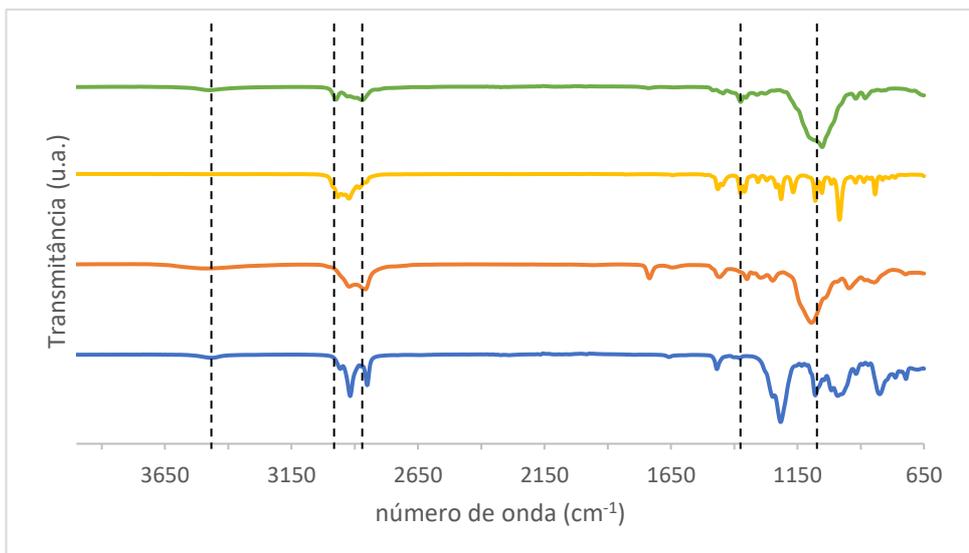


Figura 47 – Representação gráfica dos espectros de FTIR da etilcelulose (—), tween 80 (—), OE de eucalipto (—) e das partículas de etilcelulose + OE de eucalipto + tween 80 (—).

6.2.4. Partículas de PLA

O espectro de PLA (Fig. 48) é caracterizado pelo surgimento de uma banda a 3298 cm^{-1} correspondente às ligações de O-H e duas bandas a número de onda 2919 e 2851 cm^{-1} correspondentes às vibrações de alongamento das ligações de C-H. A 1747 cm^{-1} surge um pico muito característico da ligação C=O de um ácido carboxílico. Para além disso, surge um pico a 1085 cm^{-1} relativo à ligação C-O-C, característica do grupo funcional éter. A número de onda 1449 e 1181 cm^{-1} surgem duas bandas respeitantes às vibrações de torção das ligações de C-H e às ligações de C-C, respetivamente [51, 52]. O espectro obtido vai de encontro com o provido pelo fornecedor (Fig. 49).

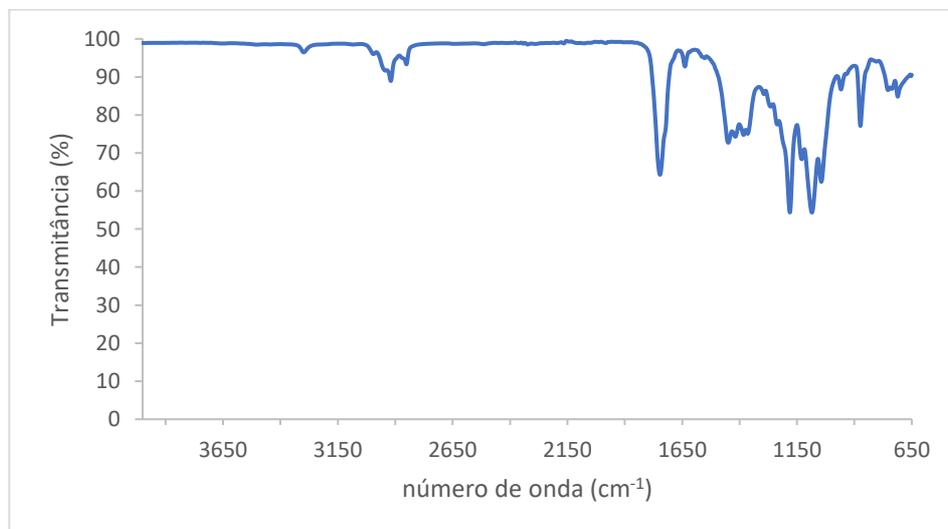


Figura 48 – Espectro de FTIR de PLA.

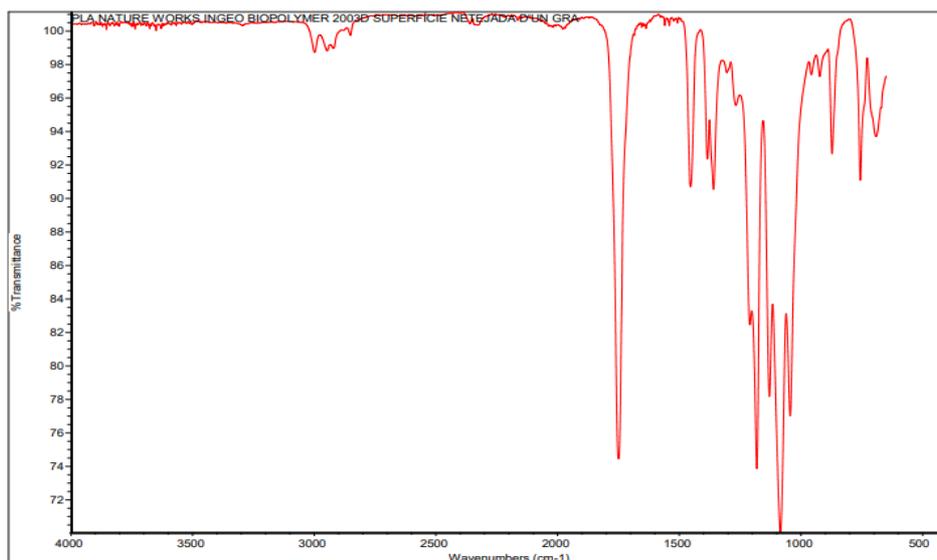


Figura 49 – Espetro de PLA Ingeo 2003D NaturalWork fornecido pela Resinex.

No espectro de FTIR das partículas de PLA e vitamina E (Fig. 50) surge uma banda a número de onda 1750 cm^{-1} que pode coincidir com a banda presente a 1758 cm^{-1} no espectro da vitamina E, referente à ligação $\text{C}=\text{O}$. No entanto, a um número de onda próximo, surge um pico no espectro do surfactante a 1735 cm^{-1} , característico da ligação $\text{C}=\text{O}$ do grupo éster. Deste modo, não é possível concluir com certeza sobre a presença de vitamina E na superfície das partículas com matriz de PLA.

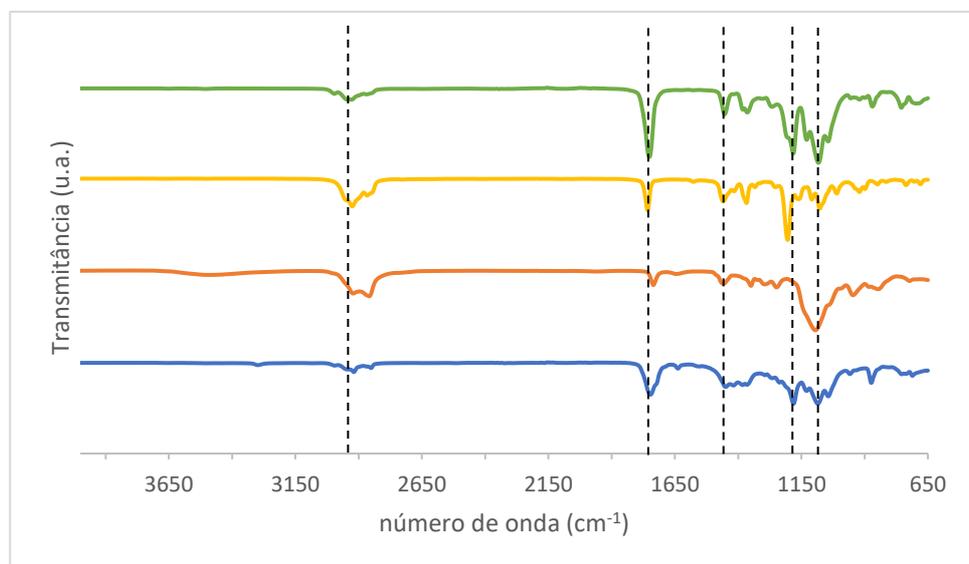


Figura 50 – Representação gráfica dos espectros de FTIR do PLA (—), tween 80 (—), Vitamina E (—) e das partículas de PLA + vitamina E + tween 80 (—).

No caso das partículas de PLA com o OE de eucalipto não se verifica a presença de nenhum pico característico do óleo encapsulado isolado e que, não esteja mascarado pelos picos característicos dos restantes reagentes (Fig. 51). Por este motivo, não é possível determinar a presença do agente ativo na superfície das partículas em questão.

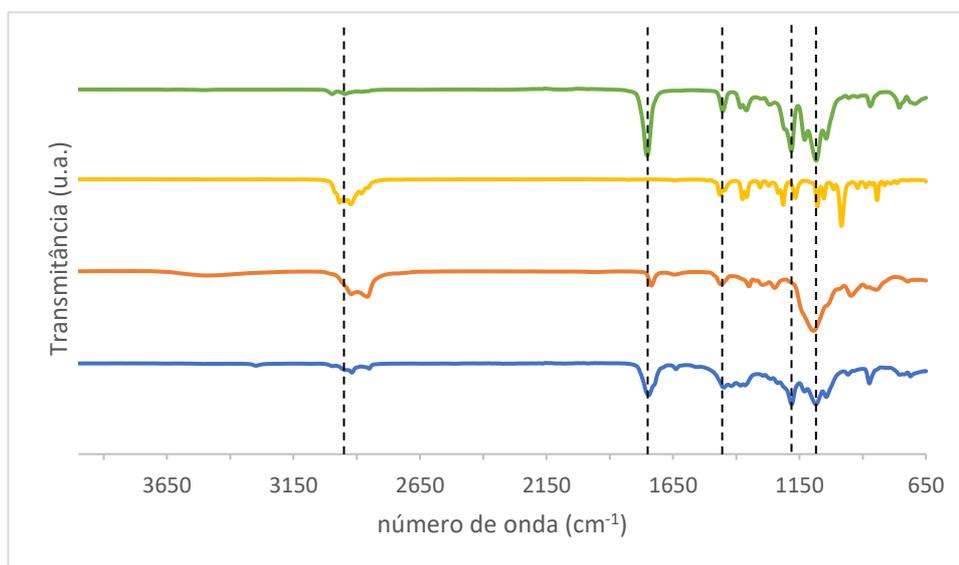


Figura 51 – Representação gráfica dos espectros de FTIR do PLA (—), tween 80 (—), OE de eucalipto (—) e das partículas de PLA + OE eucalipto + tween 80 (—).

6.2.5. Partículas de quitosano

O espectro de quitosano (Fig. 52) é caracterizado pelo surgimento de uma banda larga resultante da sobreposição das vibrações dos grupos OH e NH, com dois picos ligeiros a 3352 e 3279 cm^{-1} característicos de uma amina primária. O pico a 2871 cm^{-1} corresponde às vibrações de alongamento das ligações de C-H e o pico a 1650 cm^{-1} corresponde às vibrações de alongamento de C=O em ligações amida. Para além disso, os picos a 1375 e 1317 cm^{-1} estão relacionados com as ligações C-O-H e C-H, respetivamente. Finalmente, as bandas que surgem a número de onda entre 1152 e 1025 cm^{-1} são características das ligações C-O-C, C-N e C-C [15, 57].

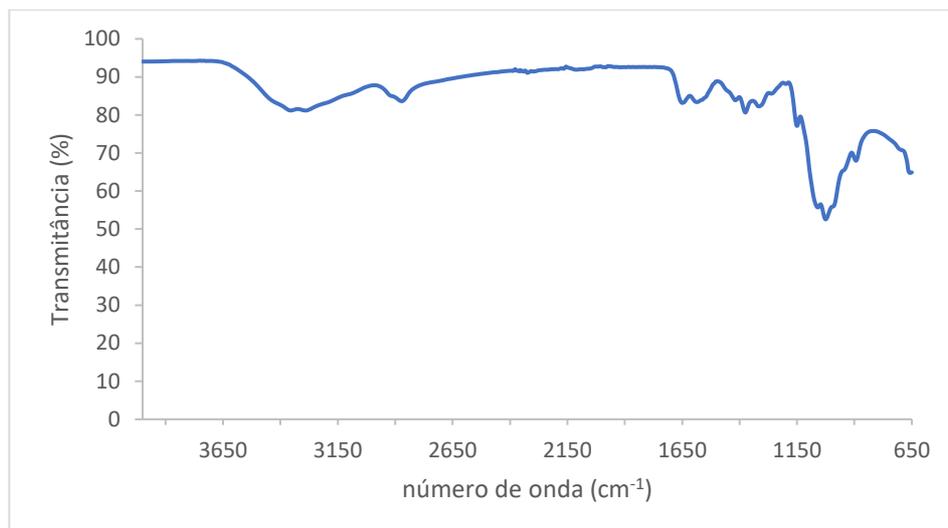


Figura 52 – Espectro de FTIR do quitosano.

Relativamente ao espectro de FTIR das partículas de quitosano sintetizadas pelo método de coacervação (Fig. 53), verifica-se a presença de um pico a número de onda 1713 cm^{-1} , que pode sugerir a presença de surfactante ou de agente ativo, uma vez que coincide com as vibrações de ligação $\text{C}=\text{O}$ presentes no espectro de tween 80 e da vitamina E. A número de onda 1195 cm^{-1} surge um pico característico da ligação éter $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ da vitamina E. Isto pode ser indicativo da presença de agente ativo na superfície das partículas e, por isso, que este não foi encapsulado na sua totalidade. Esta conclusão é reforçada pelos dados obtidos por SEM, uma vez que se verificou que ambos os métodos de coacervação e gelificação iónica, não se revelaram ser apropriados para encapsular a vitamina E. Deste modo, existem evidências da presença de vitamina E livre, pela ineficaz formação de partículas definidas.

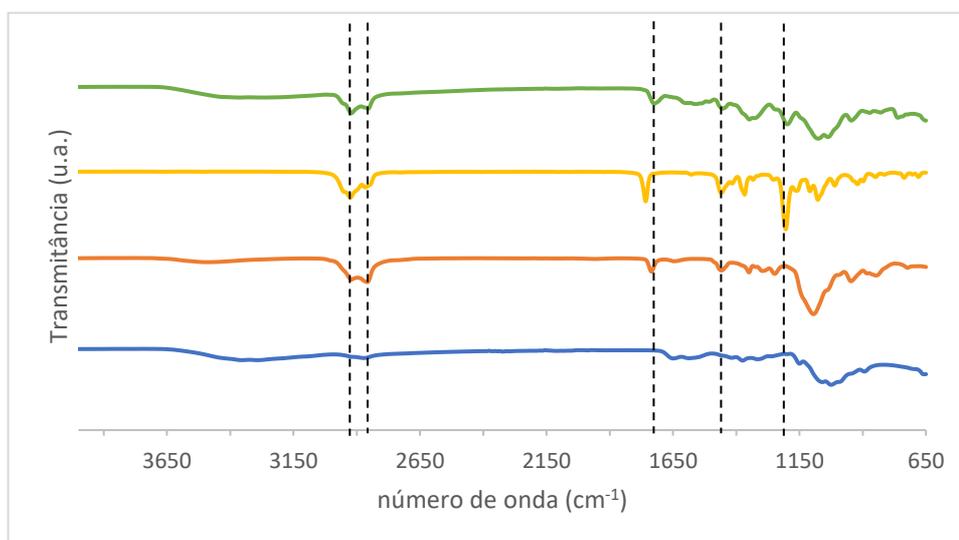


Figura 53 – Representação gráfica dos espectros de FTIR do quitosano (—), tween 80 (—), vitamina E (—) e das partículas de quitosano com vitamina E sintetizadas pelo método de coacervação (—).

No espectro de FTIR das partículas de quitosano com vitamina E encapsulada pelo método de gelificação iônica (Fig. 54), surgem a número de onda 1760 cm^{-1} e 1208 cm^{-1} , picos característicos das ligações C=O e C-O-C da vitamina E, respectivamente. Estes resultados sugerem a presença do agente ativo na superfície das partículas e, por isso, que o processo de encapsulação deverá ser otimizado. Para além disso, as imagens de SEM demonstram a coalescência das partículas sintetizadas por este método, o que por sua vez, pode justificar a presença da vitamina E na superfície das partículas (Fig. 34).

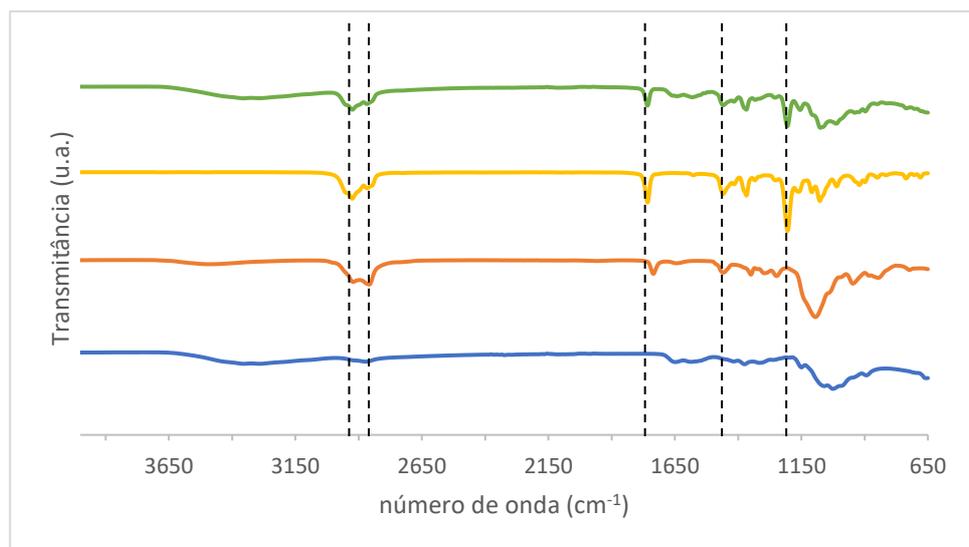


Figura 54 – Representação gráfica dos espectros de FTIR do quitosano (—), tween 80 (—), vitamina E (—) e das partículas de quitosano com vitamina E sintetizadas pelo método de gelificação iônica (—).

6.3. Caracterização Térmica

A caracterização térmica das partículas e dos materiais utilizados para a síntese das mesmas foi conseguida por termogravimetria, que permitiu monitorizar a variação de massa dos reagentes em função da temperatura e estudar a sua estabilidade térmica.

6.3.1. Agentes ativos

Relativamente ao termograma da vitamina E verifica-se uma perda de cerca de 16,3% de massa inicial do composto, no intervalo de temperaturas de $105,7\text{ °C}$ a $180,7\text{ °C}$ (Fig. 55). Esta perda pode ser devido a possíveis impurezas presentes no reagente usado, provenientes do processo de extração da vitamina E, uma vez que, não se trata de um produto adquirido com elevado grau de pureza. A degradação da amostra de vitamina E inicia-se a uma T_{onset} de $261,2\text{ °C}$ e termina a uma T_{endset} de $349,1\text{ °C}$, com uma perda de massa inicial do composto de 97,9%. Do gráfico de DTG obteve-se o ponto de inflexão que ocorre a 335 °C . O termograma obtido é semelhante aos presentes na literatura, em que é

referida uma perda da estabilidade térmica do composto apenas a partir dos 250 °C e com um intervalo de temperaturas de degradação entre os 250 °C e os 400 °C (Tabela 10) [110].

Tabela 10 – Temperaturas T_{onset} e T_{endset} da vitamina E obtidas experimentalmente e mencionadas na literatura.

Resultado experimental			Resultado citado na literatura		
T_{onset} (°C)	Ponto de Inflexão (°C)	T_{endset} (°C)	T_{onset} (°C)	Ponto de Inflexão (°C)	T_{endset} (°C)
261,2	335,2	349,1	250,0	-	400,0

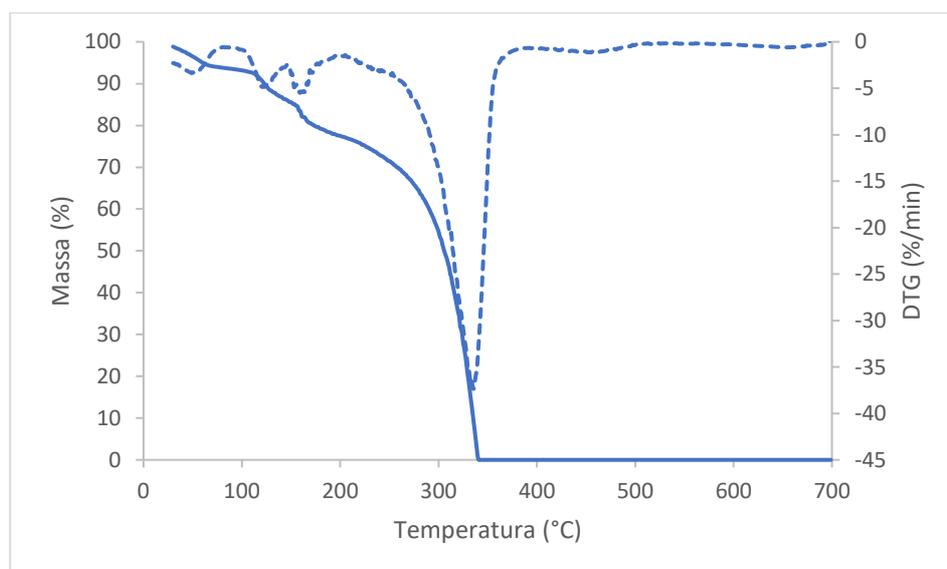


Figura 55 – Representação esquemática do termograma (—) e da derivada do termograma (DTG) (- - -) de Vitamina E.

O termograma do OE de eucalipto revela a degradação do composto em apenas uma etapa (Fig. 56). A degradação inicia-se a uma T_{onset} de 54,6 °C e termina a uma T_{endset} de 124,8 °C, com uma perda de massa inicial de 100%. Através da análise de DTG, obteve-se o ponto de inflexão que ocorre a 114,3 °C. Os resultados coincidem com o referido na literatura em que é estabelecido uma degradação total do composto entre os 124 °C a 156 °C (Tabela 11). Apesar de não ser referido na literatura um valor concreto da temperatura inicial de degradação do óleo essencial, pela análise do termograma é possível concluir que esta se inicia por volta dos 50 °C [111].

Tabela 11 – Temperaturas T_{onset} e T_{endset} do OE de eucalipto obtidas experimentalmente e mencionadas na literatura.

