

Revestimentos Funcionais de Base Quitosano Desenvolvimento de Aplicações para a Indústria do Calçado

Maria Catarina Gomes de Barros

*Dissertação apresentada à Escola Superior de Tecnologia e de
Gestão de Bragança para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Química*

Orientado por
Professora Maria Filomena Filipe Barreiro

Esta dissertação não inclui as críticas e sugestões feitas pelo Júri

**Bragança
2008**

Ao Vasco

AGRADECIMENTOS

É um privilégio trabalhar sob o comando da minha orientadora Professora Filomena Barreiro. Agradeço profundamente o seu encorajamento, orientação e paciência na conclusão deste trabalho.

À Isabel Fernandes por toda a assistência técnica e orientação no laboratório, assim como todo o apoio moral que me incutiu durante o desenvolvimento deste trabalho.

Ao departamento de química da ESTIG, pelas instalações e todo o material dispensado para a elaboração deste trabalho e aos professores que de modo directo me proporcionaram a formação académica adequada.

Ao grupo POLIUNA da Universidad de Heredia – Costa Rica, pela oferta da amostra de quitosano utilizada neste trabalho, sendo proveniente da sua fábrica piloto localizada no Parque Marinho de Punta Arenas.

Ao Centro Tecnológico do Calçado Português (CTCP) na pessoa da Dra. Maria José Ferreira pela proposta do tema e pela informação disponibilizada para o enquadramento industrial do tema.

SUMÁRIO

O termo revestimento emerge do conceito clássico de protecção, tendo sido desenvolvido para responder a um determinado estímulo. Deste conceito surgem dois tipos de revestimentos principais, os revestimentos orgânicos e os revestimentos funcionais, podendo também existir um terceiro tipo revestimento obtido a partir da junção dos dois anteriores, denominados camadas híbridas.

O quitosano é um polímero que apresenta características motivadoras para o seu uso como revestimento funcional. A sua grande abundância faz dele um recurso economicamente atractivo com características de elevado interesse para determinadas áreas específicas, incluindo a biomédica. Uma das características mais focadas nas suas aplicações é o seu poder antimicrobiano.

Neste trabalho foi estudada a viabilidade de se fabricarem revestimentos funcionais de base quitosano, com ou sem a incorporação de aditivos, e a sua aplicabilidade à indústria do couro como material base para a produção de componentes para a indústria do calçado. O desenvolvimento experimental compreendeu três partes distintas para a formação de revestimentos funcionais de base quitosano: (1) Formação de microcápsulas pelo método de coacervação simples, utilizando um sistema óleo-em-água; (2) Formação de filmes de quitosano pelo método da evaporação do solvente e (3) Formação de filmes incorporando microcápsulas.

Fazendo uma análise detalhada ao processo produtivo do couro, os revestimentos funcionais desenvolvidos experimentalmente, podem ser inseridos em duas etapas do processo: Curtume ou Acabamentos.

PALAVRAS-CHAVE: Revestimentos funcionais, Quitosano, Microencapsulação, Couro

Summary

The terminology coating emerges from the classical concept of protection that has been developed to respond to a given stimulus. From this concept arise two main types of coatings, organic and functional coatings. It may also be defined a third type of coating obtained from the combination of the last two, called hybrid layers.

Chitosan is a biopolymer with unique properties for being used as a functional coating. Its abundance makes it an economically attractive resource with characteristics suited for specific areas, for example, biomedical applications. One of the most relevant characteristic is its antimicrobial activity.

In the present work the feasibility of producing chitosan-based functional coatings was studied, with or without the incorporation of additives and, thereafter, its applicability to the leather as a base material to produce footwear components evaluated. The experimental development comprised three main topics: (1) Production of microcapsules by simple coacervation using an oil-in-water system; (2) Production of chitosan-based films by the solvent evaporation technique and (3) Production of films with incorporated microcapsules.

Moreover, a detailed analysis of the leather productive process pointed out for the viability of introducing the developed functional coatings into two distinct stages of the process: Tanning and Finishing.

KEYWORDS: Functional coatings, Chitosan, Microencapsulation, Leather

ÍNDICE

1. Introdução	1
1.1. Importância, motivação e objectivos	2
1.2. Organização da tese	3
2.1. Definição de Revestimento Funcional	5
2.2. Quitosano: Obtenção e Propriedades	7
2.3. Técnicas de Preparação	13
2.4. Aplicações	16
2.5. Óleos essenciais	20
3. Desenvolvimento experimental	23
3.1. Objectivos Experimentais	24
3.2. Caracterização do quitosano	24
3.3. Produção de microcápsulas	27
3.3.1. Sistema Químico	27
3.3.2. Procedimento experimental	27
3.3.3. Análise e Discussão dos Resultados	34
3.4. Produção de filmes	42
3.4.1. Sistema químico	42
3.4.2. Procedimento experimental	42
3.4.3. Análise e Discussão dos Resultados	44
3.5. Introdução de microcápsulas nos filmes de quitosano	47
3.5.1. Análise e Discussão dos Resultados	47
4. Aplicações Para a Indústria do Calçado	49
4.1. Enquadramento dos Revestimentos Funcionais na Indústria do calçado	50
4.2. Considerações sobre o processo de produção do couro	51
4.3. Introdução do revestimento funcional no processo produtivo do couro	53
5. Conclusões e perspectivas de trabalho futuro	59
6. Referências Bibliográficas	63

7. Anexos	69
Anexo A. Cálculos efectuados na elaboração das microcápsulas	I
Anexo B. Cálculos efectuados na elaboração dos filmes	III
Anexo C. Fichas técnicas dos reagentes	IV

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Tipos de revestimentos funcionais.....	6
Figura 2.1. Estrutura química do quitosano.....	7
Figura 2.2. Estrutura química da quitina.....	7
Figura 2.3. Estrutura química da celulose.....	8
Figura 2.4. Posição das cadeias das formas α e β -quitina.	9
Figura 2.5. Processo de desacetilação da Quitina.	10
Figura 2.6. Relação estrutural entre a quitina e os seus produtos, quitosano e quitano.	10
Figura 2.7. Representação esquemática do mecanismo de processo húmido de obtenção de um filme de quitosano.....	13
Figura 2.8. Ilustração de um filme de quitosano adesivo no tratamento de uma ferida.	18
Figura 3.1. Espectro de infravermelho do quitosano, com representação das duas linhas de base a) e b).	26
Figura 3.2. Representação esquemática do procedimento geral para obtenção de microcápsulas.	28
Figura 3.3. Reacção de protonação dos grupos amino do quitosano.	30
Figura 3.4. Reacção de reticulação do quitosano com glutaraldeído	33
Figura 3.5. Etapas de preparação das microcápsulas.	34
Figura 3.6. Resultados dos testes aos emulsionantes.	36
Figura 3.7. Resultados obtidos na formulação de microcápsulas. Estas encontram-se dispersas em água destilada.	39
Figura 3.8. Microcápsulas reticuladas sem diluição prévia (Mic1_1) e com diluição prévia (Mic1_2).	40
Figura 3.9. Resultados obtidos na formulação de microcápsulas. Estas encontram-se dispersas em solução de ácido acético 3% (v/v). Na Mic 2 observa-se a destruição da parede (óleo sem estar encapsulado).	41

Figura 3.10. Representação esquemática para a formação de filmes de quitosano. ----	42
Figura 3.11. Filmes em que no procedimento não foram adicionados quaisquer aditivos -----	44
Figura 3.12. Filmes em que no procedimento foram adicionados aditivos-----	45
Figura 3.13. Filmes em que no procedimento foram empregues dois métodos de secagem. -----	45
Figura 3.14. Filmes de quitosano com incorporação de microcápsulas directamente na solução de quitosano.-----	48
Figura 3.15. Filmes de quitosano com incorporação de microcápsulas directamente na superfície do filme seco-----	48
Figura 4.1. Aplicações do couro. -----	51
Figura 4.2. Esquema simplificativo do processo produtivo do couro. -----	52
Figura 4.3. Processo produtivo do couro com introdução de revestimentos funcionais.	57

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 2.1. Exemplos de formação de filmes de quitosano recorrendo a aditivos. -----	15
Tabela 2.2. Caracterização química e organoléptica de alguns óleos essenciais. -----	22
Tabela 3.1. Métodos empregues na determinação do grau de desacetilação. -----	25
Tabela 3.2. Valores utilizados na determinação das absorvâncias das bandas hidroxilo e amida. -----	26
Tabela 3.3. Gama de aplicação dos emulsionantes e correspondentes índices HLB. ----	29
Tabela 3.4. Condições de operação para obtenção das microcápsulas. -----	35
Tabela 3.5. Resultados da selecção dos tempos de agitação. -----	37
Tabela 3.6. Condições de operação para obtenção das filmes. -----	46
Tabela 3.7. Condições de operação para obtenção das filmes com microcápsulas. -----	47
Tabela 4.1. Exemplos de aplicações de revestimentos funcionais no couro.-----	50
Tabela 4.2. Operações de cada fase do processo produtivo do couro. -----	54

LISTA DE ABREVIÇÕES

A_{1655} – Absorvância dos grupos amida

A_{3400} – Absorvância dos grupos hidroxilo

HLB – Hidrophilic-lipophilic balance

FO – Fase orgânica

FA – Fase aquosa

X – Razão entre o número de moles de glutaraldeído e o número de moles da unidade repetitiva do quitosano

SQ – Solução de quitosano

VFO – Volume da fase orgânica

VFA – Volume da fase aquosa

VSM – Volume da solução de microcápsulas

1. INTRODUÇÃO

1.1. IMPORTÂNCIA, MOTIVAÇÃO E OBJECTIVOS

O quitosano é um polissacarídeo de origem natural que tem sido alvo de investigação intensiva nas últimas décadas. Tem capacidade para exibir características únicas, tais como: ter poder antimicrobiano, ser biocompatível, ser biodegradável e não-tóxico, ser capaz de formar filmes e, conseqüentemente, estar apto a ser utilizado em revestimentos funcionais. Estas características tornam-no atractivo para aplicações em diversos sectores industriais, sendo os de maior interesse a indústria farmacêutica, médica e alimentar.

A procura de conforto, segurança, design e recentemente a conquista de clientes mais exigentes tem conduzido a indústria do calçado à investigação e desenvolvimento de novos produtos. Encontrar materiais que garantam a diferenciação do produto final no mercado é uma aposta necessária para competir com a concorrência. A indústria do couro tem um papel importante na confecção de componentes para calçado constituindo uma mais-valia o desenvolvimento de produtos com funcionalidades específicas que possibilitem o fabrico de calçado de valor acrescentado. Desta forma abrem-se novos nichos de mercado vocacionados para satisfazer um consumidor cada vez mais exigente.

Tendo como motivação aliar as características do quitosano às necessidades emergentes da indústria do calçado no presente trabalho pretende desenvolver-se um material de revestimento para aplicação em couro – revestimento funcional. As propriedades do quitosano serão complementadas pela adição e/ou encapsulação de princípios activos, por exemplo óleos essenciais, que ficarão distribuídos numa matriz de filme. Será estudado ainda o processo de produção do couro com vista a estabelecer a melhor fase de introdução do material de revestimento que deverá ser realizada, idealmente, na fase de curtume ou acabamento.

1.2. ORGANIZAÇÃO DA TESE

No capítulo 2, **Revestimentos Funcionais de Base Quitosano**, é apresentada uma revisão bibliográfica sobre tipos e formas de revestimento. Foca-se ainda a forma de obtenção do quitosano, principais propriedades e aplicações. Neste capítulo faz-se também uma abordagem ao uso dos óleos essenciais e a sua aplicação como aditivos face às suas propriedades.

No capítulo 3, **Desenvolvimento Experimental**, faz-se a caracterização do quitosano, assim como o desenvolvimento dos procedimentos para a formação de microcápsulas e filmes de quitosano. O capítulo termina com o desenvolvimento experimental de revestimentos de quitosano com microcápsulas incorporadas. Durante cada etapa é feita a análise e discussão os resultados obtidos.

No capítulo 4, **Aplicações Para a Indústria do Calçado**, faz-se o enquadramento dos revestimentos funcionais na indústria do calçado, efectuando-se considerações sobre o processo produtivo do couro. Mediante as observações efectuadas é feita uma discussão sobre a introdução dos revestimentos funcionais desenvolvidos experimentalmente na cadeia do processo produtivo do couro.

No capítulo 5, **Conclusões e Perspectivas de Trabalho Futuro**, são apresentadas algumas considerações finais sobre o trabalho e sugestões para futuros trabalhos em aplicações na indústria do calçado.

2. Revestimentos Funcionais de Base Quitosano

2.1. DEFINIÇÃO DE REVESTIMENTO FUNCIONAL

Não é possível definir revestimento funcional sem inicialmente explorar o termo "Revestimento". É do senso comum a noção de que praticamente tudo o que nos rodeia está protegido por um revestimento, isto é, o Homem teve a necessidade de criar um material, que normalmente é um líquido, aplicável em superfícies, que após secagem se apresenta como um filme ou película. Os revestimentos funcionais emergem do conceito de protecção para além deste conceito clássico, ou seja, são revestimentos que têm a capacidade de responder a um determinado estímulo, dependendo da função para que foram desenvolvidos.

Os revestimentos são usados para fins decorativos, protecção ou de funcionalidade, sendo o mais comum utilizar um revestimento que combine as três necessidades. Deste conceito surgem as duas principais formas de revestimento, os revestimentos orgânicos, normalmente utilizados para fins decorativos ou funcionais e os revestimentos inorgânicos, usados fundamentalmente com o fim de protecção. Podem ainda aparecer revestimentos em que coexistam as duas formas de revestimento, denominadas camadas híbridas (Wicks et al., 2007).

Os revestimentos funcionais são classificados em diferentes tipos dependendo da sua forma de actuação, isto é, se actuam por estímulo químico, físico, térmico ou mecânico. Alguns exemplos das funcionalidades apresentadas por este tipo de revestimentos referem-se a propriedades ópticas, térmicas, higiénicas, físico-químicas, eléctricas e magnéticas. De salientar que os revestimentos funcionais activados quimicamente desempenham a sua actividade na interface do filme com a superfície onde está aplicado (revestimento anticorrosivo), no interior do filme (retardador de chama ou intumescente) ou na interface do filme com o meio envolvente (antibacteriano) (Ghosh, 2006). Um resumo destas propriedades e dos diferentes tipos de revestimentos funcionais estão esquematizados na figura 1.1.

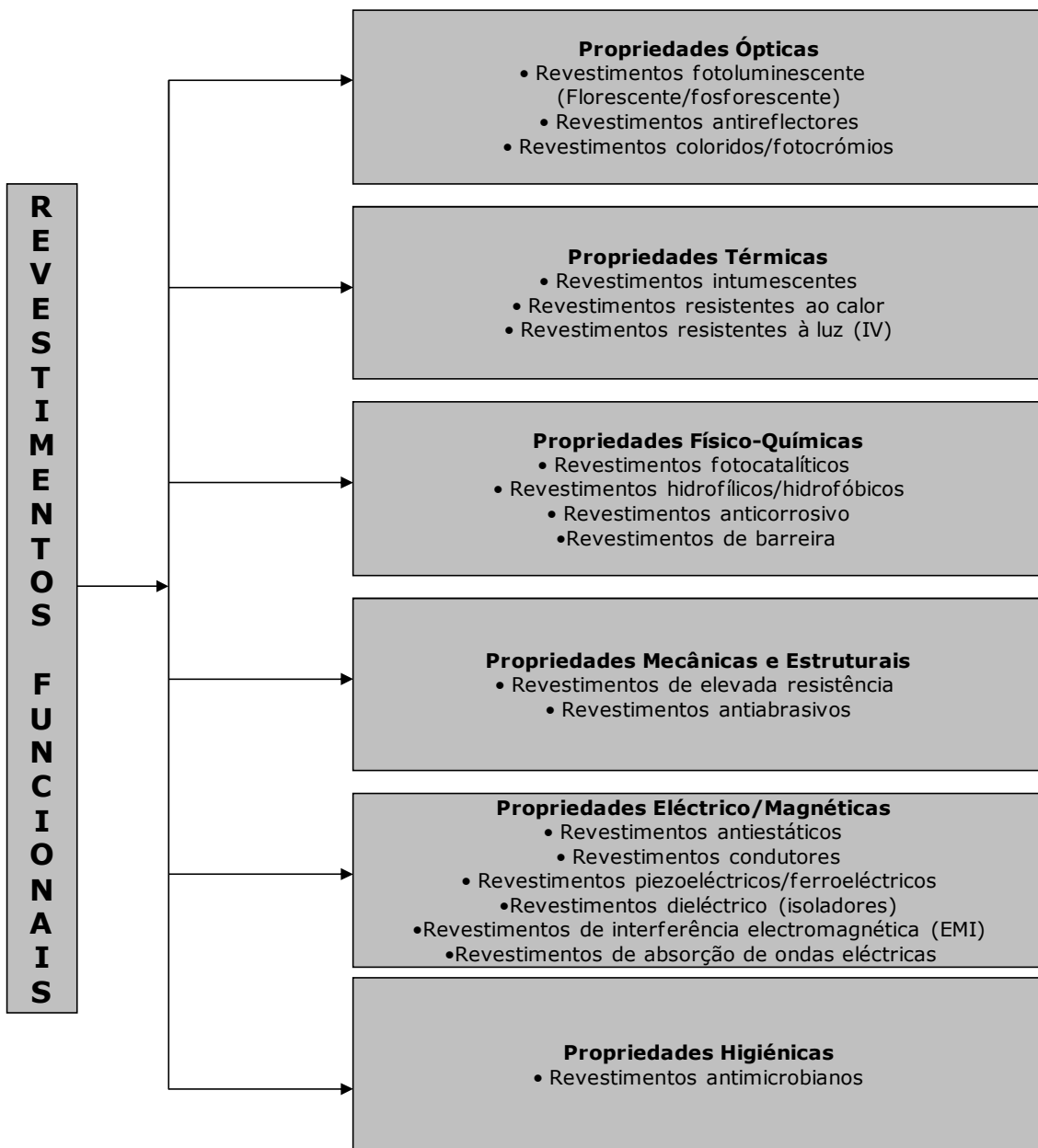


Figura 1.1. Tipos de revestimentos funcionais.
(in Ghosh, 2006)

2.2. QUITOSANO: OBTENÇÃO E PROPRIEDADES

O quitosano é um polissacarídeo catiónico linear de origem natural, composto por unidades de glucosamina unidas a unidades de acetilglucosamina por ligações glicosídicas do tipo $\beta(1\rightarrow4)$ (Peniche et al., 2003). A figura 2.1 ilustra uma possível configuração química do quitosano.

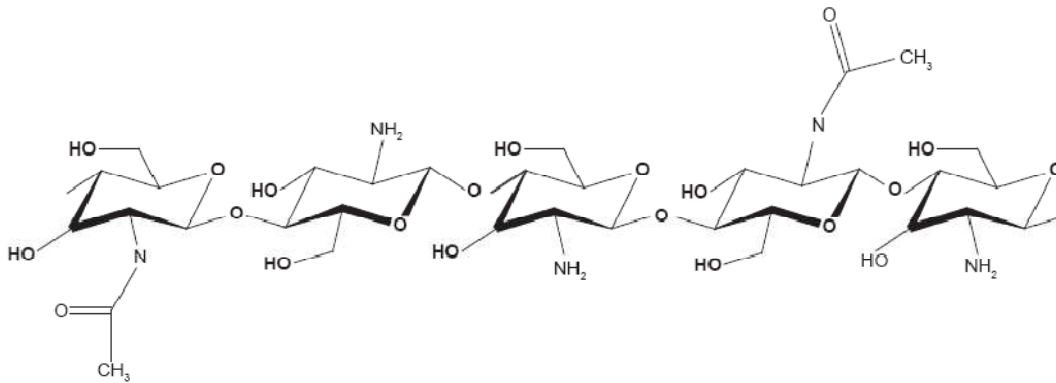


Figura 2.1. Estrutura química do quitosano.
(in Borgognoni et al., 2006)

Embora a sua estrutura se encontre raramente na natureza, industrialmente é obtido por um processo de desacetilação alcalina da quitina. A quitina, sua precursora (formada por unidades de N-acetil-D-glucosamina unidas por ligações do tipo $\beta(1\rightarrow4)$), é o segundo polímero mais abundante na natureza, sendo apenas superado pela celulose. Ambos os polímeros possuem estruturas moleculares similares, distinguindo-se apenas no grupo substituinte do carbono 2 do anel da glucopiranoose, em que na quitina é um grupo acetamida (figura 2.2) e na celulose é um grupo hidroxilo (figura 2.3) (No et al., 2007).

