

Ricardo José Ferreira Neto

Estudo da inclusão de ciclodextrinas em polímeros sintéticos



*Relatório de estágio submetido à Faculdade de Ciências da Universidade do Porto para
a obtenção do grau de Mestre em Química*

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA E BIOQUÍMICA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA UNIVERSIDADE DO PORTO

SETEMBRO/2012

Ricardo José Ferreira Neto

Estudo da inclusão de ciclodextrinas em polímeros sintéticos



*Relatório de estágio submetido à Faculdade de Ciências da Universidade do Porto para
a obtenção do grau de Mestre em Química*

Júri:

Prof^a. Doutora Ana Cristina Moreira Freire

Prof. Doutor Baltazar Manuel Romão de Castro

Prof^a. Doutora Maria Clara Ramalho Monteiro Pires Basto

Prof. Doutor Carlos Alberto Rocha Gomes

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA E BIOQUÍMICA

FACULDADE DE CIÊNCIAS DA UNIVERSIDADE DO PORTO

SETEMBRO/2012

Agradecimentos

Queria começar por agradecer aos orientadores desta tese, a Doutora Carla Joana Silva, pela sua orientação e pela disponibilidade que sempre manifestou para me ajudar, e ao Professor Doutor Carlos Rocha Gomes pela disponibilidade e apoio ao longo do trabalho efetuado.

Agradeço ao CeNTI (centro de nanotecnologia e materiais inteligentes e funcionais) pela cedência do espaço, equipamentos e recursos, que tornaram possível a realização deste trabalho.

Agradeço ainda à Texteis Manuel Gonçalves - Automotive (TMG Automotive), pela cedência de alguns dos reagentes utilizados e pela disponibilidade demonstrada para a realização de ensaios de caracterização dos materiais preparados.

Agradeço ao Professor Doutor Cosme Neves Moura, pela disponibilidade e por ter concedido acesso ao equipamento de cromatografia gasosa com “headspace”.

Agradeço ainda ao CeNTI pela concessão de uma bolsa de investigação no âmbito do projeto MobiCar - Conceção, desenvolvimento, teste e demonstração de soluções de mobilidade sustentável, referência nº 13844, financiado pelo Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional (FEDER) através do Programa Operacional Fatores de Competitividade – COMPETE, inserida no PPS2 “MOBiCarTrim – Desenvolvimento de aplicações e materiais para interior”.

Agradeço a todos aqueles que durante a minha vida contribuíram para o meu desenvolvimento pessoal e formação enquanto pessoa, à minha família e a todas as pessoas importantes na minha vida e que me ajudaram a crescer, em especial aos meus pais.

A todos o meu Muito Obrigada!

Resumo

As ciclodextrinas (CD) são oligómeros cíclicos de glicose cuja estrutura apresenta uma cavidade hidrofóbica em forma cilíndrica que permite a complexação de diferentes tipos de compostos. O elevado crescimento observado na utilização das CD assenta em algumas das suas propriedades notáveis. Para além de serem produtos semi-naturais produzidos a partir de materiais renováveis, como o amido, os processos empregues não são agressivos para o ambiente e baseiam-se numa conversão enzimática relativamente simples.

O objetivo principal deste projeto foi estudar a capacidade de inclusão de diversos compostos em ciclodextrinas imobilizadas na superfície de diversos polímeros termoplásticos, nomeadamente, alguns poliuretanos (PU) e poliolefinas (PO), para utilização em revestimentos plásticos com textura de borracha ao tato. Os objetivos específicos consistiram na imobilização de CDs nessas superfícies e no desenvolvimento de metodologias de deteção e quantificação das CDs, após inclusão na matriz polimérica. Adicionalmente, pretendeu-se desenvolver metodologias para avaliar a capacidade das CDs em encapsular diversos compostos orgânicos, nomeadamente a escina.

O principal resultado do trabalho efetuado consistiu no desenvolvido um método de deteção e quantificação de ciclodextrinas em substratos sólidos, que pode ser utilizado para confirmar a imobilização de CDs em substratos poliméricos.

Abstract

Cyclodextrins (CDs) are cyclic oligomers of glucose whose structure shows a hydrophobic cavity in cylindrical form which allows complexation of different compounds. The high growth observed in the use of CD is based on some of their remarkable properties, in addition to being semi-natural products, produced from renewable natural materials (starch) by an enzymatic conversion using relatively simple and environmentally friendly processes.

The main objective of this project was to study the ability of various compounds for inclusion in cyclodextrins, immobilized on the surface of many thermoplastic polymers, including some polyurethanes (PU) and polyolefins (PO), for use in coating plastic with rubber texture to the touch. The specific objectives consisted in immobilization of CDs in these areas and in the development of methods for detection and quantification of CDs after inclusion in the polymer matrix.. The specific objectives intended to immobilize CDs and development of test methodologies for their detection and quantification, after inclusion in the polymer matrix. Additionally, we sought to develop the methodologies to assess the ability of CDs to encapsulate various organic compounds, namely escin.

The main result of doing work consisted of developing a method for detection and quantitation of cyclodextrins in solid substrates, which can be used to confirm the immobilization of CDs on polymeric substrates.

Résumé

Les cyclodextrines (CD) sont des oligomères cycliques du glucose dont la structure présente une cavité hydrophobe sous forme cylindrique qui permet la complexation de composés différents. La forte croissance observée dans l'utilisation de CD basé sur certaines de leurs propriétés remarquables. En plus d'être semi-naturels produits fabriqués à partir de matériaux renouvelables, comme l'amidon, les procédés utilisés ne sont pas agressifs pour l'environnement et sont basés sur une conversion enzymatique relativement simple.

L'objectif principal de ce projet était d'étudier la capacité des composés différents, y compris dans des cyclodextrines immobilisées sur la surface de divers polymères thermoplastiques, y compris certains polyuréthanes (PU) et des polyoléfines (PO), devant servir à revêtement plastique avec une texture en caoutchouc au toucher. Les objectifs spécifiques ont consisté à l'immobilisation de CD dans ces domaines et dans le développement de méthodes pour la détection et la quantification de CD après l'inclusion dans la matrice polymère.

En outre, nous avons cherché à développer des méthodologies pour évaluer la capacité des CD à encapsuler divers composés organiques, à savoir escin. Le principal résultat de faire un travail a consisté à développer une méthode de détection et de quantification des cyclodextrines dans des substrats solides, qui peuvent être utilisés pour confirmer l'immobilisation des CD sur des substrats polymères.

Índice geral

Agradecimentos	i
Resumo	1
Abstract.....	2
Résumé	3
Índice de Figuras:	7
Índice de Tabelas:.....	11
Índice de Símbolos e abreviaturas:	1
1 – Introdução	15
1.1 – Ciclodextrinas	15
1.2 – Propriedades e aplicações industriais	18
1.2.1 – Propriedades	18
1.2.1.1 – Formação de complexos de inclusão	20
1.3 – Substratos poliméricos flexíveis e termoplásticos	23
1.4 – Detecção e quantificação das ciclodextrinas.....	26
2 – Técnicas de Caracterização:	35
2.1 – Microscopia Electrónica de Varrimento (SEM)	35
2.2 – Espectroscopia de raios X por dispersão em energia (EDS)	35
2.3 – Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier por reflectância total atenuada (FTIR-ATR)	36
2.4 – Termogravimetria (TG).....	37
2.5 – Microscopia de força atómica (AFM).....	37
2.6 – Espectroscopia de ultravioleta-visível (UV-VIS)	38
2.7 – Cromatografia gasosa (GC) com “headspace”	38
2.8 – Ressonância magnética nuclear (RMN)	39
3 – Parte Experimental	40
3.1 – Reagentes	40
3.2 – Material e instrumentação	40
3.3.1 – Preparação da formulação controlo	42

3.3.2 – Preparação das formulações aditivadas	42
3.3.3 – Preparação das formulações para as retas de calibração usadas na cromatografia gasosa, CG	44
3.3.4 – Preparação de amostras para o CG	44
3.3.4.1 – Condições do ensaio cromatográfico	45
3.3.4.2 – Condições do ensaio de extração por “ <i>headspace</i> ”	46
3.3.5 – Preparação da solução de fenolftaleína	46
4 – Resultados experimentais e desenvolvimento dos métodos de quantificação	47
4.1 – Desenvolvimento do método de deteção com fenolftaleína	47
4.1.1 – Determinação da concentração de fenolftaleína adequada para os estudos.....	47
4.1.2 – Desenvolvimento do método com substrato polimérico controlo e aditivado	50
4.2- Desenvolvimento do método de deteção de ciclodextrinas com recurso a GC	56
4.2.1 Avaliação do grau de ajuste dos resultados experimentais às isotérmicas Langmuir e Freundlich. Aproximação dos resultados experimentais a isotérmicas.....	61
4.2.1.1-Isotérmica de Langmuir:	63
4.2.1.2-Isotérmica de Freundlich.....	66
4.2.2.1-Aproximação à isotérmica de Langmuir para os resultados obtidos com ciclodextrinas	71
4.2.2.2- Aproximação à isotérmica de Freundlich para os resultados obtidos com ciclodextrinas.....	73
4.3- Estudo da interação das ciclodextrinas com compostos orgânicos após imobilização em substratos sólidos.....	75
4.3.1 – Testes de criação de complexos de inclusão por RMN.....	76
4.4- Avaliação do desempenho dos substratos preparados após a aditivação.....	80
4.5 – Caracterização por FTIR das amostras preparadas por aditivação antes e após os testes de desgaste e envelhecimento	84
4.5.1 – Antes dos testes de desgaste e envelhecimento	84
4.5.2- Após testes de desgaste e envelhecimento	89
4.6 – Caracterização termogravimétrica das amostras preparadas por aditivação antes e após os testes de desgaste e envelhecimento	94

4.6.1- Antes dos testes de desgaste e envelhecimento	94
4.6.2- Após os testes de desgaste e envelhecimento	97
4.7- Caracterização morfológica por SEM dos substratos antes e após os testes de desgaste e envelhecimento	101
4.7.1-Antes dos testes de desgaste e envelhecimento	101
4.7.2-Depois dos testes de desgaste e envelhecimento	103
4.8- Caracterização por EDS dos substratos antes e após os testes de desgaste e envelhecimento	108
4.9- Caracterização morfológica por AFM dos substratos antes e após os testes de desgaste e envelhecimento	110
5 – Considerações finais	115
Bibliografia:	117

Índice de Figuras:

Figura 1: Evolução do número de publicações envolvendo ciclodextrinas ao longo dos anos [13].....	17
Figura 2: Estrutura comum das α , β e γ -ciclodextrinas adaptado de [23].....	19
Figura 3: Estrutura das ciclodextrinas evidenciando as diferentes zonas de polaridade.	21
Figura 4: Esquematização da formação de um complexo de inclusão, adaptado de [31].....	22
Figura 5: Formação da unidade repetitiva nos poliuretanos, adaptado de [34]..	24
Figura 6: Representação esquemática de uma visualização computacional do fenómeno de inclusão adaptado de [44].....	28
Figura 7: Equilíbrio térmico entre a amostra e a fase gasosa, adaptado de [59].	32
Figura 8: Esquema exemplificativo dos passos usuais na injeção de amostras na coluna cromatográfica em cromatografia gasosa	33
Figura 9: Espectro de espectroscopia de UV-VIS para a solução tamponada de fenoltaleína.	48
Figura 10: Imagem exemplificativa do conceito de formação de complexos de inclusão por parte das ciclodextrinas com a fenoltaleína. a) soluções controlo sem β -CDs; b) solução controlo após a adição de β -CDs.	49
Figura 11: Representação gráfica do inverso da diferença de absorvância em função do inverso da quantidade de ciclodextrinas em solução.	50
Figura 12: Variação da absorvância com a % massica de CDs, para vários tempos de formação de complexos: a preto tempo zero; a laranja tempo=35 min; a verde tempo =90 min; a azul tempo=1080min; a vermelho tempo=4320 min.	51
Figura 13: Esquema ilustrativo do percurso do aroma até à injeção na coluna cromatográfica.	57
Figura 14: Representação gráfica da variação da área do sinal em função da quantidade de líquido adicionado, a preto os valores após o equilíbrio líquido-vapor; a vermelho os valores antes do equilíbrio líquido-vapor.	59
Figura 15: Representação gráfica das áreas obtidas em função do aumento da quantidade de limoneno na presença do substrato controlo, a preto os valores obtidos após a saturação do equilíbrio líquido vapor; a vermelho antes da saturação do equilíbrio líquido vapor.	61
Figura 16: Esquema representativo das simplificações assumidas para a análise dos dados com as isotérmicas de adsorção.....	62

Figura 17: Representação gráfica do ajuste dos dados experimentais obtidos ao modelo da isotérmica de Langmuir., a preto pontos obtidos para pressões elevadas; a vermelho para pressões baixas	66
Figura 18: Ajuste dos dados experimentais à isotérmica de Freundlich, a vermelho para pressões zonas de pressão baixa, a preto para zonas de pressão mais elevada.	68
Figura 19: Esquema utilizado para se proceder ao estudo da interação do aroma com as ciclodextrinas.	70
Figura 20: Representação gráfica do sinal obtido em função da quantidade de ciclodextrinas com a adição de um volume constante de aroma.	71
Figura 21: Representação dos resultados de acordo com a equação 8 experimentais obtidos para as ciclodextrinas.	72
Figura 22: Representação dos resultados de acordo com a equação 11 experimentais obtidos para as ciclodextrinas.	74
Figura 23: Estrutura química de uma molécula de escina.	75
Figura 24: Representação da intensidade do sinal do tripleto em função da concentração de escina (primeiro ensaio).	77
Figura 25: Representação da intensidade do sinal do tripleto em função da concentração de escina, (segundo ensaio).	77
Figura 26: Representação da intensidade do sinal do tripleto em função da concentração de escina partindo de outra solução mãe.	78
Figura 27: Gráfico de job obtido através da variação dos desvios químicos do tripleto escolhido.	79
Figura 28: Espectro de FTIR-ATR das β -ciclodextrinas na forma cristalina.	85
Figura 29: Espectro de FTIR-ATR da amostra designada por branco	86
Figura 30: a) Espectro de FTIR-ATR da amostra designada por controlo; b) sobreposição dos espectros de FTIR-ATR das amostras controlo (a preto) e branco (a vermelho).	87
Figura 31: Sobreposição dos espectros de FTIR-ATR das amostras designadas por β -CDs 0,2% (a preto), β -CDs 1% (a vermelho) e β -CDs 2% (a azul).	87
Figura 32: a) Sobreposição dos espectros de FTIR-ATR das amostras designadas por β -CDs 0,2% (a preto), β -CDs 1% (a vermelho) e β -CDs 2% (a azul) e controlo (a laranja); b) ampliação da figura 5 a) a 1061 cm^{-1}	88
Figura 33: a) Sobreposição dos espectros de FTIR-ATR das amostras designadas por β -CDs 0,2% (a preto), β -CDs 1% (a vermelho) e β -CDs 2% (a azul) e controlo (a laranja) após o teste abrasivo; b) Sobreposição dos espectros de FTIR-ATR das amostras designadas por β -CDs 2% antes (azul) e após	

(vermelho) o teste abrasivo) e controlo antes (preto) e após (laranja) o teste abrasivo. 89

Figura 34: a) Sobreposição dos espectros de FTIR-ATR das amostras designadas por β -CDs 0,2% (a preto), β -CDs 1% (a vermelho) e β -CDs 2% (a azul) e controlo (a laranja) após o teste de “soiling”; b) Sobreposição dos espectros de FTIR-ATR das amostras designadas por β -CDs 2% antes (azul) e após (vermelho) o teste de “soiling” e controlo antes (preto) e após (laranja) o teste de “soiling”.....90

Figura 35: a) Sobreposição dos espectros de FTIR-ATR das amostras designadas por β -CDs 0,2% (a preto), β -CDs 1% (a vermelho) e β -CDs 2% (a azul) e controlo (a laranja) após o teste de limpeza manual; b) Sobreposição dos espectros de FTIR-ATR das amostras designadas por β -CDs 2% antes (azul) e após (vermelho) o teste de limpeza manual e controlo antes (preto) e após (laranja) o teste de limpeza manual. 91

Figura 36: a) Sobreposição dos espectros de FTIR-ATR das amostras designadas por β -CDs 0,2% (a preto), β -CDs 1% (a vermelho) e β -CDs 2% (a azul) e controlo (a laranja) após o teste de resistência a UV; b) Sobreposição dos espectros de FTIR-ATR das amostras designadas por β -CDs 2% antes (azul) e após (vermelho) o teste de resistência a UV e controlo antes (preto) e após (laranja) o teste de resistência a UV. 92

Figura 37: a) Sobreposição dos espectros de FTIR-ATR das amostras designadas por β -CDs 0,2% (a preto), e β -CDs 2% (a azul) e controlo (a laranja) após o teste de termoformagem; b) Sobreposição dos espectros de FTIR-ATR das amostras designadas por β -CDs 2% antes (azul) e após (vermelho) o teste de termoformagem e controlo antes (preto) e após (laranja) o teste de termoformagem.....93

Figura 38: Curva termogravimétrica das β -ciclodextrinas.....94

Figura 39: Curva termogravimétrica da amostra designada por branco a preto e sua derivada a vermelho.....95

Figura 40: Curva termogravimétrica da amostra designada por controlo a preto e sua derivada a vermelho.....96

Figura 41: Curvas termogravimétrica da amostra designada por controlo a preto e sua derivada a vermelho; a) β -CDs 0,2 %, ;b) β -CDs 1%; c) β -CDs 2 %.....97

Figura 42: Curvas termogravimétricas das amostras a) controlo; b) β -CDs 2% a preto e respectivas primeira derivada a vermelho após o teste de abrasão. 98

Figura 43: Curvas termogravimétricas das amostras a) controlo; b) β -CDs 2% a preto e respectivas primeira derivada a vermelho após o teste de soiling.....99

Figura 44: Curvas termogravimétricas das amostras a) controlo; b) β -CDs 2% a preto e respectivas primeira derivada a vermelho após a limpeza manual.....100

Figura 45: Curvas termogravimétricas das amostras a) controlo; b) β -CDs 2% a preto e respectivas primeira derivada a vermelho após a exposição a UV.....	100
Figura 46: Micrografias de SEM das amostras; a) Branco; b) controlo	102
Figura 47: Micrografia de SEM da amostra controlo com uma menor ampliação	102
Figura 48: Micrografia de SEM da amostra β -CDs 2%.	103
Figura 49: Micrografias de SEM das amostras após os testes de abrasão. a) amostra controlo; b) amostra β -CDs 2%.	104
Figura 50 : Micrografias de SEM das amostras após a limpeza manual, a) amostra controlo ; b) amostra β -CDs 2%.	105
Figura 51: Micrografias de SEM das amostras após os testes de <i>soiling</i> . a) Amostra controlo; b) amostra β -CDs 2%.	106
Figura 52: Micrografias de SEM das amostras após a exposição ao UV. a) Amostra controlo; b) amostra β -CDs 2%.	106
Figura 53: Micrografias de SEM das amostras após os testes de resistência ao risco, a) Amostra controlo; b) amostra β -CDs 2%.	107
Figura 54: Micrografia de microscopia de força atomica do substrato base.	110
Figura 55: Micrografia de microscopia de força atomica do substrato base revestido com a laca de poliuretano.	111
Figura 56: Micrografia de microscopia de força atomica do substrato base revestido com a laca de poliuretano aditivada com 2% de β -CDs.	112
Figura 57: Micrografia de microscopia de força atomica das amostras após os testes de limpeza manual. a) Amostra controlo; b) amostra β -CDs 2%.....	112
Figura 58: Micrografia de microscopia de força atomica das amostras após os testes de <i>soiling</i> . a) Amostra controlo; b) amostra β -CDs 2%.Soiling.	113
Figura 59: Micrografia de microscopia de força atomica das amostras após os testes de abrasão. a) Amostra controlo; b) amostra β -CDs 2%.....	114
Figura 60: Micrografia de microscopia de força atomica das amostras após exposição ao UV. a) Amostra controlo; b) amostra β -CDs 2%.	114

Índice de Tabelas:

Tabela 1: Propriedades dos diferentes tipos de ciclodextrinas, adaptado de [23]	19
Tabela 2: Percentagens mássicas utilizadas na preparação da laca de poliuretano (controlo)	42
Tabela 3: Percentagens mássicas utilizadas na preparação da laca de poliuretano com diferentes quantidades de ciclodextrinas	43
Tabela 4: Percentagens mássicas utilizadas na preparação da laca de poliuretano com diferentes quantidades de ciclodextrinas utilizados durante o desenvolvimento dos métodos de deteção	44
Tabela 5: Caudais dos gases usados nos ensaios cromatográficos	45
Tabela 6: Condições experimentais dos ensaios cromatográficos	45
Tabela 7: Condições experimentais da extração térmica por <i>headspace</i>	46
Tabela 8: $\Delta(\Delta A_{\lambda_{TPU} t}) = \Delta (\Delta A_{\lambda_{TPU} t=x} - \Delta A_{\lambda_{TPU} t=0}) / \text{min}$	53
Tabela 9: Resultados obtidos com o método da fenoltaleína após os diversos testes de envelhecimento e desempenho	54
Tabela 10: Áreas obtidas para massas semelhantes de substrato e volumes diferentes de limoneno	60
Tabela 11: Quantidades utilizadas posteriormente na aproximação dos resultados experimentais às isotérmicas de adsorção	63
Tabela 12: Valores utilizados na aproximação dos resultados experimentais à isotérmica de Langmuir	65
Tabela 13: Valores utilizados na aproximação dos resultados experimentais à isotérmica de Freundlich	67
Tabela 14: Parâmetros obtidos da linearização e respectivo parâmetro correspondente da equação de Freundlich	69
Tabela 15: Valores utilizados na aproximação à isotérmica de Langmuir dos resultados obtidos com as ciclodextrinas	71
Tabela 16: Valores utilizados na aproximação à isotérmica de Freundlich dos resultados obtidos com as ciclodextrinas	73
Tabela 17: Resultados obtidos após os testes de envelhecimento e desempenho	82
Tabela 18: Valores obtidos por espectroscopia de raios X em percentagem atómica	109

Índice de Símbolos e abreviaturas:

TMG-Automotive.....	Têxteis Manuel Gonçalves-Automotive
FCUP.....	Faculdade de Ciências da Universidade do Porto
CeNTI	Centro de nanotecnologia e materiais inteligentes e funcionais
CITEVE.....	Centro Tecnológico das Indústrias Têxtil e do Vestuário de Portugal
CTIC.....	Centro tecnológico das Industrias do Couro
PU.....	Poliuretano
PO.....	Poliolefina
β -CD's.....	Beta-ciclodextrina
COV's.....	Compostos orgânicos voláteis
TPU.....	Termopoliuretanos
UV.....	Ultravioleta
RMN	Espectroscopia de Ressonância magnética nuclear
MM.....	Modelação molecular
TG.....	Termogravimetria
DSC.....	Calorimetria diferencial
FTIR.....	Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier
XRD	Espectroscopia de difração de Raios X
SEM	Microscopia eletrónica de varrimento
TEM.....	Microscopia eletrónica de transmissão
AFM	Microscopia de força atómica
GC.....	Cromatografia gasosa
UV-VIS	Espectroscopia de ultravioleta-visível
FTIR-ATR.....	Espectroscopia de infravermelho por reflectância total atenuada
FID.....	Detector de ionização de chama

Enquadramento da empresa

O CeNTI (Centro de Nanotecnologia e Materiais Técnicos, Funcionais e Inteligentes), é um Instituto de Novas Tecnologias (entidade do *Sistema Científico e Tecnológico Nacional* - SCTN), cujos membros associados fundadores são o CITEVE, a Universidade do Minho, a Universidade do Porto, a Universidade de Aveiro e o Centro tecnológico das Industrias do Couro (CTIC). As equipas de I&D+I do CeNTI têm formação avançada nas mais variadas áreas de conhecimento, das engenharias (química, polímeros, biológica, materiais, eletrotécnica, biotecnologia, microeletrónica, etc.) às ciências (química e física), com graus académicos avançados (licenciatura, mestrados e doutoramentos). A sua competência técnica e aptidão para a investigação são amplamente reconhecidas por outras entidades do SCTN e pela indústria, daí se justificar o elevado número de projetos e protocolos de cooperação em que está envolvido.

É de salientar que o CeNTI é membro ativo de duas associações europeias: Organic Electronics Association (OE-A) e da Energy Efficient Building (E2B). O CeNTI participa em mais de 40 projetos de I&D+I (públicos e privados) com empresas nacionais e internacionais e de vários sectores de atividades. De entre estes projetos, estão outros a decorrer na Instituição, dos quais se destacam: 1) Desenvolvimento de fibras poliméricas condutoras; 2) Desenvolvimento de fibras de alta-performance; 3) Desenvolvimento de estruturas e revestimentos recicláveis para o sector automóvel e de fibras biodegradáveis para “*tissue engineering*”; 4) Desenvolvimento de ladrilhos cerâmicos com propriedades “*self-cleaning*” e libertação de fragrâncias; 5) Desenvolvimento de polímeros para revestimentos com elevada adesão (high-grip); 6) Desenvolvimento de superfícies têxteis de fácil limpeza; 7) Desenvolvimento de superfícies (cerâmicas, madeira, cortiça, têxteis, etc.) repelentes à sujidade; 8) Desenvolvimento de fibras com libertação de fármacos e de fragrâncias; 9) Desenvolvimento de superfícies do habitáculo automóvel funcionalizadas; 10) Desenvolvimento de produtos Fotovoltaicos Orgânicos de Baixo Custo (em colaboração com o Departamento de Física da UA e a Nanolayer Coating

Technologies), iniciativa que foi recentemente distinguida na 6ª edição do Concurso BES INOVAÇÃO - sector "*Clean Tech*".

O trabalho aqui apresentado, é transversal a vários dos projetos referidos, sejam eles internos ou de colaboração entre o CeNTI e entidades externas. Com este trabalho, espera-se conseguir desenvolver substratos poliméricos contendo ciclodextrinas na superfície do mesmo. As dificuldades que serão encontradas durante a execução experimental, são dificuldades comuns a diversos projetos, pelo que a sua resolução será uma mais valia para o CeNTI, com efeito imediato no projeto a que este tema de tese é mais próximo, mas também em futuros projetos.

1 – Introdução

1.1 – Ciclodextrinas

A primeira referência encontrada na literatura a uma ciclodextrina data de 1881, no artigo publicado por Villiers [1]. Ao digerir amido com *Bacillus amylobacter* o investigador isolou cerca de 3 g do composto a partir de um total de 1000 g de amido e determinou a sua composição como sendo $(C_6H_{10}O_5)_2 \cdot 3H_2O$. Villiers designou este composto como “*cellulosine*”, devido a ter semelhanças com a celulose, apresentar também resistência à hidrólise ácida e não possuir propriedades redutoras. Já nesta altura Villiers constatou a existência de duas estruturas cristalinas distintas, muito provavelmente as α - e as β -ciclodextrinas.

Passados cerca de doze anos, Schardinger [2], que se debruçava sobre o estudo de bactérias patogénicas que resistiam ao processo de cozedura, publicou um artigo em que identificava duas moléculas com estruturas distintas, resultantes da digestão do amido com um microrganismo. Estas substâncias pareciam em tudo ser idênticas às descritas anteriormente por Villiers. Schardinger designou o microrganismo responsável pela degradação do amido e formação das ciclodextrinas por *Bacillus macerans* [3]. Ele notou que conseguia facilmente distinguir entre as duas formas cristalinas de ciclodextrinas pela simples adição de uma solução de iodo, que formava cores diferentes em contacto com as diferentes ciclodextrinas.

Duas décadas após as experiências de Schardinger, foi a vez de Pringsheim [4] desempenhar um papel relevante na investigação das ciclodextrinas. Mas apesar de ter publicado vários artigos, o seu trabalho teve pouco relevo devido ao facto de ter trabalhado com frações impuras e ter utilizado técnicas pouco apropriadas para o fim pretendido. As suas inúmeras publicações estão cheias de especulações e os seus resultados são em alguns casos irrealistas. No entanto, o seu grupo descobriu que as ciclodextrinas cristalinas e os seus derivados acetatos têm elevada tendência a formar complexos de inclusão com várias moléculas orgânicas.

Em meados dos anos 30, Freudenberg [5] e os seus colaboradores, com base na experiência adquirida e com base em artigos publicados por diversos autores, tais como Karrer [6] e Miekeley [7] chegaram à conclusão que as ciclodextrinas cristalinas de Schardinger eram constituídas por maltose e continham apenas ligações glicosídicas α -1,4. Este grupo de investigação foi responsável pela primeira esquematização da estrutura provável das ciclodextrinas em 1936. Entre 1948 e 1950 as γ -ciclodextrinas foram descobertas e a sua estrutura elucidada.

No início da década de 50, dois grupos de investigação centraram as suas atenções nas ciclodextrinas. Um grupo liderado por French [8] descobriu a existência de ciclodextrinas ainda maiores. Outro grupo, liderado por Cramer [9] focou a sua atenção numa das características mais atrativas das ciclodextrinas, a formação de complexos de inclusão.

Em 1953, Freudenberg, Cramer e Plieninger [10] registaram uma patente na qual cobriam quase todos os aspetos fundamentais do uso de ciclodextrinas na formulação e libertação de fármacos, tais como a proteção contra a oxidação, o aumento da solubilidade dos fármacos e a redução da volatilidade por parte dos fármacos, entre outros, através da complexação com as ciclodextrinas.

Em 1957 foi publicada a primeira revisão sobre as ciclodextrinas, por parte de French [8], à qual se seguiram uma monografia de Thoma e Stewart [11] em 1965, e uma outra monografia de Caesar [12] em 1968.

O crescente interesse nas ciclodextrinas que levou French e Thomas a alimentarem ratos com ciclodextrinas com o intuito de avaliar a sua toxicidade. A maioria dos ratos recusou-se a comer as ciclodextrinas se estas não se encontrassem em pequenas quantidades. Ao fim de uma semana todos os ratos colocados no regime de ciclodextrinas estavam mortos. Mas a falta de grupos de controlo, as quantidades utilizadas, a pureza das ciclodextrinas, entre outros fatores, levou muitos outros autores a questionarem estes dados.

Apesar da falta de estudos incidentes na toxicidade das ciclodextrinas, muitos cientistas optaram por não aprofundar conhecimentos sobre estas, devido ao estudo referido anteriormente.

Só após cerca de duas décadas, com o aparecimento de regras rigorosas para avaliar a toxicidade dos compostos, é que a hipótese das ciclodextrinas possuírem toxicidade foi colocada de parte.

Por volta dos anos 60 as ciclodextrinas eram consideradas muito interessantes e muito promissoras, apesar de serem bastante caras e de serem aparentemente tóxicas.

A figura 1 ilustra o número de publicações ao longo do tempo envolvendo as ciclodextrinas.

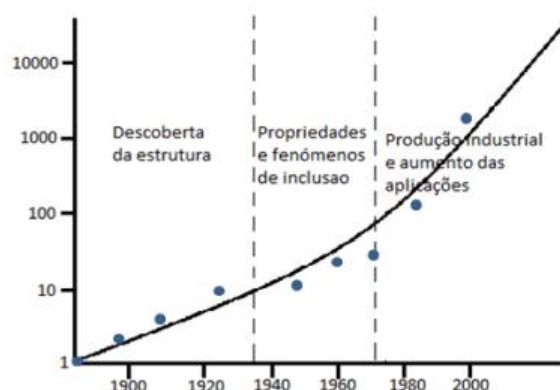


Figura 1: Evolução do número de publicações envolvendo ciclodextrinas ao longo dos anos [13].