Resultado experimental			Resultado citado na literatura		
T_{onset} (°C)	Ponto de Inflexão (°C)	T_{endset} (°C)	T_{onset} (°C)	Ponto de Inflexão (°C)	T_{endset} (°C)
54,6	114,3	124,8	≈50,0	-	≈124

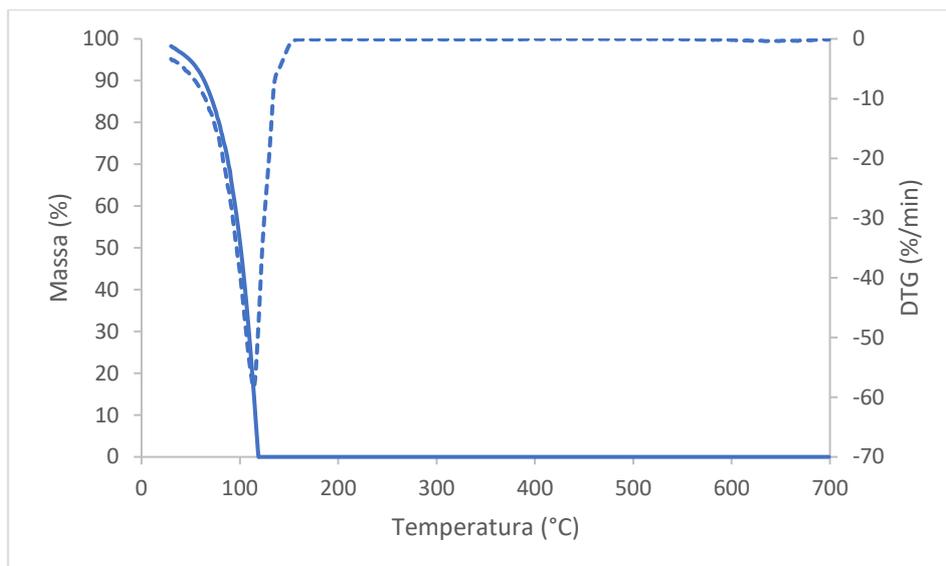


Figura 56 – Representação esquemática do termograma (—) e da derivada do termograma (DTG) (- - -) do OE de eucalipto.

6.3.2. Partículas de etilcelulose

O termograma do polímero de etilcelulose usado na síntese das partículas, demonstra a degradação do polímero em duas etapas (Fig. 57). Numa primeira etapa, a degradação inicia-se a uma T_{onset} de 260,4 °C e termina a uma T_{endset} de 371,9 °C, com uma perda de massa de 93,1% face ao seu peso inicial. Do gráfico de DTG obteve-se o ponto de inflexão da primeira etapa que ocorre a 360,1 °C. Numa segunda etapa, a degradação tem início a 427,1 °C e termina a 466,3 °C, com uma perda de 6,75% de massa e um ponto de inflexão a 456,7 °C.

As temperaturas T_{onset} e T_{endset} da primeira etapa de degradação do polímero coincidem com os referidos na literatura, uma vez que apenas se verifica uma divergência de cerca de 10 °C entre ambos (Tabela 12) [112]. No entanto, os termogramas de etilcelulose encontrados na literatura, não fazem referência a uma segunda etapa de degradação.

Tabela 12 – Temperaturas T_{onset} e T_{endset} do polímero de etilcelulose obtidas experimentalmente e mencionadas na literatura.

	Resultado experimental			Resultado citado na literatura		
	T_{onset} (°C)	Ponto de Inflexão (°C)	T_{endset} (°C)	T_{onset} (°C)	Ponto de Inflexão (°C)	T_{endset} (°C)
1ª etapa	260,4	360,1	371,9	272,3	321,6	364,7
2ª etapa	427,1	456,7	466,3	-	-	-

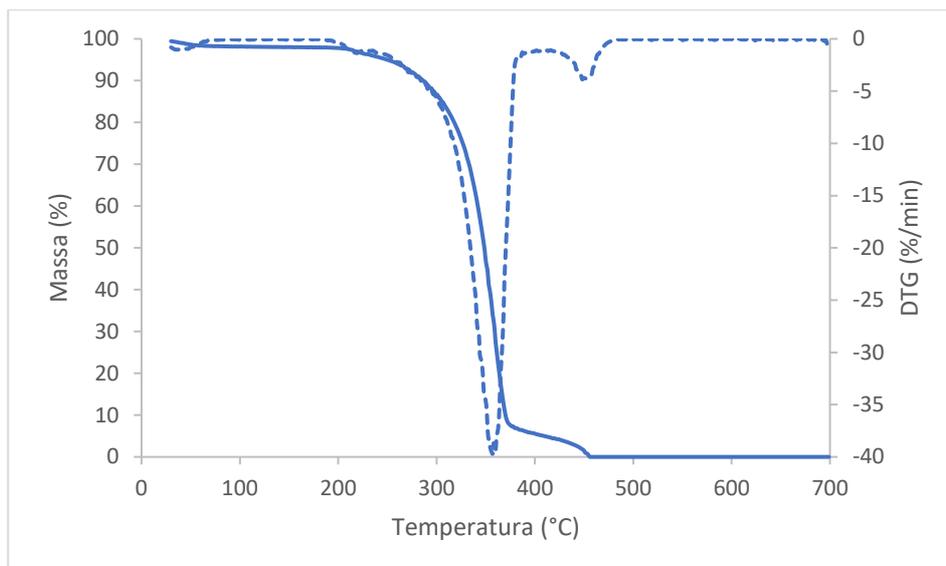


Figura 57 – Representação esquemática do termograma (—) e da derivada do termograma (DTG) (- - -) de etilcelulose.

Através da análise termogravimétrica das partículas sintetizadas, foi possível estabelecer algumas conclusões em relação ao impacto da encapsulação na proteção dos agentes ativos contra a degradação térmica.

Atendendo ao termograma das partículas de etilcelulose e SDS/PEG 4000 com vitamina E verificou-se um aumento da estabilidade térmica do agente ativo, uma vez que a degradação térmica das partículas se iniciou a uma temperatura mais elevada em comparação com o início da degradação térmica da vitamina E, e correspondente ponto de inflexão referente a esta etapa (Fig. 58). O termograma das partículas obtidas, assemelha-se ao termograma do polímero de etilcelulose, que reforça a ideia de que a matriz celulósica consegue proteger a vitamina E e, desta forma, aumentar a estabilidade deste. Comparando o termograma das partículas com o termograma do polímero de etilcelulose, nota-se uma degradação em duas etapas em ambos os casos. No entanto, verifica-se que a segunda etapa de degradação de etilcelulose se inicia a uma T_{onset} inferior face às partículas com o agente ativo encapsulado (Tabela 13). Este resultado pode estar relacionado com as interações entre a matriz polimérica e o agente ativo.

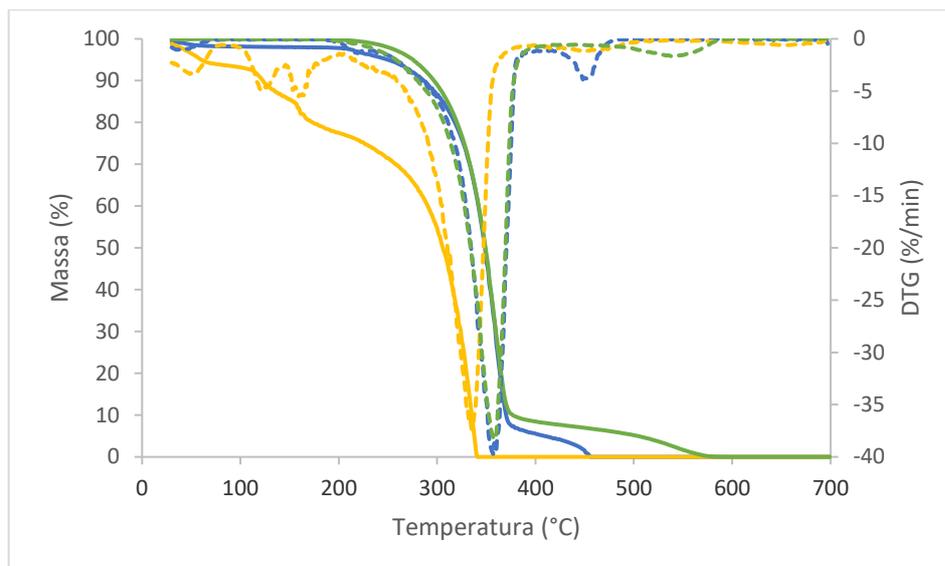


Figura 58 – Representação gráfica dos termogramas de etilcelulose (—) e respetiva derivada (DTG) (- - -), da vitamina E (—) e respetiva derivada (- - -) e das partículas de etilcelulose com vitamina E e SDS/PEG 4000 (—) e respetiva derivada (- - -).

Pela análise do termograma das partículas de etilcelulose e tween 80, com vitamina E, nota-se uma variação do perfil de estabilidade térmica em comparação com o termograma da vitamina E (Fig. 59). O termograma das partículas de etilcelulose e tween 80 com vitamina E, revela uns resultados semelhantes aos referidos anteriormente, pelo que se conclui que a mudança de surfactante não tem efeito significativo na estabilidade térmica das partículas. Como referido anteriormente, a segunda etapa de degradação das partículas ocorre a uma temperatura superior em relação ao perfil de degradação da etilcelulose, com T_{onset} e T_{endset} idênticas às das partículas de etilcelulose e SDS/PEG 4000 com vitamina E (Tabela 13). Este resultado permite reforçar a conclusão de que o desvio do início da segunda etapa de degradação das partículas ocorre devido à interação entre o óleo e a matriz e não devido à presença do surfactante.

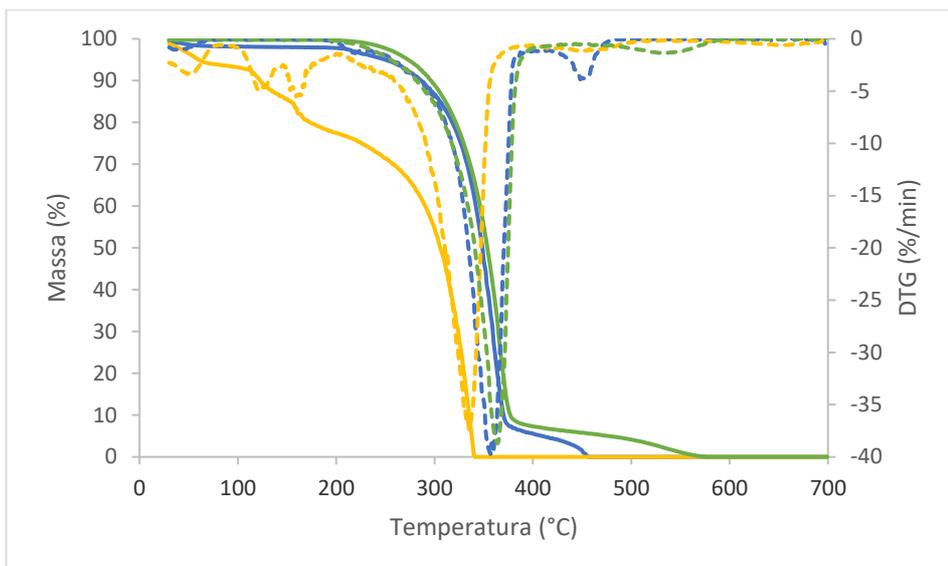


Figura 59 – Representação gráfica dos termogramas de etilcelulose (—) e respetiva derivada (DTG) (- - -), da vitamina E (—) e respetiva derivada (- - -) e das partículas de etilcelulose com vitamina E e tween 80 (—) e respetiva derivada (- - -).

O termograma das partículas de etilcelulose e SDS/PEG 4000 com o OE de eucalipto demonstra a capacidade notória de preservação e proteção deste pela matriz celulósica, uma vez que não se verifica a degradação a temperaturas mais reduzidas, como se observa no termograma do OE de eucalipto (Fig. 60). Mais uma vez se verifica um perfil de degradação de partículas em duas etapas e em que, a segunda etapa se inicia e termina a temperaturas superiores face ao perfil de degradação do polímero (Tabela 13).

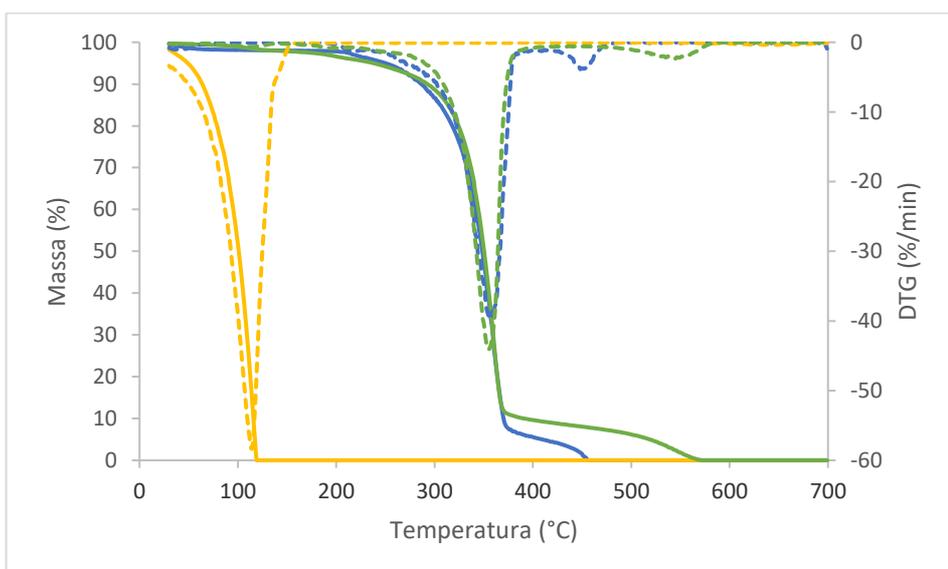


Figura 60 – Representação gráfica dos termogramas de etilcelulose (—) e respetiva derivada (DTG) (- - -), do OE de eucalipto (—) e respetiva derivada (- - -) e das partículas de etilcelulose com OE de eucalipto e SDS/PEG 4000 (—) e respetiva derivada (- - -).

Tabela 13 – Parâmetros obtidos a partir dos termogramas do polímero de etilcelulose e das partículas com matriz celulósica.

Partículas	Etapa	T_{onset} (°C)	T_{endset} (°C)	Perda de massa (%)
Etilcelulose	1ª etapa	260,4	371,9	93,09
	2ª etapa	427,1	466,3	6,75
Vitamina E + SDS/PEG 4000	1ª etapa	289,8	371,4	92,43
	2ª etapa	497,6	574,9	6,92
Vitamina E + tween 80	1ª etapa	299,5	377,9	93,24
	2ª etapa	502,1	582,8	6,12
OE eucalipto + SDS/PEG 4000	1ª etapa	305,6	368,8	87,9
	2ª etapa	504,5	567,8	7,24

6.3.3. Partículas de PLA

O termograma do PLA demonstra a degradação do polímero apenas numa etapa (Fig. 61). A degradação inicia-se a uma T_{onset} de 324,5 °C e termina a uma T_{endset} de 387,4 °C, com uma perda de massa inicial de 99,5%. Através da análise de DTG, obteve-se o ponto de inflexão que ocorre a 371,6 °C. A temperatura inicial de degradação do PLA vai de encontro com a referida na literatura, no entanto, não há informação sobre a temperatura final de degradação deste (Tabela 14) [113]. Contudo, em alguns exemplos da literatura, é referida a degradação do polímero em duas etapas, com início a 300 °C e 340-360 °C. Estas diferenças podem ser explicadas devido à estrutura química do polímero em termos de estereoisomerismo [113].

Tabela 14 – Temperaturas T_{onset} e T_{endset} do polímero de PLA obtidas experimentalmente e mencionadas na literatura.

Resultado experimental			Resultado citado na literatura		
T _{onset} (°C)	Ponto de Inflexão (°C)	T _{endset} (°C)	T _{onset} (°C)	Ponto de Inflexão (°C)	T _{endset} (°C)
324,5	371,6	387,41	322,0	-	-

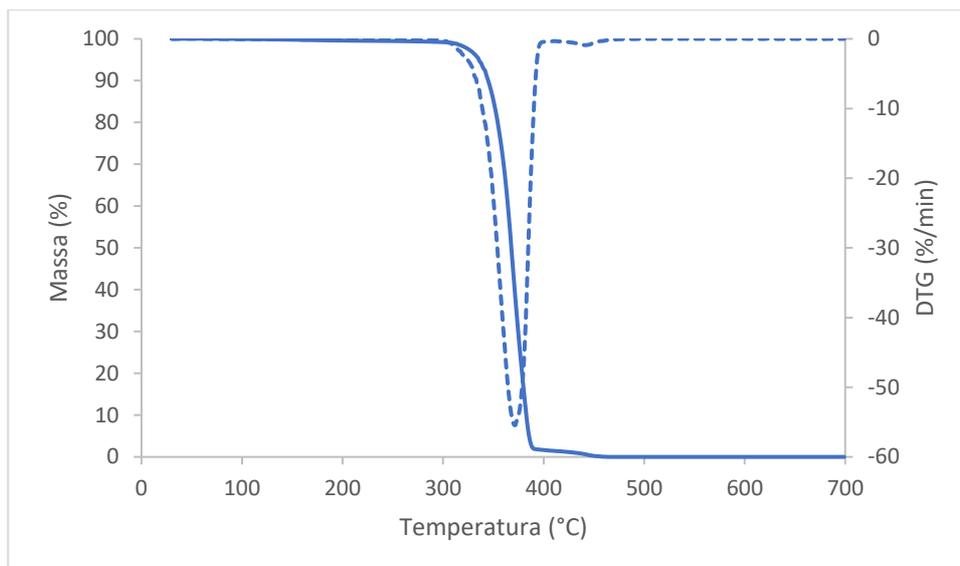


Figura 61 – Representação esquemática do termograma (—) e da derivada do termograma (DTG) (- - -) do PLA.

Relativamente ao termograma das partículas de PLA com a vitamina E (Fig. 62), verifica-se que o início de degradação destas ocorre a uma T_{onset} mais baixa relativamente ao polímero isolado (Tabela 15). Possivelmente, a presença do agente ativo faz com que a temperatura de degradação do polímero diminua e, por isso, a degradação do complexo também inicie a uma temperatura mais reduzida. No entanto, apesar das partículas iniciarem a sua degradação térmica a uma T_{onset} inferior relativamente ao polímero, este mostra-se capaz de aumentar a estabilidade térmica da vitamina E.

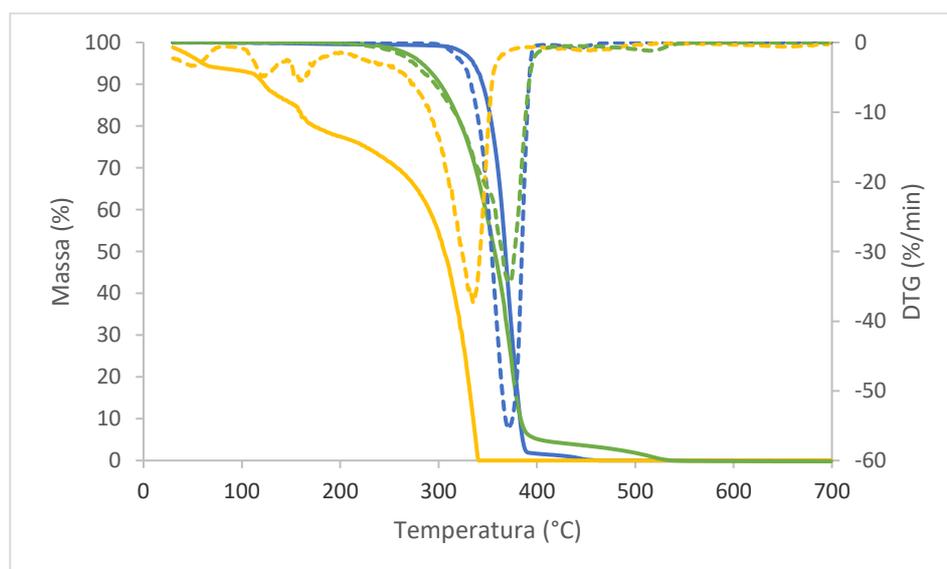


Figura 62 – Representação gráfica dos termogramas de PLA (—) e respetiva derivada (DTG) (- - -), da vitamina E (—) e respetiva derivada (- - -) e das partículas de PLA com vitamina E (—) e respetiva derivada (- - -).

Tabela 15 – Parâmetros obtidos a partir dos termogramas do polímero de PLA e das partículas com matriz de PLA.

Partículas	T_{onset} (°C)	T_{endset} (°C)	Perda de massa (%)
PLA	324,5	387,4	99,49
Vitamina E + tween 80	280,1	389,4	96,30

6.3.4. Partículas de quitosano

O termograma de quitosano obtido apresenta 2 etapas, em que a primeira está possivelmente relacionada com a perda de água. A segunda etapa inicia-se a uma T_{onset} de 236,4 °C e termina a uma T_{endset} de 345,2 °C. Através da análise de DTG, obteve-se o ponto de inflexão de 330,7 °C. O termograma do polímero de quitosano presente na literatura evidencia a presença de três etapas (Fig. 63). Numa primeira etapa, a perda de massa que ocorre no intervalo entre 30–130 °C, corresponde à evaporação da água. A segunda etapa, apresenta um primeiro momento entre os 130–300 °C, resultante da decomposição dos grupos amina e, um segundo momento na faixa dos 300–400 °C, que pode estar relacionada com a decomposição dos grupos -CH₂OH da estrutura do quitosano. A última etapa de degradação térmica inicia-se depois dos 400 °C e ocorre até aos 650 °C devido à degradação total do anel de quitosano e decomposição do carbono residual (Tabela 16) [114, 115].

Tabela 16 – Temperaturas T_{onset} e T_{endset} do polímero de quitosano obtidas experimentalmente e mencionadas na literatura.

	Resultado experimental			Resultado citado na literatura		
	T _{onset} (°C)	Ponto de Inflexão (°C)	T _{endset} (°C)	T _{onset} (°C)	Ponto de Inflexão (°C)	T _{endset} (°C)
1ª etapa	160,4	193,4	214,7	30	-	130
2ª etapa	236,4	330,7	345,2	130	-	400
3ª etapa	-	-	-	400	-	650

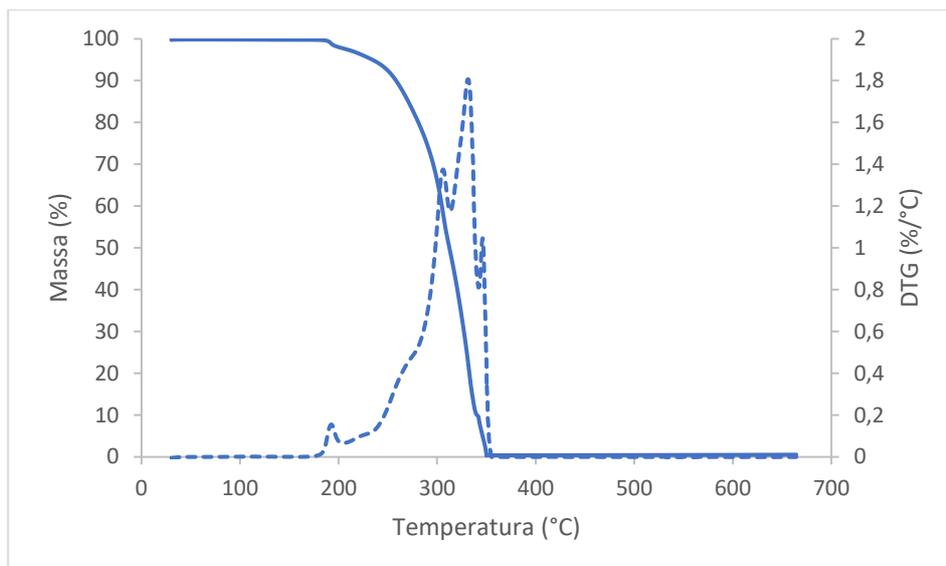


Figura 63 – Representação esquemática do termograma (—) e da derivada do termograma (DTG) (- -) de quitosano.