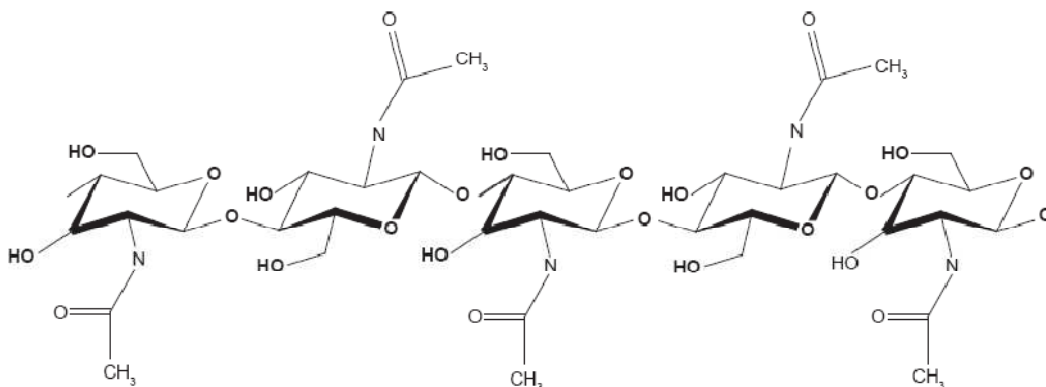


Figura 2.2. Estrutura química da quitina.
(in Borgognoni et al., 2006)

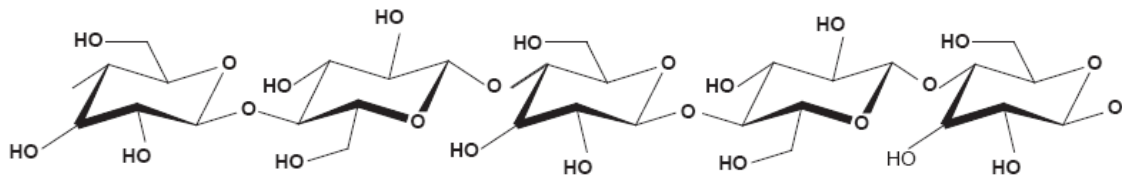


Figura 2.3. Estrutura química da celulose.
(in Pinto, 2005)

A quitina é sintetizada por um elevado número de organismos, encontrando-se preferencialmente nos artrópodes, mais especificamente crustáceos (camarão, lagosta, caranguejo e krill), insectos, parede celular de fungos e leveduras, assim como em células de plantas de baixo porte (Chesnutt et al., 2007; Rinaudo, 2006; Prashanth et al., 2002). Dependendo da fonte de obtenção, a estrutura cristalina da quitina figura na natureza sob duas formas polimórficas, a α e a β -quitina. Uma terceira morfologia é descrita na literatura, γ -quitina, que após análises detalhadas conclui-se ser uma variante da família α . A forma α é a mais abundante, aparecendo por exemplo na parede celular dos fungos e leveduras, no krill, nos tendões e carapaças das lagostas e caranguejos assim como na carapaça dos camarões e na cutícula dos insectos. Uma particularidade desta forma produzida por alguns organismos marinhos é apresentar elevada cristalinidade e simultaneamente elevada pureza, ou seja, ausência de pigmentos, proteínas ou cálcio. Um aspecto importante da forma α é a de poder ser sintetizada a partir da recristalização de uma solução, da biosíntese *in vitro* ou por polimerização enzimática. Quando as moléculas estão presentes nesta forma posicionam-se antiparalelamente, resultando em fortes ligações de hidrogénio intermoleculares. Por oposição, a forma β não é passível de ser sintetizada a partir de solução ou por biosíntese *in vitro* e é encontrada associada a proteínas nas lulas e algumas espécies de minhocas, estando as moléculas posicionadas paralelamente (Rinaudo, 2006). A figura 2.4 esquematiza a posição das cadeias das formas α e β -quitina.

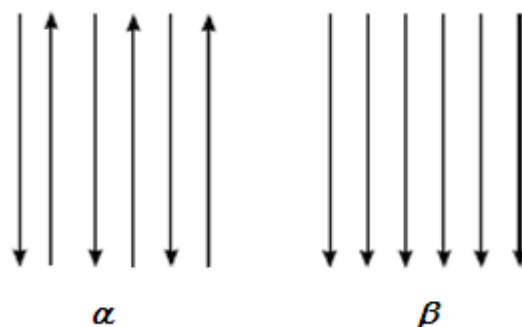


Figura 2.4. Posição das cadeias das formas α e β -quitina.
(in Pinto, 2005)

Industrialmente a quitina é obtida das conchas dos crustáceos por tratamento ácido para a dissolução do carbonato de cálcio seguido de extracção alcalina para a solubilização das proteínas. Por fim, é necessário aplicar uma etapa de descoloração para remover quase na totalidade a pigmentação, resultando num produto incolor, o que para certas aplicações se torna indispensável (Rinaudo, 2006).

Segundo Aoi et al. (2000) a quitina, apesar de ser um polissacarídeo de grande potencialidade, tem ainda escassa aplicabilidade, devido sobretudo à sua baixa solubilidade e tratamento complicado (a sua estrutura cristalina causa dificuldades nas modificações químicas, especialmente da forma α -quitina), que resultam das fortes ligações de hidrogénio entre as cadeias poliméricas. Com vista a ultrapassar esta restrição, a quitina é submetida a um processo, designado por desacetilação, onde lhe são retirados os grupos acetamida. A conversão de quitina em quitosano pode ser por desacetilação alcalina homogénea, heterogénea ou por meios enzimáticos (Peniche et al., 2003; Prashanth et al., 2001). O quitosano obtido a partir de condições heterogéneas não é solúvel em água o que, por oposição, é conseguido em condições homogéneas de desacetilação da quitina (Peniche et al., 2003).

O processo de desacetilação pode também ser realizado em meio ácido, embora não seja aconselhado, uma vez que as ligações glicosídicas são susceptíveis à hidrólise ácida. Por outro lado, a desacetilação alcalina, mesmo sendo a mais empregue, não visa obter quitina totalmente desacetilada, isto é, com 100% de grupos amino. Para tal, é necessário utilizar condições de reacção severas (altas temperaturas e concentrações de base elevadas) e tempos de reacção longos, o que provoca, igualmente, degradação das cadeias e obtenção de produtos de baixa massa molecular (Campana e Signini, 2001; Prashanth et al., 2001). Um exemplo do processo de desacetilação alcalina da quitina está representado na figura 2.5.

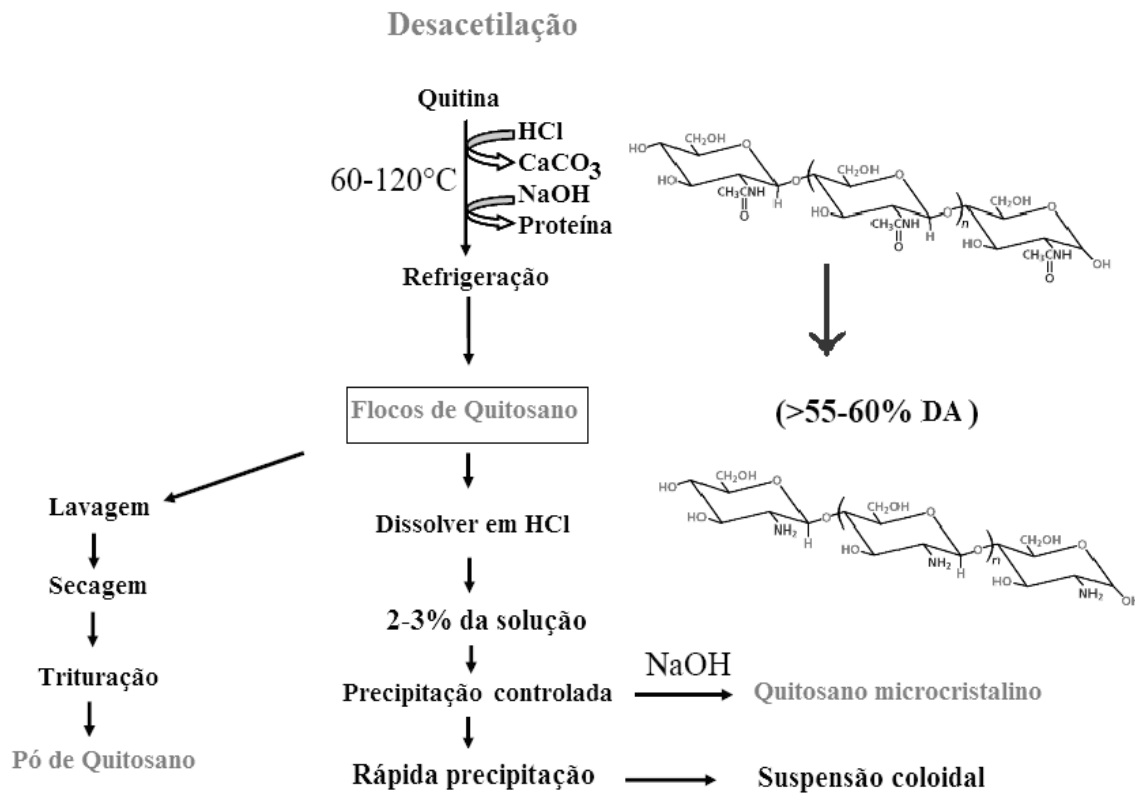


Figura 2.5. Processo de desacetilação da quitina.
(in Kristbergsson, 2007)

A característica que muitos autores usam para distinguir a quitina do quitosano é o número de grupos acetamida, assim, quando após o processo de desacetilação se consegue uma remoção superior a 50% desses grupos, obtém-se quitosano (Moura et al., 2006; Rinaudo, 2006). Por outro lado quando a reação de desacetilação atinge os 100% de conversão o produto final obtido denomina-se de quitano. O diagrama da figura 2.6 ilustra as estruturas químicas destes três polímeros (Velásquez, 2006).

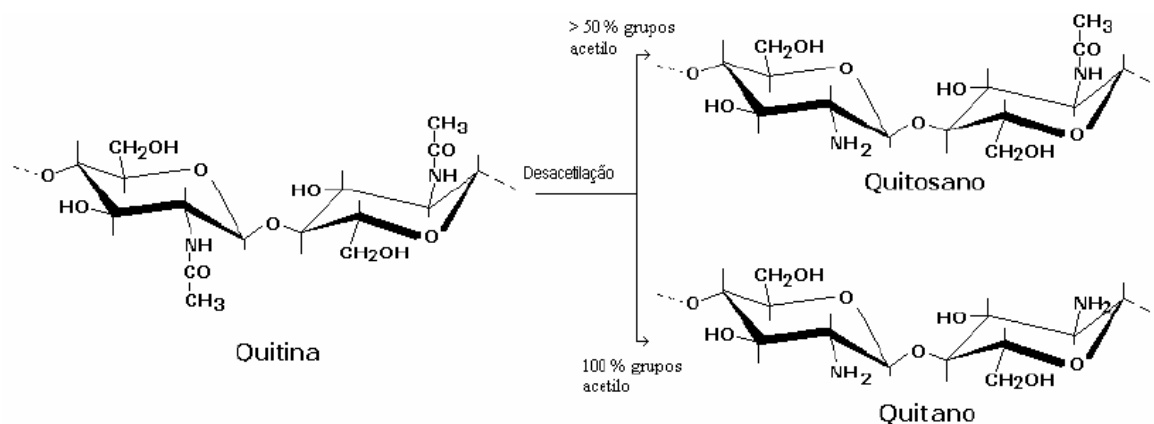


Figura 2.6. Relação estrutural entre a quitina e os seus produtos, quitosano e quitano.
(in Velásquez, 2006)

O crescente interesse demonstrado pelo principal produto da quitina, o quitosano, fez-se sentir, principalmente, durante as últimas décadas. Entre os factores motivadores deste interesse estão, a grande abundância potenciando um recurso economicamente atractivo, a facilidade de tratamento relativamente à quitina e a apresentação de características de elevado interesse para áreas específicas (No et al., 2007). Tal como foi referido anteriormente o quitosano, ao contrário da quitina, é solúvel. Embora pouco solúvel em água, excepto o quitosano quimicamente modificado (Borgognoni et al., 2006), quando em contacto com soluções aquosas de ácidos orgânicos, como por exemplo, ácido acético, fórmico e cítrico e em ácidos inorgânicos diluídos como o ácido clorídrico, nítrico e perclórico, apresenta solubilidade devido a protonação dos grupos amino (Okuyama et al., 2000).

No estado sólido o quitosano apresenta-se como semi-cristalino. Os parâmetros mais utilizados para caracterizá-lo são a solubilidade, o grau de desacetilação, a distribuição dos grupos acetamida, o peso molecular e comprimento das cadeias (Rinaudo, 2006; Okuyama et al., 2000). O quitosano é o único polímero catiónico pseudonatural, com capacidade de ser empregue como solução, gel, filme ou fibra (Rinaudo, 2006). Associado a estas características podem enumerar-se múltiplas propriedades, como: 1) formação de estruturas porosas, 2) função de barreira, 3) adesão e migração celulares, 4) actividade antimicrobiana, especialmente contra agentes patogénicos, 5) bioactividade, 6) hidrofiliçidade, 7) biodegradabilidade, 8) ausência de toxicidade, 9) compatibilidade biológica (não antigénico), 10) propriedades de adsorção e complexação e 11) anti-cancerígeno.

A actividade antimicrobiana do quitosano é uma das propriedades mais importantes, sendo referida por vários autores, e já foi demonstrada contra uma variada gama de fungos, leveduras e bactérias em produtos alimentares (No et al., 2007). Porém é de salientar que esta propriedade se exprime maioritariamente quando o quitosano se encontra em solução, numa gama de pH inferior a 6 e depende fundamentalmente de três características:

- Características da molécula – Massa molecular e grau de desacetilação;
- Outros componentes existentes no sistema – Que dependendo da aplicação podem ser tipo e concentração de ácidos, presença de iões, proteínas, lípidos, etc.
- Condições ambientais de síntese da solução, membrana ou gel – Temperatura, humidade relativa, etc.

O mecanismo de funcionamento proposto e melhor aceite pela comunidade científica é que a carga positiva das moléculas do quitosano interagem com a carga negativa da membrana das bactérias, provocando a fuga de constituintes intracelulares e proteicos, causando a destruição e morte celulares, contudo esta propriedade fica diminuída quando o quitosano se encontra na forma de filme insolúvel (Zivanovic et al., 2005). Um outro mecanismo também proposto é o da interacção entre os produtos hidrolisados difundidos e o ADN microbiano, o que leva à inibição do ARN mensageiro e consequentemente à síntese de proteínas, metais quelantes e nutrientes essenciais ao funcionamento da bactéria (No et al., 2007).

2.3. TÉCNICAS DE PREPARAÇÃO

A capacidade do quitosano se dissolver em meio ácido formando películas ou filmes, conduziu a comunidade científica e de investigação, à maximização das suas potencialidades. Os filmes de quitosano começaram a ser testados química e fisicamente para aplicações em diversas indústrias (Rhoades e Rastall, 2007). Assim, a permeabilidade à água, oxigénio e etileno; as propriedades mecânicas, como a elasticidade, força de tensão, flexibilidade e resistência à ruptura; as propriedades de barreira; o efeito da reticulação e o grau de desacetilação são parâmetros considerados importantes e normalmente alvo de avaliação nos filmes de quitosano (Xu et al., 2005).

Os filmes de quitosano são formados por um mecanismo utilizando o método da evaporação do solvente. Tem como base a dispersão ou solubilização de uma fase polimérica numa fase líquida (normalmente ácida) que é posteriormente vertida numa superfície plana, ocorrendo secagem (Nadarajah, 2005) (figura 2.7). Em soluções ácidas o quitosano comporta-se como um polielectrólito catiónico, variando o seu valor de pK_a entre 6.3 e 7, dependendo do grau de desacetilação (Pinto, 2005). Devido à desprotonação dos grupos amino ($NH_3^+ \rightarrow NH_2$) para valores de pH elevados, normalmente a partir de $pH \approx 6$, o quitosano que se encontrar dissolvido começa a precipitar (Cruz et al., 2000). A secagem dos filmes pode ser feita por convecção natural, podendo ser empregue como líquido na superfície que se deseja proteger formando-se o filme *in situ*, ou por liofilização, normalmente empregue na engenharia dos tecidos, onde o produto final necessita ser tipo esponja ou "armadura" (*scaffolds*) (Nadarajah, 2005).

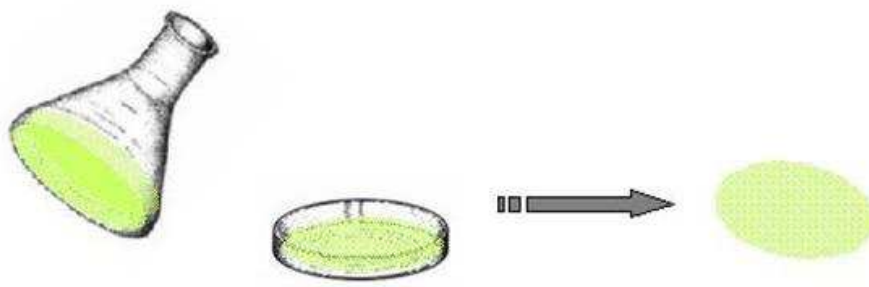


Figura 2.7. Representação esquemática do mecanismo de obtenção de um filme de quitosano.

Durante o processo de secagem os filmes sofrem diversas transformações. Inicialmente, quando se espalha a solução numa superfície, as moléculas do polímero formam ligações entre elas por forças de coesão e electrostáticas. À medida que as forças de coesão aumentam, a superfície do material polimérico começa a coalescer. Gradualmente as cadeias adjacentes vão coalescendo por difusão e aquando do aumento da evaporação da água dá-se um incremento da gelificação, que permite às cadeias do polímero deslizar e aproximarem-se dispondo-se numa camada (Cruz et al., 2000).

No processo de formação do filme uma retracção causada pela evaporação de água provoca a rotura e enrolamento dos filmes. A adição de plastificantes tem como objectivo diminuir estes efeitos, uma vez que as suas moléculas afectam as ligações polímero-polímero, permitindo às cadeias poliméricas alguma liberdade de movimentos, o que resulta num aumento da flexibilidade e redução do brilho dos filmes (Nadarajah, 2005).

Para ser possível a utilização de filmes de quitosano em diversas áreas, foi necessário adaptar e otimizar as suas propriedades pela adição de outros materiais que em conjunto com o quitosano potenciam a resposta desejada. Nesta perspectiva surge o conceito de revestimento funcional de quitosano onde se podem destacar inúmeros exemplos (Tabela 2.1). A derivatização química do quitosano proporciona um meio poderoso promovendo novas actividades biológicas e melhorando as propriedades físicas. Os grupos amina primários da molécula de quitosano são muito reactivos facultando pontos para ligação a outros grupos químicos mediante uma variedade de condições de reacção suaves. A variedade de grupos que podem ser associados ao quitosano é quase ilimitado e estes devem ser escolhidos de modo a fornecer funcionalidades específicas (Suh e Matthew, 2000).

Os filmes de quitosano são caracterizados como resistentes à ruptura e flexíveis (apresentam elasticidade), possuem boas propriedades de barreira úteis para prolongar a vida útil de armazenamento de frutos por inibição do crescimento de fungos causadores da produção de etileno, aumentando os níveis internos de dióxido de carbono e diminuindo os de oxigénio (Pereda et al., 2008).

Tabela 2.1. Exemplos de formação de filmes de quitosano recorrendo a aditivos.

Aplicação	Sistema Químico	Referência
Protecção superficial de alimentos (tomate e cenoura)	Quitosano/Ácido láctico Plastificantes: Glicerol, Sorbitol e Polietileno Glicol Emulsionante: Tween 80	Casariago et al., 2007
Protecção superficial de alimentos (morangos)	Quitosano/Ácido Acético Glacial Emulsionante: Tween 80 Aditivo: Ácido Oleico	Vargas et al., 2006
Protecção superficial de alimentos (salmão sem pele)	Quitosano/Ácido Láctico	Sathivel et al., 2007
Protecção superficial de alimentos	Quitosano/Ácido Acético Plastificante: Glicerol Aditivo: Caseinato de Sódio	Pereda et al., 2008
Protecção superficial de alimentos (carnes processadas)	Quitosano/Ácido Acético Emulsionante: Tween 80 Aditivo: Óleo essencial (Anis, Basílico, Coentro ou Orégão)	Zivanovic et al., 2005
Protecção superficial de alimentos (estado sólido/semi-sólido)	Quitosano/Ácido Acético Plastificante: Glicerol Aditivo: Lisozima	Yanyun et al., 2007
Protecção superficial de embalagens alimentares	Quitosano/Ácido Acético Reticulante: Aldeído	Kittur et al., 1998
Protecção de ferimentos	Quitosano/Ácido Láctico Plastificante: Polietileno Glicol Reticulante: Glutaraldeído Aditivos: Mistura Coloidal de Milho, Solução de Dextran	Wittaya-Areekul e Prahsarn, 2006
Protecção de ferimentos e substituinte de pele	Quitosano/Ácido Fórmico Aditivo: Fibra de Seda	Kweon et al., 2001
Libertação controlada de fármacos	Quitosano/Ácido Láctico Plastificante: Glicerina Reticulante: Tripolifosfato de pentasódio (TPP) Aditivo: Gluconato de Clorohexidina	Senel et al., 2000

2.4. APLICAÇÕES

As características apresentadas previamente constituem motivações para o desenvolvimento de aplicações nas mais diversas áreas, como na alimentar, biomédica, farmacêutica, cosmética, têxtil, tratamento de águas, agricultura e biosensores.

Dentro da área alimentar é possível salientar algumas aplicações que resultam sobretudo do efeito antimicrobiano do quitosano contra fungos filamentosos, leveduras e bactérias (No et al., 2007). Três exemplos de alimentos onde os filmes de quitosano são aplicados estão descritos a seguir.

O pão apresenta perdas significativamente rápidas de qualidade de sabor e textura devido ao crescimento microbiológico. A aplicação de filmes de quitosano foi investigada para estudar o seu efeito protector. Chegou-se à conclusão que a massa molecular e a concentração do quitosano afectam o prazo de validade do pão. Quanto maior for a massa molecular e maior a concentração de quitosano maior o efeito de inibição do crescimento bacteriano e conseqüentemente o tempo útil de consumo do pão é prolongado. O quitosano oferece uma barreira protectora sobre a superfície do pão, resultando na redução da perda de peso, retardamento do endurecimento e degradação (No et al., 2007).

A perda de frutos pós-colheita é causada por infecções fúngicas, distúrbios fisiológicos e danos físicos. Uma forma de ultrapassar este problema consiste em recobrir os frutos com um filme seguido de armazenamento no frio. Como o quitosano é selectivamente permeável ao dióxido de carbono e ao oxigénio, sendo menos para o dióxido de carbono, controlando também os níveis de etileno produzido pelos frutos, tem a capacidade de alterar a atmosfera directamente sobre a superfície, bem como as propriedades anti-estáticas relativa a fungos, prolongando o tempo de armazenagem e controlando a deterioração dos produtos pelo retardamento da maturação (No et al., 2007).

Na armazenagem dos ovos surgem problemas como a perda de peso, deterioração da qualidade do interior e contaminação microbiológica. Está comprovado que o quitosano mantém a qualidade no interior dos ovos quando estes são armazenados à temperatura ambiente, uma vez que permite a retenção da concentração de minerais e valores nutricionais, chegando mesmo ao aumento destes na gema durante o período de armazenamento, tudo isto sem prejudicar o consumidor final (Caner e Cansiz, 2007). Com a libertação lenta de dióxido de carbono, causada pelo quitosano que actua como

barreira gasosa, o pH da gema do ovo mantém-se aproximadamente constante ($\text{pH} \approx 6$) (No et al., 2007).

