

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
CAMPUS DE ARARAQUARA**

EUCARLOS DE LIMA MARTINS

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE MICROPARTÍCULAS DE
ETILCELULOSE E SEU USO NA ENCAPSULAÇÃO DO FUNGICIDA
TEBUCONAZOLE**

Araraquara/SP

2014

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE MICROPARTÍCULAS DE ETILCELULOSE E SEU USO NA ENCAPSULAÇÃO DO FUNGICIDA TEBUCONAZOLE

EUCARLOS DE LIMA MARTINS

Tese apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, no âmbito do Programa DINTER - CAPES com o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso - IFMT, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Química.

Orientador: Profº. Drº. Paulo Roberto Bueno

Araraquara
2014

FICHA CATALOGRÁFICA

M386s	Martins, Eucarlos de Lima Síntese e caracterização de micropartículas de etilcelulose e seu uso na encapsulação do fungicida tebuconazole / Eucarlos de Lima Martins. – Araraquara : [s.n], 2014 117 f. : il. Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química Orientador: Paulo Roberto Bueno Coorientador: Ailton Jose Terezo 1. Polímeros. 2. Pesticidas - Formulação. 3. Análise térmica. 4. Espectroscopia Raman. 5. Cromatografia a gás. I. Título.
-------	--

Elaboração: Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação do Instituto de Química de Araraquara
Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação

EUCARLOS DE LIMA MARTINS

Tese apresentada ao Instituto de Química,
Universidade Estadual Paulista, no âmbito do
Programa DINTER – CAPES com o Instituto
Federal do Mato Grosso, como parte dos requisitos
para obtenção do título de Doutor em Química.

Araraquara, 30 de Setembro de 2014.

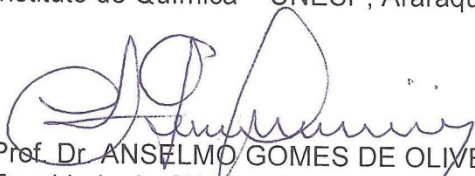
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. PAULO ROBERTO BUENO (Orientador)
Instituto de Química – UNESP, Araraquara.



Prof.ª Dr.ª MARIA DEL PILAR TABOADA SOTOMAYOR
Instituto de Química – UNESP, Araraquara.



Prof. Dr. ANSELMO GOMES DE OLIVEIRA
Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP, Araraquara.



Prof. Dr. EMERSON OLIVEIRA DA SILVA
Instituto de Macromoléculas Prof.ª Eloisa Mano - IMA / UFRJ, Rio de Janeiro-RJ.



Prof. Dr. MARCOS FEITOSA PANTOJA
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso – IFMT, Cuiabá-MT.

Eucarlos de Lima Martins

Curriculum Vitae

Dados pessoais

Nome Eucarlos de Lima Martins
Nascimento 19/05/1979 - Maracajú/MS - Brasil
CPF 695.427.751-72

Formação acadêmica/titulação

- 2010 - 2014** Doutorado em Química.
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, São Paulo, Brasil.
Título: SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE MICROPARTÍCULAS DE ETILCELULOSE E SEU USO NA ENCAPSULAÇÃO DO FUNGICIDA TEBUCONAZOLE
Orientador: Paulo Roberto Bueno
Coorientador: Ailton José Terezo
- 2004 - 2006** Mestrado em Agricultura Tropical.
Universidade Federal de Mato Grosso, UFMT, Cuiabá, Brasil.
Título: PREVISÃO DA LIXIVIAÇÃO DE PESTICIDAS UTILIZADOS NA CULTURA DO ALGODÃO NO ESTADO DE MATO GROSSO, Ano de obtenção: 2006
Orientador: Oscarlina Lúcia dos Santos Weber.
Bolsista do (a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior.
- 2003 - 2004** Graduação: Bacharelado em Química.
Universidade Federal de Mato Grosso, UFMT, Cuiabá, Brasil.
Título: INTERAÇÕES SORTIVAS DO PESTICIDA CLORPIRIFÓS EM GLEISSOLO E LATOSSOLO AMARELO
Orientador: Eliana Freire Gaspar de Carvalho Dorés
- 1998 - 2003** Graduação em Licenciatura Plena em Química.
Universidade Federal de Mato Grosso, UFMT, Cuiabá, Brasil.
Bolsista do (a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

Formação complementar

2005 - 2005	Curso de curta duração em APRENDER A EMPREENDER Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas, SEBRAE, Brasil.
2004 - 2004	Curso de curta duração em Iniciando um Pequeno Grande Negócio Via Internet. Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas, SEBRAE, Brasil.
2002 - 2002	Extensão universitária em Estágio Extra Curricular Remunerado da Ses Mt Em Q. Secretaria Estadual de Saúde, SES-MT, Brasil.
2002 - 2002	Curso de curta duração em Controle químico de vetores - Saúde Pública. Secretaria Estadual de Saúde, SES -MT, Brasil.
2002 - 2002	Curso de curta duração em Processamento de termoplásticos e elastômeros com p. Universidade de Brasília, UNB, Brasília, Brasil.
2002 - 2002	Curso de curta duração em Monitoramento Ambiental e Remediação de Áreas. Universidade de Brasília, UNB, Brasília, Brasil.
2002 - 2002	Curso de curta duração em Química e Pesquisa no Centro-Oeste: Novos Horizont. Universidade de Brasília, UNB, Brasília, Brasil.
2002 - 2002	Química dos remédios. Universidade de Brasília, UNB, Brasília, Brasil.
2002 - 2002	Curso de curta duração em Métodos de avaliação de biodegradação de compostos químicos. Universidade de Brasília, UNB, Brasília, Brasil.
2001 - 2001	Curso de curta duração em Química Nova na Escola. Universidade Federal de Mato Grosso, UFMT, Cuiaba, Brasil.
2001 - 2001	Curso de curta duração em Treinamento em análises estatísticas / Recursos hídricos Fundação Estadual de Meio Ambiente, FEMA, Brasil.
1999 - 1999	Curso de curta duração em Currículo. Universidade de Cuiabá, UNIC, Cuiabá, Brasil.

Produção bibliográfica

Artigos completos publicados em periódicos

1. E.L. Martins, A.J. Terezo, E.F.G.C. Dorez, M. Castilho, P.R. Bueno. Isothermal phase inversion synthesis methodology of ethyl cellulose microparticles for molecular encapsulation of tebuconazole. *Materials Letters*, 2014 (submetido).
2. MACHADO, N. G., ROCHA, L. A., DUARTE, T. C. S., BIUDES, M. S., MARTINS, E. L. Caracterização do Licenciamento Ambiental do Divisor de Águas das Bacias Amazônica e do Alto Paraguai em Mato Grosso. *Uniciências*, v. 18, p.11-17, 2014.
3. MARTINS, E. L., CORINGA, J. E. S., WEBER, O. L. S. Carbono orgânico nas frações granulométricas e substâncias húmicas de um Latossolo Vermelho Amarelo distrófico – LVAd sob diferentes agrossistemas. **Acta Amazônica**, v. 39, p.655-660, 2009.
4. WEBER, O. L. S., MARTINS, E. L., DORES, E. F. G. C., AMORIM, L. D. C. Sorção Do Inseticida Tiametoxam Nas Frações Orgânica E Mineral De Um Latossolo Amarelo. **Química Nova**, v.32, p. 2259-2262, 2009.
5. CARBO, L., MARTINS, E. L., DORES, E. F. G. C., SPADOTTO, C. A., WEBER, O. L. S., Freire, E. M De-Lamônica. Acetamiprid, Carbendazim, Diuron and Thiamethoxam Sorption in Two Brazilian Tropical Soils. **Journal of Environmental Science and Health. Part B, Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes**, v. 42, p. 499-507, 2007.
6. MARTINS, E. L., WEBER, O. L. S., DORES, E. F. G. C., SPADOTTO, C. A. Leaching of seven pesticides currently used in cotton crop in Mato Grosso State - Brazil. **Journal of Environmental Science and Health. Part B, Pesticides, Food Contaminants and Agricultural Wastes**, v. 42, p. 877-882, 2007.

AGRADECIMENTOS

Ao orientador deste trabalho, Professor Doutor Paulo Roberto Bueno pelo apoio irrestrito e orientação;

Ao Professor Doutor Ailton José Terezo, coorientador deste trabalho, pelo interesse e empenho;

À Professora Doutora Eliana Freire Gaspar de Carvalho Dorez pela disposição e apoio;

À minha esposa Angélica e meus filhos André Luiz e Thiago por estar sempre ao meu lado e ser o meu suporte.

Aos amigos do LIEC pelos bons momentos desfrutados durante o período em que estive no Instituto de Química, em especial Flávio Bedatti, Tiago Azevedo, Juliana Sá, Eurípedes Silva, Simone, entre muitos outros;

Aos amigos do Laboratório de Análises de Resíduos de Biocidas (LARB) e Grupo de Eletroquímica e Novos Materiais (GENMAT);

A todos os profissionais do IQ e em especial aqueles que se dedicam na SPG e Biblioteca.

Aos professores que participaram da banca examinadora e que assim contribuíram neste trabalho;

E a todos aqueles que contribuíram de alguma forma para a conclusão desta tese.

“No meio da dificuldade encontra-se a oportunidade”.

ALBERT EINSTEIN

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo sintetizar micropartículas de etilcelulose e avaliar a encapsulação do fungicida tebuconazole. Foi empregado um planejamento fatorial para estudar as variáveis que controlam a morfologia. As variáveis avaliadas foram concentração do polímero etilcelulose, a velocidade e tempo de homogeneização de alta velocidade e a concentração do surfactante utilizado. Foi avaliada ainda a influência do tebuconazole sobre as características das micropartículas, sendo o diâmetro, rendimento e a distribuição utilizada como parâmetros para avaliação da síntese. As micropartículas de etilcelulose foram obtidas pelo método de inversão de fase à temperatura constante e a caracterização foi realizada por FEG-SEM, espectroscopia FT-IR, Espectroscopia Raman e análise térmica (TG, DTG e DTA). A análise do tebuconazole foi realizada por CG-EM. Foram obtidas micropartículas de etilcelulose com diâmetro médio variando de 0,21 μm ($\pm 0,08$) a 0,55 μm ($\pm 0,22$) para o experimento PE-14. Os parâmetros que mais influenciaram os efeitos sobre o diâmetro das micropartículas foram a concentração do polímero (+0,28) e velocidade de homogeneização (-0,43). O rendimento das micropartículas variou entre 10,07 e 96,59%. Os resultados de DRX indicaram que a distribuição do TBZ nas partículas de EC foi a nível molecular, ou seja, não houve a formação de cristais no interior das microesferas. A presença de TBZ nas partículas foi adequadamente quantificada por cromatografia a gás e também foi identificada pela presença do pico Raman em 1597,98 cm^{-1} . O deslocamento deste pico foi atribuído às interações intermoleculares do TBZ com a matriz. A eficiência de encapsulação do tebuconazole nas partículas de etilcelulose foi de 76,0 ($\pm 4,9$) para EEC25, 69,6 ($\pm 4,0$) para EEC50, 60,6 ($\pm 2,3$) EEC100 e 45,5 ($\pm 1,1$) EEC200. Os dados obtidos pela análise térmica indicam que as partículas de etilcelulose são termicamente estáveis até a temperatura de 160°C.

Palavras-chave: tebuconazole, encapsulação, fungicida, etilcelulose, polímero.

ABSTRACT

This study aimed to synthesize microparticles of ethylcellulose and evaluate the encapsulation of the fungicide tebuconazole. A factorial design was used in order to study the variables that control the microparticles morphology. The evaluated variables were concentration of ethylcellulose polymer, speed and time of high pressure homogenization and concentration of surfactant. The influence of tebuconazole on the characteristics of microparticles was also evaluated and the diameter, yield and the distribution were used as synthesis parameters. The ethylcellulose microparticles were obtained by phase inversion method at constant temperature and the characterization was performed by FEG-SEM, FT-IR s and Raman spectroscopy, thermal analysis (TG, DTG and DTA).

Ethylcellulose microparticles were obtained with an average diameter ranging from 0.21 μm (± 0.08) to 0.55 μm (± 0.22) for the PE-14 experiment. The parameters that influence the effects on the diameter of the microparticles were the concentration of the polymer (+0.28) and mixing speed (-0.43). The yield of the microparticles ranged between 10.07 and 96.59%. XRD results clearly indicated that the distribution of the particles of TBZ was at molecular level and there was no formation of crystals within the microspheres. The presence of the TBZ into the particles was measured by gas chromatography and it was also identified by Raman peak at 1597.98 cm^{-1} and this peak was attributed to the intermolecular interactions of the matrix with TBZ. The encapsulation efficiency of TBZ was 76.0 (± 4.9) to EEC25 69.6 (± 4.0) to EEC50, 60, 6 (± 2.3) EEC100 and 45.5 (± 1.1) EEC200. The data obtained by thermal analysis show that the particles of ethylcellulose are thermally stable up to 160 ° C temperature.

Key Words: tebuconazole, encapsulation, fungicide, ethylcellulose, polymer.

Índice de Figuras

Figura 1. Comparação entre o perfil de ação de biocidas com formulação convencional e sistema de liberação controlada (encapsulado).....	23
Figura 2. Diferentes estruturas de micropartículas. (a) Microcápsula com núcleo sólido (b) Microcápsula com núcleo não sólido (c) Microcápsula com micro ou nano domínios sólidos (d) Microcápsulas com micro ou nano domínios não sólido (e) Microesferas com mistura da matriz e agente encapsulado. Fonte: Birnbaum e Brannon-Peppas (2003).....	24
Figura 3. (a) Representação de emulsão o→w (óleo em água) e (b) emulsão w→o (água em óleo).	25
Figura 4. Fórmula molecular do polímero etilcelulose. Adaptado de Murtaza (2012).	27
Figura 5. Fórmula estrutural plana do Tebuconazole (TBZ).	28
Figura 6. Diferentes mecanismos de liberação de ingrediente ativo a partir de sistemas de liberação controlada. Adaptado de Baker (1986).	30
Figura 7. Relação entre o nível de aplicação e a duração da ação para a formulação convencional e a formulação via sistema de liberação controlada (CRS). Adaptado de Kydonieus (1980).	32
Figura 8. Fluxograma do processo de síntese de micropartículas de EC.	39
Figura 9. Fórmula estrutural do fenantreno deuterado utilizado como padrão interno na análise do TBZ via cromatografia a gás com detector de espectrometria de massas. D = deutério.....	45
Figura 10. Determinação do ponto de inversão de fase de uma solução (w→o para o→w). NaCl 10 mmol.L ⁻¹	49
Figura 11. Formação de floco de EC (a) devido à quantidade insuficiente de surfactante para a formação de micropartículas via emulsão e (b) Fotomicrografia das micropartículas da Amostra EC2.	51
Figura 12. Fotomicrografia de micropartículas de EC da amostra PE-12 do experimento fatorial 2 ⁴	55
Figura 13. Fotomicrografia de micropartículas de EC da amostra PE-14 do experimento fatorial 2 ⁴ em duas escalas diferentes.	56

Figura 14. Distribuição das partículas de EC da amostra PE-1 em função do diâmetro e número de partículas.	57
Figura 15. Distribuição das partículas de EC da amostra PE-1 em função do diâmetro e número de partículas.	57
Figura 16. Distribuição das partículas de EC da amostra PE-7 em função do diâmetro, número de partículas e probabilidade acumulada da distribuição.	60
Figura 17. Distribuição volumétrica das partículas de EC da amostra PE-7.	61
Figura 18. Distribuição das partículas de EC da amostra PE-14 em função do diâmetro, número de partículas e probabilidade acumulada da distribuição.	62
Figura 19. Cromatograma obtido por CG-MS para o (a) padrão interno fenantreno ($t_r=11,303$ min.) e (b) o fungicida TBZ ($t_r=17,191$ min.). A concentração do TBZ é de $0,25 \mu\text{g.mL}^{-1}$	63
Figura 20. Curva analítica inferior do TBZ obtido por CG-MS. O eixo y é descrito como a razão da área sob o pico cromatográfico do TBZ sobre a área obtida para o padrão interno. ($y = 0,66203x$, $r^2 = 0,99999$). Padronização externa.....	64
Figura 21. Curva analítica superior do TBZ obtido por CG-EM ($y = 0,40778x + 0,13781$, $r^2 = 0,98768$). Padronização externa.....	64
Figura 22. Curva analítica superior do TBZ obtido por CG-EM ($y = 1,09625x - 0,1024$, $r^2 = 0,99981$). Método DLME.	65
Figura 23. Micrografias das amostras submetidas a (a) 25 mg (b) 50 mg (c) 100 mg e (d) 200 mg de TBZ.	67
Figura 24. Distribuição das micropartículas de etilcelulose contendo (a) 25 mg (b) 50 (c) 100 e (d) 200 mg de TBZ.	68
Figura 25. Eficiência de encapsulação para diferentes massas de TBZ (25, 50, 100 e 200 mg).	69
Figura 26. Perfis de liberação do biocida TBZ presentes nas micropartículas de etilcelulose.....	70
Figura 27. Espectro Raman do fungicida TBZ. Os picos selecionados foram utilizados para caracterizar a presença do TBZ nas amostras encapsuladas.	72
Figura 28. Espectro Raman da amostra encapsulada EEC25 (25 mg de TBZ).	72

Figura 29. Espectro Raman da amostra encapsulada EEC50 (50 mg de TBZ).	73
Figura 30. Espectro Raman da amostra encapsulada EEC100 (100 mg de TBZ). ..	74
Figura 31. Espectro Raman da amostra encapsulada EEC200 (200 mg de TBZ). ..	74
Figura 32. Difratoograma de DRX das amostras encapsuladas nas condições experimentais da matriz PE14 utilizando as massas de 0 mg (EEC0), 25 mg (EEC25), 50 mg (EEC50), 100 mg (EEC100) e 200 mg (EEC200).	75
Figura 33. Comportamento térmico da amostra EC pa. Análise realizada em atmosfera oxidante (O ₂) a um fluxo de 100 mL.min ⁻¹	78
Figura 34. Comportamento térmico da amostra EC pa em atmosfera inerte de argônio a um fluxo de 100 mL.min ⁻¹	79
Figura 35. Comportamento térmico da amostra MLPS em atmosfera oxidante (O ₂) a um fluxo de 100 mL.min ⁻¹	80
Figura 36. Comportamento térmico do surfactante MLPS em atmosfera inerte de argônio a um fluxo de 100 mL.min ⁻¹	81
Figura 37. Perfil térmico do TBZ pa em atmosfera de oxigênio num fluxo de 100 mL.min ⁻¹	82
Figura 38. Perfil térmico do TBZ gt em atmosfera de oxigênio num fluxo de 100 mL.min ⁻¹	82
Figura 39. Perfil térmico do TBZ gt em atmosfera inerte de argônio num fluxo de 100 mL.min ⁻¹	83
Figura 40. Perfil térmico da amostra PE-7 em atmosfera de O ₂ num fluxo de 100 mL.min ⁻¹	84
Figura 41. Perfil térmico da amostra PE-7 em atmosfera de O ₂ num fluxo de 100 mL.min ⁻¹	84
Figura 42. Perfil térmico do polímero etilcelulose pa em atmosfera de O ₂ num fluxo de 100 mL.min ⁻¹	85
Figura 43. Perfil térmico da amostra MPT1 em atmosfera de O ₂ num fluxo de 100 mL.min ⁻¹	86
Figura 44. Perfil térmico da amostra MPT2 em atmosfera de O ₂ num fluxo de 100 mL.min ⁻¹	86
Figura 45. Perfil térmico da amostra MPT1 em atmosfera de argônio num fluxo de 100 mL.min ⁻¹	87
Figura 46. Perfil térmico da amostra MPT2 em atmosfera de O ₂ num fluxo de 100 mL.min ⁻¹	87

Figura 47. Perfil térmico da amostra PE-14 em atmosfera inerte num fluxo de Ar de 100 mL.min ⁻¹	88
Figura 48. Espectros de FT-IR das amostras (a) Br partic., (b) MPT1 e (c) TBZ gt..	90
Figura 49. Espectros Raman da amostra encapsulada comparada com o TBZ gt e Br partic.	91
Figura 50. Espectros Raman das amostras (a) EC pa, (b) Br partic, (c) MPT1 e (d) TBZ gt.....	92
Figura 51. Difractogramas de DRX das amostras (a) TBZ grau técnico, (b) MPT2, (c) MPT1, (d) EC pa e (e) Br partículas.	93
Figura 52. Estrutura molecular da molécula do tebuconazole otimizada por cálculo teórico DFT pelo método B3LYP/6-311++G (d, p).....	94
Figura 53. Mapa de contribuição dos orbitais HOMO do TBZ.	97
Figura 54. Mapa de contribuição dos orbitais HOMO-1 do TBZ.....	97
Figura 55. Mapa de contribuição dos orbitais HOMO-2 TBZ.....	98
Figura 56. Mapa de contribuição dos orbitais HOMO-3 do TBZ.....	98
Figura 57. Mapa de contribuição dos orbitais LUMO do tebuconazole.	99
Figura 58. Mapa de contribuição dos orbitais LUMO+1 do tebuconazole.	99
Figura 59. Mapa de contribuição dos orbitais LUMO+2 do tebuconazole.	100
Figura 60. Espectros Raman teórico (-) e experimental (-) para o tebuconazole. ..	100
Figura 61. Relação linear entre os números de onda experimental e teórico do tebuconazole.	101
Figura 62. Espectro Raman teórico do TBZ obtido pelo método DFT utilizando o software Gaussian 09W.....	102

Índice de Tabelas

Tabela 1. Características físico-químicas do TBZ. Dados adaptados de FAO (2000).	29
Tabela 2. Interpretação do mecanismo de liberação difusional (Adaptado de Costa e Sousa Lobo (2001)).	35
Tabela 3. Parâmetros de síntese de micropartículas de EC avaliados no planejamento experimental 2^4 . A razão R indica a relação mássica entre o surfactante MLPS e a matriz polimérica utilizada ($m_{\text{surf}}/m_{\text{EC}}$).	40
Tabela 4. Planejamento experimental 2^4 da síntese de micropartículas de EC pelo método de inversão de fase à temperatura constante.	40
Tabela 5. Quantidades reagentes utilizados no experimento de liberação do TBZ.	43
Tabela 6. Efeito da concentração de MLPS sobre a formação de emulsão de EC.	51
Tabela 7. Rendimento e distribuição de partículas de EC obtidas no experimento fatorial 2^4	53
Tabela 8. Efeitos e interações dos parâmetros de síntese sobre o rendimento percentual das micropartículas de EC.	54
Tabela 9. Efeitos e interações dos parâmetros de síntese sobre o diâmetro médio ($d_{\text{médio}}$) das micropartículas de EC obtidas no planejamento experimental 2^4	58
Tabela 10. Dados experimentais da síntese de micropartículas de EC e encapsulação do TBZ.	66
Tabela 11. Eficiência de encapsulação (%EE) do TBZ pelas partículas de etilcelulose com o aumento da concentração do biocida.	69
Tabela 12. Coeficiente de determinação (r^2) obtidos por diferentes modelos de avaliação cinética da liberação controlada do TBZ a partir partículas de etilcelulose.	71
Tabela 13. Descrição das amostras caracterizadas pelas técnicas de TG/DTA, Raman, FT-IR e Raios-X.	76
Tabela 14. Intervalo de temperatura (θ), perda de massa (Δm) e picos observados em cada etapa das curvas TG-DTA das amostras.	77
Tabela 15. Raios atômicos dos átomos da molécula do tebuconazole.	95
Tabela 16. Cargas atômicas de Mulliken dos átomos da molécula do tebuconazole.	96

Lista de Abreviaturas e Siglas

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ATR – Reflectância Total Atenuada

CG-MS – Cromatografia a gás acoplado à espectrometria de massas

CRS – Controlled Release System (sistema de liberação controlada)

DFT - Density functional theory

DSC – calorimetria diferencial de varredura

DTA – Análise Térmica Diferencial

DTG – Derivada da termogravimetria

EC – Etilcelulose

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations

FEG-MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura de Alta Resolução

FTIR – Infravermelho com Transformada de Fourier

i.a - ingrediente ativo

IUPAC – União Internacional de Química Pura e Aplicada

K_h = constante Lei de Henry

$\log P_{ow}$ – coeficiente de partição octanol/água

MDIC - Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior

MLPS - Monolaurato de polioxietileno sorbitano 20 (Tween[®] 20)

pK_a – constante de dissociação ácida

P_v – Pressão de vapor (mPa)

rpm - rotações por minuto (min^{-1})

t - tempo (min, seg., dia)

$t_{1/2}$ = tempo de meia-vida

TBZ - Tebuconazole

TG – Termogravimetria ou análise termogravimétrica

ν_{calc} – Número de onda calculado

$\nu_{\text{exp.}}$ – Número de onda experimental

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	21
1.1 O uso de biocidas	21
1.2 Formulação de biocidas	21
1.3 Encapsulação.....	23
1.4 Etilcelulose	27
1.5 O biocida tebuconazole.....	28
1.6 Cinética de liberação.....	30
1.7 Modelos cinéticos de liberação controlada.....	33
1.7.1 Ordem zero	33
1.7.2 Primeira ordem	34
1.7.3 Modelo de Higuchi	34
1.7.4 Modelo de Korsmeyer-Peppas.....	35
1. OBJETIVOS.....	36
2. MATERIAL E MÉTODOS	37
2.1 Reagentes e soluções.....	37
2.2 Equipamentos	37
2.3 Síntese das micropartículas	38
2.3.1 Determinação ponto de inversão de fase	38
2.3.2 Avaliação do efeito da concentração de MLPS	38
2.3.3 Método experimental de síntese das micropartículas de EC	38
2.3.4 Planejamento Experimental 2 ⁴	39
2.4 Encapsulação do TBZ.....	41
2.4.1 Síntese a partir das condições da amostra PE-7	41
2.4.2 Síntese a partir das condições da amostra PE-14 de determinação do TBZ via DLLME	41

2.4.3	Testes de liberação <i>in vitro</i>	43
2.4.4	Solução padrão estoque de TBZ e curva de calibração	43
2.4.5	Solução de TBZ grau técnico.....	44
2.5	Análises cromatográficas	44
2.6	Caracterização das micropartículas	45
2.6.1	FEG-MEV	45
2.6.2	Análise Termogravimétrica	45
2.6.3	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho: Transmitância e Reflectância Total Atenuada (ATR).....	46
2.6.4	Espectroscopia FT-Raman	47
2.6.5	Difração de RX.....	47
2.7	Estudo computacional da molécula de tebuconazole	47
3.	Resultados e Discussão	49
3.1	Determinação do ponto de inversão de fase.....	49
3.2	Inversão de fase e o efeito da concentração de MLPS.....	50
3.3	Planejamento experimental 2 ⁴	52
3.4	Quantificação do TBZ	63
3.5	Encapsulação do TBZ (Matriz PE-07).....	65
3.6	Estudos com a Matriz PE-14.....	66
3.6.1	Encapsulação do TBZ.....	66
3.6.2	Eficiência de encapsulação do TBZ.....	68
3.6.3	Testes de liberação <i>in vitro</i>	70
3.6.4	Cinética para análise da liberação <i>in vitro</i>	71
3.6.5	Caracterização das amostras encapsuladas	71
3.7	Caracterização dos materiais.....	76
3.7.1	Análise térmica: Curvas TG/DTG-DTA	76
3.7.2	FT-IR.....	88

3.7.3	Espectroscopia Raman.....	91
3.7.4	Difração de raios-x (DRX).....	93
3.8	Estudo computacional da molécula de tebuconazole	93
4.	Conclusão.....	103
5.	Perspectivas	104
6.	Referências	105
	Apêndice 1 -	111

1. INTRODUÇÃO

1.1 O uso de biocidas

O Brasil é um país com característica fortemente agrícola. De acordo com o Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio (Brasil, 2013) o agronegócio tem representado considerável parcela das exportações (42%), trazendo o equilíbrio financeiro à balança comercial nacional.