Note-se que no período entre 1960 e 1970 o número de publicações não aumenta de forma na mesma proporção das décadas anteriores, como nas restantes décadas, muito devido aos resultados de French que apontavam para a toxicidade das CDs. No início de 1970, após se provar que os ratos não teriam morrido devido a toxicidade associada às ciclodextrinas, mas sim devido às impurezas e à incorreta dosagem das mesmas, o interesse sobre as ciclodextrinas voltou a aumentar, levando a um aumento exponencial do número de publicações.

No início da década de 80 organizou-se o primeiro simpósio sobre ciclodextrinas, sendo que a partir de 1984 este simpósio passou a contar com uma média de 120 a 150 apresentações por ano [14-20].

Atualmente as ciclodextrinas são produzidas à escala industrial e o seu preço por quilograma caiu, num intervalo de 25 anos, de cerca de 2000 dólares para poucos dólares por quilograma. As ciclodextrinas passaram de um produto designado de fino, para um produto produzido à escala industrial. Atualmente ainda são produzidas ciclodextrinas funcionalizadas consideradas produtos químicos finos.

1.2 – Propriedades e aplicações industriais

1.2.1 – Propriedades

As ciclodextrinas são carboidratos complexos, compostos por unidades de glicose. Por modificação enzimática é possível obter ciclização de seis, sete ou oito unidades de glicose, dando origem a α , β e γ -ciclodextrinas.

Em 1974 Kitahata e Okada [21] provaram, pela primeira vez, que as α e γ -ciclodextrinas eram produzidas diretamente do amido e não a partir das β -ciclodextrinas como até então se julgava. Estes mesmos autores identificaram ainda um conjunto de microorganismos que produzia a enzima ciclodextrina glicosiltransferase (*CGTase*), capaz de produzir α , β e γ -ciclodextrinas em diferente proporções.

Atualmente as ciclodextrinas são produzidas industrialmente como substâncias cristalinas homogêneas [22]. Existem diversas ciclodextrinas, funcionalizadas com diversos grupos, e nos dias de hoje é quase possível sintetizar ciclodextrinas com os grupos funcionais que se pretendem. Mas entre esta enorme variedade de ciclodextrinas, as α , β e γ -ciclodextrinas são as de maior interesse comercial, até porque são estas que posteriormente são funcionalizadas.

Na sua generalidade as ciclodextrinas possuem uma estrutura básica e circular com um interior oco, como se pode ver na Figura 2.

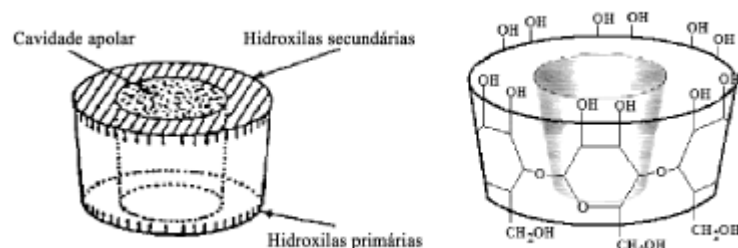


Figura 2: Estrutura comum das α , β e γ -ciclodextrinas adaptado de [23].

As propriedades destas três ciclodextrinas variam bastante. A solubilidade das ciclodextrinas em água, por exemplo, é muito diferente entre elas, sendo as β -ciclodextrinas as menos solúveis. Na tabela 1, estão esquematizadas as propriedades fundamentais das α , β , γ e δ -ciclodextrinas.

Tabela 1: Propriedades dos diferentes tipos de ciclodextrinas, adaptado de [23]

	α -CD	β -CD	γ -CD	δ -CD
Unidades de glicose	6	7	8	9
Massa molecular (g mol^{-1})	972,86	1135,01	1297,15	1459
Diâmetro externo (Å)	$14,6 \pm 0,4$	$15,4 \pm 0,4$	$17,5 \pm 0,4$	
Diâmetro da cavidade (Å)	4,7 – 5,3	6,0 -6,5	7,5 – 8,3	
Altura do cone (Å)	$7,9 \pm 1$	$7,9 \pm 1$	$7,9 \pm 1$	
Rotação específica $[\alpha]$	$150,5 \pm 0,5$	$162,5 \pm 0,5$	$177,4 \pm 0,5$	191 ± 3
Ponto de fusão (decomp.) ($^{\circ}\text{C}$)	278	298-300	267	
Solubilidade em água (mol L^{-1})	$0,114^a$ $0,138^b$	$0,016^a$ $0,019^b$	$0,179^a$	alta
Moléculas de água na cavidade	6	11	17	
Água de cristalização (% m/m)	10,2	13-15	8-18	

^a - a 25 $^{\circ}\text{C}$; ^b - a 30 $^{\circ}\text{C}$; decomp. - ocorre decomposição

1.2.1.1 – Formação de complexos de inclusão

É a propriedade de formação de complexos de inclusão com diversos compostos orgânicos que torna as ciclodextrinas tão atrativas do ponto de vista industrial e científico.

Esta capacidade de fácil formação de complexos de inclusão é melhor elucidado considerando como base a química supra-molecular.

A química supra-molecular é uma área da química que estuda as interações intermoleculares não covalentes entre as espécies. Esta disciplina engloba as interações “*host-guest*” em que uma espécie cria um complexo, que no caso das ciclodextrinas, constitui um complexo de inclusão.

Segundo Bertolini, Cereda e Chuzel [24] as ciclodextrinas após encapsularem os compostos conferem-lhes diversas propriedades, tais como: a proteção contra a oxidação causada por O₂, proteção contra a degradação por ação da luz, aumento da resistência à degradação térmica e redução da volatilidade dos compostos. Adicionalmente tornam os compostos mais estáveis, sejam estes fármacos, corantes, vitaminas e *moléculas odoríferas* entre outros.

As ciclodextrinas são das moléculas mais estudadas para este propósito, devido a serem de origem semi-natural, derivadas de um material orgânico renovável e produzidas em larga escala por técnicas designadas por verdes (amigas do ambiente). Adicionalmente, elas são inócuas para o homem e para o ambiente; podendo ser ingeridas em alimentos ou em sistemas de libertação de fármacos, entre outras inúmeras aplicações [25].

Devido aos pontos referidos, as ciclodextrinas são um dos principais alvos de investigação no que toca à formação de complexos de inclusão. Esta elevada capacidade de formação de complexos de inclusão deve-se ao facto de as ciclodextrinas possuírem uma cavidade hidrofóbica e uma superfície externa hidrofílica, como pode ser visualizado na figura 3, que esquematiza as diferentes zonas das ciclodextrinas e respetivas polaridades.

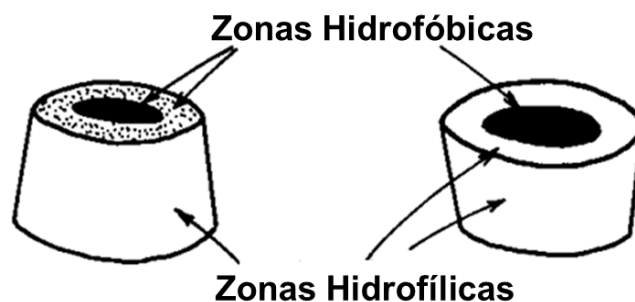


Figura 3: Estrutura das ciclodextrinas evidenciando as diferentes zonas de polaridade.

Uma molécula diz-se encapsulada nas ciclodextrinas quando a molécula preenche total ou parcialmente a sua cavidade hidrofóbica.

Devido às ciclodextrinas possuírem um interior apolar (hidrofóbico), a formação de complexos de inclusão com compostos orgânicos é bastante favorecida [26].

Mas apesar da sua ótima capacidade de encapsulamento, as ciclodextrinas apresentam limitações, e uma das mais importantes centra-se no tamanho da molécula que se pretende complexar com a ciclodextrina. Como já foi visto anteriormente, os tamanhos das cavidades das ciclodextrinas são da ordem dos angström [27], como apresentado na Tabela 1, ou seja, muito pequenos, o que limita bastante a gama de moléculas com que pode formar complexos de inclusão. Um outro fator a ter em conta quando se fala de complexos de inclusão com as ciclodextrinas é a polaridade dos grupos funcionais presentes nas moléculas que se pretende complexar com as ciclodextrinas. Apesar das limitações envolvendo a geometria e a dimensão, está referenciado na literatura que as ciclodextrinas podem formar complexos de inclusão parcial com macromoléculas, através de uma zona menos polar da macromolécula, que possua dimensões compatíveis com as ciclodextrinas [28].

As macromoléculas descritas na literatura que são capazes de formar complexos de inclusão com as ciclodextrinas apresentam quase todas zonas bastante pouco polares e são, na sua maioria, moléculas com uma estrutura tridimensional, não muito rígida. Moléculas polares teoricamente não terão afinidade para a cavidade apolar das ciclodextrinas, como já foi provado

experimentalmente [29] e através de estudos de modelação molecular [30]. Na figura 4 pode ver-se a formação de um complexo de inclusão do p-xileno com uma β -ciclodextrina.

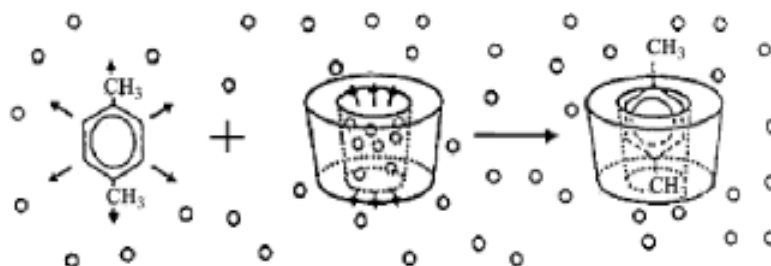


Figura 4: Esquemática da formação de um complexo de inclusão, adaptado de [31].

1.2.2 – Aplicações industriais

Uma das primeiras aplicações, à escala industrial, que se conhece com as ciclodextrinas é a sua aplicação na indústria alimentar como agentes de encapsulamento. Fazem-se valer da sua enorme capacidade de criação de complexos de inclusão para encapsular moléculas com propriedades odoríferas e compostos com sabor. As ciclodextrinas formam facilmente complexos de inclusão com anéis aromáticos, presentes em muitos dos “aromas” e muitos dos compostos com sabor e em compostos com propriedades odoríferas.

Uma das principais aplicações com valor acrescentado das ciclodextrinas é na indústria farmacêutica, onde estão a ser utilizadas como agentes de libertação controlada de fármacos [32].

Uma aplicação recente das ciclodextrinas é no tratamento de maus odores, quer na sua remoção do meio envolvente, quer na libertação lenta e gradual de odores agradáveis que possam neutralizar ou camuflar os odores menos agradáveis.

O Frebeze® é um produto comercial desenhado para a eliminação de odores, em que o componente maioritário são β -ciclodextrinas. Este produto

comercial é utilizado sob a forma de spray, para maximizar a capacidade de formação de complexos de inclusão por parte das ciclodextrinas. Quando o “*spray*” é pulverizado num substrato ou apenas para ambientar o meio, a água que forma a dispersão facilita a dissolução das moléculas causadoras do mau odor, facilitando assim a criação dos complexos de inclusão com as ciclodextrinas. Após a secagem do substrato os maus odores ficam eficazmente encapsulados no interior das ciclodextrinas.

Uma outra aplicação não muito explorada é o uso das ciclodextrinas como aditivos no processo de fabrico de polímeros. Vários autores descrevem o uso de ciclodextrinas com o intuito de reduzirem a quantidade de compostos orgânicos voláteis (COVs) libertados durante o processo de produção dos polímeros [33].

É precisamente neste contexto que surge o presente trabalho de investigação. Aproveitando todas as potencialidades das ciclodextrinas já referidas, pensou-se na utilização destes compostos, imobilizados em substratos poliméricos, como agentes de remoção de odores. A indústria de polímeros tem tido um elevado crescimento, sendo hoje recorrente o uso de diversos aditivos nas formulações poliméricas, para dotar os substratos de funcionalidades acrescidas.

1.3 – Substratos poliméricos flexíveis e termoplásticos

Os polímeros são compostos de elevada massa molecular resultante de reações químicas de polimerização. A palavra polímero deriva do grego “*poli*” que significa muitas e “*mero*” que significa partes. Os polímeros são materiais orgânicos, constituídos por varias unidades, os monómeros, que normalmente se repetem centenas ou milhares de vezes. Do ponto de vista da química orgânica um polímero é: *“uma molécula grande formada pela união de pelo menos cinco monómeros, podendo ser natural, tal como a celulose, o ADN, ou sintético, tal como o nylon ou o polietileno, estas cadeias poliméricas contêm normalmente mais que cinco monómeros, sendo que algumas podem ter centenas ou milhares de monómeros em cada cadeia”* [34].

A formação de um polímero é normalmente designada por reação de polimerização, sendo que esta reação ocorre, de forma muito sucinta, em três etapas. A iniciação, etapa em que a reação de polimerização começa; a propagação, etapa em que a cadeia polimérica é formada e a terminação, etapa em que a cadeia polimérica reage com um monómero que termina a reação de propagação.

Um conceito importante numa reacção de polimerização é o conceito de saturação. A saturação diz respeito a capacidade de um determinado átomo sofrer adição de outros átomos ou grupos funcionais. Pelo que grupos insaturados são indispensáveis para a polimerização através do mecanismo de adição.

Um das classes de polímeros mais utilizados industrialmente em diversas aplicações são os poliuretanos termoplásticos (TPU). Os poliuretanos termoplásticos, como o próprio nome indica, são polímeros em que a unidade repetitiva é o grupo uretano.

Este polímero é composto por monómeros orgânicos, ligados através de carbamatos (uretanos).

Na figura 5, é mostrado o grupo uretano, unidade repetitiva destes polímeros. O grupo uretano é obtido através da combinação dos grupos terminais isocianato (-NCO) e hidroxilo (-OH).

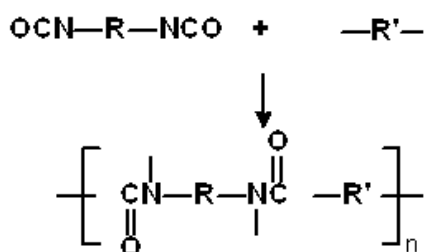


Figura 5: Formação da unidade repetitiva nos poliuretanos, adaptado de [34]

As principais características destes polímeros são a sua tenacidade e resistência à abrasão. São normalmente utilizados em aplicações em que os materiais estão sujeitos a condições exigentes. Valem-se da sua elevada

elasticidade (mesmo a baixas temperaturas) e resistência, para se poderem afirmar como materiais extremamente versáteis e de fácil processamento.

Estes polímeros são ainda, facilmente combináveis e misturados com outros polímeros compatíveis, de modo a conferir as propriedades finais desejadas.

É a enorme adaptabilidade e o variadíssimo leque de propriedades e conjugação destas num só material que faz com que este tipo de material seja largamente utilizado nas mais diversas indústrias.

Estes polímeros apresentam ainda a enorme vantagem de serem facilmente aditivados. Atualmente a aditivação é o processo de excelência, utilizado pela indústria, na produção de polímeros com elevado desempenho. Grande percentagem dos polímeros produzidos industrialmente usa aditivos nas suas formulações para melhorar uma ou mais das suas propriedades, reduzir o custo de fabrico, melhorar a moldagem ou introduzir uma cor desejada nos polímeros.

Existem inúmeros aditivos comerciais, estando eles divididos em, enchimento (*fillers*), plastificantes, antioxidantes, retardantes de chama, anti-espuma (*foaming or blowing agents*), agentes anti-estáticos ou agentes que conferem brilho. De uma forma genérica estes são os mais utilizados na indústria transformadora [35]. Existem muitos outros aditivos que podem ser utilizados para conferir propriedades adicionais, tais como aditivos antimicrobianos e estabilizadores de UV.

Neste trabalho usaram-se as ciclodextrinas como aditivo num revestimento de poliuretano, com o intuito de conferir propriedades de captação e remoção de maus odores. Esta temática ainda não foi explorada, sendo que até à data a única aplicação encontrada para a aditivação de polímeros com ciclodextrinas foi a descrita anteriormente para reduzir a quantidade de COVs libertados durante o processo de produção de polímeros.

Uma das dificuldades, contudo não limitante, da aditivação, prende-se com a deteção e quantificação das ciclodextrinas após imobilização na superfície polimérica.

Para se perceber a dificuldade atual no processo de deteção de ciclodextrinas em substratos sólidos, apresenta-se de seguida uma pequena abordagem a esta temática.

1.4 – Detecção e quantificação das ciclodextrinas

Uma característica fundamental a ter em conta no processo de encapsulamento é que os complexos de inclusão apresentam características diferentes das características dos compostos isolados, *ie*, antes da sua complexação com as ciclodextrinas.

Teoricamente qualquer técnica que possua a capacidade de detetar estas diferenças é passível de ser utilizada para ajudar a perceber, quantificar e elucidar a formação de complexos de inclusão. Um outro fator a ter em conta quando se pensa em caracterizar os complexos de inclusão é o estado físico da amostra, sendo que as amostras em solução podem ser caracterizadas por técnicas diferentes das amostras no estado sólido.

Para amostras em solução, técnicas como a espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN), espectroscopia de fluorescência e de ultravioleta-visível, modelagem molecular e diagramas de solubilidade de fases são já frequentemente utilizadas para a caracterização dos complexos de inclusão das ciclodextrinas.

Uma das primeiras técnicas utilizadas para este propósito, e ainda bastante atual é o uso dos diagramas de solubilidade de fases. O uso destes diagramas baseia-se na medição da influência que o efeito de complexação tem na solubilidade do substrato. Esta medida da solubilidade permite, após um estudo da solubilidade a várias concentrações de ciclodextrinas e de composto a complexar, inferir sobre a estequiometria da complexação. [36] Este método de determinação, apesar de largamente utilizado para este propósito, não é dos mais precisos e existem técnicas mais sensíveis que, em alguns casos, não confirmam os resultados obtidos pela técnica dos diagramas de solubilidade de fases.

Uma outra técnica bastante utilizada, e provavelmente a que caracteriza melhor os complexos de inclusão formados, é a espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN). Esta técnica permite obter informações estruturais únicas e muito precisas sobre a estequiometria, sobre constantes de

estabilidade e sobre a orientação da molécula complexada na cavidade da ciclodextrina [37]. Outros autores têm reportado o uso desta técnica para elucidar estruturas de complexação com compostos consideravelmente complexos [38].

Como já referido anteriormente, o uso de técnicas de espectroscopia de fluorescência e de ultravioleta-visível são utilizadas devido à sua capacidade de registar pequenas variações com elevada sensibilidade. Esta capacidade tem sido aproveitada para o estudo de complexos de inclusão. Manzori *et al* tem utilizado a espectroscopia de fluorescência para detetar a mudança do sinal de fluorescência de fármacos encapsulados [39]. Já o grupo de Zia tem utilizado a espectroscopia de ultravioleta-visível para detetar alterações nos valores de absorvância e comprimento de onda das bandas para alguns princípios ativos na forma complexada [40].

Mais recentemente e cada vez mais frequentemente, tem-se utilizado a modelação molecular. [41; 42] O uso da modelação molecular encontra-se limitado por diversos fatores, sendo uma das maiores limitações o número de variáveis em estudo, limitado pelo poder de computação, que tem crescido bastante nos últimos anos, permitindo assim o uso desta abordagem de forma mais precisa. A modelação molecular, MM, é atualmente uma ferramenta cada vez mais requisitada para o cálculo de constantes de complexação e de previsão da afinidade dos compostos a ser encapsulados ou complexados nas ciclodextrinas. Apesar de todas as simplificações que se fazem para se poder simular o processo de complexação, os resultados obtidos por MM têm tido uma elevada e crescente taxa de concordância com os dados obtidos pelas técnicas espectroscópicas descritas acima. Exemplo disto são os trabalhos realizados por vários autores, nomeadamente Lipkowitz, cujos estudos exploram as limitações dos modelos [43] Outros autores conseguiram uma boa aproximação entre o modelo teórico e os modelos determinados por outras técnicas.

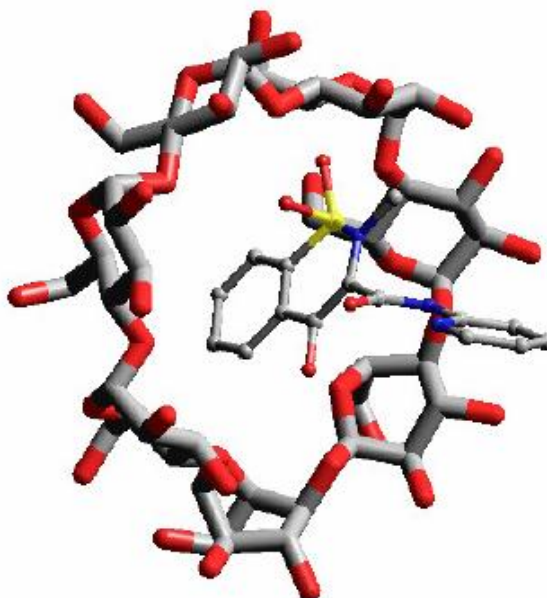


Figura 6: Representação esquemática de uma visualização computacional do fenómeno de inclusão adaptado de [44].

As técnicas descritas anteriormente ao longo da secção 1.4, apresentam bons resultados quando se pretende inferir sobre o estudo dos complexos de inclusão em solução, mas quando se pretende determinar esta mesma complexação nas ciclodextrinas no estado cristalino algumas das técnicas descritas anteriormente não são passíveis de serem utilizadas, devido a limitações técnicas e específicas de cada instrumentação anteriormente descrita.

Quando o complexo está no estado sólido, outras técnicas de caracterização podem ser utilizadas em substituição das anteriores. Neste caso, métodos de análise térmica são utilizados com sucesso na caracterização e determinação da encapsulação ou complexação do composto nas ciclodextrinas. Cabral Marques *et al* [45] estudaram a temática da complexação com recurso a métodos térmicos para a caracterização dos mesmos. Estes métodos, apesar de todas as limitações e ser necessário o uso de técnicas complementares, conseguem em muitos casos fornecer informações sobre o grau de complexação obtido, estabilidade do complexo e informações relativamente à sua cristalinidade [46]. Entre as técnicas térmicas, ou também designadas técnicas calorimétricas, as mais utilizadas são a termogravimetria (TG), os sistemas termoanalíticos (TAS),

a cromatografia de gases acoplada a um sistema de combustão de amostras e a calorimetria diferencial de varrimento (DSC), que é de todas a mais utilizada e a que fornece regra geral resultados mais significativos [47].

As técnicas espectroscópicas também são largamente utilizadas para este propósito, entre elas a espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e Raman. São determinações bastante rápidas e precisas que, apesar destas duas vantagens, apresentam ainda muitas limitações, sendo a maior o facto de as alterações envolvidas no processo de complexação serem muito pequenas e provocarem pequenos desvios nas bandas. A utilização destas técnicas espectroscópicas requer uma interpretação cuidada dos resultados obtidos, como demonstrado por Hedges [48]. Mas apesar deste ponto negativo na utilização destas técnicas, com o crescente uso de modelos matemáticos e com novas formas de integração das bandas através de novos modelos matemáticos de ajuste dos dados experimentais, tornam bastante mais confiáveis os resultados relativos à conformação espacial dos complexos de inclusão, como descrito por Iliescu *et al* [49].

Uma outra técnica utilizada para a determinação da forma como os compostos criam complexos de inclusão com as ciclodextrinas são as técnicas cristalográficas com raios X. Entre as técnicas cristalográficas com raios X, a difração de raios X (XRD) é a mais utilizada devido à sua rapidez de execução e devido à informação estrutural por ela fornecida. Esta técnica é muito útil permite inferir sobre a cristalinidade das amostras. As diferenças nos difratogramas, como o aparecimento ou desaparecimento de picos, e a mudança de intensidade dos mesmos são indicativos da formação de complexos de inclusão. [50]. Uma outra técnica que tem por base princípios cristalográficos é a difração dos raios X do monocristal. Esta última técnica permite de forma precisa determinar a estrutura geométrica de um cristal como descrito por Cunha-Filho *et al*. [51]. Apesar das vantagens descritas acima, estas técnicas apresentam algumas dificuldades, que se prendem com detalhes técnicos e de natureza económica. Técnicos porque é bastante difícil conseguir-se obter um cristal com condições de ser analisado por estas técnicas, e económica porque é uma técnica que fica consideravelmente cara por amostra.

Outras técnicas, tais como as técnicas de caracterização morfológica e de determinação do tamanho de partículas, podem ser utilizadas nesta caracterização. Técnicas simples, tais como a sedimentação e a filtração, entre outras, são utilizadas. Atualmente com o crescente desenvolvimento tecnológico, técnicas mais complexas de caracterização morfológica, tais como a microscopia electrónica de varrimento (SEM), os métodos de difração de laser [52,53] e a microscopia electrónica de transmissão (TEM) têm sido utilizadas para se caracterizar estes complexos de inclusão. Estas técnicas são úteis quando se pretende perceber o grau de interação entre os compostos e as ciclodextrinas, permitindo relacionar as propriedades dos complexos de inclusão formados com a sua dissolução ou mesmo com a sua compressibilidade, que difere das ciclodextrinas puras.

Existem ainda testes em que o princípio utilizado se baseia em pressupostos básicos e simples, tais como a característica de os complexos de inclusão possuírem, em geral, uma maior humectação; por isso um simples teste permite diferenciar uma mistura com um complexo de inclusão de uma mistura em que os compostos e as ciclodextrinas estão apenas mecanicamente ligados. Existem alguns testes simples e expeditos descritos na literatura, em que por exemplo se utiliza um simples tubo capilar contendo amostras em solução com corantes, registando-se a percentagem de volume de corante que migra em função do tempo. [54], fazendo-se valer das diferentes taxas de humectação.

Técnicas mais precisas, mas não tão expeditas, como a medição dos ângulos de contacto podem ser utilizadas para o mesmo fim, devido ao facto de zonas com maiores propriedades humectantes apresentarem ângulos de contacto mais baixos. [55; 56].

No entanto, quando as ciclodextrinas estão fixas a uma superfície e depois se tenta caracterizar/quantificar estas ciclodextrinas ou a sua capacidade para a formação de complexos de inclusão, ainda não existe muita informação na literatura sobre esta problemática. A maioria das técnicas descritas acima apresenta limitações quando se passa para um substrato sólido. Após um levantamento da maioria das técnicas de caracterização existentes na literatura, algumas das encontradas apresentam potencial para a quantificação e caracterização das ciclodextrinas na superfície de um substrato sólido. Entre

elas, realçam-se as isotérmicas de adsorção aplicadas a resultados experimentais, a cromatografia gasosa com “headspace” e a utilização de fenolftaleína (que tem a particularidade de complexar com as ciclodextrinas a que está associada uma mudança da coloração) como potencialmente mais promissoras para este fim.

A adsorção é um processo superficial em que um fluido (normalmente um gás) adere a uma superfície (normalmente um sólido). Esta aderência normalmente é obtida através da formação de dipolos e interações de Van der Waals (interações moleculares fracas de repulsão e atração). As interações de Van der Waals estão sempre presentes, mas as interações electrostáticas tornam-se relevantes quando se analisa estruturas iónicas, como os zeólitos. [57].

Os modelos das isotérmicas de adsorção assentam em dois modelos de adsorção, nomeadamente as isotérmicas de Langmuir e as isotérmicas de Freundlich. Apesar de não serem as mais completas apresentam graus de concordância com os valores experimentais bastante satisfatórios. A isotérmica de Langmuir assume que o sistema é ideal; que as moléculas são adsorvidas na superfície do substrato em posições definidas e localizadas e que esta adsorção é efetuada em monocamada numa superfície homogénea; assume ainda que cada posição pode adsorver uma e uma só molécula da substância adsorvida; e por fim considera que a energia da adsorção é igual em todos os locais da superfície e que esta adsorção não depende das posições já ocupadas com outras moléculas adsorvidas, porque despreza estas interações. Este modelo de isotérmica de adsorção, apesar de apresentar bons resultados em alguns casos, falha muitas vezes, devido sobretudo à heterogeneidade das superfícies.

Já a isotérmica de Freundlich, é uma relação empírica adequada para descrever a adsorção em superfícies heterogéneas. A isotérmica de Freundlich tem a desvantagem de ajustar bem os dados experimentais apenas numa faixa de concentrações moderadas do soluto. Nesta isotérmica as interações entre as moléculas do composto a ser adsorvido e as moléculas da superfície heterogénea são tidas em conta, apesar de esta isotérmica só apresentar bons resultados para superfícies não muito heterogéneas em que estas interações não são muito significativas.

Estes dois tipos de isotérmicas, são aplicadas como modelos no ajuste a dados experimentais com vista a determinar o modelo de isotérmica mais adequado para descrever o tipo de interacção entre o substrato e as moléculas adsorvidas. O ajuste permite a determinação de constantes de afinidade ou de complexação entre o substrato e uma determinada molécula ou composto. [58].

A extração por “*headspace*” *estático*, é uma outra técnica que, apesar de não poder ser utilizada diretamente para caracterizar a superfície do substrato e quantificar as ciclodextrinas, pode ser utilizada indiretamente para este fim, permitindo a determinação de um componente volátil que interaja com as CDs

A extração por “*headspace*” *estático* para fins de análise quantitativa não necessita da remoção completa dos componentes voláteis da amostra. Apenas uma porção que corresponde a uma pequena fração da concentração de equilíbrio na fase de vapor é suficiente para se proceder à quantificação do analito.

O princípio básico da extração por “*headspace*” *estático* é ilustrado na Figura abaixo (figura 7), onde se salienta o equilíbrio térmico entre a amostra e a fase gasosa, levando à partição do soluto pelas duas fases. Os volumes da fase líquida, V_S , e da fase de vapor, V_G , assim como a constante de partição entre as duas fases são os fatores determinantes da quantidade de analito extraída para a fase gasosa.

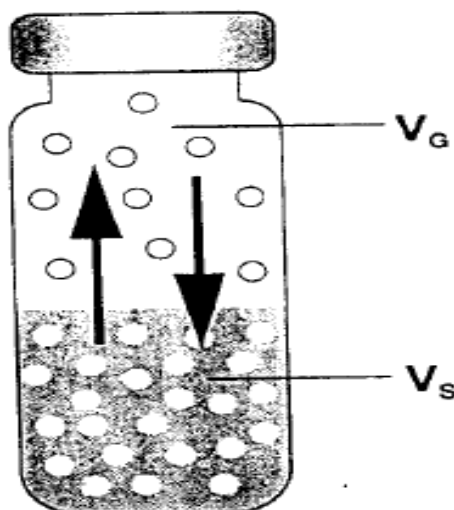


Figura 7: Equilíbrio térmico entre a amostra e a fase gasosa, adaptado de [59].

A figura 8, exemplifica, de forma esquemática, os três passos usuais até a injeção de uma amostra na coluna cromatográfica. Estes passos são os mais cruciais quando se efetua uma análise em cromatografia gasosa, (i) o estabelecimento do equilíbrio térmico, (ii) a extração e (iii) a sua injeção na coluna cromatográfica.



Figura 8: Esquema exemplificativo dos passos usuais na injeção de amostras na coluna cromatográfica em cromatografia gasosa

Uma outra técnica que tem por base a cromatografia gasosa, CG, é a extração por “*headspace*” dinâmico.

Esta técnica usa um fluxo de um gás de arraste através do vial da amostra para aumentar o volume da amostra que chega à coluna de CG, isto faz com que esta técnica seja mais sensível que o “*headspace*” estático. Em vez de se deixar atingir o equilíbrio dentro do vial, a amostra é aquecida e a atmosfera dentro do recipiente é constantemente purgada para uma “*trap*”, ou seja, uma “*ratoeira*”.