Relativamente ao termograma das partículas de quitosano com a vitamina E, sintetizadas pelo método de coacervação (Fig. 64), verifica-se que o início da perda de massa destas ocorre a uma T_{onset} menos elevada relativamente aos valores do termograma do polímero de quitosano (Tabela 17). Possivelmente, as partículas sintetizadas apresentam maior quantidade de água, que se reflete numa perda de massa de amostra a uma temperatura precoce face ao polímero em isolado. No entanto, verifica-se que a segunda etapa de degradação do termograma das partículas se inicia a uma temperatura mais elevada relativamente ao polímero. Este resultado pode estar relacionado com as interações entre a matriz polimérica e o agente ativo. No termograma das partículas sintetizadas surge uma terceira etapa de degradação, que pode estar associada à perda de carbono residual. Uma vez que o processo de degradação térmica do polímero de quitosano se inicia a uma T_{onset} mais reduzida, face ao agente ativo encapsulado, não é possível concluir com certeza, que o revestimento aplicado permitiu aumentar a estabilidade térmica da vitamina E.

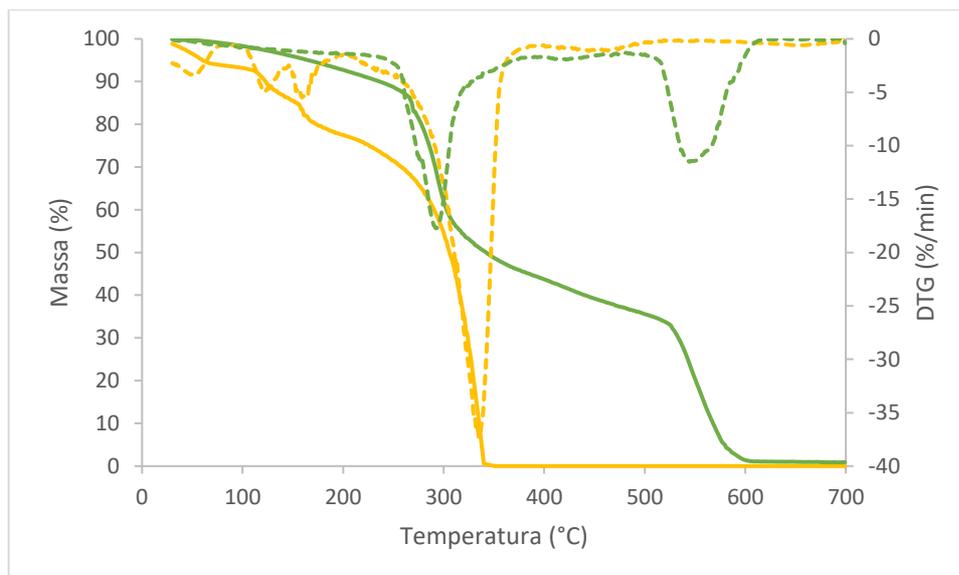


Figura 64 – Representação gráfica dos termogramas da vitamina E (—) e respetiva derivada (- - -) e das partículas de quitosano com vitamina E, sintetizadas por coacervação (—) e respetiva derivada (- - -).

Tabela 17 – Parâmetros obtidos a partir dos termogramas do polímero de quitosano e das partículas com matriz de quitosano.

Partículas	Etapa	T _{onset} (°C)	T _{endset} (°C)	Perda de massa (%)
Quitosano	1ª etapa	160,4	214,7	4,7
	2ª etapa	236,4	345,2	92,1
Vitamina E (coacervação)	1ª etapa	45,5	157,7	5,83
	2ª etapa	264,3	335,6	50,93
	3ª etapa	526,0	592,8	41,80
Vitamina E (gelificação iónica)	1ª etapa	49,7	176,6	5,22
	2ª etapa	257,7	319,4	48,58
	3ª etapa	525,9	597,2	43,70

O termograma das partículas de quitosano com a vitamina E, sintetizadas pelo método de gelificação iónica, apresenta um comportamento idêntico ao das partículas sintetizadas pelo método de coacervação (Fig. 65). Mais uma vez, verifica-se que a primeira etapa de perda de massa das partículas se inicia a uma temperatura mais reduzida face ao polímero de quitosano, pelos mesmos motivos apresentados anteriormente (Tabela 17). Repetidamente à análise anterior, não é possível concluir com certeza, que a matriz polimérica permite aumentar a estabilidade térmica da vitamina E, uma vez que a degradação do quitosano se inicia a uma temperatura mais baixa em relação à do agente ativo.

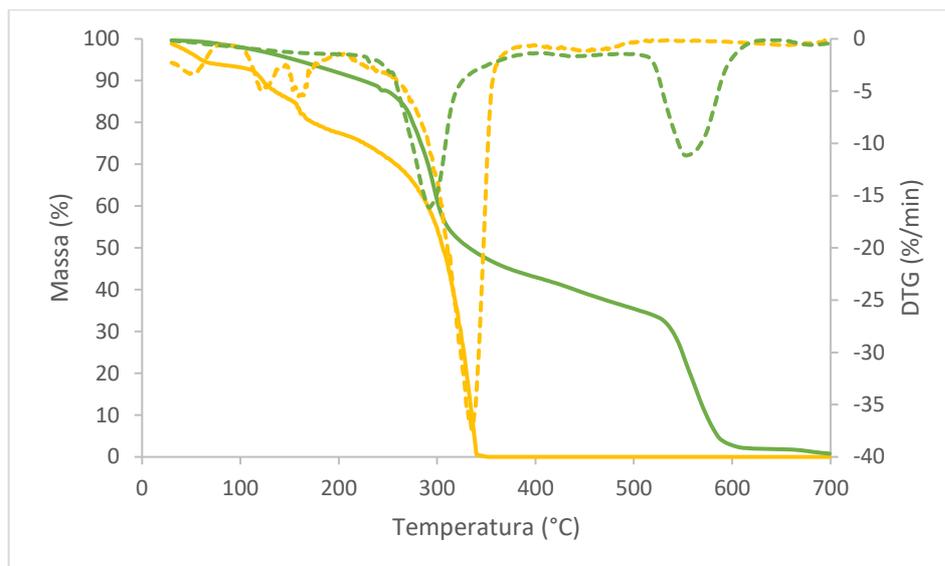


Figura 65 – Representação gráfica dos termogramas da vitamina E (—) e respetiva derivada (- - -) e das partículas de quitosano com vitamina E, sintetizadas por gelificação iónica (—) e respetiva derivada (- - -).

6.4. Determinação do *loading* e da eficiência de encapsulação

Com base nas imagens obtidas por OM e SEM foi selecionado um grupo de amostras de partículas com aspeto mais individualizado ou menos coalescidas para cada polímero, para avaliar o *loading* e a eficiência de encapsulação. As amostras selecionadas encontram-se descritas na Tabela 18.

Tabela 18 – Partículas selecionadas para os ensaios de extração e estudo do *loading* e eficiência de encapsulação.

Técnica de encapsulação	Amostras
Evaporação de solvente	Etilcelulose + SDS/PEG 4000 + vitamina E
	Etilcelulose + SDS/PEG 4000 + OE eucalipto
	Etilcelulose + tween 80 + vitamina E
	Etilcelulose + tween 80 + OE eucalipto
	PLA + tween 80 + vitamina E
	PLA + tween 80 + OE eucalipto
	Coacervação
Etilcelulose + PVA + OE eucalipto	
Quitosano + vitamina E + glutaraldeído (sem óleo mineral)	
Quitosano + vitamina E + glutaraldeído (com óleo mineral)	
Quitosano + vitamina E + ácido tânico (sem óleo mineral)	
Quitosano + vitamina E + ácido tânico (com óleo mineral)	
Gelificação iónica	Quitosano + vitamina E
	Quitosano + OE eucalipto

A análise por espectroscopia de UV-Vis permitiu identificar e quantificar o agente ativo extraído das cápsulas sintetizadas e, dessa forma, calcular o respetivo *loading* e eficiência de encapsulação.

Pelo pico de absorção máxima e considerando a curva de calibração de cada agente ativo (Anexo II, Fig. 84-87), foi possível determinar a quantidade de agente ativo extraído e, conseqüentemente, a quantidade de agente ativo presente nas cápsulas sintetizadas.

Focando nos resultados presentes na Tabela 19, verifica-se uma maior eficiência de encapsulação nas partículas sintetizadas pelo método de evaporação de solvente, relativamente aos restantes métodos. De facto, as partículas de etilcelulose com vitamina E, sintetizadas pelo método de evaporação de solvente apresentam uma eficiência de encapsulação de $74,1 \pm 0,4\%$ e $35,5 \pm 0,2\%$, enquanto no método de coacervação apenas foi alcançado um valor máximo de $1,06 \pm 0,01\%$. Isto pode ser justificado pelas imagens obtidas por SEM (Fig. 25), que demonstram a coalescência das partículas pelo método de coacervação, contrariamente às partículas sintetizadas por evaporação de solvente. A coalescência de partículas possivelmente afetou o valor de eficiência de encapsulação, uma vez que estas não se encontravam individualizadas. Estes resultados vão de encontro com os descritos na literatura, referidos na Tabela 2, uma vez que, são referidas eficiências de encapsulação inferiores em estudos com a coacervação como método de encapsulação face aos estudos em que é aplicada a técnica de evaporação de solvente.

No entanto, apesar dos resultados obtidos de eficiência de encapsulação e o *loading* terem sido mais favoráveis nas partículas sintetizadas pelo método de evaporação de solvente, estes encontram-se abaixo dos referidos na literatura. Possivelmente, seria necessário otimizar o processo de encapsulação, uma vez que, pela análise do espetro de FTIR das partículas de etilcelulose + vitamina E + SDS/PEG 4000, sintetizadas pelo método de evaporação de solvente, estão presentes picos relativos ao agente ativo, que indica a sua presença na superfície das partículas, fazendo com que a eficiência de encapsulação seja diminuída.

Relativamente às partículas de matriz de PLA, os valores de *loading* experimental são coerentes com os referidos na literatura. No entanto, as eficiências de encapsulação alcançadas de $13,5 \pm 0,5\%$ e $40,2 \pm 0,3\%$, respetivamente para o OE de eucalipto e para a vitamina E, estão abaixo dos descritos na literatura, reportados na Tabela 3. Os resultados obtidos podem ser justificados pelas imagens de SEM, que comprovam a presença de um elevado número de partículas coalescidas e ainda a presença de vários filmes de polímero abertos e que, por isso, não permitiu a encapsulação do agente ativo no seu interior, fazendo com que a eficiência de encapsulação seja reduzida (Fig. 32).

Tabela 19 – Resultados dos rendimentos, *loadings* teórico e experimental e eficiência de encapsulação das partículas analisadas nos ensaios de extração.

Evaporação de solvente				
Partículas	Rendimento (%)	Loading teórico (%)	Loading experimental (%)	Eficiência de encapsulação (%)
Etilcelulose + SDS/PEG 4000 + vitamina E	63,75 ± 0,01	33,16 ± 0,01	38,5 ± 0,2	74,1 ± 0,4
Etilcelulose + SDS/PEG 4000 + OE eucalipto	15,93 ± 0,01	33,64 ± 0,01	40,4 ± 2,7	19,1 ± 1,3
Etilcelulose + tween 80 + vitamina E	54,55 ± 0,01	33,26 ± 0,01	21,6 ± 0,1	35,5 ± 0,2
Etilcelulose + tween 80 + OE eucalipto	22,83 ± 0,01	33,466 ± 0,01	-	-
PLA + tween 80 + vitamina E	32,33 ± 0,01	33,58 ± 0,01	41,8 ± 0,3	40,2 ± 0,3
PLA + tween 80 + OE eucalipto	30,89 ± 0,01	33,34 ± 0,01	14,6 ± 0,6	13,5 ± 0,5
Coacervação				
Partículas	Rendimento (%)	Loading teórico (%)	Loading experimental (%)	Eficiência de encapsulação (%)
Etilcelulose + PVA + vitamina E	2,75 ± 0,01	64,89 ± 0,01	25,1 ± 0,3	1,06 ± 0,01
Etilcelulose + PVA + OE eucalipto	2,07 ± 0,01	64,82 ± 0,01	-	-
Quitosano + vitamina E + Glutaraldeído (sem óleo mineral)	12,16 ± 0,01	83,57 ± 0,01	5,10 ± 0,02	0,74 ± 0,01
Quitosano + vitamina E + Glutaraldeído (com óleo mineral)	6,00 ± 0,01	83,57 ± 0,01	20,0 ± 0,1	1,44 ± 0,01
Quitosano + vitamina E + ácido tânico (sem óleo mineral)	9,40 ± 0,01	83,44 ± 0,01	32,1 ± 0,1	3,62 ± 0,01
Quitosano + vitamina E + ácido tânico (com óleo mineral)	10,03 ± 0,01	83,44 ± 0,01	21,4 ± 0,1	2,57 ± 0,01
Gelificação iônica				
Partículas	Rendimento (%)	Loading teórico (%)	Loading experimental (%)	Eficiência de encapsulação (%)
Quitosano + vitamina E	30,67 ± 0,01	69,10 ± 0,01	19,3 ± 0,1	8,57 ± 0,04
Quitosano + OE eucalipto	19,18 ± 0,01	78,02 ± 0,01	12,6 ± 1,3	3,01 ± 0,3

Nos estudos relativos ao quitosano, verificaram-se eficiências de encapsulação e *loading* experimental relativamente baixas nas partículas sintetizadas pelo método de coacervação com a matriz de quitosano. No caso das partículas sintetizadas com o glutaraldeído como reticulante, foi alcançado um *loading* experimental de 5,10 – 20,0% e eficiência de encapsulação de 0,74 – 1,44%. Com o ácido

tânico como reticulante, foram obtidos resultados ligeiramente superiores, com um *loading* de 21,4 – 32,1% e eficiência de encapsulação de 2,57 – 3,62%. Mais uma vez, estes resultados podem ser explicados pelas imagens de SEM, uma vez que se verifica a coalescência das partículas, em ambas as sínteses com os reticulantes distintos (Fig. 35).

No entanto, apesar dos baixos valores de *loading* e eficiência de encapsulação obtidos nas partículas sintetizadas pelo método de coacervação, nota-se resultados mais favoráveis, nas partículas em que se usou o ácido tânico como reticulante. Deste modo, conclui-se que para o método de síntese usado, o ácido tânico revelou-se mais promissor para possíveis ensaios futuros de otimização do método.

Relativamente às partículas de quitosano sintetizadas pelo método de gelificação iônica obtiveram-se baixos resultados de eficiência de encapsulação, $8,57 \pm 0,04\%$ no caso da vitamina E e $3,1 \pm 0,3\%$ com o OE de eucalipto. No entanto, ambos os resultados revelaram-se superiores em relação aos obtidos pelo método de coacervação. Isto vem de encontro às conclusões retiradas pela análise das imagens de SEM, em que se verificou, no caso de síntese por gelificação iônica, a presença de partículas pouco definidas, mas, no entanto, menos coalescidas do que as sintetizadas por coacervação, o que justifica a maior capacidade de encapsulação do agente ativo pelo método de gelificação iônica (Fig. 33).

Os resultados obtidos experimentalmente, não vão de encontro com os citados na literatura para ambos os métodos de encapsulação testados com a matriz de quitosano, uma vez que as eficiências de encapsulação e *loading* relatadas na Tabela 1, revelam resultados muito superiores face aos obtidos, o que leva à conclusão de que a metodologia aplicada na síntese de partículas de quitosano deve ser otimizada.

No entanto, no que se refere ao conjunto de amostras de etilcelulose com o OE de eucalipto, juntamente com tween 80 como surfactante, através do método de evaporação de solvente e de etilcelulose com o OE de eucalipto através do método de coacervação, não se verificou a presença de um pico de absorção que permitisse quantificar o agente ativo extraído. Uma vez que não surgiu um pico característico do máximo de absorção do agente ativo, concluiu-se que, muito possivelmente, neste conjunto de partículas não se deu a encapsulação do agente ativo e/ou não foi conseguida a extração do mesmo de dentro das partículas sintetizadas. No entanto, as imagens obtidas por SEM demonstram a presença de partículas de forma esférica, o que por sua vez é indicativo de que ocorreu a formação de partículas bem definidas, mas que estas não conseguiram incorporar o agente ativo no seu interior (Fig. 26).

Relativamente à encapsulação de ambos os agentes ativos em partículas de etilcelulose, juntamente com o complexo SDS/PEG 4000 como surfactantes e ainda as partículas de PLA com a

vitamina E, verifica-se um valor de *loading* experimental acima do teórico. Este resultado pode ser explicado devido à heterogeneidade de tamanho de partículas na emulsão. Possivelmente, as partículas de menores dimensões não possuem o agente ativo no seu interior e, por isso, apenas têm polímero na sua constituição. Por outro lado, as partículas de maiores dimensões incorporaram o agente ativo, ou seja, os rácios teóricos não se verificaram na prática quando se deu o processo de encapsulação, uma vez que se verificou uma diferente distribuição de concentração do agente ativo.

Fazendo a comparação da eficiência de encapsulação obtida, atendendo ao agente ativo encapsulado, nota-se que no caso das partículas de OE de eucalipto, a eficiência é inferior em relação às partículas com vitamina E. Estes resultados são também observados para ambos os métodos de encapsulação e com as três matrizes de revestimento estudadas. Deste modo, conclui-se que os métodos abordados parecem ser mais adequados à encapsulação de vitamina E em comparação com o OE de eucalipto.

6.5. Determinação da libertação dos agentes ativos das partículas

Com base nos resultados obtidos na determinação do *loading* e da eficiência de encapsulação das partículas, foram selecionadas as amostras de partículas para seguirem para os estudos de libertação. Na Tabela 20, encontram-se representadas as partículas selecionadas por cada método de encapsulação com os *loadings* e eficiência de encapsulação superiores.

Tabela 20 – Partículas selecionadas para os ensaios de libertação.

Técnica de encapsulação	Amostras
Evaporação de solvente	Etilcelulose + SDS/PEG 4000 + vitamina E
	Etilcelulose + SDS/PEG 4000 + OE eucalipto
	Etilcelulose + tween 80 + vitamina E
	PLA + tween 80+ vitamina E
Coacervação	Quitosano + vitamina E + ácido tânico (sem óleo mineral)
Gelificação iónica	Quitosano + vitamina E

A análise por espectroscopia de UV-Vis permitiu identificar e quantificar o agente ativo libertado ao longo do tempo, através dos espetros de absorvância em função do tempo de ensaio, apresentados no Anexo III (Fig. 88-92). Pelo pico de absorção máxima e considerando a curva de calibração de cada agente ativo presentes no Anexo II (Fig. 84-87), foi possível determinar a quantidade de agente ativo libertado ao longo das 7 horas de estudo de libertação e, dessa forma, perceber o impacto do polímero

de encapsulação e dos respetivos meios de libertação, nos perfis de libertação dos agentes ativos encapsulados.

Assumindo a quantidade de partículas usadas para o teste de libertação, foi possível calcular a percentagem de agente ativo libertado em cada conjunto de partículas, no final das 7 horas de ensaio de libertação (Tabela 21).

Tabela 21 – Quantidade de agente ativo libertado (%) nos ensaios de libertação ao fim das 7 horas.

Amostras	Percentagem de agente ativos libertado (%)
Etilcelulose + vitamina E + SDS/PEG 4000	1,4 ± 0,1
Etilcelulose + vitamina E + tween 80	8,7 ± 0,1
Etilcelulose + OE eucalipto + SDS/PEG 4000	18,5 ± 2,4
PLA + vitamina E + tween 80	1,8 ± 0,1
Quitosano pH 7,4 (gelificação iónica)	7,8 ± 4,3
Quitosano pH 7,4 (coacervação)	9,4 ± 4,5
Quitosano pH 3,0 (gelificação iónica)	84,3 ± 1,3
Quitosano pH 3,0 (coacervação)	93,3 ± 5,4

O perfil de libertação em solução de etanol 40% da vitamina E das partículas de etilcelulose com o SDS/PEG 4000 ou tween 80 pode ser observado na Fig. 66.

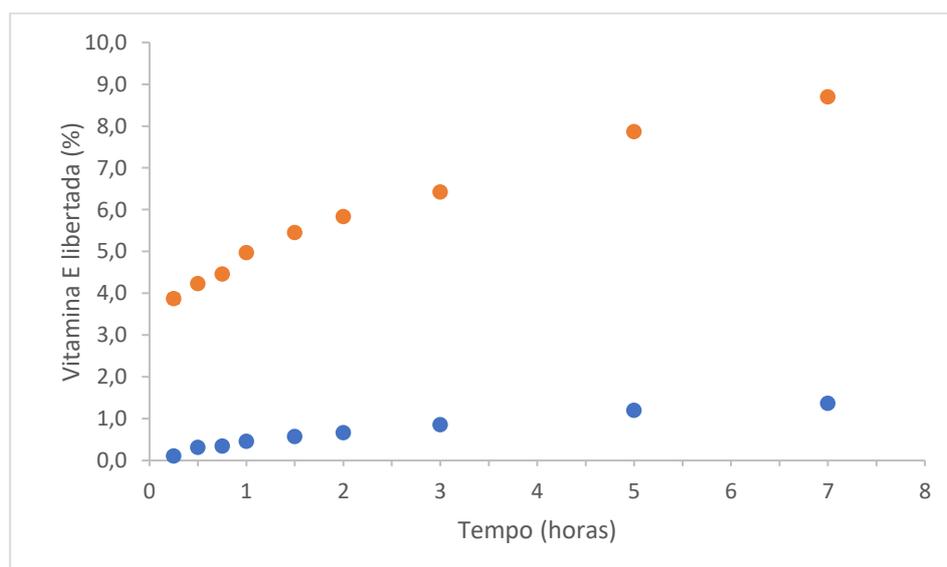


Figura 66 – Representação esquemática dos perfis de libertação da vitamina E das partículas de etilcelulose + vitamina E + SDS/PEG 4000 (•) e das partículas de etilcelulose + vitamina E + tween 80 (•): valores médios de percentagem de óleo libertado para cada amostra e respetivos valores de erro calculado pelo desvio padrão de três réplicas.