Apesar do citado benefício econômico, efeitos negativos do agronegócio têm sido observados devido ao intenso uso e aplicação de biocidas no controle de pragas, tais como a contaminação do ar, do solo e da água expondo a população aos efeitos destes compostos (Chevreuil *et al.*, 1996; Dores e De-Lamonica-Freire, 2001; Vieira *et al.*, 2009; Ribeiro *et al.*, 2013; Ye *et al.*, 2013).

Devido à problemática da contaminação ambiental diversas ações têm sido propostas com o objetivo de minimizar o impacto causado pelo uso de biocidas. Algumas dessas ações são: o plantio direto (Araújo *et al.*, 2004; Correia *et al.*, 2007; Correia *et al.*, 2010); as faixas de contenção (Ludovice *et al.*, 2003); as formas alternativas de aplicação (Malato *et al.*, 2000); o uso de plantas geneticamente modificadas (Kos *et al.*, 2013) e a formulação de biocidas para liberação controlada (Kumbar *et al.*, 2001; Asrar *et al.*, 2004; Bilati *et al.*, 2005; Guan *et al.*, 2008; Riyajan e Sakdapipanich, 2009; Sopena *et al.*, 2009; Zhu *et al.*, 2009).

1.2 Formulação de biocidas

De acordo com Markus e Linder (2005), as formulações de biocidas podem ser classificadas como:

- Soluções aquosas
- Concentrados emulsionáveis
- Dispersões concentradas (aquosos e não aquosos)
- Pós molháveis
- Grânulos aquo-dispersáveis (dry flowables)
- Formulações para liberação controlada
- Outros (aerossóis, géis, etc.).

A escolha da formulação é influenciada pelas características físicas do biocida (ponto de fusão, solubilidade e volatilidade), as propriedades químicas (estabilidade hidrolítica, estabilidade térmica e a estabilidade à irradiação, o modo de aplicação da formulação (solo, foliar, etc.) a cultura a ser tratada e as práticas agrícolas. Além disso, importantes considerações devem ser feitas referente às propriedades biológicas (seletividade da cultura, transporte através do solo, a toxicidade para espécies alvo e não-alvos) e aspectos econômicos (Markus e Linder, 2005).

Atualmente, o uso comercial de biocidas na agricultura tem sido feito quase que em sua totalidade como concentrados emulsionáveis, dispersões concentradas, pó molháveis e grânulos hidro-dispersáveis. No entanto, há também a comercialização de biocidas encapsulados como o DEMAND 2,5 CS (Syngenta, 2014) e o Lantec 2,5 MC (Tecnocell, 2014). Ambos trazem o inseticida lambdacialotrina como princípio ativo encapsulado e são suspensões aquosas contendo o ingrediente ativo dentro de microcápsulas de lenta liberação.

Segundo a fabricante, o DEMAND 2,5 CS é estável, não cristaliza e é compatível com diversos inseticidas. É altamente ativo contra uma grande variedade de pragas e faz o controle eficiente com um longo efeito residual em superfícies agressivas. Possui baixa toxicidade, sendo, portanto um produto adequado para o controle de pragas em áreas internas e críticas. Pode ser utilizado em baixas concentrações e reduz o número de reaplicações. Não apresenta odor, não mancha, não é corrosivo e é biodegradável.

Segundo Sopena *et al.* (2009), a razão na qual o ingrediente ativo é liberado a partir de uma formulação convencional é geralmente relacionada exponencialmente com a quantidade ou concentração do ingrediente que permanece na formulação (**Figura 1**). Isto significa que a concentração do biocida no ambiente será inicialmente muito alta, geralmente tóxica, e decrescerá rapidamente a um nível baixo e ineficaz. Em contraste, o uso de sistemas de liberação controlado exibirá uma baixa concentração do ingrediente ativo e se manterá estável o tempo suficiente para proteger a cultura e ter a ação desejada.

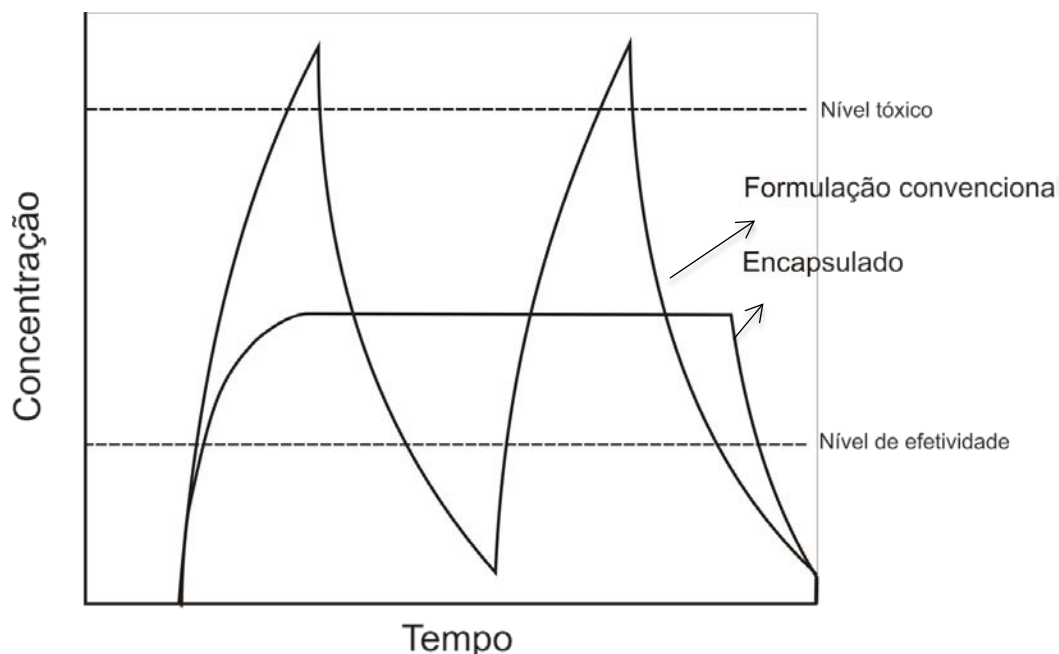


Figura 1. Comparação entre o perfil de ação de biocidas com formulação convencional e sistema de liberação controlada (encapsulado).

A formulação de um pesticida deve ser desenvolvida para combinar multifacetadas demandas de eficácia, adequação ao modo de aplicação e minimização dos danos ambientais. As formulações que utilizam os sistemas de liberação controlada atendem a estas exigências, pois possibilita o uso de menor quantidade de biocidas com a mesma eficiência, além de ter um mecanismo de resistência do biocida a processos ambientais como a lixiviação, evaporação, degradação fotolítica, hidrolítica e microbiana (Markus e Linder, 2005).

1.3 Encapsulação

A encapsulação pode ser definida como um método de aprisionamento de pequenas partículas ou compostos no interior de estruturas que os protejam, separem, melhorem o manuseio e estocagem ou promova a liberação controlada do material ativo (Mayya *et al.*, 2003).

De acordo com Birnbaum e Brannon-Peppas (2003), um sistema de liberação controlada (CRS, do inglês *Controlled Release System*) é basicamente uma formulação composta por microcápsulas ou microesferas. Neste caso, a microesfera é formada por uma mistura relativamente homogênea do polímero e do ingrediente ativo, enquanto que as microcápsulas têm pelo menos um domínio

discreto. Algumas variações nas estruturas de micropartículas são mostradas na **Figura 2**. À medida que os domínios e subdomínios de agente ativo dentro de microcápsulas se tornam progressivamente menores, as microcápsulas se tornam micropartículas.

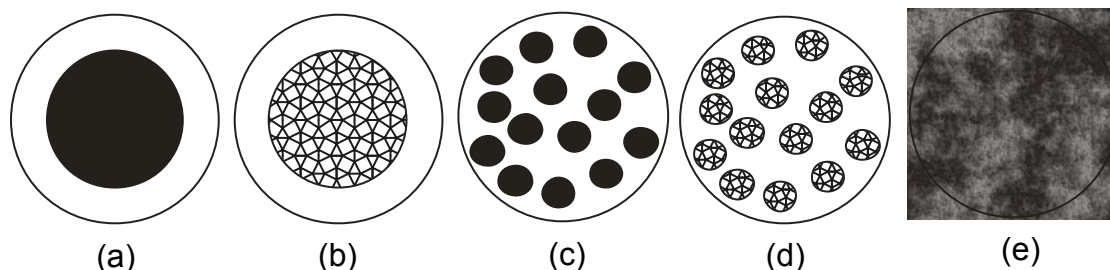


Figura 2. Diferentes estruturas de micropartículas. (a) Microcápsula com núcleo sólido (b) Microcápsula com núcleo não sólido (c) Microcápsula com micro ou nano domínios sólidos (d) Microcápsulas com micro ou nano domínios não sólido (e) Microesferas com mistura da matriz e agente encapsulado. Fonte: Birnbaum e Brannon-Peppas (2003).

Segundo Dubey *et al.* (2009), a utilização da encapsulação é uma área de pesquisa com alto potencial de aplicação devido à possibilidade de formulação de materiais que resultam em produtos com características superiores aos convencionais.

O primeiro exemplo importante de produto comercial que utilizou a tecnologia de encapsulação foi a substituição de papeis carbono por folhas impregnadas com microcápsulas contendo um precursor de tinta (Green e Schleicher, 1957; White, 1998). As microcápsulas presentes no verso da folha de papel são rompidas pela pressão exercida no ato da escrita, liberando o precursor. Este precursor, geralmente um corante leuco, ao entrar em contato com o reagente (um doador de prótons) presente na folha onde será feita a cópia, produzirá a cor desejada. O diâmetro das microcápsulas utilizadas nos papéis *carbonless* estão atualmente entre 3 e 8 μm .

Desde a invenção do papel sem carbono, várias aplicações dos produtos encapsulados têm sido relatadas na literatura abrangendo os mais diferentes campos do conhecimento e atividades humanas, tais como a agricultura, a indústria farmacêutica, a indústria de alimentos, a geração de energia, a catálise e a indústria

militar (Dubey *et al.*, 2009). Segundo Jyothi *et al.* (2010), os métodos de encapsulação podem ser classificados em dois grandes grupos:

- Métodos físicos: extrusão, *spray chilling* (secagem a frio), *spray drying* (secagem a quente), etc;
- Métodos químicos: coacervação, polimerização interfacial, sol-gel, nanoprecipitação, emulsões, etc.

A escolha do método depende das características da substância ativa, das características almejadas para o produto final, do custo de produção e do tamanho das estruturas encapsulantes que se pretende obter (Asrar *et al.*, 2004). Neste contexto, as emulsões têm sido utilizadas com sucesso nos processos de síntese de micropartículas (Giri *et al.*, 2013; Lee *et al.*, 2013). O Mecanismo básico envolve a formação de emulsões em meio aquoso pelo uso de agentes tensoativos iônicos ou não iônicos que, dependendo do meio, podem ser de configuração direta (a), onde a fase óleo está emulsificada na fase aquosa (fase contínua) e (b) invertida, onde a fase aquosa está emulsificada na fase contínua, óleo, conforme apresentado na Figura 3. A esfera vermelha representa a parte polar do surfactante e a cauda (linha) representa a parte apolar (hidrofóbica) da estrutura do surfactante.

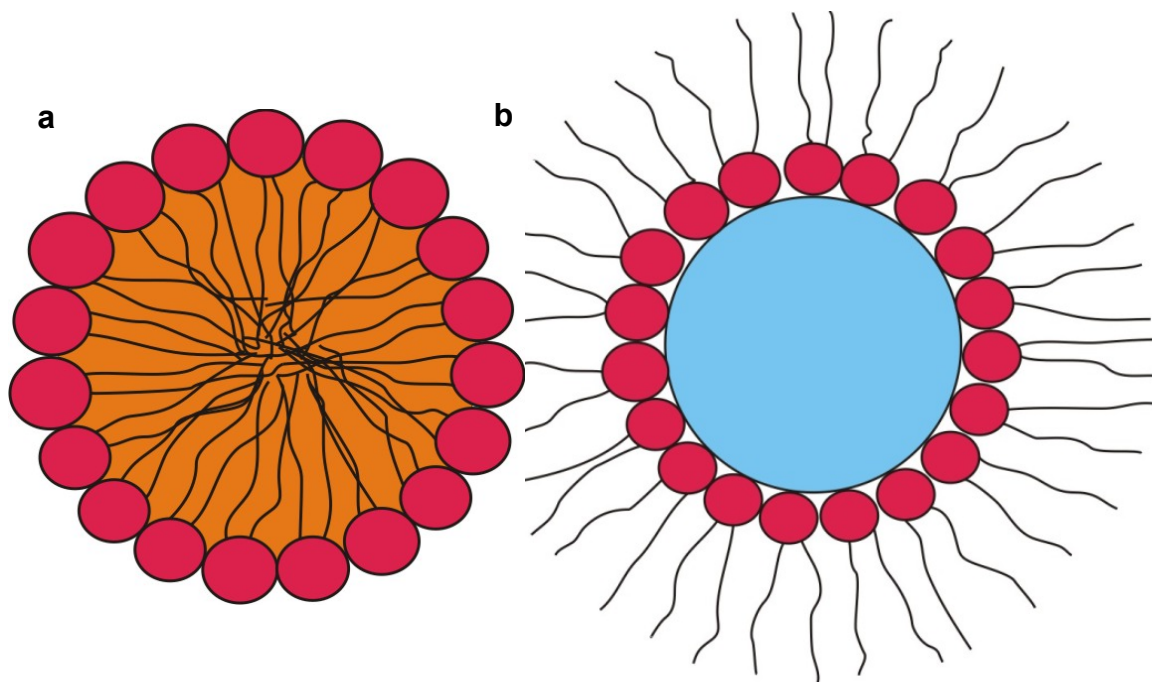


Figura 3. (a) Representação de emulsão o→w (óleo em água) e (b) emulsão w→o (água em óleo).

Spernarth e Magdassi (2007) relataram a preparação de nanopartículas de etilcelulose por inversão de fase à temperatura constante. Neste trabalho foram utilizados dois surfactantes, o monolaurato de sorbitana (Span 20) e o monolaurato decaglicerol cuja mistura apresentou balanço hidrofílico-lipofílico (HLB) entre 10 e 14. A emulsão obtida pela mistura do solvente orgânico, o polímero e os surfactantes apresentavam micelas diretas. Após a adição da água à mistura orgânica ocorreu o processo de inversão catastrófica de fase (Fernandez *et al.*, 2004). Neste processo de inversão, o aumento da fração aquosa na solução alterou o grau de curvatura do surfactante e esta mudança favorece a formação de partículas de reduzido tamanho com boa distribuição de tamanho.

Vários trabalhos que descrevem a síntese e aplicações de biocidas encapsulados podem ser encontrados na literatura especializada (Stout *et al.*, 1979; Riley, 1983; Singh *et al.*, 2007; Guan *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2008; Riyajan e Sakdapipanich, 2009; Sopena *et al.*, 2009; Voinova *et al.*, 2009; Zhu *et al.*, 2009). A grande variedade de trabalhos deve-se às inúmeras possibilidades de rotas sintéticas, diferentes tipos de matrizes e aplicações.

Flores Céspedes *et al.* (2013) descreveram o uso de alginato como matriz e bentonita e antracita (argilominerais) como agentes modificadores na preparação de formulações dos biocidas cloridazona e metribuzina. Os autores demonstraram a capacidade da formulação de prolongar a liberação dos herbicidas estudados com consequente redução do potencial de lixiviação e contaminação de águas subterrâneas.

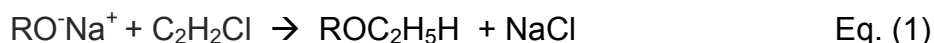
Sun *et al.* (2014) relataram a encapsulação do metomil, um inseticida do grupo químico carbamato que possui alta solubilidade em água, 57,9 g.L⁻¹ a 25 °C. Neste trabalho, foi utilizada como matriz o polímero carboximetilquitosana. A eficiência de encapsulação foi superior à 90% e o perfil de liberação do metomil em meio aquoso mostrou ser controlado por difusão.

Utilizando um derivado etoxilado da celulose, a etilcelulose, Pérez-Martínez *et al.* (2001) prepararam microesferas pela técnica da evaporação de solvente para encapsular o biocida norfluazon. A taxa de liberação do norfluazon variou com a adição de álcool polivinílico (PVA) e o tipo de solvente utilizado na síntese. Isso indica a estreita dependência das propriedades das micropartículas com o método de síntese e os materiais utilizados.

Sajid e Akash (2013) relatam a aplicação de microesferas de etilcelulose e hidroxipropilcelulose como matrizes para a liberação controlada de flurbiprofen. As microesferas foram preparadas pelo técnica de evaporação de solvente e os testes de liberação indicaram que a cinética de liberação foi de ordem zero, portanto, independente da concentração da substância ativa.

1.4 Etilcelulose

A etilcelulose (EC) é um polímero atóxico, estável, compressível, inerte, hidrofóbico, solúvel em uma ampla variedade de solventes orgânicos e flexível à baixas temperaturas. Etilcelulose tem sido utilizada em vernizes, tintas, adesivos, plásticos e produtos farmacêuticos (Murtaza, 2012). Este polímero tem ainda como característica a baixa flamabilidade e resistência a descoloração por luz solar. A etilcelulose é obtida pela reação do cloroetano com celulose alcalinizada (Equação 1).



Os grupamentos hidroxila da celulose são, em meio altamente alcalino, convertidos a íons hidroxil, cuja reação com o cloroetano produz a etilcelulose. Comercialmente é comum ser encontrado EC com grau de etoxilação de 48%. Na Figura 4 é apresentada a fórmula molecular da etilcelulose.

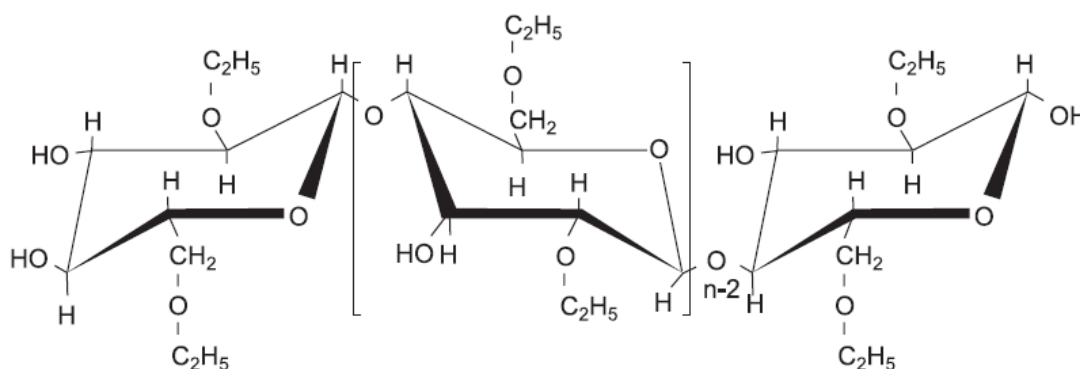


Figura 4. Fórmula molecular do polímero etilcelulose. Adaptado de Murtaza (2012).

Segundo Madelung *et al.* (2014), as partículas formadas por EC são biocompatíveis, o que potencializa seu uso em sistemas de liberação controlada de

princípios ativos em seres vivos ou no meio ambiente. Devido a esta e outras características já anteriormente citadas, este polímero tem sido utilizado em filmes (Cavalcanti *et al.*, 2004), tabletes de medicamentos (Hosseini *et al.*, 2013), microesferas (Pérez-Martínez *et al.*, 2001), microcápsulas (Yang *et al.*, 2000) como matrizes para drogas solúveis em água, além daqueles de baixa solubilidade nesse solvente.

Por ser sintetizada a partir de uma matriz abundante (celulose) a EC apresenta alto potencial de utilização em sistemas de liberação controlada e de custo acessível.

1.5 O biocida tebuconazole

O tebuconazole (Figura 5) é um fungicida da classe dos triazóis, cuja fórmula molecular é $C_{16}H_{22}ClN_3O$, nome químico (RS)-1-*p*-clorofenil-4,4-dimetil-3-(1H-1,2,4-triazol-1-ylmetil)pentan-3-ol e apresenta classificação toxicológica igual a IV.

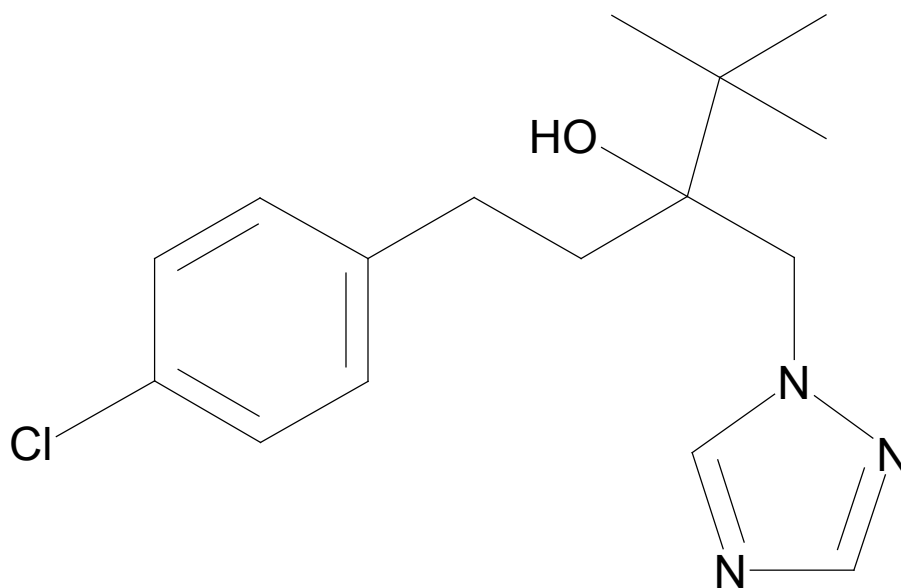


Figura 5. Fórmula estrutural plana do Tebuconazole (TBZ).

O uso do TBZ é regulado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e esta aprovou a aplicação foliar do TBZ nas culturas de abacaxi, abóbora, álamo, alho, amendoim, arroz, aveia, banana, batata, beterraba, cacau, café, cebola, cenoura, cevada, citros, cravo, crisântemo, feijão, figo, gladiolo, goiaba, maçã, mamão, manga, maracujá, melancia, melão, milho, morango, pepino, pêssigo, rosa, soja, sorgo, tomate, trigo e uva e em sementes de trigo. Este

fungicida é também utilizado no processo de conservação de madeiras (Rasmussen *et al.*, 2011) e em produtos domissanitários.

Na Tabela 1 são apresentadas as principais características físico-químicas do TBZ. Na literatura é relatada que o TBZ apresenta baixa volatilização (Pressão de vapor $1,7 \times 10^{-6}$ Pa, 20 °C). Porém, estudos tem mostrado a presença deste ingrediente ativo em água de chuva com valores de até $0,015 \mu\text{g.L}^{-1}$ (Scheyer *et al.*, 2006; Silva *et al.*, 2009) indicando ser este um mecanismo importante de contaminação ambiental. A elevada temperatura da superfície do solo (>60 °C) pode elevar a pressão de vapor do TBZ a valores significativos e que impactem o meio ambiente.

Tabela 1. Características físico-químicas do TBZ. Dados adaptados de FAO (2000).

Propriedades	
Pressão de Vapor (P_v)	$1,7 \times 10^{-6}$ Pa (20 °C)
Massa molar	307,91 g.mol ⁻¹
Ponto de fusão	102,4 °C
pK _a ¹	$5,0 \pm 0,1$ (Čadková <i>et al.</i> , 2013)
Log P _{ow} ²	3,7 (25 °C)
Densidade	$1,249 \text{ g.cm}^{-3}$ (25 °C)
Estabilidade hidrolítica	>1 ano (tampão pH 4, 7 e 9 à 22 °C)
Solubilidade	32 mg.L ⁻¹ (H ₂ O); 2-5 g.L ⁻¹ (hexano); >200 g.L ⁻¹ (diclorometano); 100 - 200 (2-propanol) e 50 - 100 g.L ⁻¹ (tolueno)
Constante de Henry (K_h)	$5,94 \times 10^{-9}$
Coeficiente de difusão (ar)	$0,0425 \text{ cm}^2.\text{s}^{-1}$
Coeficiente de difusão (H ₂ O)	$4,166 \times 10^{-6} \text{ cm}^2.\text{s}^{-1}$

¹Constante ácida; ²Coeficiente de partição octanol/água

Scheyer *et al.* (2006) relataram ainda que a presença de biocidas em água da chuva ocorrem temporalmente próximo ao evento da aplicação. Portanto, as condições ambientais no momento da aplicação do TBZ é um fator importante a ser considerado devido à possibilidade de perda deste *i.a* (ingrediente ativo) por volatilização.

A relativa persistência em solo e a solubilidade em água (32 mg.L^{-1}) parecem ser as características determinantes nos trabalhos que relatam a contaminação da água superficial e subterrânea pelo TBZ (Caldas *et al.*, 2010; Silva *et al.*, 2011). Segundo estes autores, os dados comprovam o alto potencial de lixiviação do TBZ.