Nesta “*trap*” os analitos são armazenados e o gás de arraste é ventilado. Após este passo, a amostra é aquecida e refluxada para permitir aos compostos adsorvidos serem injetados na coluna cromatográfica.

Esta técnica não necessita de solventes, pelo que no cromatograma irá apenas constar o pico correspondente à substância que se pretende analisar.

Estas técnicas podem fornecer uma medida indireta da quantidade de ciclodextrinas, após a criação de um complexo de inclusão com um aroma, ou

uma outra molécula facilmente detetável no detetor utilizado no equipamento de cromatografia gasosa.

Um outro método a desenvolver é o uso de um agente que ao complexar altere uma propriedade que seja facilmente medida, por exemplo uma mudança de cor.

Um agente desse tipo, já largamente utilizado é a fenolftaleína. A fenolftaleína é normalmente utilizada como indicador de pH, mudando de uma cor rosa forte (pH básico), para incolor (pH ácido) [60]. Tem ainda a particularidade de complexar com as ciclodextrinas, e formar um complexo de inclusão, que ao ser formado torna a solução incolor se estiver num meio ligeiramente alcalino. Um teste expedito para testar a presença ou ausência das ciclodextrinas na superfície de um substrato é o de colocar uma gota de solução de fenolftaleína ligeiramente alcalina, na superfície do mesmo substrato e verificar se a solução de fenolftaleína fica incolor. [61] Para garantir que o pH não varia é necessário preparar a solução de fenolftaleína num meio tamponado. Este teste, apesar de expedito, não permite uma determinação quantitativa das ciclodextrinas na superfície do substrato. Para isso é necessário desenvolver e otimizar um método utilizando a capacidade de formação de complexos de inclusão das ciclodextrinas. Em alternativa a este método, pode-se desenvolver um método utilizando a espectroscopia de ultravioleta-visível para quantificar este efeito e, de forma indireta, quantificar as ciclodextrinas na superfície do substrato. Este método trará vantagens em relação aos apresentados anteriormente, visto ser expedito, não apresentar custos elevados e permitir quantificar as ciclodextrinas com capacidade de formar complexos, presentes na superfície do substrato.

2 – Técnicas de Caracterização:

As técnicas utilizadas neste trabalho para caracterizar os substratos preparados foram as seguintes: Microscopia Electrónica de Varrimento (SEM) na caracterização morfológica e topográfica dos substratos, Espectroscopia de infravermelho por reflectância total atenuada (FTIR-ATR) na caracterização da composição dos substratos, Termogravimetria (TG) na determinação das curvas termogravimétricas das amostras, Espectroscopia de raios X por dispersão em energia (EDS) na caracterização química dos substratos preparados, Microscopia de força atómica (AFM) na caracterização morfológica dos substratos preparados, Espectroscopia de ultravioleta-visível (UV-VIS) na quantificação de ciclodextrinas ligadas à superfície dos substratos preparados, Cromatografia gasosa com detetor de ionização por chama (FID) na caracterização da interação do substrato aditivado com o aroma utilizado, e a ressonância magnética nuclear (RMN), para identificação do mecanismo de formação dos complexos de inclusão e caracterização da sua estrutura.

2.1 – Microscopia Electrónica de Varrimento (SEM)

A Microscopia Electrónica de Varrimento fornece informação morfológica sobre a superfície de sólidos. Apresenta grande sensibilidade às propriedades físicas e químicas e à contaminação da superfície. A profundidade do feixe eletrónico não ultrapassa algumas dezenas de nanómetros. A imagem obtida tem um forte contraste topográfico, apresentando-se o relevo da amostra com um aspeto semelhante ao que teria a observação visual direta ou com uma lupa [62].

2.2 – Espectroscopia de raios X por dispersão em energia (EDS)

A Espectroscopia de raios X por dispersão em energia (EDS ou EDX) é uma técnica utilizada para análise elementar e está normalmente acoplada à

microscopia eletrónica de varrimento (SEM). Esta técnica é uma variação da espectroscopia de fluorescência, que se baseia na interação entre a matéria e uma radiação electromagnética ou partículas, analisando os raios X emitidos pela matéria devido à excitação provocada pela radiação electromagnética ou pelas partículas.

Esta técnica tem como princípio de funcionamento o facto de cada elemento químico possuir uma estrutura única, e os eletrões excitados, por um feixe de energia, possuírem energias únicas e características de um determinado nível de energia, podendo desta forma identificar-se os átomos constituintes de uma amostra e apresentar estes resultados sobre a forma de uma percentagem atómica. [62]

2.3 – Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier por reflectância total atenuada (FTIR-ATR)

A espectroscopia de infravermelho mede a excitação vibracional dos átomos envolvidos numa ligação química. As posições das linhas de absorção no espectro de infravermelho dependem do tipo de grupo funcional presente. Cada grupo funcional ligado a diferentes átomos possui uma banda diferente no espectro. Esta técnica é útil na determinação da composição porque permite identificar os diferentes grupos funcionais de uma determinada amostra. O acessório de ATR opera medindo a radiação reflectida quando esta entra em contacto com a amostra. Um feixe de infravermelho é dirigido para um cristal óptico denso (geralmente diamante) com um índice refractivo a um certo ângulo. A reflectância interna do feixe cria uma onda que se estende por alguns micrómetros ($0.5\ \mu\text{m}$ – $5\ \mu\text{m}$) para além da superfície do cristal entrando em contacto com a amostra. A absorção de energia por parte da amostra em regiões do espectro de infravermelho levará ao atenuamento da onda. O espectro de infravermelho é gerado devido à posterior análise da energia atenuada de cada onda [63].

2.4 – Termogravimetria (TG)

A termogravimetria faz a pesagem contínua de uma amostra (cerca de 10 mg) numa atmosfera controlada, normalmente ar ou azoto, em função de um aumento linear da temperatura. As curvas obtidas da perda de massa em função da temperatura são designadas por curvas termogravimétricas. Trata-se de uma técnica simples que permite uma análise quantitativa das amostras. Esta técnica, dependendo da atmosfera que se usa, apresenta resultados diferentes. Uma atmosfera inerte de azoto promove uma decomposição da matéria orgânica da amostra e reacções de pirólise, enquanto numa atmosfera rica em oxigénio (ar) acontece combustão da matéria orgânica presente na amostra [62].

2.5 – Microscopia de força atómica (AFM)

A microscopia de força atómica é uma técnica em que uma ponta com um diâmetro a escala nanométrica mapeia uma superfície devido à deflexão provocada pela interação da ponta com a superfície a caraterizar.

Estas pontas podem ser constituídas por diversos materiais dependendo do modo e método de análise pretendido, mas a maioria é constituída por alumínio e silício.

Existem diferentes métodos de obtenção dos resultados, sendo os mais usuais o modo de contacto e o modo “*tapping*”. No modo de contato a ponta é posta em contacto físico com a superfície e o mapeamento da amostra é feito fazendo a posição da amostra variar nos eixos X e Y, sendo a deflexão provocada no eixo dos Z a morfologia da superfície. No modo de “*tapping*” a ponta é posta a vibrar com uma frequência pré-determinada e, neste modo em tudo similar ao anterior, regista-se as diferenças na amplitude da ponta a vibrar, traçando-se assim a morfologia da superfície.

Esta técnica permite; mapear a morfologia da superfície inferir sobre as diferentes fases de uma amostra e obter um mapa de condutividade; sendo estas as aplicações mais usuais desta técnica [64]

2.6 – Espectroscopia de ultravioleta-visível (UV-VIS)

A espectroscopia de ultravioleta-visível é uma técnica que permite estudar as transições eletrônicas em moléculas contendo ligações π , ou moléculas que contenham eletrões que não façam parte de uma ligação química. Estas moléculas absorvem radiação na gama do visível e do ultravioleta. Nesta gama enquadram-se as transições entre as orbitais d-d de compostos inorgânicos. Neste trabalho apenas terão interesse as transições, $\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$, características de compostos orgânicos.

De um ponto de vista prático, o aspeto mais importante é a determinação da quantidade de luz absorvida pela amostra. Isto é descrito pela *lei de Beer-Lambert*, que dá a relação entre a intensidade da que incide na solução (I_0), e a intensidade da luz que sai da solução (I).

$$\log(I_0/I) = A = \epsilon c l$$

Equação 1

Em que A é a absorvância; ϵ é a absortividade molecular; c é a concentração do material absorvedor e l a espessura da amostra através da qual a luz passa.

2.7 – Cromatografia gasosa (GC) com “headspace”

É uma técnica que tem por base o método físico de separação dos componentes da amostra vaporizada, por partição entre uma fase móvel gasosa e uma fase estacionária líquida retida na superfície de um sólido inerte [66]. Esta técnica designada por cromatografia gasosa, tem larga aplicação na separação de compostos voláteis [67].

Por seu lado o “headspace” é uma das técnicas mais importantes de preparação de amostras para cromatografia gasosa. A facilidade de preparação da amostra a ensaiar e a automação para análise de um grande número de amostras [68] faz com que a extração por “*headspace*” *estático* seja uma técnica de extração recomendada para análise de compostos voláteis em diferentes tipos de amostra [69].

2.8 – Ressonância magnética nuclear (RMN)

A ressonância magnética nuclear (RMN) é uma técnica espectroscópica útil na determinação de estruturas químicas [62]. O espectro de ressonância é obtido por absorção de radiação electromagnética por núcleos atómicos magnéticos. Esta energia absorvida e a frequência a que ocorre dependem das propriedades magnéticas do núcleo atómico. O sinal obtido no espectro refere-se ao desvio provocado pelas diferentes ligações do núcleo atómico em estudo. Estas diferentes ligações químicas originam diferentes sinais. Os diferentes sinais devem-se ao facto de o campo magnético ser alterado devido à partilha de eletrões [70].

3 – Parte Experimental

3.1 – Reagentes

Os reagentes utilizados na preparação do revestimento/lacas de poliuretano são comerciais, e foram gentilmente fornecidas pela empresa Texteis Manuel Gonçalves (TMG). A fenolftaleína, (grau de pureza de 99,0%); o hidrogenocarbonato de sódio (com uma pureza entre 99,7% e 100,3%); e o carbonato de sódio (99,8%), foram todos da marca Panreac. O limoneno (97%), usado nos testes de cromatografia gasosa, foi adquirido da Sigma-Aldrich. Usou-se ainda etanol (a 99, 5% da Aga) e água ultra-pura (Millipore com uma resistividade de 18, 2 MΩ cm) na preparação das diversas soluções.

3.2 – Material e instrumentação

Durante o processo de preparação das formulações recorreu-se ainda a balanças eletrónicas, uma analítica XS205 dual range da Mettler Toledo e uma da Kern, semi-analítica modelo 440-47N.

Usou-se placas de agitação da marca OVA/V durante a preparação das formulações.

O espectrofotómetro usado na obtenção dos espectros de FTIR-ATR dos substratos foi um Spectrum 100 Series da Perkin Elmer com um acessório de refletância total atenuada. Foram efetuados 8 ciclos de varrimento entre 650 e 4000 cm^{-1} , com uma resolução de 4 cm^{-1} .

As análises termogravimétricas foram realizadas numa termobalança da Perkin Elmer, em atmosfera de azoto e ar (fluxo de 10 mL min^{-1}), a utilizando um varrimento de temperaturas igual a 10 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, no intervalo de temperaturas de 30 a 1000 $^{\circ}\text{C}$ e com massas de amostras de cerca de 10 mg.

As análises de SEM e EDS foram realizadas no Centro Tecnológico das Indústrias Têxtil e do Vestuário de Portugal (Citeve). O aparelho utilizado para obtenção dos dados de SEM e de EDS foi um microscópio electrónico Stereoscan 260 da Leica.

As análises de espectroscopia de UV/VIS foram realizadas num espectrofotómetro da Perkin Elmer, Lambda 35 UV/VIS spectrometer. Utilizaram-se cuvetes de quartzo, com um passo óptico de 1 cm, durante as medições.

As imagens de microscopia de força atómica foram obtidas por um microscópio de força atómica da Agilent Technologies. Usou-se o modo tapping na obtenção das imagens ao longo do estudo.

A extracção térmica por “*headspace*” foi realizada na Faculdade de Ciências da Universidade do Porto (FCUP), num dispositivo da marca Perkin Elmer, modelo HS 40XL, que se encontrava associado a um cromatógrafo gasoso da marca Perkin Elmer, modelo Autosystem XL. O cromatógrafo encontrava-se equipado com um detetor de ionização em chama (FID) e uma coluna capilar da marca Supelco, com referência SPBTM-5, em que a fase estacionária era constituída por fenilpolidimetilsiloxano, e com a dimensão de 30 m x 0,25 mm. O controlo do cromatógrafo, a aquisição de dados e a integração dos picos cromatográficos foram efetuados pelo software Turbochrom. A medição do fluxo dos gases foi realizada por um medidor digital da marca Altech.

Os espectros de RMN de líquidos (¹H) foram realizados em água deuterada, no Departamento de Química da Universidade de Aveiro num espectrómetro Bruker 400 (campo magnético de 399,952 T).

3.3.1 – Preparação da formulação controlo

A laca de poliuretano foi produzida de acordo com as seguintes percentagens mássicas:

Tabela 2: Percentagens mássicas utilizadas na preparação da laca de poliuretano (controlo)

Nome	% Mássica
Laca 1	63,540
Laca 2	34,280
Estabilizador	0,490
Reticulante	1,579

Esta formulação de laca de poliuretano foi a usada como controlo. A formulação depois de preparada, foi colocada a agitar num agitador mecânico. Durante a preparação desta formulação é necessário ter em conta que a reação de polimerização se inicia após a adição do agente reticulante. Após a preparação desta formulação procedeu-se à filtração da mistura, utilizando um filtro comercial de poliuretano, utilizado nos processos industriais de produção das lacas de poliuretano.

Esta filtração é necessária para se retirar sobretudo bolsas de ar que se formaram durante a agitação mecânica da formulação.

3.3.2 – Preparação das formulações aditivadas

Para a preparação destas formulações utilizaram-se diferentes gobelés em que as quantidades dos constituintes das formulações foram pesadas individualmente.

As percentagens de ciclodextrinas a utilizar foram escolhidas tendo em conta uma prévia pesquisa, em que se constatou que a maioria dos aditivos

adicionados com uma percentagem superior a cerca de 3% alterava as propriedades finais das lacas de poliuretano.

Pesaram-se as massas das lacas de poliuretano, seguidamente adicionou-se o agente estabilizador, seguido da adição das ciclodextrinas e só por fim se adicionou o agente reticulante, de forma a evitar o início da polimerização antes do aditivo se encontrar na formulação. De seguida, agitou-se mecanicamente as formulações. Por fim efetuou-se uma filtração por gravidade em cada uma das formulações preparadas.

As quantidades e as percentagens mássicas utilizadas na preparação das formulações encontram-se na tabela apresentada a seguir.

Tabela 3: Percentagens mássicas utilizadas na preparação da laca de poliuretano com diferentes quantidades de ciclodextrinas

Nome	% Mássica	% Mássica	% Mássica	% Mássica
Laca 1	63,540	63,413	62,911	62,294
Laca 2	34,280	34,211	33,940	33,608
Estabilizador	0,490	0,489	0,485	0,480
Reticulante	1,579	1,575	1,563	1,548
β -ciclodextrinas	0	0,20	1,00	2,00

Foram preparadas 4 formulações de lacas de poliuretano, designadas posteriormente por controlo 0; β -CDs 0,2%; β -CDs 1% e β -CDs 2% sendo as percentagens correspondentes às percentagens mássicas utilizadas. Foram preparadas 6 amostras com as dimensões de uma folha A4 para cada concentração.

3.3.3 – Preparação das formulações para as retas de calibração usadas na cromatografia gasosa, CG

Para a posterior quantificação da quantidade de ciclodextrinas depositada à superfície dos termopolímeros de poliolefinas, foi necessário realizar retas de calibração. Para estas retas de calibração utilizou-se o procedimento descrito no ponto 3.3.2, diferindo apenas no volume e tamanho das amostras preparadas.

Tabela 4: Percentagens mássicas utilizadas na preparação da laca de poliuretano com diferentes quantidades de ciclodextrinas utilizados durante o desenvolvimento dos métodos de deteção

Nome	% Mássica							
Laca 1	63,540	63,413	63,160	62,535	61,309	58,951	51,494	46,813
Laca 2	34,280	34,211	34,075	33,738	33,076	31,804	27,781	25,256
Estabilizador	0,490	0,489	0,487	0,482	0,4728	0,455	0,397	0,361
Reticulante	1,579	1,576	1,569	1,554	1,524	1,465	1,279	1,163
β -ciclodextrina	0	0,200	0,400	1,000	2,000	4,000	8,000	10,000

3.3.4 – Preparação de amostras para o CG

Os ensaios de “*headspace*” foram realizados em Vial’s PE de vidro com a capacidade de 22,3 mL, da marca Perkin Elmer. Os Vial’s foram fechados com cápsulas de alumínio e septos de silicone revestidos a teflon. Os volumes de aroma introduzidos nos Vial’s foram medidos com seringas de precisão de capacidade máxima compreendida entre líquidos 0,1 μ L-5,0 μ L, da marca SGE.

3.3.4.1 – Condições do ensaio cromatográfico

Como gás de arraste usou-se azoto N45 fornecido pela Air Líquide. O hidrogénio e o ar necessários para o normal funcionamento do detetor foram igualmente adquiridos à Air Líquide, com a qualidade N50 e K, respetivamente.

Foram medidos os caudais do hidrogénio, azoto e ar comprimido, à saída do detetor, usando um medidor de fluxo, cujos valores se encontram representados na Tabela 5.

Tabela 5: Caudais dos gases usados nos ensaios cromatográficos

	Azoto	Hidrogénio	Ar
Fluxo (mL/min)	1,3	43,7	453
Velocidade linear (cm/s)	44	-	-
Pressão na cabeça da coluna (psi)	10,8-11,2	-	-

$$1 \text{ psi} = 6,8948 \times 10^3 \text{ Pa}$$

Os ensaios cromatográficos foram realizados com uma razão de “*split*” de 33:1. As temperaturas de funcionamento dos diferentes componentes do cromatógrafo encontram-se registadas na Tabela 6.

Tabela 6: Condições experimentais dos ensaios cromatográficos

Temperatura do injetor	270 °C
Temperatura do forno	40 °C durante o período de 1 min
	40 °C a 230 °C à velocidade de 20 °C/min
	230 °C durante um período de 3 min
Temperatura do detetor	270 °C

3.3.4.2 – Condições do ensaio de extração por “*headspace*”

As condições experimentais em que decorreram os ensaios de extração térmica por “*headspace*” encontram-se indicadas na Tabela 7.

Tabela 7: Condições experimentais da extração térmica por *headspace*

Temperatura do forno	40 °C
Temperatura da manga	150 °C
Temperatura da agulha	45 °C
Tempo de termostatização	30 min
Tempo de injeção	5 s
Tempo de pressurização	2 min
Pressão final no vial	18 psi

3.3.5 – Preparação da solução de fenolftaleína

A solução de fenolftaleína foi preparada em meio tamponado. Para a preparação de 500 mL de tampão carbonato (pH 9) dissolveu-se, em 500 mL de água destilada, 4,085 g de hidrogenocarbonato de sódio e 0,27g de carbonato de sódio. Após esta dissolução é necessário confirmar o pH e ajustar se necessário.

Para a preparação de 25 mL da solução de fenolftaleína dissolveu-se em 25 mL de etanol (a 95%) 0,02388 g fenolftaleína. Após esta preparação, adicionou-se 4 mL da solução etanólica de fenolftaleína a 40 mL da solução tampão de carbonato. Por fim, fez-se o volume resultante até 200 mL com água Millipore.

Para a realização dos testes de absorvância adicionou-se 5 mL desta solução tamponada de fenolftaleína a 1 mL de H₂O Millipore, solução à qual se adiciona o substrato a analisar.

4 – Resultados experimentais e desenvolvimento dos métodos de quantificação

4.1 – Desenvolvimento do método de deteção com fenolftaleína

4.1.1 – Determinação da concentração de fenolftaleína adequada para os estudos.

Como referido na introdução, a capacidade das ciclodextrinas de formarem complexos de inclusão com variados compostos pode ser explorada para quantificar a quantidade de ciclodextrinas à superfície de um substrato.

O composto escolhido para este propósito foi a fenolftaleína. A fenolftaleína é utilizada como indicador de pH, variando a sua cor desde incolor em meio ácido, para rosa em meio alcalino. Devido a este facto, foi necessário o uso de um meio tamponado, para garantir que a alteração na absorvidade não seria devido a alterações no pH do meio.

Foi efetuada uma reta de calibração com fenolftaleína, para se determinar a concentração a usar deste composto, garantindo que ficasse dentro da zona de linearidade de Lambert-Beer. Como se pode ver na Figura 9, o comprimento de onda em que a absorvância é máxima para esta solução tamponada de fenolftaleína é a 550 nm. A Figura 9 evidencia ainda o facto de a concentração da solução de fenolftaleína utilizada ser a adequada, visto o valor do pico máximo de absorvância se encontrar dentro da zona de linearidade de Lambert-Beer, como já referido anteriormente. A concentração da solução de fenolftaleína utilizada foi de $5,00 \times 10^{-5}$ mol/L.

Como a absorvância obtida ao comprimento de onda máximo para esta solução se encontra dentro da zona de linearidade de Lambert-Beer, não foram necessários realizar mais ensaios para determinar a concentração da solução de fenolftaleína a utilizar.

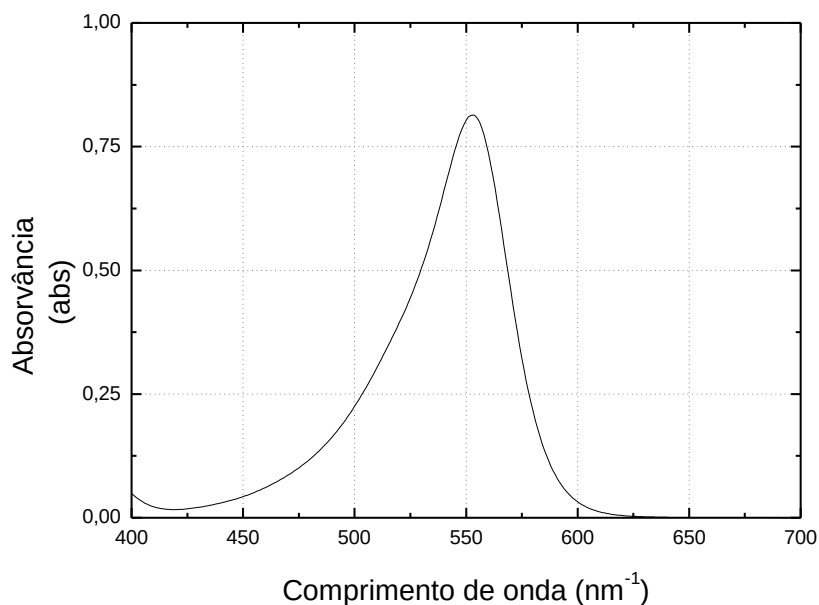


Figura 9: Espectro de espectroscopia de UV-VIS para a solução tamponada de fenolftaleína.

A Figura 10 representa o conceito proposto como base para o desenvolvimento do método. Na Figura 10 a) é apresentada a solução inicial de controlo sem ciclodextrinas, e como descrito na literatura apresentam uma coloração rosa em pH básico [71]. Na Figura 10 b) é apresentada a solução controlo com a adição das ciclodextrinas. Esta imagem evidencia o desaparecimento da coloração rosa. O pH foi medido antes e após a adição das ciclodextrinas de forma a garantir que a mudança de coloração não era devida a uma alteração de pH. O pH da solução não variou mais do que 0,03 unidades.



Figura 10: Imagem exemplificativa do conceito de formação de complexos de inclusão por parte das ciclodextrinas com a fenolftaleína. a) soluções controlo sem β -CDs; b) solução controlo apos a adição de β -CDs.

De forma a quantificar a quantidade de ciclodextrinas necessária para complexar com a fenolftaleína disponível, foram preparadas amostras contendo quantidades de ciclodextrinas crescentes em solução e adicionado um volume constante da solução de fenolftaleína.

Estudos reportados na literatura, atestam uma boa linearidade do ajuste dos valores de $[1/(\Delta A_{\lambda\beta\text{-CDs}})]$ em função de $1/[\beta\text{-CD}]$, ao comprimento de onda máximo de absorção do complexo β -ciclodextrinas: fenolftaleína (1:1), 550 nm. Na expressão anterior, $\Delta A_{\lambda\beta\text{-CDs}}$ é igual a $A_{\lambda 0} - A_{\lambda}$, onde $A_{\lambda 0}$ e A_{λ} representam a absorvância do controlo (amostra de fenolftaleína sem β -ciclodextrinas), e da amostra com β -ciclodextrinas, respetivamente e $[\beta\text{-CD}]$ representa a concentração de β -ciclodextrinas (mg^{-1}).

Na Figura 11 está representado graficamente o inverso da variação do delta de absorvância, em função do inverso da quantidade de ciclodextrinas. Como se pode observar, consegue-se um ajuste linear com um coeficiente de correlação linear (R^2) de 0,987.

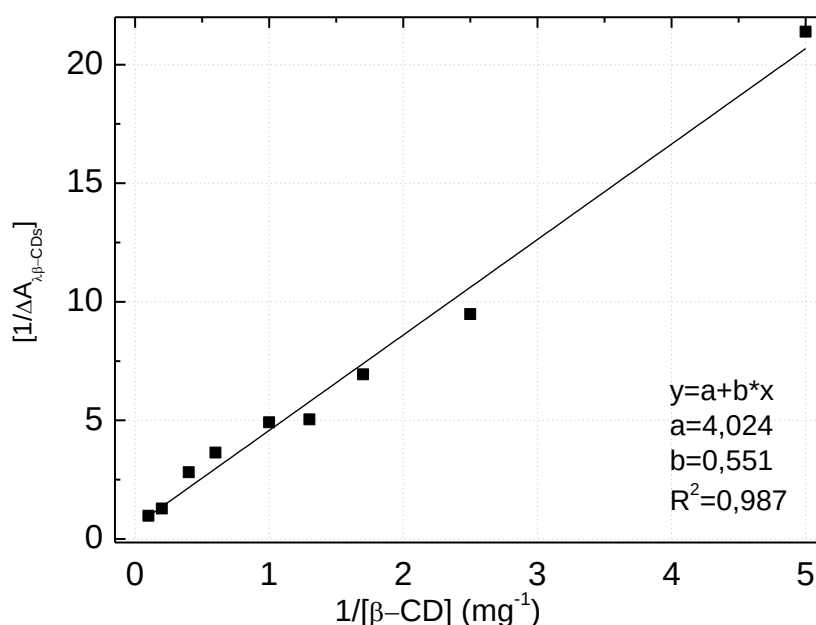


Figura 11: Representação gráfica do inverso da diferença de absorvância em função do inverso da quantidade de ciclodextrinas em solução.

4.1.2 – Desenvolvimento do método com substrato polimérico controle e aditivado

A Figura 12, a seguir, mostra a variação da absorvância, $\Delta A_{\lambda\text{TPU}}$, da solução de fenolftaleína em função da percentagem mássica de CDs adicionada à solução de laca de poliuretano utilizada, e para diferentes tempos de contato. As determinações da absorvância foram feitas a 550 nm, correspondente ao comprimento de onda de absorção máxima da fenolftaleína, determinada anteriormente. Como se pode ver na Figura 12, a variação da absorvância aumenta com o aumento da percentagem mássica de ciclodextrinas, como seria de esperar, atendendo à enorme facilidade de formação de complexos de inclusão das ciclodextrinas com a fenolftaleína. Este comportamento verifica-se também quando se aumenta o tempo de contacto traduzido em tempo necessário para a formação do complexo de inclusão.

A figura 12 mostra ainda que a presença do próprio substrato – controle - (% CDs igual a zero) também origina uma diminuição da absorvância da solução de fenolftaleína em relação à solução isenta de CDs e substrato. Provavelmente o

substrato adsorve ou reage com a fenolftaleína. Nota-se que para concentrações de ciclodextrinas baixas, o $\Delta A_{\lambda_{TPU}}$ é menor do que o controlo, podendo dever-se ao facto de as ciclodextrinas estarem adsorvidas em posições na estrutura tridimensional do substrato em que a fenolftaleína poderia igualmente ser adsorvida. Esta hipótese parece ser provada pelo facto da $\Delta A_{\lambda_{TPU}}$ aumentar com o gradual aumento da percentagem mássica de ciclodextrinas na formulação, atingindo o máximo quando a concentração de ciclodextrinas na formulação é máxima.

Os valores apresentados no gráfico são o valor médio de três determinações analíticas (réplicas). A reprodutibilidade apresentada pelo método analítico utilizado, mostra que o método é robusto e pode ser utilizado para quantificar as ciclodextrinas na superfície polimérica utilizada. No eixo das ordenadas, a legenda $\Delta A_{\lambda_{TPU}}$ diz respeito ao $A_{\lambda_{0TPU}} - A_{\lambda_{TPU}}$, em que o $A_{\lambda_{0TPU}}$ diz respeito ao valor da absorvância obtido para a solução em que se colocou uma amostra de substrato com revestimento de TPU sem ciclodextrinas, e $A_{\lambda_{TPU}}$ representa o valor de absorvância obtido para a solução em que se colocou uma amostra de substrato com revestimento de TPU com uma determinada percentagem mássica de ciclodextrinas.

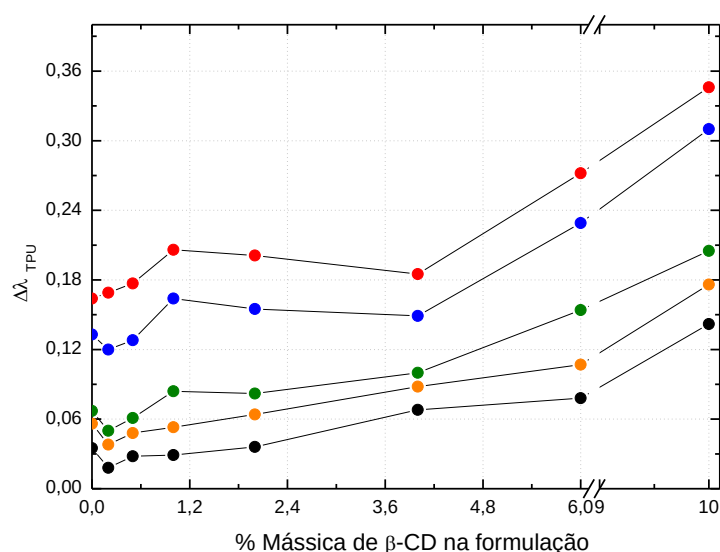


Figura 12: Variação da absorvância com a % mássica de CDs, para vários tempos de formação de complexos: a **preto** tempo zero; a **laranja** tempo=35 min; a **verde** tempo=90 min; a **azul** tempo=18h; a **vermelho** tempo=72 h.

Na Tabela 8 são apresentados os valores correspondentes às diferenças entre as variações de absorvância a tempos diferentes para a mesma concentração e as variações de absorvância para o tempo inicial (tempo = 0), isto é $\Delta (\Delta A_{\lambda_{TPU} t}) = \Delta (\Delta A_{\lambda_{TPU} t=x} - \Delta A_{\lambda_{TPU} t=0})$, onde $\Delta A_{\lambda_{TPU} t=0}$ corresponde à variação de absorvância obtida entre o substrato contendo o revestimento de TPU e a solução de fenolftaleína no tempo 0 e onde $\Delta A_{\lambda_{TPU} t=x}$ corresponde à variação de absorvância obtida entre o substrato contendo o revestimento de TPU e a solução de fenolftaleína a diferentes tempos de contacto entre a fenolftaleína e os substratos revestidos com laca de TPU.