Pela análise dos resultados obtidos, verifica-se que, em ambos os casos, se dá uma libertação contínua ao longo do tempo sem que ocorra a estagnação da quantidade de agente ativo libertado ao fim das 7 horas de ensaio. Isto é indicativo de que, possivelmente, num ensaio de tempo mais prolongado verificar-se-ia a libertação de uma maior quantidade de vitamina E. Segundo os resultados presentes na Tabela 21, após 7 horas de ensaio de libertação, apenas foi libertado $1,4 \pm 0,1$ % e $8,7 \pm 0,1$ % da vitamina E das partículas de etilcelulose com SDS/PEG 4000 ou tween 80, respetivamente. Estes resultados corroboram com a conclusão anterior, de que os perfis de libertação de ambas as partículas não foram completos e que, por isso, possivelmente num ensaio mais prolongado ocorreria a libertação de maior quantidade de agente ativo.

Fazendo a comparação entre os dois conjuntos de partículas, nota-se uma semelhança entre os perfis de libertação, pelo que se pode concluir que, em ambos os casos, a matriz de celulose se comportou de forma semelhante independentemente do surfactante usado na síntese das mesmas.

Relativamente ao agente ativo encapsulado nas partículas de etilcelulose com SDS/PEG 4000, verifica-se uma divergência entre os perfis de libertação do OE de eucalipto e da vitamina E com solução de etanol 40%. Contrariamente aos referido anteriormente sobre a libertação da vitamina E das partículas de matriz celulósica, no caso do OE de eucalipto, nota-se uma ligeira tendência para estabilizar a quantidade de agente ativo libertado (Fig. 67). Nas primeiras 2 horas de ensaio, é traçado um perfil de libertação do OE de eucalipto semelhante ao da vitamina E. No entanto, a partir das 2 horas de ensaio ocorre uma diminuição da taxa de libertação de OE de eucalipto, em comparação à taxa de libertação da vitamina E. estes resultados são indicativos de que, possivelmente, o OE de eucalipto tem tendência a libertar-se mais rapidamente das partículas de etilcelulose. Para além disso, segundo os resultados presentes na Tabela 21, verifica-se uma maior percentagem de libertação do agente encapsulado no caso das partículas com OE de eucalipto, com $18,5 \pm 2,4$ % de óleo libertado, face aos $1,46 \pm 0,1$ % de vitamina E. Por esse motivo, as partículas de etilcelulose com SDS/PEG 4000 e OE de eucalipto foram as seleccionadas para prosseguir para os ensaios de funcionalização de têxteis.

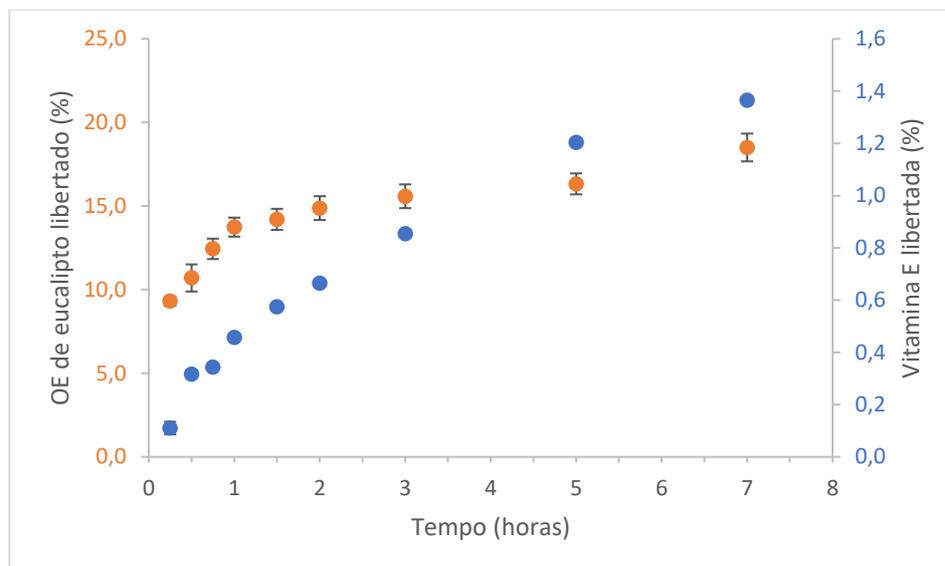


Figura 67 – Representação esquemática dos perfis de liberação da vitamina E das partículas de etilcelulose + vitamina E + SDS/PEG 4000 (•) e do OE de eucalipto das partículas de etilcelulose + OE de eucalipto + SDS/PEG 4000 (•): valores médios de percentagem de óleo libertado para cada amostra e respetivos valores de erro calculado pelo desvio padrão de três réplicas.

As partículas de PLA apresentam um perfil de liberação, em etanol 40%, da vitamina E distinto dos anteriores. Primeiramente, verifica-se uma liberação acentuada do agente ativo até à primeira hora de ensaio, seguida de uma redução da taxa de liberação a partir desse ponto até às 3 horas de ensaio (Fig. 68). No entanto, pelas 5 horas de ensaio de liberação destaca-se um novo pico de liberação do agente ativo, com uma nova fase de liberação acentuada. Essa tendência mantém-se até ao final do estudo, atingindo um novo pico de liberação de agente ativo nas 7 horas de ensaio, com uma taxa de liberação superior à observada na primeira hora. Isto é indicativo de que, possivelmente, o perfil de liberação não foi completo e, por isso, num ensaio de tempo mais prolongado verificar-se-ia a liberação de uma maior quantidade de vitamina E, uma vez que, até às sete horas de ensaio apenas foi libertado $1,8 \pm 0,1\%$ do agente ativo (Tabela 21). Esta divergência de comportamentos no perfil de liberação das partículas de PLA, pode estar associado ao processo pelo qual a vitamina E é libertada. De acordo com a literatura, a liberação de um agente ativo através do PLA é controlada por difusão durante as primeiras horas, passando posteriormente para um regime controlado por degradação do polímero [46]. Isto vai de encontro aos resultados obtidos, em que se verifica uma taxa de liberação mais lenta nas primeiras 3 horas, controlada por difusão, seguida de um aumento abrupto da taxa de liberação do agente ativo encapsulado devido, possivelmente, à degradação do polímero de PLA. A degradação do polímero de PLA pode ser devido à hidrólise das ligações éster presentes nas cadeias poliméricas, que resulta na clivagem destas com conseqüente liberação do agente ativo [116].

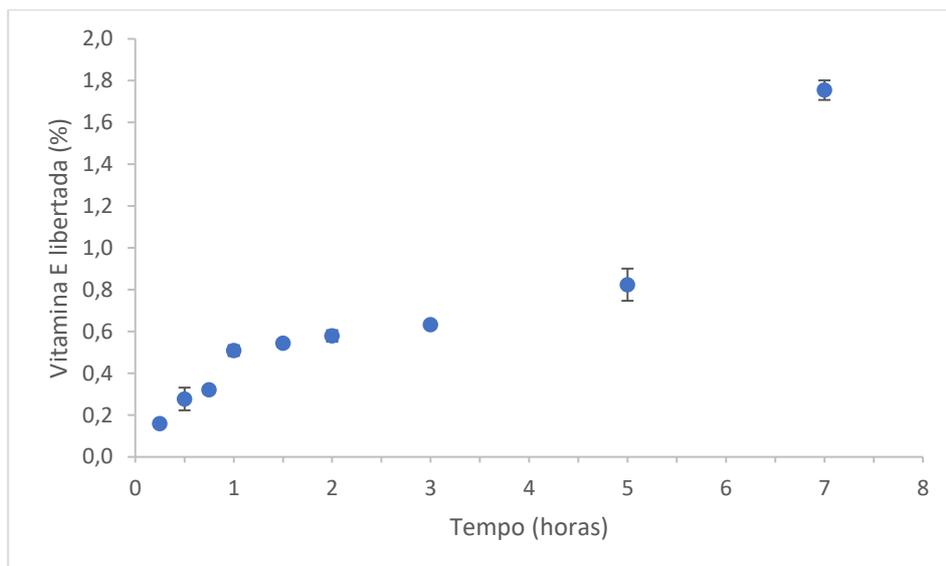


Figura 68 – Representação esquemática do perfil de libertação da vitamina E das partículas de PLA + vitamina E + tween 80: valores médios de percentagem de óleo libertado para cada amostra e respetivos valores de erro calculado pelo desvio padrão de três réplicas.

Relativamente às partículas de quitosano, a avaliação dos perfis de libertação da vitamina E foi estudada em dois meios de libertação, com valores de pH distintos, visto que o polímero é responsivo ao estímulo de pH.

Pela análise dos perfis de libertação das partículas sintetizadas pelo método de gelificação iónica, em meios de pH diferentes, verifica-se uma libertação mais rápida e acentuada em meio ácido (pH 3,0) (Fig. 69). No caso da libertação em PBS (pH 7,4), dá-se uma diminuição da taxa de libertação do agente encapsulado a partir das 3 horas. No entanto, a partir desse momento ainda é registado um aumento visível da quantidade de agente ativo libertado até os $7,8 \pm 4,3\%$. No caso da libertação em meio ácido, a taxa de libertação do agente ativo tende a diminuir a partir das 2 horas de ensaio e não se verifica um aumento significativo da quantidade de vitamina E a partir desse tempo de ensaio, tendo sido libertado $84,3 \pm 1,3\%$ do agente ativo. Este resultado vai de encontro ao referido na literatura, na qual também se reconhece uma libertação mais rápida em meio ácido face ao meio neutro [15]. Este fenómeno pode ser explicado pela estrutura do quitosano, devido à capacidade deste sofrer inchaço e dissolução parcial em meio ácido, resultante das repulsões entre os grupos amino protonados das cadeias vizinhas. Este processo resulta numa abertura da cadeia polimérica, possibilitando a difusão facilitada do agente ativo [30, 80]. Por este motivo, o quitosano surge como um polímero de elevado interesse, pela capacidade responsiva ao estímulo de pH.

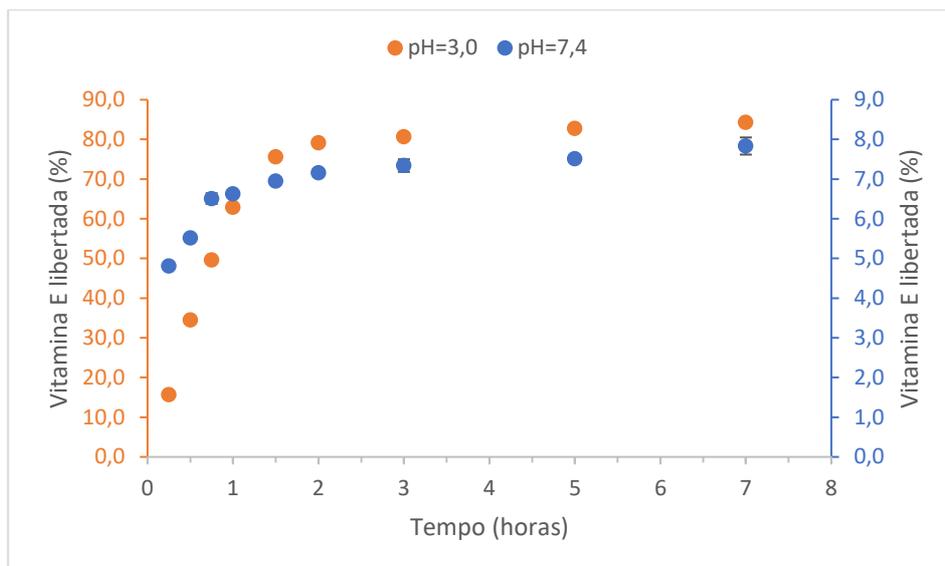


Figura 69 – Representação esquemática dos perfis de liberação da vitamina E das partículas de quitosano sintetizadas pelo método de gelificação iônica, em meio neutro (pH 7,4) (•) e em meio ácido (pH 3,0) (•): valores médios de percentagem de óleo libertado para cada amostra e respetivos valores de erro calculado pelo desvio padrão de três réplicas.

Os perfis de liberação das partículas de quitosano sintetizadas pelo método de coacervação, seguem uma propensão idêntica às partículas sintetizadas pelo método de gelificação iônica (Fig. 70). Como referido anteriormente, é verificada uma maior e mais rápida capacidade de liberação do agente ativo encapsulado em meio ácido. No caso da liberação em meio neutro, verifica-se uma diminuição da taxa de liberação do agente encapsulado a partir das 2 horas, mas com uma tendência crescente até atingir as 7 horas de ensaio com $9,4 \pm 4,5\%$ de agente ativo libertado. No caso da liberação em meio ácido, verifica-se a estagnação da quantidade de vitamina E libertada a partir de 1h30 de ensaio, atingindo no final das 7 horas uma liberação de $93,3 \pm 5,4\%$ do agente ativo. Deste modo, assume-se que ocorre uma difusão mais facilitada do agente ativo pela matriz de quitosano em meio ácido, possivelmente devido à dissolução da matriz polimérica, pelos mesmos motivos mencionados anteriormente.

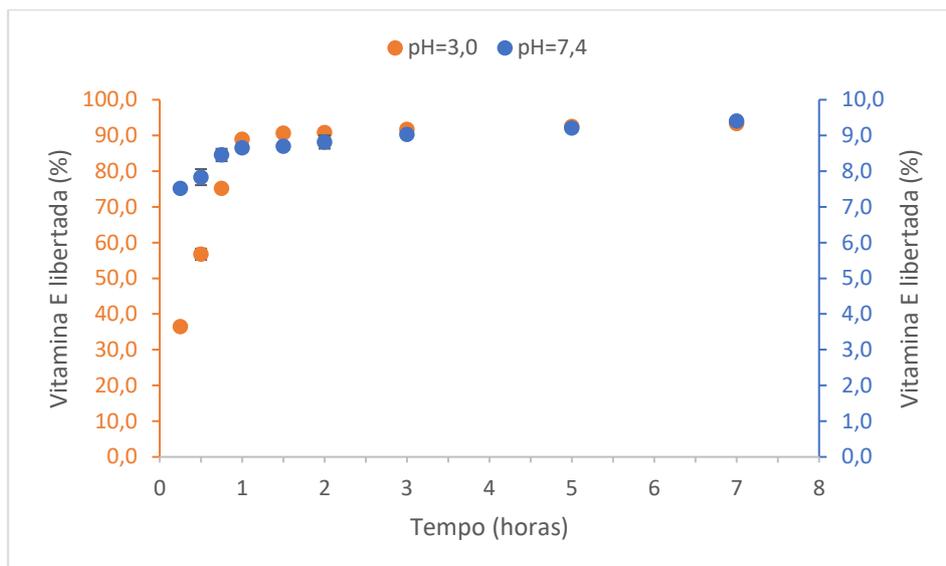


Figura 70 – Representação esquemática dos perfis de liberação da vitamina E das partículas de quitosano sintetizadas pelo método de coacervação, em meio neutro (pH 7,4) (•) e em meio ácido (pH 3,0) (◐): valores médios de percentagem de óleo libertado para cada amostra e respetivos valores de erro calculado pelo desvio padrão de três réplicas.

6.6. Funcionalização têxtil

Atendendo aos resultados dos estudos de liberação dos agentes ativos, selecionaram-se as partículas de etilcelulose e OE de eucalipto com SDS/PEG 4000 como conjunto de surfactantes, para seguir com os estudos de funcionalização de têxteis de algodão, uma vez que apresentaram uma maior quantidade de agente ativo libertado.

Numa primeira fase, foi preparada uma formulação de base aquosa de 60 g/L de partículas de etilcelulose, juntamente com 10 g/L de Impranil Eco-DLS como ligante, para permitir a fixação das partículas no tecido. No entanto, as partículas não dispersaram bem na formulação e foi obtida uma pasta gelificada que impedia a sua passagem pela pistola de *spray* (Fig. 71).



Figura 71 – Fotografia da formulação de base aquosa de 60 g/L de partículas de etilcelulose juntamente com 10 g/L de Impranil Eco-DLS, preparada para a funcionalização de têxteis.

Para contornar esta questão foram realizados estudos de dispersão das partículas com três dispersantes distintos, o PVA, o PEG e o Poloxamer 188, todos a uma concentração de 2% (Fig. 72). No caso da dispersão com o PVA, observa-se a presença de pequenos depósitos de partículas nas bordas do vidro do frasco, indicativo de que as partículas não são totalmente dispersas na presença do PVA (Fig. 72a). No ensaio de dispersão com PEG não se verifica a deposição de partículas, mas observa-se a formação de uma grande quantidade de espuma (Fig. 72b). No caso da dispersão com Poloxamer 188, verifica-se uma menor deposição de partículas em comparação com a formulação com PVA e ainda a formação de menos quantidade de espuma em comparação com a formulação com o PEG como dispersante (Fig. 72c). Por esse motivo, o Poloxamer 188 foi selecionado como melhor dispersante para aplicar na formulação para funcionalização dos têxteis.

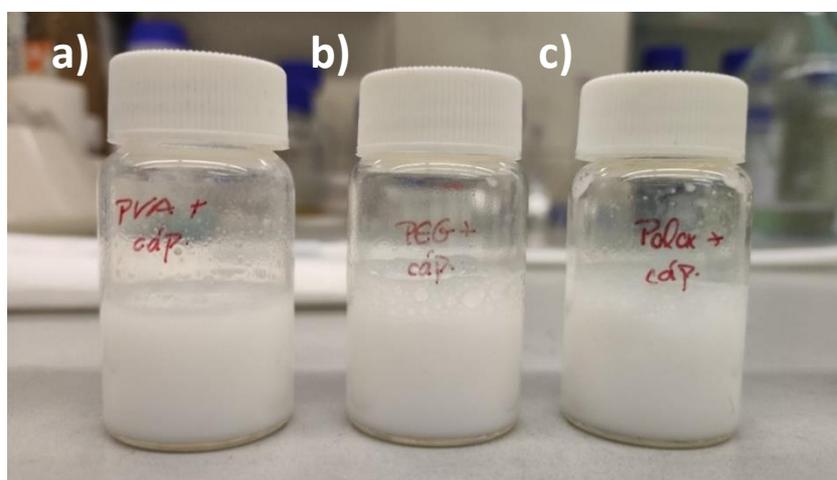


Figura 72 – Fotografia do estudo de dispersão das partículas de etilcelulose com o dispersante a) PVA, b) PEG e c) Poloxamer 188.

Desta forma, preparou-se uma nova formulação de base aquosa para revestimento têxtil, contendo as partículas (60 g/L), juntamente com Eco-DLS (10 g/L) como ligante e Poloxamer 188 a 2%, para permitir uma melhor dispersão. A adição do dispersante suscitou uma melhoria na formulação, uma vez que não se verificou a formação de uma pasta gelificada. Contudo, voltou a observar-se a deposição de partículas, desta vez com um aspeto pastoso e espumoso, mas mais solto do que verificado anteriormente sem a presença do dispersante (Fig. 73). Este resultado pode ser devido ao nível de aglomeração das partículas, que pode fazer com que estas depositem mais facilmente com a interrupção da agitação. Para evitar a deposição, optou-se por liofilizar as partículas de forma a permitir a obtenção de um pó com partículas mais individualizadas.



Figura 73 – Fotografia da formulação de base aquosa de 60 g/L de partículas de etilcelulose juntamente com 10 g/L de Eco-DLS e Poloxamer 188 a 2%, preparada para a funcionalização de têxteis.

Prosseguiu-se com a preparação da formulação com as partículas liofilizadas (10 g/L), juntamente com o ligante (10 g/L) e o dispersante (2%), mantendo as condições de agitação a 700 rpm, durante 3 horas. Neste caso, foi obtida uma formulação estável e passível de ser aplicada por *spray coating*, e em que as partículas se encontravam muito mais dispersas.

A formulação foi aplicada num substrato têxtil 100% algodão, de tamanho A5, pelo método de *spray coating*. Após a aplicação da formulação, seguiu-se a cura do substrato atendendo aos resultados de TGA obtidos para o conjunto de partículas de etilcelulose com o OE de eucalipto encapsulado, de forma a evitar a degradação do polímero e do agente ativo. Foi efetuada a funcionalização de duas amostras do mesmo têxtil: o primeiro com um *wet pickup* de 40% e o segundo com *wet pickup* de 90%, de forma a perceber a influência da quantidade de partículas no perfil de libertação do OE, a partir do substrato funcionalizado.

6.7. Determinação da libertação dos agentes ativos dos têxteis funcionalizados

O estudo de libertação do OE de eucalipto do substrato funcionalizado foi monitorizado por análise de espectroscopia de UV-Vis. Considerando o pico de absorção máxima e a curva de calibração relativa ao agente ativo (Anexo II, Fig. 85), foi possível determinar a quantidade de óleo libertado pelo têxtil funcionalizado, ao longo das 55 horas de estudo e, dessa forma, perceber o impacto do substrato funcionalizado e do *wet pickup* no perfil de libertação do óleo encapsulado.

Uma vez que se detetou a presença de OE de eucalipto após a funcionalização dos substratos, conclui-se que a temperatura de cura do substrato foi ideal para evitar a degradação dos componentes da formulação.

Pela análise do perfil de libertação do agente ativo no substrato com *wet pickup* de 40%, verifica-se uma elevada taxa de libertação do agente ativo até às 3 horas de ensaio (Fig. 74). A partir desse ponto, a taxa de libertação tende a diminuir, no entanto sempre com valores crescentes de óleo libertado, até atingir as 55 horas de ensaio. Este resultado é indicativo de que, possivelmente, a libertação de óleo se manteria para além das 55 horas, mas com uma taxa reduzida. No entanto, para averiguar esta possibilidade, seria necessário prolongar o tempo de ensaio de libertação.