1.6 Cinética de liberação

O comportamento de liberação (Figura 6) a partir de um sistema de liberação controlada (CRS) pode ser geralmente classificado em três tipos: (1) liberação de ordem zero, onde a razão de liberação permanece constante até que a quantidade do ingrediente ativo na matriz carreadora seja muito baixa, (2) liberação de primeira ordem, onde a razão de liberação é proporcional a quantidade de ingrediente ativo na matriz e decresce exponencialmente com o tempo e (3) liberação “raiz quadrada do tempo” (*square-root-of-time*), onde a razão de liberação é linear com o recíproco da raiz quadrada do tempo (Baker, 1986).

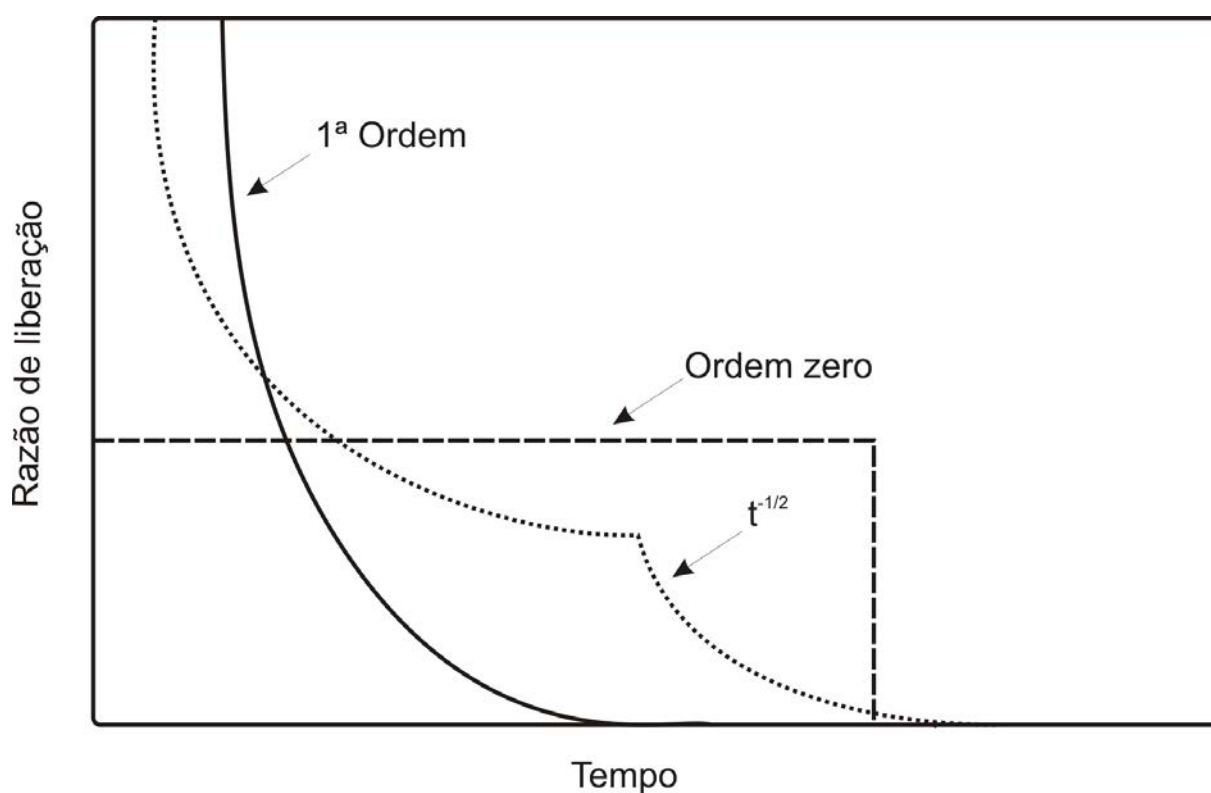


Figura 6. Diferentes mecanismos de liberação de ingrediente ativo a partir de sistemas de liberação controlada. Adaptado de Baker (1986).

Na maioria dos casos, a razão de liberação de um biocida formulado convencionalmente segue a cinética de primeira ordem (Markus e Linder, 2005). Após uma única aplicação, o tempo em que a concentração do biocida é mantida a um nível mínimo efetivo e dada por:

$$t_e = \left(\frac{1}{k_r}\right) \ln\left(\frac{M_\infty}{M_e}\right) \quad \text{Eq. (2)}$$

onde M_e é o nível efetivo mínimo, M_∞ é a quantidade do ingrediente aplicado inicialmente e k_r é uma constante - a razão de remoção. Segue-se que para um aumento na duração da efetividade de ação do biocida aplicado convencionalmente, uma quantidade exponencialmente do biocida é requerido. Entretanto, se a concentração de biocida for mantida a um nível de efetividade constante pelo suprimento constante proveniente de sistemas de liberação controlada, então um desempenho ótimo do biocida pode ser alcançado, e neste caso, a duração t_0 da ação do biocida será dada por:

$$t_0 = (M_\infty - M_e)k_d(M_e) \quad \text{Eq. (3)}$$

onde k_d é a constante da razão da liberação de biocida a partir do dispositivo de liberação controlada, sendo geralmente utilizadas para esta finalidade as micropartículas, as microcápsulas e as nanoestruturas (Kydonieus, 1980).

Um modelo entre a concentração de aplicação e a duração da ação do biocida numa cultura é mostrado na Figura 7, tanto para uma formulação convencional como para a formulação baseada no CRS. A área entre as duas curvas representa a quantidade de biocida que é perdido ou desperdiçado durante a aplicação do biocida. Observa-se que para curtos períodos de tempo, a formulação convencional é adequada, porém a sua eficiência decresce com o tempo e é necessário que haja mais aplicações para que o nível de concentração do ingrediente ativo esteja numa faixa adequada.

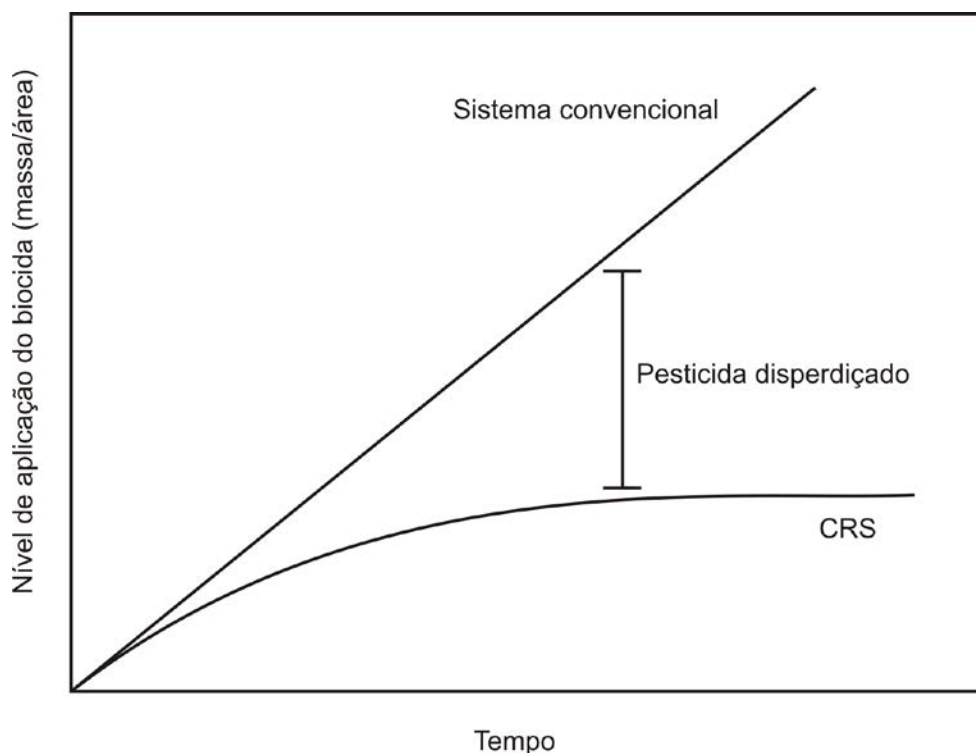


Figura 7. Relação entre o nível de aplicação e a duração da ação para a formulação convencional e a formulação via sistema de liberação controlada (CRS). Adaptado de Kydonieus (1980).

Segundo Lee e Good (1987), dependendo do modo de aplicação o mecanismo de liberação a partir das micropartículas/microcápsulas pode ser explicado como: (1) quimicamente controlado, quando a liberação ocorre a partir da bioerosão ou do conjugado pesticida-polímero; (2) controlada por difusão, onde a liberação ocorre a partir do sistema membrana-reservatório (solução-difusão e bombeamento osmótico) ou sistemas de matrizes (difusão de matriz, erosão do polímero, intumescimento do polímero, geometria e distribuição).

Ao estudarem a degradação do TBZ em três diferentes solos utilizando moléculas marcadas (^{14}C), Mosquera *et al.* (2010) observaram que a cinética de degradação do TBZ seguiu a razão de primeira ordem ($R^2 > 0,899$) com valores de meia-vida ($t_{1/2}$) variando entre 158 e 198 dias.

1.7 Modelos cinéticos de liberação controlada

Devido ao fato de que as mudanças qualitativas e quantitativas em uma formulação podem alterar a forma de liberação do princípio ativo e o desempenho in vivo, o uso de experimento in vitro e de modelos de dissolução e liberação de princípios ativos tem sido amplamente utilizados.

Existem vários modelos cinéticos que podem ser utilizados para descrever o comportamento da liberação de drogas a partir de matrizes de liberação controlada (Siepmann e Peppas, 2001; Lopes *et al.*, 2005; Shoaib *et al.*, 2006; Dash *et al.*, 2010). Os métodos de investigação da cinética de liberação de ingredientes ativos podem ser classificados em três categorias: métodos estatísticos, métodos baseados em modelos e métodos independentes de modelos. Neste trabalho abordaremos os métodos que se baseiam em modelos para descrever o processo de liberação controlada.

Segundo Dash *et al.* (2010), os métodos baseados em modelos possuem diferentes funções matemáticas cujo objetivo é descrever o perfil de dissolução do ingrediente ativo. Assim, uma vez que um modelo é selecionado, o perfil de liberação é avaliado de acordo com os parâmetros descritos pelo modelo. Os principais modelos que derivam de modelos são: Zero ordem, Primeira Ordem, Higuchi, Hixson-Crowell, Korsmeyer-peppas, Baker-Lonsdale, Weibull, Hopfenberg, Gompertz e modelos de regressão.

1.7.1 Ordem zero

A dissolução de ingredientes ativos cuja liberação ocorre lentamente pode ser representada pela equação:

$$Q_t = Q_0 + k_0 t \quad \text{Eq. (4)}$$

onde Q_t é a quantidade de ingrediente ativo dissolvido na solução no tempo t , Q_0 é a quantidade inicial do ingrediente na solução, sendo geralmente igual a zero e k_0 é a constante do modelo de liberação de ordem zero cuja unidade é dada pela concentração/tempo. Para estudar a cinética de liberação, os dados obtidos nos experimentos de liberação controlada in vitro são relacionados como a quantidade acumulada *versus* o tempo (Dash *et al.*, 2010).

1.7.2 Primeira ordem

A liberação de ingredientes ativos que seguem o mecanismo de primeira ordem pode ser expressa pela equação:

$$\frac{dC}{dt} = -k_c \quad \text{Eq. (5)}$$

onde k_c é a constante de primeira ordem do modelo e expresso em unidade de tempo. O rearranjo dessa equação (linearização) permite obter a equação:

$$\text{Log}C = \text{Log}C_0 - kt/2,303 \quad \text{Eq. (6)}$$

onde C_0 é a concentração inicial do ingrediente ativo, k é a constante de primeira ordem e t é o tempo. Os dados são plotados como o logaritmo do percentual relativo de ingrediente remanescente *versus* o tempo. Neste caso, será observada uma linha (reta) com um coeficiente angular igual a $-k/2,303$.

1.7.3 Modelo de Higuchi

Este foi o primeiro exemplo de modelo matemático cujo objetivo era descrever a liberação de ingrediente ativo a partir de um sistema matricial e foi proposto por Higuchi em 1961 (Higuchi, 1961). Este modelo é baseado na hipótese de que (1) a concentração inicial do ingrediente ativo é muito maior que a solubilidade deste no meio utilizado; (2) a difusão do princípio ativo ocorre e somente uma dimensão (outros efeitos são negligenciáveis); (3) as partículas encapsuladas são muitos menores que a espessura do sistema; (4) o inchamento e dissolução da matriz são negligenciáveis; e (5) a difusibilidade do ingrediente ativo é constante. A forma simplificada do Modelo de Higuchi é:

$$Q = k_h \times t^{1/2} \quad \text{Eq. (7)}$$

onde Q é a quantidade do ingrediente ativo liberado no tempo t por unidade de área, k_h é a constante de dissolução de Higuchi. Para obtenção dos dados de acordo com o modelo de Higuchi, o percentual acumulado da droga liberada deve ser plotada *versus* a raiz quadrada do tempo.

1.7.4 Modelo de Korsmeyer-Peppas

Este é um modelo semi-empírico que deriva de uma simples relação que descreve a liberação do princípio ativo a partir de um sistema polimérico (Korsmeyer *et al.*, 1983). Para encontrar o mecanismo de liberação, os dados iniciais até 60% do total liberação devem ser utilizados no modelo de Korsmeyer-Peppas:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = kt^n \quad \text{Eq. (8)}$$

onde a fração M_t/M_∞ é a fração de ingrediente liberado no tempo t , k é a constante de liberação e n é o expoente de liberação. O valor de n é utilizado para caracterizar o mecanismo de liberação do ingrediente ativo (Costa e Sousa Lobo, 2001). Na Tabela 2 são relacionados os diferentes valores do expoente de liberação (n) e o mecanismo de transporte relacionado.

Tabela 2. Interpretação do mecanismo de liberação difusional (Adaptado de Costa e Sousa Lobo (2001)).

Expoente de liberação (n)	Mecanismo de transporte
0,5	Difusão Fickiana
$0,5 < n < 1,0$	Transporte anômalo
1,0	Transporte caso II
$> 1,0$	Transporte super caso II

1. OBJETIVOS

O presente estudo teve como objetivo sintetizar micropartículas de EC, investigar a influência de alguns fatores sobre o processo de produção dessas partículas e estudar sua utilização como matriz para a encapsulação do fungicida TBZ. O estudo, em função de suas metas, comporta diversos objetivos específicos, que podem ser resumidos em:

I – Sintetizar as micropartículas de EC pelo método de inversão de fase seguido pela retirada do solvente orgânico por pressão reduzida;

II – Caracterizar morfologicamente as micropartículas obtidas por intermédio da técnica de microscopia eletrônica de varredura de alta resolução (MEV-FEG)

III – Encapsular o fungicida TBZ e estudar suas interações, se houver, com a matriz polimérica por meio de análises por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), Raman, Difração de Raios-X e análise térmica (TG e DTA);

IV – Realizar o estudo teórico da molécula de TBZ;

V - Investigar as propriedades e cinética de liberação do TBZ das micropartículas sintetizadas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Reagentes e soluções

Foi utilizado neste trabalho como surfactante o monolaurato de polioxietileno sorbitano 20 (MLPS, CAS 9005-64-5) comercialmente conhecido como Tween[®] 20 adquirido da Sigma-Aldrich. Para a síntese da matriz foi utilizado o polímero EC 22k cps (Sigma-Aldrich) e tolueno UV/HPLC Ultimar (Mallinckrodt). O TBZ grau técnico com pureza nominal de 96,4% foi fornecida pela Milênia Agrociências SA e foi utilizada como recebida, sem purificação posterior.

A água ultrapura utilizada nos experimentos foi obtida pelo sistema Direct-Q UV Millipore. Acetonitrila Chromar e Metanol Anidro Chromar ambos da marca Macron foram utilizados nas análises por cromatografia líquida. Para a limpeza das vidrarias foi utilizada acetona comercial marca Synth, álcool etílico comercial 96 GL marca Synth e Extran Alcalino marca Merk. Outros reagentes: Cloreto de Sódio, NaCl ACS 99,0% (Sigma Aldrich) utilizado no experimento de determinação do ponto de inversão de fase.

Devido às dificuldades experimentais de utilizar soluções de EC dada a elevada viscosidade em meio orgânico, todas as soluções e cálculos envolvendo as soluções deste polímero foram expressos em relação massa/massa. Assim, foram utilizadas nas sínteses de micropartículas duas soluções de EC em tolueno, 4 e 8% m/m respectivamente. Como exemplo, em 1,0 g da solução de EC 4% (m/m) contém nominalmente 40 mg deste polímero.

No início de cada experimento foi determinada a concentração de EC via método gravimétrico (pesagem, evaporação completa do solvente e determinação da massa restante), pois a concentração varia em função do tempo devido à utilização de solvente orgânico.

2.2 Equipamentos

Os principais equipamentos utilizados na síntese das micropartículas foram um Homogeneizador Ultra Turrax T18 Basic, uma Bomba peristáltica mod Perimax 12 Fab. Spetec, um Agitador magnético Fisatom modelo 752, sistema de evaporador

rotativo IKA. A descrição dos equipamentos de caracterização e as condições experimentais são descritos separadamente.

2.3 Síntese das micropartículas

2.3.1 Determinação ponto de inversão de fase

Para determinar a quantidade mínima de água necessária para que ocorra a inversão de fase da emulsão constituída por EC, MLPS, água e tolueno, 60 mL de uma solução de NaCl 10 mmol.L⁻¹ foram adicionados gota-a-gota a 16 g de uma solução de EC 4% (m/m, solvente tolueno) e 4,0 g de MLPS. A solução foi mantida continuamente sob agitação magnética e as medidas de condutividade elétrica foram feitas num condutivímetro de bancada (GEHAKA Mod. CG1800) a cada adição de 1,0 mL de solução salina.

2.3.2 Avaliação do efeito da concentração de MLPS

O efeito da concentração de MLPS na síntese das micropartículas de EC foi determinado variando-se a concentração do surfactante entre 0,5 e 5% (m/m). A massa de EC foi de 160 mg e o volume de água foi de 15 mL. O procedimento experimental está descrito no subitem 2.3.3.

2.3.3 Método experimental de síntese das micropartículas de EC

Para a síntese das micropartículas de EC foi utilizado o princípio apresentado por Spemarth e Magdassi (2007), a inversão de fase à temperatura constante. Foram realizados testes experimentais preliminares para determinar a quantidade mínima de surfactante necessário para a formação das emulsões de etilcelulose e a quantidade de água necessária para ocorrer a inversão de fase. Após estes testes, apresentados na discussão, um roteiro de síntese foi formulado.

Assim, em 4,0 g da solução de EC são adicionados 0,8 ou 1,6 g do surfactante monolaurato de polioxietileno sorbitano (MLPS). A mistura é homogeneizada em agitador magnético durante todo o processo de síntese. São adicionados 15 mL de água ultrapura num fluxo de 0,5 ml.min⁻¹ utilizando uma bomba peristáltica seguida de 2 ou 4 minutos de homogeneização de alta velocidade. A retirada do solvente é feita em evaporador rotativo com banho

termostatzado em 35 °C sob pressão reduzida, 250 mBar até que a solução apresente as características que indique a retirada completa do solvente orgânico utilizado (tolueno), restando apenas a suspensão aquosa das partículas. A seguir, a amostra é centrifugada a 11.000 rpm (15.500×g) por 30 minutos em centrífuga refrigerada na temperatura de 10 °C.

Após a centrifugação, a solução aquosa é descartada e 15 mL de água ultrapura são adicionados à amostra e suspendida utilizando um agitador tipo vórtex até que não haja material no fundo do tubo tipo Falcon. A suspensão é novamente centrifugada conforme procedimento descrito acima. As micropartículas obtidas são secas em dessecador à temperatura de 25 °C até massa constante. Na Figura 8 é apresentado o fluxograma da síntese das micropartículas de etilcelulose.

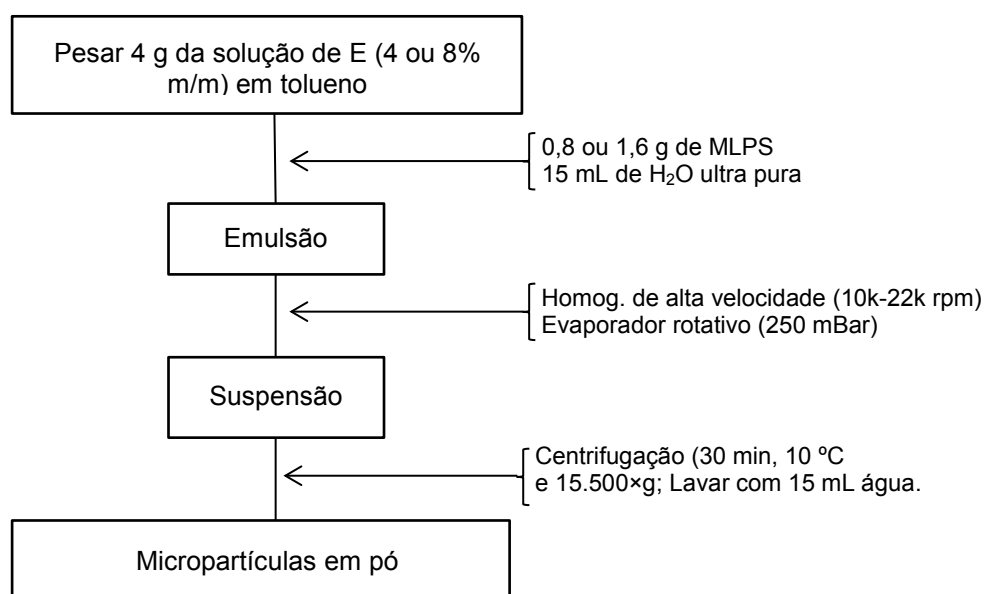


Figura 8. Fluxograma do processo de síntese de micropartículas de EC.

2.3.4 Planejamento Experimental 2⁴

Com o objetivo de avaliar a influência dos principais parâmetros de síntese sobre a formação das micropartículas foi realizado um planejamento experimental 2⁴ onde os fatores avaliados foram: a concentração do polímero EC, a concentração do surfactante MLPS, a velocidade de homogeneização de alta velocidade e o tempo desta homogeneização. Cada fator foi avaliado em dois níveis, sendo um inferior e

outro superior, conforme apresentado na Tabela 3. A síntese das micropartículas foi realizada conforme descrito no subitem 2.3.

Tabela 3. Parâmetros de síntese de micropartículas de EC avaliados no planejamento experimental 2⁴. A razão R indica a relação mássica entre o surfactante MLPS e a matriz polimérica utilizada ($m_{\text{surf}}/m_{\text{EC}}$).

Fatores	Sigla	Nível (-)	Nível (+)
Etilcelulose	EC	4,0% m/m	8,0% m/m
Surfactante	MLPS	5R (0,8 g)	10R (1,60 g)
Veloc. Homog.	v	10.000 rpm	22.000 rpm
Tempo de homogeneização	t	2 min	4 min

Tabela 4. Planejamento experimental 2⁴ da síntese de micropartículas de EC pelo método de inversão de fase à temperatura constante.

Experimento	EC	MLPS	v	t
PE1	-	-	-	-
PE2	+	-	-	-
PE3	-	+	-	-
PE4	+	+	-	-
PE5	-	-	+	-
PE6	+	-	+	-
PE7	-	+	+	-
PE8	+	+	+	-
PE9	-	-	-	+
PE10	+	-	-	+
PE11	-	+	-	+
PE12	+	+	-	+
PE13	-	-	+	+
PE14	+	-	+	+
PE15	-	+	+	+
PE 16	+	+	+	+

As respostas avaliadas no planejamento experimental 2^4 (Tabela 4) foram a distribuição por tamanho das partículas obtidas e o rendimento de cada experimento. Os resultados foram avaliados para verificar as tendências e interações entre os fatores e as respostas obtidas.

2.4 Encapsulação do TBZ

2.4.1 Síntese a partir das condições da amostra PE-7

Foi feita a síntese de micropartículas e encapsulação do TBZ a partir das condições experimentais aplicadas no planejamento experimental para a amostra PE-7. Assim, em 2 g da solução de EC 8% (m/m) foram adicionados aproximadamente 1,0 g de solução de TBZ (6,05% m/m) e 1,6 g do surfactante MLPS seguida da adição contínua de 15 mL de água ultrapura a um fluxo de 0,5 mL.min⁻¹ e 2 minutos de homogeneização de alta velocidade à 10.000 rpm. Os demais procedimentos são descritos no subitem 2.3.3.

Para determinação da quantidade de TBZ nas micropartículas sintetizadas de acordo como os parâmetros PE-7 10 mg das micropartículas secas foram dissolvidas em tolueno num balão volumétrico de 50 mL e o volume final foi aferido com este solvente. 985 µL desta solução foram adicionados num *vial* cromatográfico de 1,5 mL e adicionou-se 15 µL do padrão interno, fenantreno 10,4 µL.mL. A solução resultante foi analisada por cromatografia à gás e a concentração de TBZ encontrada na solução foi determinada e utilizada para calcular a eficiência de encapsulação.

2.4.2 Síntese a partir das condições da amostra PE-14 de determinação do TBZ via DLLME

Para a síntese das micropartículas e encapsulação do TBZ a partir das condições experimentais aplicadas no planejamento experimental para a amostra PE-14 foram pesados 4 g da solução de EC 8% ao qual foram adicionados 0, 25, 50, 100 e 200 mg de TBZ e 0,8 g do surfactante MLPS seguida da adição contínua de 15 mL de água ultrapura a um fluxo de 0,5 mL.min⁻¹ e 4 minutos de homogeneização de alta velocidade à 22.000 rpm. Os demais procedimentos de síntese são descritos no subitem 2.3.3.

A quantidade de TBZ encapsulado foi determinado pela diferença entre a massa deste biocida utilizada na síntese e aquele presente nas águas da síntese e centrifugação. Assim, devido à necessidade de analisar o TBZ em água foi desenvolvido um método de extração e pré-concentração de amostras utilizando o princípio da Microextração Líquido-Líquido Dispersiva (DLLME) descrito inicialmente por Rezaee *et al.* (2006), sendo implementadas as modificações necessárias.

Para determinação da quantidade de TBZ nas micropartículas sintetizadas de acordo como os parâmetros PE-14 foram determinadas as concentrações de TBZ nas amostras da água de síntese e lavagem dissolvendo 50 µL em 1000 µL de água ultrapura. 100 µL da amostra diluída são adicionados em um tubo de ensaio de 12 mL ao qual são adicionados 4.900 µL de uma solução de NaCl 10% m/m. Em seguida, 750 µL de acetonitrila (dispersor) e 150 µL de tolueno são adicionados ao tudo de ensaio. O tudo é adequadamente tampado e a solução é agitada em vórtex por 30 segundos. A amostra dispersa é centrifugada por 6 minutos a 5.000 rpm numa centrífuga refrigerada, cuja temperatura foi mantida a 20 °C. Após a centrifugação, uma alíquota de 100 µL é coletada adicionada um *insert* de volume adequado e adaptado a um *vial* para posterior análise cromatográfica. 15 µL da solução de padrão interno, d-fenantreno ($C = 10,42 \mu\text{g.mL}^{-1}$), foram adicionados no *insert*.