As áreas biomédica e farmacêutica têm focado a sua atenção neste biomaterial devido ao seu efeito imuno-estimulador, propriedades anticoagulantes, antibacterianas e antifúngicas, assim como poder cicatrizante em cirurgia (Dodane e Vilivalam, 1998). Os filmes de quitosano, para além da biocompatibilidade e baixa toxicidade, são degradados no interior do corpo humano por hidrólise enzimática, sendo a lisozima o agente primário e os resíduos acetilados os substratos (Dhanikula e Panchagnula, 2004). Os produtos da hidrólise são oligossacarídeos de quitosano de comprimentos variáveis. As reacções de hidrólise estão relacionadas com o grau de desacetilação, sendo que este é inversamente proporcional às taxas de degradação. As formas com grande percentagem de desacetilação permanecem *in vivo* durante um vasto período de tempo, ao contrário das de menor percentagem (Suh e Matthew, 2000). Por outro lado, a viabilidade e adesão celulares aos filmes de quitosano também estão dependentes do grau de desacetilação. A um elevado grau de desacetilação corresponde um aumento da degradação e uma boa adesão celular; por outro lado, quando se aumenta a percentagem de grupos acetilados alcançam-se tempos de degradação relativamente curtos mas em contrapartida menor adesão celular (Freier et al., 2005).

Outra vantagem do quitosano, de grande interesse nestas áreas, é a capacidade para formar estruturas porosas com aptidão para o transplante de células e regeneração de tecidos (Suh e Matthew, 2000). Os filmes de quitosano têm sido utilizados no tratamento de infecções fúngicas através da libertação controlada de fármacos, como revestimento de comprimidos, proporcionando resistência mecânica e biodegradação lenta. Para utilização interna, têm surgido como transporte de fármacos para libertação controlada num local predestinado e, aquando da remoção de um cancro, podem ser colocados nesse local e eventualmente suturados para evitar problemas de deslocação (Dhanikula e Panchagnula, 2004).

Wittaya-arekul e Prahsarn (2006) testaram filmes no tratamento de feridas preparados com alguns aditivos para melhorar as suas propriedades físicas. Estes autores consideram que para estar em contacto com uma ferida para além de a proteger, o filme tem de ter a capacidade de promover a restituição do tecido, originando um microambiente de tratamento adequado e removendo o exsudado produzido pelas feridas. Estes filmes mostraram boa protecção microbiana indicando bom potencial de tratamento. A figura 2.8 ilustra como as cargas opostas dos glóbulos vermelhos do

sangue e do quitosano se atraem para formar um coágulo à superfície da pele de modo a estancar a hemorragia.



Figura 2.8. Ilustração de um filme de quitosano adesivo no tratamento de uma ferida.
(in www.chitosanblog.com)

As restantes áreas de aplicação dos filmes de quitosano podem relacionar-se também com as propriedades até agora descritas. Nestas está incluída a dermatologia/cosmética, uma área em crescente expansão devido à capacidade do quitosano formar filmes e à sua acção protectora na pele contra irritações (Masato, 2002). Segundo Nelson (1990), na preparação do filme, o quitosano é dissolvido no ácido Omadine (*Pyrithione*) formando um sal que combina as propriedades de libertação controlada do filme e actividade antimicrobiana do ácido, podendo ser aplicado em dermatologia, como champôs, sabonetes ou medicamentos de tratamento de pele.

Na agricultura, destaca-se o efeito da redução da transpiração das folhas das plantas, economizando o consumo de água e mantendo o rendimento de produção (Bittelli et al., 2001). Adicionalmente, o poder antivírico e a aplicação como líquido fertilizante multicomponente (Dodane e Vilivalam, 1998).

Na indústria têxtil, o tratamento de águas resultantes dessa indústria também beneficia das propriedades do quitosano. A elevada afinidade com tintas, metais e alguns emulsionantes motivam o interesse para a sua utilização. Por outro lado, o quitosano é utilizado para melhorar o processo de tinturaria, permitindo melhor manuseamento do algodão, assim como alterar as suas propriedades mecânicas, aumentar o poder antibacteriano e a actividade desodorizante (Jeong et al., 2002; de Quadros, 2005).

A investigação direccionada para a obtenção de papel mais resistente para fins alimentares é outro exemplo. Dos Reis (2005), elaborou filmes activos de quitosano, com sílica e ácido cítrico, como agentes de absorção de humidade e antioxidante, respectivamente, para cobertura de papel de cartão, tendo concluído que o ácido cítrico diminui significativamente a permeabilidade ao vapor de água e ao oxigénio e a sílica

actua como agente absorvedor de humidade, contudo ambos diminuem a resistência mecânica das embalagens.

Quando partículas de um óxido de metal inorgânico são adicionadas ou adsorvidas por uma fase polimérica de quitosano, que é aplicado como revestimento de papel fotográfico resulta uma protecção anti-estática eficiente e estável, apresentando características de insolubilidade em água, transparência e superfície de baixa resistividade. Estas características são importantes para aplicação em meio fotográfico porque os filmes sendo insolúveis em água facilitam o tratamento dos materiais em meio aquoso. Por outro lado, a transparência óptica é necessária uma vez que o material é para visualização e a superfície de baixa resistividade é um indicativo da eficiência da camada anti-estática (Bóston, 1994).

Recentemente a área dos biosensores surgiu em grande destaque, sendo o quitosano usado especialmente como suporte para imobilização de enzimas. As propriedades das enzimas imobilizadas são regidas quer pela própria enzima quer pelo material de suporte. Existe um vasto leque de características a que o material de suporte tem de obedecer, tais como: elevada afinidade com as proteínas, disponibilidade de grupos funcionais reactivos, ser hidrofílico, apresentar estabilidade mecânica e rigidez, capacidade de regeneração, ser permeável, biodegradável e económico. Quando o biosensor se destina a aplicações nas áreas alimentar, farmacêutica, médica ou agrícola o material de suporte também tem de ser biocompatível e não tóxico (Krajewska, 2004). Uma vez que o quitosano possui grande parte destas características, tem sido escolhido como material de suporte, por exemplo, na detecção de glucose em bebidas onde a imobilização da glucose-oxídase é capaz de originar biosensores livres de interferência, estáveis, reprodutíveis e de elevada sensibilidade à custa de filmes sobrepostos de quitosano que retêm grande quantidade de enzimas (Yang et al., 2004). Outro exemplo consiste no tratamento de águas residuais de indústrias, ricas em componentes fenólicos, onde um suporte de quitosano com tirosoxigenase imobilizada é também capaz de produzir um biosensor sensível, reprodutível e estável (Abdullah et al., 2006).

2.5. ÓLEOS ESSENCIAIS

Os óleos essenciais, assim denominados por apresentarem um aroma agradável e intenso, também conhecidos como óleos voláteis, uma vez que evaporam à temperatura ambiente, ou etéreos, porque são solúveis em solventes orgânicos, como por exemplo o éter, são líquidos aromáticos produzidos nas plantas pelo metabolismo secundário destas. São normalmente formados em células específicas ou grupo de células que se podem encontrar nas flores, rebentos, sementes, galhos, cascas, ervas, madeira, frutos ou raízes (Franco, 2005). As propriedades exibidas pelos óleos essenciais tornam-nos indispensáveis para diversas aplicações, tais como, indústria alimentar actuando como conservante, condimento e aromatizante de alimentos e bebidas, indústria farmacêutica pelas suas propriedades funcionais e terapêuticas, indústrias de cosmética e fragrâncias, assim como no fabrico de produtos de limpeza.

As suas propriedades são há muito tempo conhecidas e devem-se essencialmente aos diversos compostos constituintes dos óleos essenciais. Para além dos poderes antimicrobiano e antioxidante, sobre os quais se desenvolveram investigações para quantificar o poder contra bactérias, vírus e fungos (Dusan et al., 2006), os óleos essenciais possuem também poder anti-parasítico, antivírico e insecticida, estando estas características associadas à função de cada componente na planta para adaptação ao meio envolvente (Burt, 2004). A actividade antimicrobiana está relacionada com o carácter hidrofóbico dos constituintes dos óleos essenciais, que levam à deterioração das membranas das bactérias (Dusan et al., 2006).

Existem vários métodos para a extracção de óleos essenciais dos constituintes das plantas, podendo ser por destilação (hidrodestilação), extracção com solventes orgânicos, maceração, extracção com fluidos super críticos (dióxido de carbono) ou prensagem a frio, sendo a destilação o método mais comumente utilizado. Por outro lado, para a determinação da composição dos óleos essenciais, os métodos empregues são a cromatografia gasosa ou espectrometria de massa (Lai et al., 2007).




Os óleos essenciais são caracterizados pela sua composição. São maioritariamente constituídos por hidrocarbonetos, como os terpenos ou sesquiterpenos, ou compostos oxigenados, como álcoois, aldeídos, esterres, éteres, fenóis, cetonas e éteres fenólicos (Franco, 2005; Zivanovic et al., 2005). A composição dos óleos essenciais pode variar devido a diversos factores, como por exemplo, a origem, local da plantação, técnica de cultivo e estação do ano (Lai et al., 2007; Prins et al., 2006). Cada óleo essencial contém diferentes concentrações de grupos funcionais, sendo os compostos fenólicos e terpenos

os principais responsáveis pelos seus efeitos antimicrobianos. Alguns exemplos deste tipo de constituintes são os monoterpenos cinamaldeído, cravacrol, timol e eugenol. Estudos comprovaram que existe uma boa relação entre a presença destes constituintes e a forte actividade antimicrobiana (Zivanovic et al., 2005). Todos possuem um efeito inibidor e biocida contra bactérias, fungos, leveduras e mesmo insectos. Alguns exemplos de bactérias são a *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium jejuni* e a *Salmonella entérica* (Dusan et al., 2006). Mas a actividade antimicrobiana dos óleos essenciais deve-se essencialmente ao efeito sinérgico dos vários constituintes, ou seja, em conjunto, o poder de cada componente é amplificado (Zivanovic et al., 2005). Na tabela 2.2 estão indicados alguns óleos essenciais e composições correspondentes, bem como a actividade que exercem.

Essencialmente na área alimentar, o emprego de óleos essenciais em filmes de revestimento originando materiais antimicrobianos, também denominados por revestimentos activos, é uma prática usada com resultados satisfatórios (Suppakul et al., 2003). Em particular, filmes de quitosano enriquecidos com óleos essenciais já foram testados, não só em relação à actividade antimicrobiana como também na redução da permeabilidade ao vapor de água e na lenta oxidação lipídica da superfície onde os filmes são empregues, pela libertação controlada da substância activa. Zivanovic e colaboradores (2005) testaram o poder antimicrobiano dos filmes de quitosano enriquecidos com óleo essencial de orégão contra dois tipos de bactérias a *Listeria monocytogenes* e *Escherichia coli*. Os resultados revelaram-se favoráveis à aplicação dos filmes em transformados de carne, não alterando o aspecto, textura e sabor da carne, aumentando a actividade antimicrobiana através da redução da permeabilidade ao vapor de água, uma vez que os óleos essenciais são substâncias hidrofóbicas, oferecendo também outras propriedades de barreira aos filmes.

Um outro aspecto importante é o facto de o quitosano ter muita afinidade com a água, tornando-se demasiado permeável ao vapor de água. Não é uma característica desejável quando o objectivo é evitar a desidratação no processo de armazenamento de frutos. Assim a adição de materiais lipídicos a revestimentos hidrofílicos intenta melhorar as propriedades de barreira a misturas.

Tabela 2.2. Caracterização química e organoléptica de alguns óleos essenciais.

Óleo essencial	Principais constituintes	Características	Referências
 <i>Alecrim</i> <i>Rosmarinus officinalis</i>	α -pineno, β -mirceno, cânfora e eucaliptol (1,8-cineol)	Anti-séptico da pele Problemas circulatórios (varizes, pernas e pés cansados) Analgésico de dores reumáticas e musculares Anti-bacteriano, anti-fúngico e anti-parasita	Prins et al., 2006
 <i>Eucalipto</i> <i>Eucalyptus globulus</i>	Eucaliptol (1,8-cineol), α -pineno, β -pineno, β -mirceno, 1-felandreno, γ -terpineno e α -terpinoleno	Anti-séptico, analgésico, cicatrizante de problemas de pele Antimicrobiano e desodorizante Forte poder acaricida e inseticida	Chagas et al., 2002
 <i>Hortelã-pimenta</i> <i>Mentha piperita</i>	Mentofurano, mentol, acetato de metilo, mentona, 1,8-cineol, pulegona, α -limoneno, β -pineno, isomentol, α -pineno, mirceno	Anti-séptico da pele	David et al., 2006
 <i>Lavanda</i> <i>Lavandula angustifolia</i>	Linalol, acetato de linalil, acetato de lavandolil, acetato de bornil, cânfora, borneol, 1,8-cineol e limoneno	Anti-séptico e cicatrizante de problemas de pele Analgésico de dores reumáticas e musculares Desodorizante	Shellie e Marriott, 2000
 <i>Limão</i> <i>Citrus</i>	1-Heptanol, hexanal, D-Limoneno, p-cimeno, β -mirceno, 2-metilpropano-1-ol e canfeno	Analgésico de dores reumáticas Problemas circulatórios Anti-séptico e cicatrizante da pele Antimicrobiano e antibacteriano	Fernandes et al., 2002
 <i>Orégão</i> <i>Origanum minutiflorum</i>	Carvacrol, p-cimeno, γ -terpineno, sabineno, α -terpineno, β -terpineno, ocimeno, terpineno-4-ol e timol	Atividade antioxidante, antimicrobiano contra leveduras patogénicas (Gram negativas)	Ynlü et al., 2007 Schulz et al. 2003 Zivanovic et al., 2005
 <i>Pinho</i> <i>Pinus sylvestris</i>	Mirceno, careno, β -felandreno, α -pineno, β -pineno, terpinoleno, sabineno e cariofileno	Anti-séptico, antimicrobiano, bactericida, desodorizante e estimulante do sistema circulatório	Mumm et al., 2003
 <i>Salva</i> <i>Salvia officinalis</i>	α -tujono, 1,8-cineol, cânfora, borneol e β -pineno,	Anti-séptico e tonificante Atividade bacteriostática e bactericida	Delamare et al., 2007
 <i>Tangerina</i> <i>Citrus reticulata</i>	D-limoneno, β -mirceno, 1-heptanol, α -terpineol, β -pineno e γ -terpineno	Anti-séptico e tonificante	Fernandes et al., 2002

3. DESENVOLVIMENTO EXPERIMENTAL

3.1. OBJECTIVOS EXPERIMENTAIS

O objectivo deste trabalho consiste na produção de filmes funcionais de base quitosano. Estes filmes serão baseados numa matriz de quitosano podendo incorporar ou não microcápsulas contendo princípios activos, como forma de introduzir ou aumentar determinadas funcionalidades. O desenvolvimento experimental compreende três partes distintas:

- (1) Formação de microcápsulas pelo método de coacervação simples, utilizando um sistema óleo-em-água;
- (2) Formação de filmes de quitosano pelo método da evaporação do solvente;
- (3) Formação de filmes incorporando microcápsulas.

O quitosano foi o material de base escolhido funcionando como material de revestimento nas microcápsulas e como matriz na formação dos filmes. As suas propriedades vão influenciar as características das microcápsulas/filmes formados.

O quitosano utilizado neste trabalho foi oferecido pelo grupo POLIUNA da Universidad de Heredia – Costa Rica, sendo proveniente da sua fábrica piloto localizada no Parque Marinho de Punta Arenas.

3.2. CARACTERIZAÇÃO DO QUITOSANO

▪ Grau de desacetilação

O grau de desacetilação constitui um dos parâmetros mais relevantes na caracterização do quitosano. A sua extensão determina se o biopolímero é quitina ou quitosano, influenciando a sua performance e consequente aplicação. Pode influenciar parâmetros biológicos e estruturais como: (1) solubilidade, (2) conformação da cadeia em solução, (3) propriedades electrostáticas, (4) biodegradabilidade, (5) resistência dos filmes formados, (6) poder quelante sob iões metálicos, entre outras. É através do grau de desacetilação que se determina o número de grupos amino presentes no polissacarídeo resultantes do processo de remoção dos grupos acetamida da quitina. Normalmente, a partir de um grau de desacetilação de 50% é considerado quitosano (Wu e Zivanovic, 2008; Tan et al., 1998). Para a determinação deste parâmetro têm sido aplicados vários métodos analíticos. A tabela 3.1 apresenta um resumo de possíveis métodos.

No presente trabalho utilizou-se um método espectroscópico (FTIR) baseado nos trabalhos de Khan et al. (2002) e Taghizadeh e Davari (2006). O método baseado em FTIR é um método bastante utilizado por corresponder a uma metodologia rápida. Oferece ainda as seguintes vantagens: (1) dispensa a preparação da amostra em solução, (2) é relativamente insensível à presença de impurezas e (3) é adequado para amostras com graus muito heterogêneos de desacetilação. Como desvantagens podemos listar: (1) exigir amostras isentas de humidade e (2) ser susceptível a erros resultantes da arbitrariedade da definição da linha de base.

Tabela 3.1. Métodos empregues na determinação do grau de desacetilação. (Taghizadeh e Davari, 2006)

Métodos	Técnicas de Análise
Directo (Determinação da quantidade de grupos acetamida)	Técnicas hidrolíticas
	SEC (Cromatografia de exclusão de tamanho)
Indirecto (Determinação da quantidade de grupos amino)	Espectroscopia (FTIR, NMR, UV)
	Titulação potenciométrica
	Titulação ácido-base
	Titulação coloidal
	Análise residual salicilaldeído Residual salicylaldehyde analysis
	Reacção com 2-4-dinitrofluorobenzeno
	Adsorção de cor
Determinação baseada na composição total	Adsorção de ácido pícrico
	Análise elementar
	Cromatografia gasosa
	Técnicas de pirólise

As amostras de quitosano foram preparadas sob a forma de pastilhas de KBr utilizando uma razão KBr:Quitosano de 100:1. De forma a minimizar a interferência resultante da presença de humidade, o quitosano e o KBr foram colocados numa estufa a 70°C durante 24 horas, imediatamente antes da preparação das pastilhas.

Os espectros de FTIR foram adquiridos num espectrofotómetro Bomem modelo MB104 (Québec, Canadá) utilizando uma resolução de 4 cm⁻¹ na gama compreendida entre 4000 e 650 cm⁻¹. A aquisição e tratamento dos dados foram realizados utilizando o *software* Grams/32.

A figura 3.1 apresenta o espectro obtido em unidades de transmitância. Nesse espectro estão representadas as linhas de base adoptadas de acordo com Khan et al. (2002) para a leitura das absorvâncias a 3400 cm⁻¹ (hidroxilo) e 1655 cm⁻¹ (amida). Para o último caso são normalmente adoptadas na literatura duas linhas de base possíveis (na figura 3.1 assinaladas por a) e b)) sendo recomendável, segundo o autor, utilizar a definida por b). De acordo com esta metodologia, o grau de desacetilação é determinado com base na equação (1).

$$\%DD = 100 - [(A_{1655}/A_{3450}) \times 115] \quad (1)$$

Onde A_{1655} é determinado de acordo com a equação (2) e A_{3450} de acordo com a equação (3). No caso de A_{1655} ser determinado de acordo com a linha de base a) DF_2 deverá ser substituído por DF_1 na equação (2) e o valor obtido para A_{1655} substituído na equação (4). Este último procedimento conduz normalmente a valores inferiores aos obtidos para a metodologia adoptada neste trabalho.

$$\text{Log}_{10} (DF_2/DE) = (A_{1655})_{\text{Amida}} \quad (2)$$

$$\text{Log}_{10} (AC/AB) = (A_{3450})_{\text{Hidroxilo}} \quad (3)$$

$$\%DD = 100 - [(A_{1655}/A_{3450}) \times (100/1.33)] \quad (4)$$

Para o quitosano utilizado neste trabalho obteve-se um grau de desacetilação de aproximadamente 76%. Os valores utilizados no cálculo estão listados na tabela 3.2.

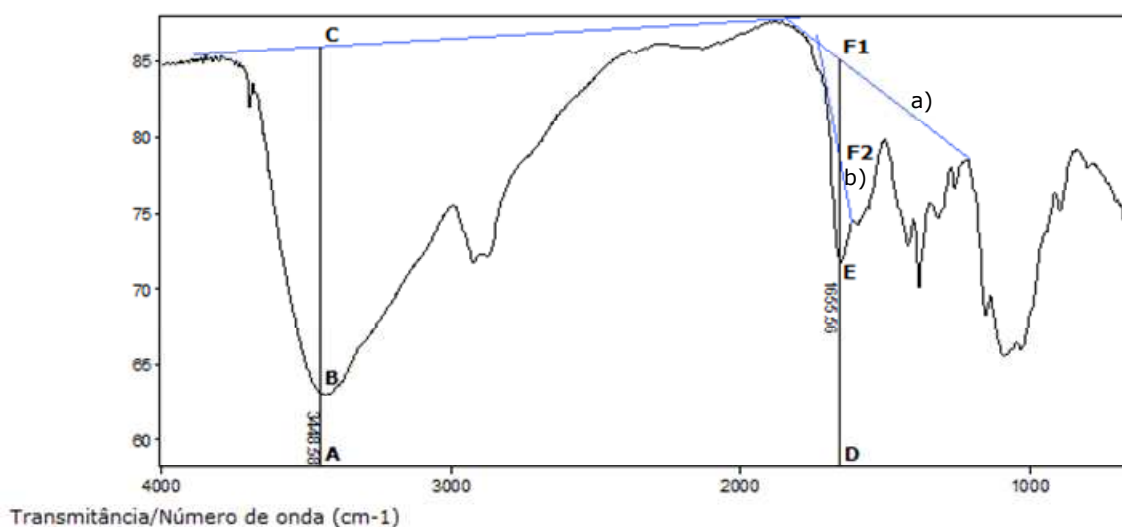


Figura 3.1. Espectro de infravermelho do quitosano, com representação das duas linhas de base a) e b).

Tabela 3.2. Valores utilizados na determinação das absorvâncias das bandas hidroxilo e amida.

Parâmetro	Valores
AC	85,655
AB	62,847
DF ₂	76,423
DE	71,537

3.3. PRODUÇÃO DE MICROCÁPSULAS

As microcápsulas foram desenvolvidas pelo método de coacervação simples, seguindo o procedimento experimental realizado no projecto de investigação integrado no ano lectivo 2006/2007.