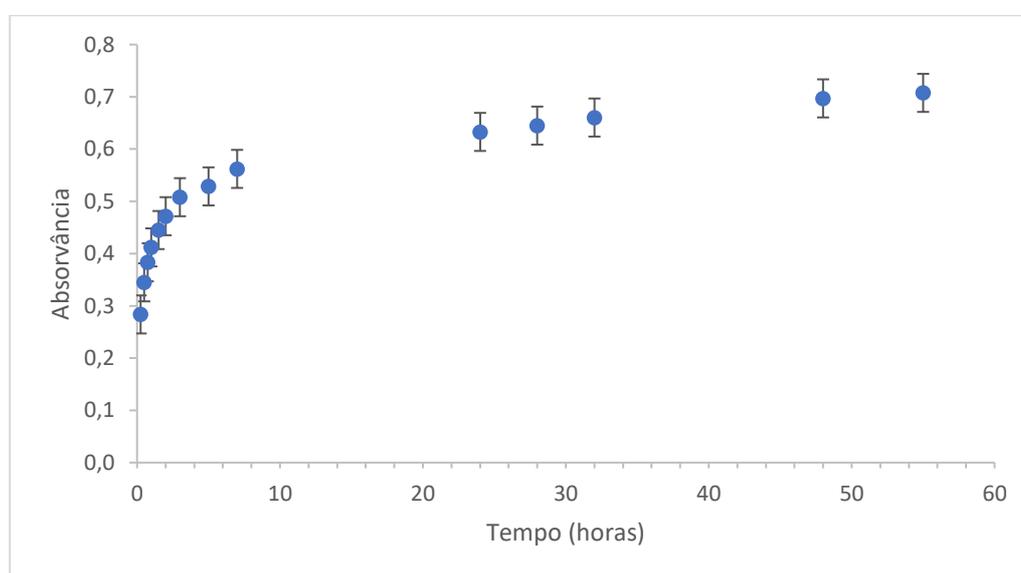


Figura 74 – Representação esquemática dos perfis de libertação do OE de eucalipto das partículas de etilcelulose + SDS/PEG 4000, após a funcionalização dos têxteis com *wet pickup* de 40%: valores médios de absorvância para cada amostra e respetivos valores de erro calculado pelo desvio padrão de três réplicas.

Analisando o perfil de libertação também se verifica que a absorvância média observada para três réplicas da mesma amostra, apresenta valores de erro acentuadas. Este erro acentuado pode ser devido às zonas de onde foi removido os provetes de tecido para análise, uma vez que se verifica uma maior quantidade de óleo libertado no provete removido de zona central do substrato, face aos dois provetes removidos da extremidade do mesmo (Fig. 75). Isto deve-se à distribuição não homogênea das partículas quando aplicadas por *spray coating* no substrato têxtil.

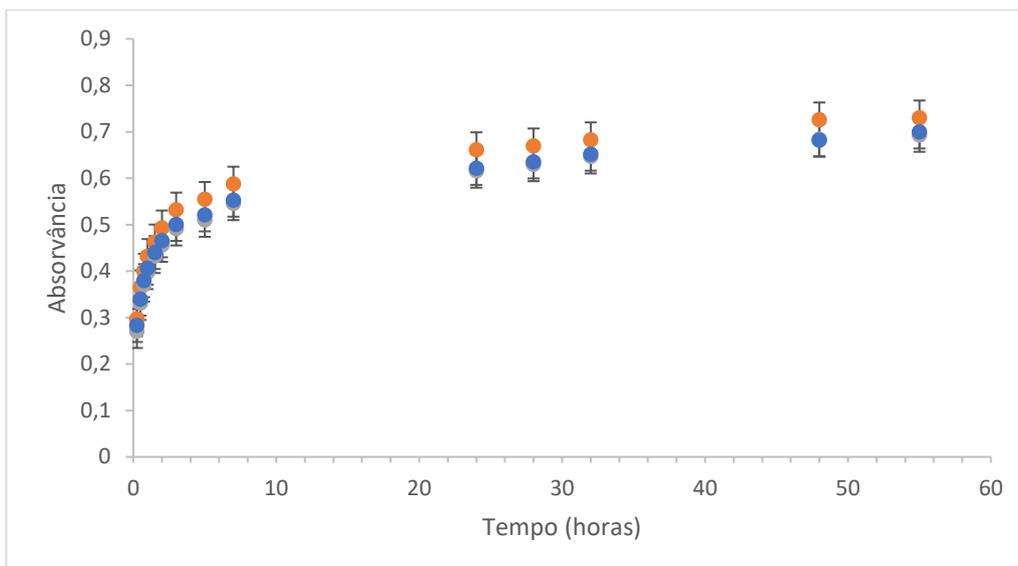


Figura 75 – Representação esquemática dos perfis de libertação do OE de eucalipto das partículas de etilcelulose + SDS/PEG 4000, após a funcionalização dos têxteis com *wet pickup* de 40%. Resultados obtidos no ensaio com o provete da extremidade esquerda do substrato (•), provete central do substrato (•) e provete da extremidade direita do substrato (•): valores médios de absorvância para cada amostra e respetivos valores de erro calculado pelo desvio padrão de três réplicas.

O perfil de libertação do OE de eucalipto no substrato com *wet pickup* de 90% assemelha-se ao analisado anteriormente. Verifica-se uma elevada taxa de libertação do agente ativo até às 3 horas de ensaio, seguida de um decaimento da taxa de libertação a partir desse ponto (Fig. 76). Apesar de o *wet pickup* da segunda amostra de tecido ser superior, não se verifica uma maior quantidade de libertação do agente ativo. Possivelmente, o tempo de análise efetuado não foi suficiente para se detetar uma diferença significativa nos perfis de libertação e, conseqüentemente, na quantidade de OE libertado em cada amostra de tecido. Para além disso, devido à maior quantidade de partículas na amostra com *wet pickup* de 90%, pode existir uma maior dificuldade de penetração do meio de libertação na totalidade de partículas presentes no tecido, uma vez que também se encontram mais protegidas por uma camada mais espessa de polímero ligante, o que faz com que apenas as que constam na superfície do tecido tenham contribuído para a taxa de libertação do óleo.

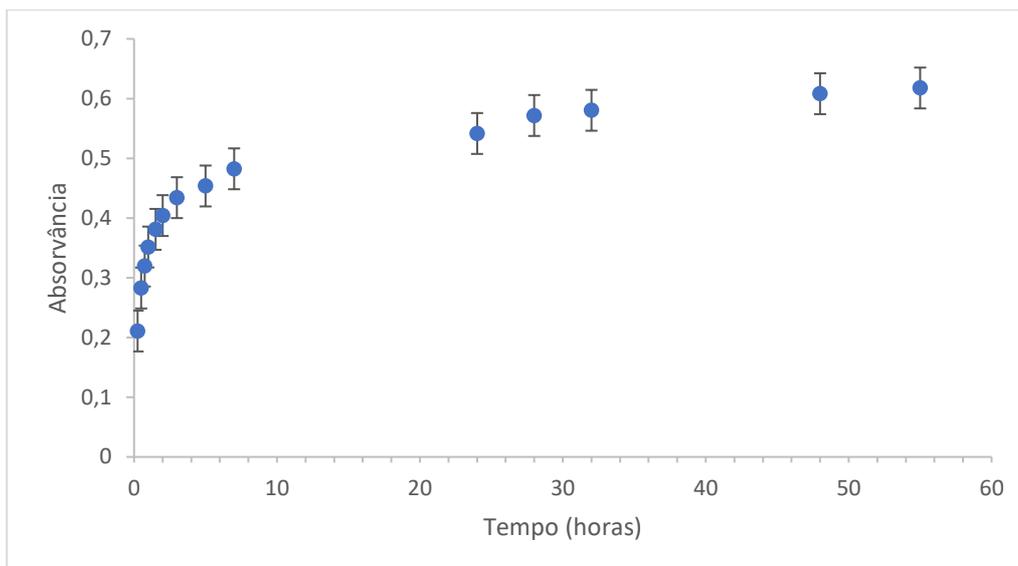


Figura 76 – Representação esquemática dos perfis de libertação do OE de eucalipto das partículas de etilcelulose + SDS/PEG 4000, após a funcionalização dos têxteis com *wet pickup* de 90%: valores médios de absorvância para cada amostra e respetivos valores de erro calculado pelo desvio padrão de três réplicas.

Como verificado anteriormente, existe um erro acentuado relativamente aos resultados das três réplicas efetuadas no estudo de libertação, que pode ser justificado pelas mesmas razões discutidas anteriormente. À semelhança do estudo anterior, existe também uma maior quantidade de óleo libertado no provete removido da zona central do substrato, face aos provetes removidos da extremidade do mesmo (Fig. 77). Para além disso, verifica-se um erro mais acentuado nos resultados relativos ao tecido com *wet pickup* de 90%, que pode ser indicativo de que, de facto, devido ao aumento do número de camadas de revestimento funcional aplicado, ocorre também uma maior divergência na quantidade de partículas presentes na porção central face às extremidades do tecido.

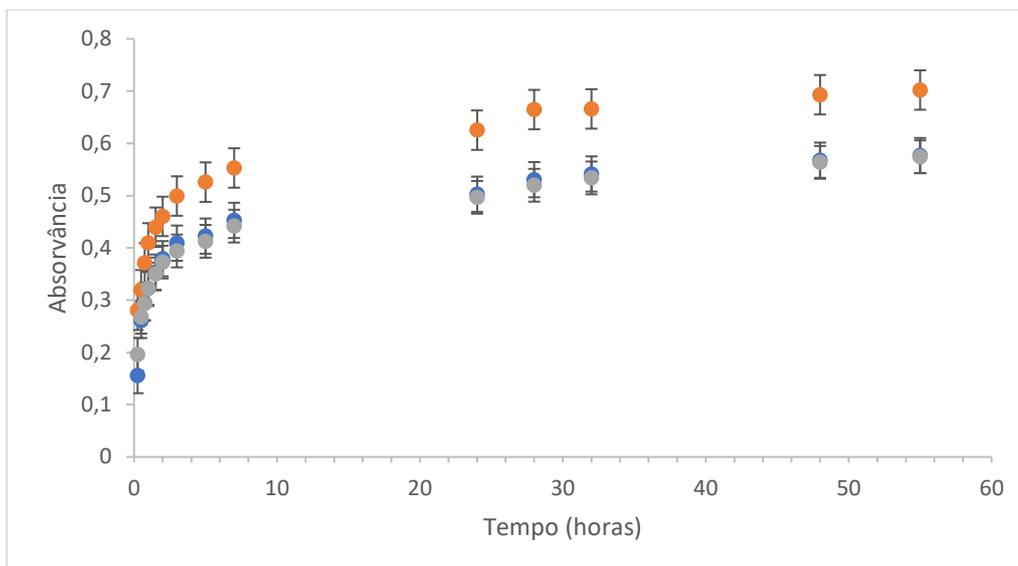


Figura 77 – Representação esquemática dos perfis de libertação do OE de eucalipto das partículas de etilcelulose + SDS/PEG 4000, após a funcionalização dos têxteis com *wet pickup* de 90%. Resultados obtidos no ensaio com o provete da extremidade esquerda do substrato (•), provete central do substrato (•) e provete da extremidade direita do substrato (•): valores médios de absorvância para cada amostra e respetivos valores de erro calculado pelo desvio padrão de três réplicas.

A libertação do OE de eucalipto presente nos têxteis funcionalizados foi realizada em etanol, uma vez que, o estudo do perfil de libertação das partículas em questão foi realizado no mesmo, tendo por base estudos realizados na literatura. No entanto, numa aplicação futura e mais direccionada para aplicabilidade dos tecidos na área biomédica, um meio de libertação mais apropriado para mimetizar os fluídos humanos seria mais aconselhado, com a necessidade de ajuste da curva de calibração para o efeito.

7. Conclusão

Nesta dissertação foram desenvolvidas partículas de base biológica, nomeadamente, de etilcelulose, de ácido mirístico, de PLA e de quitosano, contendo como agentes ativos o OE de eucalipto e a vitamina E. Para isso, foram adotados os métodos de encapsulação de evaporação de solvente, coacervação e gelificação iónica, com o intuito de perceber o impacto das diferentes metodologias nas dimensões, no *loading* e na eficiência de encapsulação das partículas sintetizadas. Relativamente às partículas de base celulósica, sintetizadas através dos métodos de evaporação de solvente e de coacervação, verificou-se, através das imagens capturadas por OM e SEM, a presença de partículas de OE de eucalipto e de vitamina E com forma esférica em ambos os métodos. As partículas com vitamina E sintetizadas pelo método de evaporação de solvente, apresentaram um aspeto individualizado e com uma dimensão compreendida entre 0,2 e 2,7 μm , bem como uma eficiência de encapsulação máxima de $74,1 \pm 0,4\%$. No caso da coacervação, obtiveram-se partículas com vitamina E coalescidas e de menores dimensões, compreendidas entre 0,09 e 0,2 μm , e com menor eficiência de encapsulação, atingindo $1,06 \pm 0,01\%$. Deste modo, percebeu-se que o método de encapsulação por via de evaporação de solvente é preferível na síntese dos sistemas em estudo. Por sua vez, os resultados da caracterização morfológica das partículas de ácido mirístico não foram muito promissores, não se tendo verificado a presença de partículas uniformes, pelo que o ácido gordo em estudo não se revelou um bom material de revestimento dos agentes ativos, pelos métodos de encapsulação aplicados. Relativamente às partículas de PLA, estas foram sintetizadas pelos métodos de evaporação de solvente e de coacervação, tendo sido alcançadas partículas viáveis com ambos os agentes ativos, apenas quando aplicada a metodologia de evaporação de solvente. A análise morfológica revelou partículas com vitamina E de forma esférica e bem definidas, com dimensões compreendidas entre 183,4 e 514,2 nm, e uma eficiência de encapsulação de $40,2 \pm 0,3\%$. O mesmo verificou-se com as partículas de OE de eucalipto, tendo sido alcançadas dimensões entre 157,1 e 644,2 nm e uma eficiência de encapsulação de $13,5 \pm 0,5\%$. No que se refere às partículas de quitosano com vitamina E, os resultados não foram promissores, tendo sido obtidas partículas muito coalescidas, com ambas as metodologias e uma eficiência de encapsulação máxima de $3,62 \pm 0,01\%$ e de $8,57 \pm 0,04\%$, pelo método de coacervação e de gelificação iónica, respetivamente. No caso das partículas de quitosano e OE de eucalipto sintetizadas pelo método de gelificação iónica, obtiveram-se partículas mais definidas, com tamanhos compreendidos entre 32,1 e 40,9 nm e uma eficiência de encapsulação de $3,08 \pm 0,32\%$. Deste modo, concluiu-se que os métodos de encapsulação aplicados com quitosano como matriz polimérica não se revelaram apropriados para encapsular os agentes ativos selecionados.

Relativamente à caracterização química das partículas, não foi possível identificar a presença dos agentes ativos na superfície destas pela análise comparativa dos picos presentes nos espectros de FTIR-ATR das partículas e dos reagentes usados na síntese das mesmas, devido à sobreposição dos picos característicos, como consequência da semelhança dos espectros dos diferentes componentes.

A análise térmica das partículas permitiu averiguar a capacidade da tecnologia de encapsulação e das matrizes em estudo, na preservação dos agentes ativos. Em todos os conjuntos de partículas se verificou um aumento da estabilidade térmica dos agentes ativos, uma vez que a degradação térmica destas se iniciou a temperaturas mais elevadas face ao agente ativo isolado.

Em relação ao estudo dos perfis de libertação dos agentes ativos em partículas na sua forma em pó, a abordagem aplicada revelou-se eficaz, uma vez que, para todos os conjuntos de partículas submetidas a análise se conseguiu averiguar, por espectroscopia de UV-Vis, a libertação dos agentes ativos. Relativamente às partículas de etilcelulose, os perfis de libertação de ambos os agentes ativos, demonstraram-se idênticos e possivelmente incompletos, visto que não se observou a estagnação da quantidade de agente ativo libertado, tendo sido conseguida uma taxa de libertação máxima de $18,5 \pm 2,4\%$ com as partículas de OE de eucalipto. No que diz respeito às partículas de PLA com vitamina E, estas exibiram uma taxa de libertação lenta nas primeiras horas de ensaio, controlada por difusão, seguida de um aumento abrupto da taxa de libertação devido à degradação do polímero, tendo sido atingida uma libertação máxima de $1,8 \pm 0,1\%$ de agente ativo. Relativamente às partículas de quitosano, confirmou-se a sensibilidade deste ao estímulo de pH, uma vez que se verificou uma maior quantidade de libertação de vitamina E nas partículas sujeitas ao ensaio em pH ácido (pH 3), face ao ensaio em pH neutro (pH 7,4). No caso das partículas com vitamina E, foi libertado $7,8 \pm 4,3\%$ e $9,4 \pm 4,5\%$ de agente ativo a pH neutro, quando sintetizadas por gelificação iónica e coacervação, respetivamente. Em contrapartida, em meio ácido, foi atingida a libertação de $84,3 \pm 1,3\%$ e $93,3 \pm 5,4\%$ de vitamina E, das partículas sintetizadas por gelificação iónica e coacervação, respetivamente. Deste modo, concluiu-se que o quitosano é sensível ao estímulo de pH e que por isso, revela-se um polímero favorável na encapsulação de agentes ativos para libertação controlada.

A integração das partículas de etilcelulose com OE de eucalipto em substratos têxteis por *spray coating*, permitiu a funcionalização destes com um *wet pickup* de 40 e 90%. Por fim, os perfis de libertação do OE de eucalipto em ambos os substratos demonstraram a possibilidade de libertação do agente ativo quando os sistemas encapsulados estão integrados nos têxteis.

Os resultados demonstraram a potencialidade do sistema encapsulado de etilcelulose e OE de eucalipto na libertação de agentes ativos para aplicações na área têxtil.

7.1. Sugestões para trabalhos futuros

Como sugestões para trabalhos futuros é sugerido o estudo de novas condições de síntese das partículas menos promissoras, nomeadamente, as partículas sintetizadas pelo método de coacervação. Deste modo, seria vantajoso estudar quais as melhores condições para obter partículas bem definidas com os sistemas biológicos aplicados, pelo ajuste de alguns parâmetros, tais como, a concentração de surfactante, a velocidade de adição da solução de polímero ou o tempo de agitação. Ainda sobre as condições de síntese, seria interessante ajustar os parâmetros referidos anteriormente, nas partículas mais promissoras da presente dissertação, de forma a atingir um *loading* e eficiência de encapsulação superiores. Relativamente aos ensaios de libertação, seria proveitoso analisar os perfis de libertação das partículas sintetizadas por um período de tempo de ensaio mais prolongado, de forma a perceber o comportamento das matrizes de revestimento por períodos temporais mais alargados. Para além disso, poderia ser interessante estudar a capacidade de resposta dos polímeros usados a outros estímulos, nomeadamente a temperatura, na libertação dos agentes ativos.

Relativamente à funcionalização dos substratos têxteis, seria importante estudar a incorporação e libertação das restantes partículas referidas na dissertação, ou ainda de outros agentes ativos com propriedades vantajosas. Para além disso, poder-se-ia estudar a incorporação das partículas por via de outros métodos de funcionalização, tais como, esgotamento e *padding*. Ainda sobre os ensaios de libertação, seria de interesse acrescido testar a libertação do agente ativo incorporado no substrato têxtil em meios de libertação mais apropriados para mimetizar os fluidos humanos.

Referências

- [1] I. Martins, «Microencapsulation of Thyme Oil by Coacervation: Production, Characterization and Release Evaluation», Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, Porto, 2012.
- [2] School of Chemical Engineering, College of Engineering, Universiti Teknologi MARA, 40450 Shah Alam, Selangor, Malaysia *et al.*, «Essential oils encapsulation performance evaluation: A review on encapsulation parameters», *Malays. J. Chem. Eng. Technol.*, out. 2021, doi: 10.24191/mjcet.v4i2.14481.
- [3] «Global Microencapsulation Market Growth, Share Report, 2030». Acedido: 6 de fevereiro de 2023. Disponível em: <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/microencapsulation-market>
- [4] «Microencapsulation Market by Technology (Spray, Emulsion, Dripping), Core Material (Pharma & Healthcare Drugs, PCM, Food Additives, Fragrances), Application (Pharma, Household, Agrochemicals, Textiles), Shell Material, and Region (North America, Europe, Asia Pacific, South America, Middle East and Africa), Global trends and forecast from 2019 to 2028», Exactitude Consultancy. Acedido: 13 de fevereiro de 2023. Disponível em: <https://exactitudeconsultancy.com/reports/2427/microencapsulation-market/>
- [5] M. Zare, K. Dziemidowicz, G. R. Williams, e S. Ramakrishna, «Encapsulation of Pharmaceutical and Nutraceutical Active Ingredients Using Electrospinning Processes», *Nanomaterials*, vol. 11, n.º 8, p. 1968, jul. 2021, doi: 10.3390/nano11081968.
- [6] F. Casanova e L. Santos, «Encapsulation of cosmetic active ingredients for topical application—a review», *J. Microencapsul.*, vol. 33, n.º 1, pp. 1–17, fev. 2016, doi: 10.3109/02652048.2015.1115900.
- [7] S. K. F. Gibbs Intez Ali, Catherine N. Mulligan, Bernard, «Encapsulation in the food industry: a review», *Int. J. Food Sci. Nutr.*, vol. 50, n.º 3, pp. 213–224, jan. 1999, doi: 10.1080/096374899101256.
- [8] G. L. Zabot *et al.*, «Encapsulation of Bioactive Compounds for Food and Agricultural Applications», *Polymers*, vol. 14, n.º 19, Art. n.º 19, jan. 2022, doi: 10.3390/polym14194194.
- [9] S. Siler Marinkovic, D. Bezbradica, e P. Škundrić, «Microencapsulation in the Textile Industry», *Chem. Ind. Chem. Eng. Q.*, vol. 12, pp. 58–62, jan. 2006, doi: 10.2298/CICEQ0601058S.
- [10] I. L. Liakos *et al.*, «All natural cellulose acetate—Lemongrass essential oil antimicrobial nanocapsules», *Int. J. Pharm.*, vol. 510, n.º 2, pp. 508–515, ago. 2016, doi: 10.1016/j.ijpharm.2016.01.060.
- [11] W. Weisany *et al.*, «Targeted delivery and controlled released of essential oils using nanoencapsulation: A review», *Adv. Colloid Interface Sci.*, vol. 303, p. 102655, mai. 2022, doi: 10.1016/j.cis.2022.102655.
- [12] S. H. Sonawane, B. A. Bhanvase, M. Sivakumar, e S. B. Potdar, «1 - Current overview of encapsulation», em *Encapsulation of Active Molecules and Their Delivery System*, S. H. Sonawane, B. A. Bhanvase, e M. Sivakumar, Eds., Elsevier, 2020, pp. 1–8. doi: 10.1016/B978-0-12-819363-1.00001-6.
- [13] Md. Saifullah, M. R. I. Shishir, R. Ferdowsi, M. R. Tanver Rahman, e Q. Van Vuong, «Micro and nano encapsulation, retention and controlled release of flavor and aroma compounds: A critical review», *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 86, pp. 230–251, abr. 2019, doi: 10.1016/j.tifs.2019.02.030.
- [14] B. Tylkowski, A. Trojanowska, A. Nogalska, R. Garcia-Valls, e M. Giamberini, «Technological solutions for encapsulation», *Phys. Sci. Rev.*, vol. 2, jan. 2017, doi: 10.1515/psr-2017-0020.