Como se pode ver na Tabela 8, os valores diminuem com o aumento do tempo de contacto, sugerindo assim uma complexação com perda gradual da quantidade complexada ao longo do tempo. Estes resultados encontram-se de acordo com o esperado, tendo em conta que os fenómenos de complexação de moléculas com ciclodextrinas serem considerados como fenómenos rápidos, ou quase imediatos em alguns casos. Apesar de apresentarem uma velocidade de reação pontual rápida, vemos que neste processo cerca de 95-96% da quantidade total de fenolftaleína foi adsorvido ao fim de cerca de 90 minutos. Este resultado mostra que o substrato absorve de forma gradual e continuada a fenolftaleína. Igual comportamento foi verificado para tempos de contacto elevados (3 dias), em que o pH da solução não sofreu alteração após 3 dias em equilíbrio com o substrato.

Tabela 8: $\Delta(\Delta A_{\lambda_{TPU t}}) = \Delta(\Delta A_{\lambda_{TPU t=x}} - \Delta A_{\lambda_{TPU t=0}}) / \text{min}$

% mássica β -CDs	$\Delta(\Delta A_{\lambda_{TPU t=x}} - \Delta A_{\lambda_{TPU t=0}}) / t \text{ (min)} (x10^4)$			
	35 min	90 min	18 h	72 h
0	6	2	0,67	0,1
0,2	5,71	2,18	0,71	0,15
0,5	5,71	2,36	0,68	0,15
1	6,86	5,64	0,81	0,13
2	8	3,27	0,74	0,14
4	5,71	2,18	0,49	0,11
6	8,29	8,55	0,76	0,13
10	9,71	5,27	1,06	0,11

A Tabela 9 apresenta os valores obtidos após alguns dos testes de envelhecimento e desempenho efetuados na indústria produtora dos substratos.

Tabela 9: Resultados obtidos com o método da fenolftaleína após os diversos testes de envelhecimento e desempenho

		$\Delta(\Delta\lambda_{\text{TPU}\lambda}) = \Delta\lambda_{\text{TPU cont}} - \Delta\lambda_{\text{TPU}}$			
	% β -CDs	0 min	35 min	90 min	180 min
Calibração	0,2	-0,017	0,003	0,015	
	0,5	-0,007	0,013	0,026	
	1	-0,006	0,018	0,049	
	2	0,001	0,029	0,047	
	4	0,033	0,053	0,065	
	6	0,043	0,072	0,119	
	10	0,068	0,154	0,2	
Limpeza manual	0,2	0,0107	0,0141	0,017	0,045
	1	0	0,018	0,024	0,037
	2	-0,001	0,02	0,014	0,019
"Soiling"	0,2	0,005	0,003	0,008	0,007
	1	0,005	0,002	0,007	0,008
	2	0,009	-0,005	0,005	0,006
UV	0,2	0	0,014	0,022	0,031
	1	0	0,008	0,017	0,03
	2	0,002	0,003	0,007	0,009
Abrasão	0,2	0,005	0,01	0,007	0,009
	1	-0,001	0,006	0,01	0,011
	2	0,01	0,01	0,011	0,012
Termoformação	0,2	-0,01	-0,011	-0,013	-0,015
	1			n.d*	
	2	-0,004	-0,012	-0,016	-0,024

- n.d – Não detetado. não foi possível obter estes valores.

Onde $\Delta\lambda_{\text{TPU cont}} = \lambda_0 - \lambda_{\text{TPU}}$ e $\Delta\lambda_{\text{TPU}} = \lambda_0 - \lambda_{\text{TPU}}$, e que traduz a diferença de absorbância da solução inicial de fenolftaleína para a solução em que se colocou o substrato controlo.

Os valores apresentados indicam uma tendência de crescimento da diferença $\Delta(\Delta\lambda_{\text{TPU}\lambda})$ com o aumento do tempo para as diferentes amostras. Estes valores, quando comparados com os respetivos controlos, são menores e isto deve-se ao facto dos processos de envelhecimento e de desgaste terem

provocado alterações na superfície do substrato, podendo mesmo, em certos testes, terem removido a camada que continha as ciclodextrinas.

Olhando para os valores obtidos para as diferentes concentrações a um mesmo tempo de análise, ou seja, o tempo durante o qual o substrato esteve em contato com a solução de fenolftaleína, verificamos que os valores da diferença dos Δ 's para a solução controlo não aumentam com o aumento da quantidade de ciclodextrinas, em alguns casos, este comportamento pode dever-se ao facto de os testes efetuados terem provocado alterações no substrato que favoreçam o equilíbrio independentemente da quantidade de ciclodextrinas. As diferenças são muito pequenas pelo que estas diferenças encontram-se todas dentro do erro associado à medição.

É de salientar que os valores de $\Delta(\Delta A_{\lambda_{TPU\lambda}})$ são menores após os testes de termoformação e de abrasão, devido a natureza dos testes e ao seu efeito sobre o substrato, nomeadamente uma remoção da laca de poliuretano contendo as ciclodextrinas.

Dos resultados apresentados anteriormente podemos inferir sobre a eficácia do método desenvolvido e sobre a sua sensibilidade e reprodutibilidade. Podemos concluir que o método proposto apresenta reprodutibilidade e uma sensibilidade aceitável (não estando o valor medido na mesma ordem de grandeza do erro do equipamento). O mesmo não se pode concluir das medições efetuadas após os testes de envelhecimento e desempenho.

4.2- Desenvolvimento do método de detecção de ciclodextrinas com recurso a GC acoplada com “headspace”

A técnica de cromatografia gasosa acoplada com “headspace” estático tem sido largamente utilizada para estudar os mecanismos de libertação de aromas e compostos orgânicos voláteis, com a vantagem de poder quantificar estas quantidades.

Devido à necessidade de se conseguir caracterizar a capacidade de absorção de aromas, sejam eles agradáveis ou não, por parte das ciclodextrinas do meio ambiente, uma estratégia experimental foi delineada.

Começou-se pela escolha de um aroma que deverá obedecer a determinadas características, nomeadamente, ter uma composição simples, ser puro, ser bastante volátil e estar referenciado como um aroma passível de complexar com as β -ciclodextrinas. Após uma lista de vários aromas candidatos, escolheu-se o limoneno, por ser aquele que reunia as características mais adequadas.

Uma das dificuldades encontradas neste procedimento foi a de garantir que todo o limoneno se encontrava na fase gasosa, de forma a simular o mais próximo possível uma situação em que o substrato estará exposto a uma atmosfera com diferentes aromas. Para isso um esquema experimental foi projetado, como se apresenta na Figura 13, a seguir:

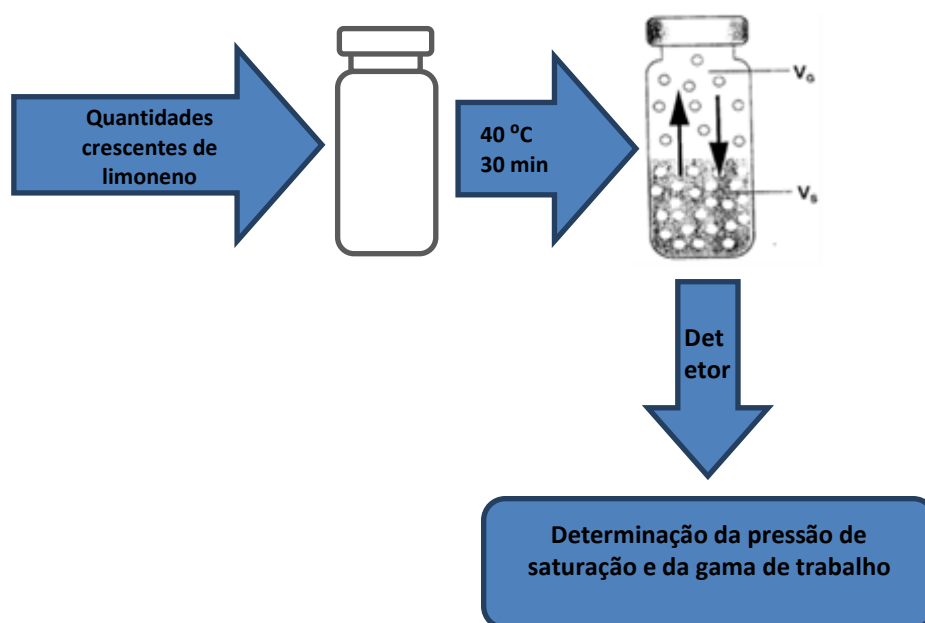


Figura 13: Esquema ilustrativo do percurso do aroma até à injeção na coluna cromatográfica.

Como se pode ver pela Figura 13, o procedimento idealizado consiste em colocar uma certa quantidade do líquido puro no vial, elevar a temperatura até 40°C e garantir que todo o líquido passa para a fase gasosa, para isso deixou-se o equilíbrio ocorrer durante 30 minutos.

Apesar de ser um princípio básico, esta execução experimental é sujeita a uma grande quantidade de erros sistemáticos ou acidentais passíveis de ocorrer. Uma das limitações e dificuldades prende-se com as quantidades reduzidas de líquido a medir, devido a este líquido possuir uma baixa pressão de vapor 0,002028 atm [72].

Considerando um comportamento ideal para o limoneno, podemos considerar que a pressão interna de um vial, contendo limoneno no estado gasoso, à uma determinada temperatura, será devida à pressão de vapor desse aroma. Tendo por base esta aproximação e a equação dos gases ideais, pode-se calcular a quantidade de moles necessárias, ou máximas, que se podem volatilizar num vial de 22,3 cm³ (volume interno dos vials usados no estudo), a temperatura 40°C. Posteriormente pode-se calcular o volume correspondente de limoneno, utilizando o valor da massa volúmica do limoneno puro.

O valor estimado para o qual a pressão interna no vial supera a pressão de saturação, é cerca de 0,29 μL de limoneno puro. Para comprovar este valor, procedeu-se a realização de ensaios com volumes de líquidos inferiores ao valor determinado teoricamente. Após calculada a quantidade de líquido a utilizar, procedeu-se à determinação da quantidade de líquido que se podia colocar no vial, de forma a não se ter aroma no estado líquido.

Como se pode ver pelos valores apresentados, os valores da área dos picos aumentam linearmente com o aumento da quantidade de líquido colocada no vial, até à quantidade em que o líquido ao vaporizar faz com que a pressão ultrapasse a pressão de vaporização, e a partir dessa quantidade de líquido passa a existir um equilíbrio líquido-vapor no interior do vial, facto que é reflectido na forma como ocorre o aumento da área dos picos cromatográficos em função da quantidade de limoneno utilizada.

Na Figura 14 representa-se graficamente os dados obtidos da área do sinal em função da quantidade de limoneno no interior do vial. Como se pode ver no gráfico, obtêm-se duas zonas distintas, com declives diferentes.

Numa primeira zona, traçada a vermelho, vê-se o aumento da área do sinal, com o aumento da quantidade de líquido puro. Esta linearidade mantém-se até se ultrapassar a quantidade máxima em que o líquido puro evapora na totalidade. Após esta quantidade passou-se a ter um equilíbrio líquido-vapor no interior do vial representado a verde na Figura 14.

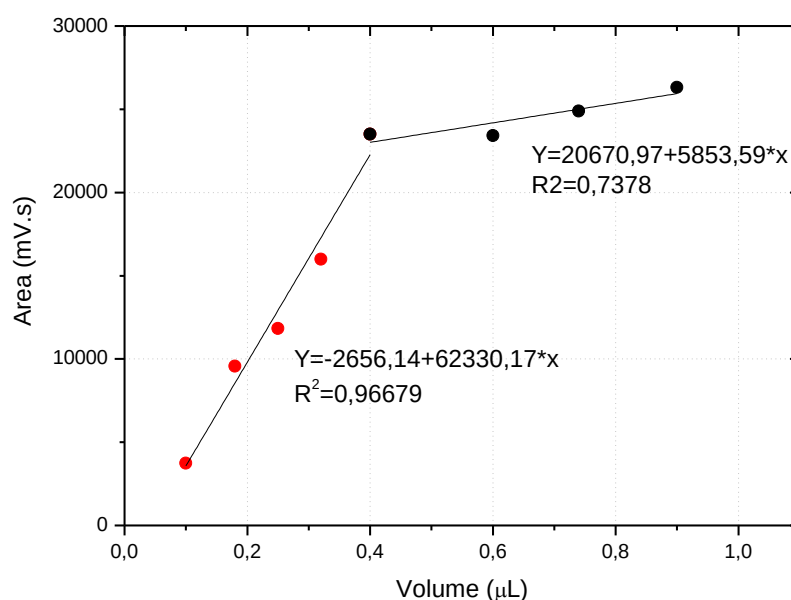


Figura 14: Representação gráfica da variação da área do sinal em função da quantidade de líquido adicionado, a preto os valores após o equilíbrio líquido-vapor; a vermelho os valores antes do equilíbrio líquido-vapor.

A partir da intercepção das duas rectas da figura 14, podemos calcular experimentalmente o volume máximo de limoneno líquido puro (0,37 μL), que se pode introduzir nos vials por forma a obter a máxima pressão de aroma gasoso.

Os substratos foram colocados no vial de forma a evitar o contacto destes com o líquido puro do aroma. Para isso cortaram-se tiras de substrato com aproximadamente 0,5 g, que foram colocadas no vial, a cerca de 1 cm acima da base do vial. Este distanciamento foi possível devido à tensão que o substrato exercia nas paredes do vial, permitindo assim a sua fixação às paredes.

Após o primeiro ensaio, com um tempo de termostatização de 24 horas (tempo escolhido para se atingir o equilíbrio de adsorção), constatou-se que o substrato possuía capacidade de absorção/adsorção do aroma na fase gasosa, como se pode ver pelos valores apresentados na tabela seguinte. Constatou-se que seriam necessários cerca de 125 mL para se estabelecer o equilíbrio líquido-vapor-substrato, como se pode ver nos valores apresentados na Tabela 10.

Apesar de ser um resultado espetável, não se esperava que o substrato possuísse uma capacidade tão grande de absorção, como se irá constatar com a análise das isotérmicas de Langmuir e Freundlich.

Tabela 10: Áreas obtidas para massas semelhantes de substrato e volumes diferentes de limoneno.

Massa substrato (g)	V líquido (μL)	Área (mV x s)	m _i Limoneno (g)	Área/massa (mV x s/g)
0,534	0,2	34	0,0017	63,67
0,5281	0,7	198	0,0060	374,93
0,4085	1,2	346,29	0,0102	847,71
0,4679	1,7	558,95	0,0145	1194,6
0,5146	2,2	543,66	0,0188	1056,5
0,4881	2,7	715,97	0,0231	1466,9
0,509	4	1067	0,0342	2096,3
0,4506	8	2636,5	0,0683	5851,2
0,4491	12	4118,4	0,1025	9170,3
0,4734	20	6083,7	0,1708	12851
0,5037	60	10386	0,5124	20620
0,4272	100	18387	0,8540	43041
0,4531	125	23368	1,0675	51574
0,4154	150	25244	1,2810	60770
0,511	200	22157	1,708	43361

Devido a esta observação, foi necessário proceder a uma calibração tendo como objetivo determinar a quantidade máxima de aroma que o substrato era capaz de absorver por unidade de massa.

Como se pode ver na Figura 15 apresentado abaixo, após cerca de 125 μL o substrato fica saturado, apresentando valores de área da mesma ordem de grandeza dos valores obtidos para a saturação do vapor.

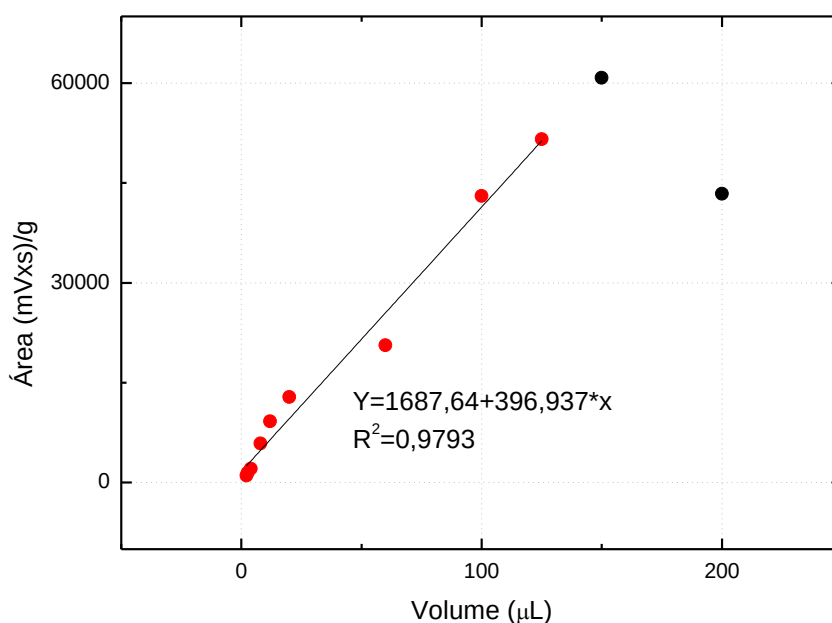


Figura 15: Representação gráfica das áreas obtidas em função do aumento da quantidade de limoneno na presença do substrato controlo, a **preto** os valores obtidos após a saturação do equilíbrio líquido – vapor; a **vermelho** antes da saturação do equilíbrio líquido – vapor.

4.2.1 Avaliação do grau de ajuste dos resultados experimentais às isotérmicas Langmuir e Freundlich. Aproximação dos resultados experimentais a isotérmicas

Após a obtenção dos resultados anteriores procedeu-se a um ajuste dos dados experimentais às funções correspondentes às isotérmicas de adsorção. Estes modelos foram utilizados com o intuito de se determinar a constante de afinidade e a constante de equilíbrio para o equilíbrio aroma (g) – substrato.

Para tal, algumas simplificações foram utilizadas de forma a permitir calcular os parâmetros das equações. Assumiu-se que toda a quantidade de líquido se encontraria na fase gasosa, e que a diferença entre a quantidade total, e a quantidade determinada através da reta de calibração realizada anteriormente, seria a quantidade adsorvida pelo substrato.

O esquema seguinte apresenta de forma simplificada as aproximações descritas anteriormente.

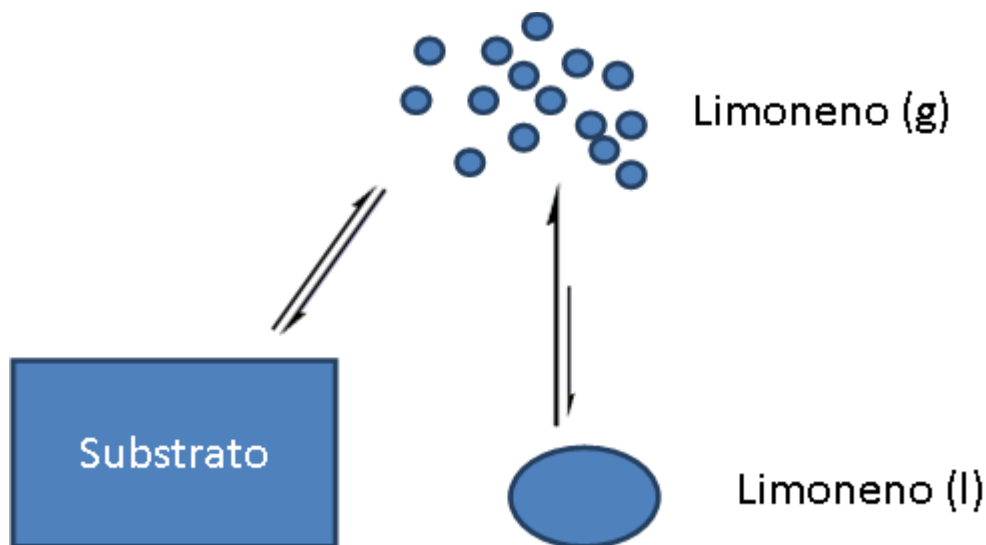


Figura 16: Esquema representativo das simplificações assumidas para a análise dos dados com as isotérmicas de adsorção.

A quantidade em equilíbrio foi calculada de acordo com a equação obtida através do ajuste linear ($Y = -2656,14 + 62330,17X$) dos dados apresentados na Figura 14.

Da equação obtida pelo ajuste linear pode-se calcular a quantidade de limoneno no estado gasoso, utilizando para isso a área obtida para as diferentes quantidades de limoneno ($q_e = \frac{A+2656,17}{62330,17}$), esta quantidade irá traduzir a quantidade de limoneno que se encontra em equilíbrio. Esta quantidade relacionada com a quantidade inicial, permite determinar a quantidade de limoneno adsorvida pelo substrato, $q_{ads} = q_{total} - q_e$. A quantidade total pode ser calculada pelo uso da equação apresentada a seguir:

$$q_{ads} = \frac{V \times d}{M} - \frac{A+2656,17}{62330,17} \quad \text{Equação 2}$$

As equações anteriores permitiram calcular determinadas quantidades e grandezas que serão utilizadas posteriormente quando se fizer a aproximação dos resultados experimentais às isotérmicas de adsorção.

Tabela 11: Quantidades utilizadas posteriormente na aproximação dos resultados experimentais às isotérmicas de adsorção

m substrato(g)	V líquido (μL)	Área (mVxs)	q total (mol) X 10 ⁴	q _e (mol)x10 ⁴	q _{ads} (mol) X 10 ⁴	m _{ads} (g) *10 ⁴	q _{ads} / m _{subs} (mol/g) X 10 ⁴
0,5340	0,20	34,00	0,013	0,0030	0,009	1,30	0,02
0,5281	0,70	198,00	0,044	0,0030	0,041	5,50	0,08
0,4085	1,20	346,29	0,075	0,0030	0,072	9,80	0,20
0,4679	1,70	558,95	0,107	0,0040	0,103	14,00	0,20
0,5146	2,20	543,66	0,138	0,0040	0,135	18,30	0,30
0,4881	2,70	715,97	0,170	0,0040	0,166	22,50	0,30
0,5090	4,00	1067,01	0,251	0,0040	0,247	33,60	0,50
0,4506	8,00	2636,54	0,502	0,0060	0,497	67,50	1,10
0,4491	12,00	4118,37	0,754	0,0070	0,746	101,50	1,70
0,4734	20,00	6083,67	1,256	0,0090	1,247	169,60	2,60
0,5037	60,00	10386,22	3,768	0,0130	3,754	510,60	7,50
0,4272	100,00	18387,00	6,279	0,0210	6,258	851,10	14,60
0,4531	125,00	23368,00	7,849	0,0260	7,823	1063,90	17,30
0,4154	150,00	25243,95	9,419	0,0280	9,391	1277,10	22,60
0,5110	200,00	23546,23	12,559	0,0270	12,532	1704,40	24,50

4.2.1.1-Isotérmica de Langmuir:

A isotérmica de Langmuir, como já referido na introdução, é a isotérmica mais simples, que apresenta o maior número de simplificações, mas que se ajusta bastante bem em muitos casos, a resultados experimentais. É dada pela equação:

$$N = \frac{KN_mC}{(1+KC)}$$

Equação 3

Onde N corresponde à massa de gás adsorvido por unidade de massa de sólido, K indica a energia de ligação e N_m é a capacidade máxima de adsorção e C é a concentração do soluto (limoneno) em equilíbrio no substrato. Invertendo os termos da equação, temos:

$$\frac{1}{N} = \frac{1}{KN_m C} + \frac{1}{N_m} \quad \text{Equação 4}$$

Multiplicando a equação 8 por C , tem-se a forma linearizada para a equação de Langmuir:

$$\frac{C}{N} = \frac{C}{N_m} + \frac{1}{KN_m} \quad \text{Equação 5}$$

Esta isotérmica estabelece uma relação entre grau de ocupação e a pressão ou concentração do soluto adsorvido a uma determinada temperatura. Este modelo supõe que a adsorção é feita em monocamada e que todas as posições são energeticamente iguais, não sendo menos provável a sua ocupação devido à ocupação de um lugar vizinho.

Na Tabela 12 apresentam-se os valores calculados para cada volume necessários para a aproximação à isotérmica de Langmuir.

Tabela 12: Valores utilizados na aproximação dos resultados experimentais à isotérmica de Langmuir

V (μL)	n limoneno (mol) x10 ⁵	limoneno _{eq} (mol.dm ⁻³)	n(limoneno) ads. (mol) x10 ³	Nx10 ³	1/N	1/C
0,2	0,31	0,000140	0,01	0,02	56610,83	7133,7
0,7	0,33	0,000148	0,04	0,08	12986,32	6778,1
1,2	0,34	0,000154	0,07	0,18	5680,35	6485,8
1,7	0,37	0,000164	0,10	0,22	4538,35	6108,0
2,2	0,36	0,000163	0,14	0,26	3825,70	6133,7
2,7	0,38	0,000171	0,17	0,34	2945,04	5856,1
4	0,42	0,000187	0,25	0,49	2060,58	5361,9
8	0,57	0,000257	0,50	1,10	907,33	3892,8
12	0,72	0,000323	0,75	1,66	601,75	3092,8
20	0,92	0,000411	1,25	2,63	379,72	2430,3
60	1,35	0,000604	3,75	7,45	134,17	1654,5
100	2,15	0,000963	6,26	14,65	68,27	1038,2
125	2,65	0,001187	7,82	17,27	57,92	842,8
150	2,83	0,001271	9,39	22,61	44,23	787,0
200	2,66	0,001195	12,53	24,52	40,78	837,1

Como se pode ver no gráfico apresentado na Figura 17, obtém-se uma zona de linearidade para zonas de pressões mais elevadas, estando esta evidência de acordo com o esperado, tendo em conta o facto de esta isotérmica não ser aplicada em zonas de pressões muito baixas. Da análise do gráfico seguinte pode-se inferir sobre o ajuste dos dados experimentais à isotérmica de Langmuir. Este perfil de isotérmica, diz-se que é um ajuste anti-Langmuir, quando o comportamento apresentado é contrário ao proposto pela isotérmica de Langmuir, isto é, as primeiras moléculas adsorvidas tornam a adsorção mais favorável, resultando num aumento da absorção por parte do sólido com o aumento da concentração na fase gasosa.

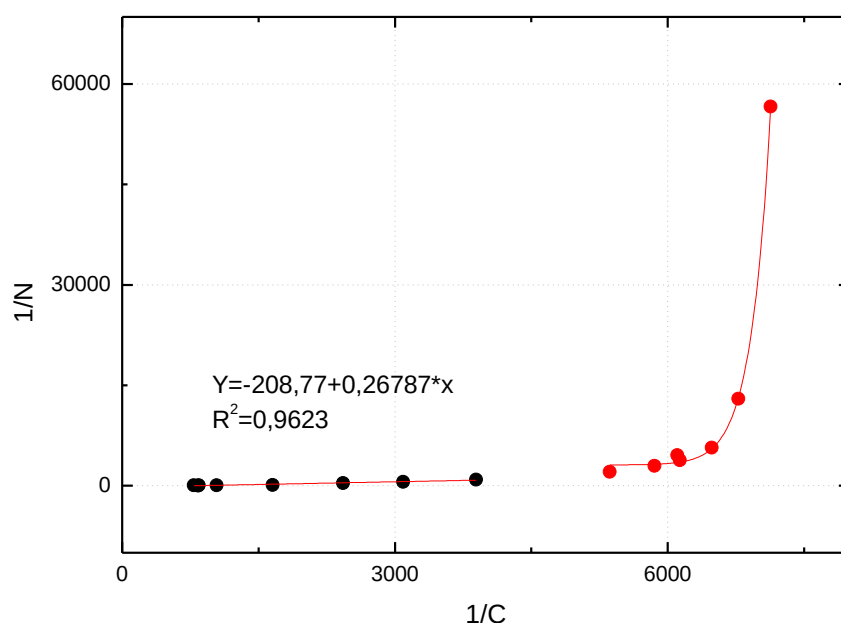


Figura 17: Representação gráfica do ajuste dos dados experimentais obtidos ao modelo da isotérmica de Langmuir., a **preto** pontos obtidos para pressões elevadas; a **vermelho** para pressões baixas

4.2.1.2-Isotérmica de Freundlich

A equação de Freundlich é a seguinte:

$$q = k_f C^{1/n} \quad \text{Equação 6}$$

Onde n indica, qualitativamente, a reatividade dos sítios energéticos e k_f pode sugerir a adsorção do soluto no substrato, designado por constante de afinidade. Esta isotérmica é muitas vezes utilizada na forma logarítmica, por possibilitar o ajuste linear dos dados. Aplicando os logaritmos à equação 6 temos:

$$\ln q = \ln k_f + \frac{1}{n} \ln C \quad \text{Equação 7}$$

Representando-se graficamente o $\ln q$ em função $\ln C$, obtêm-se os valores de k_f e n , onde $\log k_f$ é a intersecção com o eixo dos ordenadas e $1/n$ é o declive da reta.

Na Tabela 13 encontram-se calculados os valores dos coeficientes necessários a aplicação da isotérmica de Freundlich.

Tabela 13: Valores utilizados na aproximação dos resultados experimentais à isotérmica de Freundlich

V (μL)	X m (limoneno) ads. / g	W m (substrato) / g	$\ln(X/W)$	n limoneno eq $\times 10^5$	$ \text{limoneno} _{\text{eq}}$ /mol.dm ⁻³	$\ln(\text{limoneno} _{\text{eq}})$
0,2	0,0013	0,534	-6,03	0,31	0,0031	-5,77
0,7	0,0055	0,5281	-4,56	0,33	0,0033	-5,72
1,2	0,0098	0,4085	-3,73	0,34	0,0034	-5,67
1,7	0,0140	0,4679	-3,51	0,37	0,0037	-5,61
2,2	0,0183	0,5146	-3,34	0,36	0,0036	-5,62
2,7	0,0225	0,4881	-3,08	0,38	0,0038	-5,57
4	0,0336	0,509	-2,72	0,42	0,0042	-5,48
8	0,0675	0,4506	-1,90	0,57	0,0057	-5,16
12	0,1015	0,4491	-1,49	0,72	0,0072	-4,93
20	0,1696	0,4734	-1,03	0,92	0,0092	-4,69
60	0,5106	0,5037	0,01	1,35	0,0135	-4,31
100	0,8511	0,4272	0,69	2,15	0,0215	-3,84
125	1,0639	0,4531	0,85	2,65	0,0265	-3,63
150	1,2771	0,4154	1,12	2,83	0,0283	-3,56
200	1,7044	0,511	1,20	2,66	0,0266	-3,63

No gráfico seguinte representou-se graficamente o logaritmo de X/W em função do logaritmo da concentração de limoneno em equilíbrio.

Tal como para a isotérmica de Langmuir, a isotérmica de Freundlich apresenta duas zonas de ajuste diferentes. A estas zonas correspondem coeficientes de correlação linear próximos da unidade, mas significativamente diferentes entre si, como se pode ver na Figura 18.