Foram feitos padrões nas concentrações 0,0; 0,1; 0,25; 0,5; 1,0; 2,5; 5,0; 7,5 e $10,0 \mu\text{g.mL}^{-1}$ que passaram pelo mesmo procedimento das amostras. Esta curva analítica apresentou $r^2 = 0,9849$ e a equação de reta foi $y = 0,93423(\pm 0,04085)x - 0,09179(\pm 0,08978)$. Com base na equação de calibração obtida, o TBZ nas amostras de água foi quantificado de acordo com a equação:

$$C_{TBZ} = \left(\frac{A_{TBZ}}{A_{PI}} - b \right) \frac{C_{PI}}{m} \quad \text{Eq. (9)}$$

onde C_{CTZ} = concentração de tebuconazole na amostra ($\mu\text{g.mL}^{-1}$), A_{TBZ} = área do pico cromatográfico do TBZ, A_{PI} = área do pico cromatográfico do padrão interno d-fenantreno, C_{PI} = concentração do padrão interno ($\mu\text{g.mL}^{-1}$), m é o coeficiente angular e b o coeficiente linear da equação de calibração.

2.4.3 Testes de liberação *in vitro*

O teste de liberação do TBZ foi realizado para as amostras EEC25 (25 mg de TBZ), EEC50 (50 mg de TBZ), EEC100 (100 mg de TBZ) e EEC200 (200 mg de TBZ). Na Tabela 5 são apresentadas as quantidades das micropartículas, os volumes de água (pH 6,5 -7,0) e as massas do conservante (benzoato de sódio) utilizado para evitar a degradação química e/ou microbiológica do TBZ. A quantidade de benzoato de sódio adicionado seguiu a proporção de 1,67 ($m_{\text{benzoato}}/m_{\text{partic.}}$). Foram coletadas amostras no intervalo de tempo 0, 10 e 30 minutos e 1, 2, 4, 12, 24, 72, 144 e 288 horas. O TBZ nas amostras coletadas foi determinado conforme métodos DLLME descrito anteriormente.

Tabela 5. Quantidades reagentes utilizados no experimento de liberação do TBZ.

Amostra	M_{partic.}(mg)	V_{H2O} (mL)	M_{benzoato} g)
EEC25	291,5	150	486,5
EEC50	239,6	150	403,4
EEC100	316,6	150	520,6
EEC200	233,4	150	391,2

2.4.4 Solução padrão estoque de TBZ e curva de calibração

Em balança analítica aferida foram pesados 10,6 mg de TBZ 99,6% (Sigma Aldrich). Esta massa foi dissolvida em tolueno e quantitativamente transferida para um balão volumétrico de 100 mL e aferido o volume. Então, com o auxílio de uma micropipeta, 1,0 mL da solução previamente descrita foi transferido para um balão volumétrico de 10 mL e o volume aferido com tolueno. A solução estoque e diluída de TBZ têm concentração de 105,6 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e 10,56 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, respectivamente.

Uma curva analítica foi construída para determinar a quantidade de TBZ nas partículas. As concentrações em triplicata foram: 0,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, 0,25 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, 0,50 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, 1,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, 2,5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, 5,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, 7,5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e 10,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Foram adicionados em cada *vial* um volume de 0,15 μL de fenantreno deuterado na concentração de 10,4 $\mu\text{g.mL}^{-1}$.

2.4.5 Solução de TBZ grau técnico

Foi preparada uma solução de TBZ grau técnico (96,1% de pureza) na concentração de 6,05% m/m pela dissolução de 3,1209 g do TBZ em tolueno. A massa final de tolueno + TBZ foi de 51,5651 g. Considerando a pureza nominal do TBZ grau técnico como 96,1%, a concentração calculada para a solução foi de 5,8163% m/m. Assim, tem-se uma concentração de TBZ de 58,163 mg_{TBZ}/g_{solução}.

2.5 Análises cromatográficas

Para a análise do TBZ foi utilizado um cromatógrafo a gás modelo HP 6890 com injetor automático acoplado a um espectrômetro de massa modelo HP 5973, equipado com coluna HP 19091-433 com fase HP-5 (5% de fenil metil siloxano, 30,0 m x 250 µm d.i. x 0,25 µm de espessura do filme). Foi utilizada a seguinte programação otimizada de temperatura do forno: temperatura inicial de 110 °C mantida por 2,5 min, em seguida rampa de 20 °C min⁻¹ até 175 °C mantida por 6 min, e rampa de 20 °C min⁻¹ até 280 °C e mantida por 2 min.

O volume de injeção foi de 1,0 µL modo *Splitless*, fluxo do gás de arraste (He, pureza 99,9999%) igual a 1,0 mL min⁻¹, ionização por impacto eletrônico de 70 eV, temperatura da fonte de ionização de 230 °C, do quadrupolo de 150 °C, da linha de transferência de 150 °C e do injetor de 250 °C. O método do padrão interno foi utilizado para a quantificação em modo monitoramento de íon selecionado (SIM), sendo o íon principal (250) utilizado para a quantificação e os íons secundários para a identificação (125 e 252).

Foi utilizado o Fenantreno deuterado (fen-d₁₀, Figura 9) como padrão interno nas análises cromatográficas, sendo monitorados os íons 184,10 (principal), 188,10 e 189,10, quando utilizado o método SIM.

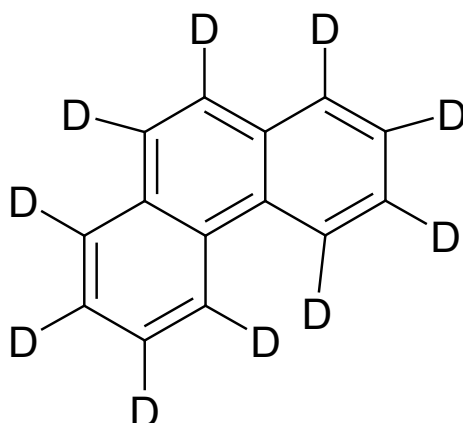


Figura 9. Fórmula estrutural do fenantreno deuterado utilizado como padrão interno na análise do TBZ via cromatografia a gás com detector de espectrometria de massas. D = deutério.

2.6 Caracterização das micropartículas

2.6.1 FEG-MEV

A técnica de microscopia eletrônica possibilita o estudo detalhado das características morfológicas dos materiais como a forma, a homogeneidade de superfície e a presença de defeitos macroscópicos. As fotomicrografias das partículas foram obtidas num Microscópio de Varredura de Alta Resolução (FEG-MEV) Modelo 7500F, Marca JEOL e foi o operado numa tensão de aceleração de 2 kV durante as varreduras.

2.6.2 Análise Termogravimétrica

A análise termogravimétrica (TG) registra variação da massa da amostra em função da temperatura ou em função do tempo de análise. Neste trabalho foi utilizado um analisador térmico Shimadzu DTG-60H para realizar as análises. As condições experimentais foram: 6-8 mg de amostra sob fluxo de ar a $100 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, taxa de aquecimento de $20 \text{ }^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ e variação da temperatura de 50 a $800 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Nos experimentos foram utilizados somente cadinhos de alumina.

Simultaneamente à análise TG foi realizada a análise térmica diferencial (DTA). A DTA é uma técnica onde a diferença de temperatura entre a amostra e a

referência é analisada, enquanto ambos são submetidos a uma programação controlada de temperatura. Com a curva DTA é possível identificar a temperatura onde ocorrem os eventos exotérmicos ou endotérmicos observados numa corrida térmica. A partir destas informações é possível fazer inferências sobre as características das reações ou transformações que o material analisado apresenta.

2.6.3 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho: Transmitância e Reflectância Total Atenuada (ATR)

A técnica de espectroscopia de Absorção na região do infravermelho é baseada na absorção, reflexão e emissão de luz (ŠAŠIĆ, 2008) sendo amplamente utilizada para identificar a estrutura dos compostos com base nas frequências vibracionais das moléculas. A absorção da luz incidente é devida aos movimentos de torção, deformação, rotação e vibração dos átomos numa molécula e geram as chamadas bandas absorção.

Para obter as caracterizações na região do infravermelho das micropartículas, as amostras foram trituradas em almofariz de Ágata como o objetivo de se tornarem mais finas e homogêneas. Em seguida, as micropartículas foram misturadas ao brometo de potássio (KBr). O KBr foi previamente seco em estufa à 100°C e acondicionado em dessecador de vidro até o momento do uso. Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidas espectrômetro Shimadzu IRAffinity-1S FTIR com faixa de trabalho entre 350 e 4700 cm^{-1} , resolução de 4 cm^{-1} e 20 varreduras.

A técnica de caracterização de sólidos por infravermelho é facilitada pelo uso de um acessório de cristal que possibilita a medida via Reflectância Total Atenuada (ATR). A amostra fica em contato com um cristal de ZnSe que apresenta alto índice de refração (>2) na banda do IR. O feixe incidente se propaga no cristal por meio do fenômeno de reflexão até sair na extremidade oposta. O feixe de IR penetra numa pequena profundidade na amostra e se esta absorver será detectado a sua atenuação. Os espectros de FT-IR ATR foram obtidas num espectrômetro Nicolet iS5 FT-IR da Thermo Scientific™ com o acessório ATR iD Foundation com cristal de ZnSe. A coleta do espectro foi realizada na região entre 650 e 4000 cm^{-1} com resolução de 4 cm^{-1} e 16 varreduras usando um laser de frequência 15.798,0 cm^{-1} .

2.6.4 Espectroscopia FT-Raman

Esta técnica consiste de caracterização de materiais ao utilizar espalhamento inelástico dos fótons de um laser por moléculas da amostra. O resultado deste fenômeno é a alteração da frequência e energia da luz espalhada, o que permite identificar as estruturas moleculares por meio de seus modos vibracionais (ŠAŠIĆ, 2008). Segundo Larkin (2011), a espectroscopia Raman pode ser utilizada como técnica complementar à espectroscopia de infravermelho. Além disso, a reprodutibilidade dos espectros obtidos e a possibilidade de uso de água como solvente garante a eficiência e versatilidade deste método de caracterização. Os espectros de Micro Raman por Transformada de Fourier (FT-Raman) foram obtidos utilizando um espectrofotômetro FT-Raman, da marca Bruker, modelo RFS/100/S, usando um laser de Nd: YAG de 60 mW e comprimento de onda de 1064 nm, com precisão nas frequências dos modos em torno de 4 cm^{-1} , na região de 0 a 3500 cm^{-1} .

2.6.5 Difração de RX

A difração de RX por uma amostra fornece informações sobre a estrutura do material analisado uma vez que o padrão do difratograma é característica de cada amostra. Em estudos de encapsulação, um dado importante a ser obtido pelo uso desta técnica refere-se à caracterização da amostra quanto a presença de fase cristalina ou a ausência de padrões de difração quando tratar-se material amorfo. Os dados de difração de raios-x (XRD) neste trabalho foram obtidos num difratômetro Bruker modelo AXS D8 Advanced usando radiação CuK_α ($k=1,5418\text{ \AA}$), 40 mA e 40 kV, varredura contínua em 2θ de 10° a 80° com velocidade de coleta de $0,5^\circ\text{ min}^{-1}$.

2.7 Estudo computacional da molécula de tebuconazole

Foi realizado um estudo computacional preliminar da molécula de tebuconazole utilizando o programa Gaussian EM64L-G09RevA.02 para auxiliar na identificação das bandas vibracionais de infravermelho e do espalhamento Raman. Foi realizada a otimização da estrutura do tebuconazole utilizando o método de cálculo RB3LYP 6-311++G(d,p).

Devido ao fato que praticamente toda a dinâmica molecular usual está relacionada com a distribuição eletrônica, o estudo desta característica pode fornecer informações relevantes que facilitem o entendimento da interação das moléculas entre si, a sua solubilidade, eletronegatividade, momentos de dipolo molecular, polarizabilidade, acidez, reatividade, interação com a estrutura do polímero utilizado no processo de síntese de micropartículas, etc.

3. Resultados e Discussão

3.1 Determinação do ponto de inversão de fase

Na Figura 10 é apresentada a variação da condutividade elétrica durante a adição de solução aquosa de NaCl 10 mmol.L⁻¹. A condutividade da solução EC+MLPS é inicialmente nula e, ao ser adicionada H₂O+NaCl o seu valor aumenta com a adição de solução salina.

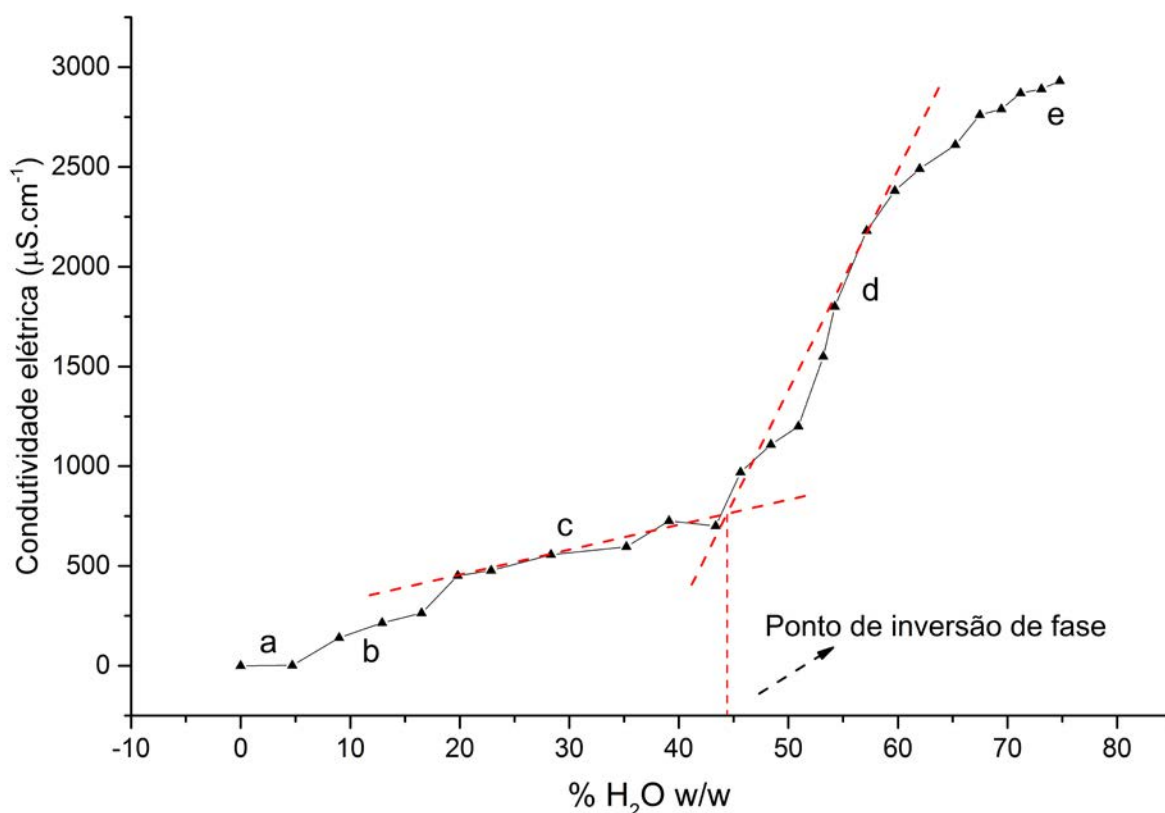


Figura 10. Determinação do ponto de inversão de fase de uma solução (w→o para o→w). NaCl 10 mmol.L⁻¹

Na região **a** da Figura 10 há a presença apenas de micelas invertidas. A partir da adição de H₂O observa-se o aumento da condutividade elétrica da solução (região **b**), o que indica a formação de emulsão w→o. Esta região caracterizando-se pela conversão das micelas inversas presentes em uma emulsão, onde a parte polar da molécula do surfactante ocupa a região interna e a externa é preenchida pelas estruturas hidrofóbicas, aquelas que possuem maior interação com o meio orgânico da solução.

Na região **c**, a emulsão $w \rightarrow o$ apresenta pequena elevação da condutividade elétrica devido ao incremento de água e deslocamento do equilíbrio no sentido da inversão da fase contínua de $w \rightarrow o$ para $o \rightarrow w$. A cada adição de água, o equilíbrio é perturbado e, dependendo da quantidade deste solvente, ocorrerá a inversão de fase $w \rightarrow o$ para $o \rightarrow w$ (a letra *o* representa a fase óleo e letra *w* representa a fase aquosa).

O ponto onde ocorre a inflexão nos valores de condutividade elétrica de uma solução versus a quantidade de água salinizada adicionada representa o ponto de inversão de fase, ou seja, a quantidade mínima percentual de água que o sistema deve conter para que ocorra a inversão de fase. Neste experimento foi encontrado o valor de aproximadamente 45% (m/m) de água.

A predominância da fase orgânica nas primeiras adições de solução salina e a capacidade da solução de emulsionar-se com a presença da água faz com que a condutividade varie menos intensamente até o momento anterior à inversão de fase. A partir do ponto de inversão de fase, a água e o NaCl passam a compor predominantemente a fase contínua e ocorre a formação de emulsão $o \rightarrow w$ (região **d**). Este fenômeno faz com que a condutividade elétrica da solução aumente abruptamente até atingir o limite máximo da solução de NaCl 10 mmol.L^{-1} que foi em torno de $3.000 \text{ }\mu\text{S.cm}^{-1}$, região **e**, para as condições experimentais adotadas.

Nos experimentos de síntese de micropartículas obtidas neste trabalho foi utilizada uma média de 76% m/m de água. Observe que o valor 45% obtido no experimento de condutividade refere-se à quantidade mínima.

3.2 Inversão de fase e o efeito da concentração de MLPS

Para o estudo do efeito da concentração de MLPS na síntese de micropartículas de EC foi montado o experimento conforme apresentado na Tabela 6. Foram realizadas seis sínteses onde o teor de MLPS variou entre 0,5 e 5,0% m/m em relação à massa final da solução após a síntese. O volume de água utilizada foi determinado conforme dados obtidos no experimento de determinação do ponto de inversão de fase.

Tabela 6. Efeito da concentração de MLPS sobre a formação de emulsão de EC.

Amostra	%MLPS	$m_{\text{sol. EC 4\%}}$ (g)	$V_{\text{H}_2\text{O}}$ (mL)	%Rend	Observações
EC1	0,5	4,211	15,0	-	Separação das fases
EC2	1,0	4,013	15,0	-	Separação das fases
EC3	2,0	4,517	15,0	-	Flocos +++
EC4	3,0	4,057	15,0	93,7	Flocos +
EC5	4,0	4,014	15,0	58,3	emulsão
EC6	5,0	4,058	15,0	23,9	emulsão

+ = poucos

+++ = muitos

Para as amostras com teores de MLPS iguais a 0,5 e 1,0% houve a separação das fases durante a adição da solução aquosa de NaCl 10 mM devido à quantidade insuficiente de surfactante. Nesta, a emulsão tornou-se instável e as fases separam-se. A separação das fases para a amostra EC1 ocorreu no momento da síntese e para a amostra EC2 durante a retirada do solvente no evaporador rotativo.

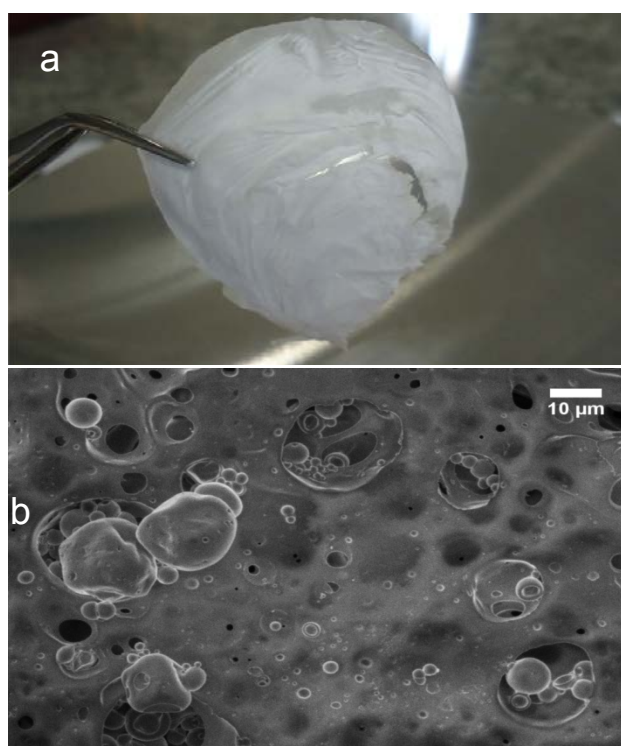


Figura 11. Formação de floco de EC (a) devido à quantidade insuficiente de surfactante para a formação de micropartículas via emulsão e (b) Fotomicrografia das micropartículas da Amostra EC2.

Na Figura 11 é apresentada a aparência final da amostra EC1 onde houve a separação de fases. A baixa concentração de MLPS nesta amostra teve como consequência a formação de poucas partículas. A formação de flocos (Figura 11a) é típico de soluções onde a separação de fases ocorreu. Na Figura 11b pode ser visualizado a formação de partículas de etilcelulose na superfície do floco deste polímero.

As amostras EC3 e EC4 tiveram um comportamento intermediário, pois apesar de não ser observada a completa separação das fases formaram-se flocos de EC no pó obtido. As amostras EC5 e EC6 formaram uma emulsão de aspecto leitoso típico e não foram encontrados flocos de EC, indicando que a quantidade de surfactante foi adequada para as condições de síntese adotadas. Os resultados obtidos indicaram que o teor mínimo de MLPS necessário à formação de emulsão foi de 4% m/m. O teor de 4% m/m de surfactante é a quantidade mínima necessária para formar e estabilizar a emulsão o→w.

Neste experimento pode ser observado o decréscimo no rendimento em função do incremento de MLPS. A curva obtida para os valores de %MLPS entre 3,0 e 5,0% e o seu rendimento apresentou um coeficiente de correlação foi $r^2 = 0,99993$ o que demonstra que a perda de massa de EC durante a síntese está fortemente correlacionada com a concentração do surfactante no meio. Esta perda de material pode estar relacionada a fatores como a eficiência de centrifugação e a interação com a fase aquosa devido a maior presença de surfactante.

3.3 Planejamento experimental 2⁴

Os resultados do planejamento experimental 2⁴ foram avaliados quanto ao rendimento da síntese e a distribuição das partículas. Os resultados são apresentados na Tabela 7. Nesta é apresentado, também, um resumo das características das partículas obtidas no planejamento experimental. O valor N indica a quantidade de partículas contadas nas fotomicrografias obtidas no FEG-MEV. Para avaliar quantitativamente a morfologia das micropartículas de EC foi utilizado o software ImageJ Versão 1.48v 64bit fornecido pela National Institutes of Health (EUA). Foi determinado o diâmetro das micropartículas pela relação entre a

quantidade de pixels e a barra de escala fornecida na fotomicrografia obtida por microscopia eletrônica de varredura.

Tabela 7. Rendimento e distribuição de partículas de EC obtidas no experimento fatorial 2⁴.

Amostra	%Rend	N_{total}	d_{médio} (μm)	dp
PE-1	73,99	1.511	0,65	0,43
PE-2	79,45	1.381	0,50	0,43
PE-3	10,07	1.320	0,58	0,55
PE-4	43,12	2.156	1,15	1,38
PE-5	64,82	1.489	0,27	0,08
PE-6	85,83	1.590	0,42	0,24
PE-7	49,44	1.916	0,34	0,14
PE-8	69,28	2.084	0,52	0,28
PE-9	70,28	1.218	0,52	0,31
PE-10	80,32	1.100	0,98	0,96
PE-11	20,58	1.778	0,39	0,19
PE-12	44,62	1.171	1,64	1,86
PE-13	79,78	1.272	0,47	0,28
PE-14	96,59	1.229	0,26	0,13
PE-15	58,14	1.340	0,34	0,20
PE-16	74,01	1.302	0,37	0,22

N_{total} = Quantidade de partículas contadas nas imagens FEG-MEV

d_{médio} = diâmetro médio das partículas

dp = Desvio padrão do diâmetro das partículas

O rendimento percentual foi calculado a partir da massa final obtidas para os 16 experimentos do planejamento experimental em comparação com massa inicial de EC utilizada. Houve uma ampla variação nos valores de rendimento entre os experimentos, com variação entre 10,07% (PE-03) e 96,59% (PE-14).

O aumento da concentração de MLPS na síntese possibilita que sejam obtidas partículas menores e maior estabilidade da suspensão. Assim, conseqüentemente a uma maior dificuldade de recuperação destas partículas e baixo rendimento de síntese. Na contramão deste, o aumento da massa de EC utilizada na síntese reduz o efeito da perda de partículas no processo de síntese e centrifugação.

Para avaliar a influência dos parâmetros experimentais utilizados na síntese sobre o percentual de rendimento foram calculados os seus efeitos e interações, sendo os dados obtidos apresentados na Tabela 8.

Tabela 8. Efeitos e interações dos parâmetros de síntese sobre o rendimento percentual das micropartículas de EC.

Parâmetros	Descrição	Efeito
A	Concentração de EC	+18,26
B	Concentração de MLPS	-32,73
C	Velocidade de homogeneização	+19,43
D	Tempo de homogeneização	+6,04
AB	Interações de 2ª ordem	+4,94
AC		+0,12
AD		-1,57
BC		+13,69
BD		+0,32
CD		+3,75
ABC		-5,46
ABD	Interações de 3ª ordem	-1,67
ACD		-0,47
BCD		-3,39
ABCD	Interações de 4ª ordem	+1,73

Os rendimentos das micropartículas de EC mostraram alta dependência dos parâmetros avaliados, principalmente quanto ao teor de MLPS cujo efeito calculado foi de -32,73. Este efeito indica que o aumento na quantidade de surfactante na solução está consistentemente relacionado à redução do rendimento da síntese.

Por outro lado, os resultados indicaram ainda que um acréscimo independente (1ª ordem) na concentração de EC e velocidade de homogeneização conduziram a um melhor rendimento na síntese. O surfactante é responsável pela redução da tensão superficial durante a síntese, o que tem como efeito direto a obtenção de partículas menores, que estabilizadas pelo excesso de MLPS oferecem maior resistência à separação por centrifugação e facilita a perda por lavagem com água.