3.3.1. SISTEMA QUÍMICO

- Material de revestimento
 - Emulsionante Tergitol 15-S-9
 - Quitosano
 - Reticulante: Glutaraldeído

- Princípio activo
 - Limoneno

3.3.2. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

O procedimento experimental pode ser resumido em cinco etapas:

- Formação de emulsão óleo-em-água utilizando para estabilização das microgotículas de óleo o Tergitol 15-S-9;
- Formação da solução contendo o material de revestimento (quitosano);
- Transferência da solução contendo o material de revestimento para a emulsão óleo-em-água
- Formação de microcápsulas pela deposição do quitosano sobre as gotículas,
- Reticulação das microcápsulas usando glutaraldeído.

O procedimento geral está exemplificado na figura 3.2 e os cálculos no anexo A. Durante a produção das microcápsulas foram identificadas e optimizadas variáveis no processo que influenciaram os resultados, como estão representadas na figura 3.2 a laranja. Mesmo sendo feito em contínuo é possível identificar pontos críticos durante o procedimento. Um estudo detalhado de cada um está descrito a seguir.

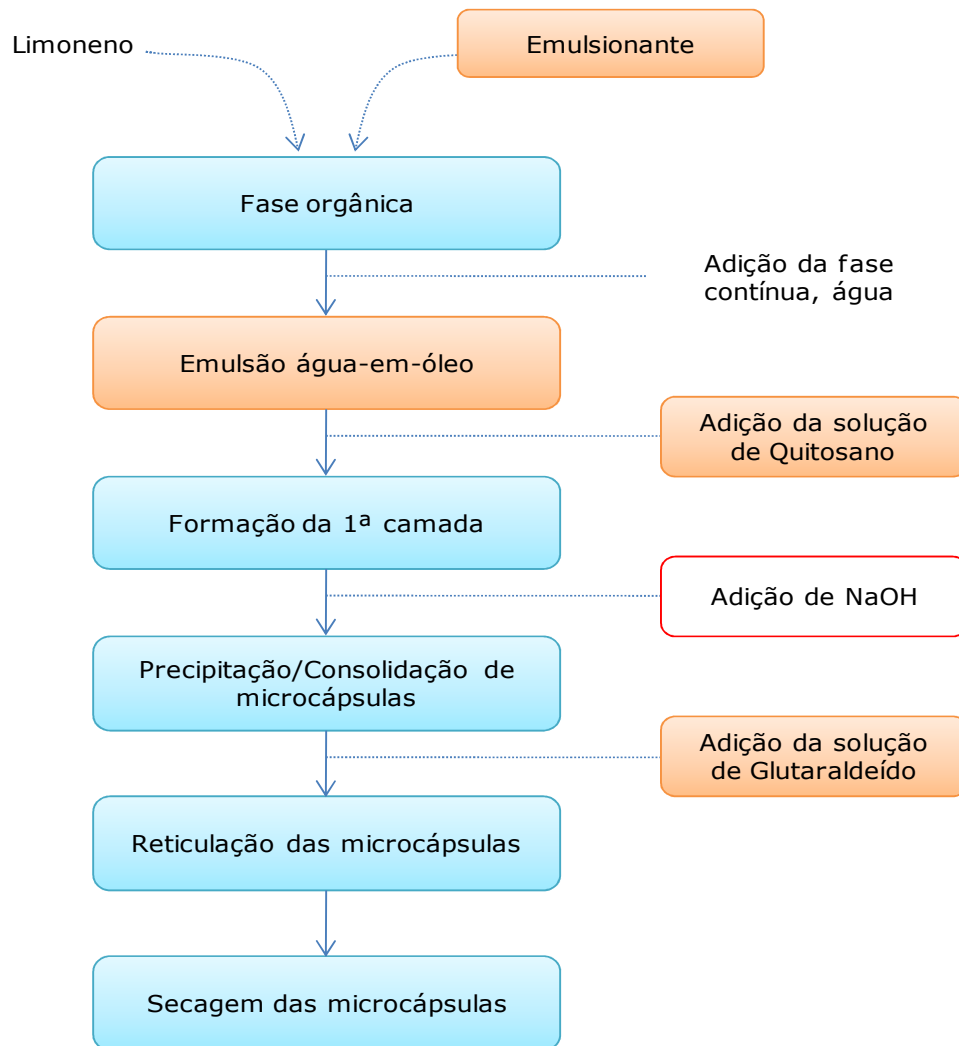


Figura 3.2. Representação esquemática do procedimento geral para obtenção de microcápsulas.

▪ **Preparação da emulsão óleo-em-água**

Corresponde à primeira etapa do procedimento e sucintamente o emulsionante é dissolvido na fase orgânica, durante 10 minutos, seguido da adição da fase aquosa. Esta mistura é homogeneizada durante 3 minutos, seguido de agitação forte no ultraturrax durante 10 segundos. É então acidificada para posterior adição da solução de quitosano. Alguns factores que influenciam esta etapa são os seguintes:

- *Tipo e concentração de emulsionante*

Na preparação de uma emulsão onde coexistem duas fases distintas, nomeadamente, uma fase orgânica e outra aquosa, existem tensões elevadas na sua interface e na superfície, o que provocam a coalescência das gotas próximas, quando uma das fases é dispersa na outra. Os emulsionantes são moléculas anfipáticas, constituídas por partes hidrofílicas e hidrofóbicas, que actuam nessa interface por diferenças de polaridade, formando um filme entre a superfície da gotícula (fase dispersa) e o meio envolvente (fase contínua) (Desai e Banat, 1997). Existe uma diversidade de emulsionantes, podendo estes ser não-iónicos ou iónicos (catiónicos e aniónicos). Os mais utilizados são os não-iónicos e para escolher o mais adequado para um determinado sistema é necessário conhecer o seu índice HLB (*Hidrophilic-Lipophilic Balance*). O índice de HLB é uma medida da capacidade do emulsionante se dissolver na fase aquosa ou orgânica, quantificando a sua apetência hidrofílica ou lipofílica na estabilização de emulsões do tipo água-em-óleo ou óleo-em-água. Esta escala varia entre 0-20. Resumidamente, os emulsionantes que apresentam índice HLB baixo estabilizam emulsões água-em-óleo, ou seja, tem maior afinidade com a fase orgânica e os que por oposição apresentam um índice elevado estabilizam emulsões óleo-em-água, ou seja, são maioritariamente hidrofílicos. Na tabela 3.3 está representada a classificação baseada na aplicação do emulsionante bem como o valor de HLB correspondente.

Tabela 3.3. Gama de aplicação dos emulsionantes e correspondentes índices HLB.
(Polak et al., 2004)

Índice HLB	Aplicação
1.5 - 3	Agente anti-espuma
3 - 8	Emulsionante água-em-óleo
7 - 9	Agente de molhabilidade
8 - 18	Emulsionante óleo-em-água
13 - 15	Substância activa para detergentes
12 - 18	Solubilizante para sistemas aquosos

- Razão Fase orgânica/Fase aquosa (FO/FA)

A emulsão óleo-em-água é preparada pela adição de uma determinada quantidade de água (FA) à fase orgânica (FO). FA é designada por fase contínua e FO por fase dispersa. A razão FO/FA vai influenciar a estabilidade da emulsão podendo mesmo haver inversão de fases, isto é formação de uma emulsão água-em-óleo para razões FO/FA elevadas. Neste trabalho utilizou-se uma razão FO/FA igual a 0.3. Este valor é um valor de referência correntemente utilizado na literatura para preparar emulsões óleo-em-água.

- Tempo e velocidade de agitação

Quando a FA é adicionada à FO é necessário proceder à agitação da mistura para reduzir o tamanho das gotículas de óleo que ficarão dispersas numa fase contínua aquosa. O tempo de agitação e a velocidade empregue no ultraturrax vão definir o tamanho das microgotículas. Neste trabalho fixou-se a velocidade de agitação em 11000 rpm (velocidade mínima do ultraturrax) e optimizou-se o tamanho das microgotículas variando o tempo de agitação.

▪ Preparação da solução de quitosano

Esta é uma etapa paralela à preparação da emulsão e consiste na dissolução do quitosano numa solução ácida. A solução de quitosano final apresentou-se muito viscosa e difícil tratamento, implicando dificuldades na sua adição à emulsão. Alguns factores que influenciam esta etapa são os seguintes:

- Concentração do quitosano

O termo quitosano engloba uma série de polímeros com diferentes massas moleculares e graus de desacetilação (Mao et al., 2004). O quitosano é um polímero que apresenta solubilidade dependente do pH, tornando-se solúvel em soluções ligeiramente ácidas, onde os seus grupos amino são protonados, ilustrados na figura 3.3, originado repulsão entre as cargas positivas.

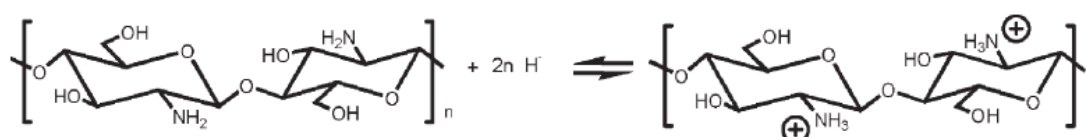


Figura 3.3. Reacção de protonação dos grupos amino do quitosano.
(in Payne and Raghavan, 2007)

As aminas primárias do quitosano assumem um papel de elevada importância no que respeita às propriedades do material. Quando o pH é baixo e se dá a protonação dos grupos amino, o quitosano converte-se num polielectrólito catiónico, favorecendo a sua utilização em várias aplicações, como microcápsulas ou filmes. Por outro lado, quando o pH é elevado, mas relativamente próximo da neutralidade, esses grupos são desprotonados, induzindo o quitosano a passar de um polielectrólito catiónico solúvel para um polímero insolúvel. O facto de não serem necessários valores de pH extremos para esta transição torna-se importante para aplicações na área biomédica (Payne e Raghavan, 2007). Outro dos aspectos importantes do quitosano quando se encontra dissolvido em solução ácida é a sua capacidade de estabelecer ligações electrostáticas e ligações covalentes (que podem ser formadas por diversos acoplamentos químicos) e ainda a quelatação com compostos metálicos.

- *Concentração de ácido e temperatura*

A concentração de quitosano dissolvida assim como a extensão da protonação dos grupos amino provoca variações de viscosidade da solução. Quando comparamos dois quitosanos com massa molecular idêntica, quanto maior for o grau de desacetilação (maior for a concentração de grupos amino) maior será a viscosidade da solução resultante. Por outro lado, se a concentração for demasiado baixa, o quitosano não se encontra suficientemente protonado e não se dissolve dificultando a aplicação pretendida. Em resumo, cada quitosano, dependendo da sua massa molecular e grau de desacetilação, vai possuir um valor de pKa diferente sendo necessário otimizar a concentração de ácido a utilizar. Deve evitar-se utilizar condições muito severas para evitar a degradação das cadeias de quitosano. Verificou-se ainda que a utilização de uma temperatura superior à ambiente facilita a dissolução do quitosano. Neste trabalho optou-se por utilizar uma temperatura de 50 °C.

- *Filtração da solução de quitosano*

A filtração da solução de quitosano é descrita na literatura por vários autores, tendo como principal objectivo eliminar o material não dissolvido. Para este fim são utilizados normalmente filtros com poros de diâmetro aproximadamente de 5 µm. Porém, filtros com poros de diâmetros mais pequenos (0.45-0.5 µm) também são utilizados. Como resultado da filtração, as impurezas e material por dissolver são eliminados, resultando na diminuição da viscosidade da solução. Durante o desenvolvimento experimental a filtração da solução de quitosano foi realizada por dois métodos, sob vácuo utilizando um

kitasato e utilizando uma seringa. O filtro utilizado foi de 0.45 μm . Em alguns ensaios esta etapa não foi realizada por se verificar uma perda elevada de material.

▪ **Transferência da solução de quitosano**

Após preparação e filtração da solução de quitosano, esta é adicionada à emulsão óleo-em-água. Neste trabalho optou-se por adicionar gota-a-gota a solução de quitosano à emulsão previamente preparada.

▪ **Formação das microcápsulas**

Após a adição da solução de quitosano à emulsão, provoca-se a precipitação do quitosano sobre as gotículas do óleo. Esta precipitação ocorre mediante modificação do pH. Podem surgir duas alternativas:

1) Se o pH da emulsão for previamente ajustado para o valor de pH ácido onde o quitosano é solúvel, é necessário adicionar hidróxido de sódio em solução para aumentar o pH;

2) Se o pH da emulsão não for ajustado, a precipitação dá-se quando a solução de quitosano entra em contacto a emulsão que está a um pH aproximadamente neutro.

A solução final é então deixada em repouso no mínimo durante 1h30min.

▪ **Etapa da reticulação**

Este procedimento destina-se a estabilizar a parede das microcápsulas formando uma espécie de rede sobre a superfície das gotículas de óleo. Um esquema representativo das ligações químicas que ocorrem entre o quitosano e o glutaraldeído está representado na figura 3.4. Esta etapa corresponde a uma das etapas mais críticas do processo, uma vez que o quitosano se existir na forma livre também reticula formando aglomerados e não permitindo originar microcápsulas individualizadas. Alguns factores que influenciam esta etapa são os seguintes:

- *Quantidade de reticulante*

A concentração de reticulante influencia o grau de reticulação e conseqüentemente o inchamento das microcápsulas. Dini et al., num estudo sobre microesferas definiram x como a razão entre o número de moles de glutaraldeído e o número de moles da unidade

repetitiva de quitosano. Após realização de testes de inchamento em água destilada concluíram que, para não haver inchamento significativo, essa razão teria que ser muito elevada (superior a 60), nas condições de trabalho utilizadas (temperatura ambiente). A utilização de concentrações muito elevadas de glutaraldeído não é recomendável uma vez que este é considerado tóxico e deve ser eliminado do produto final. No presente trabalho utilizou-se uma solução de glutaraldeído diluída, adicionada gota-a-gota sob agitação lenta. A quantidade adicionada corresponde a um valor de x de aproximadamente 25.

- o *Modo de adição da solução de reticulante*

A adição de uma solução de glutaraldeído concentrada e a utilização de uma solução de microcapsulas também concentrada facilita a formação de aglomerados. Neste trabalho optou-se por utilizar uma solução diluída de glutaraldeído ($x=25$) e diluir previamente também a solução de microcápsulas. A solução de glutaraldeído deve também ser adicionada de forma lenta (gota-a-gota).

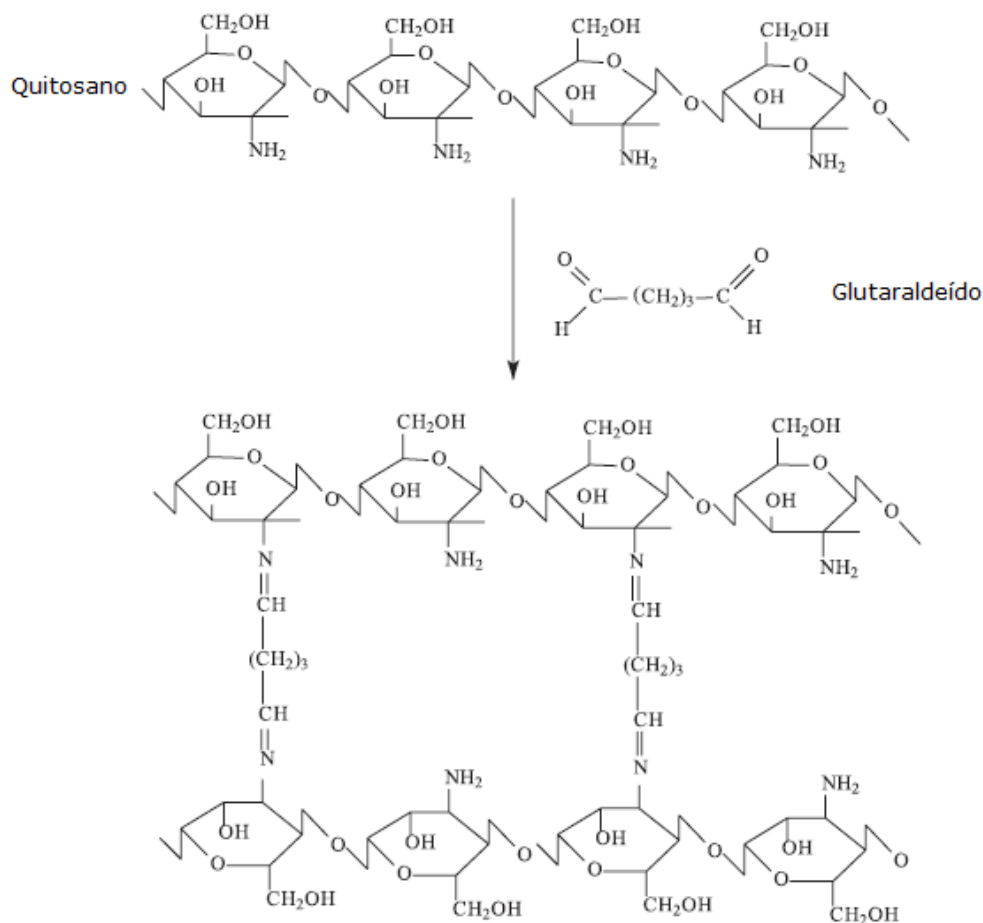


Figura 3.4. Reacção de reticulação do quitosano com glutaraldeído.
(in Gonçalves et al., 2005)

3.3.3. ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

As microcápsulas foram preparadas pelo método da coacervação simples, utilizando o quitosano como material de revestimento e o limoneno como material de núcleo. Na figura 3.5 está ilustrado o procedimento experimental.

Formação da emulsão



Preparação e adição da solução de quitosano



Precipitação do quitosano com controlo do pH



Reticulação



Figura 3.5. *Etapas de preparação das microcápsulas.*

As condições de operação realizadas ao longo do desenvolvimento experimental estão resumidas na tabela 3.4.

Tabela 3.4. Condições de manufactura para obtenção de microcápsulas.

Amostra	Emulsão (FO+FA)			Solução Quitosano (SQ)					Solução de Microcápsulas		Solução Glutaraldeído	
	FO/FA % (w/w)	Tipo de Emulsionante	pH	Solução de ácido % (w/w)	Quitosano % (w/w)	Tipo de Filtração	VSQ/(VFO+VFA)	pH	pH inicial	Método de Precipitação	X	Método Adição
Mic 1	30	Tergitol15-S-20 10% (w/w)	4.5	10	2	Vácuo	0.5	2.15	3.5	NaOH 10% (v/v)	2	Gota-a-gota
Mic 2	30	Tergitol 15-S-9 1.5% (w/w)	4.5	10	2	—	0.5	2.15	3.5	NaOH 10% (v/v)	1	Gota-a-gota
Mic 3	30	Tergitol 15-S-9 1.5% (w/w)	4.5	10	2	—	0.5	2.15	3.5	NaOH 10% (v/v)	2 6	Gota-a-gota
Mic 4	30	Tergitol 15-S-9 1.5% (w/w)	4.5	3	2	Vácuo	0.5	3.86	4	NaOH 5% (v/v)	3	Gota-a-gota
Mic 5	30	Tergitol 15-S-9 1.5% (w/w)	4.5	10	2	Seringa	0.25	2.15	3.5	NaOH 5% (v/v)	25	Gota-a-gota
Mic 6	30	Tergitol 15-S-9 1.5% (w/w)	6.5	0.4	2	—	0.5	5.5	6	Contacto c/ emulsão	25	Gota-a-gota
Mic 7	30	Tergitol 15-S-9 1.5% (w/w)	6.5	0.4	2	—	0.5	5.5	6	Contacto c/ emulsão	25	Adição única
Mic 8	30	Tergitol 15-S-9 1.5% (w/w)	4.5	0.4	2	—	0.5	5.70	5.80	NaOH 5%(v/v)	25	Adição única
Mic 9	30	Tergitol 15-S-9 1.5% (w/w)	7.0	3	2	—	0.5	3.86	4.03	NaOH 5%(v/v)	25	Adição única
Mic 10	30	Tergitol 15-S-9 1.5% (w/w)	4.0	10	2	Seringa	0.5	2.00	3.11	NaOH 5%(v/v)	25	Gota-a-gota

NOTA: VFO: Volume fase orgânica, VFA: Volume fase aquosa e VSQ – volume solução de quitosano e x= (Nº moles glutaraldeído)/(Nº moles unidade repetitiva quitosano)

▪ Formação da emulsão água-em-óleo

- *Tipo e concentração de emulsificante*

Para determinar a estabilidade das emulsões óleo-em-água, realizaram-se 4 experiências com dois emulsificantes diferentes, o Tergitol 15-S-20 (índice HLB 16.3) e o Tergitol 15-S-9 (índice HLB 13.3). Testou-se ainda a influência da fase utilizada para dissolver o emulsificante (FA ou FO). As emulsões resultantes foram deixadas em repouso durante 14 horas.

- 1) Dissolver na água o Tergitol 15-S-20 a 1% (w/w), à temperatura ambiente, seguido da adição do óleo. A emulsão resultante é agitada no ultraturrax, a 11000 rpm, durante 10 segundos;
- 2) Dissolver no óleo o Tergitol 15-S-20 a 1% (w/w), à temperatura ambiente, seguido da adição da água. A emulsão resultante é agitada no ultraturrax, a 11000 rpm, durante 10 segundos;
- 3) Dissolver na água o Tergitol 15-S-9 a 1% (w/w), à temperatura ambiente, seguido da adição do óleo. A emulsão resultante é agitada no ultraturrax, a 11000 rpm, durante 10 segundos;
- 4) Dissolver no óleo o Tergitol 15-S-9 a 1% (w/w), à temperatura ambiente, seguido da adição da água. A emulsão resultante é agitada no ultraturrax, a 11000 rpm, durante 10 segundos.

Os resultados estão ilustrados na figura 3.6.