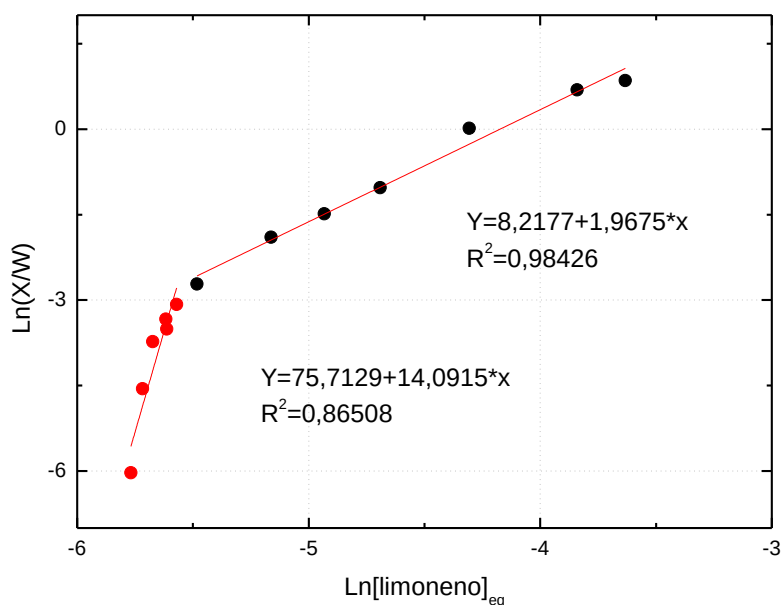


Figura 18: Ajuste dos dados experimentais à isotérmica de Freundlich, a **vermelho** para zonas de pressão baixa, a **preto** para zonas de pressão mais elevada.

Através da análise dos resultados obtidos podemos inferir sobre a afinidade do substrato para o limoneno, determinando para isso o coeficiente de afinidade.

Da análise do gráfico apresentado acima, podemos distinguir duas zonas de linearidade, sendo que apenas na zona de pressões mais elevadas se irá efetuar o cálculo do coeficiente de afinidade, devido a ser uma situação em que a quantidade de aroma se encontra mais próxima das quantidades de aromas encontradas na atmosfera.

Da linearização dos valores experimentais anteriores retira-se que:

$$Y = 8,2177 + 1,9675X$$

Equação 8

Sendo os parâmetros da equação os seguintes representados na Tabela 14:

Tabela 14: Parâmetros obtidos da linearização e respectivo parâmetro correspondente da equação de Freundlich

Parâmetro da equação de Freundlich	Parâmetro correspondente	Valor
$\ln q$	Y	
$\ln K_f$		8,2177
$1/n$		1,9675
$\ln C$	X	

Da linearização dos valores experimentais retira-se que $1/n = 1,9675$, e $n = 0,5082$.

De acordo com a literatura consultada [74], este valor (0,5082) do coeficiente de afinidade representa uma afinidade moderada entre o substrato e o soluto, neste caso o limoneno.

Após a determinação do coeficiente de afinidade para o substrato, procedeu-se de igual modo para determinar o coeficiente de afinidade para as β -ciclodextrinas.

Para esse fim foi necessário adaptar o interior do vial de forma a que ao colocar o limoneno na forma líquida este não entrasse em contacto com as ciclodextrinas. A Figura 19 esquematiza a montagem efetuada:



Figura 19: Esquema utilizado para se proceder ao estudo da interação do aroma com as ciclodextrinas.

Esta montagem foi efetuada com o intuito de se maximizar a área de contacto das ciclodextrinas com o limoneno no estado gasoso, ficando para isso as ciclodextrinas colocadas na base do vial e o limoneno no recipiente num plano superior. Deste modo garante-se que o limoneno não entra em contacto com as ciclodextrinas antes de evaporar.

Na figura seguinte é representada graficamente a área do sinal obtido em função do aumento da massa de ciclodextrinas, a um volume constante de limoneno colocado no interior do vial. Como se pode ver pela representação gráfica, as ciclodextrinas possuem capacidade de retenção do limoneno na fase gasosa. Para se quantificar esta capacidade, como já visto anteriormente para o substrato, recorreu-se a aproximação a isotérmicas, sendo que o termo comparativo será o valor do coeficiente de afinidade obtido para o substrato.

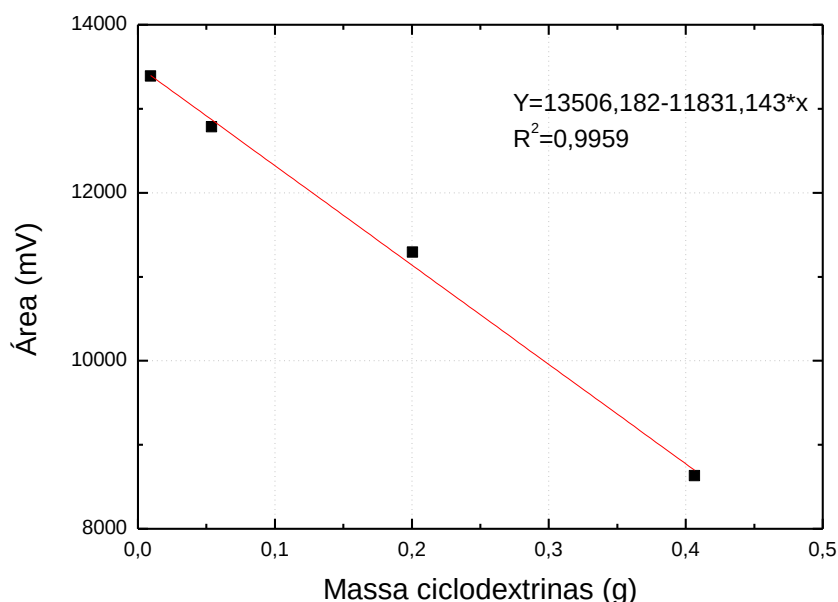


Figura 20: Representação gráfica do sinal obtido em função da quantidade de ciclodextrinas com a adição de um volume constante de aroma.

4.2.2.1-Aproximação à isotérmica de Langmuir para os resultados obtidos com ciclodextrinas

Na tabela seguinte encontram-se os valores utilizados para a aproximação dos resultados experimentais a uma isotérmica de Langmuir.

Tabela 15: Valores utilizados na aproximação à isotérmica de Langmuir dos resultados obtidos com as ciclodextrinas

V (μL)	n limoneno *10 ⁵	limoneno eq /mol.dm ⁻³	n(limoneno) ads. /mol *10 ⁵	m (substrat o) / g	N ×10 ⁵	1/N	1/C
0,3	1,65	0,0165	0,24	0,6	0,39	254686,74	60,67
0,3	1,59	0,0159	0,30	0,74	0,40	249884,91	62,98
0,3	1,44	0,0144	0,45	0,9	0,49	202033,11	69,52
0,3	1,17	0,0117	0,71	100	0,01	14054487,26	85,30

A Figura 21 apresenta a aproximação à isotérmica de Langmuir para os resultados obtidos experimentalmente para as ciclodextrinas. Como se pode ver pela representação gráfica, e como reportado, a isotérmica de Langmuir não se adapta aos resultados experimentais em zonas de baixas pressões. Devido a

isto pode-se dizer que os resultados experimentais não se ajustam à isotérmica de Langmuir.

Tal como ocorreu para o substrato, neste caso pode-se dizer que o ajuste apresenta um comportamento anti-Langmuir, indicando um aumento da adsorvidade com o aumento da concentração do limoneno na fase gasosa. Este tipo de isotérmica verifica-se muito em tipos de interações em que as moléculas de gás adsorvido, adsorvem de forma alinhada. No caso das ciclodextrinas, apesar de não se poder elucidar este comportamento, pode dever-se ao facto de as ciclodextrinas conterem alguma quantidade de moléculas de água no interior da cavidade, que serão substituídas pelas moléculas de limoneno. Este equilíbrio torna-se mais rápido com o aumento da concentração devido à quantidade de limoneno no estado gasoso ser superior e deslocar o equilíbrio no sentido que favorece a sua complexação.

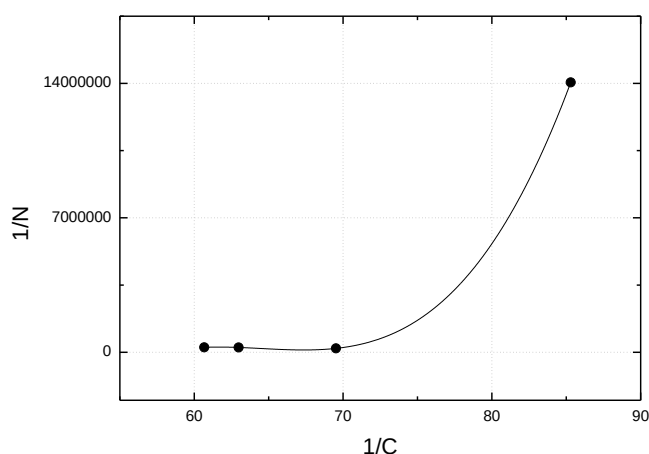


Figura 21: Representação dos resultados de acordo com a equação 8 experimentais obtidos para as ciclodextrinas.

4.2.2.2- Aproximação à isotérmica de Freundlich para os resultados obtidos com ciclodextrinas

Devido ao reduzido coeficiente de ajuste dos resultados experimentais à isotérmica de Langmuir, procedeu-se ao ajuste dos resultados experimentais ao modelo da isotérmica de Freundlich.

A tabela seguinte apresenta os valores utilizados na aproximação a isotérmica de Langmuir dos resultados obtidos anteriormente.

Tabela 16: Valores utilizados na aproximação à isotérmica de Freundlich dos resultados obtidos com as ciclodextrinas

V (μL)	X m(limoneno) ads/g × 10 ⁴	W		n limoneno eq × 10 ⁵	limoneno eq /mol.dm ⁻³	ln(limoneno eq)
		m (substrato) / g	ln(X/W)			
0,3	3,2	0,0092	-3,36	1,65	0,016	-4,11
0,3	4,03	0,0538	-4,89	1,59	0,016	-4,14
0,3	6,06	0,2006	-5,80	1,44	0,014	-4,24
0,3	9,68	0,4064	-6,04	1,17	0,012	-4,45

Na figura seguinte encontra-se a representação gráfica dos valores calculados, (apresentados na tabela anterior) para a aproximação dos resultados experimentais à isotérmica de Freundlich.

Como se pode ver pela representação gráfica, os valores não se ajustam a uma reta, pelo que a determinação do coeficiente de afinidade, neste caso pode ser falaciosa. Tendo por referência os 3 últimos pontos apresentados no gráfico pode-se ver que o declive tende a aumentar, pelo que o factor n, caso fosse determinado, seria bastante pequeno, indicando assim uma fraca capacidade de adsorção.

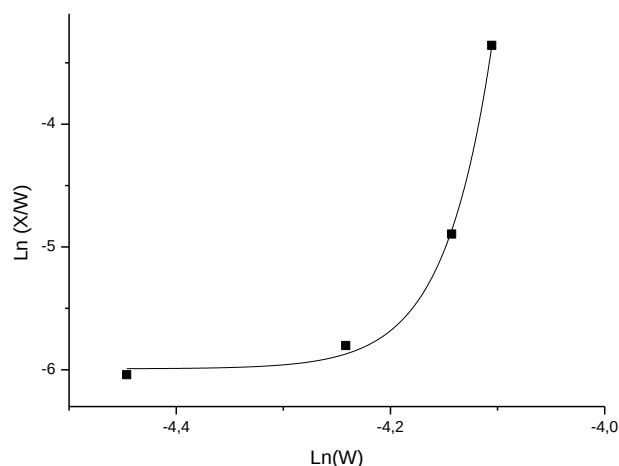


Figura 22: Representação dos resultados de acordo com a equação 11 experimentais obtidos para as ciclodextrinas.

O comportamento observado na Figura 22 pode ser inferido da análise dos valores apresentados na Tabela 16. Podemos comprovar que a capacidade de absorção por parte das ciclodextrinas é menor do que a do substrato, visto que para massas muito inferiores é atingida a saturação, e entende-se por saturação a ocupação de todas as posições possíveis para a adsorção, ou seja, a capacidade de adsorção das ciclodextrinas para o limoneno.

Este método apresenta resultados que são reprodutíveis, apesar de não se obter o desempenho esperado.

4.3- Estudo da interação das ciclodextrinas com compostos orgânicos após imobilização em substratos sólidos.

Um dos objetivos do presente trabalho era o de estudar a interação das ciclodextrinas com compostos orgânicos, após imobilização prévia nos substratos. O composto orgânico escolhido para este propósito foi a escina.

Este composto foi escolhido tendo em conta a sua estrutura e o facto de ser uma macromolécula.

Esta molécula apresenta uma zona central ligeiramente hidrofóbica (apolar), pelo que facilita a sua complexação com as ciclodextrinas. Apesar de não ser a molécula ideal de um ponto de vista estereoquímico e dimensional, alguns autores reportam a criação de complexos de inclusão com esta macromolécula.

Atualmente tem-se debatido a hipótese de considerar as ciclodextrinas como um medicamento, visto diversos autores comprovarem a criação de complexos de inclusão com lípidos e desta forma promoverem a sua remoção do organismo. Deste modo, a inclusão de macromoléculas com baixa solubilidade e com potencialidades farmacológicas é de elevado interesse de toda a comunidade científica e industrial.

A Figura 23, representa a estrutura química de uma molécula de escina.

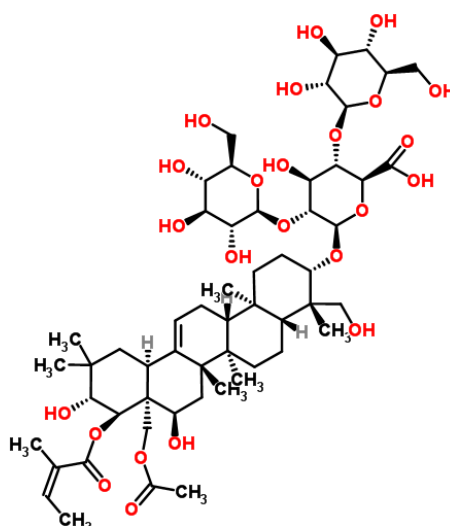


Figura 23: Estrutura química de uma molécula de escina.

4.3.1 – Testes de criação de complexos de inclusão por RMN

Uma maneira usual de avaliar a formação de complexos de inclusão, e da sua estequiometria, consiste na aplicação do método de Job. O método baseia-se na criação de um gráfico de Job, também conhecido como método de variação contínua, obtido através da representação gráfica de um sinal em função da variação da fração molar dos reagentes, mantendo a concentração molar total constante. O sinal normalmente utilizado é a absorvância da mistura, mas neste trabalho utilizou-se o sinal de RMN.

Antes de se avançar para a construção do gráfico de Job foi necessário perceber a gama de concentrações a utilizar, tal como o pico a utilizar.

Escolheu-se o pico entre 1,0 e 1,1 ppm, correspondente a um tripleto, da escina, tripleto que não se verifica nas ciclodextrinas, facilitando assim a sua interpretação [73]. O espectro de ressonância magnética nuclear não é apresentado, devido ao facto de não ser do âmbito do projeto a análise dos espectros de ressonância magnética nuclear. Após a escolha do tripleto a utilizar realizaram-se ensaios com diferentes concentrações de escina.

A mesma solução mãe de escina (3,0 g/L) foi utilizada em duas experiências RMN realizadas em dias diferentes e obtendo-se as seguintes retas de calibração para o tripleto selecionado.

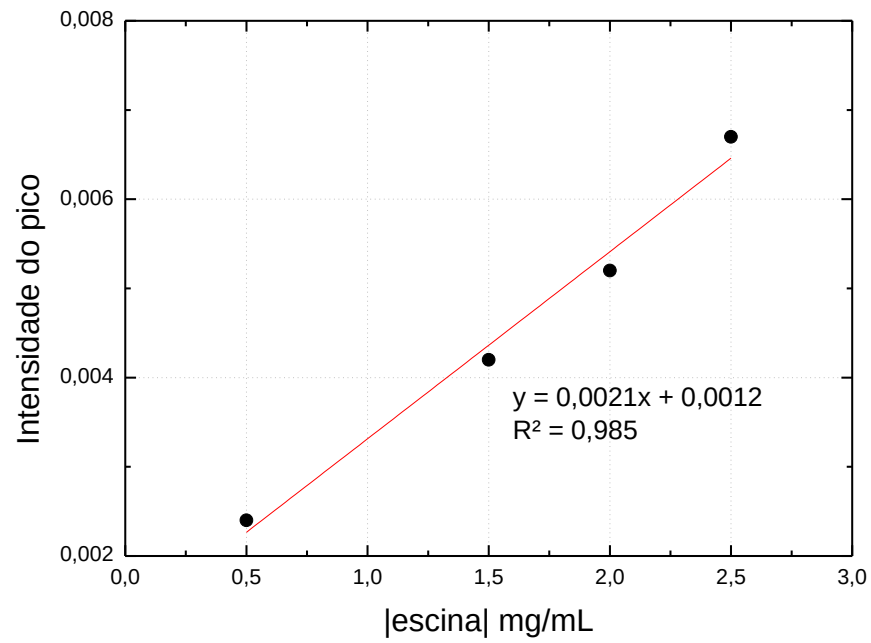


Figura 24: Representação da intensidade do sinal do tripleto em função da concentração de escina (primeiro ensaio).

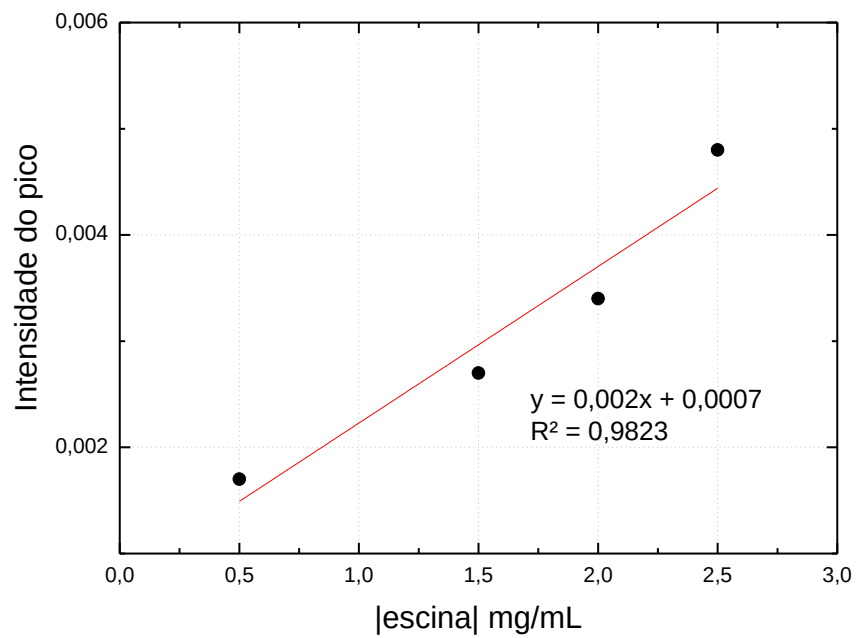


Figura 25: Representação da intensidade do sinal do tripleto em função da concentração de escina, (segundo ensaio).

Na tentativa de verificar a reprodutibilidade do ensaio, preparou-se uma nova solução mãe de escina (3,0 g/L), sendo a análise realizada nesse mesmo dia novamente a 37°C, obtendo-se a seguinte reta de calibração:

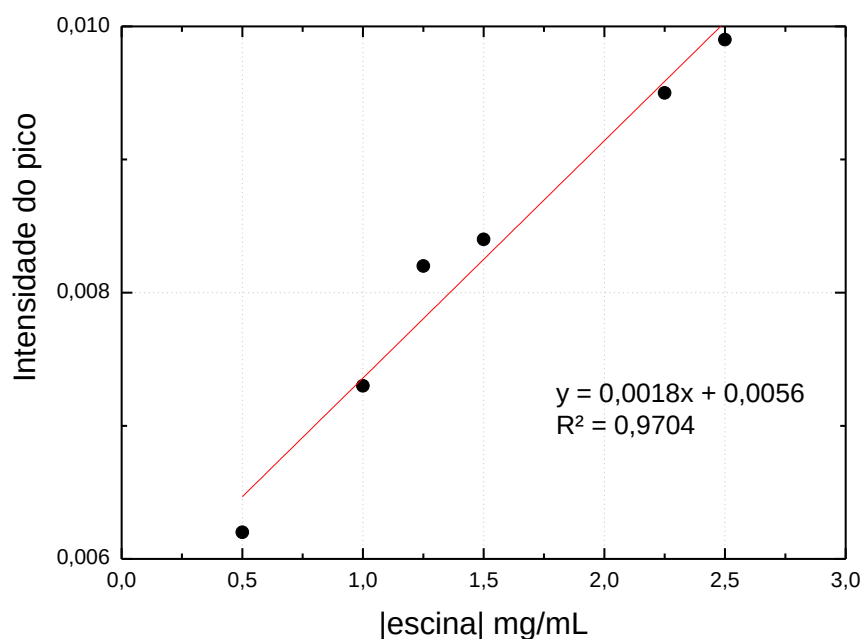


Figura 26: Representação da intensidade do sinal do tripleto em função da concentração de escina partindo de outra solução mãe.

Como se pode ver pelas representações graficas anteriores, o sinal deste tripleto apresenta linearidade em função da concentração de escina. Este facto valida a escolha do tripleto para ser utilizado durante a obtenção do gráfico de Job.

O gráfico de Job foi traçado tendo em conta o princípio descrito acima, garantindo-se que a concentração final em termos da soma dos números de moles dos dois compostos seria constante.

Foram preparadas várias soluções, fazendo variar a fração molar dos compostos na solução. A fração molar fez-se variar entre 0 e 1, e a intensidade do tripleto seleccionado foi representada em função desta fração molar, estando o gráfico obtido apresentado na figura 27. Como se pode ver, foi obtido um gráfico, com o perfil desejado, indicando uma estequiometria de cerca de 1:1, ou seja por cada molécula de ciclodextrina, uma molécula de escina forma complexo de inclusão.

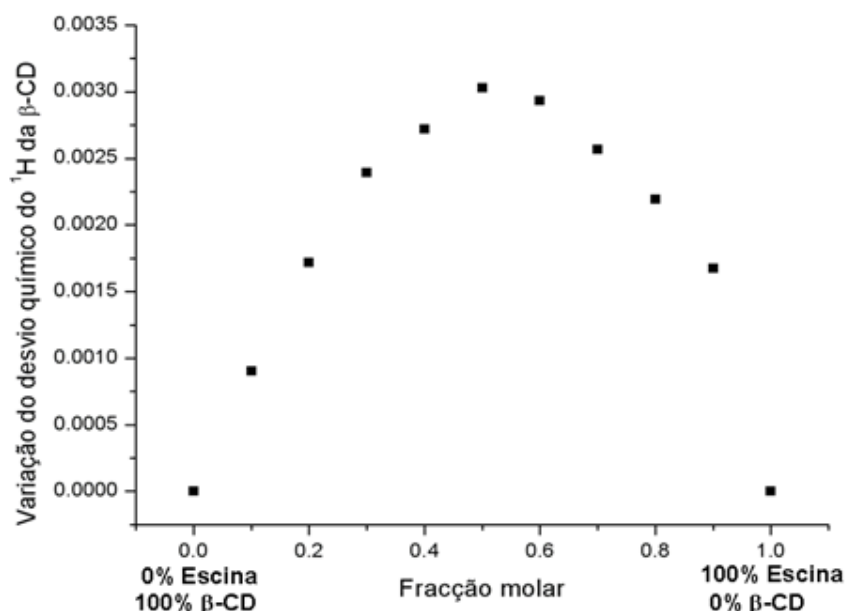


Figura 27: Gráfico de Job obtido através da variação dos desvios químicos do tripleto escolhido.

Como se pode observar pelo gráfico anterior e como descrito no primeiro capítulo do presente documento, as ciclodextrinas possuem a capacidade de criar complexos de inclusão com macromoléculas, apesar de estas não ficarem totalmente no interior da cavidade hidrofóbica.

4.4- Avaliação do desempenho dos substratos preparados após a aditivação

Uma das questões colocadas ao longo do desenvolvimento dos substratos, é a sua performance e a sua aplicabilidade em termos industriais. Para ser passível de ser utilizado numa escala industrial tem de cumprir determinados objectivos e passar determinadas normas estabelecidas pelos diversos tipos de indústrias, tal como a indústria automóvel

A Tabela 17 apresenta de forma esquemática e resumida os testes de envelhecimento e de desempenho realizados. Os testes, os critérios de validação e sua respetiva avaliação, derivam de normas internas da empresa produtora dos substratos (TMG), pelo que não é possível inferir sobre a sua efectividade nem sobre a sua exigência, nem inferir sobre a intensidade dos métodos, apenas foi possível comparar de forma qualitativa os substratos preparados com os substratos de controlo.

O teste designado por “*fogging*” tem como objetivo avaliar a quantidade de COV’s que se podem libertar durante o tempo de vida útil dos substratos, passíveis de criar opacidade em diversas superfícies. Como se pode ver pelos valores apresentados na Tabela 17 os resultados são satisfatórios e encontram-se acima do valor mínimo estabelecido como critério de aprovação.

Os testes de “*agging*”, têm todos um objetivo comum, objetivo esse que é o de avaliar, através de coordenadas de cor, a perda de qualidade dos substratos. O critério escolhido para aceitação foi a não existência de uma diferença de cor total (ΔE) superior a 1, entre o controlo e os substratos aditivados. Este sistema de avaliação de cor, e um sistema de coordenadas a tridimensional num espaço cartesiano, esta avaliação é feita tendo em conta um a avaliação das coordenadas de cor de uma determinada, que correspondem a determinação da abortividade das amostras a comprimentos de onda fixos Os testes de “*agging*” consistem em submeter os substratos a condições controladas de UV, temperatura e humidade, de acordo com o descrito no capítulo três. Os resultados obtidos após os testes de “*agging*” são apresentados na Tabela 17, e como se pode ver, os substratos com diferentes quantidades do aditivo não

diferem em mais do que uma unidade de ΔE . Nenhum dos três processos de “*agging*” provocou uma diferença superior ao critério utilizado, pelo que a inclusão das ciclodextrinas no substrato, não alterou o seu desempenho de forma significativa.

O teste de abrasão é uma medida directa da resistência do substrato ao desgaste provocado pelo contacto abrasivo a que os substratos podem estar sujeitos durante o seu período de utilização. O critério utilizado como critério de aprovação foi o de o valor obtido ser superior ou igual a 4, este valor deriva de uma norma interna da empresa que realizou os ensaios, pelo que apenas podemos fazer uma análise comparativa entre o substrato controlo e o substrato revestido. Como apresentado na Tabela 17, os substratos contendo ciclodextrinas não diferem dos substratos controlo, pelo que a inclusão de ciclodextrinas não provocou diferenças na resistência a ciclos abrasivos.

Os testes de resistência ao risco, como o próprio nome sugere, consistem em avaliar a resistência do substrato ao risco. Este teste é bastante rápido e expedito sendo o resultado expresso como OK ou NOK. Pela Tabela 17 podemos referir que a adição das ciclodextrinas não provocou alterações nesta propriedade do substrato, pelo que os resultados apresentados são iguais entre o controlo e as amostras com diferentes quantidades de β -CDs.

Já os testes de “*soiling*” e de limpeza manual consistem em avaliar o efeito de dois métodos diferentes de limpeza do substrato, com intuito de simular as limpezas efetuadas na superfície do substrato durante o período de vida do mesmo. Mais uma vez, os critérios não foram explicados, tal como não foi elucidado o significado dos valores apresentados. Em função dos valores fornecidos e compilados na Tabela 17 pode-se afirmar que a introdução das ciclodextrinas não provocou alterações significativas nas propriedades avaliadas com a realização destes testes.

Na Tabela 17 apresentam-se os resultados obtidos após a realização dos testes de desempenho e envelhecimento.

Tabela 17: Resultados obtidos após os testes de envelhecimento e desempenho

Teste	Amostra	Critério	Resultado	Diferença para controlo
"Fogging"	Controlo	> 85%	> 98 %	-
	0,2		> 98 %	
	1		> 98 %	0
	2		> 98 %	
"Agging" UV	Controlo	≥ 4	4	-
	0,2		4	
	1		4	0
	2		4	
"Agging" Calor	Controlo	$DE \leq 1$	1,45	-
	0,2		1,54	-0,09
	1		0,86	0,59
	2		0,96	0,49
"Agging" humidade	Controlo	$DE \leq 1$	5,54	-
	0,2		-	-
	1		4,89	0,65
	2		5,33	0,21
Abrasão ("taber")	Controlo	≥ 4	4,5	
	0,2		4	0,5
	1		4,5	0
	2		4,5	0
Resistência risco	Controlo	OK/NOK	ok	-
	0,2		ok	
	1		ok	Igual
	2		ok	
"soiling"	Controlo	$3\frac{1}{4}$ Ou 4	$3\frac{1}{4}$	-
	0,2		$3\frac{1}{4}$	
	1		$3\frac{1}{4}$	Igual
	2		$3\frac{1}{4}$	
Limpeza manual	Controlo	$3\frac{1}{4}$ Ou 4	$3\frac{1}{4}$	-
	0,2		4	Ligeiramente superior
	1		$3\frac{1}{4}$	Igual
	2		$3\frac{1}{4}$	Igual

Como se pode ver pelos resultados apresentados anteriormente, a adição de ciclodextrinas não provocou alterações impeditivas da produção industrial dos substratos.

Devido a esta falta de evidências, foi necessário recorrer a técnicas mais finas de caracterização química e morfológica.

Os resultados obtidos são apresentados nas secções seguintes.

4.5 – Caracterização por FTIR das amostras preparadas por aditivção antes e após os testes de desgaste e envelhecimento

4.5.1 – Antes dos testes de desgaste e envelhecimento

A espectroscopia de infravermelho por refletância total atenuada (FTIR-ATR) é útil na determinação da composição por permitir identificar os diferentes grupos funcionais de uma determinada amostra. Deste modo, foram realizados ensaios de caracterização das amostras recorrendo a esta técnica.

A figura 28 representa o espectro de FTIR das β -ciclodextrinas. Como se pode observar no espectro, as bandas apresentadas são as características para as β -ciclodextrinas, sendo bandas características destas moléculas a banda forte entre 3300 e 3500 cm^{-1} , correspondente à vibração O-H, alongamento, as bandas de alongamento da vibração das ligações –CH e –CH₂, que aparecem na região entre 2800 e 3000 cm^{-1} .

De acordo com I.Bratu *et al*, [75], a banda característica das β -ciclodextrinas correspondente às ligações O-H, sobrepõem-se à banda da ligação O-H da água que se encontra encapsulada nas ciclodextrinas. Com o recurso à deconvolução das bandas, este grupo conseguiu provar a sobreposição de duas bandas, sendo a mais intensa a banda dos grupos O–H presentes nas ciclodextrinas, e a banda menos intensa devida às ligações O–H das moléculas de H₂O presentes no interior da cavidade das ciclodextrinas.

As restantes bandas apresentadas no espectro são, na sua maioria, referentes às ligações –C–O (alongamento) e –C–C (alongamento), que apesar de a banda –C–O ser uma banda intensa, não é muito usada na caracterização ou na interacção das ciclodextrinas com outras moléculas [76].

Por seu lado o grupo de M.C.Sharma *et al*, identificou a banda a 1852 cm^{-1} , como sendo a banda característica da ligação glicosídica presente nas ciclodextrinas, entre as moléculas de glucose que a compõe.