Uma importante interação foi observada entre o teor de surfactante e a velocidade de homogeneização (+13,69), o que indica que a combinação de ambos os parâmetros resultam num aumento do rendimento. O surfactante diminui a tensão

superficial da emulsão o→w e em quantidade adequada favorece a formação de emulsão em equilíbrio cinético aumentando o rendimento da síntese.

Como esperado, as interações de terceira e quarta ordem foram insignificantes e foram utilizadas para calcular o erro estimado de 3,04% para as observações dos efeitos. O estudo dessas interações é importante quando há a possibilidade de aplicação em escalas maiores de produção, pois fornece informações experimentais sobre as tendências no processo de síntese.

Os valores do diâmetro médio das partículas variaram entre $1,64 \pm 1,86 \mu\text{m}$ para a amostra PE-12 (Figura 12) e $0,26 \pm 0,13 \mu\text{m}$ para a amostra PE-14 (Figura 13). Observa-se por estas fotomicrografias que houve considerável diferença entre as amostras, sendo a heterogeneidade do material obtido no experimento PE-12 não permite discernir claramente a morfologia das partículas. A amostra PE-14 apresenta melhor distribuição e morfologia quando comparada contra a amostra PE-12 e apresentam-se como unidades individuais e distinguíveis entre si.

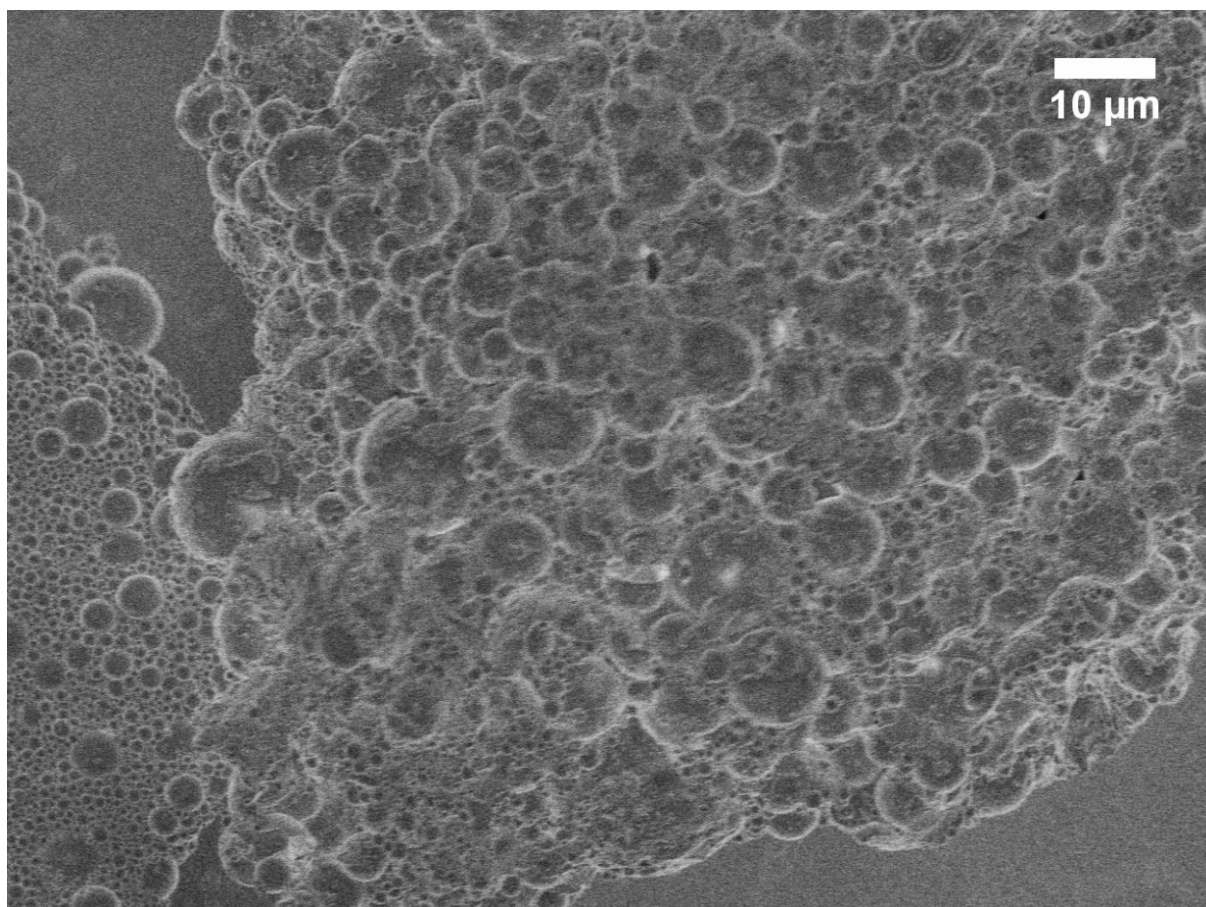


Figura 12. Fotomicrografia de micropartículas de EC da amostra PE-12 do experimento fatorial 2^4 .

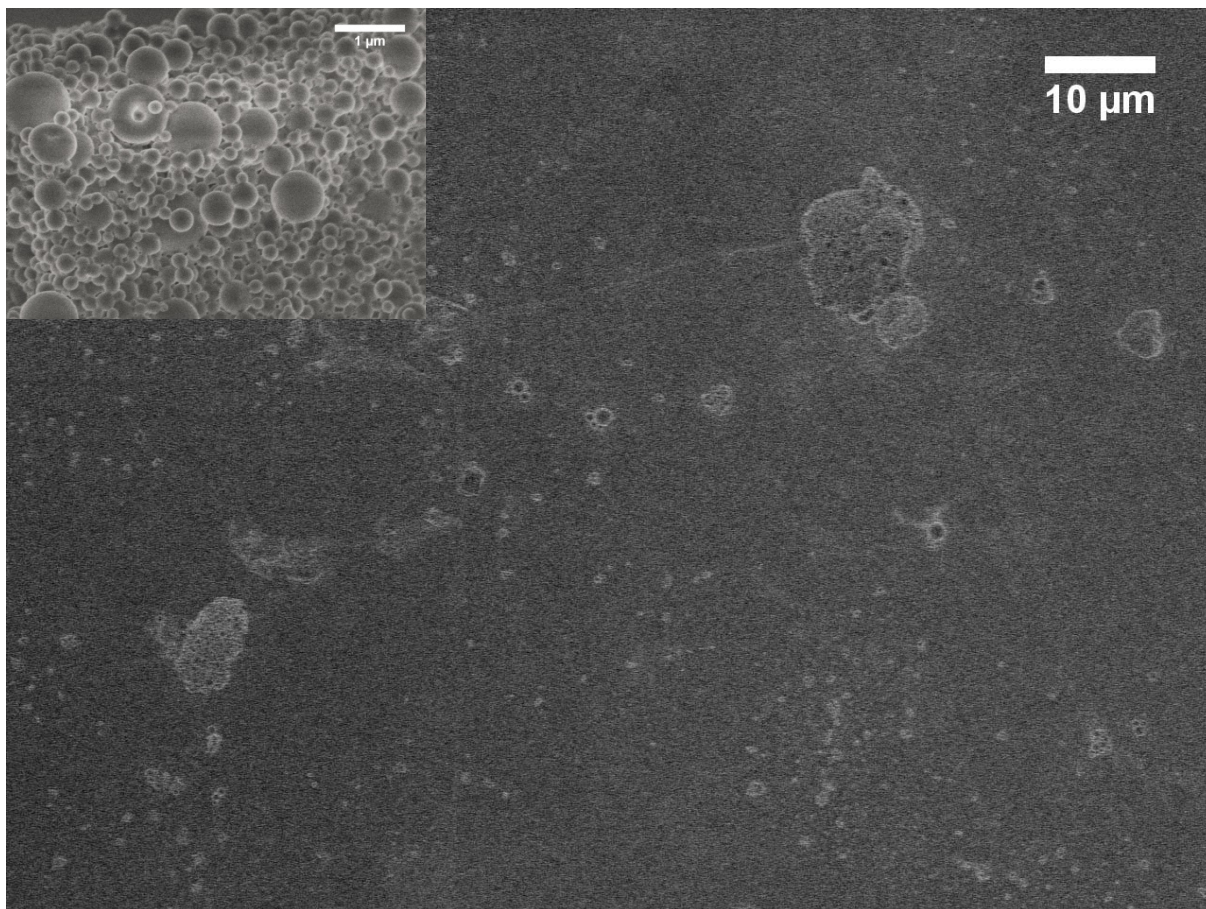


Figura 13. Fotomicrografia de micropartículas de EC da amostra PE-14 do experimento fatorial 2^4 em duas escalas diferentes.

No Apêndice 1 são apresentadas as fotomicrografias obtidas no planejamento experimental 2^4 . As imagens revelam a variabilidade morfológica das amostras devido à variação da concentração de EC, MLPS, velocidade de homogeneização e tempo de homogeneização. A amostra PE-12 foi a que apresentou a maior heterogeneidade e partículas rompidas.

As partículas de EC seguem a distribuição lognormal conforme exemplificada pela amostra PE-1 (Figura 14). A maior quantidade de partículas concentra-se em torno de 0,45-0,50 μm (moda), sendo a média da distribuição $0,65 \pm 0,43 \mu\text{m}$. Na Figura 15 pode ser observada que a distribuição percentual das partículas da amostra PE-1 concentra-se entre os diâmetros 0,25 e 1,25 μm , com um total de aproximadamente 95% das partículas.

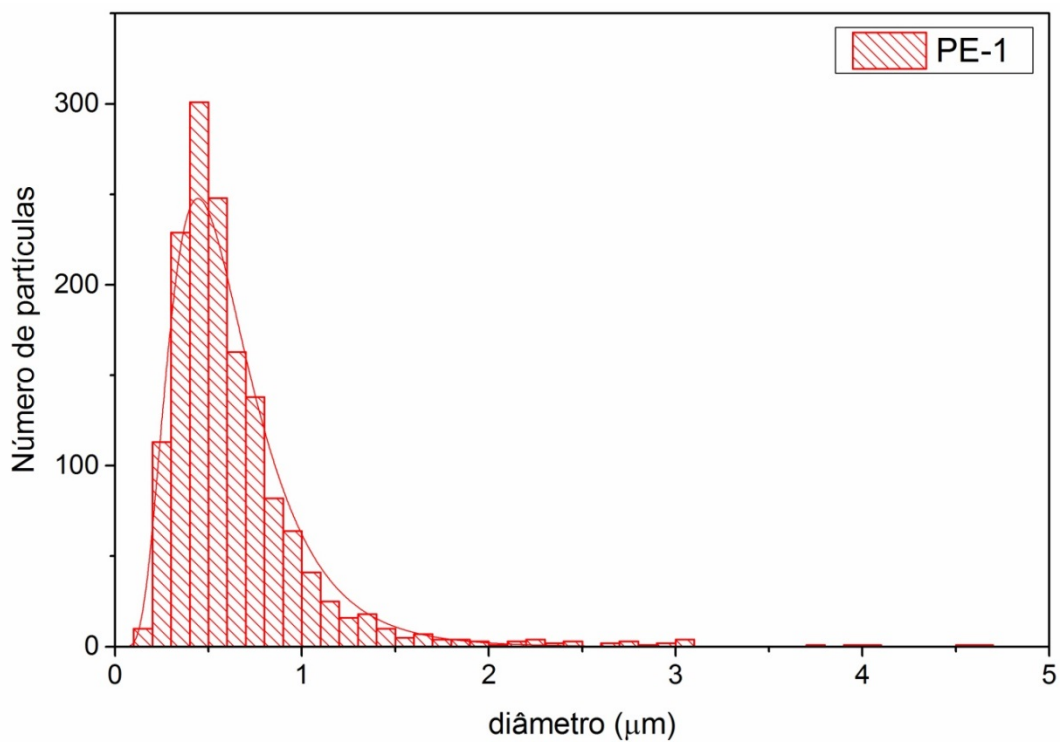


Figura 14. Distribuição das partículas de EC da amostra PE-1 em função do diâmetro e número de partículas.

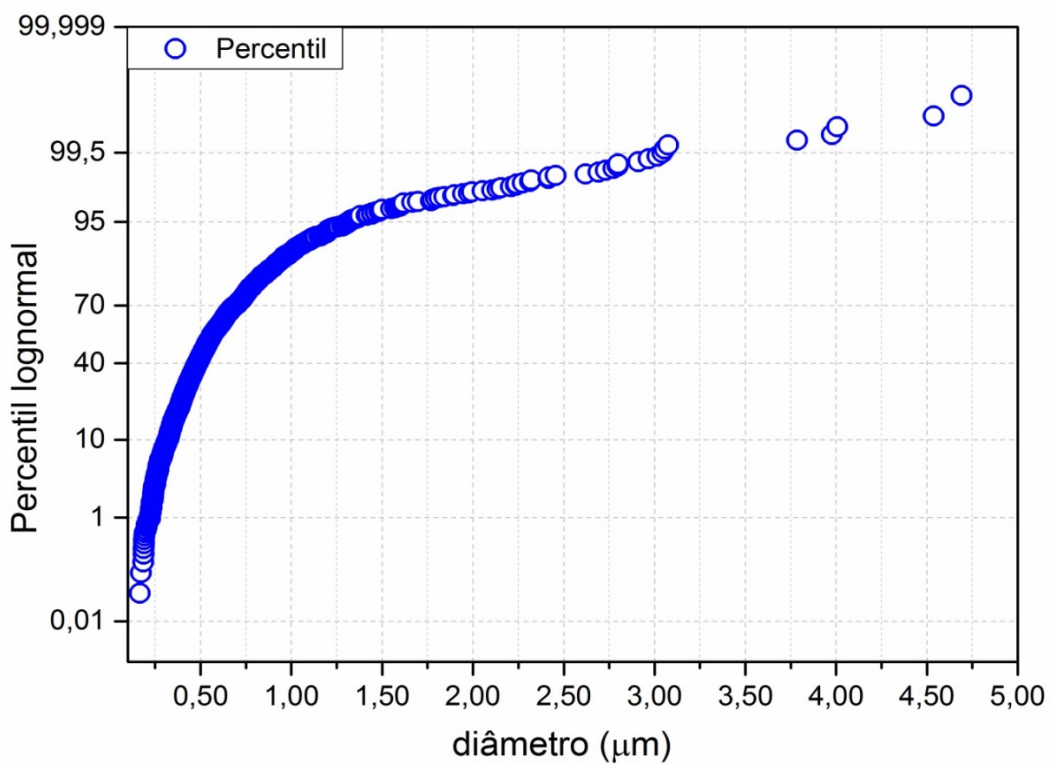


Figura 15. Distribuição das partículas de EC da amostra PE-1 em função do diâmetro e número de partículas.

Foram calculados os efeitos dos parâmetros de síntese e a interação destes sobre a morfologia das amostras descritas neste e os resultados são apresentados na Tabela 9. Os efeitos foram calculados a partir dos diâmetros médios das partículas obtidas no planejamento experimental. Um valor positivo indica que o parâmetro ou interação entre parâmetros resultam num aumento do diâmetro das partículas. No caso de valores negativos do efeito, entende-se que o parâmetro ou interação dos parâmetros avaliados conduzem à redução do diâmetro das partículas.

Tabela 9. Efeitos e interações dos parâmetros de síntese sobre o diâmetro médio ($d_{\text{médio}}$) das micropartículas de EC obtidas no planejamento experimental 2⁴.

Parâmetros	Descrição	Efeito
A	Concentração de EC	+0,28
B	Concentração de MLPS	+0,16
C	Velocidade de homogeneização	-0,43
D	Tempo de homogeneização	+0,07
AB	Interações de 2 ^a ordem	+0,22
AC		-0,25
AD		+0,09
BC		-0,12
BD		-0,03
CD		-0,09
ABC	Interações de 3 ^a ordem	-0,15
ABD		+0,03
ACD		-0,02
BCD		-0,02
ABCD	Interações de 4 ^a ordem	+0,02

A análise dos efeitos obtidos permite concluir que a velocidade de homogeneização (-0,43) tem efeito predominante sobre os outros parâmetros e interações estudados. O aumento da velocidade de homogeneização resultará na redução do tamanho das partículas.

Para a concentração e EC e MLPS os efeitos indicam que um aumento isolado resultará no aumento do tamanho das partículas. Das interações entre os parâmetros estudados a mais importante foi observada entre a concentração de EC e MLPS (BC = -0,12), indicando que o diâmetro das partículas tende a serem menores quando o experimento equacionar corretamente a concentração destes parâmetros.

A partir dos dados obtidos com a distribuição de partículas, das análises das imagens obtidas pelo FEG-MEV, das observações experimentais durante a síntese como a presença de flocos, o formato das partículas e fácil manuseio da amostra, o procedimento experimental para a síntese da amostra PE-7 foi inicialmente escolhido para ser utilizada como referência para a encapsulação do biocida tebuconazole.

A amostra PE-7 apresentou uma distribuição de diâmetro de partículas (Figura 16), onde 80% destas estão com diâmetro entre 0,1 e 0,5 μm aproximadamente. A média do diâmetro das partículas de EC foi $0,34 \pm 0,14 \mu\text{m}$ considerando-se o universo de 1916 partículas contadas em imagens de microscopia eletrônica por varredura.

Utilizando-se os diâmetros obtidos por microscopia eletrônica foi calculado o volume ocupado pelas micropartículas da amostra PE-7, sendo o volume expresso em percentual (%vol.) conforme apresentado na Figura 17.

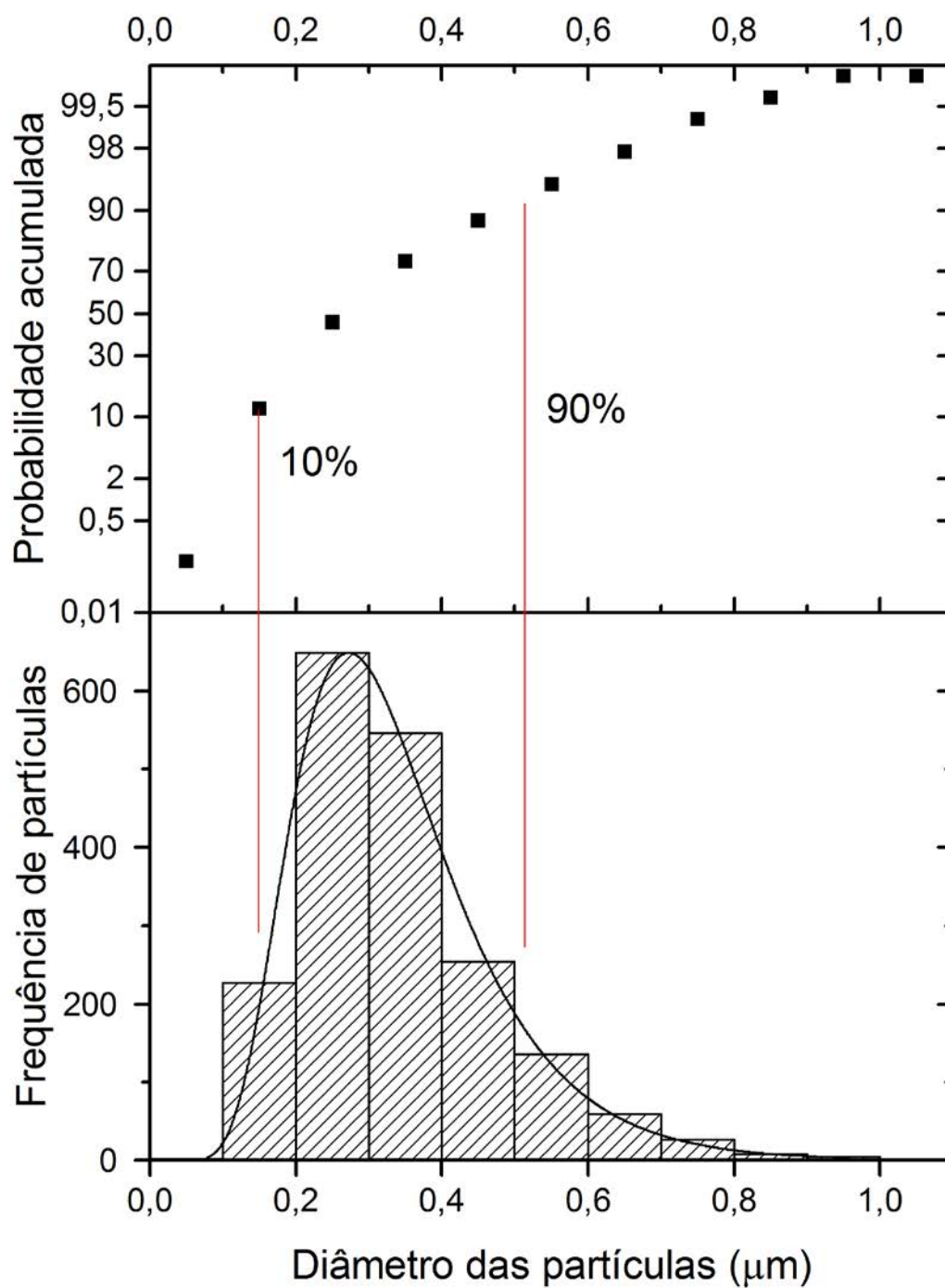


Figura 16. Distribuição das partículas de EC da amostra PE-7 em função do diâmetro, número de partículas e probabilidade acumulada da distribuição.

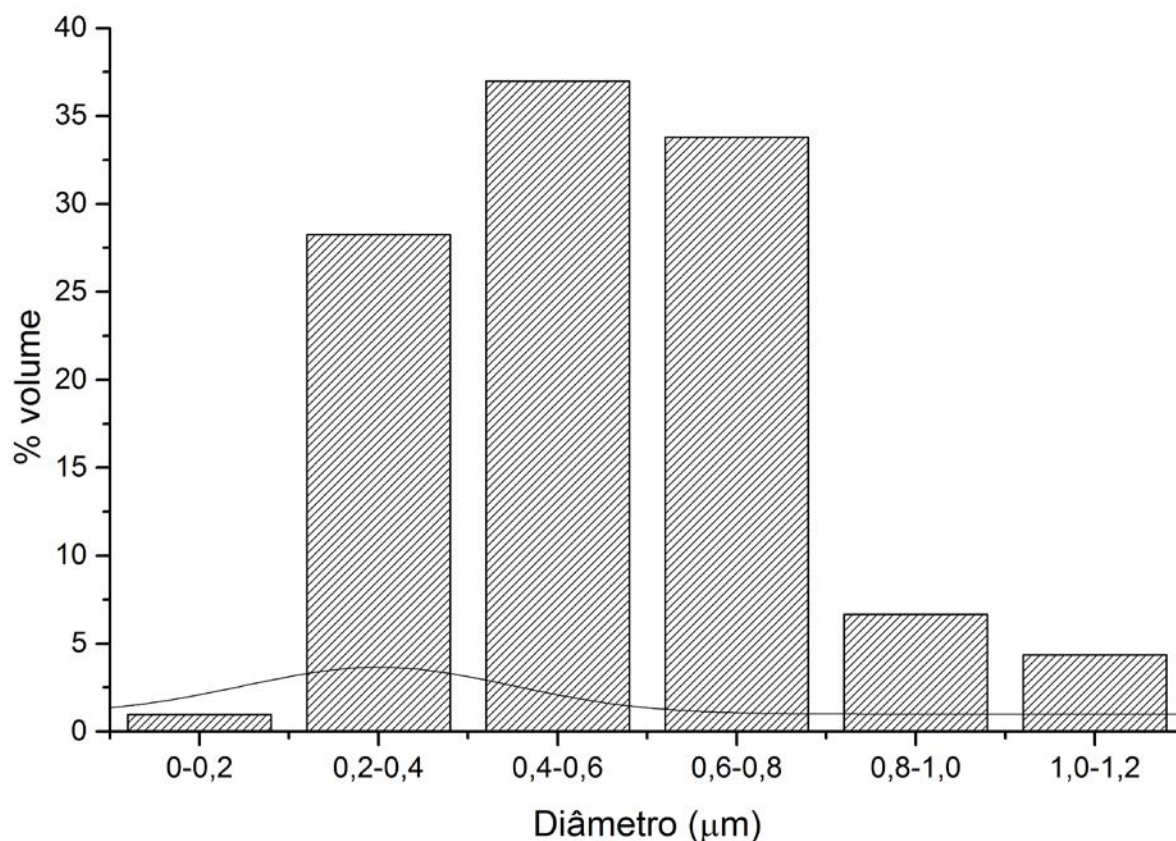


Figura 17. Distribuição volumétrica das partículas de EC da amostra PE-7.

As partículas de EC na amostra PE-7 mostraram distribuição volumétrica dispersa entre os diâmetros entre 0,2 μm e 0,8 μm , os quais foram predominantes na composição total da amostra. Os baixos valores de %vol para os diâmetros acima de 0,8 μm indicam que as partículas desta faixa de diâmetro representam uma pequena fração numérica na amostra. Apenas 14 partículas de um universo de 1916 teve diâmetro superior a 0,8 μm , no entanto, estas representam em 11,04% do volume total da amostra.

Porém, o baixo rendimento (49,44%) de síntese observada para as condições experimentais para PE-7 é um fator limitante, pois a baixa massa recuperada dificulta a caracterização e/ou futuras aplicações desta. Por este motivo, foi escolhida também a condição experimental referente ao planejamento experimental PE-14, que além de boa distribuição, apresentou elevado rendimento na síntese (96,59%).

Na Figura 18 observa-se a boa distribuição das partículas da amostra PE-14, sendo que 90% das partículas encontram-se na estreita faixa de 0,2 a 0,35 μm .

Devido ao fato desta amostra apresentar a melhor distribuição e o maior rendimento de síntese esta amostra foi escolhida para ser a matriz experimental da encapsulação do tebuconazole.