- [15] A. Shetta, J. Kegere, e W. Mamdouh, «Comparative study of encapsulated peppermint and green tea essential oils in chitosan nanoparticles: Encapsulation, thermal stability, in-vitro release, antioxidant and antibacterial activities», *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 126, pp. 731–742, abr. 2019, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.12.161.
- [16] J. Milagres de Almeida *et al.*, «Antimicrobial action of Oregano, Thyme, Clove, Cinnamon and Black pepper essential oils free and encapsulated against foodborne pathogens», *Food Control*, vol. 144, p. 109356, fev. 2023, doi: 10.1016/j.foodcont.2022.109356.
- [17] I. L. Liakos *et al.*, «Cellulose acetate - essential oil nanocapsules with antimicrobial activity for biomedical applications», *Colloids Surf. B Biointerfaces*, vol. 172, pp. 471–479, dez. 2018, doi: 10.1016/j.colsurfb.2018.08.069.
- [18] R. Delshadi, A. Bahrami, A. G. Tafti, F. J. Barba, e L. L. Williams, «Micro and nano-encapsulation of vegetable and essential oils to develop functional food products with improved nutritional profiles», *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 104, pp. 72–83, out. 2020, doi: 10.1016/j.tifs.2020.07.004.
- [19] E. Yara-Varón, Y. Li, M. Balcells, R. Canela-Garayoa, A.-S. Fabiano-Tixier, e F. Chemat, «Vegetable Oils as Alternative Solvents for Green Oleo-Extraction, Purification and Formulation of Food and Natural Products», *Molecules*, vol. 22, n.º 9, Art. n.º 9, set. 2017, doi: 10.3390/molecules22091474.
- [20] Q. Guo *et al.*, «Essential oils encapsulated by biopolymers as antimicrobials in fruits and vegetables: A review», *Food Biosci.*, vol. 44, p. 101367, dez. 2021, doi: 10.1016/j.fbio.2021.101367.
- [21] C. G. Silva, E. D. C. Yudice, P. A. L. Campini, e D. S. Rosa, «The performance evaluation of Eugenol and Linalool microencapsulated by PLA on their activities against pathogenic bacteria», *Mater. Today Chem.*, vol. 21, p. 100493, ago. 2021, doi: 10.1016/j.mtchem.2021.100493.
- [22] S. Noppakundilograt, P. Piboon, W. Graisuwan, R. Nuisin, e S. Kiatkamjornwong, «Encapsulated eucalyptus oil in ionically cross-linked alginate microcapsules and its controlled release», *Carbohydr. Polym.*, vol. 131, pp. 23–33, out. 2015, doi: 10.1016/j.carbpol.2015.05.054.
- [23] K. Wahyuningsih, S. Yuliani, e E. S. Iriani, «Nano-encapsulation of Eucalyptus citriodora Oil: Preparation and Characterization», *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.*, vol. 1024, n.º 1, p. 012016, mai. 2022, doi: 10.1088/1755-1315/1024/1/012016.
- [24] Y. Yang e D. J. McClements, «Encapsulation of vitamin E in edible emulsions fabricated using a natural surfactant», *Food Hydrocoll.*, vol. 30, n.º 2, pp. 712–720, mar. 2013, doi: 10.1016/j.foodhyd.2012.09.003.
- [25] J. M. Budinčić *et al.*, «Study of vitamin E microencapsulation and controlled release from chitosan/sodium lauryl ether sulfate microcapsules», *Carbohydr. Polym.*, vol. 251, p. 116988, jan. 2021, doi: 10.1016/j.carbpol.2020.116988.
- [26] S. Alqahtani e A. Kaddoumi, «Vitamin E transporters in cancer therapy», *AAPS J.*, vol. 17, n.º 2, pp. 313–322, mar. 2015, doi: 10.1208/s12248-014-9705-5.
- [27] S. S. Ibrahim, W. S. Abou-Elseoud, H. H. Elbehery, e M. L. Hassan, «Chitosan-cellulose nanoencapsulation systems for enhancing the insecticidal activity of citronella essential oil against the cotton leafworm *Spodoptera littoralis*», *Ind. Crops Prod.*, vol. 184, p. 115089, set. 2022, doi: 10.1016/j.indcrop.2022.115089.
- [28] S. Bhowmik, D. Agyei, e A. Ali, «Bioactive chitosan and essential oils in sustainable active food packaging: Recent trends, mechanisms, and applications», *Food Packag. Shelf Life*, vol. 34, p. 100962, dez. 2022, doi: 10.1016/j.fpsl.2022.100962.
- [29] S.-J. Ryu e H.-S. Bae, «Properties analysis of crosslinked chitosan microcapsules by multiple emulsification method», *Fash. Text.*, vol. 8, n.º 9, dez. 2021, doi: 10.1186/s40691-020-00230-9.

- [30] Z. Xiao, P. Sun, H. Liu, Q. Zhao, Y. Niu, e D. Zhao, «Stimulus responsive microcapsules and their aromatic applications», *J. Controlled Release*, vol. 351, pp. 198–214, nov. 2022, doi: 10.1016/j.jconrel.2022.09.017.
- [31] J. A. B. Valle, R. de C. S. C. Valle, A. C. K. Bierhalz, F. M. Bezerra, A. L. Hernandez, e M. J. Lis Arias, «Chitosan microcapsules: Methods of the production and use in the textile finishing», *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 138, n.º 21, p. 50482, 2021, doi: 10.1002/app.50482.
- [32] M. Hadidi, S. Pouramin, F. Adinepour, S. Haghani, e S. M. Jafari, «Chitosan nanoparticles loaded with clove essential oil: Characterization, antioxidant and antibacterial activities», *Carbohydr. Polym.*, vol. 236, p. 116075, mai. 2020, doi: 10.1016/j.carbpol.2020.116075.
- [33] M. Cai *et al.*, «Antibacterial and antibiofilm activities of chitosan nanoparticles loaded with *Ocimum basilicum* L. essential oil», *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 202, pp. 122–129, mar. 2022, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2022.01.066.
- [34] V. Rajkumar, C. Gunasekaran, C. A. Paul, e J. Dharmaraj, «Development of encapsulated peppermint essential oil in chitosan nanoparticles: characterization and biological efficacy against stored-grain pest control», *Pestic. Biochem. Physiol.*, vol. 170, p. 104679, nov. 2020, doi: 10.1016/j.pestbp.2020.104679.
- [35] J. M. Souza *et al.*, «Properties and controlled release of chitosan microencapsulated limonene oil», *Rev. Bras. Farmacogn.*, vol. 24, n.º 6, pp. 691–698, nov. 2014, doi: 10.1016/j.bjp.2014.11.007.
- [36] W.-C. Hsieh, C.-P. Chang, e Y.-L. Gao, «Controlled release properties of Chitosan encapsulated volatile Citronella Oil microcapsules by thermal treatments», *Colloids Surf. B Biointerfaces*, vol. 53, n.º 2, pp. 209–214, dez. 2006, doi: 10.1016/j.colsurfb.2006.09.008.
- [37] E. Julaeha, R. Nugeraha, M. Nurzaman, D. Kurnia, T. Wahyudi, e Y. Rosandi, «Characterization of ethyl cellulose (EC) microcapsules for lime oil encapsulation», *J. Phys. Conf. Ser.*, vol. 1080, p. 012038, ago. 2018, doi: 10.1088/1742-6596/1080/1/012038.
- [38] S. M. Mirabedini, I. Dutil, e R. R. Farnood, «Preparation and characterization of ethyl cellulose-based core–shell microcapsules containing plant oils», *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 394, pp. 74–84, jan. 2012, doi: 10.1016/j.colsurfa.2011.11.028.
- [39] A. Wattanasatcha, S. Rengpipat, e S. Wanichwecharungruang, «Thymol nanospheres as an effective anti-bacterial agent», *Int. J. Pharm.*, vol. 434, n.º 1, pp. 360–365, set. 2012, doi: 10.1016/j.ijpharm.2012.06.017.
- [40] J. Kerwald, C. F. de Moura Junior, E. D. Freitas, J. de D. P. de Moraes Segundo, R. S. Vieira, e M. M. Beppu, «Cellulose-based electrospun nanofibers: a review», *Cellulose*, vol. 29, n.º 1, pp. 25–54, jan. 2022, doi: 10.1007/s10570-021-04303-w.
- [41] M. Davidovich-Pinhas, «Oleogels», em *Polymeric Gels*, 2018, pp. 231–249. doi: 10.1016/B978-0-08-102179-8.00008-9.
- [42] B. Voncina, O. Kreft, V. Kokol, e W. T. Chen, «Encapsulation of Rosemary oil in ethylcellulose microcapsules», *Analysis*, vol. 1, pp. 13–19, jan. 2009.
- [43] I. L. Liakos *et al.*, «Polylactic Acid–Lemongrass Essential Oil Nanocapsules with Antimicrobial Properties», *Pharmaceuticals*, vol. 9, n.º 3, Art. n.º 3, set. 2016, doi: 10.3390/ph9030042.
- [44] S. Adepu e M. Khandelwal, «Bacterial cellulose with microencapsulated antifungal essential oils: A novel double barrier release system», *Materialia*, vol. 9, p. 100585, mar. 2020, doi: 10.1016/j.mtla.2020.100585.
- [45] I. M. Martins, S. N. Rodrigues, M. F. Barreiro, e Alirio. E. Rodrigues, «Polylactide-Based Thyme Oil Microcapsules Production: Evaluation of Surfactants», *Ind. Eng. Chem. Res.*, vol. 50, n.º 2, pp. 898–904, jan. 2011, doi: 10.1021/ie101815f.

- [46] I. M. Martins, S. N. Rodrigues, M. F. Barreiro, e A. E. Rodrigues, «Release of Thyme Oil from Polylactide Microcapsules», *Ind. Eng. Chem. Res.*, vol. 50, n.º 24, pp. 13752–13761, dez. 2011, doi: 10.1021/ie200791r.
- [47] G. Li *et al.*, «An improved solvent evaporation method to produce poly (lactic acid) microspheres via foam-transfer», *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 172, pp. 114–123, mar. 2021, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2021.01.031.
- [48] N. Varga, Á. Turcsányi, V. Hornok, e E. Csapó, «Vitamin E-Loaded PLA- and PLGA-Based Core-Shell Nanoparticles: Synthesis, Structure Optimization and Controlled Drug Release», *Pharmaceutics*, vol. 11, n.º 7, Art. n.º 7, jul. 2019, doi: 10.3390/pharmaceutics11070357.
- [49] L. Santos Assunção *et al.*, «Combination of carotenoids from Spirulina and PLA/PLGA or PHB: New options to obtain bioactive nanoparticles», *Food Chem.*, vol. 346, p. 128742, jun. 2021, doi: 10.1016/j.foodchem.2020.128742.
- [50] T. Nam, S. Ogihara, e S. Kobayashi, «Interfacial, Mechanical and Thermal Properties of Coir Fiber-Reinforced Poly(Lactic Acid) Biodegradable Composites», *Adv. Compos. Mater.*, vol. 21, pp. 103–122, jul. 2012, doi: 10.1163/156855112X629540.
- [51] N. Varga, Á. Turcsányi, V. Hornok, e E. Csapó, «Vitamin E-Loaded PLA- and PLGA-Based Core-Shell Nanoparticles: Synthesis, Structure Optimization and Controlled Drug Release», *Pharmaceutics*, vol. 11, n.º 7, Art. n.º 7, jul. 2019, doi: 10.3390/pharmaceutics11070357.
- [52] G. Antonioli, G. Fontanella, S. Echeverrigaray, A. P. Longaray Delamare, G. Fernandes Pauletti, e T. Barcellos, «Poly(lactic acid) nanocapsules containing lemongrass essential oil for postharvest decay control: In vitro and in vivo evaluation against phytopathogenic fungi», *Food Chem.*, vol. 326, p. 126997, out. 2020, doi: 10.1016/j.foodchem.2020.126997.
- [53] V. Trivedi, R. Bhomia, e J. C. Mitchell, «Myristic Acid Coated Protein Immobilised Mesoporous Silica Particles as pH Induced Oral Delivery System for the Delivery of Biomolecules», *Pharmaceuticals*, vol. 12, n.º 4, Art. n.º 4, dez. 2019, doi: 10.3390/ph12040153.
- [54] M. W. Pettit *et al.*, «Construction and physicochemical characterisation of a multi-composite, potential oral vaccine delivery system (VDS)», *Int. J. Pharm.*, vol. 468, n.º 1, pp. 264–271, jul. 2014, doi: 10.1016/j.ijpharm.2014.03.046.
- [55] D. Zhou, J. Yuan, Y. Zhou, e Y. Liu, «Preparation and characterization of myristic acid/expanded graphite composite phase change materials for thermal energy storage», *Sci. Rep.*, vol. 10, n.º 1, Art. n.º 1, jul. 2020, doi: 10.1038/s41598-020-67849-y.
- [56] PubChem, «Myristic acid». Acedido: 15 de novembro de 2022. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/11005>
- [57] A. Rajaei, M. Hadian, A. Mohsenifar, T. Rahmani-Cherati, e M. Tabatabaei, «A coating based on clove essential oils encapsulated by chitosan-myristic acid nanogel efficiently enhanced the shelf-life of beef cutlets», *Food Packag. Shelf Life*, vol. 14, pp. 137–145, dez. 2017, doi: 10.1016/j.fpsl.2017.10.005.
- [58] M. Ziaee, S. Moharramipour, e A. Mohsenifar, «MA-chitosan nanogel loaded with Cuminum cyminum essential oil for efficient management of two stored product beetle pests», *J. Pest Sci.*, vol. 87, n.º 4, pp. 691–699, dez. 2014, doi: 10.1007/s10340-014-0590-6.
- [59] M. Li, O. Rouaud, e D. Poncelet, «Microencapsulation by solvent evaporation: State of the art for process engineering approaches», *Int. J. Pharm.*, vol. 363, n.º 1, pp. 26–39, nov. 2008, doi: 10.1016/j.ijpharm.2008.07.018.
- [60] E. Bouyer, G. Mekhloufi, V. Rosilio, J.-L. Grossiord, e F. Agnely, «Proteins, polysaccharides, and their complexes used as stabilizers for emulsions: Alternatives to synthetic surfactants in the pharmaceutical field?», *Int. J. Pharm.*, vol. 436, n.º 1, pp. 359–378, out. 2012, doi: 10.1016/j.ijpharm.2012.06.052.

- [61] L. Ren *et al.*, «Multi-Encapsulation Combination of O/W/O Emulsions with Polyurea Microcapsules for Controlled Release and Safe Application of Dimethyl Disulfide», *ACS Appl. Mater. Interfaces*, vol. 13, n.º 1, pp. 1333–1344, jan. 2021, doi: 10.1021/acscami.0c16613.
- [62] F. Sousa, M. Santos, S. Rocha, e T. Trindade, «Encapsulation of essential oils in SiO₂ microcapsules and release behaviour of volatile compounds», *J. Microencapsul.*, vol. 31, abr. 2014, doi: 10.3109/02652048.2014.911376.
- [63] F. Leal-Calderon, S. Homer, A. Goh, e L. Lundin, «W/O/W emulsions with high internal droplet volume fraction», *Food Hydrocoll.*, vol. 27, n.º 1, pp. 30–41, mai. 2012, doi: 10.1016/j.foodhyd.2011.09.004.
- [64] P. Yammine, M. Theresa, D. Moussa, A.-M. Roula, e R. Kassab, «Effects of different surfactants on indomethacin microspheres formulations.», *J. Adv. Chem.*, vol. 11, pp. 3454–3464, fev. 2015, doi: 10.24297/jac.v11i4.2204.
- [65] S. S. Smail, M. M. Ghareeb, H. K. Omer, A. A. Al-Kinani, e R. G. Alany, «Studies on Surfactants, Cosurfactants, and Oils for Prospective Use in Formulation of Ketorolac Tromethamine Ophthalmic Nanoemulsions», *Pharmaceutics*, vol. 13, n.º 4, p. 467, mar. 2021, doi: 10.3390/pharmaceutics13040467.
- [66] T. S. H. Leong, T. J. Wooster, S. E. Kentish, e M. Ashokkumar, «Minimising oil droplet size using ultrasonic emulsification», *Ultrason. Sonochem.*, vol. 16, n.º 6, pp. 721–727, ago. 2009, doi: 10.1016/j.ultsonch.2009.02.008.
- [67] W. Guo, Y. W. Sun, G. S. Luo, e Y. J. Wang, «Interaction of PEG with ionic surfactant SDS to form template for mesoporous material», *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 252, n.º 1, pp. 71–77, jan. 2005, doi: 10.1016/j.colsurfa.2004.10.013.
- [68] P. Severino, M. H. A. Santana, S. C. Pinho, e E. B. Souto, «Polímeros sintéticos biodegradáveis: matérias-primas e métodos de produção de micropartículas para uso em drug delivery e liberação controlada», *Polímeros*, vol. 21, pp. 286–292, 2011, doi: 10.1590/S0104-14282011005000060.
- [69] A. Napiórkowska e M. Kurek, «Coacervation as a Novel Method of Microencapsulation of Essential Oils—A Review», *Molecules*, vol. 27, n.º 16, p. 5142, ago. 2022, doi: 10.3390/molecules27165142.
- [70] P. Severino, M. H. A. Santana, S. C. Pinho, e E. B. Souto, «Polímeros sintéticos biodegradáveis: matérias-primas e métodos de produção de micropartículas para uso em drug delivery e liberação controlada», *Polímeros*, vol. 21, pp. 286–292, 2011, doi: 10.1590/S0104-14282011005000060.
- [71] B. Al-kasmi, M. H. D. B. Alsirawan, A. Paradkar, A.-H. Nattouf, e H. El-Zein, «Aqueous and pH dependent coacervation method for taste masking of paracetamol via amorphous solid dispersion formation», *Sci. Rep.*, vol. 11, p. 8907, abr. 2021, doi: 10.1038/s41598-021-88312-6.
- [72] E. N. Koukaras, S. A. Papadimitriou, D. N. Bikiaris, e G. E. Froudakis, «Insight on the Formation of Chitosan Nanoparticles through Ionotropic Gelation with Tripolyphosphate», *Mol. Pharm.*, vol. 9, n.º 10, pp. 2856–2862, out. 2012, doi: 10.1021/mp300162j.
- [73] N. H. Hoang *et al.*, «Chitosan Nanoparticles-Based Ionic Gelation Method: A Promising Candidate for Plant Disease Management», *Polymers*, vol. 14, n.º 4, p. 662, fev. 2022, doi: 10.3390/polym14040662.
- [74] E. N. Koukaras, S. A. Papadimitriou, D. N. Bikiaris, e G. E. Froudakis, «Insight on the Formation of Chitosan Nanoparticles through Ionotropic Gelation with Tripolyphosphate», *Mol. Pharm.*, vol. 9, n.º 10, Art. n.º 10, out. 2012, doi: 10.1021/mp300162j.
- [75] R. Delshadi, A. Bahrami, A. G. Tafti, F. J. Barba, e L. L. Williams, «Micro and nano-encapsulation of vegetable and essential oils to develop functional food products with improved nutritional

- profiles», *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 104, pp. 72–83, out. 2020, doi: 10.1016/j.tifs.2020.07.004.
- [76] M. B. Adali, A. A. Barresi, G. Boccoardo, e R. Pisano, «Spray Freeze-Drying as a Solution to Continuous Manufacturing of Pharmaceutical Products in Bulk», *Processes*, vol. 8, n.º 6, Art. n.º 6, jun. 2020, doi: 10.3390/pr8060709.
- [77] J. H. Lee e Y. Yeo, «Controlled Drug Release from Pharmaceutical Nanocarriers», *Chem. Eng. Sci.*, vol. 125, pp. 75–84, mar. 2015, doi: 10.1016/j.ces.2014.08.046.
- [78] A. Matalanis, O. G. Jones, e D. J. McClements, «Structured biopolymer-based delivery systems for encapsulation, protection, and release of lipophilic compounds», *Food Hydrocoll.*, vol. 25, n.º 8, pp. 1865–1880, dez. 2011, doi: 10.1016/j.foodhyd.2011.04.014.
- [79] C. M. Lopes, J. M. S. Lobo, e P. Costa, «Formas farmacêuticas de liberação modificada: polímeros hidrofílicos», *Rev. Bras. Ciênc. Farm.*, vol. 41, pp. 143–154, jun. 2005, doi: 10.1590/S1516-93322005000200003.
- [80] L. Keawchaon e R. Yoksan, «Preparation, characterization and in vitro release study of carvacrol-loaded chitosan nanoparticles», *Colloids Surf. B Biointerfaces*, vol. 84, n.º 1, pp. 163–171, mai. 2011, doi: 10.1016/j.colsurfb.2010.12.031.
- [81] N. Choudhury, M. Meghwal, e K. Das, «Microencapsulation: An overview on concepts, methods, properties and applications in foods», *Food Front.*, vol. 2, n.º 4, pp. 426–442, 2021, doi: 10.1002/fft2.94.
- [82] Q. Zhang *et al.*, «Controlled release of dinotefuran with temperature/pH-responsive chitosan-gelatin microspheres to reduce leaching risk during application», *Carbohydr. Polym.*, vol. 277, p. 118880, fev. 2022, doi: 10.1016/j.carbpol.2021.118880.
- [83] K. Odjo *et al.*, «Preparation and characterization of chitosan-based antimicrobial films containing encapsulated lemon essential oil by ionic gelation and cranberry juice», *Food Chem.*, vol. 397, p. 133781, dez. 2022, doi: 10.1016/j.foodchem.2022.133781.
- [84] I. dos Santos Paglione *et al.*, «Comparative study of the properties of soy protein concentrate films containing free and encapsulated oregano essential oil», *Food Packag. Shelf Life*, vol. 22, p. 100419, dez. 2019, doi: 10.1016/j.fpsl.2019.100419.
- [85] F. Elshibani, F. Alzunni, A. Alamami, e S. E. Hawary, «In-vitro and in-vivo anti-hyperglycemic activity of methanolic extract of *Arbutus pavarii* Pampan and *Sarcopoterium spinosum* L. growing in Libya», 2020, doi: 10.22192/ijcrpps.2020.07.07.001.
- [86] M. B. Santos, L. Sillero, D. A. Gatto, e J. Labidi, «Bioactive molecules in wood extractives: Methods of extraction and separation, a review», *Ind. Crops Prod.*, vol. 186, p. 115231, out. 2022, doi: 10.1016/j.indcrop.2022.115231.
- [87] C. Dima, L. Pătraşcu, A. Cantaragiu, P. Alexe, e Ş. Dima, «The kinetics of the swelling process and the release mechanisms of *Coriandrum sativum* L. essential oil from chitosan/alginate/inulin microcapsules», *Food Chem.*, vol. 195, pp. 39–48, mar. 2016, doi: 10.1016/j.foodchem.2015.05.044.
- [88] M. Shinzato, «Alteração experimental de rochas carbonáticas, Caverna das Perólas, Iporanga (SP)», *Rev. Inst. Geológico*, vol. 31, jan. 2010, doi: 10.5935/0100-929X.20100002.
- [89] L. G. Malta e R. H. Liu, «Analyses of Total Phenolics, Total Flavonoids, and Total Antioxidant Activities in Foods and Dietary Supplements», em *Encyclopedia of Agriculture and Food Systems*, N. K. Van Alfen, Ed., Oxford: Academic Press, 2014, pp. 305–314. doi: 10.1016/B978-0-444-52512-3.00058-9.
- [90] R. R. Schendel, «10 - Phenol content in sprouted grains», em *Sprouted Grains*, H. Feng, B. Nemzer, e J. W. DeVries, Eds., AACC International Press, 2019, pp. 247–315. doi: 10.1016/B978-0-12-811525-1.00010-5.