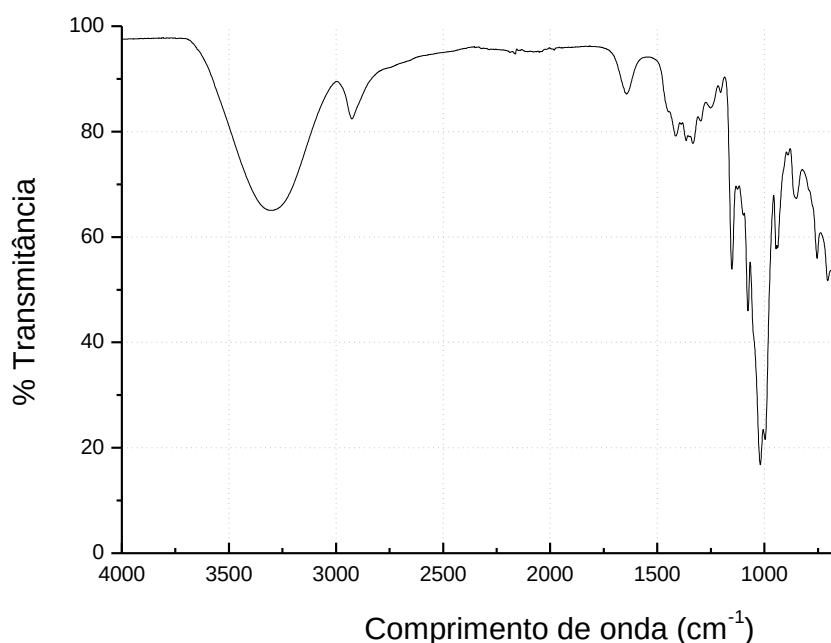


Figura 28: Espectro de FTIR-ATR das β -ciclodextrinas na forma cristalina

A Figura 29 é referente ao espectro de espectroscopia de infravermelho do substrato utilizado neste trabalho experimental antes da aplicação do revestimento, ou seja, o substrato sem sobre o qual o revestimento foi aplicado sob a forma de laca de poliuretano. O desconhecimento da origem do substrato torna difícil efetuar uma caracterização qualitativa e precisar a composição do mesmo, sendo que neste caso seria necessário recorrer a uma base de espectros. Podemos no entanto verificar a existência de banda características, presentes em polietilenos e em polipropilenos, constituintes base das termopoleolefinas.

O espectro apresenta duas bandas de intensidade moderada a 2930 cm^{-1} e a 2858 cm^{-1} , apresenta uma banda a cerca de 1460 cm^{-1} (1462 cm^{-1}) de intensidade média e uma banda a cerca de 725 cm^{-1} (730 cm^{-1}), sendo estas bandas atribuídas à ligação C-H (alongamento) [77].

Em muitos casos, quando os polímeros são preparados utilizando-se pressões elevadas, podem apresentar grupos vinilo, que apresentam bandas numa zona próxima de 890 cm^{-1} de intensidade fraca, (no espectro nota-se uma

banda a 899 cm^{-1} de intensidade fraca, derivada de um grupo vinilo). A banda apresentada a 963 cm^{-1} é referente a um grupo vinilo em posição trans.

A banda apresentada a cerca de 3300 cm^{-1} é associada a ligações O-H. Esta pode ser devida a presença de humidade na amostra ou à presença de ligações O-H na estrutura do polímero [74].

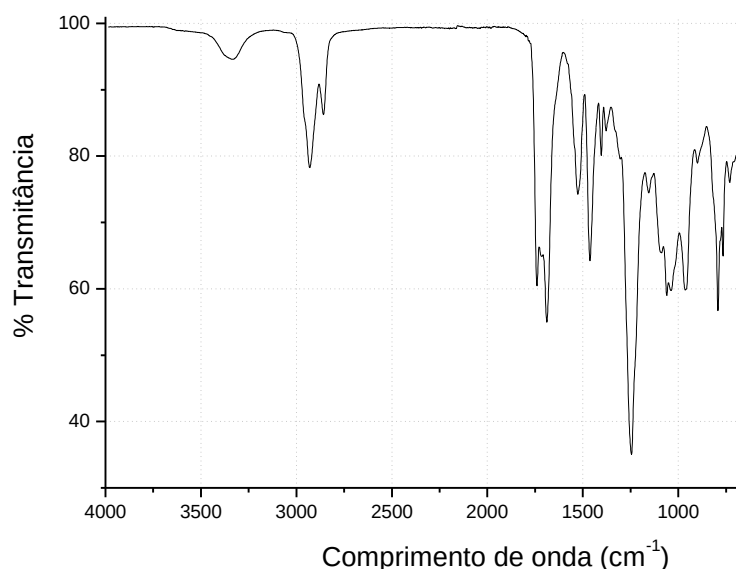


Figura 29: Espectro de FTIR-ATR da amostra designada por branco

A Figura 30 a) ilustra o espectro de infravermelho da amostra designada por controlo. Esta amostra difere da amostra anterior (branco) no facto de se ter efetuado o revestimento com a laca de poliuretano.

Através da análise do espectro não se pode concluir sobre a presença da laca de poliuretano devido à intensidade das bandas ser muito baixa, e estarem sobrepostas pelas bandas do substrato, como se pode ver na Figura 30 b).

A diferença na intensidade das bandas deve-se ao facto do equipamento utilizado ser um FTIR com ATR, pelo que a análise quantitativa não é válida nestes espectros.

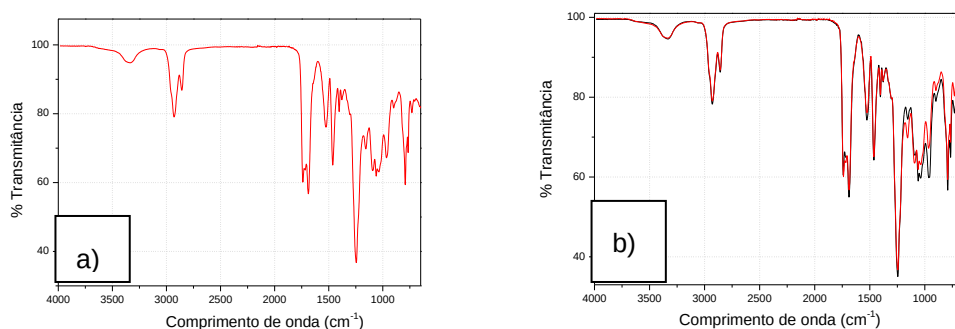


Figura 30: a) Espectro de FTIR-ATR da amostra designada por controlo; b) sobreposição dos espectros de FTIR-ATR das amostras controlo (a preto) e branco (a vermelho).

Na Figura 31 apresenta-se a sobreposição dos espectros das amostras contendo a laca de poliuretano aditivada com as ciclodextrinas em diferentes % mássicas.

Como se pode ver na Figura 31, os espectros sobrepõem-se. De um ponto de vista qualitativo, a composição dos substratos preparadas com a laca aditivada é semelhante, facto que era esperado dado todos os substratos estarem aditivados com o mesmo composto (ciclodextrinas).

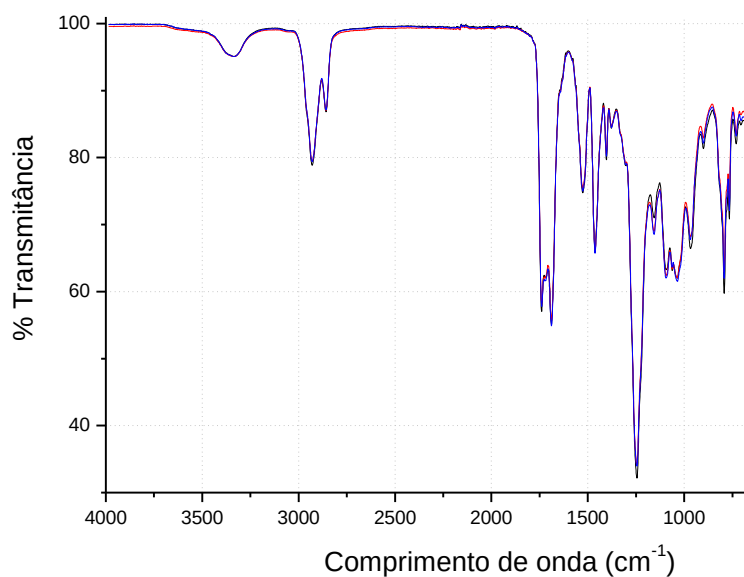


Figura 31: Sobreposição dos espectros de FTIR-ATR das amostras designadas por β -CDs 0,2% (a preto), β -CDs 1% (a vermelho) e β -CDs 2% (a azul).

Contudo após a sobreposição dos espectros dos substratos preparados com as ciclodextrinas e o substrato preparado com a laca de poliuretano, nota-se uma diferença nas bandas apresentadas.

Como se pode ver pela Figura 32 a), os espectros sobrepõem-se apesar de se notar uma ligeira diferença, diferença essa mostrada de forma mais explícita na Figura 32 b).

Após uma pesquisa na literatura, várias bandas e grupos foram identificadas como possíveis para apresentarem esta banda a 1061cm^{-1} . A banda que faz mais sentido pelo tipo de substrato de trabalho será a vibração de alongamento simétrico por parte do $-\text{CH}_3$, quando este se encontra no grupo funcional $-\text{CONHCH}_3$ que, como seria de esperar, é maior no substrato controlo.

Esta sobreposição das bandas, ou seja, o aumento da intensidade de uma banda a um determinado comprimento de onda, sobrepondo-se às bandas dos restantes substratos, quando estas são mais intensas ao longo de todo o espectro, é que permite dizer que os substratos preparados com a laca aditivada com ciclodextrinas apresentam uma menor quantidade de grupos $-\text{CH}_3$.

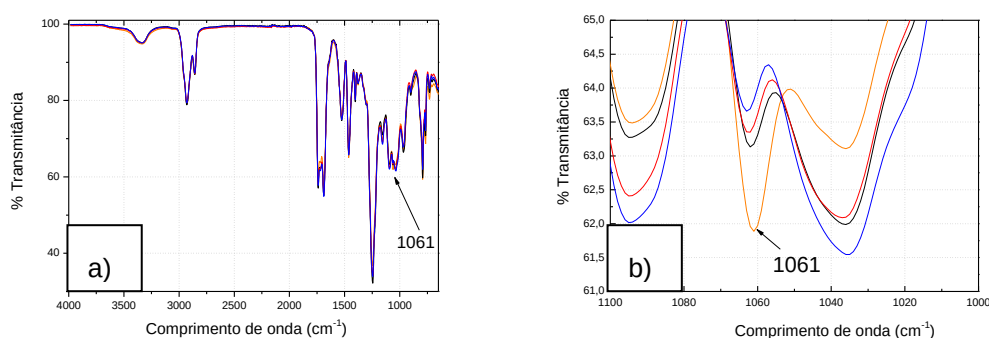


Figura 32: a) Sobreposição dos espectros de FTIR-ATR das amostras designadas por β -CDs 0,2% (a preto), β -CDs 1% (a vermelho) e β -CDs 2% (a azul) e controlo (a laranja); b) ampliação da figura 5 a) a 1061 cm^{-1} .

Após a análise dos espectros anteriores podemos referir que será possível determinar a presença ou ausência das ciclodextrinas nos substratos utilizados por comparação dos espectros obtidos. Apesar de ser possível determinar a sua

presença, não é possível, recorrendo a este método analítico, determinar a sua quantidade.

4.5.2- Após testes de desgaste e envelhecimento

A Figura 33 apresenta os espectros obtidos por espectroscopia de infravermelho, após o teste de abrasão efetuado aos substratos funcionalizados com ciclodextrinas. Como se pode ver pela Figura 33a), os espectros obtidos após a abrasão dos substratos preparados com quantidades crescentes de ciclodextrinas e o substrato controlo são todos idênticos, e não se deteta qualquer banda diferente.

Por seu lado a Figura 33b) apresenta a sobreposição dos espectros de espectroscopia de infravermelho dos substratos de controlo e com 2% de ciclodextrinas em percentagem mássica, antes e após a abrasão.

Esta banda, como já discutido anteriormente, é um indicador da quantidade de laca de poliuretano presente no substrato utilizado. Como se pode ver pelos espectros apresentados, após a abrasão a banda quase que desaparece, ficando reduzida a uma pequena inflexão. Esta comparação permite atestar a eficácia do teste de abrasão efetuado. Esta abrasão removeu uma quantidade substancial da laca de poliuretano, e como consequência as ciclodextrinas que se encontrariam entre o substrato base e a laca de poliuretano.

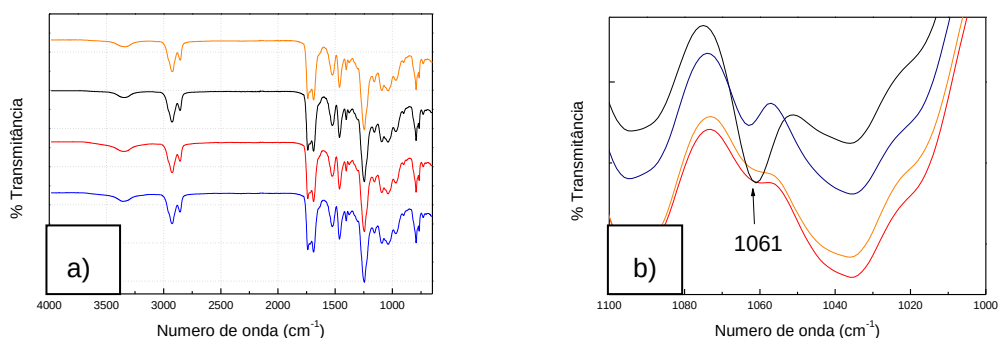


Figura 33: **a)** Sobreposição dos espectros de FTIR-ATR das amostras designadas por β-CDs 0,2% (a preto), β-CDs 1% (a vermelho) e β-CDs 2% (a azul) e controlo (a laranja) após o teste abrasivo; **b)** Sobreposição dos espectros de FTIR-ATR das amostras designadas por β-CDs 2% antes (azul) e após (vermelho) o teste abrasivo e controlo antes (preto) e após (laranja) o teste abrasivo.

A Figura 34, apresenta os espectros obtidos por espectroscopia de infravermelho das amostras após serem sujeitas aos testes de “soiling” descrito no capítulo 4.4.

A Figura 34 a) é uma sobreposição de todas as amostras, e como se pode ver os espectros são idênticos, e não apresentam bandas diferentes entre elas.

Na Figura 34 b) podemos ver a sobreposição dos espectros de infravermelho das amostras de controlo e da amostra com 2% em percentagem mássica de ciclodextrinas, antes e após o teste de “soiling”. Na figura é visível o desaparecimento da banda a 1061 cm^{-1} nas amostras após o processo de “soiling”.

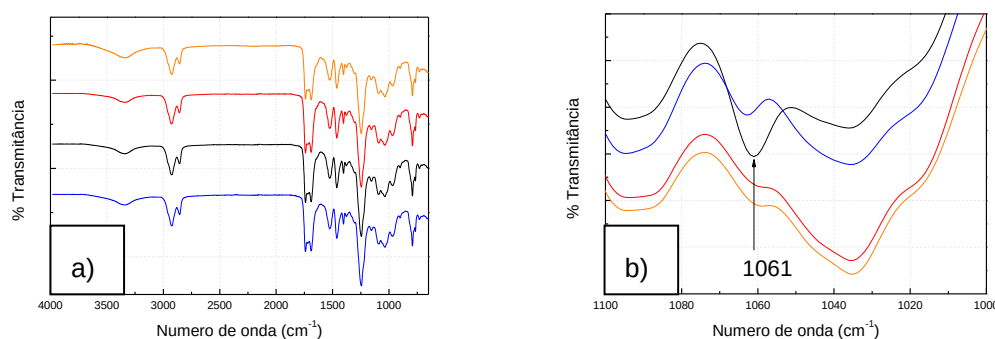


Figura 34: **a)** Sobreposição dos espectros de FTIR-ATR das amostras designadas por β -CDs 0,2% (a preto), β -CDs 1% (a vermelho) e β -CDs 2% (a azul) e controlo (a laranja) após o teste de “soiling”; **b)** Sobreposição dos espectros de FTIR-ATR das amostras designadas por β -CDs 2% antes (azul) e após (vermelho) o teste de “soiling” e controlo antes (preto) e após (laranja) o teste de “soiling”.

Tal como a figura anterior, a Figura 35 a) representa as amostras de controlo e com as diferentes % mássicas das ciclodextrinas após a limpeza manual. E tal como a Figura 34, não se notam diferenças nas bandas nem nos comprimentos de onda a que aparecem.

Na Figura 35 b) estão sobrepostos os espectros obtidos por espectroscopia de infravermelho das amostras designadas por controlo e β -CD's 2% antes e após a limpeza. Como se pode ver na figura, a sobreposição dos espectros apenas apresenta diferenças na banda a 1061 cm^{-1} . Esta banda, após a limpeza

manual, como aconteceu no método de “soiling”, perde intensidade, indicando assim uma remoção parcial da laca de poliuretano aplicada pelo método descrito anteriormente.

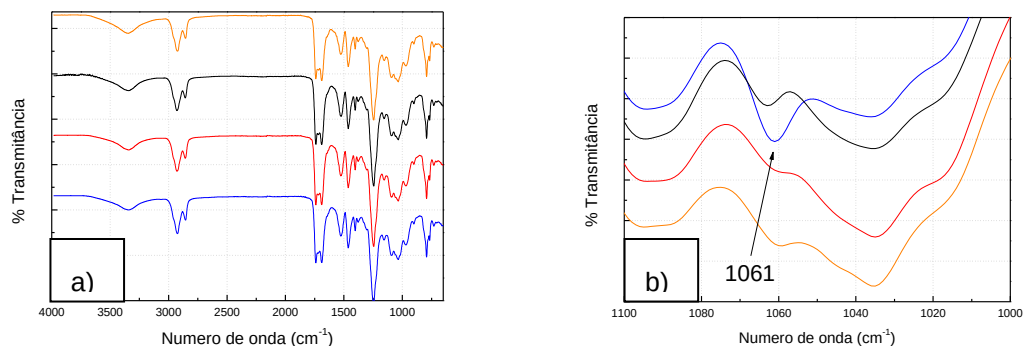


Figura 35: **a)** Sobreposição dos espectros de FTIR-ATR das amostras designadas por β -CDs 0,2% (a preto), β -CDs 1% (a vermelho) e β -CDs 2% (a azul) e controlo (a laranja) após o teste de limpeza manual; **b)** Sobreposição dos espectros de FTIR-ATR das amostras designadas por β -CDs 2% antes (azul) e após (vermelho) o teste de limpeza manual e controlo antes (preto) e após (laranja) o teste de limpeza manual.

A figura seguinte, Figura 36 representa a sobreposição dos espectros de espectroscopia de infravermelho, obtidos após o desgaste das amostras por radiação UV, Figura 36 a), e os espectros das amostras controlo e β -CD's antes e após a exposição à radiação UV, Figura 36 b). A Figura 36 a) não evidencia qualquer diferença nas bandas apresentadas, tal como os espectros anteriores. Já a Figura 36 b) evidencia, tal como as figuras anteriores, uma perda da quantidade de laca de poliuretano, ou neste caso, uma degradação devido à radiação UV.

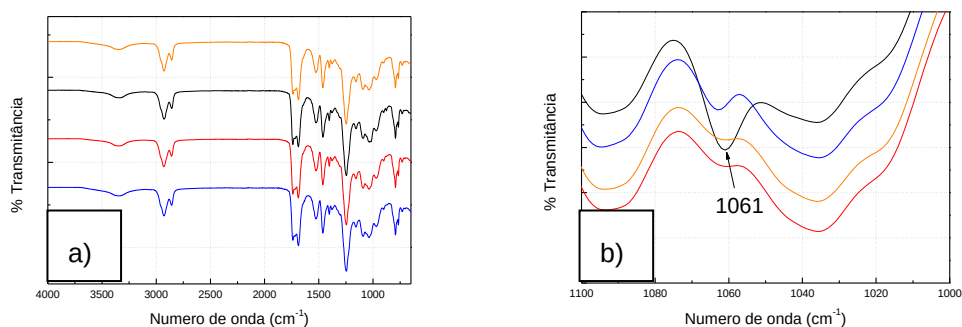


Figura 36: **a)** Sobreposição dos espectros de FTIR-ATR das amostras designadas por β -CDs 0,2% (a preto), β -CDs 1% (a vermelho) e β -CDs 2% (a azul) e controlo (a laranja) após o teste de resistência a UV; **b)** Sobreposição dos espectros de FTIR-ATR das amostras designadas por β -CDs 2% antes (azul) e após (vermelho) o teste de resistência a UV e controlo antes (preto) e após (laranja) o teste de resistência a UV.

A Figura 37 representa os espectros de espectroscopia de infravermelho, das amostras de controlo e das amostras com 0,2 e 2% em percentagem mássica de ciclodextrinas, após a termoformagem (a)).

A Figura 37 b) representa a sobreposição dos espectros de espectroscopia de infravermelho das amostras controlo e da amostra contendo 2% de ciclodextrinas em percentagem mássica.

Como se pode ver pela Figura 37 a), os espectros não apresentam diferenças significativas entre eles, nem nas bandas apresentadas. A Figura 37 b) evidencia uma redução da quantidade de poliuretano na superfície do substrato, após a termoformagem, tal como já verificado nos tratamentos efetuados anteriormente.

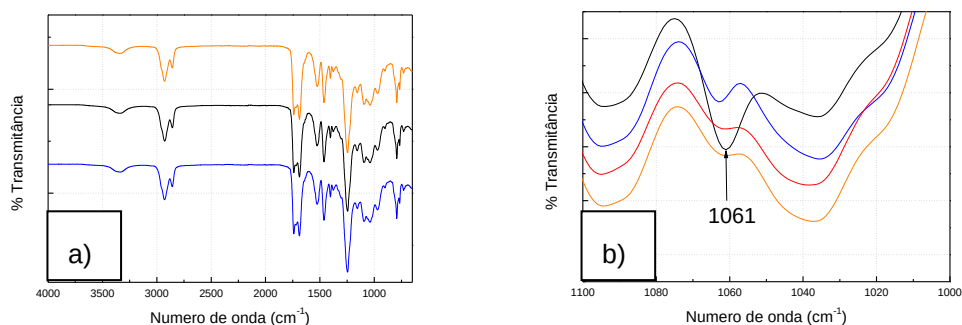


Figura 37: **a)** Sobreposição dos espectros de FTIR-ATR das amostras designadas por β -CDs 0,2% (a preto), e β -CDs 2% (a azul) e controlo (a laranja) após o teste de termoformagem; **b)** Sobreposição dos espectros de FTIR-ATR das amostras designadas por β -CDs 2% antes (azul) e após (vermelho) o teste de termoformagem e controlo antes (preto) e após (laranja) o teste de termoformagem.

De uma forma geral os espectros de espectroscopia de infravermelho obtidos após os testes de envelhecimento e de desempenho do substrato são similares entre si. Estes mesmos espectros, quando comparados com os espectros obtidos antes dos testes, apresentam de uma forma geral a perda, ou diminuição de uma banda (a 1061 cm^{-1}) atribuída à laca de poliuretano, indicando assim uma diminuição da camada de poliuretano na superfície do substrato e por conseguinte uma diminuição da quantidade de ciclodextrinas na superfície do substrato.

4.6 – Caracterização termogravimétrica das amostras preparadas por aditivação antes e após os testes de desgaste e envelhecimento

Os substratos preparados com as ciclodextrinas e os substratos de controlo, foram analisados por termogravimetria, em atmosfera inerte de azoto, para se ver a degradação dos mesmos com o aumento da temperatura.

4.6.1- Antes dos testes de desgaste e envelhecimento

A Figura 38 representa a curva termogravimétrica para as ciclodextrinas, em atmosfera de azoto, com uma rampa de aquecimento de 10 °C/min até 900 °C.

Como se pode ver pelo perfil da curva representada na Figura 38, nota-se duas zonas distintas de perda de massa, podendo ser a primeira zona devido à perda de água das ciclodextrinas, e a segunda, a pirólise das mesmas. De acordo com o fornecedor e a literatura, as ciclodextrinas apresentam uma temperatura de decomposição próximo dos 285°C [78]. Este valor é concordante com a temperatura em que a taxa de decomposição é mais elevada.

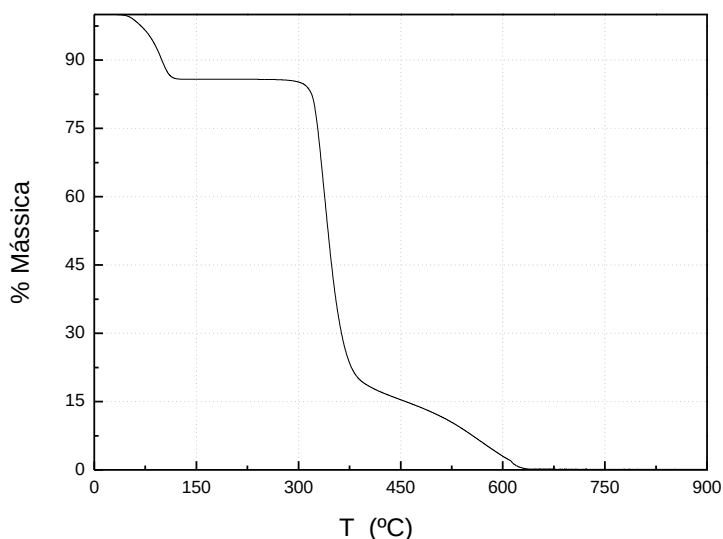


Figura 38: Curva termogravimétrica das β-ciclodextrinas.

A Figura 39 é referente ao substrato designado por branco, sendo que este substrato corresponde ao polímero ao qual se adicionou a laca (revestimento) aditivada com as ciclodextrinas.

Na Figura 39 apresenta-se a variação da massa em função da temperatura obtida a uma velocidade de varrimento de 10 °C/min, curva a preto na figura. A curva a vermelho representa a primeira derivada da curva termogravimétrica em função da temperatura, o que permite visualizar melhor os processos de perda de massa existentes. Como se pode visualizar, a maior perda de massa ocorre por volta dos 400 °C, como era esperado para este tipo de materiais. [79]. Da análise da curva termogravimétrica pode reparar-se que o polímero decompõe-se quase na totalidade, ou seja, a pirólise foi praticamente completa.

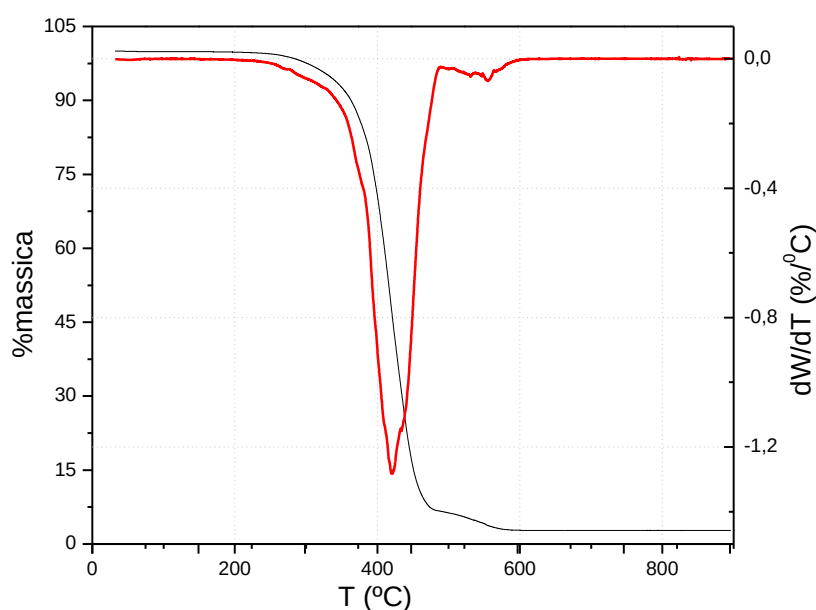


Figura 39: Curva termogravimétrica da amostra designada por branco a preto e sua derivada a vermelho.

A Figura 40, representa a curva termogravimétrica para a amostra designada por controlo. Esta curva foi obtida com uma rampa de aquecimento de 10°C/min em atmosfera de azoto, até 900°C. Como se pode ver pelo perfil da primeira derivada, e por comparação com a Figura 40, nota-se que esta amostra apresenta dois picos em que a perda de massa é máxima, estando estes picos no intervalo referido anteriormente e descrito pela literatura, a cerca de 400°C a 450°C.

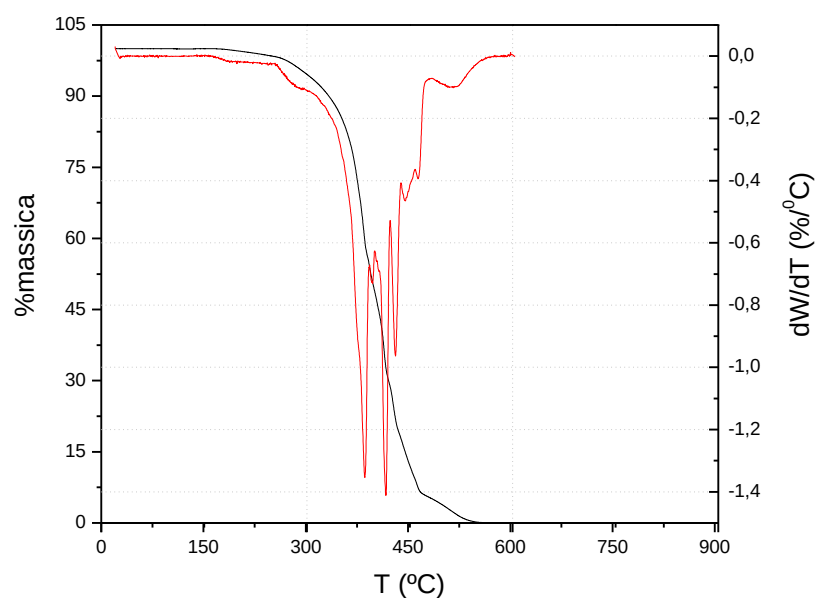


Figura 40: Curva termogravimétrica da amostra designada por controlo a preto e sua derivada a vermelho.

A Figura 41, representa as curvas termogravimétricas para as amostras com as ciclodextrinas. A figura é composta por três curvas termogravimétricas designadas por a), b) e c), correspondentes às amostras preparadas com 0,2%, 1% e 2% de percentagem mássica de ciclodextrinas, respetivamente.

Como se pode ver na Figura 41, as curvas termogravimétricas são semelhantes entre si, e são semelhantes às curvas termogravimétricas anteriores, apesar de apresentarem o perfil da primeira derivada mais definido e nítido.

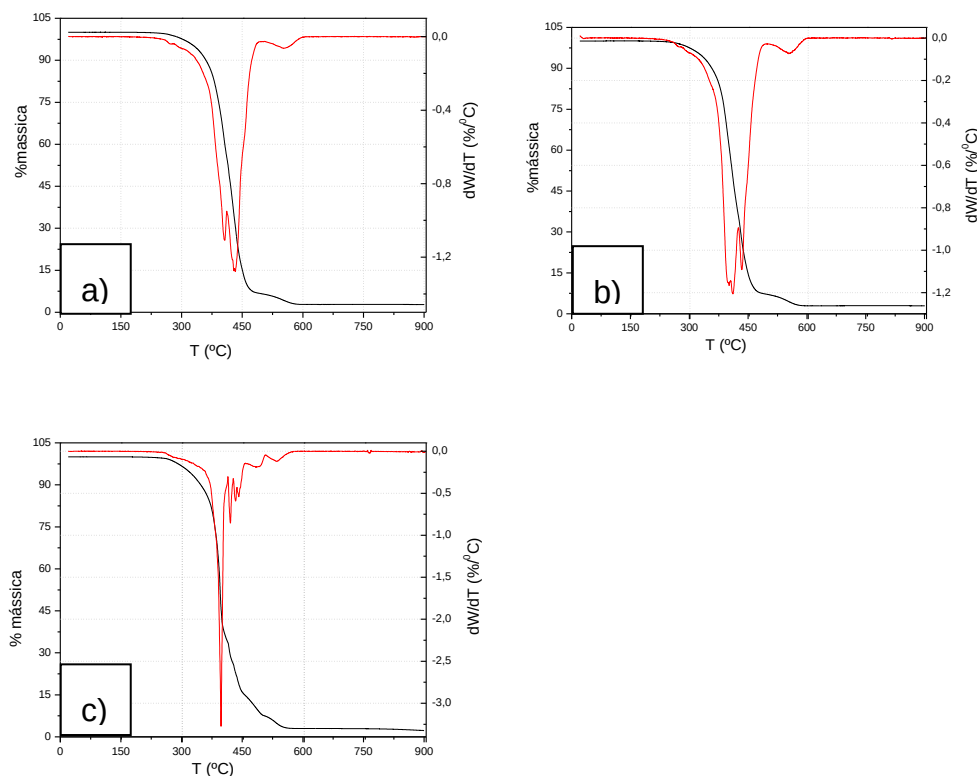


Figura 41: Curvas termogravimétrica da amostra designada por controlo a preto e sua derivada a vermelho; **a)** β-CDs 0,2 %, **b)** β-CDs 1%; **c)** β-CDs 2 %

Todas as amostras apresentam uma perda de massa quase total, apesar de a massa final, em percentagem, ser maior no substrato preparado com uma percentagem mássica de 1% de ciclodextrinas, apresentando entre elas variações não superiores a 0,7% em percentagem mássica. Pela análise da curva termogravimétrica das ciclodextrinas, pode inferir-se que esta variação de cerca de 0,7% não se refere ao aumento da massa de ciclodextrinas, mas sim a outros fatores, tais como a percentagem de laca aplicada não ser exatamente igual em todos os substratos (aplicação efetuada com uma barra de Mayer), ou simplesmente o erro associado à medição.