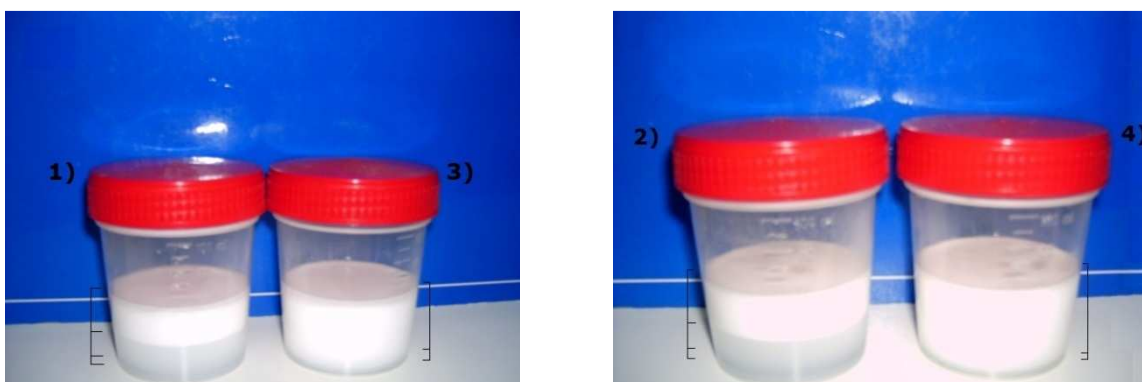


Figura 3.6. Resultados dos testes aos emulsificantes.

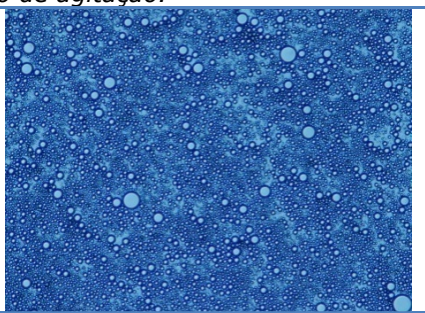
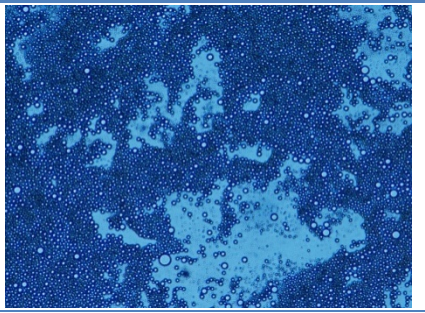
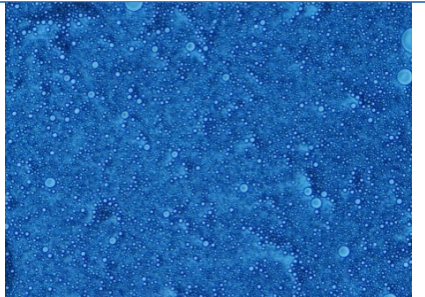
O emulsificante que demonstrou melhores resultados face ao objectivo foi o Tergitol 15-S-9. O facto de se ter dissolvido no óleo ou na água também influencia a sua performance, isto é, quando um emulsificante tem maior afinidade com a água deve ser dissolvido no meio orgânico fomentando a sua tendência de migrar para a parte exterior

das microgotículas, criando uma interface com o meio envolvente. Por outro lado, caso esteja dissolvido na fase aquosa, este vai ter dificuldade em migrar para a superfície das microgotículas (presentes em menor quantidade) havendo maior dificuldade em estabilizar a emulsão.

- *Tempo de agitação*

Concluído o processo de selecção do emulsionante mais apropriado, avaliou-se o tempo de agitação adequado para obtenção de microgotículas com a dimensão pretendida. Os testes foram realizados com um Ultraturrax T 25 basic (IKA-WERKE) a 11000 rpm (menor velocidade permitida) utilizando três tempos de agitação: (1) 5 s, (2) 10 s e (3) 15 s. Os resultados obtidos estão ilustrados na tabela 3.5.

Tabela 3.5. Resultados da selecção do tempo de agitação.

<p>(1) 5 s Ampliação 10X Observações: As partículas apresentam grande heterogeneidade de tamanhos e um tamanho médio aproximado de 20 μm.</p>	
<p>(2) 10 s Ampliação 10X Observações: As partículas apresentam maior homogeneidade de tamanhos e um tamanho médio aproximado de 15 μm.</p>	
<p>(3) 15 s Ampliação 10X Observações: As partículas apresentam grande homogeneidade de tamanhos e um tamanho médio inferior a 10 μm.</p>	

Aumentando o tempo de agitação a homogeneidade das partículas aumenta mas o tamanho diminui. Assim, é necessário optar por um tempo de agitação em que se obtém um equilíbrio entre a dimensão das partículas e a homogeneidade de tamanhos. O tempo adoptado para aplicação na produção de microcápsulas foi de 10 segundos. De referir que o tamanho de 15 μm é muito utilizado nas microcápsulas para aplicações têxteis.

- **Formação da solução de quitosano**

A solução de quitosano foi preparada utilizando uma determinada massa de material que foi posteriormente dissolvido na solução de ácido preparada. A viscosidade foi controlada otimizando a concentração de polímero e a concentração de ácido. Um aumento da concentração de quitosano implica um aumento na viscosidade da solução resultante e consequentemente um aumento da dificuldade no seu manuseamento. Um aumento da concentração de ácido favorece a protonação de um maior número de grupos amina, portanto favorece a dissolução do quitosano. Durante o desenvolvimento laboratorial a concentração de quitosano foi mantida a 2% (w/w) e a concentração da solução ácida utilizada foi de 0.4, 3 e 10% (w/w). Promovendo a agitação à temperatura de 50°C e utilizando a solução mais diluída foi possível dissolver o quitosano obtendo-se uma solução com um valor de pH de 5.5. Um aspecto observado foi que a quantidade de óleo encapsulado aumenta com o aumento da concentração da solução ácida.

Após estabilização da emulsão e formação da solução de quitosano, procedeu-se à preparação das microcápsulas. Seguidamente listam-se os problemas detectados e as soluções adoptadas.

- **Precipitação do quitosano sobre as gotículas de limoneno**

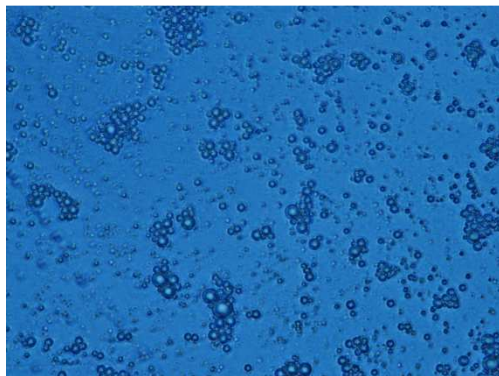
Quando o quitosano é adicionado à emulsão esta pode ou não ter sido previamente acidificada. Se o pH da emulsão estiver ácido, o quitosano continua solúvel e é necessário adicionar hidróxido de sódio em solução para aumentar o pH e provocar a sua precipitação. Se o pH da emulsão não for ajustado o seu valor está próximo da neutralidade (pH≈6) podendo haver precipitação imediata após contacto da solução de quitosano com a emulsão. Contudo, mesmo neste caso, para promover a totalidade da precipitação do quitosano é normalmente necessário terminar o procedimento também com a adição de base.

Estes dois procedimentos foram testados experimentalmente. Na primeira situação verificou-se a formação de aglomerados de quitosano havendo alguma dificuldade em obter microcápsulas individualizadas. Contudo, este procedimento parece favorecer a deposição de material sobre as microgotículas. Na segunda abordagem, a formação de aglomerados foi quase imediata diminuindo a quantidade de material disponível para revestir as microgotículas.

Uma das justificações para haver uma formação preferencial de aglomerados e fraca deposição de material sobre as microcápsulas pode também estar relacionada com a massa molecular do quitosano. Se as cadeias de polímero forem muito grandes têm maior dificuldade em se depositar na superfície das partículas. Uma solução possível para contornar este problema passa pela degradação do quitosano originando material de massa molecular inferior, por exemplo, através de uma hidrólise ácida.

Após deposição do material, as soluções de microcápsulas obtidas são deixadas em repouso durante 1h30min. Em ambos os casos é possível observar que as microcápsulas flutuam na solução e a sua recuperação é realizada fazendo uma filtração. Na figura 3.7 estão ilustrados resultados de algumas experiências.

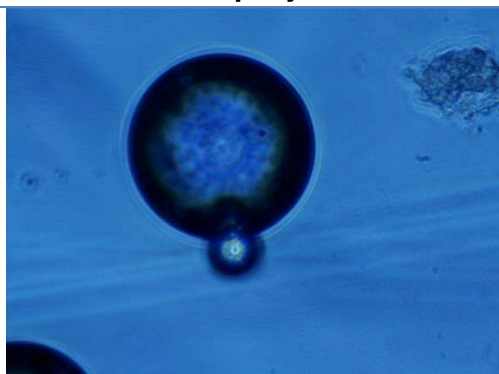
Da análise da figura 3.7 é possível verificar que quando a precipitação do quitosano sobre o óleo é feita por contacto directo com a emulsão não acidificada (Mic 7), existe a formação de filmes finos de polímero que aprisionam microcápsulas. Utilizando o outro método de precipitação formam-se massas mais compactas de polímero contendo também microcápsulas no seu interior (Mic 3).



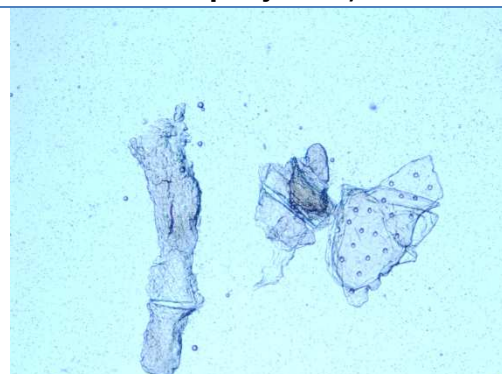
Mic 1 ampliação 40X



Mic 3 ampliação 4X; X=6



Mic 4 ampliação 40X



Mic 7 ampliação 4X

Figura 3.7. Resultados obtidos na formulação de microcápsulas. Estas encontram-se dispersas em água destilada.

- **Etapa da reticulação**

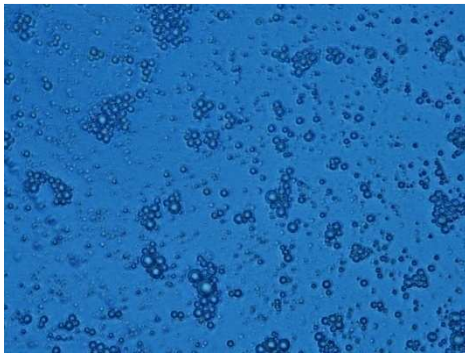
A etapa de reticulação afigura-se bastante crítica em dois pontos:

- 1) – Durante a reticulação, devido à formação de massas de quitosano reticulado
- 2) – Na resistência final das microcápsulas.

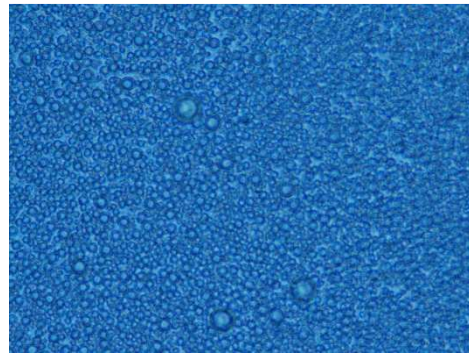
Quando o glutaraldeído entra em contacto com o quitosano promove a sua reticulação. Assim, para evitar aglomerados de polímero reticulado, e tentar obter um maior número de microcápsulas individualizadas e com parede resistente testaram-se os seguintes procedimentos:

- O glutaraldeído foi diluído e adicionado lentamente gota-a-gota;
- O glutaraldeído foi diluído e adicionado de uma só vez à solução sob agitação;
- Promover uma primeira reticulação, espécie pré-reticulação, seguida de secagem das microcápsulas e posterior reticulação das microcápsulas secas.

Antes da reticulação, a situação ideal corresponde a obter microcápsulas totalmente separadas fisicamente originando uma reticulação simples sem formação de aglomerados. Essa separação física é conseguida por diluição prévia das microcápsulas. A figura 3.8 ilustra a diferença entre a aplicação dos dois métodos.



Mic 1_1 Ampliação 40X

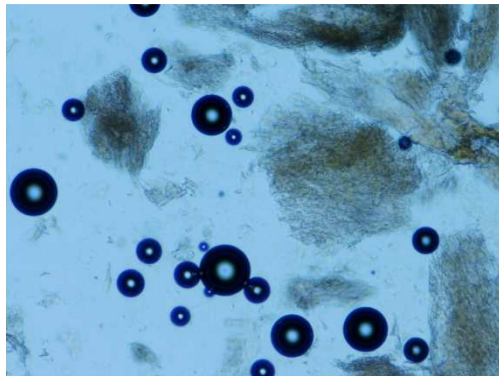


Mic 1_2 Ampliação 40X

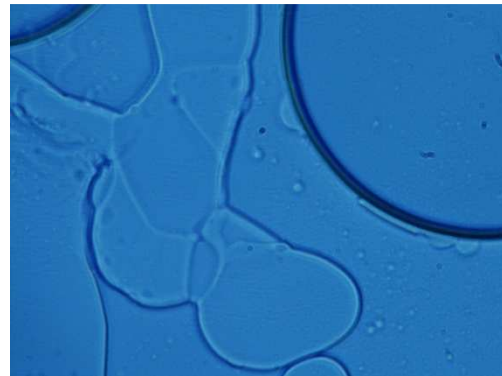
Figura 3.8. *Microcápsulas reticuladas sem diluição prévia (Mic1_1) e com diluição prévia (Mic1_2).*

Para avaliar a resistência física das microcápsulas formadas estas foram colocadas em contacto com uma solução de ácido acético a 3% (v/v) e observadas ao microscópio. Verificou-se que dependendo do grau de reticulação, a parede das microcápsulas foi gradualmente inchando, acabando em alguns casos por ficar destruídas. As que se encontravam mais reticuladas não se desintegraram apresentando um inchamento visível por observação no microscópio. A figura 3.9 ilustra os resultados obtidos em algumas das amostras.

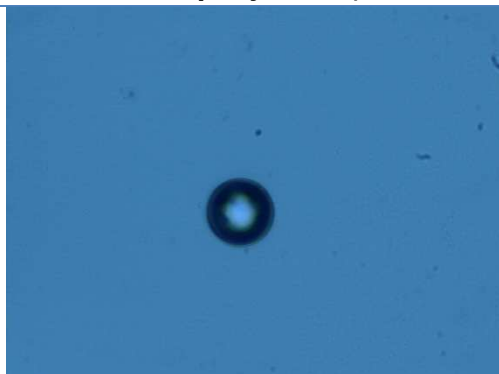
Verifica-se, da análise da figura 3.9, que quando a reticulação é pouco efectiva a cápsula se dissolve em poucos minutos (Mic 2), mas após uma segunda reticulação a parede das cápsulas mantém-se compacta, não se desintegrando e apresentando um grau de inchamento baixo (Mic 2 - 2ª reticulação). Por outro lado, quando se tenta fazer a reticulação no seguimento do processo de microencapsulação, além de aglomerados de polímero a parede não fica suficientemente resistente mostrando-se gelatinosa e as microcápsulas "colam" umas às outras (Mic 3 e 4).



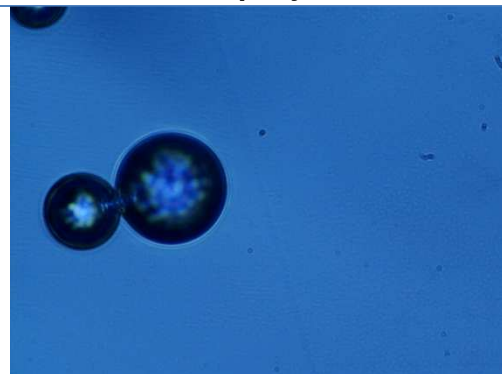
Mic 3 ampliação 10X; X=6



Mic 2 ampliação 40X



Mic 2 ampliação 40X (2ª reticulação)



Mic 4 ampliação 40X

Figura 3.9. Resultados obtidos na formulação de microcápsulas. Estas encontram-se dispersas em solução de ácido acético 3% (v/v). Na Mic 2 observa-se a destruição da parede (óleo sem estar encapsulado).

3.4. PRODUÇÃO DE FILMES

Com vista à obtenção de filmes funcionais de quitosano procedeu-se ao estudo da formação do filme pelo método da evaporação do solvente. Utilizou-se como sistema químico Quitosano/aditivos. Testaram-se como aditivos um plastificante (PEG) e um emulsionante (Tergitol 15-S-20). O plastificante tem como finalidade evitar a retracção dos filmes após secagem e o emulsionante facilita o deslizamento das moléculas de quitosano facilitando a obtenção de filmes mais homogéneos.

3.4.1. SISTEMA QUÍMICO

- Solute: Quitosano
- Solvente: Ácido acético
- Emulsionante: Tergitol 15-S-20
- Plastificante: Polietileno glicol (PEG 400)

3.4.2. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Sucintamente, o quitosano é dissolvido numa solução ácida seguido da adição dos aditivos. O produto final é espalhado em placas de Teflon, seguido de secagem. O procedimento geral está exemplificado na figura 3.10 e os cálculos no anexo B.

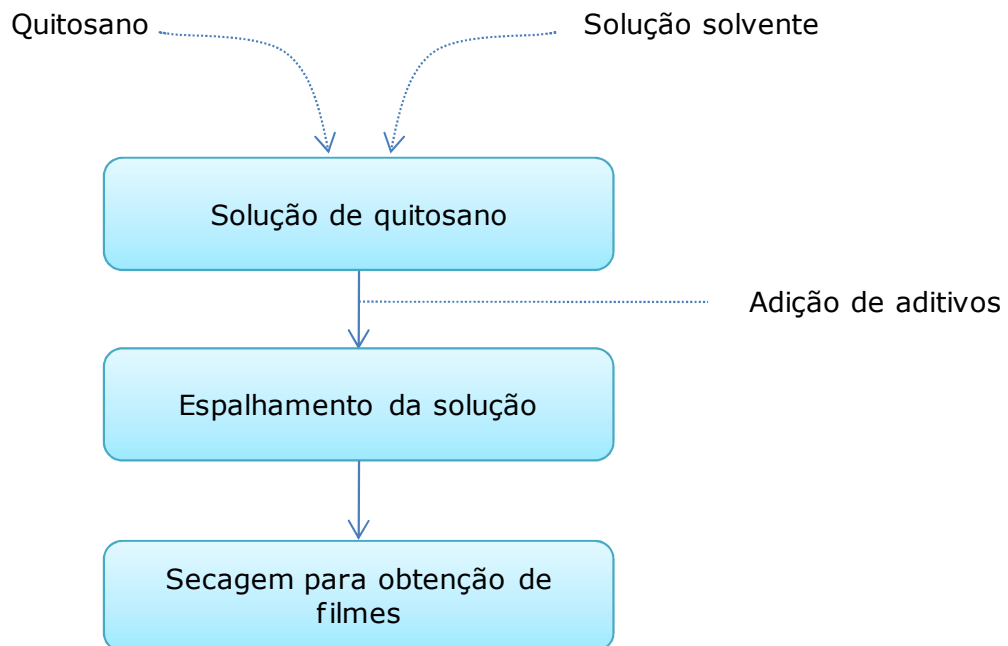


Figura 3.10. Representação esquemática para a formação de filmes de quitosano

Os primeiros ensaios foram realizados utilizando apenas o material de base (quitosano), tendo-se obtido filmes de qualidade pobre. Estes filmes tiveram também o objectivo de servir de padrão para comparação após introdução de aditivos. A solução utilizada apresentou dificuldades de filtração e de espalhamento nas placas. Os filmes resultantes apresentaram-se pouco elásticos e pouco flexíveis.

▪ **Preparação da solução de quitosano**

É a primeira etapa do procedimento para obtenção dos filmes. O quitosano é dissolvido numa solução ligeiramente ácida, sendo posteriormente filtrada para retirar impurezas. Tal como na produção de microcápsulas, a concentração de quitosano influencia a produção e características finais dos filmes.

Estudos realizados sobre a superfície de vegetais (cenoura e tomate) demonstraram que, além da dificuldade em cobrir toda a superfície, os coeficientes de adesão e coesão dos filmes aumentam com o incremento da concentração de quitosano (Casariego et al., 2007). Igualmente, a espessura e opacidade dos filmes resultantes também aumenta (Casariego et al., 2007; Srinivasa et al., 2003). A opacidade é a medida da quantidade de luz que consegue atravessar a matéria, contribuindo para o seu aumento, a densidade de material do filme. A concentração de quitosano também induz maior permeabilidade aos gases (oxigénio e dióxido de carbono) e ao vapor de água, uma vez que este tem natureza hidrofílica. Contudo é de salientar que um aumento da concentração de quitosano implica um aumento da espessura dos filmes e conseqüentemente um aumento da resistência à transferência de massa (Casariego et al., 2007).

No presente trabalho a concentração de quitosano avaliada foi 1, 2.5 e 3% (w/w) e a concentração da solução ácida foi mantida a 3% (w/w).

▪ **Introdução de aditivos na formação de filmes**

Corresponde à segunda etapa da preparação dos filmes e o objectivo consiste em melhorar as propriedades mecânicas e físicas dos filmes finais. Os filmes de quitosano feitos recorrendo simplesmente à secagem da solução de quitosano sem quaisquer aditivos, apresentam propriedades mecânicas e físicas pobres. Enquanto solução apresenta má molhabilidade e conseqüentemente dificuldades de espalhamento. Enquanto filme formado apresenta pouca elasticidade, pouco brilho e enrolamento nas extremidades causado pela evaporação do solvente (Casariego et al., 2007).

De modo a melhorar estes efeitos e aproveitando o facto de o quitosano ter grupos quimicamente modificáveis, como os hidroxilos e os grupos amina, é possível adicionar outros componentes que melhorem as propriedades físicas do produto final (Zhang et al., 2002). Estas modificações podem ser feitas de dois modos: 1) misturar o quitosano com outros polímeros ou 2) reticular o quitosano (Song e Hourston, 2004). Na elaboração de filmes de quitosano no presente trabalho laboratorial foram testados o polietileno glicol (PEG 400) e Tergitol 15-S-20 como plastificante e emulsionante, respectivamente.