- [91] H. Noreen, N. Semmar, M. Farman, e J. S. O. McCullagh, «Measurement of total phenolic content and antioxidant activity of aerial parts of medicinal plant *Coronopus didymus*», *Asian Pac. J. Trop. Med.*, vol. 10, n.º 8, pp. 792–801, ago. 2017, doi: 10.1016/j.apjtm.2017.07.024.
- [92] I. G. Munteanu e C. Apetrei, «Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review», *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 22, n.º 7, Art. n.º 7, jan. 2021, doi: 10.3390/ijms22073380.
- [93] S. B. Kedare e R. P. Singh, «Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay», *J. Food Sci. Technol.*, vol. 48, n.º 4, p. 412, ago. 2011, doi: 10.1007/s13197-011-0251-1.
- [94] I. R. Ilyasov, V. L. Beloborodov, I. A. Selivanova, e R. P. Terekhov, «ABTS/PP Decolorization Assay of Antioxidant Capacity Reaction Pathways», *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 21, n.º 3, p. 1131, fev. 2020, doi: 10.3390/ijms21031131.
- [95] A. C. Payne, A. Mazzer, G. J. J. Clarkson, e G. Taylor, «Antioxidant assays – consistent findings from FRAP and ORAC reveal a negative impact of organic cultivation on antioxidant potential in spinach but not watercress or rocket leaves», *Food Sci. Nutr.*, vol. 1, n.º 6, pp. 439–444, nov. 2013, doi: 10.1002/fsn3.71.
- [96] B. Boh Podgornik, S. Šandrić, e M. Kert, «Microencapsulation for Functional Textile Coatings with Emphasis on Biodegradability—A Systematic Review», *Coatings*, vol. 11, n.º 11, Art. n.º 11, nov. 2021, doi: 10.3390/coatings11111371.
- [97] N. Singh e J. Sheikh, «Microencapsulation and its application in production of functional textiles», *Indian J. Fibre Text. Res.*, vol. 45, pp. 0971–0426, dez. 2020, doi: 10.56042/ijftr.v45i4.31606.
- [98] F. C. Krebs, «Fabrication and processing of polymer solar cells: A review of printing and coating techniques», *Sol. Energy Mater. Sol. Cells*, vol. 93, n.º 4, pp. 394–412, abr. 2009, doi: 10.1016/j.solmat.2008.10.004.
- [99] A. Kumar, M. Sharma, e R. Vaish, «Durable antibacterial cotton fabric via spray-coating of photocatalytic MoS₂», *Mater. Chem. Phys.*, vol. 290, p. 126658, out. 2022, doi: 10.1016/j.matchemphys.2022.126658.
- [100] J. Oh *et al.*, «Characteristics analysis of the developed surface modification technologies to improve the anti-corrosion performances for offshore equipments», *J. Mech. Sci. Technol.*, vol. 33, ago. 2019, doi: 10.1007/s12206-019-0742-y.
- [101] A. Sharkawy, I. P. Fernandes, M. F. Barreiro, A. E. Rodrigues, e T. Shoeib, «Aroma-Loaded Microcapsules with Antibacterial Activity for Eco-Friendly Textile Application: Synthesis, Characterization, Release, and Green Grafting», *Ind. Eng. Chem. Res.*, vol. 56, n.º 19, pp. 5516–5526, mai. 2017, doi: 10.1021/acs.iecr.7b00741.
- [102] N. A. S. Rozman *et al.*, «Homalomena pineodora essential oil nanoparticle inhibits diabetic wound pathogens», *Sci. Rep.*, vol. 10, n.º 1, Art. n.º 1, fev. 2020, doi: 10.1038/s41598-020-60364-0.
- [103] G. Wadhwa, S. Kumar, V. Mittal, e R. Rao, «Encapsulation of babchi essential oil into microsponges: Physicochemical properties, cytotoxic evaluation and anti-microbial activity», *J. Food Drug Anal.*, vol. 27, n.º 1, pp. 60–70, jan. 2019, doi: 10.1016/j.jfda.2018.07.006.
- [104] Y. Ma *et al.*, «Preparation, Characterization, In Vitro Release, and Antibacterial Activity of Oregano Essential Oil Chitosan Nanoparticles», *Foods*, vol. 11, n.º 23, Art. n.º 23, jan. 2022, doi: 10.3390/foods11233756.
- [105] A. Abd El -Kader e H. Abu Hashish, «Encapsulation techniques of food bioproduct», *Egypt. J. Chem.*, mai. 2020, doi: 10.21608/ejchem.2019.16269.1993.
- [106] T. J. Wooster, M. Golding, e P. Sanguansri, «Impact of Oil Type on Nanoemulsion Formation and Ostwald Ripening Stability», *Langmuir*, vol. 24, n.º 22, pp. 12758–12765, nov. 2008, doi: 10.1021/la801685v.
- [107] «DL- α -Tocopherol(10191-41-0) IR Spectrum». Acedido: 22 de junho de 2023. Disponível em: https://www.chemicalbook.com/SpectrumEN_10191-41-0_ir1.htm

- [108] «(+/-)- α -Tocopherol acetate». Acedido: 22 de junho de 2023. Disponível em: <https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C7695912&Mask=80>
- [109] Y. Pu, J. Fang, e Y. Du, «Preparation and characterization of reusable water/ethylcellulose phase change cold storage microcapsules with high latent heat», *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 633, p. 127833, jan. 2022, doi: 10.1016/j.colsurfa.2021.127833.
- [110] M. M. D. Almeida *et al.*, «Stability evaluation of tocopheryl acetate and ascorbyl tetraisopalmitate in isolation and incorporated in cosmetic formulations using thermal analysis», *Braz. J. Pharm. Sci.*, vol. 46, n.º 1, pp. 129–134, mar. 2010, doi: 10.1590/S1984-82502010000100015.
- [111] A. Silveira e M. Lazzarotto, «Thermal tool for evaluation of essential oils of Eucalyptus SPP susceptible and resistant to Glycaspis Brimblecombei attack», abr. 2016.
- [112] M. K. Trivedi, A. Branton, D. Trivedi, G. Nayak, R. K. Mishra, e S. Jana, «Characterization of Physicochemical and Thermal Properties of Biofield Treated Ethyl Cellulose and Methyl Cellulose», *Int. J. Biomed. Mater. Res.*, vol. 3, n.º 6, Art. n.º 6, dez. 2015, doi: 10.11648/j.ijbmr.20150306.12.
- [113] M. Kervran, C. Vagner, M. Cochez, M. Ponçot, M. R. Saeb, e H. Vahabi, «Thermal degradation of polylactic acid (PLA)/polyhydroxybutyrate (PHB) blends: A systematic review», *Polym. Degrad. Stab.*, vol. 201, p. 109995, jul. 2022, doi: 10.1016/j.polymdegradstab.2022.109995.
- [114] M. M. Villar-Chavero, J. C. Domínguez, M. V. Alonso, M. Oliet, e F. Rodríguez, «Thermal and kinetics of the degradation of chitosan with different deacetylation degrees under oxidizing atmosphere», *Thermochim. Acta*, vol. 670, pp. 18–26, dez. 2018, doi: 10.1016/j.tca.2018.10.004.
- [115] N. Nady e S. H. Kandil, «Novel Blend for Producing Porous Chitosan-Based Films Suitable for Biomedical Applications», *Membranes*, vol. 8, n.º 1, p. 2, jan. 2018, doi: 10.3390/membranes8010002.
- [116] A. Vlachopoulos *et al.*, «Poly(Lactic Acid)-Based Microparticles for Drug Delivery Applications: An Overview of Recent Advances», *Pharmaceutics*, vol. 14, n.º 2, p. 359, fev. 2022, doi: 10.3390/pharmaceutics14020359.
- [117] G. Fantner, «A brief introduction to error analysis and propagation», p. 8, 2013.

Anexos

Anexo I – Imagens capturadas por OM

As imagens capturadas por OM das partículas de etilcelulose e vitamina E com o conjunto de surfactantes SDS/PEG 4000 sujeitas aos ensaios de estudo do impacto das condições experimentais, na síntese por evaporação de solvente, encontram-se presentes nas figuras abaixo. Na Fig. 78 estão representadas as partículas obtidas com uma velocidade de agitação de 8000 rpm durante 2 minutos, na Fig. 79 as partículas sintetizadas com uma velocidade de agitação de 4000 rpm durante 10 minutos e na Fig. 80 estão representadas as partículas obtidas com uma velocidade de agitação de 8000 rpm durante 10 minutos.

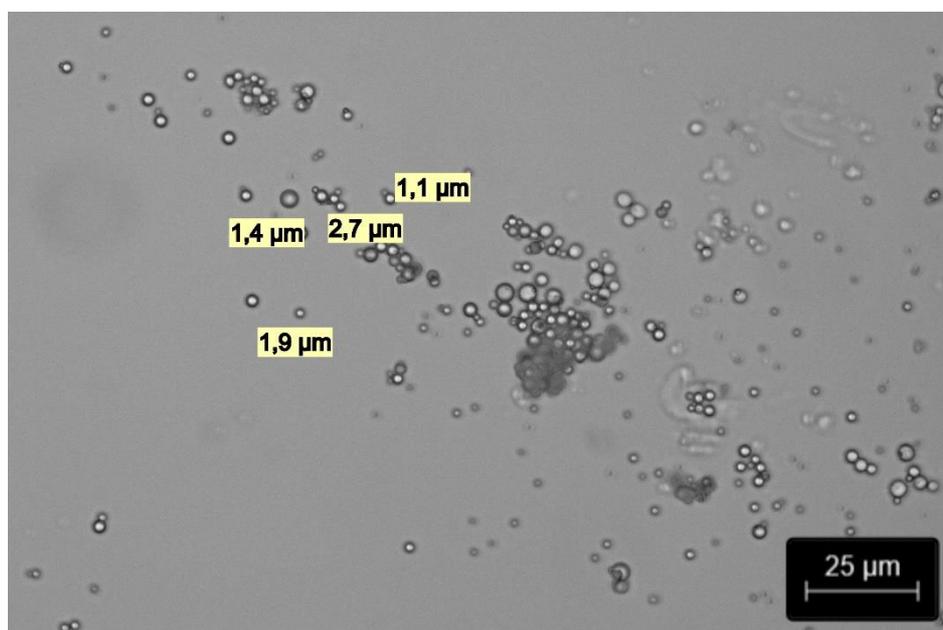


Figura 78 – Imagem capturada por OM das partículas de etilcelulose e vitamina E, com SDS/PEG como conjunto de surfactantes, sintetizadas por evaporação de solvente, com uma velocidade de agitação de 8000 rpm durante 2 minutos.

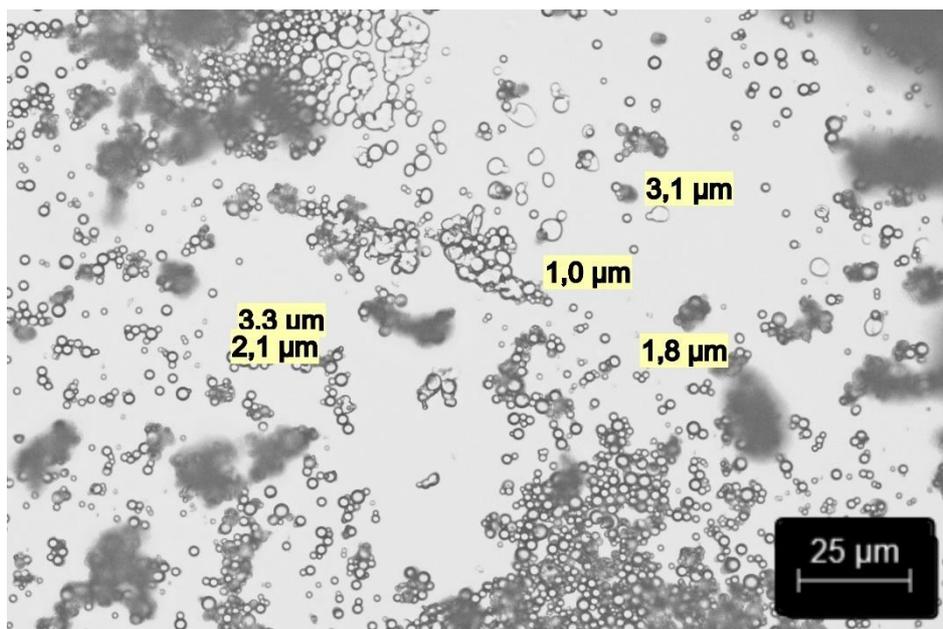


Figura 79 – Imagem capturada por OM das partículas de etilcelulose e vitamina E, com SDS/PEG como conjunto de surfactantes, sintetizadas por evaporação de solvente, com uma velocidade de agitação de 4000 rpm durante 10 minutos.

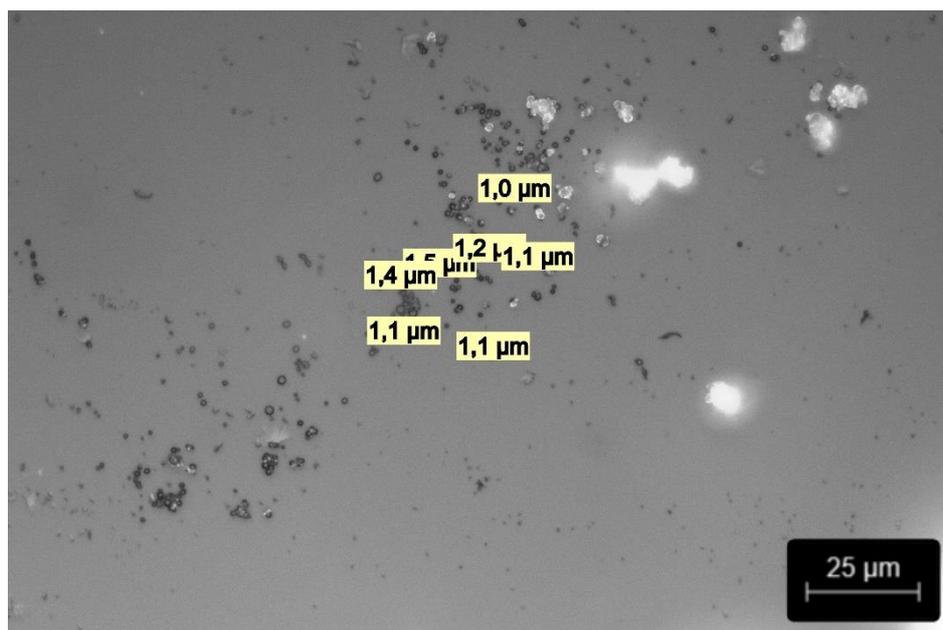


Figura 80 – Imagem capturada por OM das partículas de etilcelulose e vitamina E, com SDS/PEG como conjunto de surfactantes, sintetizadas por evaporação de solvente, com uma velocidade de agitação de 8000 rpm durante 10 minutos.

As imagens capturas por OM das partículas de quitosano e vitamina E sintetizadas pelo método de coacervação com o glutaraldeído e o ácido tânico como agentes reticulantes, encontram-se presentes na Fig. 81 e na Fig. 82, respetivamente.

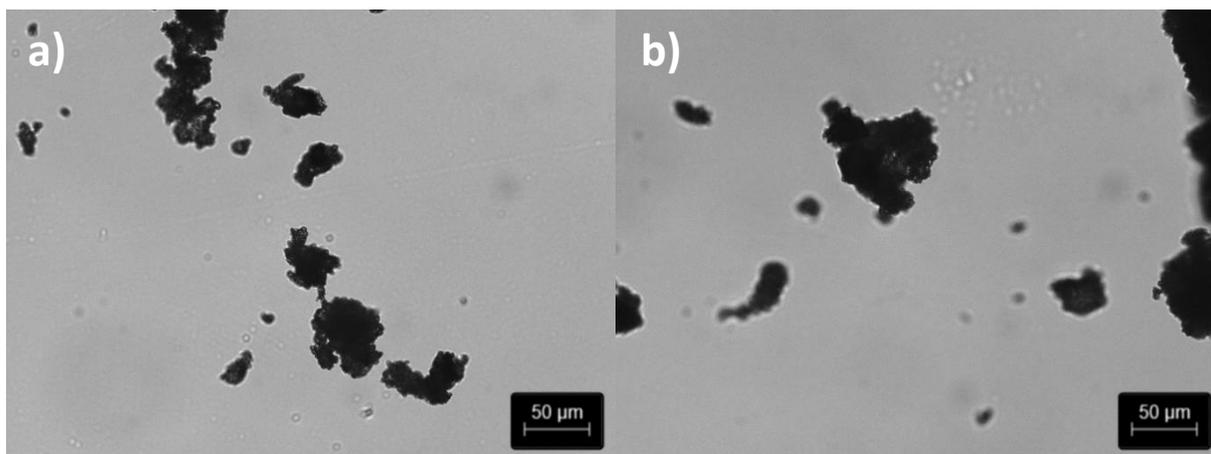


Figura 81 – Imagens capturadas por OM das partículas de quitosano e vitamina E com glutaraldeído como agente reticulante a) na presença de óleo mineral e b) na ausência de óleo mineral.

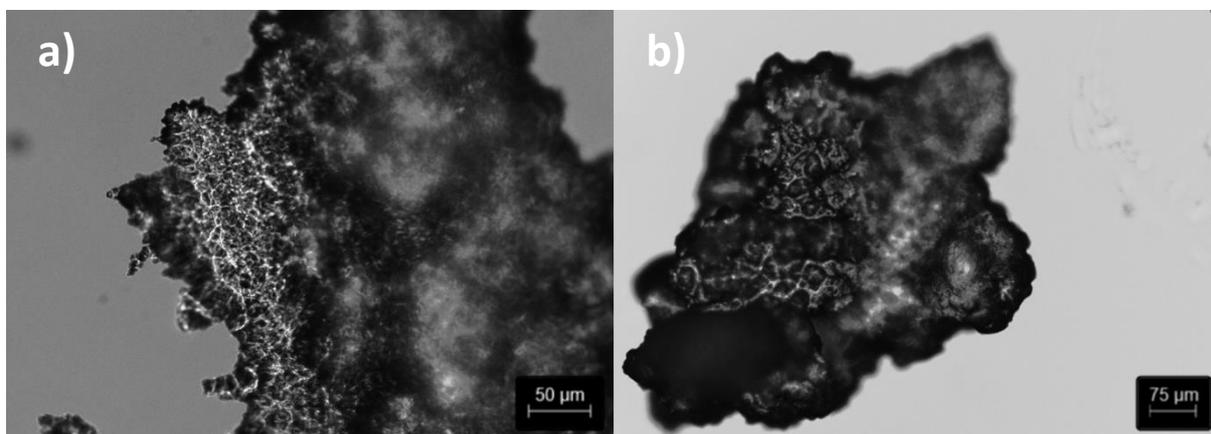


Figura 82 – Imagens capturadas por OM das partículas de quitosano e vitamina E com ácido tânico como agente reticulante a) na presença de óleo mineral e b) na ausência de óleo mineral.

As imagens capturas por OM das partículas de quitosano e OE de eucalipto e de vitamina E sintetizadas pelo método de gelificação iônica encontram-se presentes na Fig. 83.

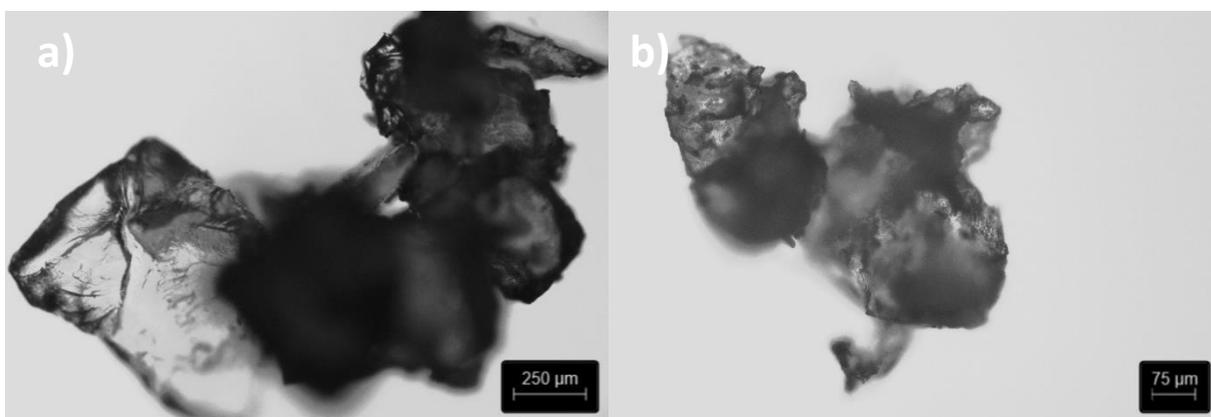


Figura 83 – Imagens capturadas por OM das partículas de a) quitosano e vitamina E e de b) quitosano e OE de eucalipto.

Anexo II – Curvas de calibração

A curva de calibração da vitamina E em etanol encontra-se representada na Fig. 84.

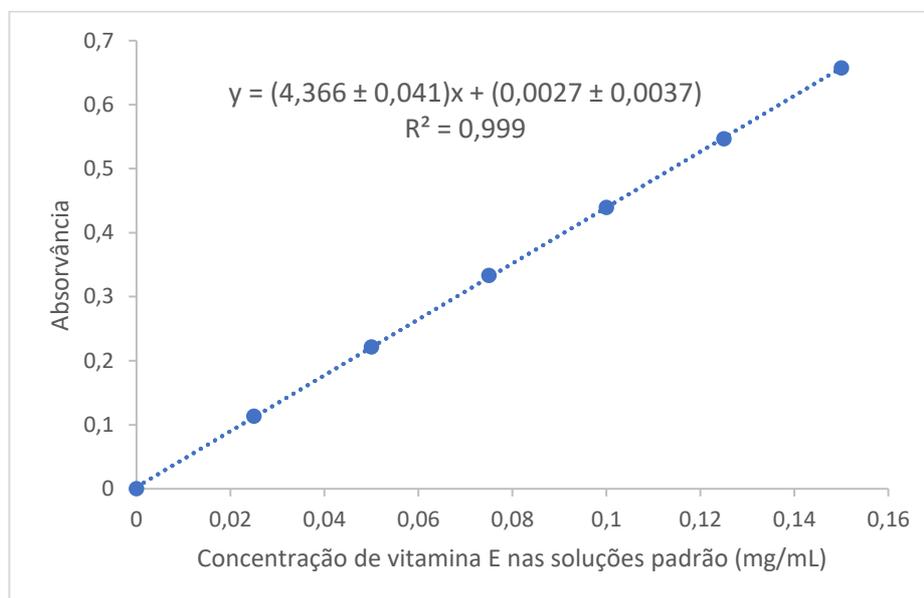


Figura 84 – Representação esquemática da curva de calibração da absorvância em função da concentração de vitamina E em etanol das soluções padrão.