4.6.2- Após os testes de desgaste e envelhecimento

Após a realização dos testes de envelhecimento e desempenho voltaram-se a caracterizar as amostras por termogravimetria. Utilizaram-se apenas as

amostras controlo e as amostras contendo 2% de ciclodextrinas na laca de poliuretano, devido ao facto de estas amostras possuírem a maior concentração de ciclodextrinas.

A Figura 42, apresenta as curvas termogravimétricas e a sua derivada para as amostras controlo (Figura 42 a)) e β -CD's 2% (Figura 42 b)), após os testes de abrasão. Como se pode ver na figura, o perfil das curvas é semelhante, sendo que, como já constatado anteriormente, para as amostras antes dos testes de envelhecimento e desempenho, as amostras contendo uma maior percentagem de ciclodextrinas apresentam duas temperaturas em que a velocidade de perda de massa é superior, ao contrário da amostra controlo, que apresenta estes dois mesmos picos, mas um deles com uma intensidade inferior. Esta evidência pode indicar a pirólise das ciclodextrinas a cerca de 400°C e por conseguinte uma maior perda de massa.

Ambas as amostras apresentam os mesmos valores finais em termos percentuais de massa residual.

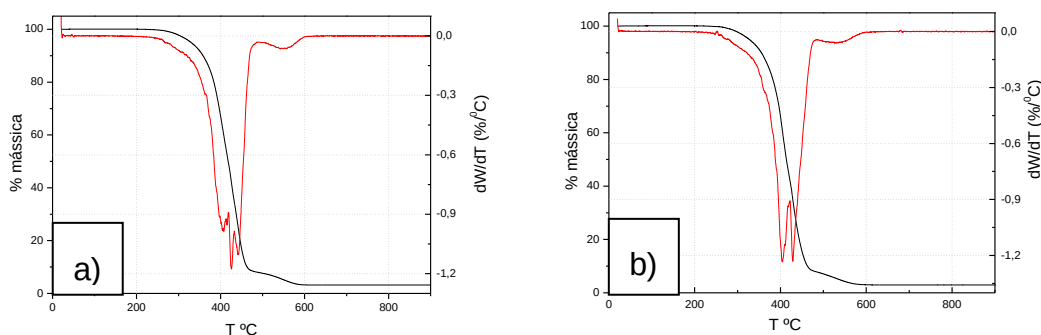


Figura 42: Curvas termogravimétricas das amostras **a)** controlo; **b)** β -CDs 2% a preto e respectivas primeira derivada a vermelho após o teste de abrasão.

A Figura 43, apresenta as curvas termogravimétricas das amostras controlo (Figura 43 a)) e com 2% (Figura 43 b)) de ciclodextrinas em percentagem mássica na laca de poliuretano após os testes “soiling.”

Ambas as curvas apresentam perfis idênticos, com uma perda de massa quase total, reduzida a cerca de 2% a massa inicial. Na figura nota-se ainda que ambas as amostras apresentam picos de perda de massa a temperaturas

ligeiramente diferentes (Figura 43 a) a cerca de 400°C; Figura 43 b) a cerca de 405°C).

Esta diferença pode ser atribuída à presença das ciclodextrinas na superfície do substrato, apesar de não se encontrar em muita quantidade, é a suficiente para alterar ligeiramente o perfil das curvas termogravimétricas. Apesar deste facto não se notar na análise da curva termogravimétrica, nota-se quando se analisa a 1ª derivada das curvas.

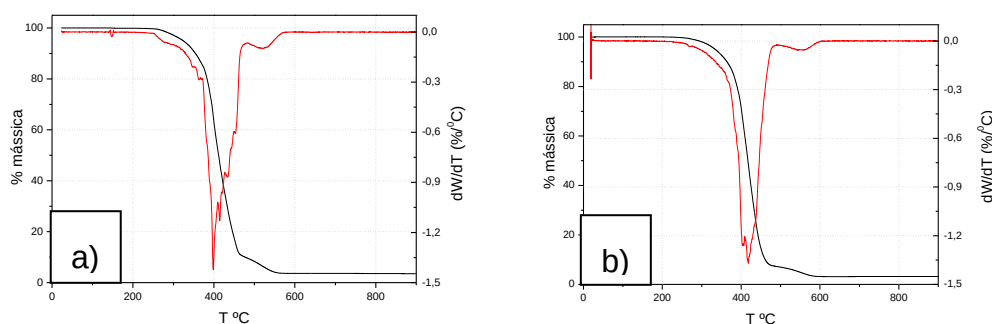


Figura 43: Curvas termogravimétricas das amostras **a)** controlo; **b)** β -CDs 2% a preto e respectivas primeira derivada a vermelho após o teste de *soiling*.

A figura seguinte, Figura 44, representa as curvas termogravimétricas das amostras controlo (Figura 44 a)) e com 2% (Figura 44 b)) de ciclodextrinas em percentagem mássica na laca de poliuretano após os testes de limpeza manual. Em ambas as amostras a perda de massa total é semelhante, tal com o perfil das suas curvas termogravimétricas.

A figura permite notar uma ligeira diferença nas temperaturas a que ocorre a perda de massa de forma mais acentuada, tal como na imagem anterior.

Esta diferença na temperatura e no perfil da 1ª derivada da amostra, nomeadamente a largura a meia altura, pode ser um indicador da presença de ciclodextrinas na superfície do substrato.

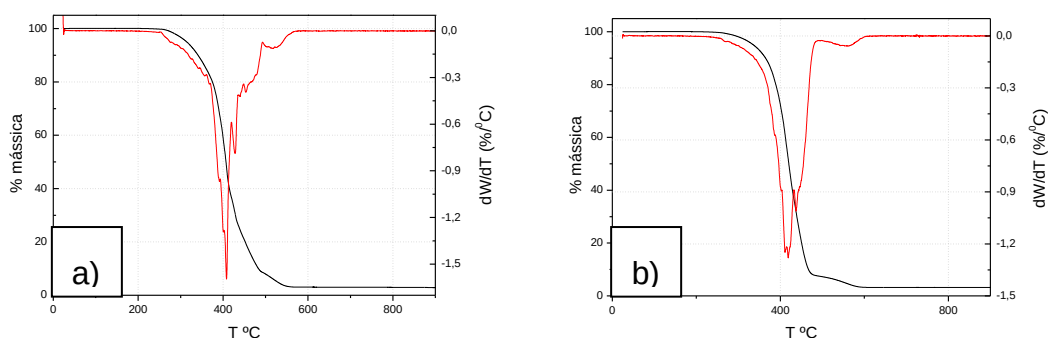


Figura 44: Curvas termogravimétricas das amostras **a)** controlo; **b)** β -CDs 2% a preto e respectivas primeira derivada a vermelho após a limpeza manual.

A figura seguinte, Figura 45, apresenta as curvas termogravimétricas e a respetiva primeira derivada. Na Figura 45 a) é apresentada a curva termogravimétrica da amostra controlo e a respetiva primeira derivada após o teste de degradação por UV. Na Figura 45 b) é apresentada a curva termogravimétrica da amostra β -CDs 2% e a primeira derivada da curva da amostra contendo 2% de ciclodextrinas em percentagem mássica, após o teste de degradação por UV.

Como se pode ver pela imagem, as curvas termogravimétricas apresentam um perfil semelhante. Por seu lado, analisando as curvas correspondentes à primeira derivada, nota-se uma ligeira diferença no perfil das duas, nomeadamente uma pequena inflexão após o pico máximo na amostra que contém 2% de ciclodextrinas. Esta ligeira diferença não é tão evidente, tal como nas amostras anteriores, muito provavelmente por este método analítico ser um teste destrutivo e a radiação UV poder provocar alterações estruturais nas cadeias poliméricas e nas próprias ciclodextrinas.

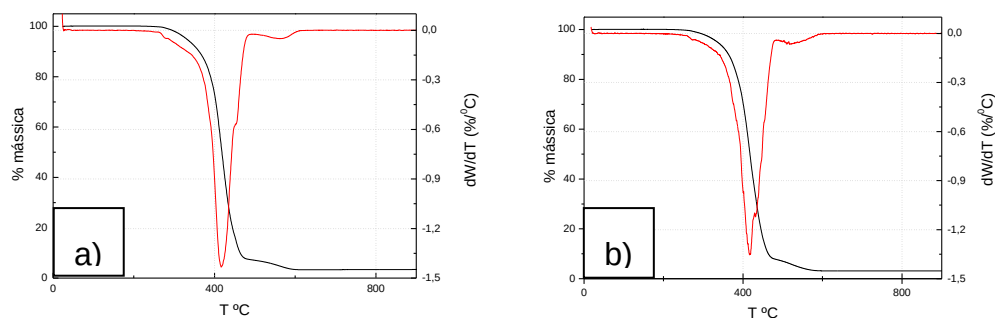


Figura 45: Curvas termogravimétricas das amostras **a)** controlo; **b)** β -CDs 2% a preto e respectivas primeira derivada a vermelho após a exposição a UV.

4.7- Caracterização morfológica por SEM dos substratos antes e após os testes de desgaste e envelhecimento

Os substratos preparados foram analisados por SEM. As imagens de SEM permitem observar diferenças a nível morfológico dos substratos e também o seu tamanho aproximado.

4.7.1-Antes dos testes de desgaste e envelhecimento

Na Figura 46 estão representadas as micrografias de SEM das amostras designadas anteriormente por controlo e branco, e como se pode ver pela micrografia apresentada na Figura 46, as imagens são bastante diferentes, sendo visíveis diferenças morfológicas significativas. A superfície designada por branco na Figura 46 a) apresenta uma morfologia regular, com pouca rugosidade, ao contrário da superfície apresentada na mesma figura, mas com a referência b), que apresenta uma superfície irregular, com umas saliência esféricas, muito provavelmente devido ao facto de o agente reticulante utilizado conter um organossilano. Esta evidência será discutida com mais detalhe quando se analisarem os espectros de EDS.

Esta diferença na morfologia era espectável, devido ao facto de a camada de laca aplicada ser consideravelmente espessa, em termos de análises por SEM, ou seja, não suficientemente espessa para se verem diferenças com o olho humano, mas o suficientemente para estas diferenças na morfologia serem vistas com o recurso à microscopia eletrónica de varrimento.

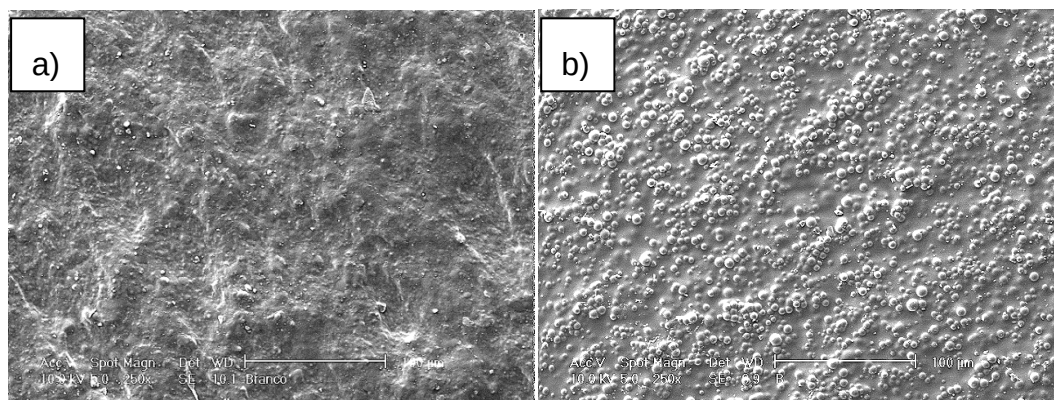


Figura 46: Micrografias de SEM das amostras; **a)** Branco; **b)** controlo

A Figura 47 é uma micrografia de SEM, de uma amostra contendo ciclodextrinas com 2% de percentagem mássica, com uma ampliação menor do que a mostrada anteriormente. Nesta imagem nota-se o padrão criado pela passagem da barra de Mayer no substrato durante a colocação da laca de poliuretano. Como seria de esperar o padrão criada pela barra de Mayer na superfície do substrato é bastante regular e uniforme.

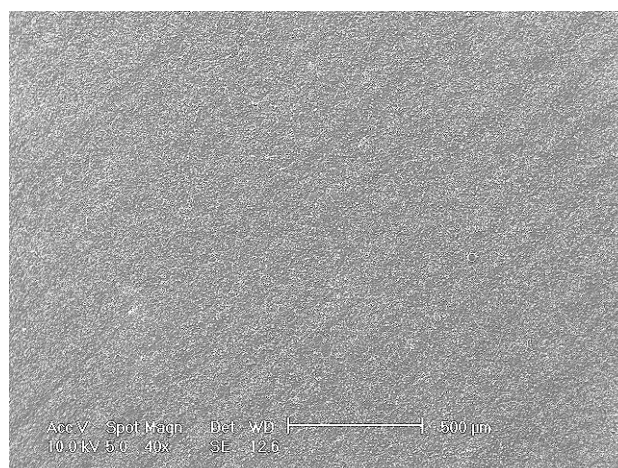


Figura 47: Micrografia de SEM da amostra controlo com uma menor ampliação

A Figura 48 apresenta uma micrografia de SEM de um substrato contendo 2% em percentagem mássica de ciclodextrinas na laca de poliuretano utilizada no revestimento do substrato. A superfície apresenta-se bastante rugosa, a uma escala macro, com protuberâncias esféricas distribuídas uniformemente por toda a superfície. A morfologia assemelha-se á morfologia da imagem apresentada

na figura 46 b), que é a imagem correspondente ao controlo, em que se revestiu o substrato apenas com a laca de poliuretano.

Apesar de se ter incluído 2% em percentagem mássica de ciclodextrinas, esta quantidade não provocou alterações significativas na morfologia dos substratos à escala em que as micrografias foram obtidas.

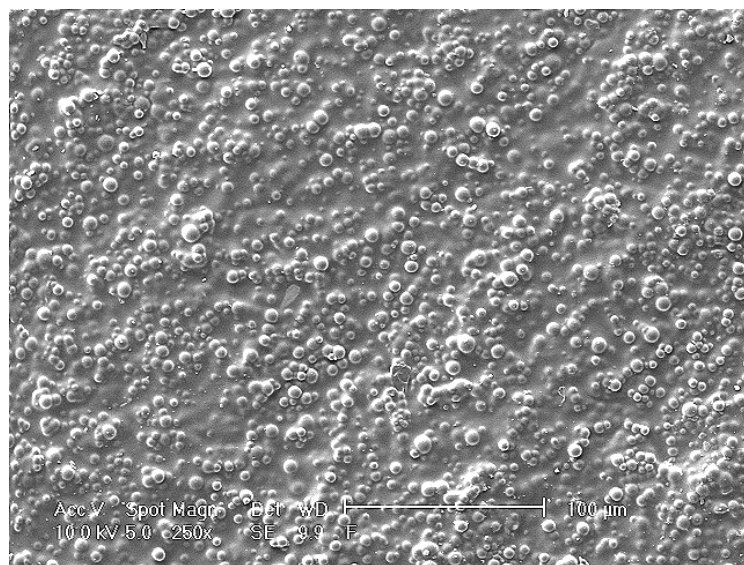


Figura 48: Micrografia de SEM da amostra β -CDs 2%.

De salientar que as restantes micrografias de SEM, nomeadamente as micrografias correspondentes às % mássicas de 0,2% e 1% de ciclodextrinas na laca de poliuretano, não foram apresentadas, devido à semelhança morfológica com a micrografia de SEM apresentada na Figura 48.

4.7.2-Depois dos testes de desgaste e envelhecimento

Após os testes de envelhecimento e de desempenho, realizou-se nova análise morfológica recorrendo à microscopia electrónica de varrimento.

A Figura 49 é referente às amostras controlo (Figura 49 a)) e β -CDs 2% (Figura 49 b)) após os testes de abrasão descritos no capítulo 3. Como se pode

ver pela Figura 49, não se notam diferenças significativas entre as duas micrografias. Em ambas as micrografias nota-se um perfil rugoso com saliências esféricas distribuídas de forma uniforme pela superfície. De um ponto de vista morfológico nota-se que não ocorreram grandes alterações nas amostras, apesar de o número de saliências esféricas apresentadas na amostra controlo parecer ser superior.

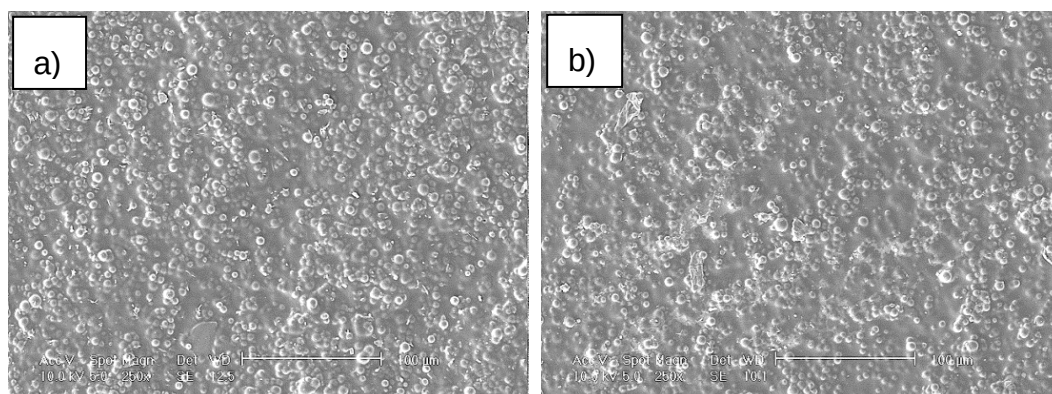


Figura 49: Micrografias de SEM das amostras após os testes de abrasão. **a)** amostra controlo; **b)** amostra β -CDs 2%.

A Figura 50 é referente às amostras controlo (Figura 50 a)) e β -CDs 2% (Figura 50 b)) após os testes de limpeza manual descritos no capítulo 3.

Como se pode ver na Figura 50 as amostras apresentam uma superfície bastante idêntica, de um ponto de vista morfológico. Ambas as figuras apresentam um elevado número de cavidades, muito provavelmente onde se encontravam as saliências esféricas referidas na imagem anterior.

A sua morfologia é de uma forma geral idêntica entre elas, sendo que a limpeza manual foi suficiente para provocar alterações entre as amostras em que foi efetuada a limpeza e as amostra em que não foi efetuada qualquer limpeza.

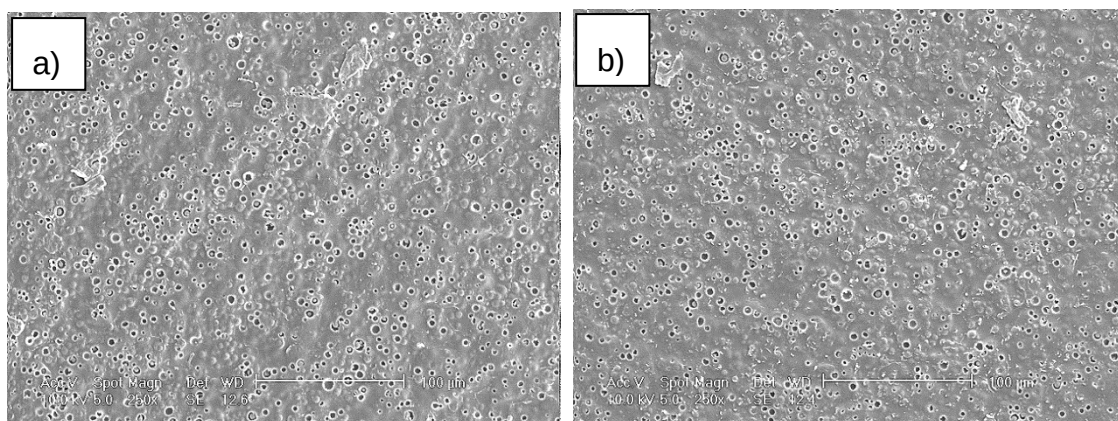


Figura 50 : Micrografias de SEM das amostras após a limpeza manual, **a)** amostra controlo ; **b)** amostra β -CDs 2%.

Na Figura 51 são apresentadas as micrografias de SEM das amostras controlo (Figura 51 a)) e β -CDs 2% (Figura 51 b)) após os testes de “soiling”.

As micrografias apresentadas na Figura 51 são bastante semelhantes entre si, e bastante semelhantes às micrografias apresentadas na Figura 50. Como se pode ver, ambas as figuras (a) e b)), apresentam cavidades distribuídas de forma uniforme, e ambas as micrografias representam superfícies com pouco relevo. As micrografias apresentadas na Figura 51 apresentam um desgaste superficial superior às micrografias apresentadas anteriormente. De um modo geral, este método de “soiling” provocou um maior desgaste na superfície da amostra do que a limpeza e o próprio método de abrasão, muito provavelmente devido ao facto de neste teste se utilizar detergentes, ao contrário do teste de abrasão.

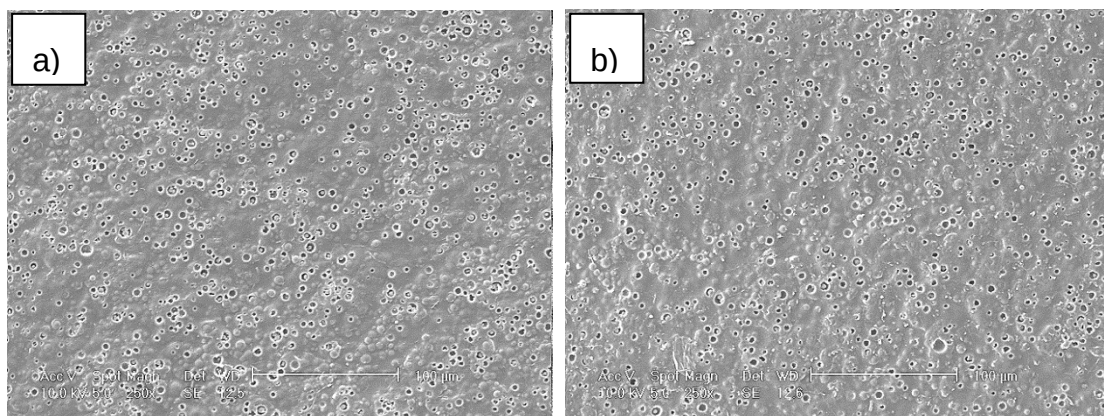


Figura 51: Micrografias de SEM das amostras após os testes de *soiling*. **a)** Amostra controlo; **b)** amostra β-CDs 2%.

A Figura 52 apresenta as micrografias de SEM das amostras controlo (a)) e β-CDs 2% (b)) após os testes de envelhecimento por UV.

Como se pode ver na Figura 52 as micrografias apresentam-se bastante semelhantes entre elas, e com perfis morfológicos bastante idênticos.

Ambas as micrografias apresentam saliências esféricas distribuídas de forma uniforme por toda a superfície do substrato polimérico. De um ponto de vista morfológico não se notam diferenças entre as amostras controlo e β-CDs 2% nem entre estas amostras e as amostras correspondentes antes do teste de envelhecimento por UV, Figura 46 b) e Figura 48, respetivamente.

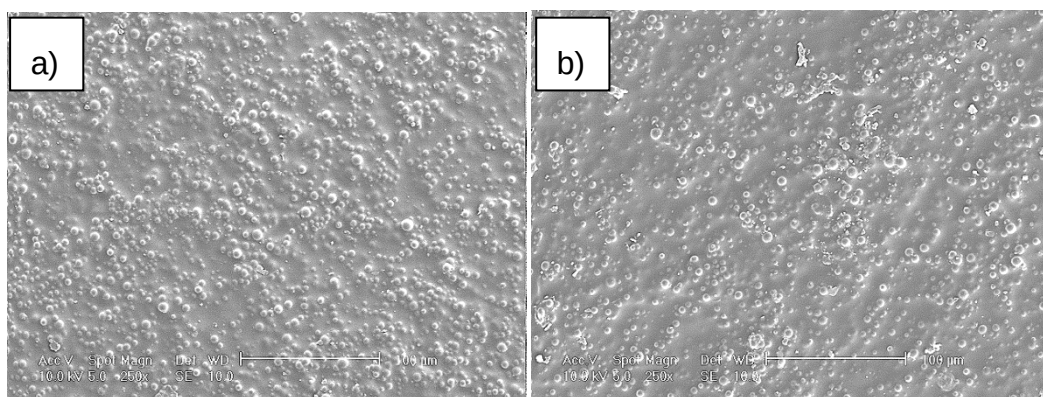


Figura 52: Micrografias de SEM das amostras após a exposição ao UV. **a)** Amostra controlo; **b)** amostra β-CDs 2%.

A Figura 53 mostra as micrografias de SEM das amostras controlo (Figura 53a)) e β-CDs2% (Figura 53 b)) após os testes de resistência ao risco.

Estas imagens, tal como na figura anterior, evidenciam o facto de não se verificarem grandes diferenças a nível morfológico entre estas amostras e as micrografias de SEM apresentadas antes do teste de resistência ao risco. Este comportamento era espectável, visto não ser um teste destrutivo, apenas poderia causar o aparecimento de um risco na superfície polimérica, coisa que não se notou.

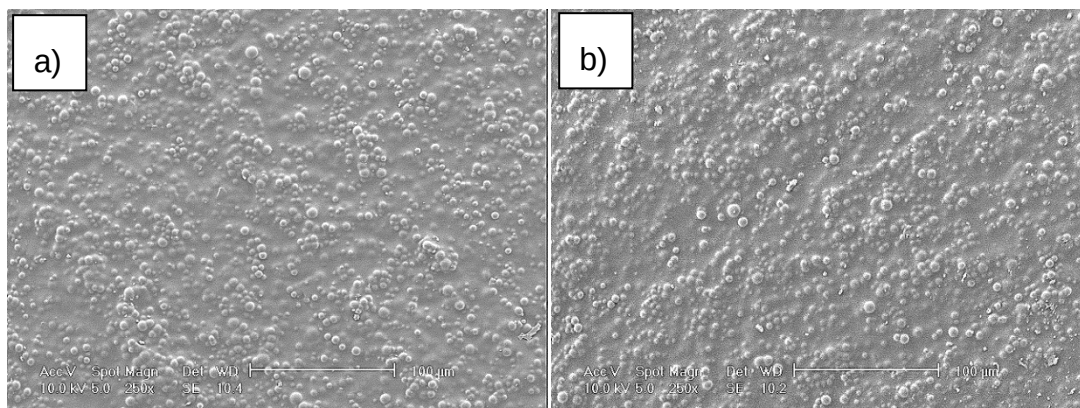


Figura 53: Micrografias de SEM das amostras após os testes de resistência ao risco, a) Amostra controlo; b) amostra β -CDs 2%.

As figuras anteriores são referentes às micrografias de SEM das amostras controlo e β -CDs 2% após os testes de envelhecimento e de desempenho. Como se pode ver pelas micrografias apresentadas, não se verificaram diferenças significativas entre as micrografias de controlo e a micrografia para a amostra β -CDs 2%, como se pode ver nas figuras anteriores, contudo nota-se que após os testes de limpeza e “soiling” as micrografias apresentam diferenças para as micrografias antes dos testes de envelhecimento e desempenho. Após os testes de envelhecimento e desempenho os substratos perdem as saliências esféricas, dando lugar a buracos distribuídos de forma uniforme pela superfície polimérica.

4.8- Caracterização por EDS dos substratos antes e após os testes de desgaste e envelhecimento

A espectroscopia de raios X, permite de uma forma rápida obter uma análise quantitativa dos elementos presentes num determinado substrato. Esta técnica apresenta limitações, nomeadamente a sensibilidade da mesma, e a quantidade de amostra analisada, mas por outro lado é uma análise expedita, e permite determinar a presença ou ausência de determinados elementos numa superfície.

A tabela seguinte resume a informação recolhida após a análise dos espectros obtidos para cada amostra.

De uma forma geral nota-se um incremento da quantidade de oxigénio nas amostras em que as ciclodextrinas se encontram presentes, com exceção da amostra sujeita ao teste de limpeza manual e ao envelhecimento por UV. O teste de limpeza manual provocou a perda das saliências atribuídas a esferas de sílica, comprovadas com o aparecimento do silício no espectro, já os valores obtidos após a exposição ao UV apesar de diferentes encontram-se dentro do erro experimental, pelo que esta diferença pode indicar uma degradação não muito significativa do revestimento e eventualmente das próprias ciclodextrinas.

Os elementos restantes, Al, Ti e o Cl, são devidos a contaminações às quais as amostras estiveram expostas durante os testes de envelhecimento e de desempenho.

Nota-se ainda que a amostra designada por branco, tal como seria de esperar, apresenta apenas C e O na sua composição. Após o revestimento do substrato com a laca de poliuretano surge o silício, devido ao uso do agente reticulante.

Tabela 18: Valores obtidos por espectroscopia de raios X em percentagem atómica.

				Risco		Após limpeza		Após soiling		Após abrasão		Após UV	
Elemento	Branco	*Cont.	β-CDs 2%	*Cont.	β-CDs 2%	*Cont.	β-CDs 2%	*Cont.	β-CDs 2%	*Cont.	β-CDs 2%	*Cont.	β-CDs 2%
C	95,83	75,1	74,58	77,9	76,11	75,2	77,18	73,9	74,98	75,59	73,86	74,58	74,54
O	4,17	23,9	24,23	20,6	22,4	23,4	21,33	23,2	23,56	23,17	24,7	24,21	24,07
Si		1,06	1,19	1,2	1,03	1,02	1,13	0,94	1,08	0,94	1,08	0,85	0,95
Al				0,19	0,29	0,19	0,16	0,16	0,19	0,16	0,15	0,18	0,18
Ti				0,18	0,16	0,19	0,20	0,14	0,19	0,14	0,20	0,13	0,14
Cl												0,1	0,12

*Cont = Controlo

4.9- Caracterização morfológica por AFM dos substratos antes e após os testes de desgaste e envelhecimento

A microscopia de força atômica é uma técnica bastante utilizada na caracterização morfológica de superfícies. De uma única análise pode-se retirar varia informação, tal como a rugosidade de uma superfície, a dureza a sua condutividade, entre outra informação.

Neste trabalho esta técnica foi utilizada como ferramenta para caracterizar a morfologia da amostra e a sua rugosidade.

Na Figura 54 é apresentada a micrografia de AFM do substrato antes da aplicação da laca de poliuretano. Como se pode ver na figura, a superfície não apresenta grandes irregularidades.