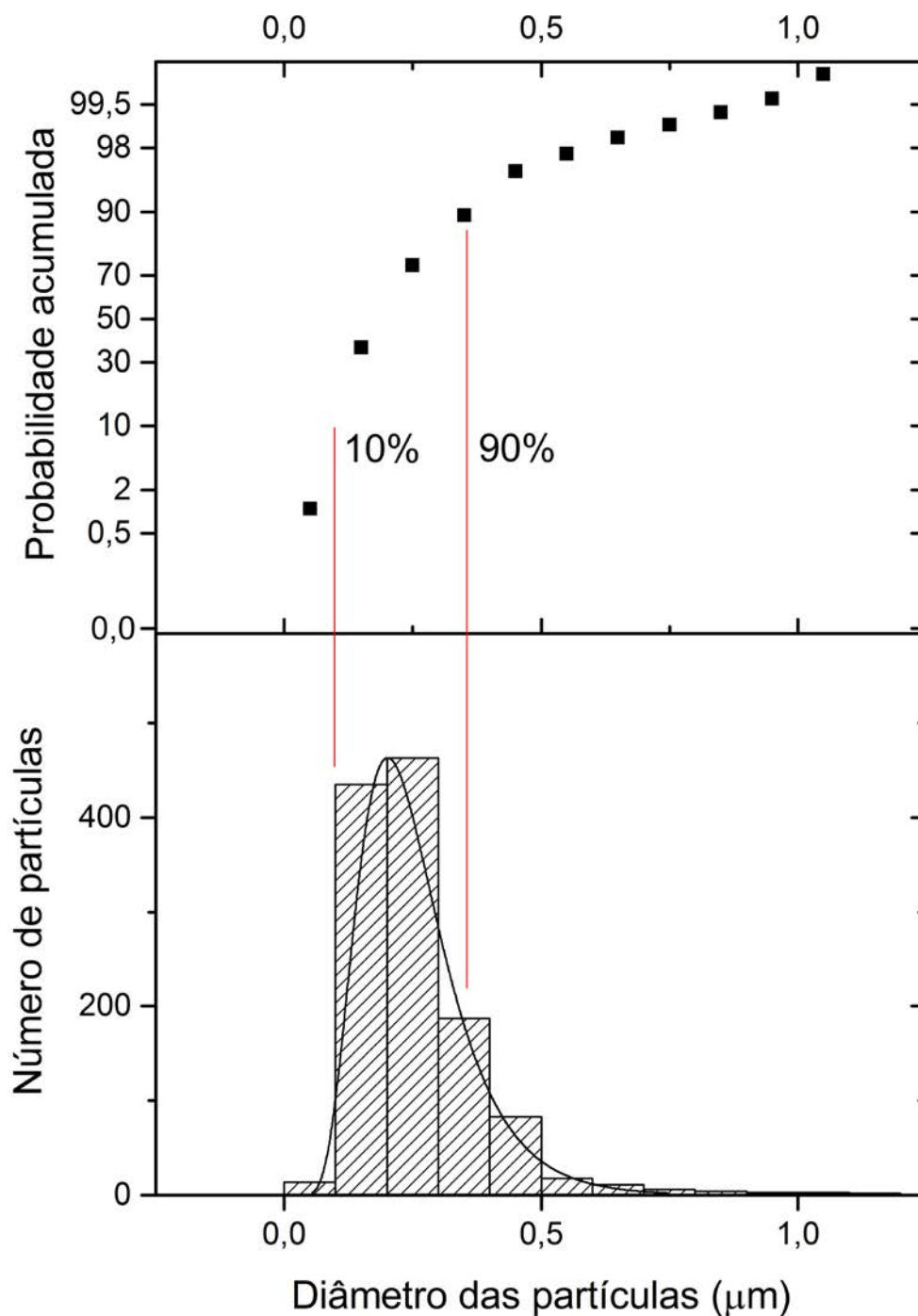


Figura 18. Distribuição das partículas de EC da amostra PE-14 em função do diâmetro, número de partículas e probabilidade acumulada da distribuição.

3.4 Quantificação do TBZ

Para determinar a quantidade de TBZ nas amostras estudadas foi desenvolvido um método cromatográfico via CG-MS cujo cromatograma típico é mostrado na Figura 19. Neste cromatograma são apresentados dois picos cromatográficos que indicam a presença do (a) fenantreno, o padrão interno utilizado na quantificação e o (b) TBZ, o composto a ser quantificado nas amostras. Os picos cromatográficos se apresentam bem definidos a duração total de análise é de 18 minutos.

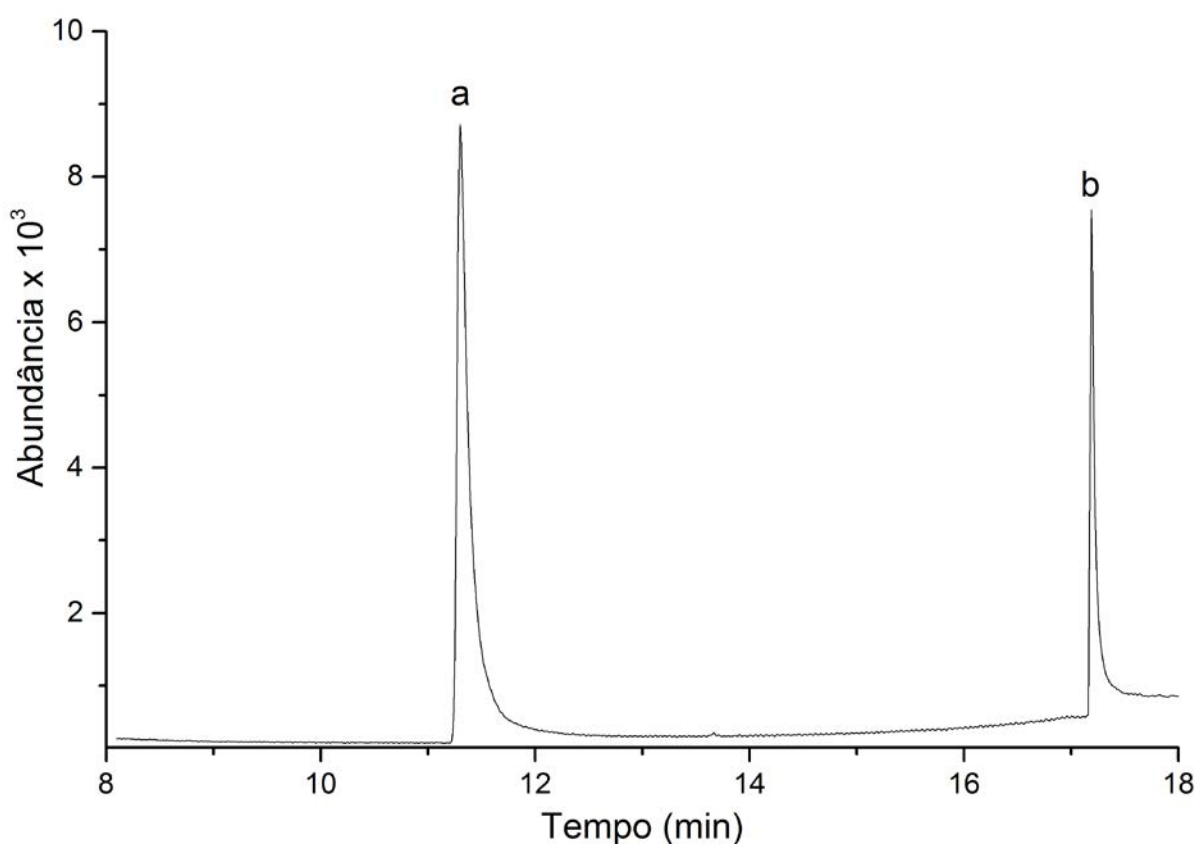


Figura 19. Cromatograma obtido por CG-MS para o (a) padrão interno fenantreno ($t_r=11,303$ min.) e (b) o fungicida TBZ ($t_r=17,191$ min.). A concentração do TBZ é de $0,25 \mu\text{g.mL}^{-1}$.

Para quantificar o TBZ nas amostras das partículas foram construídas duas curvas analíticas, uma de menor concentração (curva inferior) e outra de maior concentração (curva superior). Os gráficos obtidos e os respectivos dados da regressão linear são apresentados na Figura 20 e Figura 21. A padronização externa

foi obtida quando os padrões analíticos não passaram pelo processo de extração via DLLME.

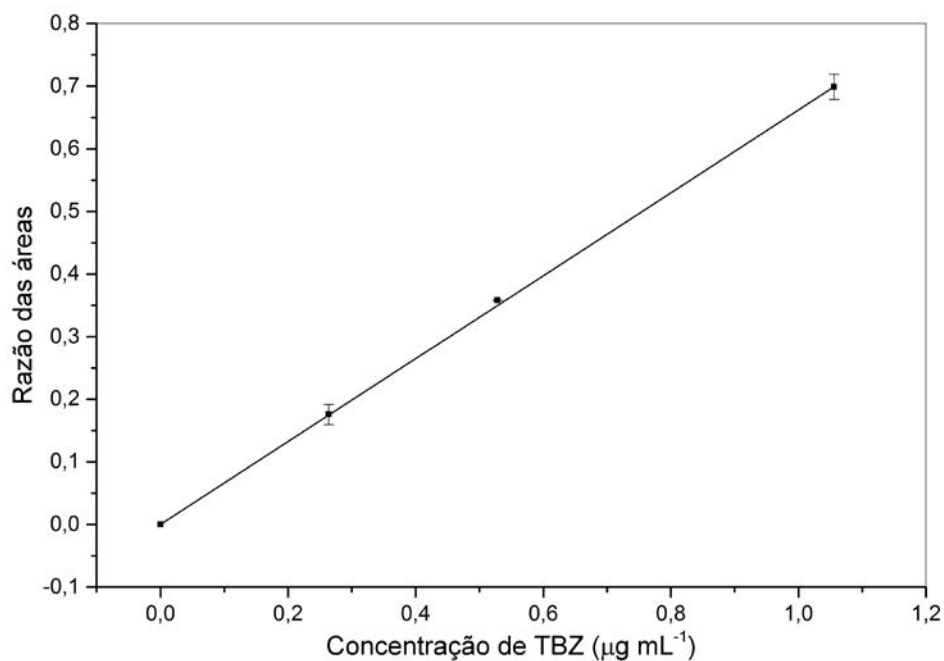


Figura 20. Curva analítica inferior do TBZ obtido por CG-MS. O eixo y é descrito como a razão da área sob o pico cromatográfico do TBZ sobre a área obtida para o padrão interno. ($y = 0,66203x$, $r^2 = 0,99999$). Padronização externa.

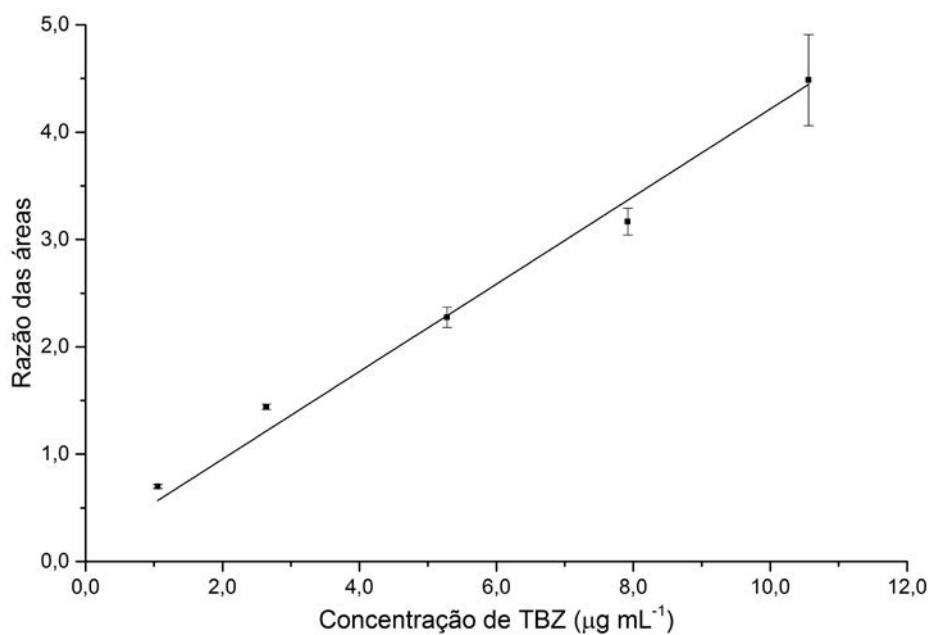


Figura 21. Curva analítica superior do TBZ obtido por CG-EM ($y = 0,40778x + 0,13781$, $r^2 = 0,98768$). Padronização externa.

Para a quantificação do TBZ nas amostras proveniente dos experimentos de encapsulação para as condições PE-14 foi utilizado o método de extração DLLME, conforme já previamente mencionado. A curva analítica utilizada neste método encontra-se na Figura 22

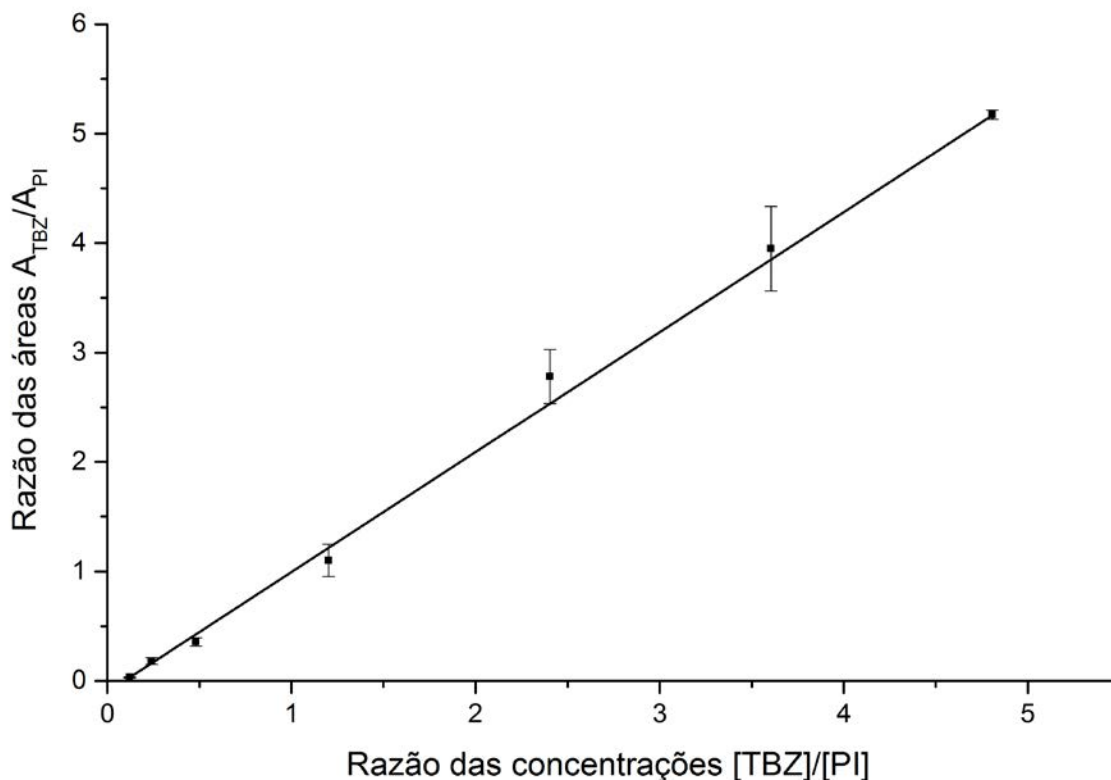


Figura 22. Curva analítica superior do TBZ obtido por CG-EM ($y = 1,09625x - 0,1024$, $r^2 = 0,99981$). Método DLME.

3.5 Encapsulação do TBZ (Matriz PE-07)

Para avaliar a encapsulação do TBZ e ajustar os parâmetros experimentais foram sintetizadas três amostras e os resultados se encontram na Tabela 10. Neste experimento, devido à necessidade de acrescentar o TBZ foi utilizado aproximadamente 1,0 g da solução de TBZ $3,62\% \pm 0,02$ e 2,0 g de uma solução de EC de concentração 8% (m/m). Com este arranjo foi mantida as variáveis de síntese para a amostra PE-7, descrito anteriormente. A concentração real de EC na solução a ser utilizada no procedimento experimental foi determinada por gravimetria antes

de cada síntese e, neste experimento foi encontrado o valor de $93,73 \text{ mg.g}^{-1}$. A capacidade de carga e a eficiência de encapsulação (%encap.) foram calculadas de acordo com o trabalho descrito por Pelczarska *et al.* (2013).

Tabela 10. Dados experimentais da síntese de micropartículas de EC e encapsulação do TBZ.

Amostra	m_{ec} 8% (g)	m_{sol.} TBZ (g)	%Rend	%encap.
Br partic.	2,0035	-	45,5	-
MPT1	2,0095	0,9935	50,2	26,8
MPT2	2,0147	1,0187	57,0	27,5

m_{ec}=massa (g) de etilcelulose; m_{sol}= massa da solução de tebuconazole 3,62%

Os rendimentos obtidos da síntese apresentaram valores semelhantes daquele observado no planejamento experimental (49,44%). O percentual de TBZ encapsulado foi de 26,81% para a amostra MPT1 e 27,5% para a MPT2 sendo que a capacidade de carga média de TBZ nas partículas foi de 4,4% m/m. Esta carga indica a quantidade de TBZ por unidade massa do produto final obtido.

Alguns fatores podem ter contribuído para que esse percentual de encapsulação não apresentasse valores superiores, dentre os quais o aumento da solubilidade do TBZ em água devido à formação de emulsão TBZ-MLPS. Há, portanto, a necessidade de avaliar a água do processo de síntese para confirmar a hipótese levantada.

3.6 Estudos com a Matriz PE-14

3.6.1 Encapsulação do TBZ

Na Figura 23 são apresentadas as fotomicrografias das características típicas das amostras sintetizadas na presença de concentrações crescentes de TBZ. Maior homogeneidade foi obtida para as amostras *b* e *c*, sendo que a amostra *b* apresentou partículas cujas superfícies mostram rugosidades.

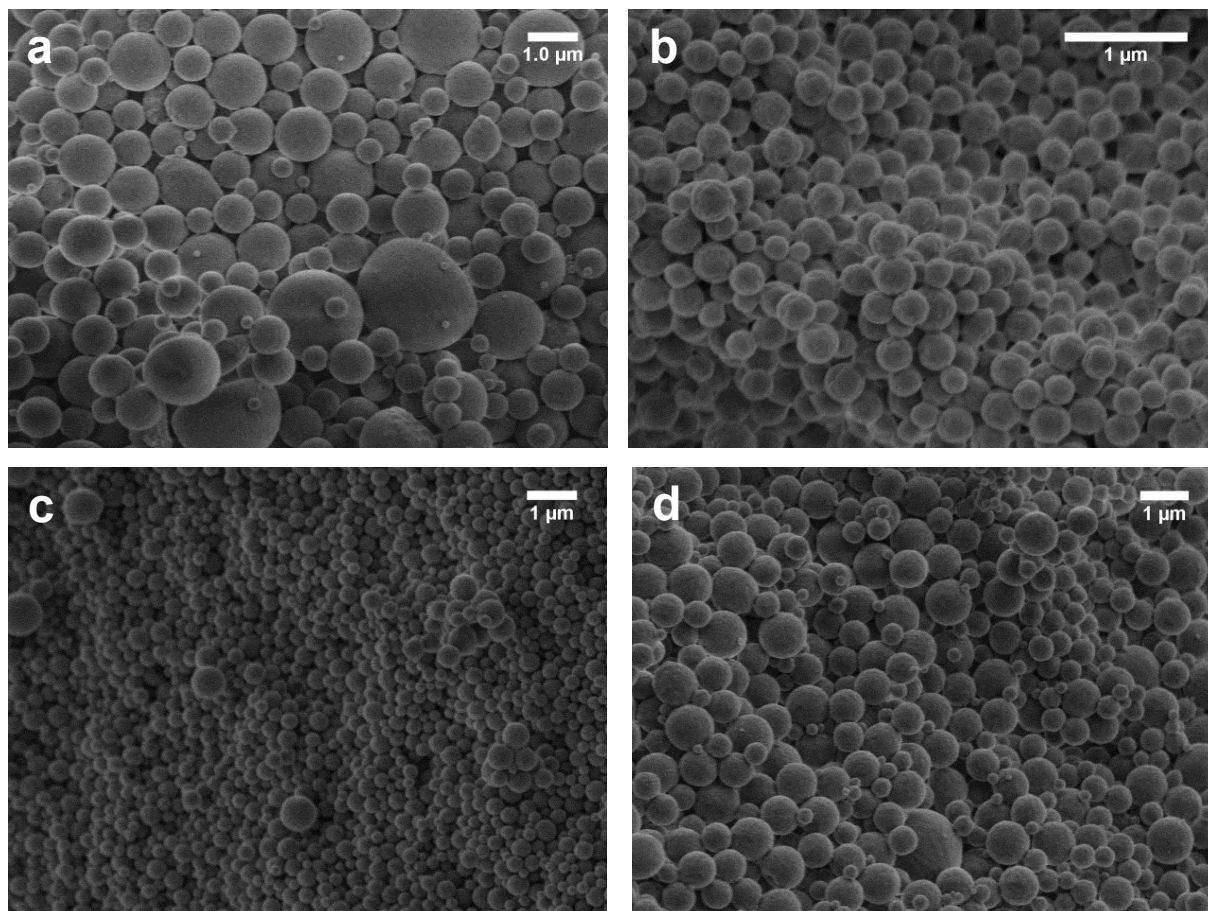


Figura 23. Micrografias das amostras submetidas a (a) 25 mg (b) 50 mg (c) 100 mg e (d) 200 mg de TBZ.

Pela análise da Figura 24 observa-se que a presença do TBZ no meio reacional alterou significativamente a distribuição e morfologia das micropartículas de etilcelulose, sendo observado que a amostra (b) apresentou a melhor distribuição e menor tamanho de partículas com diâmetro de $0,21 (\pm 0,078) \mu\text{m}$. A formação das partículas de etilcelulose via inversão de fase está primariamente relacionada à razão entre a quantidade de polímero e surfactante presente no meio reacional e da velocidade de homogeneização a que o sistema é submetido.

A adição de TBZ neste meio perturba o sistema e como efeitos foram observadas modificações significativas nas características morfológicas de distribuição destas partículas. É provável que uma interação molecular do TBZ com o polímero tenha sido o responsável pelos resultados observados.

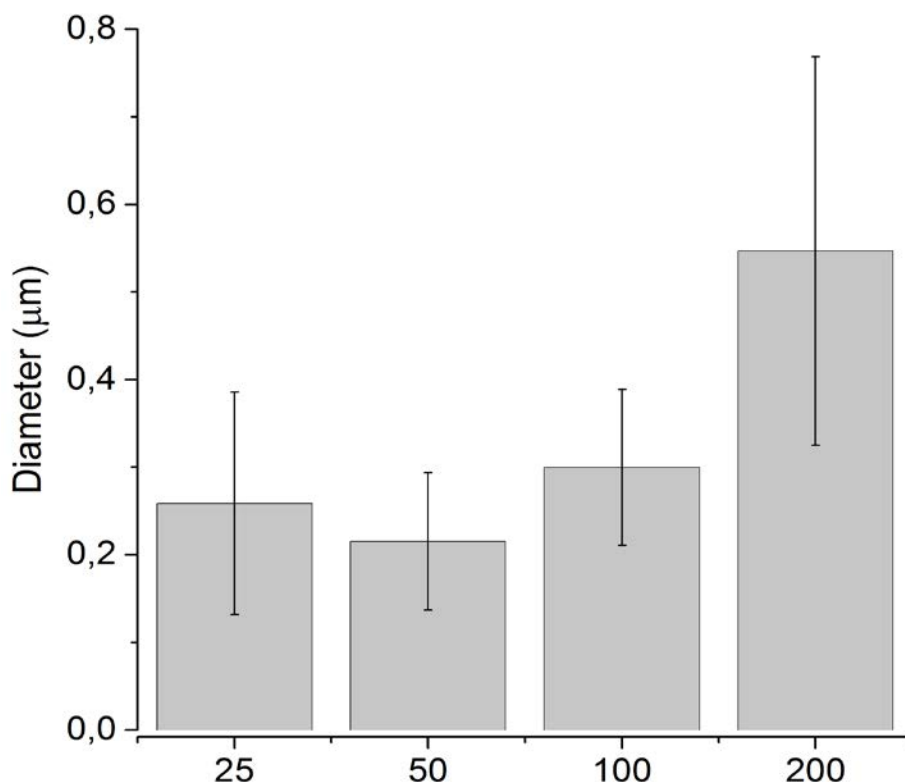


Figura 24. Distribuição das micropartículas de etilcelulose contendo (a) 25 mg (b) 50 (c) 100 e (d) 200 mg de TBZ.

3.6.2 Eficiência de encapsulação do TBZ

O cálculo da eficiência de encapsulação (%EE) realizado conforme descrito por Asrar *et al.* (2004), onde $\%EE = 100 - \%REA$, sendo %REA a proporção de biocida prontamente extraível das micropartículas de etilcelulose. Na Tabela 11 são apresentados os valores da eficiência de encapsulação (%EE) em termos percentuais para as amostras sintetizadas na presença de diferentes massas de TBZ (25, 50, 100 e 200 mg).

A eficiência de encapsulação variou entre 45,5 e 76,0% e pode-se observar que esta decresce com o aumento da quantidade de TBZ utilizada na síntese. Este comportamento deve-se à saturação da capacidade do polímero em reter o biocida, sendo que uma vez alcançado o limite (saturação) o polímero libera mais facilmente para o meio aquoso o biocida de sua estrutura.

Tabela 11. Eficiência de encapsulação (%EE) do TBZ pelas partículas de etilcelulose com o aumento da concentração do biocida.

Amostra	%EE
EEC25	76,0 ($\pm 4,9$)
EEC50	69,6 ($\pm 4,0$)
EEC100	60,6 ($\pm 2,3$)
EEC200	45,5 ($\pm 1,1$)

Na Figura 25 a %EE é apresentada de forma gráfica e pode-se facilmente observar o comportamento polinomial dos dados. Por correlação polinomial foi encontrado a equação que descreve o comportamento dos dados, sendo $y = -2,175x^2 + 0,825x + 77,175$ ($r^2 = 0,9988$).