Com o ajuste linear ao gráfico e atendendo às incertezas associadas ao declive e à ordenada na origem, foi obtida a equação da reta de calibração e os parâmetros estatísticos de regressão linear, representados na Tabela 22. Em que $S_{y/x}$ representa o desvio padrão residual, S_b e S_a os desvios padrão do declive e da ordenada na origem, respetivamente, tS_b e tS_a as incertezas associadas ao declive e à ordenada na origem, respetivamente, em que o valor de t , corresponde ao valor da variável *t-student* para o nível de confiança de 95% e para $n-2$ graus de liberdade, (em que $n=7$), e R representa o coeficiente de correlação.

Tabela 22 – Parâmetros estatísticos de regressão linear relativos à equação da reta da curva de calibração da vitamina E em etanol.

$S_{y/x}$	S_b	S_a	tS_b	tS_a	R^2	R
0,0021	0,016	0,0015	0,041	0,0037	0,999	0,999

Os limites de detecção (LDD) e de quantificação (LDQ) referentes à curva de calibração da vitamina E em etanol estão descritos na Tabela 23.

Tabela 23 – Limites de detecção e de quantificação relativos à curva de calibração da vitamina E em etanol.

LDD	LDQ
0,0015 mg/mL	0,0049 mg/mL

A curva de calibração do OE de eucalipto em etanol encontra-se representado na Fig. 85.

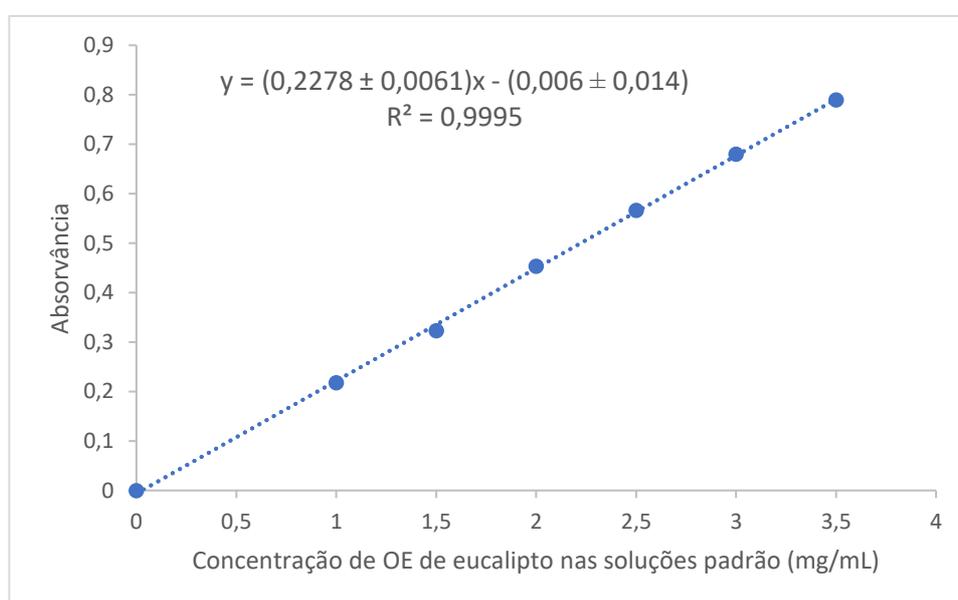


Figura 85 – Representação esquemática da curva de calibração da absorvância em função da concentração de OE de eucalipto em etanol das soluções padrão.

Tabela 24 – Parâmetros estatísticos de regressão linear relativos à equação da reta da curva de calibração do OE de eucalipto em etanol.

$S_{y/x}$	S_e	S_x	tS_e	tS_x	R^2	R
0,0070	0,0024	0,0053	0,0061	0,014	0,999	0,999

Tabela 25 – Limites de detecção e de quantificação relativos à curva de calibração do OE de eucalipto em etanol.

LDD	LDQ
0,092 mg/mL	0,31 mg/mL

A curva de calibração da vitamina E em solução tampão de fosfato (pH 7,4) encontra-se representado na Fig. 86.

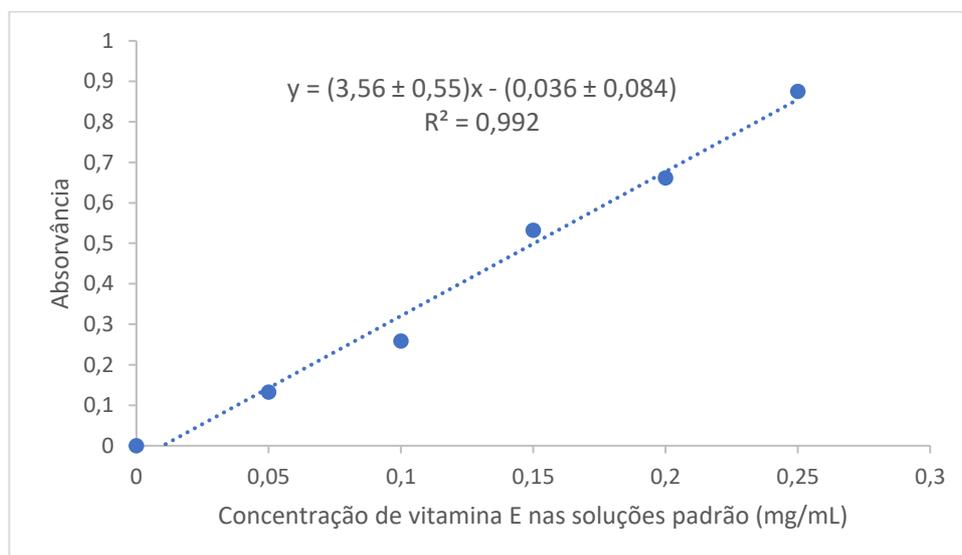


Figura 86 – Representação esquemática da curva de calibração da absorvância em função da concentração de vitamina E em solução tampão de fosfato (pH 7,4) das soluções padrão.

Tabela 26 – Parâmetros estatísticos de regressão linear relativos à equação da reta da curva de calibração da vitamina E em solução tampão de fosfato (pH 7,4).

$S_{y/x}$	S_0	S_1	tS_0	tS_1	R^2	R
0,042	0,20	0,030	0,55	0,084	0,992	0,996

Tabela 27 – Limites de detecção e de quantificação relativos à equação da reta da curva de calibração da vitamina E em solução tampão de fosfato (pH 7,4).

LDD	LDQ
0,035 mg/mL	0,12 mg/mL

A curva de calibração da vitamina E em solução tampão de acetato (pH 3,0) encontra-se representado na Fig. 87.

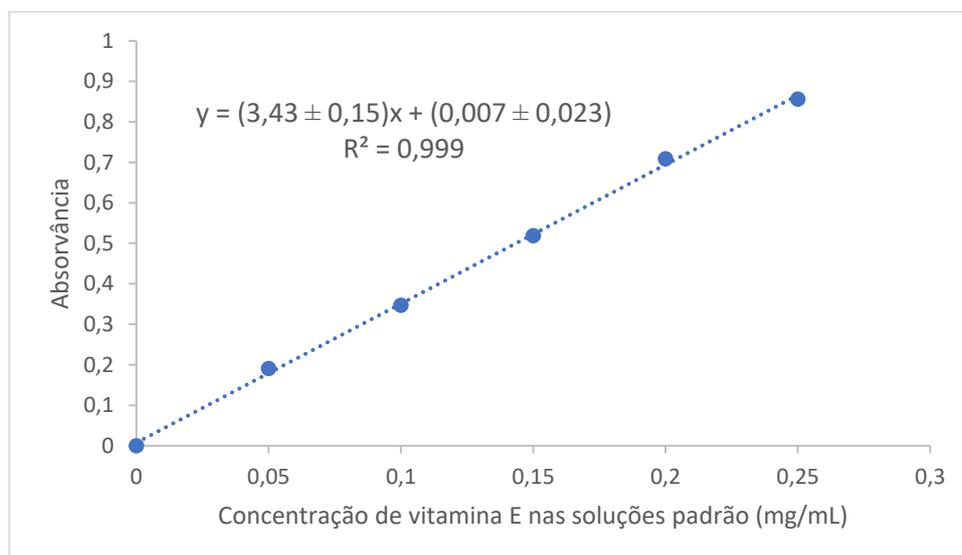


Figura 87 – Representação esquemática da curva de calibração da absorvância em função da concentração de vitamina E em solução tampão de acetato (pH 3,0) das soluções padrão.

Tabela 28 – Parâmetros estatísticos de regressão linear relativos à equação da reta da curva de calibração de vitamina E em solução tampão de acetato (pH 3,0).

$S_{y/x}$	S_0	S_1	tS_0	tS_1	R^2	R
0,011	0,054	0,0082	0,15	0,023	0,999	0,999

Tabela 29 – Limites de detecção e de quantificação relativos à equação da reta da curva de calibração da vitamina E em solução tampão de acetato (pH 3,0).

LDD	LDQ
0,0099 mg/mL	0,033 mg/mL

Anexo III – Estudos de liberação dos agentes ativos

Os perfis de liberação dos agentes ativos das partículas sintetizadas foram determinados por espectroscopia de UV-Vis, em ensaios de liberação de 7 horas.

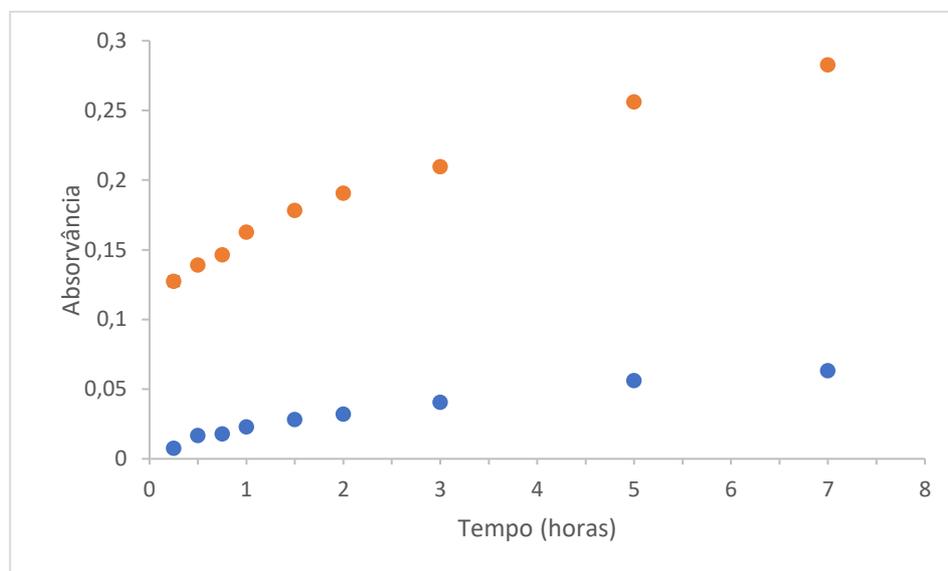


Figura 88 – Representação esquemática dos perfis de liberação da vitamina E das partículas de etilcelulose + vitamina E + SDS/PEG 4000 (•) e das partículas de etilcelulose + vitamina E + tween 80 (•): valores médios de absorvância para cada amostra e respectivos valores de erro calculado pelo desvio padrão de três réplicas.

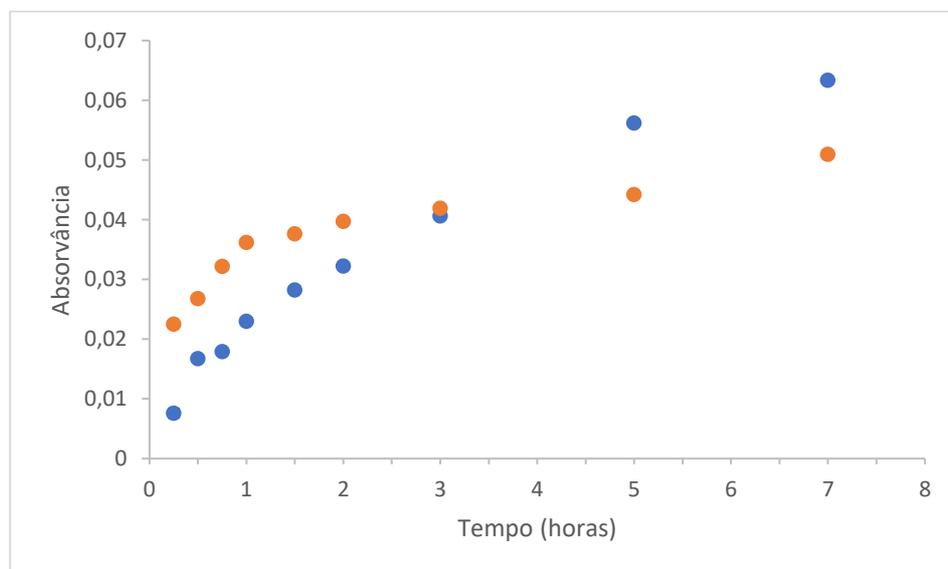


Figura 89 – Representação esquemática dos perfis de liberação da vitamina E das partículas de etilcelulose + vitamina E + SDS/PEG 4000 (•) e do OE de eucalipto das partículas de etilcelulose + OE de eucalipto + SDS/PEG 4000 (•): valores médios de percentagem da absorvância para cada amostra e respectivos valores de erro calculado pelo desvio padrão de três réplicas.

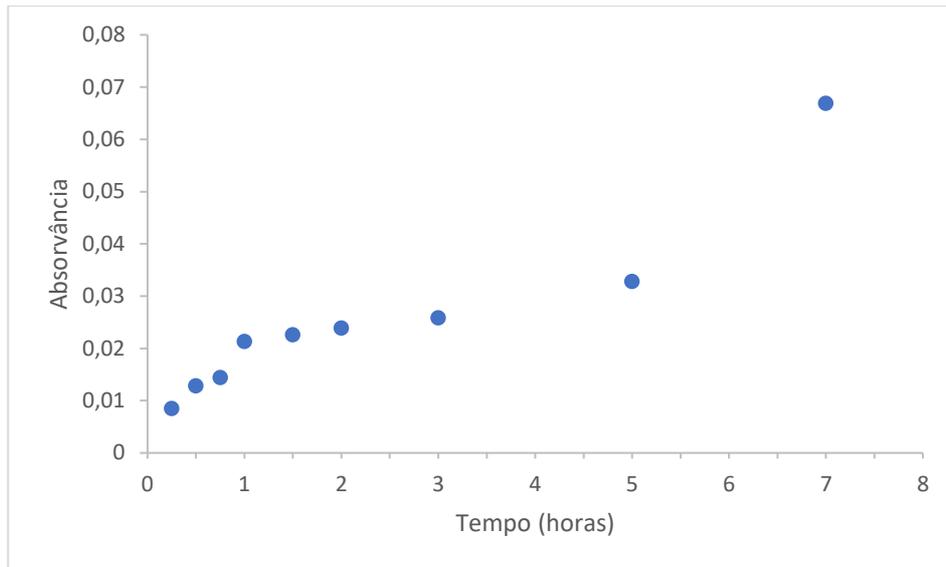


Figura 90 – Representação esquemática do perfil de liberação da vitamina E das partículas de PLA + vitamina E + tween 80: valores médios de absorvância para cada amostra e respectivos valores de erro calculado pelo desvio padrão de três réplicas.

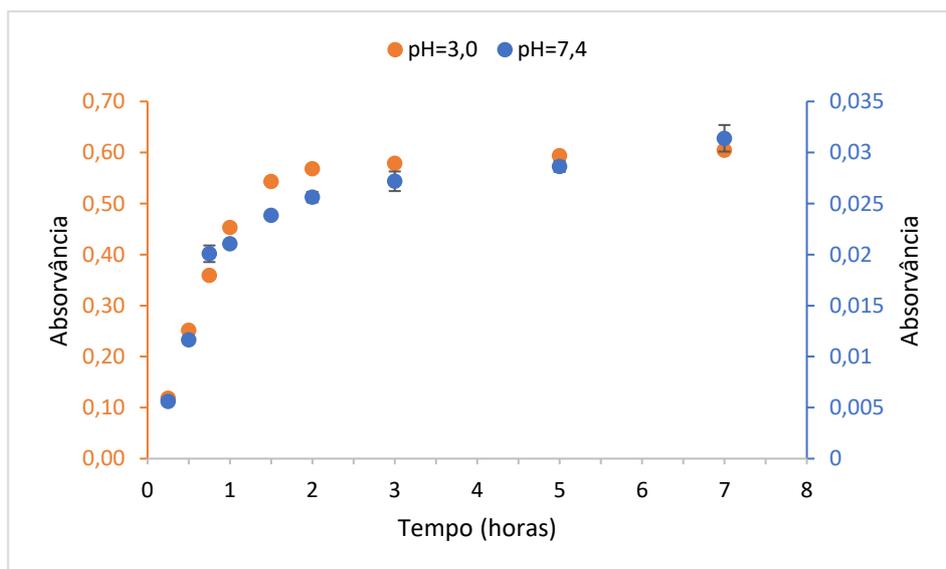


Figura 91 – Representação esquemática dos perfis de liberação da vitamina E das partículas de quitosano sintetizadas pelo método de gelificação iônica, em meio neutro (pH 7,4) (•) e em meio ácido (pH 3,0) (•): valores médios de absorvância para cada amostra e respectivos valores de erro calculado pelo desvio padrão de três réplicas.

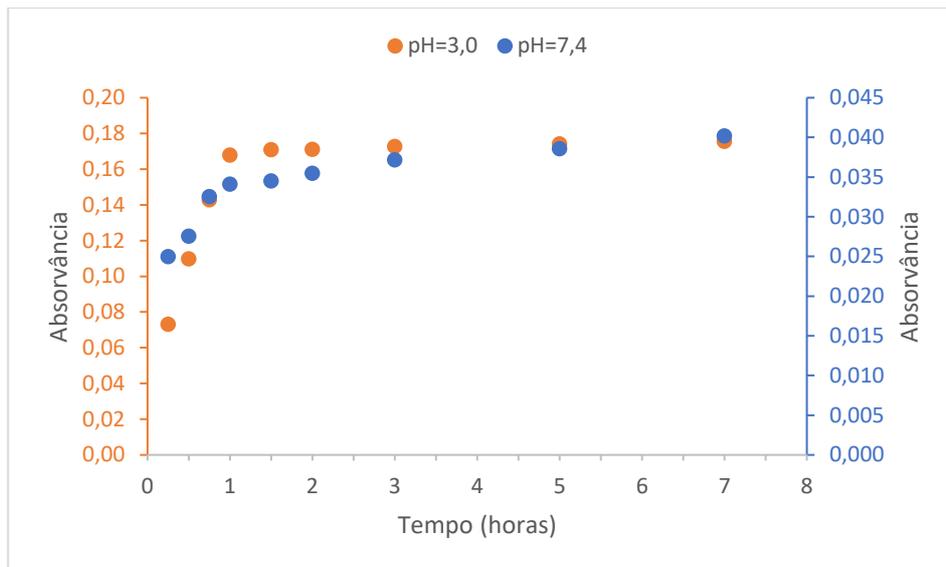


Figura 92 – Representação esquemática dos perfis de libertação da vitamina E das partículas de quitosano sintetizadas pelo método de coacervação, em meio neutro (pH 7,4) (•) e em meio ácido (pH 3,0) (•): valores médios de absorvância para cada amostra e respetivos valores de erro calculado pelo desvio padrão de três réplicas.

Anexo IV – Cálculos de incertezas

- **Incertezas associadas ao declive e à ordenada na origem das curvas de calibração**

Com a finalidade de calcular as incertezas associadas ao declive e à ordenada na origem da equação das curvas de calibração, foi calculado o desvio padrão residual ($S_{y/x}$) da reta através da Equação 5:

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum (y_i - \hat{y}_i)^2}{n-2}} \quad \text{Equação 5}$$

Sendo que, $S_{y/x}$ corresponde ao desvio-padrão residual, y_i aos valores de absorvância obtidos, \hat{y}_i aos valores de absorvância que seriam esperados através da equação da reta e n ao número de soluções padrão analisadas.

Os valores do desvio padrão da ordenada na origem (S_a) e do declive (S_b) foram determinados pela Equação 6 e Equação 7, respetivamente:

$$S_a = S_{y/x} \sqrt{\frac{\sum x_i^2}{n \sum (x_i - \bar{x})^2}} \quad \text{Equação 6}$$

$$S_b = \frac{S_{y/x}}{\sqrt{\sum (x_i - \bar{x})^2}} \quad \text{Equação 7}$$

Sendo que, $S_{y/x}$ corresponde ao desvio-padrão residual, x_i aos valores da concentração das soluções padrão, \bar{x} à média dos valores de x_i e n ao número de soluções padrão analisadas.

As incertezas associadas ao declive (tS_b) e à ordenada na origem (tS_a) foram calculadas, assumindo um t de *student* para uma probabilidade de 95% e para $n-2$.

- **Determinação do limite de deteção (LDD) e do limite de quantificação (LDQ)**

A determinação do limite de deteção (LDD) e do limite de quantificação (LDQ) foi efetuada através da Equação 8 e da Equação 9, respetivamente:

$$LDD = \frac{3S_{y/x}}{b} \quad \text{Equação 8}$$

$$LDQ = \frac{10S_{y/x}}{b} \quad \text{Equação 9}$$

- **Erros associados aos valores de concentração dos agentes ativos**

Os erros associados aos valores de concentração dos agentes ativos (S_x) determinados segundo a curva de calibração, foram calculados através da equação 10.

$$S_x = \frac{S_{y/x}}{b} \sqrt{\frac{1}{m} + \frac{1}{n} + \frac{(y_0 - \bar{y})^2}{b^2 \sum (x_i - \bar{x})^2}} \quad \text{Equação 10}$$

Sendo que, $S_{y/x}$ corresponde ao desvio-padrão residual, b ao valor do declive da reta de calibração, m ao número de réplicas para a análise da amostra, n ao número de soluções padrão analisadas, y_0 aos valores de absorvância da amostra obtidos, (\bar{y}) à média dos valores de absorvância das soluções padrão, x_i aos valores da concentração das soluções padrão, \bar{x} à média dos valores de concentração das soluções padrão.

- **Incertezas associadas aos resultados de rendimento, *loadings* teórico e experimental e da eficiência de encapsulação**

As incertezas dos resultados associados ao rendimento, aos *loadings* teórico e experimental e à eficiência de encapsulação foram calculadas pelo método de propagação de erros, segundo a Equação 11, no caso da soma e subtração e da Equação 12, no caso da multiplicação e divisão [117].

$$\sigma_w^2 = \sigma_x^2 + \sigma_y^2 \quad \text{Equação 11}$$

$$\left(\frac{\sigma_w}{w}\right)^2 = \left(\frac{\sigma_x}{x}\right)^2 + \left(\frac{\sigma_y}{y}\right)^2 \quad \text{Equação 12}$$