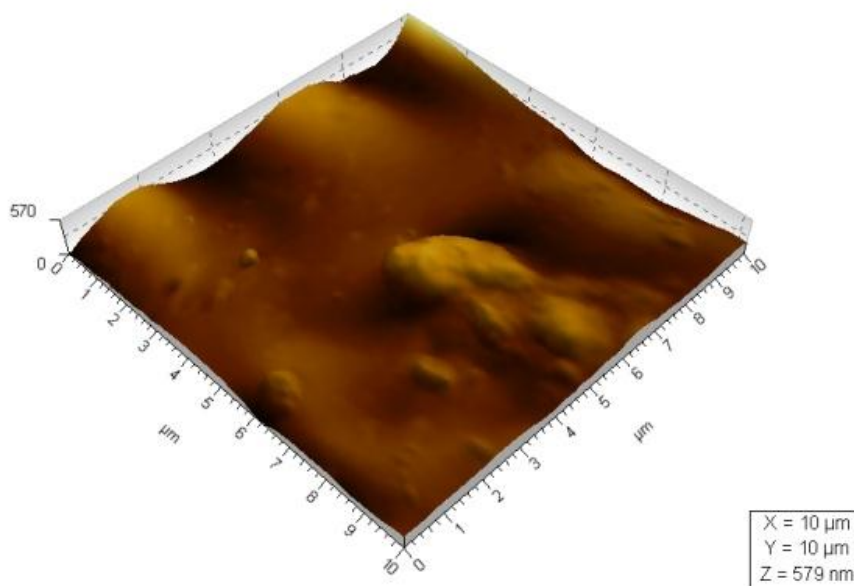


Figura 54: Micrografia de microscopia de força atomica do substrato base.

A Figura 55, apresenta a micrografia de AFM da amostra designada por controlo. Esta amostra foi revestida com a laca de poliuretano, sem a inclusão das ciclodextrinas. Como se pode ver na Figura 55, a superfície apresenta uma morfologia regular, não muito rugosa, difere da anterior, no fato de apresentar

umas saliências esféricas em grande parte da superfície, tal como se verificou nas imagens obtidas por SEM.

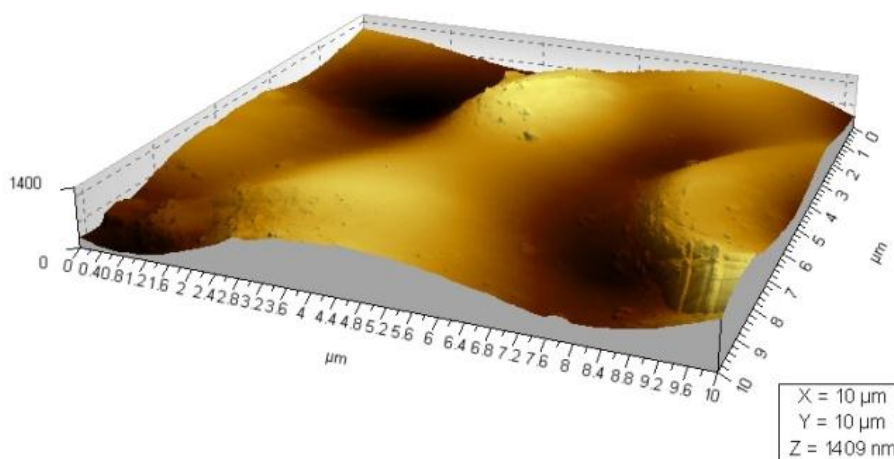


Figura 55: Micrografia de microscopia de força atômica do substrato base revestido com a laca de poliuretano.

A Figura 56, apresenta tal como as anteriores, uma micrografia, obtida por microscopia de força atômica, sendo esta referente à amostra que contém 2 % de β -CDs na laca de poliuretano. Na figura apresentada não se nota diferenças significativas para a amostra controlo, apresentada anteriormente na Figura 55.

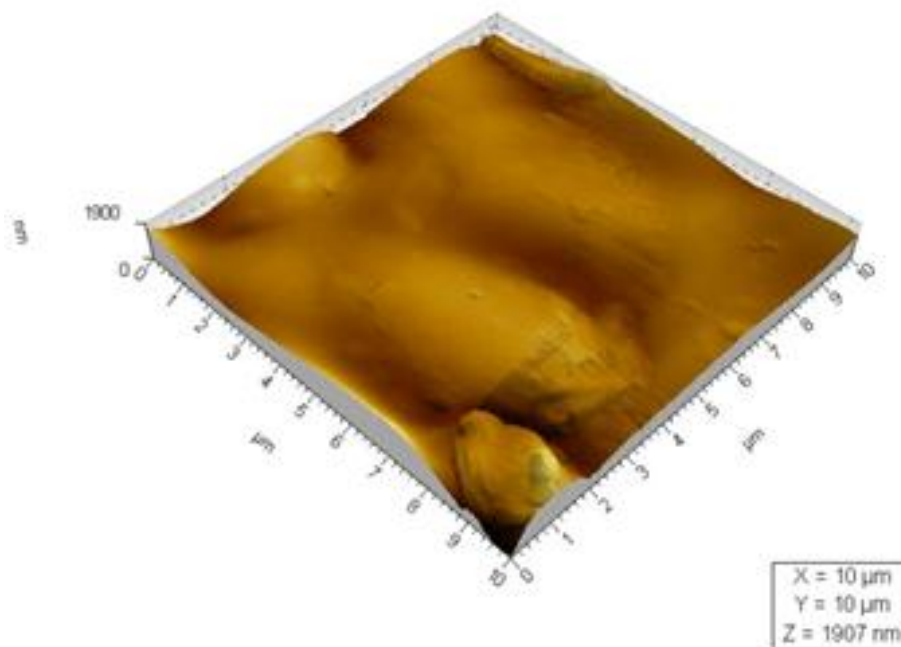


Figura 56: Micrografia de microscopia de força atômica do substrato base revestido com a laca de poliuretano aditivada com 2% de β -CDs.

A figura seguinte, Figura 57, apresenta a micrografia obtida por AFM das amostras controlo, Figura 57 a) e da amostra β -CDs 2%, Figura 57 b), após a limpeza manual como descrito no capítulo 3 do presente trabalho.

Como se pode ver pela micrografia, ambas as amostras apresentam perfis bastante semelhantes ambas as figuras apresentam rugosidade semelhante, pelo que através da microscopia de força atômica não se conseguem denotar diferenças significativas em termos morfológicos.

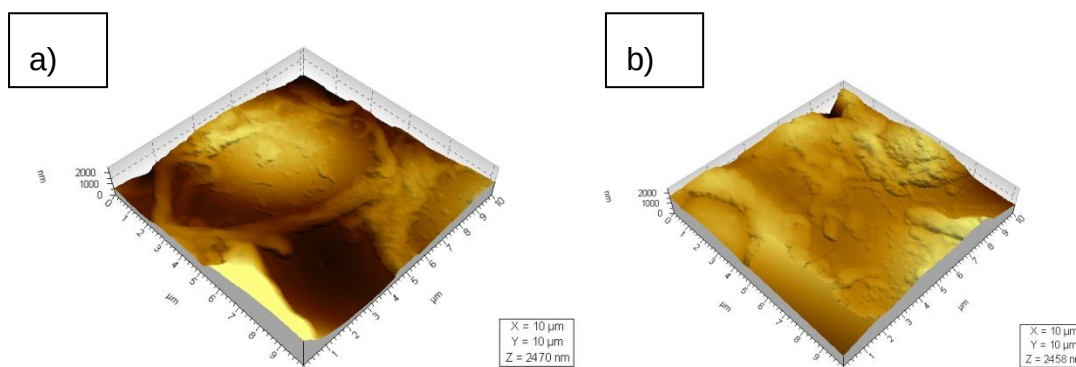


Figura 57: Micrografia de microscopia de força atômica das amostras após os testes de limpeza manual. **a)** Amostra controlo; **b)** amostra β -CDs 2%.

A figura seguinte, Figura 58, apresenta a micrografia obtida por AFM das amostras controlo, Figura 58 a) e da amostra β -CDs 2%, Figura 58 b), após o “soiling” como descrito no capítulo 3 do presente trabalho.

A figura evidencia a rugosidade superior da amostra apresentada na Figura 58 b), nesta figura nota-se uma maior quantidade de saliências e irregularidades na superfície da amostra, esta diferença na estrutura pode dever-se ao facto de esta amostra conter β -CDs.

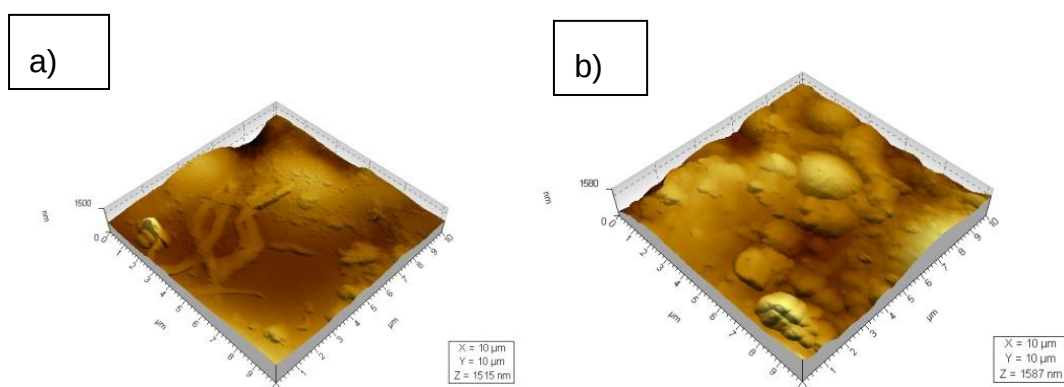


Figura 58: Micrografia de microscopia de força atómica das amostras após os testes de *soiling*. **a)** Amostra controlo; **b)** amostra β -CDs 2%.Soiling.

A Figura 59, apresenta as micrografias das amostras controlo, Figura 59 a) e da amostra β -CDs 2%, Figura 59 b) após o teste de abrasão.

As micrografias são bastante semelhantes entre elas, mas diferem das anteriores, são muito menos irregulares e rugosas, o que pode indicar uma remoção parcial da laca de poliuretano, devido a rugosidade apresentada ser atribuída a laca de poliuretano, as saliências de sílica (criadas devido ao reticulante conter silício) e as β -CDs.

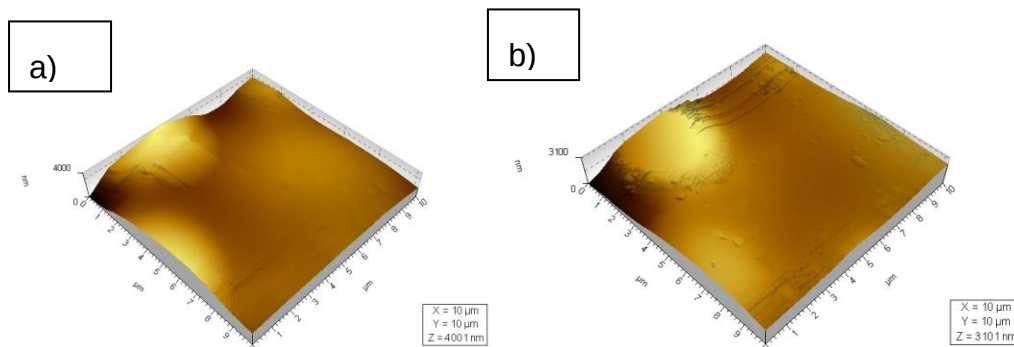


Figura 59: Micrografia de microscopia de força atômica das amostras após os testes de abrasão. **a)** Amostra controlo; **b)** amostra β -CDs 2%..

Na Figura 60, estão representadas as micrografias das amostras controlo e β -CDs 2%, Figura 60 a) e b) respectivamente, após à exposição prolongada a uma radiação UV.

As micrografias não apresentam diferenças significativas entre elas em termos morfológicos, nem em comparação com as micrografias das amostras controlo Figura 55 e Figura 56 respetivamente. Ambas apresentam as protuberâncias apresentadas anteriormente em outras amostras, e atribuídas ao silício presente no reticulante.

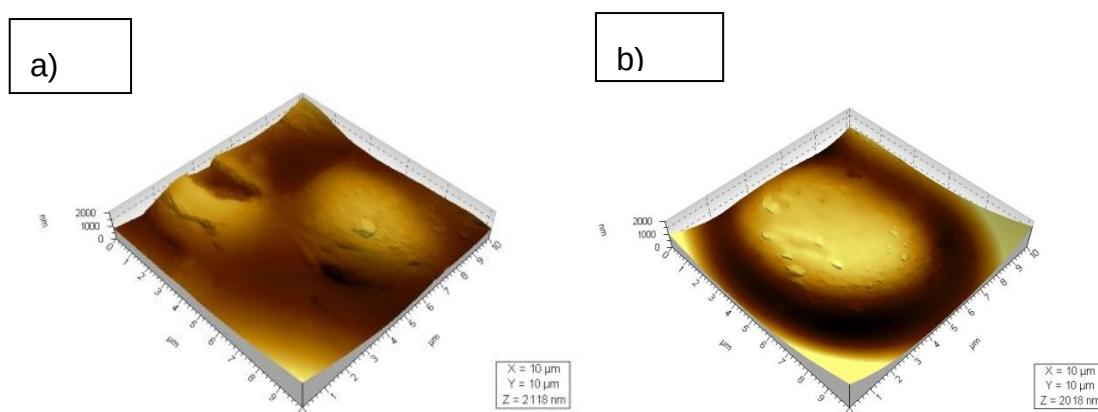


Figura 60: Micrografia de microscopia de força atômica das amostras após exposição ao UV. **a)** Amostra controlo; **b)** amostra β -CDs 2%.

5 – Considerações finais

Da análise e discussão dos resultados obtidos, podemos retirar diversas conclusões, que são apresentadas de seguida.

De uma forma geral os objetivos propostos foram conseguidos. Com o trabalho realizado e descrito neste relatório testou-se a não alteração das propriedades, pela inclusão de ciclodextrinas, em substratos poliméricos, (2) desenvolveu-se um método capaz de as quantificar e detetar em substratos sólidos, e adicionalmente (3) demonstrou-se que as ciclodextrinas podem complexar com macromoléculas orgânicas (apesar de não se ter realizado este teste com as ciclodextrinas no substrato polimérico).

Para além dos objetivos propostos, o trabalho também permitiu concluir que o uso da barra de Mayer permitiu criar uma camada uniforme do revestimento polimérico, com cerca de 6 micron de espessura.

Adicionalmente, a laca aditivada com as ciclodextrinas não apresenta alterações significativas em termos de desempenho e propriedades, como se comprovou através das análises efetuadas e discutidas no capítulo 4. De facto, os testes de desempenho e de envelhecimento não apresentaram diferenças significativas entre os substratos de controlo e os substratos contendo as diferentes percentagens mássicas de ciclodextrinas. Este facto prova que, de um ponto de vista industrial, será possível utilizar as ciclodextrinas como aditivos à laca de poliuretano.

Os procedimentos de limpeza manual e de “*soiling*” provocaram alterações na morfologia da superfície do substrato, como se comprovou com as micrografias de SEM. De uma forma geral todos os testes de envelhecimento e desempenho provocaram uma perda no sinal obtido com o método da fenolftaleína, em que o sinal menos intenso indica uma perda ou alteração das propriedades adsorventes das ciclodextrinas.

O método de quantificação da capacidade de complexação desenvolvido com a fenolftaleína permite obter resultados reprodutíveis e com sensibilidade

suficiente a ponto de notar as diferenças na absorvância, apesar de pequenas, para os substratos preparados com uma pequena quantidade de ciclodextrinas.

O método de quantificação da capacidade de complexação proposto com a cromatografia gasosa, apesar de ser bastante sensível, não permitiu quantificar as ciclodextrinas pelo método desenvolvido com a cromatografia gasosa. Através da aplicação das isotérmicas de adsorção aos resultados experimentais, nota-se que os substratos apresentam um coeficiente de afinidade superior ao coeficiente de afinidade apresentado pelas ciclodextrinas.

Será necessário continuar a desenvolver o método, tendo como objetivo a avaliação da capacidade de adsorção das ciclodextrinas e a sua quantificação.

As técnicas de caracterização utilizadas ao longo do capítulo 4, como TGA, EDS, SEM, AFM, FTIR-ATR, não permitiram inferir diretamente sobre a presença ou ausência das ciclodextrinas, apesar de os resultados obtidos indicarem a sua presença, ainda que de forma não assertiva. A sua presença e quantificação foram conseguidas com o método desenvolvido com recurso à fenolftaleína.

Como trabalho futuro, será necessário continuar a desenvolver os métodos de deteção e quantificação de ciclodextrinas imobilizadas em substratos sólidos e avaliar a capacidade de adsorção de componentes voláteis por parte das ciclodextrinas quando imobilizadas. Será ainda necessário continuar o estudo com as macromoléculas orgânicas, por forma a perceber os mecanismos de fixação das ciclodextrinas com os substratos sólidos.

Bibliografia:

- [1] Villiers.A; Sur la transformation de la fécule en dextrine par le ferment butyrique; Comptes Rendus de l'Académie des Sciences, 1891, p 435.
- [2] Schardinger, F; Z. Unters. Nahr. u. Genussm. 1903, v.6, p 865.
- [3] Schardinger, F; Zentralbl. Bakteriол. Parasitenk. Abt. 2 , 1911,v.29, p 188
- [4] Pringsheim, H; Chemistry of the Saccharides; McGraw-Hill: New York, 1932, p 280.
- [5] Freudenberg, K; Blomquist G.; Ewald, Lisa; Soff, K. Ber, Deutschen Chemischen Gesellschaft., 1936, v.69, p 1258.
- [6] Karrer P; Helvetica Chimica Acta, 1921, v.4, p 169.
- [7] Miekeley, A. Ber; Deutschen Chemischen Gesellschaft, 1932, v.65, p 69.
- [8] French, D, Advances in Carbohydrate Chemistry, 1957, v.12, p 189
- [9] Cramer, F; Einschlussverbindungen (Inclusion Compounds); Springer-Verlag, Berlin, 1954.
- [10] Freudenberg, K; Cramer, F.; Plieninger, H; Germany Patent, 1953, p 895.
- [11] Thoma, J. A.; Stewart, L. Starch, I.; Whistler, R; L., Paschall, E. F; Chemistry and Technology Eds, Academic Press: New York, 1965, p 209.
- [12] Caesar, G. V; Radley, J. A; Starch and its Derivatives; Ed.; Chapman and Hall: London, 1986, Chapter X, p 290.
- [13] Szejtli, J; Introduction and General Overview of Cyclodextrin Chemistry; Chemical reviews, 1998(5), p 1743.
- [14] Atwood, J. L., Davies, J. E. D., Osa, T.;Eds. Clathrate Compounds, Molecular Inclusion Phenomena and Cyclodextrins; Proc. of Third International Symposium on Clathrate Compounds and Molecular Inclusion and the Second

International. Symposium on Cyclodextrins; Tokyo, 1981, D. Reidel Publ. Co.: Dordrecht, 1985.

[15] Atwood, J. L., Davies, E. D.; Eds. Inclusion Phenomena in Inorganic, Organic and Organometallic Hosts, Proc. Third Int. Symposium. on Inclusion Phenomena and the Third International Symposium on Cyclodextrins; Lancaster, 1986; D. Reidel Publ: Dordrecht, 1987; p 455.

[16] Huber, O., Szejtli, J; Eds. Proc. Fourth International Symposium on Cyclodextrins, Munich, 1988; Kluwer Academic Publications; Dordrecht, 1988.

[17] Duchene, D., Ed. Minutes of the Fifth International Symposium on Cyclodextrins, Paris, 1990; Editions de Sante Paris.

[18] Hedges, A. R., Ed. Minutes of the Sixth International Symposium on Cyclodextrins, Chicago, 1992; Editions de Sante Paris.

[19] Osa, T., Ed. Proceedings of the Seventh International Cyclodextrin Symposium, Tokyo, 1994; Publications Office of Business Center for Academic Societies of Japan.

[20] Szejtli, J., Szente, L; Eds. Proceedings of the Eighth International Cyclodextrin Symposium, Budapest, 1996; Kluwer Academic Publications: Dordrecht.

[21] Kitahata, S.; Okada, S; Action of cyclodextrin glycosyltransferase form *Bacillus megaterium* strain n.5 on starch; Agricultural and Biological Chemistry, Tokyo, 1974, v.38, n.12, p. 2413

[22] Rendleman, JR; Enhanced production of cyclomaltoooctase (gamma-cyclodextrin) through selective complexation with C12; Carbohydrates research, 1992, p 343.

[23] Marney Pascoli Cereda¹ "CULTURAS DE TUBEROSAS AMILÁCEAS LATINO AMERICANAS" Capítulo 17 Ciclodextrinas: características e aplicações.

[24] Bertolini, A.C.; Cereda, M.P.; Chuzel, G; Fécula e farelo de mandioca como substrato na produção de ciclodextrinas; Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, 1998, v.18, n.2, p 224.

[25] Szejtli, J; Introduction and General Overview of Cyclodextrin Chemistry; Chemical reviews, 1998 ,v.5, p 1743.

[26] Hodi, K. *et al*; Morphological study of products containing β -Cyclodextrin; Starch/Starke, Weinheim, 1991, v.43, n.5, p 186.

[27] Stella, V. J., & He, Q; Cyclodextrins; Toxicologic pathology, 2008, v.36, p 30 .

[28] Stella, V., Rao, V., Zannou, E., & Zia, V; Mechanisms of drug release from cyclodextrin complexes; Advanced drug delivery reviews, 1999, v.36, p 3.

[29] Orgoványi, J., Oláh, E., H-Otta, K., & Fenyvesi, É; Dissolution properties of cypermethrin/cyclodextrin complexes; Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry, 2008, v.63(1-2), p 53.

[30] Rekharsky, M. V., & Inoue, Y; Complexation Thermodynamics of Cyclodextrins; Chemical reviews, 1998, v.5, p 1875.

[31] Pszczola, D.E; Production and potential food applications of cyclodextrins; Food Technology, Chicago, 1988, v.42, p 96.

[32] Van de Manakker, F., Vermonden, T., van Nostrum, C. F., & Hennink, W. E; Cyclodextrin-based polymeric materials: synthesis, properties, and pharmaceutical/biomedical applications; Biomacromolecules, 2009, v.10, p 3157.

[33] Szejtli, J; Utilization of cyclodextrins in industrial products and processes; Journal of Materials Chemistry, 1997, v (4), p 575.

[34] Advanced Materials and Structure and their process, Third edition, Narvik University College, Chapter 3.

[35] Bikiaris, D; Can nanoparticles really enhance thermal stability of polymers? Part II: An overview on thermal decomposition of polycondensation polymers; *Thermochimica Acta*, 2011, 523(1-2), p 25.

[36] Higuchi T, Connors KA; Phase solubility techniques; *Advanced Analytical Chemical Instruments*, 1965, v.4, p 117.

[37] Fielding L; Determination of Association Constant (K_a) from Solution NMR Data; *Tetrahedron*, 2000; v.56, p 6151.

[38] Cobas JC, Martin-Pastor M; A homodecoupled diffusion experiment for the analysis of complex mixtures by NMR; *Journal Magnetic Resonance*, 2004, v.171(1), p 20.

[39] Manzoori JL, Abdolmohammad-Zadeh H, Amjadi M; Study on the inclusion complex between β -cyclodextrin and celecoxib by spectrofluorimetry and its analytical application; *Farmaco*, 2005, v 60, p 575.

[40] Zia V, Rajewski RA, Stella VJ; Effect of cyclodextrin charge on complexation of neutral and charged substrates: comparison of sulfobutyl ether- β -cyclodextrin to hydroxypropyl β - cyclodextrin, *Pharmaceutical Research*, 2001, v.18, p 667.

[41] Pose-Vilarnovo B, Perdomo-Lopez I, Echezarreta-Lopez M, Schroth-Pardo P, Estrada E, Torres-Labandeira JJ; Improvement of water solubility of sulfamethizole through its complexation with β - and hydroxypropyl- β -cyclodextrin. Characterization of the interaction in solution and in solid state; *European Journal Pharmaceutical Science*, 2001, v.13, p 325.

[42] Cirri M, Maestrelli F, Orlandini S, Furlanetto S, Pinzauti S, Mura P; Determination of stability constant values of flurbiprofen-cyclodextrin complexes using different techniques; *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2005a, v.37, p 995.

[43] Lipkowitz KB; Applications of computational chemistry to the study of cyclodextrins; *Chemical Reviews*, 1998, v.98(5), p 1829.

[44] Sciences, A. P., Sur, C. U., & Compostela, S. D; Utilização de ciclodextrinas na formação de complexos de inclusão de interesse farmacêutico; *Pharmaceutical Research*, 2007, (34), p 1.

[45] Cabral Marques HM, Hadgraft J, Kellaway IW; Studies of cyclodextrin inclusion complexes. The salbutamol- cyclodextrin complex as studied by phase solubility and DSC; *International Journal of Pharmaceutics*, 1990, v.63(3), p 259.

[46] Veiga MD, Diaz PJ, Ahsan F; Interactions of griseofulvin with cyclodextrins in solid binary system; *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1998, v.87(7), p 891.

[47] Childs, P. R. N., Greenwood, J. R., & Long, C. A; Heat flux measurement techniques; *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part C, Journal of Mechanical Engineering*, 1999, v.213(7), p 655.

[48] Hedges AR; Industrial applications of cyclodextrins; *Chemical Reviews*, 1998, v.5, p 2035.

[49] Iliescu T, Baia M, Miclaus V; A Raman spectroscopic study of the diclofenac sodium-b-cyclodextrin interaction; *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2004, v.22(5), p 487.

[50] Cao F, Guo J, Ping Q; The physicochemical characteristics of freeze-dried scutellarin-cyclodextrin tetracomponent complexes; *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 2005, v.31(8), p 747.

[51] Cunha-Filho MSS, Landín M, Martínez-Pacheco R, Dacunha-Marinho B; beta-Lapachone; *Acta Crystallographica Section C*, 2006; v.62(8), p 473.

[52] Fernandes CM, Veiga FJB; Effect of the hydrophobic nature of triacetyl-b-cyclodextrin on the complexation with nicardipine hydrochloride: physicochemical and dissolution properties of the kneaded and spray-dried complexes; *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 2002, v.50(12), p 1597.

[53] Cirri M, Rangoni C, Maestrelli F, Corti G, Mura P; Development of fast-dissolving tablets of flurbiprofen- cyclodextrin complexes; Drug Development and Industrial Pharmacy, 2005b, v.31(7), p 697.

[54] Fromming K, Szejtli, J; Cyclodextrin in pharmacy; Dordrecht: Kluwer Academic, 1994, p 219.

[55] Taneri F, Gueneri T, Zoltan Z, Kata M; Influence of cyclodextrin complexation on the physicochemical and biopharmaceutical properties of ketoconazole; Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry, 2003, v.47(1-2), p 15.

[56] Gargallo L, Vargas D, Leiva A, Radic D; Surface properties of inclusion complexes between α -cyclodextrin and poly (ethylene oxide); Journal of Colloid and Interface Science, 2006, v.301(2), p 607.

[57] Yoshida, H., Kataoka, T., & Ruthven, D. M; Analytical solution of the breakthrough curve for rectangular isotherm systems; Chemical Engineering Science, 1984, v.39(10), p 489.

[58] Benedito.I.S; Cinética Química das Reações Homogêneas; Editora Edgard Blucher, Second edition.

[59] Harold M. McNair, James M. Miller ; Basic gas chromatography; John Wiley & Sons, Inc. Second edition, 2009.

[60] Cadena, P. G., Oliveira, E. C., Araújo, A. N., Montenegro, M. C. B. S. M., Pimentel, M. C. B., Lima Filho, J. L., & Silva, V. L; Simple determination of deoxycholic and ursodeoxycholic acids by phenolphthalein-beta-cyclodextrin inclusion complex; Lipids, 2009, v.44(11), p 1063.

[61] Uyar, T., Havelund, R., Nur, Y., Hacaloglu, J., Besenbacher, F., & Kingshott, P; Molecular filters based on cyclodextrin functionalized electrospun fibers; Journal of Membrane Science, 2009, v.332(1-2), p 129.

[62] Nicholas P. Cheremisinoff; Polymer Characterization Laboratory Techniques and Analysis; Noyes Publications, 1996.

[63] K.Peter,C.Vollhardt,Neil E.Shore; Química Orgânica; Bookman, 2004, fifth edition.

[64] V. J. Morris, A. Patrick Gunning A. R. Kirby; Atomic Force Microscopy for Biologists; Imperial College Press, 1999.

[65] Heinz-Helmut Perkampus,H. Charlotte Grinter, T. L. Threlfall; UV-VIS spectroscopy and its applications; Springer Laboratory, 1992.

[66] Hugh D.Burrows, Mariette M. Pereira; Química Síntese e Estrutura – uma abordagem prática; escolar editora, 2006, p 67.

[67] Douglas A. Skoog, Donald M. West, F. James Holler, Standley R. Crouch; Fundamentos de Química Analítica; tradução da 8ª edição,2006, p 899.

[68] Theresa K. Natishan, Yan Wu; Residual solvents determination in the antibiotic L-749,345 by static headspace gas chromatography; Journal of Chromatography A, 1998, p 275.

[69] N. H. Snow, G. P. Bullock; Novel techniques for enhancing sensivity in static headspace ectraction-gas chromatography; Journal of Chromatography A, 2010.

[70] H. Becker, Werner Berger, Günter Domschke;Organikum - ``Química Orgânica Experimenta``l, F. C. Gulbenkian, 2ª edição, 1997.

[71] van de Manakker, F., Vermonden, T., van Nostrum, C. F., &Hennink, W. E; Cyclodextrin-based polymeric materials: synthesis, properties, and pharmaceutical/biomedical applications; Biomacromolecules, 2009, v.10(12), p 3157.

[72] <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.20939.html>

[73] *B. Subramanyam; A; Linearized and non-linearized isotherm models comparative study on adsorption of aqueous phenol solution in soil; International Journal of Environmental Science and Technology; 2009, v.6 (4), p 633.

[74] Péan, C., Créminon, C., Wijkhuisen, A., Perly, B., & Djedaïni-Pilard, F; Reliable NMR experiments for the study of β -cyclodextrin/prostaglandin E2 inclusion complex. [Apport de la RMN pour l'etude en solution du complexe β -cyclodextrine/prostaglandine E2]; Journal De Chimie Physique Et De Physico-Chimie Biologique, 1999, v.96(9-10), p 1486.

[75] Bratu, I., Veiga, F., Fernandes, C., Hernanz, A., & Gavira, J. M; Infrared spectroscopic study of triacetyl- β -cyclodextrin and its inclusion complex with nicardipine; Spectroscopy, 2004, v.18(3), p 459.

[76] Sharma, M. C., & Sharma, S; Studies on the preparation, characterization, solubility and stability of cefadroxil - β -cyclodextrin inclusion complexes; Journal of Optoelectronics and Advanced Materials, 2010, v.12(2), p 411.

[77] Socrates, G; Infrared and Raman Characteristic Group Frequencies: Tables and Charts; Wiley, Third edition, 2004.

[78] <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/c4805?lang=pt®ion=PT> , consultado em 25-03-2012.

[79] Delgado, A. H., Howell, G., Ober, R., Oliveira, P. E., Peterson, A., Boon, R., & Paroli, R. M; Investigation of the effect of heat on specially formulated thermoplastic polyolefin (TPO) films by thermogravimetry, dynamic mechanical analysis, and fourier transform infrared spectroscopy; Journal of ASTM International, 2007, v.4(8), p 158.