- **Método de secagem**

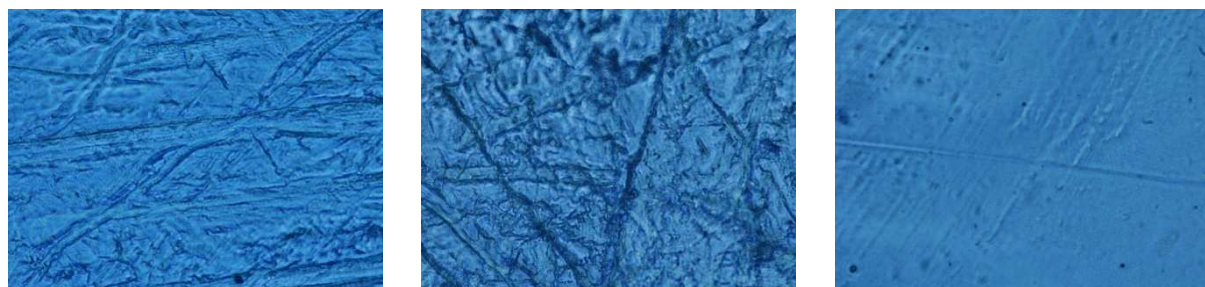
Foram utilizados dois métodos de secagem na obtenção de filmes de quitosano: (1) secagem ao ar livre e à temperatura ambiente e (2) secagem na estufa sob temperatura.

3.4.3. ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Na tabela 3.6 estão descritas as condições utilizadas experimentalmente na produção de filmes. Conforme listado, vários são os factores que influenciam a qualidade dos filmes produzidos.

- **Concentração de quitosano**

Na figura 3.11 estão representados filmes preparados utilizando somente quitosano como material de base, isto é, não foram introduzidos aditivos. Chit1G foi preparado sem filtração da solução de quitosano e esta espalhada numa placa de teflon redonda com diâmetro de 8 cm. Chit1P foi preparado sem filtração da solução de quitosano e esta espalhada numa placa de teflon redonda com 4 cm de diâmetro. Chit 2 foi preparado após filtração da solução notando-se um incremento da homogeneidade do filme formado devido à ausência de aglomerados de polímero.



Chit1G Ampliação 40X

Chit1P Ampliação 40X

Chit 2 Ampliação 40X

Figura 3.11. Filmes em que no procedimento não foram adicionados quaisquer aditivos.

- **Introdução de aditivos**

A figura 3.12 mostra o efeito da adição dos aditivos no aspecto final dos filmes. No caso Chit4 foi adicionado Tergitol 15-S-20, no caso Chit5 foi adicionado PEG 400. No caso Chit6 testou-se a adição simultânea dos dois aditivos. Verificou-se que com a adição de emulsionante (Chit4) o aspecto superficial dos filmes melhorou denotando um melhor espalhamento e coalescência das partículas na formação do filme. Com a adição de plastificante (Chit5) o resultado observado é o mesmo verificando-se ainda que não houve retracção do filme após ser retirado do molde. Com a adição conjunta dos dois aditivos obtêm-se filmes secos bastante maleáveis, com superfície homogênea e com menor rugosidade. Também se verificou que não houve retracção do filme.

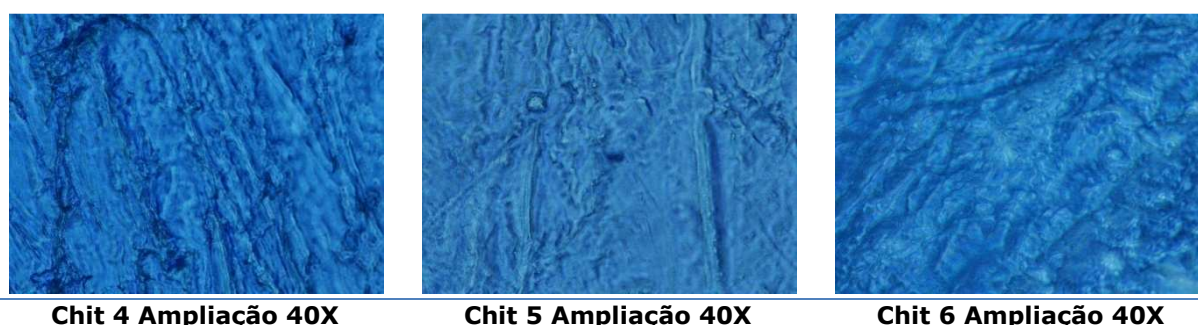


Figura 3.12. Filmes em que no procedimento foram adicionados aditivos

- **Método de secagem**

A figura 3.13. mostra o efeito do método de secagem no aspecto final do filme. Quando a solução de quitosano é espalhada na placa de Teflon e imediatamente colocada na estufa, as bolhas de ar ficam aprisionadas na matriz do filme (Chit 3). O procedimento mais viável consistiu em desgaseificar a solução, espalhar a solução na placa e secar o filme na estufa (Chit 4 e Chit 6). A secagem à temperatura ambiente originou filmes menos rígidos, contudo este aspecto foi associado a uma secagem deficiente (comprovada por FTIR – presença de água).

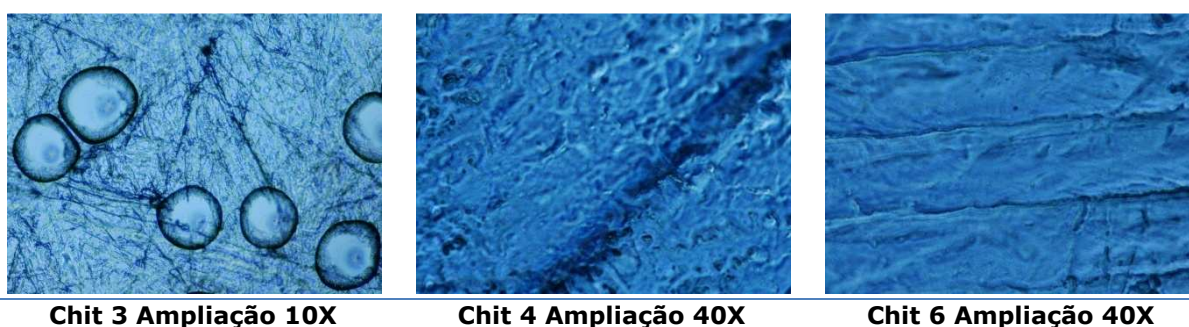


Figura 3.13. Filmes em que no procedimento foram empregues dois métodos de secagem.

Tabela 3.6. Condições de manufactura para obtenção de filmes.

Amostra	Concentração Quitosano % (w/w)	Concentração Ácido % (w/w)	Tipo de Filtração	Concentração Plastificante % (w/w)	Concentração Emulsionante % (w/w)	Método de Secagem	Observações
Chit1 G	3	3	—	—	—	Ambiente 16hrs	Solução muito viscosa e difícil espalhamento Filme homogéneo com rigidez Apresenta alguma resistência, pouca elasticidade, um pouco opaco
Chit1 P	3	3	—	—	—	Ambiente 48hrs	Filme mais rígido e mais opaco do que o anterior
Chit2	2.5	3	Vácuo	—	—	Ambiente 16hrs	Apresenta as mesmas propriedades físicas que a amostra Chit1
Chit3	2.5	3	Vácuo	—	—	Estufa 70°C 17hrs	Mais rígido que as amostras anteriores e mais opaco
Chit4	1	3	—	—	Tergitol 15-S-20 0.1	Estufa 60°C 1hr	Solução menos viscosa, mas ainda um pouco difícil de espalhar porque não foi filtrada Os filmes são mais maleáveis do que nas experiências anteriores mas enrolam-se mais
						Ambiente 16hrs	
Chit5	1	3	Vácuo	PEG 400 1.5	—	Ambiente	Solução ligeiramente mais fácil de espalhar do que as anteriores Com a adição do plastificante, o filme apresenta-se mais maleável do que os obtidos até ao momento
Chit6	1	3	Vácuo	PEG 400 1	Tergitol15-S-20 0.1	Estufa 70°C 3hrs	Filme maleável, com uma superfície homogénea
						Ambiente 48 hrs	

3.5. INTRODUÇÃO DE MICROCÁPSULAS NOS FILMES DE QUITOSANO

Após a realização das microcápsulas e dos filmes de quitosano, procedeu-se à formação de filmes contendo microcápsulas. Foram utilizados dois métodos diferentes:

- 1) – Introduzir a solução de microcápsulas na solução de quitosano e espalhar em placas de Teflon;
- 2) – Pincelar a solução de microcápsulas directamente na superfície dos filmes secos.

Para efeito de incorporação no couro, o procedimento 1) é mais adequado. O procedimento 2) foi testado tendo em vista a aplicação das microcápsulas isoladas.

3.5.1. ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

- Utilizando o procedimento 1):

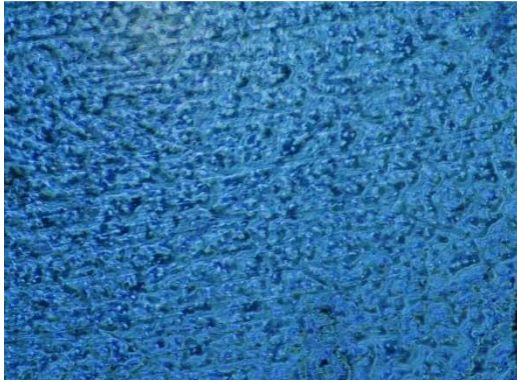
Uma vez que para a formação dos filmes, o quitosano tem de se encontrar em solução, ou seja, numa gama de pH baixo, as microcápsulas têm de ter resistência física para não se desintegrarem. Resumidamente, o quitosano é dissolvido numa solução ácida seguido de filtração. Os aditivos são incorporados à solução (emulsionante e plastificante), seguido da adição da solução de microcápsulas. As condições de operação estão indicadas na tabela 3.7. A solução de quitosano (1%, w/w) foi preparada utilizando como base uma solução de ácido acético 1% (w/w).

Tabela 3.7. Condições de manufactura para obtenção de filmes com microcápsulas.

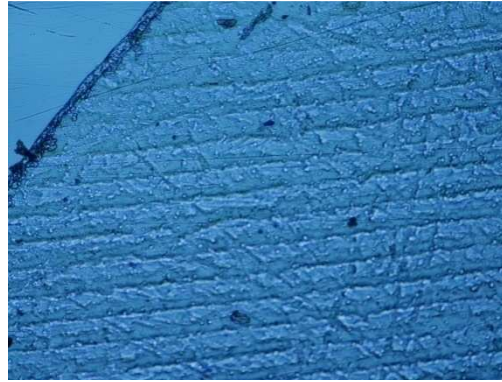
Amostra	VSQ mL	Tipo de Filtração	Concentração Plastificante % (w/w)	Concentração Emulsionante % (w/w)	VSM mL	Método de Secagem
Filme1	20	Vácuo	1	0.1	10	Estufa 50° 2hrs
Filme2	20	Vácuo	1	0.1	10	Ambiente

NOTA: VSQ: Volume da solução de quitosano, VSM: Volume de solução de microcápsulas

A figura 3.14 ilustra os filmes em que se pôs em prática este procedimento. Os resultados mostram as microcápsulas dispersas na matriz do filme. Como se utilizou uma concentração baixa de quitosano, os filmes formados são pouco espessos.



Filme 1 Ampliação 10X

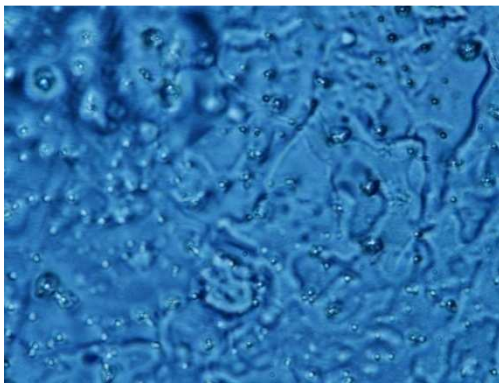


Filme 2 Ampliação 10X

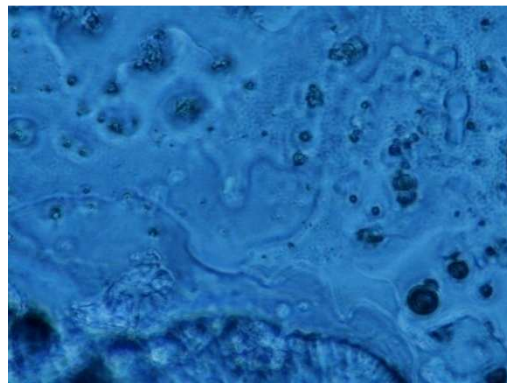
Figura 3.14. Filmes de quitosano com incorporação de microcápsulas directamente na solução de quitosano.

- Utilizando o procedimento 2):

O outro método utilizado para obter filmes com microcápsulas foi o de espalhar a solução de microcápsulas sobre a superfície dos filmes secos. As microcápsulas utilizadas neste procedimento foram as da amostra Mic 1_2 e o filme o da amostra Chit 6. A figura 3.15 ilustra os resultados obtidos. Pela análise das imagens verifica-se as microcápsulas ficam à superfície, não tendo capacidade para se ligar aos filmes. Um procedimento possível seria a introdução de um ligante, que estabelecesse a adesão das microcápsulas ao filme.



Filme 3 Ampliação 40X



Filme 3 Ampliação 40X

Figura 3.15. Filmes de quitosano com incorporação de microcápsulas directamente na superfície do filme seco.

4. Aplicações Para a Indústria do Calçado

4.1. Enquadramento dos Revestimentos Funcionais na Indústria do calçado

O calçado tem sofrido modificações ao longo do tempo sempre na procura da comodidade e conforto, passando também pelo estilo. A origem do sapato vem da pré-história onde utensílios de pedra serviam para raspar as peles, o que significa que a arte da curtimenta é bastante antiga. Em meados do século XIX surgem as máquinas de costura no auxílio da confecção de sapatos, começando assim a serem fabricados a grande escala. Uma grande variedade de produtos segmenta a indústria do calçado, em que a moda dita estilos variados e modelos, sendo confeccionados com uma grande diversidade de materiais, além do couro outros materiais, como os sintéticos, surgiram como substituintes, especialmente em calçado de senhora e criança (Júnior, 2004).

Os revestimentos funcionais podem ser inseridos na indústria do calçado em vários pontos de processo de fabrico bem como em diversos materiais componentes de um sapato. Como o couro é um produto natural, renovável e cada vez mais solicitado, vários são os esforços para maximizar o seu potencial. Nesta perspectiva, os revestimentos funcionais não só lhe inculcem novas propriedades como beneficiam as já existentes. Na tabela 4.1 estão alguns exemplos de revestimentos funcionais desenvolvidos para aplicação no couro.

Tabela 4.1. Exemplos de aplicações de revestimentos funcionais no couro.

Base dos Revestimentos Funcionais	Função	Referência
Poliuretano	Dissimular e corrigir eventuais defeitos da pele sem prejudicar o aspecto natural	Jayakumar et al., 2004
Celulose	Permitir uma cura à temperatura ambiente	Kraaijevanger e Kruithof, 2001
Acetamida/Acetoacetato	Facilita a gravação Melhora a resistência à flexão (ambiente húmido)	Lescko e Schindler, 2002
Latéx/Amina polifuncional	Permite secagem rápida e formação de um revestimento com brilho aquoso	Fernandes e Pimenta, 2007

A indústria do calçado precisa cada vez mais de apostar na inovação e tecnologia quer de materiais como de processos de fabrico. A produção de materiais que marquem a diferença no mercado é encarada como uma vantagem competitiva. Os materiais são criados a partir de necessidades específicas, tais como, ecológicas e ambientais, económicas, de segurança e conforto, luxo, arte e tradição, assim como por questões de saúde.

Alguns aspectos que o Centro Tecnológico de Calçado Português (CTCP) aponta como necessidade de mudança são: criação de materiais resistentes à água, respiráveis, resistentes ao crescimento de microrganismos, que controlem a temperatura, humidade relativa e odor, assim como distribuam a pressão na planta do pé e absorvam o choque no interior do calçado. Um outro aspecto é a necessidade de criar solas de botas de bombeiros resistentes à chama (CTCP, 2008).

4.2. CONSIDERAÇÕES SOBRE O PROCESSO DE PRODUÇÃO DO COURO

O couro é um material amplamente utilizado no calçado, malas, cintos, carteiras e outros acessórios (figura 4.1). Ele exibe características conhecidas e desejáveis, como ser um produto natural, elástico, durável, adaptável à temperatura ambiente e benéfico para a saúde.



Figura 4.1. Aplicações do couro.
(in <http://pt.wikipedia.org/wiki/Couro>)

A indústria dos curtumes visa produzir couro, ou seja, pele curtida e acabada, a partir de matéria-prima natural e renovável, gerada como subproduto da indústria das carnes. Esta arte remonta à antiguidade, tendo sofrido alterações na vanguarda da tecnologia de processos para dar resposta às exigências crescentes de mercado e fazer face à sustentabilidade e competitividade actuais (Gutterres, 2008).

O processo produtivo do couro, ou seja, a curtimenta das peles, engloba uma série de etapas para obtenção de um produto final com determinadas propriedades, como maciez, textura, resistência, entre outras, com vista a ser empregue no fabrico de produtos de uso comum. Este processo divide-se em três fases essenciais. Independentemente do tipo de curtimenta as fases são: a ribeira ou pré-tratamento, curtume e finalmente pós-curtume e acabamentos. A fase de ribeira consiste numa serie de operações que preparam a pele para a fase a jusante (curtimento) que pode ser de natureza química ou mecânica. Na fase seguinte é onde ocorre o curtimento propriamente dito e em que se utilizam agentes curtientes adequados para reagirem com o colagénio da pele. Na fase de pós-curtume e acabamento realizam-se uma série de etapas que eliminam os defeitos da pele e lhe conferem as propriedades finais. Estas etapas podem ser mecânicas ou físico-químicas (Figueiredo et al., 2000). O processo geral está representado na figura 4.2. O produto final da indústria da curtimenta é estável e imputrescível (Pacheco, 2005).

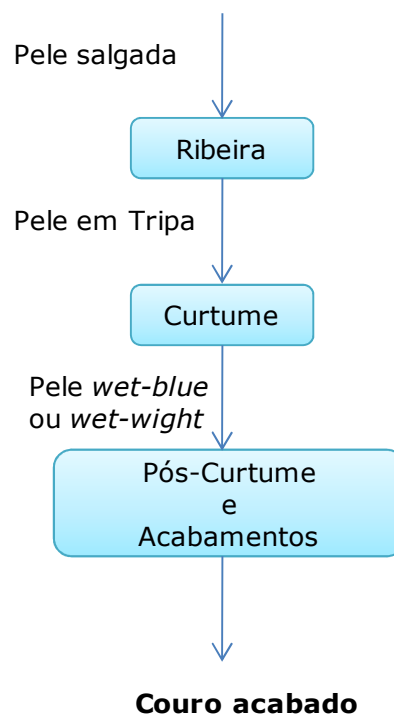


Figura 4.2. Esquema simplificado do processo produtivo do couro.

São conhecidos três processos de curtimenta, que dependem da natureza do agente curtiente. A fase do processo correspondente à etapa do curtume pode ser:

- *Curtimenta mineral:* É feito recorrendo preferencialmente ao crómio uma vez que grande parte da maquinaria da indústria do calçado está projectada para peles curtidas com este mineral. Normalmente é utilizado na forma de sulfato de crómio trivalente (Cr_3^+) que reage com as fibras de colagénio, fixando-se sob a forma de um complexo com os grupos carboxílicos terminais das cadeias de aminoácidos, curtindo o couro e eliminando os riscos cancerígenos. Obtêm-se couros leves, resistentes ao calor e ao desgaste. Outros agentes curtientes também utilizados neste processo podem ser o alumínio, zircónio, titânio e o magnésio. O couro obtido por este método denomina-se por *wet-blue*;
- *Curtimenta vegetal:* É a prática mais antiga que utiliza extractos vegetais como o tanino vegetal, ou seja, extractos de plantas que possuem afinidade com o colagénio, originando couro rígido geralmente utilizado como sola;
- *Curtimenta sintética:* São empregues como agentes de curtimento alguns compostos orgânicos, como o tanino sintético ou resinas, que permitem um curtimento uniforme, aumentando a penetração de outros agentes de curtimento e posterior eficiência de tingimento. O couro obtido por este método denomina-se por *wet-wight* (Pacheco, 2005; Figueiredo et al., 2000).

4.3. INTRODUÇÃO DO REVESTIMENTO FUNCIONAL NO PROCESSO PRODUTIVO DO COURO

A introdução de um revestimento funcional no processo produtivo do couro necessita do conhecimento das várias etapas do processo de fabrico e das respectivas condições operatórias. A tabela 4.2 resume as operações associadas a cada fase, fazendo referência ao tipo de reagentes usados assim como a algumas das características de maior relevo.

Tabela 4.2. Operações de cada fase do processo produtivo do couro (in Figueiredo et al., 2000).