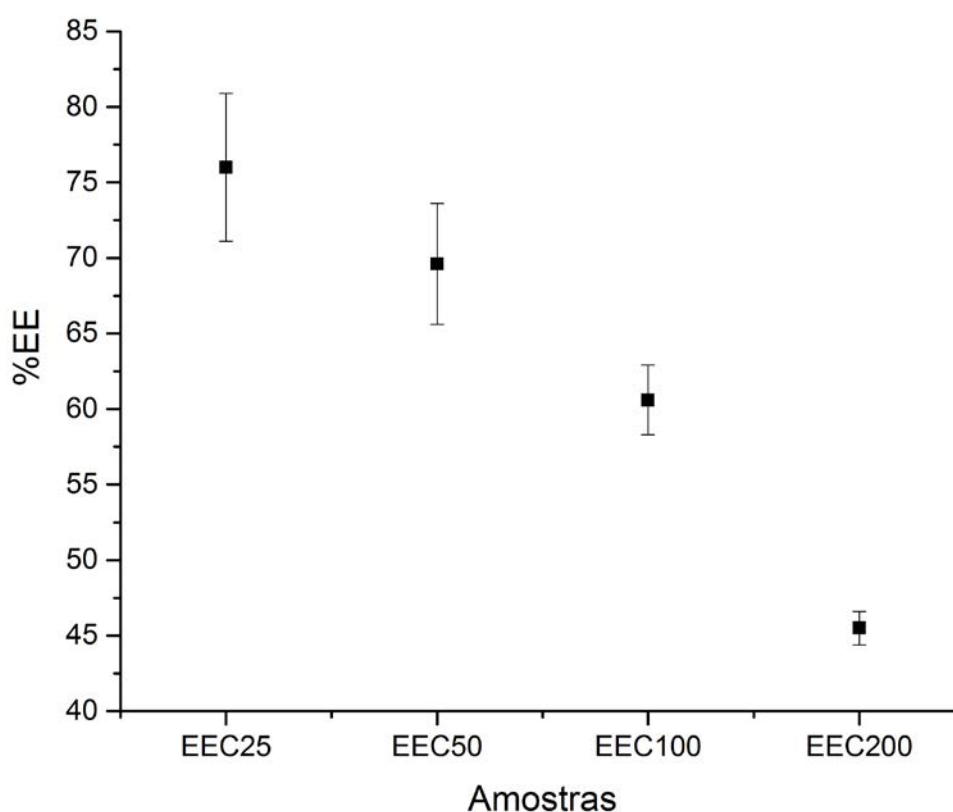


Figura 25. Eficiência de encapsulação para diferentes massas de TBZ (25, 50, 100 e 200 mg).

Com o aumento da quantidade de TBZ ocorre a saturação deste na matriz de etilcelulose e, como consequência, observa-se a redução na eficiência de encapsulação. A variação, em termos de desvio-padrão, da eficiência de

encapsulação foi menor nas amostras como menor eficiência de encapsulação. Esta observação reforça a tese de que houve a saturação da estrutura da micropartícula quanto à presença do TBZ, pois uma vez atingida a quantidade máxima de TBZ na estrutura a variação de massa deste fungicida será mínima.

3.6.3 Testes de liberação in vitro

Os perfis de liberação do TBZ são apresentados na Figura X8. A liberação do TBZ é mais intensa nas micropartículas onde foram utilizadas maiores massas do biocida. Já para as amostras EEC25 e EEC50 foi observado um comportamento semelhante, cuja liberação acumulada até aos 12 dias (288 h) foi inferior a 30%. Este fato pode indicar uma maior interação do TBZ remanescente com a matriz polimérica.

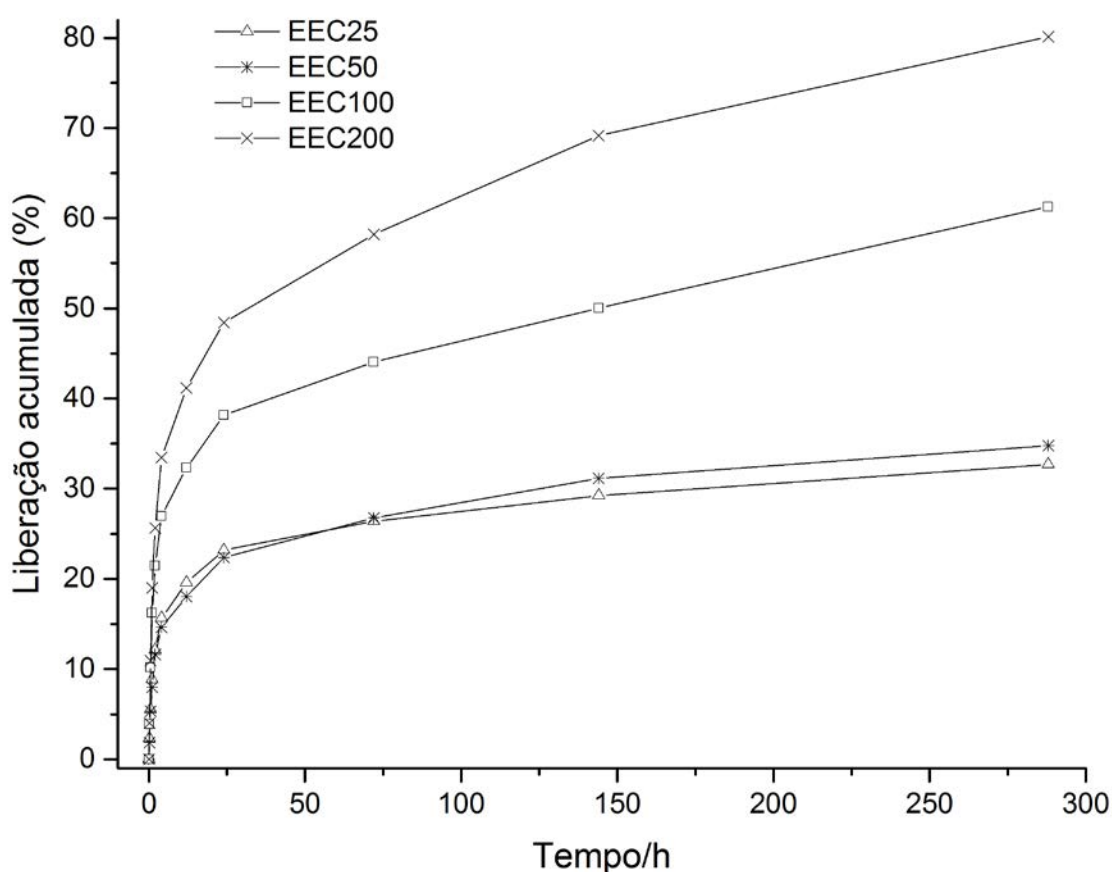


Figura 26. Perfis de liberação do biocida TBZ presentes nas micropartículas de etilcelulose.

As amostras EEC100 e EEC200 alcançaram o limite de concentração em água durante os teste de liberação controlada, sendo observado o valor de

32,7 mg.L⁻¹. Para as amostras EEC25 e EEC50 não foram superiores a 5,0 mg.L⁻¹. Estes dados novamente corroboram com discussão levantada sobre o controle da liberação ser afetada pela interação com o polímero, sendo mais intensamente observada nas partículas com menor quantidade de TBZ.

3.6.4 Cinética para análise da liberação *in vitro*

Foram utilizados os modelos cinéticos de Ordem Zero, Primeira Ordem, Higuchi e Korsmeyer-Peppas para avaliar a liberação controlada do TBZ. O melhor modelo foi escolhido com base no maior valor do coeficiente de determinação (r^2) obtidos quando os dados foram tratados de acordo com os modelos descritos.

Os dados obtidos estão apresentados na Tabela 12. O modelo que obteve o melhor ajuste foi o de Korsmeyer-Peppas cuja média dos valores dos coeficientes de determinação foi 0,8820 ($\pm 0,0052$), ou seja, pode-se dizer que apenas 11,8% da variância da regressão não dependem das variáveis estudadas. Com valores de n inferiores a 0,5 para o modelo de Korsmeyer-Peppas, as amostras mostraram obedecer à difusão clássica ou Fickiana.

Tabela 12. Coeficiente de determinação (r^2) obtidos por diferentes modelos de avaliação cinética da liberação controlada do TBZ a partir partículas de etilcelulose.

Amostras	MODELOS CINÉTICOS DE LIBERAÇÃO			
	Korsmeyer-Peppas	Higuchi	1ª Ordem	Ordem zero
EEC25	0,8807 (n=0,31)	0,7989	0,3476	0,5744
EEC50	0,8894 (n=0,34)	0,855	0,3700	0,6403
EEC100	0,8773 (n=0,31)	0,8471	0,3747	0,6505
EEC200	0,8841 (n=0,35)	0,867	0,3728	0,6648

3.6.5 Caracterização das amostras encapsuladas

A confirmação da presença de TBZ nas micropartículas e a interação deste fungicida com a estrutura polimérica foi realizada com base nos dados obtidos por espectroscopia Raman. Na Figura 27 é apresentado o espectro Raman do fungicida TBZ e foram selecionadas as bandas 1.593,6 cm⁻¹, 1.657,4 cm⁻¹, 1.796,4 cm⁻¹, 1.775,9 cm⁻¹ e 1.776,0 cm⁻¹ para identificar a presença deste nas micropartículas.

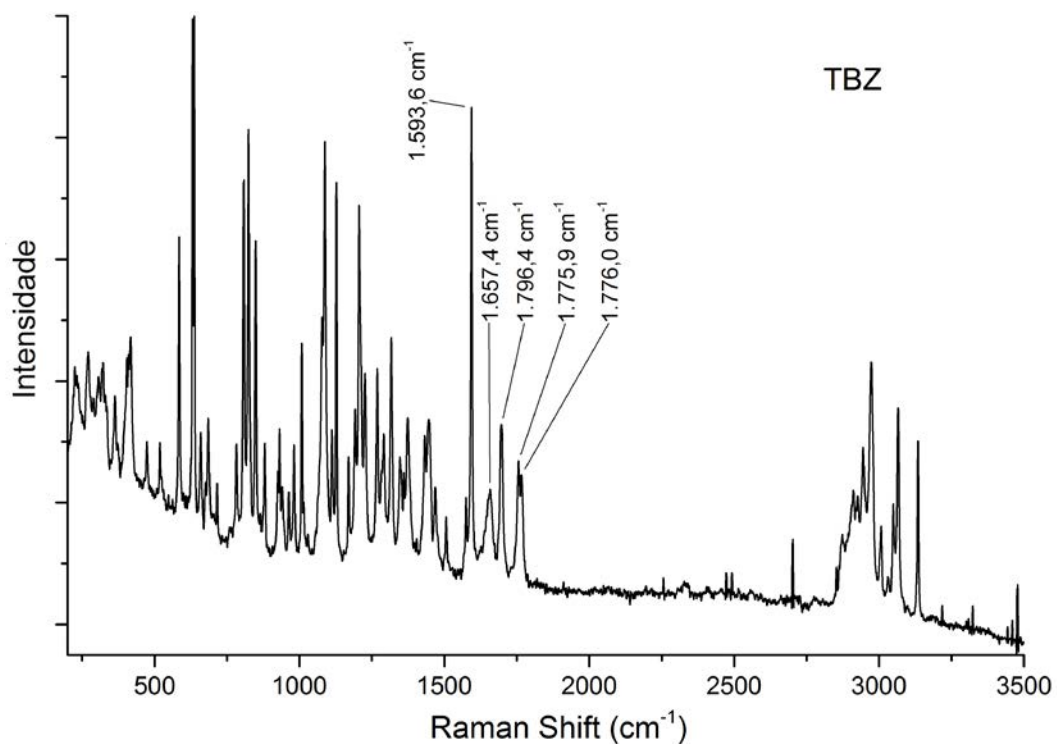


Figura 27. Espectro Raman do fungicida TBZ. Os picos selecionados foram utilizados para caracterizar a presença do TBZ nas amostras encapsuladas.

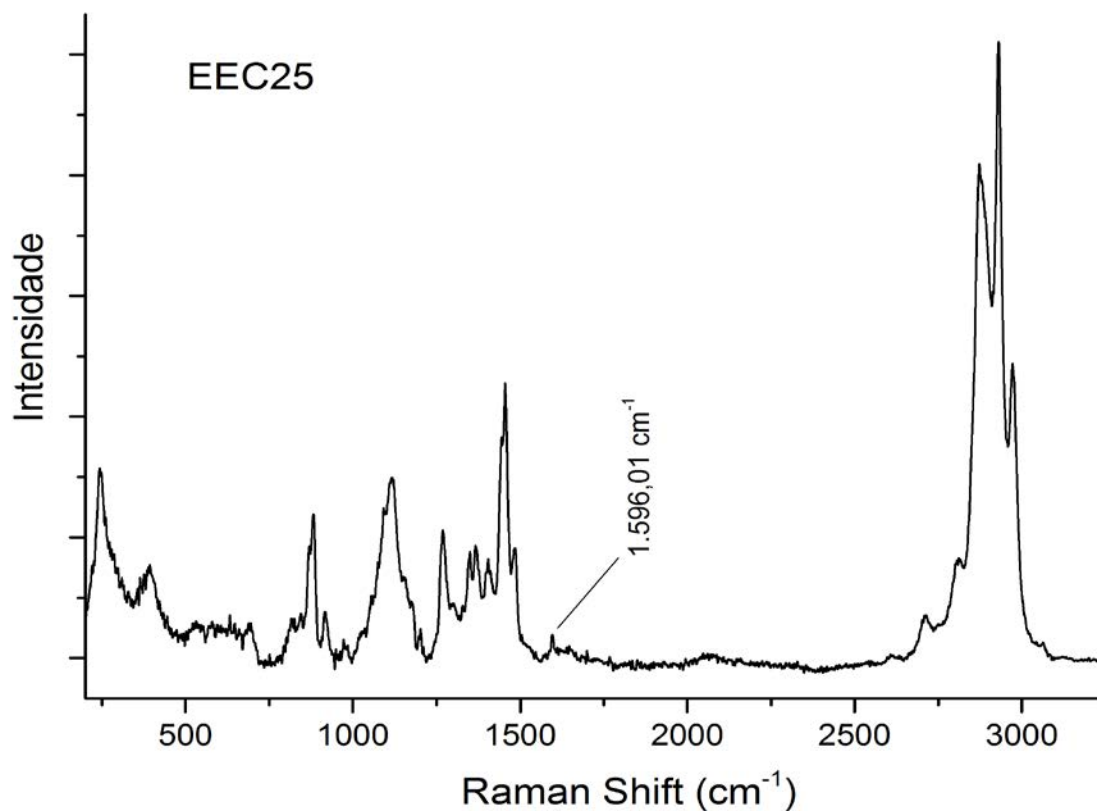


Figura 28. Espectro Raman da amostra encapsulada EEC25 (25 mg de TBZ).

A presença do pico Raman em $1.596,01\text{ cm}^{-1}$ identificado na amostra EEC25 (Figura 28), referente à banda $1.593,6\text{ cm}^{-1}$ do TBZ técnico, indica a presença do fungicida na estrutura das micropartículas. A diferença entre os valores do número de onda (Raman Shift, cm^{-1}) entre a amostra EEC25 e o TBZ indica a interação do fungicida com o polímero da matriz, que ocorre com o deslocamento do pico para uma região de maior energia.

O mesmo comportamento espectral foi observado para a amostra EEC50 (Figura 29) quando comparado com a amostra EEC25, porém o pico em $1.596,46\text{ cm}^{-1}$ apresentou maior intensidade, o que indica que a presença de TBZ na estrutura das micropartículas foi superior. Não foi observada diferença significativa entre os valores de número de onda entre as amostras EEC25 e EEC50, demonstrando que esta faixa de concentração não altera a interação do TBZ com a etilcelulose da matriz.

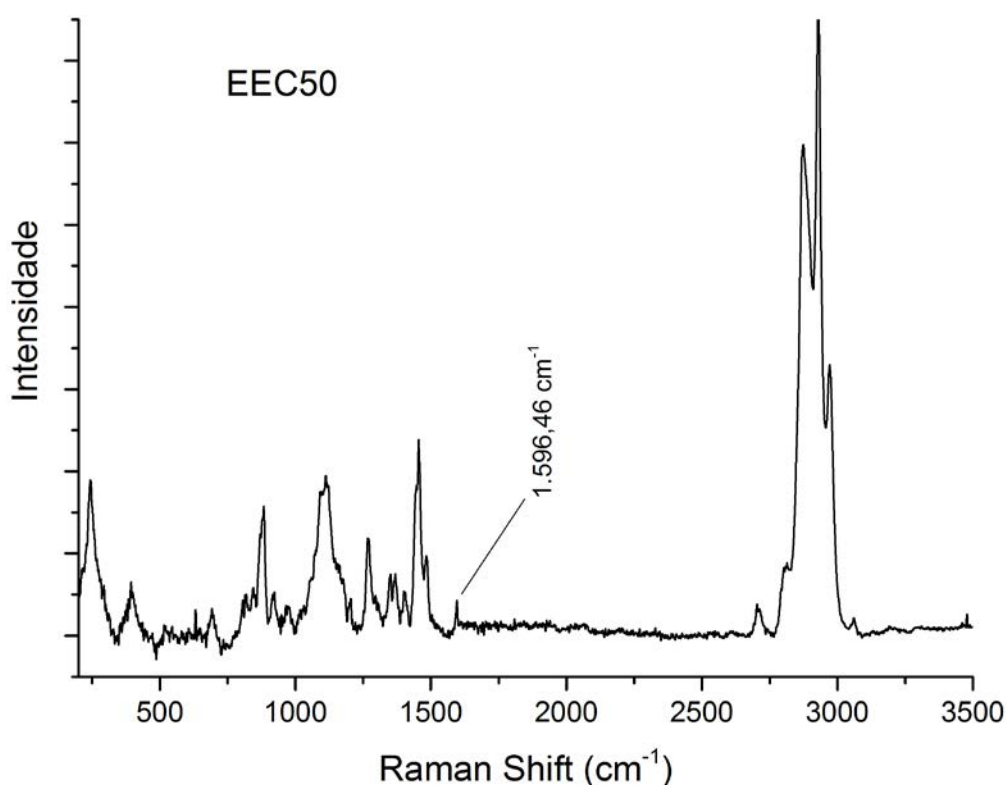


Figura 29. Espectro Raman da amostra encapsulada EEC50 (50 mg de TBZ).

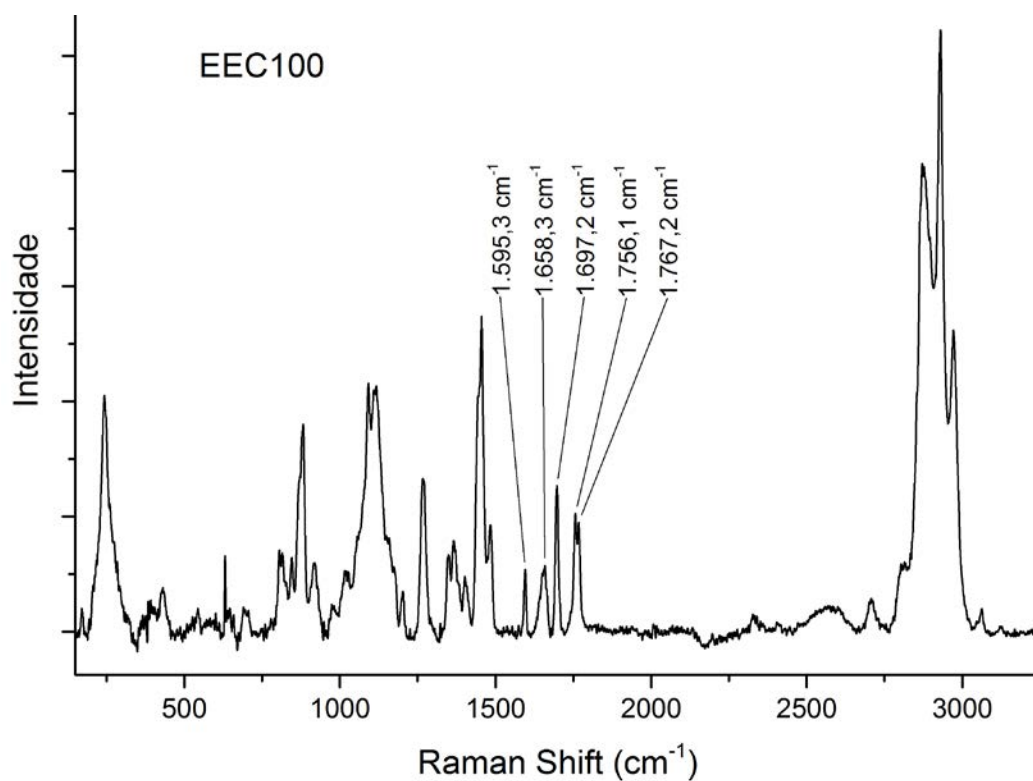


Figura 30. Espectro Raman da amostra encapsulada EEC100 (100 mg de TBZ).

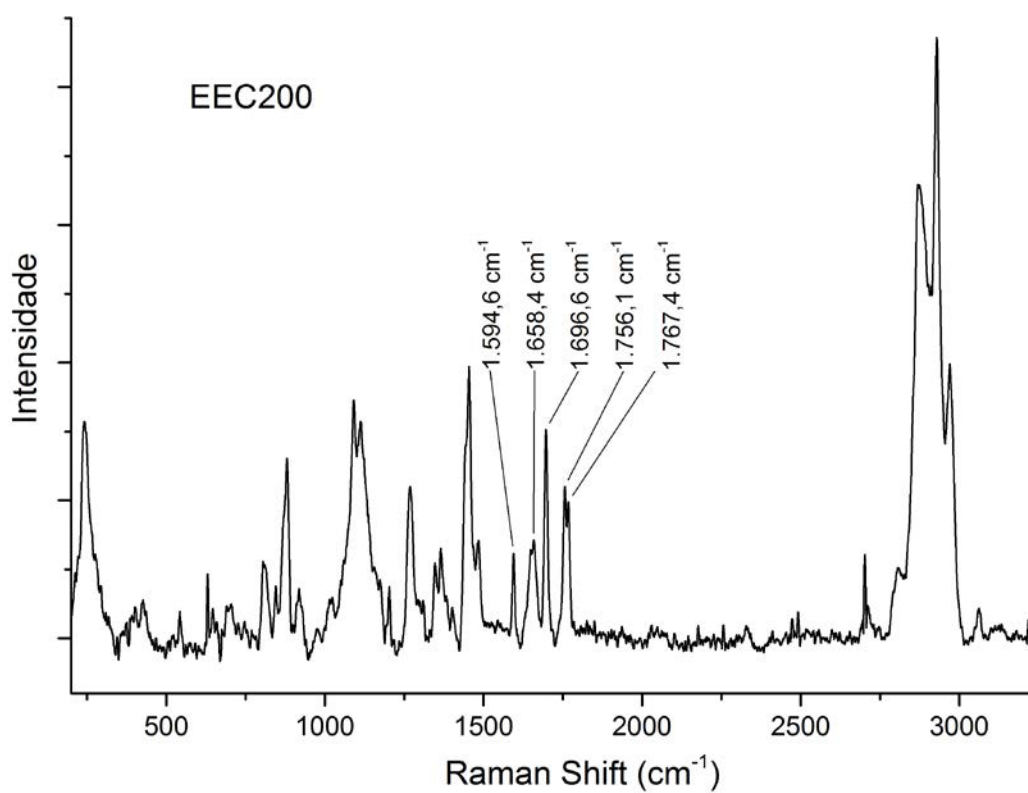


Figura 31. Espectro Raman da amostra encapsulada EEC200 (200 mg de TBZ).

Nas amostras EEC100 e EEC200, Figura 30 e Figura 31 respectivamente, o pico 1.595 cm^{-1} pode ser identificado e mostra-se ser mais intenso que nas amostras anteriores (EEC25 e EEC50), o que claramente corrobora com o argumento do aumento de concentração do TBZ nas partículas. Os picos entre 1.595 cm^{-1} e 1800 cm^{-1} corroboram com aqueles apresentados na Figura 27, onde é apresentado o espectro de Raman experimental do TBZ.

As amostras EEC25, EEC50, EEC100 e EEC200 encapsuladas com TBZ apresentaram comportamento amorfo (Figura 32). Neste difratograma observa-se a ausência de picos cristalinos, o que significa que o TBZ presente na estrutura reticular das micropartículas encontra-se na forma molecular, ou seja, não foi observada a formação de cristais de TBZ no interior das microestruturas. Esta observação é importante, pois a presença de cristais do princípio ativo na matriz das microestruturas pode alterar a cinética ou mesmo o mecanismo de liberação do TBZ e consequentemente o mecanismo ambiental de aplicação das partículas microencapsuladas.

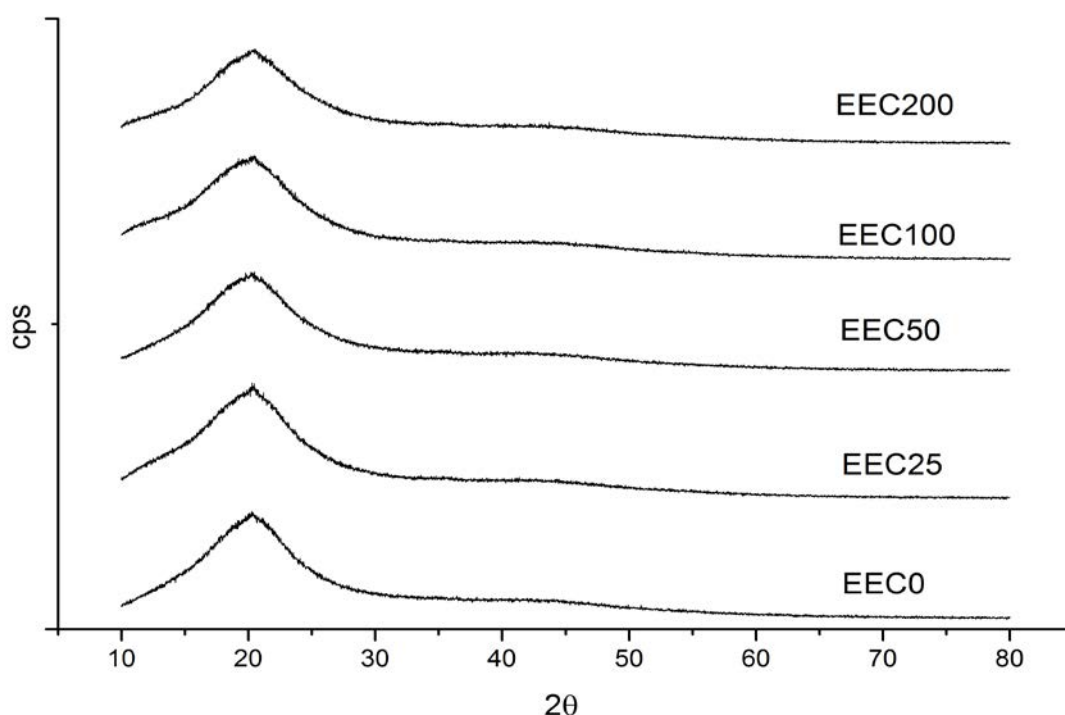


Figura 32. Difratograma de DRX das amostras encapsuladas nas condições experimentais da matriz PE14 utilizando as massas de 0 mg (EEC0), 25 mg (EEC25), 50 mg (EEC50), 100 mg (EEC100) e 200 mg (EEC200).