Fase	Operação	Função	Reagentes	Nota
Ribeira	Molho	Dessalinização da pele	Agentes molhantes Emulsionantes Enzimas	Inversão do processo de salga, re-hidratação da pele
	Caleiro ou Calagem	Pulverização e dissolução num banho para a remoção do pêlo	Sulfureto de Sódio Cal Aminas Soda	O sulfureto actua sobre a queratina do pêlo e da camada epidérmica promovendo a degradação química pela destruição das pontes de enxofre que estabilizam a proteína, dando simultaneamente a abertura da estrutura fibrosa da pele (relaxamento alcalino) para facilitar o acesso aos agentes de curtimenta.
	Descarnagem Aparação Divisão (em Tripa)	Remoção de partes da pele não aproveitáveis (Operações mecânicas)	—	Descarnagem: Retiram-se os tecidos adiposos resultando num resíduo sólido – carnazes ou tripa Aparação: Corte manual das zonas laterais da pele Divisão em tripa: Separa-se a pele em duas camadas: – Interior (crute, menor valor) – Exterior (camada principal) Esta separação não é fácil e é muitas vezes realizada após a fase de curtume
	Desencalagem Confitagem	Neutralização da cal de forma gradual e doseada; Conferir maciez à pele	Sais de amónio (sulfatos ou cloretos) Ácidos orgânicos fracos Dióxido de carbono Agentes amaciadores Enzimas	Desencalagem: Remove-se parte substancial dos agentes alcalinos retidos pela pele sem perder o relaxamento adquirido na calagem Confitagem: Confere maciez à pele denominando-se no final “pele em tripa”
	Desengorduramento	Desengorduração a pele	Solventes orgânicos ou aquosos	Esta operação é essencialmente realizada em peles de suíno, ovino e caprino, Sendo omissa no processamento de peles de bovino
Curtume	Piquelagem	Preparação da pele para o curtume	Cloreto de sódio Ácido sulfúrico	Cria condições físico-químicas para difusão eficiente do agente curtiente evitando a imobilização precoce por precipitação
	Curtume: - Mineral - Vegetal - Sintético	Obtenção de um produto imputrescível	Crómio/Alumínio/ Zircónio/Titânio/ Magnésio Agentes basificantes lentos: MgO e dolomite Glutaraldeído Agentes sintéticos	O crómio reage com o colagénio da pele fixando-se na forma de um complexo com os grupos carboxílicos terminais das cadeias de aminoácidos Os agentes basificante são usados para controlar o pH entre 3-4 de modo a evitar a precipitação do crómio como hidróxido, maximizando o rendimento da operação A pele obtida por este tipo de curtimenta denomina-se <i>wet-blue</i> Nos outros tipos de curtimenta a pele obtida denomina-se por <i>wet-wight</i> e a desvantagem em relação ao crómio está na obtenção de peles com baixa temperatura de encolhimento No caso do glutaraldeído a sua incorporação na pele é irreversível
	Escorrimento	Escorrimento da pele	—	As peles são escorridas utilizando-se maquinas de rolos com feltros

Pós-curtume E Acabamentos	Divisão e rebaixamento ou Desbaste	Conferir dimensões, Uniformidade e propriedades finais	—	Estas operações realizam-se de forma mecanizada. Divisão: É retirada a parte interior da pele (caso não se tenha feito na fase ribeira) Rebaixamento: Acerto final da espessura a pele por desbaste da parte interior com lâminas helicoidais Os restos originados destas operações são denominados por raspas azuis
	Recurtume Tingimento Engorduramento	Complementação do processo de curtume	Agentes curtinentes Anilinas e outros corantes para tingir a pele Oleos vegetais, animais ou minerais para o engorduramento	Única etapa húmida da fase de pós-curtume
	Estiragem Secagem	Eliminação de rugas Secagem	—	As peles são estiradas para retirar as rugas e secas em máquinas de vácuo seguida de secagem natural ao ar O resultado é uma pele quase acabada designada por <i>crust</i>
	Abrandamento Aparação Lixagem Prensagem	Conferir propriedades finais Eliminar defeitos ainda existentes	—	Operações sequenciais de natureza mecânica
	Acabamentos	Conferir características que determinam a aparência final de acordo com a utilização	Tintas e graxas à base de resinas Dispersões aquosas Pigmentos Caseínas Cêras (cloroparafinas)	As características conferidas por esta operação são por exemplo cor da pele, maciez, brilho ou lustro e textura
	Classificação Medição	—	—	As peles são classificadas e medidas para serem comercializadas

Conforme o descrito anteriormente, o processo de fabrico do couro engloba vários banhos onde são empregues diferentes reagentes, alterando conseqüentemente o pH dos diferentes estágios. A figura 4.3 ilustra o processo produtivo do couro fazendo ênfase à temperatura e pH de algumas etapas.

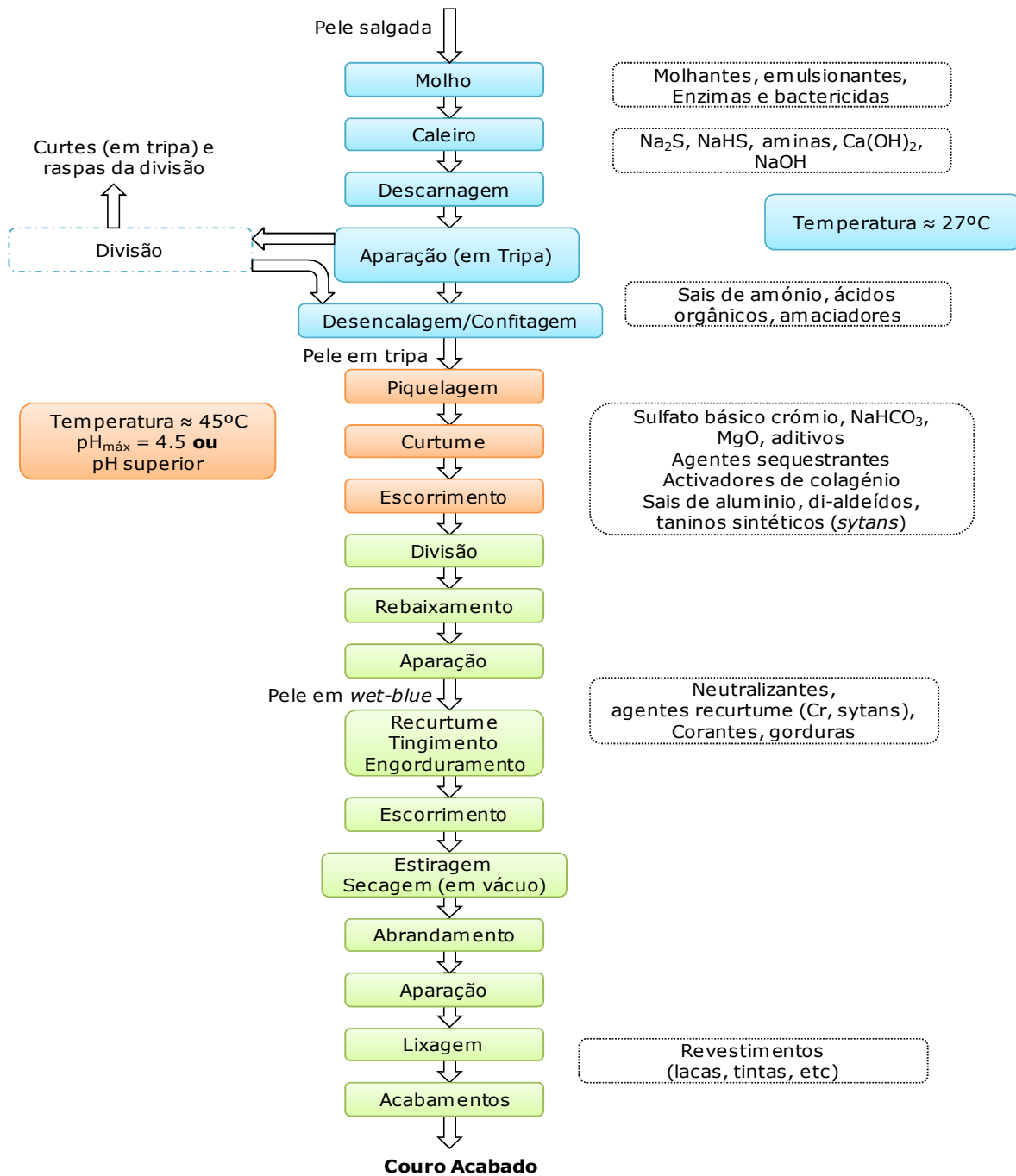


Figura 4.3. Processo produtivo do couro evidenciando as condições de operação de algumas etapas.

Os processos produtivos adoptados industrialmente variam consoante a empresa. Além dos aspectos económicos, estas devem levar também em consideração aspectos ambientais. Um dos principais problemas apontado ao sector é o uso do crómio. Das várias estratégias implementadas para substituir este composto, nenhuma consegue produzir couro de qualidade similar. Para diminuir o efeito nefasto do crómio, são normalmente introduzidos auxiliares de curtimenta, como os agentes sequestrantes e os activadores de colagénio, diminuindo a quantidade de crómio. Os agentes sequestrantes podem ser ácidos dicarboxílicos de cadeia curta e alifáticos, assim como poliacrilatos de baixo peso. Estes compostos actuam por complexação com o crómio estabilizando-o em solução e evitando a sua precipitação, podendo então a curtimenta realizar-se a um valor de pH superior a 4.5 (Figueiredo et al., 2000). Os activadores de colagénio aumentam o número de centros activos no colagénio da camada dérmica, favorecendo a fixação do crómio. O ácido glioxílico (OHCCOOH), normalmente utilizado, reage com os grupos amina das cadeias proteicas, fornecendo grupos carboxílicos adicionais à estrutura. O normal é utilizar os activadores na etapa anterior à da curtimenta. Nestas condições, o quitosano não precipita e pode reagir com o colagénio. É possível então introduzi-lo nesta fase sob duas formas:

- 1) - Em forma de solução, em que as suas moléculas migram para interior da camada dérmica reagindo com o colagénio;
- 2) - Em forma de microcápsulas dispersas em solução de quitosano, onde além da migração do quitosano livre, as microcápsulas também se fixariam no interior da matriz dérmica.

Mesmo que as microcápsulas e os filmes de quitosano conseguissem fixar-se à pele nesta etapa, existem uma série de procedimentos mecânicos a jusante que poderiam eventualmente destruir estas estruturas. Um procedimento alternativo seria a introdução dos filmes com microcápsulas no final do processo, mais especificamente como acabamento. Neste caso poderiam ser utilizados as seguintes técnicas de aplicação:

- 1) - Atomização sobre a superfície do couro;
- 2) - Espalhamento de uma solução de quitosano contendo microcápsulas.

Como agente de fixação poderia ser utilizado glutaraldeído que também já é utilizado no processo de produção de couro (auxiliar de curtimenta).

5. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS DE TRABALHO FUTURO

No presente trabalho laboratorial procedeu-se ao desenvolvimento de um revestimento funcional de base quitosano para aplicação na indústria do calçado, em particular, no couro. O procedimento experimental dividiu-se essencialmente em três etapas: (1) Formação de microcápsulas pelo método de coacervação simples; (2) Formação de filmes pelo método da secagem do solvente; (3) Incorporação de microcápsulas numa matriz de filme.

Uma vez que o quitosano é a base de todo o procedimento experimental, procedeu-se à sua caracterização avaliando o grau de desacetilação da amostra utilizada. A determinação do grau de desacetilação teve por base o procedimento desenvolvido por Khan et al. (2002), tendo-se obtido um valor de aproximadamente 76%. Os resultados obtidos encontram-se de acordo com os descritos na literatura.

A preparação das microcápsulas teve por base o procedimento experimental desenvolvido no âmbito do projecto integrado no ano lectivo de 2006/2007, utilizando como sistema químico Quitosano/Tergitol 15-S-9/Glutaraldeído. O procedimento desenvolvido foi otimizado de forma a obter estruturas consolidadas, individualizadas e/ou dispersas numa matriz de polímero. Para obter estes resultados efectuaram-se algumas alterações, nomeadamente: (1) na preparação da emulsão; (2) na preparação da solução de quitosano; (3) na formação de microcápsulas pela deposição do quitosano sobre as gotículas; (4) na etapa de reticulação. Na preparação da emulsão optimizou-se o tipo e a concentração de emulsionante, assim como o tempo de agitação para obter um determinado tamanho de partícula ($\approx 15 \mu\text{m}$) e uma distribuição homogénea de tamanhos. Conclui-se que a concentração e tempo de agitação ideais são 1.5 (w/w) e 10 s (para uma velocidade de 11000 rpm), respectivamente. Para preparar a solução de quitosano, optimizou-se a concentração e a temperatura. Verificou-se ainda que a filtração da solução melhorou os resultados finais. A concentração de quitosano foi mantida a 2 %(w/w) e a concentração da solução ácida foi testada para valores de 0.4, 3 e 10 %(w/w). Para avaliar este parâmetro foi necessário ter em consideração dois pontos: (1) caso se pretenda que o quitosano se encontre dissolvido num valor de pH próximo do seu valor de precipitação, a concentração da solução ácida deve ser de 0.4 %(w/w), ou seja, baixa. Por outro lado, quando se pretende que a solução de quitosano se encontre num valor de pH inferior ao valor da sua precipitação, a concentração da solução ácida deve ser 10 %(w/w). Um aspecto importante a retirar destes pontos é que o aumento da concentração da solução ácida favorece a protonação dos grupos amina, isto é, melhora a solubilidade.

Na formação das microcápsulas pela deposição do quitosano sobre as gotículas de óleo, testaram-se dois procedimentos experimentais: (1) provocar a precipitação do quitosano pela adição de uma solução de hidróxido de sódio; (2) provocar a precipitação do

quitosano pelo contacto da sua solução com a emulsão a um pH próximo do neutro. Na primeira situação verificou-se a formação de alguns aglomerados de quitosano havendo alguma dificuldade em obter microcápsulas individualizadas. Contudo, este procedimento parece favorecer a deposição de material sobre as microgotículas. Na segunda abordagem, a formação de aglomerados é quase imediata diminuindo a quantidade de material disponível para revestir as microgotículas.

Na etapa de reticulação avaliaram-se dois parâmetros, a quantidade e modo de adição do agente reticulante. Concluiu-se que, independentemente da concentração de glutaraldeído adicionado, a utilização de uma solução concentrada de glutaraldeído e/ou microcápsulas implica formação de aglomerados de polímero. Contudo, a quantidade de agente reticulante adicionada influencia as propriedades físicas finais das microcápsulas. É importante obter microcápsulas com a parede bem consolidada.

Após a validação do procedimento de produção das microcápsulas, procedeu-se ao desenvolvimento do protocolo para a preparação de filmes de quitosano, usando como sistema químico Quitosano/Tergitol 15-S-20/PEG 400. A concentração da solução de quitosano foi avaliada em 1, 2.5 e 3 %(w/w), verificando-se que o aumento da concentração de quitosano, provoca maior dificuldade de espalhamento da solução nas placas de Teflon. Com a adição de aditivos este aspecto melhora. O aumento da concentração do quitosano também influencia as propriedades físicas dos filmes, apresentando-se mais resistentes e espessos. Com a adição de emulsionante e plastificante, além da solução apresentar maior grau de molhabilidade, os filmes resultantes apresentam-se flexíveis e com uma superfície mais homogénea. O método de secagem adoptado também influencia a resistência final dos filmes, sendo a secagem em estufa a que origina filmes mais resistentes. Verificou-se também que é necessário desgaseificar a solução de quitosano após esta ser espalhada nas placas de Teflon e previamente à secagem em estufa evitando assim, formar filmes com aprisionamento de bolhas de ar.

Depois da preparação das microcápsulas e dos filmes de quitosano, procedeu-se à formação de filmes contendo microcápsulas. Esta incorporação foi feita por dois métodos: (1) incorporação da solução de microcápsulas numa solução de quitosano, seguida de secagem; (2) espalhar a solução de cápsulas na superfície do filme de quitosano previamente seco. Verificou-se que no primeiro procedimento as microcápsulas necessitam estar suficientemente consolidadas para resistirem às condições de pH da solução de quitosano. Com o segundo procedimento as cápsulas não têm capacidade física para se ligarem à superfície dos filmes. Um procedimento possível passaria pela introdução de um ligante para promover a adesão das microcápsulas ao filme. Para efeito

de incorporação no couro, o primeiro procedimento é mais adequado e o segundo foi testado tendo em vista a aplicação das microcápsulas isoladas como acabamento.

O fabrico do couro, desde a criação dos animais, passando pelo processo de curtimenta, até aos acabamentos do couro final, pode ser considerado como um processo de "valor acrescentado". As características do couro final, tais como qualidade, suavidade, resistência, espessura, textura, cor, brilho e rigidez, são todas melhoradas e adequadas às necessidades, a fim de produzir o artigo final desejado. Os revestimentos funcionais de base quitosano podem ser empregues no processo de fabrico, tendo em vista a obtenção de um produto de alta qualidade e que apresente funcionalidades melhoradas. De acordo com o foi testado experimentalmente, estes revestimentos podem ser inseridos especificamente em duas etapas do processo: no curtume ou nos acabamentos.

O trabalho experimental apresentado consistiu numa primeira abordagem à síntese de um revestimento funcional de base quitosano. Para trabalho futuro é possível identificar e sugerir algumas alterações, nomeadamente:

- Diminuir a massa molecular do quitosano para haver um recobrimento mais eficiente sobre a superfície das microgotículas;
- Testar as propriedades microbiológicas, físicas e mecânicas dos filmes de quitosano aplicados no couro;

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdullah J., Ahmad M., Karupiah N., Heng L. Y., Sidek H., "Immobilization of tyrosinase in chitosan film for an optical detection of phenol", *Sensors and Actuators B*, **114**, 604–609, (2006)
- Aoi K., Seki T., Okada M., Sato H., Mizutani S., Ohtani H., Tsuge S., Shiogai Y., "Synthesis of a novel N-selective ester functionalized chitin derivative and water-soluble carboxyethylchitin", *Macromol. Chem. Phys.*, **201**, 1701–1708, (2000)
- Bittelli M., Flury M., Campbell S., Nichols J., "Reduction of transpiration through foliar application of chitosan", *Agricultural and Forest Meteorology*, **107**, 167–175, (2001)
- Borgognoni F., Polakiewicz B., Pitombo R., "Estabilidade de emulsões de limoneno em quitosana modificada", *Ciênc. Tecnol. Aliment*, **26** (3), 502–508, (2006)
- Boston R., "Antistatic coatings comprising chitosan acid salt and metal oxide particles", US Patent 5348799, 1994
- Burt S., "Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review", *International Journal of Food Microbiology*, **94**, 223–253, (2004)
- Campana P., Signini R., "Efeito de aditivos na desacetilação de quitina", *Polímeros, Ciência e Tecnologia*, **11** (4), 169–173, (2001)
- Caner C., Cansiz O., "Effectiveness of chitosan-based coating in improving shelf-life of eggs", *J Sci Food Agric*, **87**, 227–232, (2007)
- Casariogo A., Souza S., Vicente A., Teixeira J., Cruz L., Díaz R., "Chitosan coating surface and permeation properties as affected by plasticizer, surfactant and polymer concentration-application to vegetables", International Symposium, Food and Agricultural Products: Processing and Innovations, 1–16, 2007
- Chagas A., Passos W., Prates H., Leite R., Furlong J., Fortes I., "Efeito acaricida de óleos essenciais e concentrados emulsionáveis de *Eucalyptus* spp em *Boophilus microplus*", *Braz. J. vet. Res. anim. Sci.*, **39** (5), 247–253, (2002)
- Chesnutt B. M., Yuan Y., Brahmandam N., Yang Y., Ong L., Haggard O., Bumgardner D., "Characterization of biomimetic calcium phosphate on phosphorylated chitosan films", *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, **82-A**, 343–353, (2007)
- Couro, Disponível em: <http://pt.wikipedia.org/wiki/Couro>, Janeiro de 2008
- Cruz J., Kawasaki M., Gorski W., "Electrode coatings based on chitosan scaffolds", *Anal. Chem*, **72**, 680–686, (2000)
- David S., Boaro F., Marques M., "Rendimento e composição do óleo essencial de *Mentha Piperita* L., cultivada em solução nutritiva com diferentes níveis de fósforo", *Rev. Bras. Pi. Med.*, **8** (4), 183–188, (2006)
- de Quadros S., "Tratamento e reutilização de efluentes têxteis gerados nos tingimentos de tecidos de algodão", Tese de Mestrado, Universidade Regional de Blumenau – CCEN, Brasil, 2005
- Delamare A., Moschen-Pistorello I., Artico L., Atti-Serafini L., Echeverrigaray S., "Antibacterial activity of the essential oils of *Salvia officinalis* L. and *Salvia triloba* L. cultivated in South Brazil", *Food Chemistry*, **100**, 603–608, (2007)
- Desai J., Banat I., "Microbial Production of Surfactants and Their Commercial Potential", *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, **61**, 47–64, (1997)
- Dhanikula B., Panchagnula R., "Development and Characterization of Biodegradable Chitosan Films for Local Delivery of Paclitaxel", *AAPS Journal*, **6** (3), Article 27, 1–12, (2004)
- Dini E., Alexandridou S., Kiparissides C., "Synthesis and characterization of cross-linked chitosan microspheres for drug delivery applications" *J. microencapsulation*, **20** (3), 375–385, (2003)
- Dodane V., Vilivalam V. D., "Pharmaceutical applications of chitosan" *PSTT*, **1** (6), 246–253, (1998)

dos Reis B., "Caracterização de filmes e coberturas de quitosana aplicados em papelão ondulado", Tese de Mestrado, UNICAMP-FEQ, Brasil, 2005

Dusan F., Marián S., Katarína D., Drobroslava B., "Essential oils—their antimicrobial activity against *Escherichia coli* and effect on intestinal cell viability", *Toxicology in Vitro*, **20**, 1435–1445, (2006)

Fernandes J., David V., Facchini P., da Silva M., Filho E., Vieira P., "Extrações de óleos de sementes de citros e suas atividades sobre a formiga cortadeira *atta sexdens* e seu fungo simbionte", *Quim. Nova*, **25** (6B), 1091-1095, (2002)

Fernandos G. , Pimenta D., "Coating compositions and methods of coating substrates", US Patent 20070043151 A1, 2007

Figueiredo J., Nogueira C., Pedrosa F., Guimarães J., "Guia Técnico Sector de Curtumes", Plano Nacional de Prevenção dos Resíduos Industriais (PNAPRI), INETI, 2000

Franco J., "Prospecção fitoquímica e análise química e microbiológica do óleo essencial de *eucalyptus cinerea* f. Muell. Ex. Benth., myrtaceae", Tese de Mestrado, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brasil, 2005

Freier T., Koh S., Kazazian K., Shoichet S., "Controlling cell adhesion and degradation of chitosan films by N-acetylation", *Biomaterials*, **26**, 5872–5878, (2005)

Ghosh K., "Functional Coatings and Microencapsulation: A General Perspective" Cap. 1 in "Functional Coatings by Polymer Microencapsulation", Wiley – VCH, Weinheim, 1–28, 2006

Gonçalves V., Laranjeira M., Fávere V., "Effect of Crosslinking Agents on Chitosan Microspheres in Controlled Release of Diclofenac Sodium", *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, **15** (1), 6-12, (2005)

Gutterres M., "Tendência emergente na indústria do couro", Departamento de Engenharia Química, Universidade do Rio Grande do Sul, Disponível em: [http://www.enq.ufrgs.br/ppgeq/projetos/curtumes/Arqs/WPM\\$6F4A.pdf](http://www.enq.ufrgs.br/ppgeq/projetos/curtumes/Arqs/WPM$6F4A.pdf), Janeiro de 2008

Jayakumar R., Lee S., Nanjundan S., "Synthesis and Coating Characteristics of Novel Calcium-Containing Poly(urethane ethers)", *Journal of Applied Polymer Science*, **92**, 710–721, (2004)

Jeong J., Cha Y., Yu R. , Park H., "Changes in the mechanical properties of Chitosan-treated wool fabric", *Textile Research Journal*, **72** (1), 70–76, (2002)

Júnior C., "Tecnologia e proteção ambiental nas indústrias do couro e calçados na região de jaú – sp", Tese de Mestrado, Centro Universitário Araraquara – UNIARA, Brasil, 2004

Khan T., Peh K., Ch`ng H., "Reporting degree of deacetylation values of chitosan: the influence of analytical methods", *J Pharm Pharmaceut Sci*, **5** (3), 205–212, (2002)

Kittur S., Kumar R., Tharanathan N., "Functional packaging properties of chitosan films", *Springer-Verlag*, **206**, 44–47, (1998)

Kraaijevanger P. , Kruithof K., "Mixtures or pastes based on cellulose and the use thereof in coatings", US Patent 6281448 B1, 2001

Krajewska B., "Application of chitin- and chitosan-based materials for enzyme immobilizations: a review", *Enzyme and Microbial Technology*, **35**, 126–139, (2004)

Kristbergsson K., Einarsson M., Hauksón S., Gíslason J. , Peter G., "Recent developments in deacetylation of chitin and possible applications in food formulations", University of Iceland and The Icelandic fisheries laboratories, Disponível em: <http://vefur.rf.is/TAFT2003/PPtskjol/Fyrirlestrar/L70%20-%20Kristberg.pdf>, Junho de 2007

Kweon H., Ha C., Um C., Yong P., "Physical properties of silk fibroin/chitosan blend films", *Journal of Applied Polymer Science*, **80**, 928–934, (2001)

Lai F., Loy G., Manconi M., Manca M., Fadda A., "Artemisia arborescens L Essential Oil Loaded Beads: Preparation and Characterization", *AAPS PharmSciTech*, **8** (3), 1–7, (2007)

Lescko P., Schindler F., "Leather coating binder and coated leather having good embossability and wet-flex endurance", US Patent 6387291 B2, 2002

Mao S., Shuai X., Unger F., Simon M., Bi D., Kissel T., "The depolymerization of chitosan, effects on physicochemical and biological properties", *International Journal of Pharmaceutics*, **281**, 45–54, (2004)

Masato I., "Recent research on glycolipid. A novel application of chitin and chitosan to the cosmetics", *Fragr J*, **30** (5), 44–49, (2002)

Materiais, Disponível em: <http://www.ctcp.pt/>, Janeiro de 2008

Moura C., Muszinski P., Schmidt P., Almeida J., Pinto L., "Quitina e Quitosana produzidas a partir de 66solubilidade de camarão e SIRI: Avaliação do processo em escala piloto", *Vetor*, **16** (1/2), 37–45, (2006)

Mumm R., Schrank K., Wegener R., Schulz S., Hilker M., "Chemical analysis of volatiles emitted by *pinus Sylvestris* after induction by insect oviposition" *Journal of Chemical Ecology*, **29** (5), 1235–1252, (2003)

Nadarajah K., "Development and characterization of antimicrobial edible films from crawfish chitosan", Doctoral Thesis, Louisiana State University, USA, 2005

Nelson D., "Chitosan Pyrithione as an antimicrobial agent useful in personal care products, patente", US Patent 5015632, 1990

No K., Meyers P., Prinyawiwatkul W., Xu Z., "Applications of Chitosan for Improvement of Quality and Shelf Life of Foods: A Review", *Journal of food science*, **72** (5), 87–100, (2007)

Okuyama K., Noguchi K., Kanenari M., Egawa T., Osawa K., Ogawa K., "Structural diversity of chitosan and its complexes", *Carbohydrate Polymers*, **41**, 237–247, (2000)

Pacheco F., "Curtumes Série P+L", São Paulo, CETESB, Disponível em: <http://www.crq4.org.br/downloads/curtumes.pdf>, 2005

Payne G., Raghavan S., "Chitosan: a soft interconnect for hierarchical assembly of nano-scale components", *Soft Matter*, **3**, 521–527, (2007)

Peniche C., Argüelles-Monal W., Peniche H., Acosta N., "Chitosan: An attractive Biocompatible Polymer for Microencapsulation", *Macromol. Biosci.*, **3** (10), 511–520, (2003)

Pereda M., Aranguren I., Marcovich E., "Characterization of Chitosan/Caseinate Films", *Journal of Applied Polymer Science*, **107**, 1080–1090, (2008)

Pinto S., "Síntese e estudo de derivados do quitosano com potencial interesse biológico e ambiental", Tese de Mestrado, FEUP-UP, Porto, Portugal, 2005

Polak G., Meyer J., Howe A., Paez A., "Emulsifiers for Skin Care Applications", Disponível em: <http://www.in-cosmetics.com/ExhibitorLibrary/489/SpecialThree-broschure.pdf>, 2004

Prashanth H., Kittur S., Tharanathan N., "Solid state structure of chitosan prepared under different N-deacetylating conditions", *Carbohydrate Polymers*, **50**, 27–33, (2002)

Prins L., Lemos L., Freitas P., "Efeito do tempo de extração sobre a composição e rendimento do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis*)", *Rev. Bras. Pi. Med.*, **8** (4), 92–95, (2006)

Rhoades J., Rastall B., "Chitosan as an antimicrobial agent, School of Food Biosciences, The University of Reading", *Food Technology International*, ingredients & additives, Disponível em: http://www.fpi-international.com/articles/ingredients_additives/032_FTI007.pdf, Novembro de 2007

Rinaudo M., "Chitin and chitosan: Properties and applications", *Prog. Polym. Sci.*, **31**, 603–632, (2006)

- Sathivel S., Liu Q., Huang J., Prinyawiwatkul W., "The influence of chitosan glazing on the quality of skinless pink salmon (*Oncorhynchus gorboscha*) fillets during frozen storage", *Journal of Food Engineering*, **83**, 366–373, (2007)
- Schulz H., Quilitzsch R., Krüger H., "Rapid evaluation and quantitative analysis of thyme, oregano and chamomile essential oils by ATR-IR and NIR spectroscopy", *Journal of Molecular Structure*, **661** (662), 299–306, (2003)
- Senel S., İkinci G., Kas S., Yousefi-Rad A., Sargon F., Hincal A., "Chitosan films and hydrogels of chlorhexidine gluconate for oral mucosal delivery", *International Journal of Pharmaceutics*, **193**, 197–203, (2000)
- Shellie R., Marriott P., "Characterization and Comparison of Tea Tree and Lavender Oils by Using Comprehensive Gas Chromatography", *J. High Resol. Chromatogr.*, **23** (9), 554–560, (2000)
- Shrimp-based bandages save lives, Disponível em: <http://www.chitosanblog.com/>, Dezembro de 2007
- Song J., Hourston D., "Novel Chitosan-Based Films Cross-Linked by Genipin with Improved Physical Properties", *Biomacromolecules*, **5**, 162–168, (2004)
- Srinivasa P., Ramesh M., Kumar K., Tharanathan R., "Properties and sorption studies of chitosan–polyvinyl alcohol blend films", *Carbohydrate Polymers*, **53**, 431–438, (2003)
- Suh F., Matthew T., "Application of chitosan-based polysaccharide biomaterials in cartilage tissue engineering: a review", *Biomaterials*, **21**, 2589–2598, (2000)
- Suppakul P., Miltz J., Sonneveld K., Bigger W., "Active Packaging Technologies with an Emphasis on Antimicrobial Packaging and its Applications", *Journal of food science*, **68** (2), 408–420, (2003)
- Taghizadeh S., Davari G., "Preparation, characterization, and swelling behavior of N-acetylated and deacetylated chitosans", *Carbohydrate Polymers*, **64**, 9–15, (2006)
- Tan S., Khor E., Tan T., Wong S., "The degree of deacetylation of chitosan, advocating the first derivative UV-spectrophotometry method of determination", *Talanta*, **45**, 713–719, (1998)
- Vargas M., Albors A., Chiralt A., González-Martínez C., "Quality of cold-stored strawberries as affected by chitosan–oleic acid edible coatings", *Postharvest Biology and Technology*, **41**, 164–171, (2006)
- Velásquez L., "Quitina y quitosano: materiales del pasado para el presente y el futuro", *Avances en Química*, **1** (2), 15–21, (2006)
- Wicks Z., Jones N., Pappas P., Wicks A., "What are coatings", Cap. 1 in "Organic Coatings: Science and Technology", ed. John Wiley & Sons, Inc, 3ª Ed, 1–6, 2007
- Wittaya-areekul S., Prahsarn C., "Development and in vitro evaluation of chitosan–polysaccharides composite wound dressings", *International Journal of Pharmaceutics*, **313**, 123–128, (2006)
- Wu T., Zivanovic S., "Determination of the degree of acetylation (DA) of chitin and chitosan by an improved first derivative UV method", *Carbohydrate Polymers*, **73**, 248–253, (2008)
- Xu X., Kim M., Hanna A., Nag D., "Chitosan–starch composite film, preparation and characterization", *Industrial Crops and Products*, **21**, 185–192, (2005)
- Yang M., Yang Y., Liu B., Shen G., Yu R., "Amperometric glucose biosensor based on chitosan with improved selectivity and stability", *Sensors and Actuators B*, **101**, 269–276, (2004)
- Yanyun Z., Park S., Daeschel A., "Lysozyme-chitosan films", US Patent 2007/0104836 A1, 2007
- Zhang M., Li X., Gong Y., Zhao N., Zhang X., "Properties and biocompatibility of chitosan films modified by blending with PEG", *Biomaterials*, **23**, 2641–2648, (2002)
- Zivanovic S., Chi S., Draughon F., "Antimicrobial Activity of Chitosan Films Enriched with Essential Oils", *Journal of Food Science*, **70** (1), 45–51, (2005)

Ynlün G., Ynlün M., Donmez E., Vural N., "Chemical composition and *in vitro* antimicrobial activity of the essential oil of *Origanum minutiflorum* O Schwarz & PH Davis", *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **87**, 255-259, (2007)

7. ANEXOS

ANEXO A. CÁLCULOS EFECTUADOS NA ELABORAÇÃO DAS MICROCAPSULAS

▪ Volume de Tergitol 15-S-9 a utilizar:

$$V_{\text{Água}} = 50 \text{ mL}$$

$$\rho_{\text{Água}} = \frac{m}{v} \Rightarrow m_{\text{água}} = \rho \times v = 1 \times 50 = 50 \text{ g}$$

$$1.5\% \text{ (w/w) de Tergitol 15-S-9; } \rho = 1.006 \text{ g/mL}$$

$$1.5\% \text{ (w/w)} \Rightarrow 0.015 \times 50 \text{ g} = 0.75 \text{ g}$$

$$\rho_{\text{Tergitol 15-S-9}} = \frac{m}{v} \Rightarrow v_{\text{Tergitol 15-S-9}} = \frac{m}{\rho} = \frac{0.75}{1.006} \approx 0.745 \text{ mL}$$

▪ Volume de limoneno a utilizar:

$$m_{\text{FA}} = 50.75 \text{ g}$$

$$30\% \text{ (w/w) de Limoneno; } \rho = 0.843 \text{ g/mL}$$

$$30\% \text{ (w/w)} \Rightarrow 0.30 \times 50.75 \text{ g} = 15.22 \text{ g}$$

$$\rho_{\text{Limoneno}} = \frac{m}{v} \Rightarrow v_{\text{Limoneno}} = \frac{m}{\rho} = \frac{15.22}{0.843} = 18.05 \text{ mL}$$

▪ Volume de quitosano a utilizar:

$$V_{\text{Emulsão}} = V_{\text{FA}} + V_{\text{FO}} = 50.75 + 18.05 \approx 69$$

$$\frac{V_{\text{SQ}}}{V_{(\text{FA}+\text{FO})}} = 0.5 \Leftrightarrow V_{\text{SQ}} \approx 35 \text{ mL}$$

- **Volume de solução de ácido acético a utilizar:**

$$V_{\text{solução de ácido}} = 35 \text{ mL}; 10\% (w/w) \text{ de ácido acético}; \rho = 1.05 \text{ g/mL}$$

$$10\% (w/w) \Rightarrow 0.1 \times 35 \text{ g}_{\text{solução}} = 3.5 \text{ g}$$

$$\rho_{\text{Ácido acético}} = \frac{m}{v} \Rightarrow v_{\text{Ácido acético}} = \frac{m}{\rho} = \frac{3.5}{1.05} = 3.33 \text{ mL}$$

- **Quantidade de quitosano a utilizar:**

$$V_{\text{solução}} = 35 \text{ mL}$$

Na ausência de dados do quitosano, admite-se que a solução de quitosano tem densidade aproximadamente 1 g/mL.

$$2\% (w/w) \Rightarrow 0.02 \times 35 \text{ g}_{\text{solução}} = 0.7 \text{ g quitosano}$$

- **Volume de Glutaraldeído a utilizar:**

$$n_{\text{Quitosano}} = \frac{0.7}{161} = 4.3478 \times 10^{-3} \text{ mol}$$

$$\frac{n^{\circ} \text{ moles Glutaraldeído}}{n^{\circ} \text{ moles de unidades repetidas de Quitosano}} = 25 \Leftrightarrow$$

$$\Leftrightarrow n_{\text{Glutaraldeído}} = 25 \times 4.3478 \times 10^{-3} = 0.1087 \text{ mol}$$

$$M_{\text{Glutaraldeído}} = 100.12 \text{ g/mol}$$

$$m_{\text{Glutaraldeído}} = n \times M_{\text{Glutaraldeído}} = 0.1087 \times 100.12 = 10.8826 \text{ g}$$

Solução de Glutaraldeído:

$$\rho_{\text{Glutaraldeído}} = 1.063 \text{ g/mL}$$

$$\rho_{\text{Glutaraldeído}} = \frac{m_{\text{Glutaraldeído}}}{V_{\text{Glutaraldeído}}} \Leftrightarrow V_{\text{Glutaraldeído}} = \frac{10.8826 \text{ g}}{1.063 \text{ g/mL}} \Leftrightarrow V_{\text{Glutaraldeído}} = 10.2376 \text{ mL}$$

ANEXO B. CÁLCULOS EFECTUADOS NA ELABORAÇÃO DOS FILMES

- **Quantidade de quitosano a utilizar:**

$$V_{\text{solução}} = 25 \text{ mL}$$

Na ausência de dados do quitosano, admite-se que a solução de quitosano tem densidade aproximadamente 1 g/mL.

$$1\% (w/w) \Rightarrow 0.01 \times 25 \text{ g}_{\text{solução}} = 0.25 \text{ g}_{\text{quitosano}}$$

- **Volume de solução de ácido acético a utilizar:**

$$10\% (w/w) \text{ de ácido acético; } \rho = 1.05 \text{ g/mL}$$

$$10\% (w/w) \Rightarrow 0.1 \times 25 \text{ g} = 2.5 \text{ g}$$

$$\rho_{\text{Ácido acético}} = \frac{m}{v} \Rightarrow v_{\text{Ácido acético}} = \frac{m}{\rho} = \frac{2.5}{1.05} = 2.38 \text{ mL}$$

- **Volume de solução de Tergitol 15-S-20 a utilizar:**

$$0.1\% (w/w) \text{ de Tergitol 15-S-20; } \rho = 1.038 \text{ g/mL}$$

$$0.1\% (w/w) \Rightarrow 0.001 \times 25 \text{ g} = 0.025 \text{ g}$$

$$\rho_{\text{Tergitol 15-S-20}} = \frac{m}{v} \Rightarrow v_{\text{Tergitol 15-S-20}} = \frac{m}{\rho} = \frac{0.025}{1.038} = 0.024 \text{ mL}$$

- **Volume de solução de PEG 400 a utilizar:**

$$1\% (w/w) \text{ de PEG 400; } \rho = 1.124 \text{ g/mL}$$

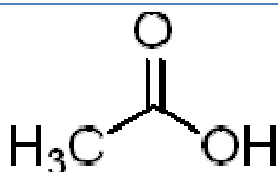
$$1\% (w/w) \Rightarrow 0.01 \times 25 \text{ g} = 0.25 \text{ g}$$

$$\rho_{\text{PEG 400}} = \frac{m}{v} \Rightarrow v_{\text{PEG 400}} = \frac{m}{\rho} = \frac{0.25}{1.124} = 0.222 \text{ mL}$$

ANEXO C. FICHAS TÉCNICAS DOS REAGENTES

Ácido Acético

33209
Riedel-de Haën



Sinónimo: Ácido acético Glacial

Fórmula molecular: CH₃CO₂H

Peso molecular: 60.05

Propriedades:

Categoria: ACS reagente, reag. ISO, reag. Ph. Eur., puriss. p.a.

Pressão de vapor: 2.07 (vs ar)

Pureza ≥99.8%

Total impurezas: ≤0.0002% Acetaldeído

≤0.0005% Matéria não-volátil

≤0.002% KMnO₄ Matéria reduzida (como HCOOH)

≤0.01% Anidrido acético (GC)

Ponto ebulição: 117-118 °C (lit.)

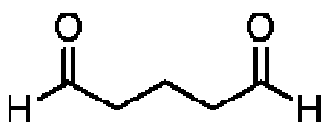
Ponto de fusão: 16.2 °C (lit.)

Temperatura de transição: Ponto de solidificação ≥16.3 °C

Densidade: 1.049 g/mL a 25 °C (lit.)

Glutaraldeído em solução

49630
Fluka



Sinónimo: Pentano-1,5-dial

Fórmula molecular: OHC(CH₂)₃CHO

Peso molecular: 100.12

Propriedades:

Categoria: Técnico

Concentração: ~25% em H₂O (2.6 M)

Densidade: 1.063 g/mL a 20 °C

Hidróxido de Sódio Pellets

131687
Panreac



Sinónimo: Soda Caustica
Fórmula molecular: NaOH
Peso molecular: 40.00

Propriedades:

Categoria: Análise ACS-ISO

Pressão de vapor ≥ 1 (vs ar)

Pureza $\geq 98.0\%$

Forma: Pellets (anídros)

Total impurezas: $<0.0005\%$ Fósforo (P)
 $<0.1\%$ Matéria insolúvel

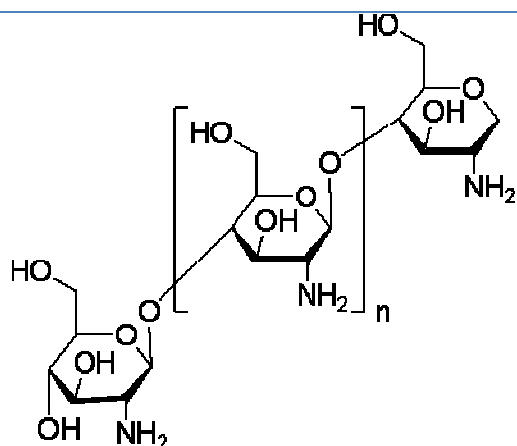
Ponto de fusão: 318 °C (lit.)

Temperatura de transição: Ponto de solidificação: 318°C
Ponto de ebulição: 1390°C

Solubilidade: H₂O: 1 M a 20 °C, límpido, incolor

Densidade: (20/4): 2.13 g/mL

Quitosano (Flocos e pó)



Sinónimo: quitosano proveniente da carcaça do camarão pelo método da desacetilação alcalina da quitina
Poly(D-glucosamina)

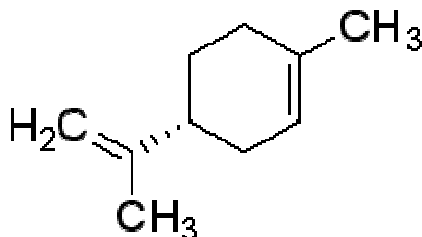
Propriedades

Aspecto: flocos e pó

Viscosidade: 800-2000 cP, 1 % em solução de ácido acético (1%)

(R)-(+)-Limoneno

183164
Sigma-Aldrich



Sinónimo: (+)-*p*-Menta-1,8-dieno
(+)-Carveno
(*R*)-4-Isopropenil-1-
metil-1-ciclohexeno

Fórmula molecular: C₁₀H₁₆

Peso molecular: 136.23

Propriedades:

Aplicação: Intermediário quiral para síntese de produtos naturais

Densidade de vapor: 4.7 (vs ar)

Pressão de vapor <3 mmHg (14.4°C)

Pureza: 97.0%

Densidade: 0.843 g/mL a 20°C (lit.)

PEG 400

807485
Merck

Sinónimo: Poliglicol, Polietileno
óxido, Poli(óxido de etileno)

Fórmula molecular: HO(C₂H₄O)_nH

Massa molecular: 380-420 g/mol

Propriedades:

Temperatura ignição: 360°C

Ponto fusão: 4-8°C

Ponto ebulição: > 200°C (1013hPa)

Ponto flash: 240°C o.c.

Capacidade de retenção de água: Higroscópio

Solubilidade em água (20°C): Solúvel

pH (100g/L, H₂O, 20°C): 5-7

Pressão de vapor: <0.1 hPa (20°C)

Viscosidade cinemática: 97-100 (20°C)

Densidade (d 20°C/4°C): 1.124 – 1.126 g/mL

Tergitol 15-S-20

Dow Company

Sinónimo: Álcool etoxilato secundário

Tipo: 15-S-20

Propriedades:

Carga: Não iônico

Índice HLB: 16.3

pH (1% solução aquosa): 6.6

Viscosidade a 50°C: 49 cP

Densidade (40°C): 1.038 g/mL

Aparência: Sólido branco

Tergitol 15-S-9

Dow Company

Sinónimo: Álcool etoxilato secundário

Tipo: 15-S-9

Propriedades:

Carga: Não iônico

Índice HLB: 13.3

pH (1% solução aquosa): 7.1

Viscosidade a 50°C: 60 cP

Densidade (20°C): 1.006 g/mL

Aparência: Líquido amarelo pálido