3.7 Caracterização dos materiais

Para melhor avaliação das características das partículas obtidas nas sínteses e dos materiais utilizados neste processo foram feitas análises térmicas, espectroscopia FT-IR, Raman e difração de raios-x. Na Tabela 13 são descritas as amostras caracterizadas pelas técnicas citadas acima.

Tabela 13. Descrição das amostras caracterizadas pelas técnicas de TG/DTA, Raman, FT-IR e Raios-X.

Amostras	Descrição
EC pa	Etilcelulose reagente pa
MLPS	Surfactante não-iônico (Tween [®] 20). Grau analítico
TBZ pa	Padrão analítico 99,6% do TBZ
TBZ gt	TBZ grau técnico com 96,1% de pureza
PE-7	Microparticulado obtido no planejamento experimental 2 ⁴
Br partic.	Microparticulado sem TBZ
MPT1	Microparticulado com TBZ
MPT2	Microparticulado com TBZ
EC pa+MLPS	Mistura dos reagentes EC pa e MLPS
PE-14	Matriz utilizada na encapsulação

3.7.1 Análise térmica: Curvas TG/DTG-DTA

Na Tabela 14 é apresentado o resumo do comportamento térmico das amostras analisadas. As amostras EC pa, Br partic., MPT1 e MPT2 mostram comportamento térmico semelhante, pois são estáveis até a temperatura de 160°C e a partir desta, degradam-se intensamente na faixa de temperatura entre 197 e 340 °C. As curvas TG/DTA do TBZ pa e gt indicaram que esta substância funde-se à temperatura de 107,96 °C e 108,57 °C, respectivamente. Na temperatura próxima à 310 °C ambas as amostras indicaram a ocorrência da vaporização do TBZ, pois há apenas um pico endotérmico nesta região térmica e a intensa variação de massa (99%).

Tabela 14. Intervalo de temperatura (θ), perda de massa (Δm) e picos observados em cada etapa das curvas TG-DTA das amostras.

Amostra		Etapas			
		1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a
EC pa	θ (°C)	188-218	214-245	258-355	355-465
	Δm (%)	2,81	6,32	78,10	10,22
	Picos (°C)	201 (exo)	250 (exo)	355 (exo)	462 (exo)
MLPS	θ (°C)	26-133	169-282	283-384	384-490
	Δm (%)	2,05	74,85	17,85	2,85
	Picos (°C)	-	263 (exo)	329 (exo)	470 (exo)
TBZ pa	θ (°C)	174-325	325-800	-	-
	Δm (%)	99,83	1,41	-	-
	Picos (°C)	107,96	308,08	-	-
TBZ gt	θ (°C)	177-328	330-800	-	-
	Δm (%)	98,58	2,19	-	-
	Picos (°C)	108,57	309,82	-	-
Br partic.	θ (°C)	160-193	197-329	329-431	431-508
	Δm (%)	2,53	83,47	6,85	6,73
	Picos (°C)	187 (exo)	254 (exo)	-	487 (exo)
MPT1	θ (°C)	10-197	197-328	328-503	-
	Δm (%)	3,57	83,53	11,73	-
	Picos (°C)	184	239	494 (exo)	-
MPT2	θ (°C)	162-195	197-340	340-512	-
	Δm (%)	2,01	87,20	9,76	-
	Picos (°C)	185	239	509	-
PE-14	θ (°C)	185-316	316-427	427-796	-
	Δm (%)	3,71	91,41	2,84	-
	Picos (°C)	-	380,95	-	-

a) Etilcelulose (EC) pa

As curvas TG, DTG e DTA para a amostra EC pa encontram-se na Figura 33. Esta análise foi realizada em atmosfera oxidante (O_2) e, portanto, nos fornece informações sobre a estabilidade do polímero nas condições de estresse térmico extremo. A decomposição térmica a EC pa iniciou-se após a temperatura de 188 °C e ocorreu em 4 etapas, sendo decomposto 99,5% do material analisado.

Não foram observados picos DTG e DTA durante o aquecimento da temperatura de 39,8 °C até 188 °C, o que indica que não houve variação significativa na massa da amostra e nem processos endotérmicos ou exotérmicos. Esta observação permite concluir que a EC pa possui estabilidade térmica até o limiar da temperatura de 188 °C e, a partir desse valor, dá-se início à decomposição do polímero.

As quatro etapas de decomposição da EC pa são acompanhados por 4 picos exotérmicos bem definidos e proporcionais à perda de massa. Cada evento térmico observado para a amostra representa um mecanismo específico de degradação e o seu estudo exige o conhecimento dos produtos de degradação para que os mecanismos a níveis moleculares possam ser descritos.

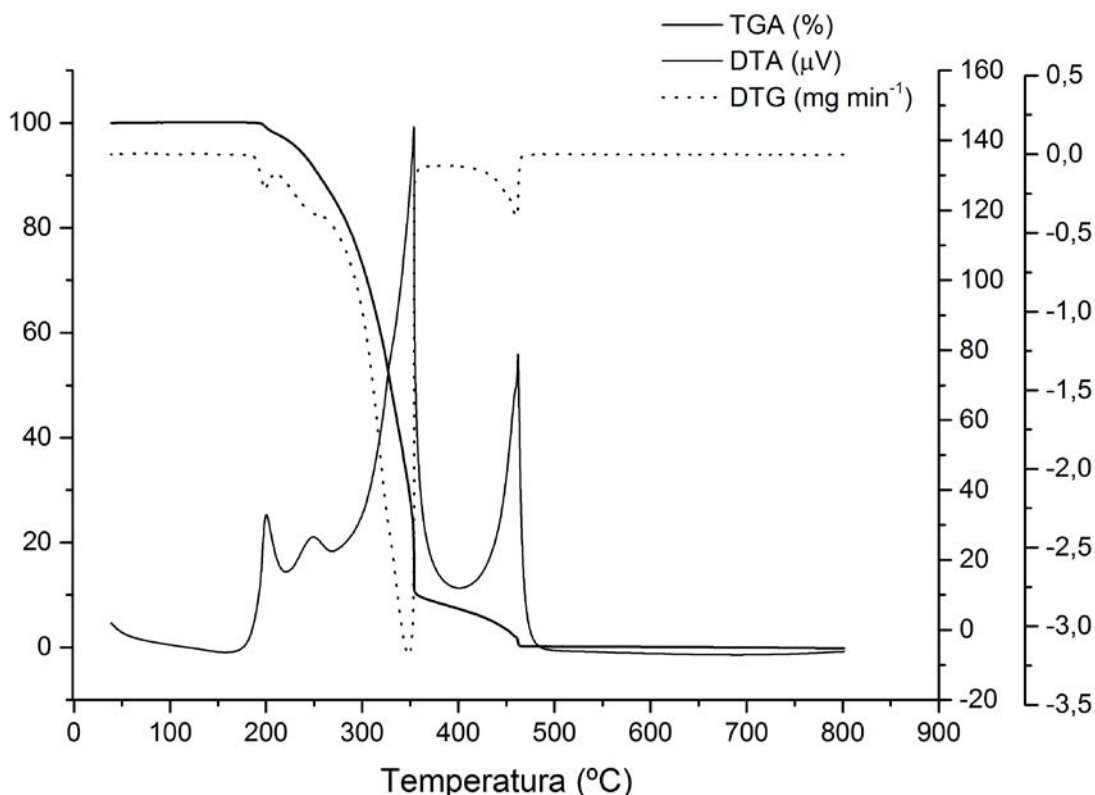


Figura 33. Comportamento térmico da amostra EC pa. Análise realizada em atmosfera oxidante (O_2) a um fluxo de $100 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$.

O comportamento térmico da EC pa em atmosfera inerte é apresentada na Figura 34. Nesta pode-se observar que a decomposição da amostra ocorreu predominantemente em uma etapa ($226 - 406 \text{ }^\circ\text{C}$). Da temperatura inicial, $36 \text{ }^\circ\text{C}$, até a temperatura final, $800 \text{ }^\circ\text{C}$, da amostra $89,8\%$ foi decomposta. A perda de massa anterior à temperatura de 226 foi de $0,5\%$, o que está dentro do limite de erro do equipamento ($0,5 - 1\%$). Após a temperatura de $406 \text{ }^\circ\text{C}$ a perda de massa ocorre lentamente e a variação total foi de $5,4\%$. A variação total da massa da amostra na faixa de temperatura estudada foi de $94,7\%$ e, portanto, foi gerado um resíduo de aproximadamente $6,3\%$ da massa inicial da amostra ($2,429 \text{ mg}$).

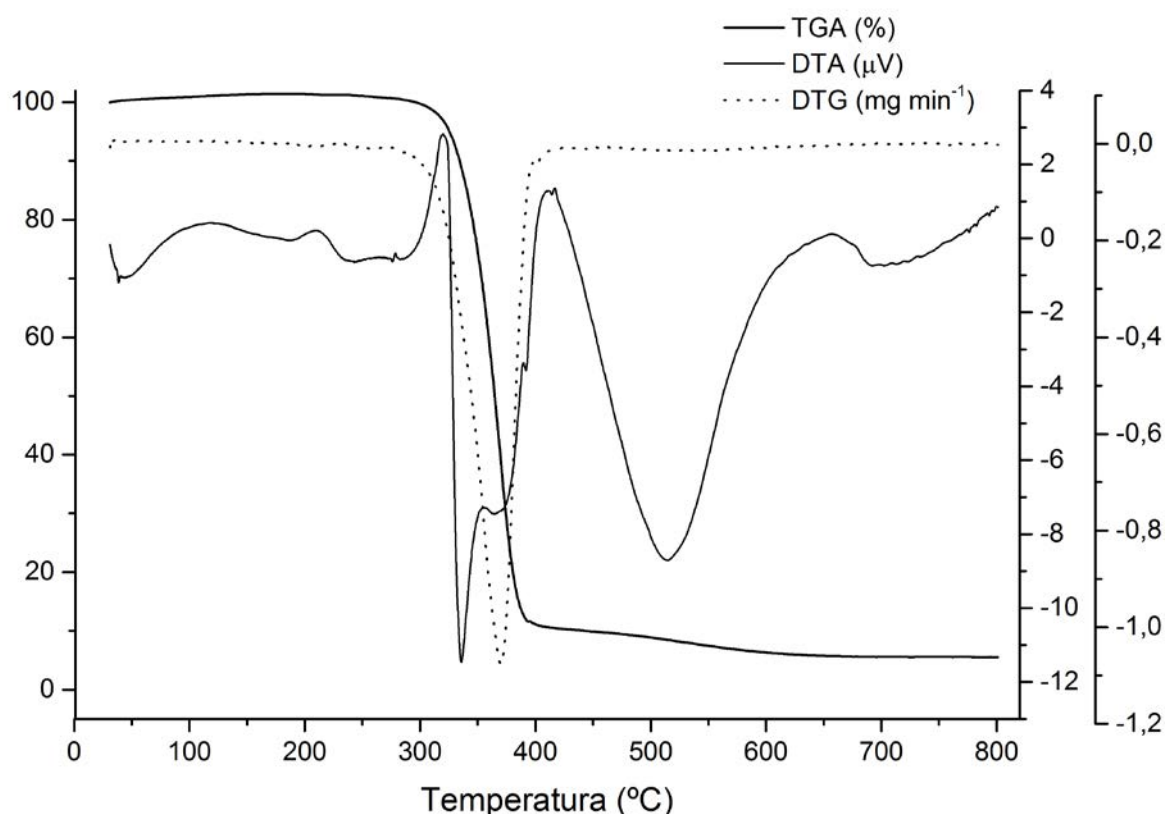


Figura 34. Comportamento térmico da amostra EC pa em atmosfera inerte de argônio a um fluxo de $100 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$.

De acordo com Li *et al.* (1999) a estabilidade térmica alcançada pela EC tem relação direta com a presença de grupos substituídos. A os grupos hidroxietil podem diminuir significativamente a temperatura pirolítica, retardar a carbonização do polímero e aumentar os resíduos pirolíticos. No caso a EC analisada contem 42% de grupos hidroxilas substituídas por grupos etoxil, apresenta baixo teor de resíduos pirolíticos e temperatura de inicial de degradação superior a 200°C em atmosfera oxidante e em atmosfera inerte superior a 300°C .

b) Surfactante MLPS

Como o MPLS é utilizado na síntese das micropartículas, a presença deste pode alterar o comportamento térmico das amostras. Assim, foi avaliado o perfil térmico deste composto em atmosfera oxidante e inerte, conforme apresentado na Figura 35 e Figura 36, respectivamente.

Em atmosfera oxidante, observa-se que há perda de massa (2,05%) entre as temperaturas de 26 a 133 °C e entre 169 e 282 °C ocorre de maneira intensa a degradação do surfactante. O pico exotérmico à 263 °C evidencia que a degradação do MLPS está ocorrendo com liberação de calor devido ao processo de combustão do material orgânico. Após este evento térmico principal, outros dois de menor intensidade são observados, onde a perda de massas nestes são de 17,85 e 2,85% e a estes dois eventos térmicos estão associados dois picos exotérmicos, 329 e 470 °C.

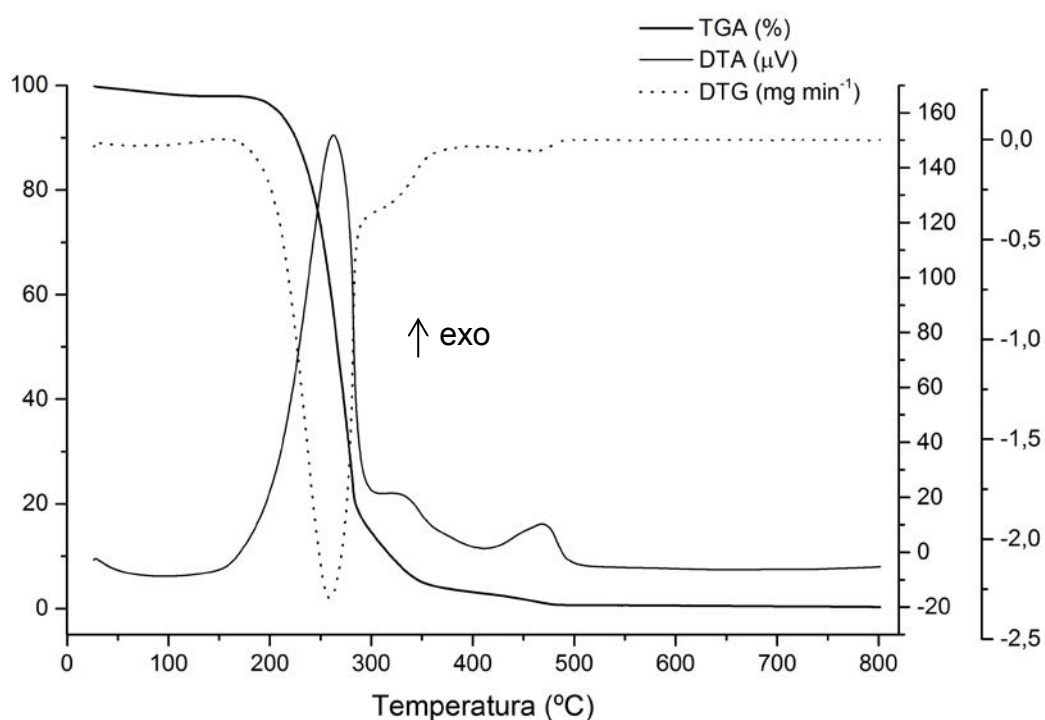


Figura 35. Comportamento térmico da amostra MLPS em atmosfera oxidante (O_2) a um fluxo de $100 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$.

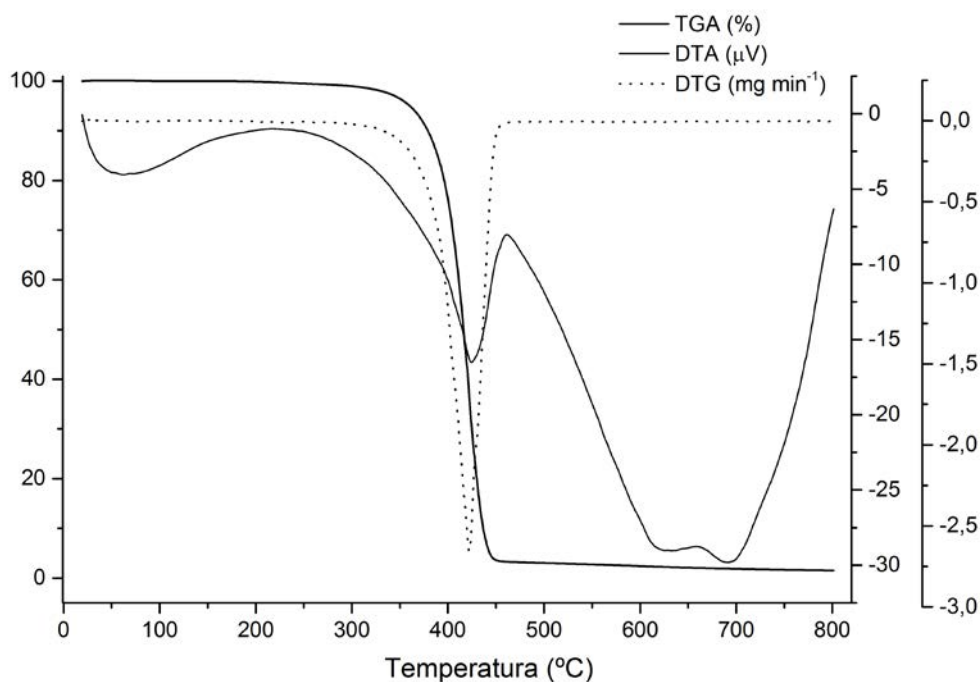


Figura 36. Comportamento térmico do surfactante MLPS em atmosfera inerte de argônio a um fluxo de $100 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$.

Em atmosfera inerte a decomposição do MLPS tornou-se mais simples, em termos de número de etapas de decomposição, com quase que a totalidade da massa (95,91%) sendo decomposta entre as temperaturas de 291 e 470°C .

c) TBZ pa e gt

O perfil térmico para o TBZ pa (Figura 37) e o TBZ gt (Figura 38) apresentam perfis semelhantes, coerente com o fato da diferença de pureza ser pequena (3,5%). O TBZ pa apresentou um pico endotérmico em $108,57^\circ\text{C}$ e $108,98^\circ\text{C}$ para o TBZ gt devido ao ponto de fusão e a pequena diferença nos valores indica que a pureza de ambos não são numericamente distantes.

Outro pico endotérmico estreito foi observado em torno de 310°C seguido por uma variação extensa de massas: 99,83% para o TBZ pa e 98,58% para o TBZ gt. Estes picos são resultados da absorção de energia térmica com consequente vaporização do TBZ. A análise do TBZ gt em atmosfera inerte (Figura 39) demonstra que este possui o mesmo perfil que em atmosfera oxidante. Os picos endotérmicos foram observados nas temperaturas de $108,7^\circ\text{C}$ e $308,3^\circ\text{C}$.

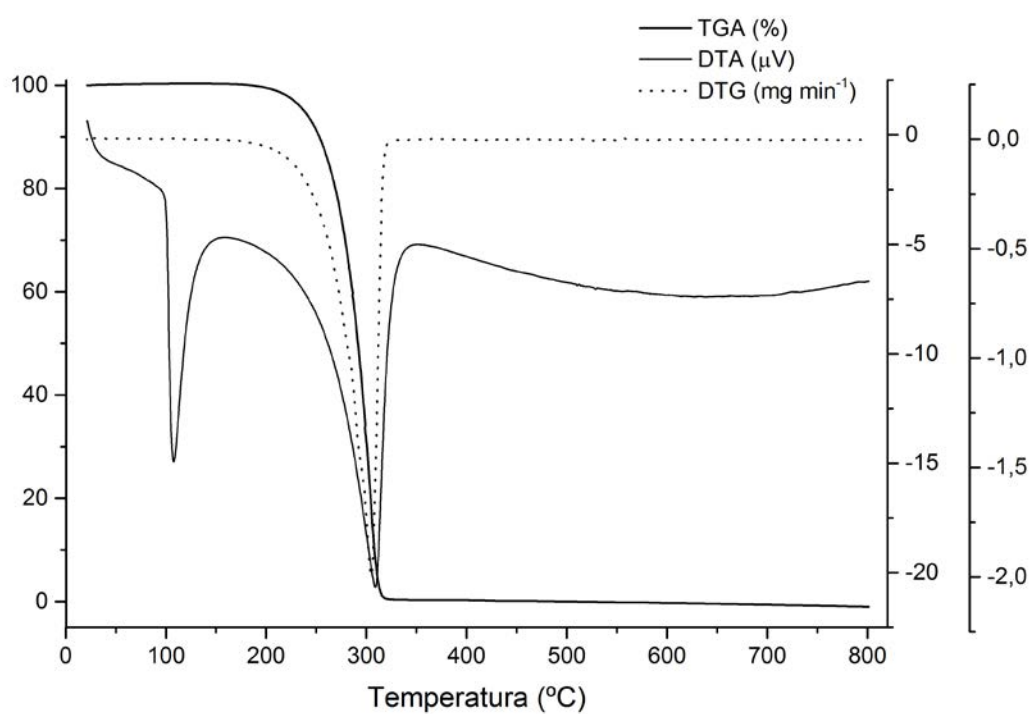


Figura 37. Perfil térmico do TBZ pa em atmosfera de oxigênio num fluxo de 100 mL.min⁻¹.

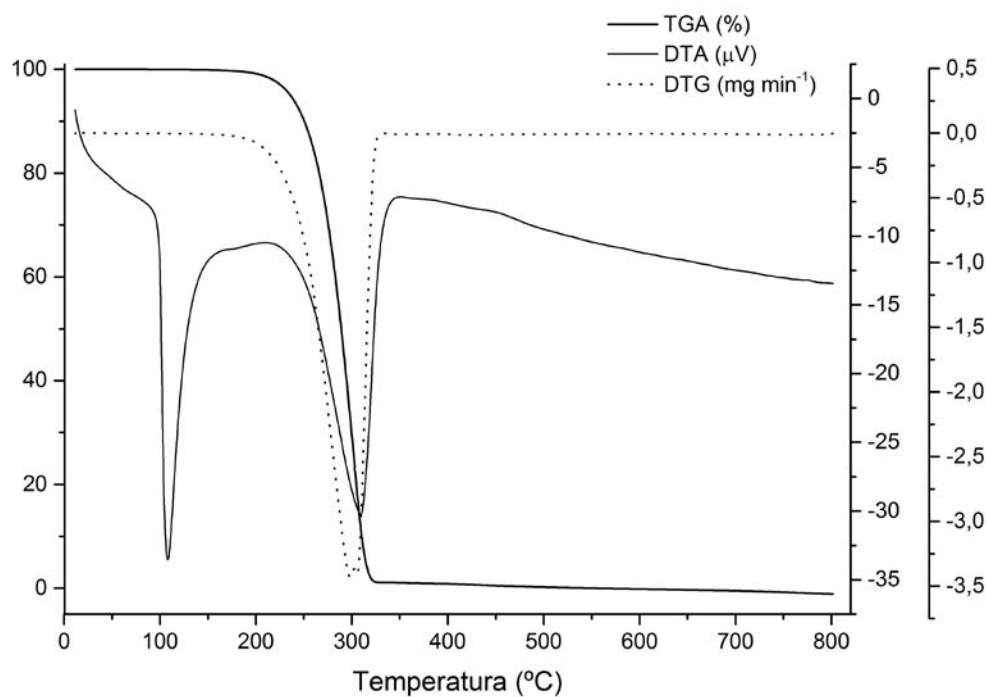


Figura 38. Perfil térmico do TBZ gt em atmosfera de oxigênio num fluxo de 100 mL.min⁻¹.

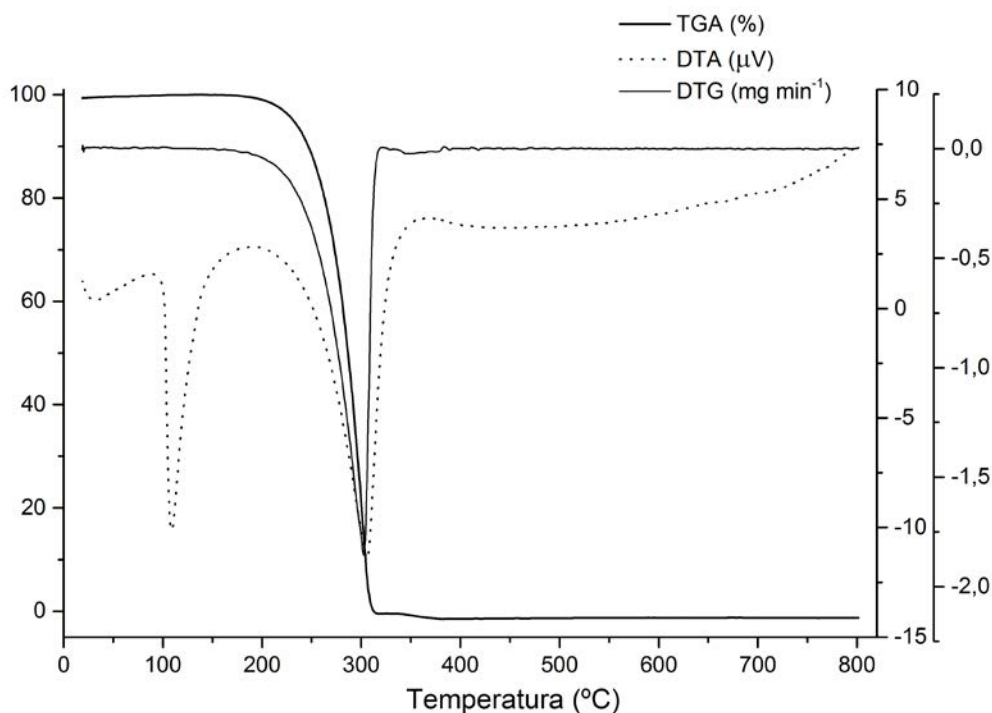


Figura 39. Perfil térmico do TBZ gt em atmosfera inerte de argônio num fluxo de 100 mL.min⁻¹.

d) Amostras PE-7 e PE-8

Foi realizada a caracterização térmica das amostras PE-7 (Figura 40) e PE-8 (Figura 41). A degradação térmica em ambas as amostras ocorre em temperatura superior a 200 °C e dá-se em duas etapas, sendo a principal em 250 °C e uma secundária em torno de 500 °C devido à oxidação do material carbonizado remanescente do primeiro processo.

A similaridade entre o comportamento térmico das amostras PE-7 e PE-8 comparado com o comportamento do polímero etilcelulose pa (Figura 42) indica que as partículas são compostas predominantemente por este polímero e que a presença, possivelmente traços, do surfactante utilizado não afetou o comportamento térmico do material obtido.

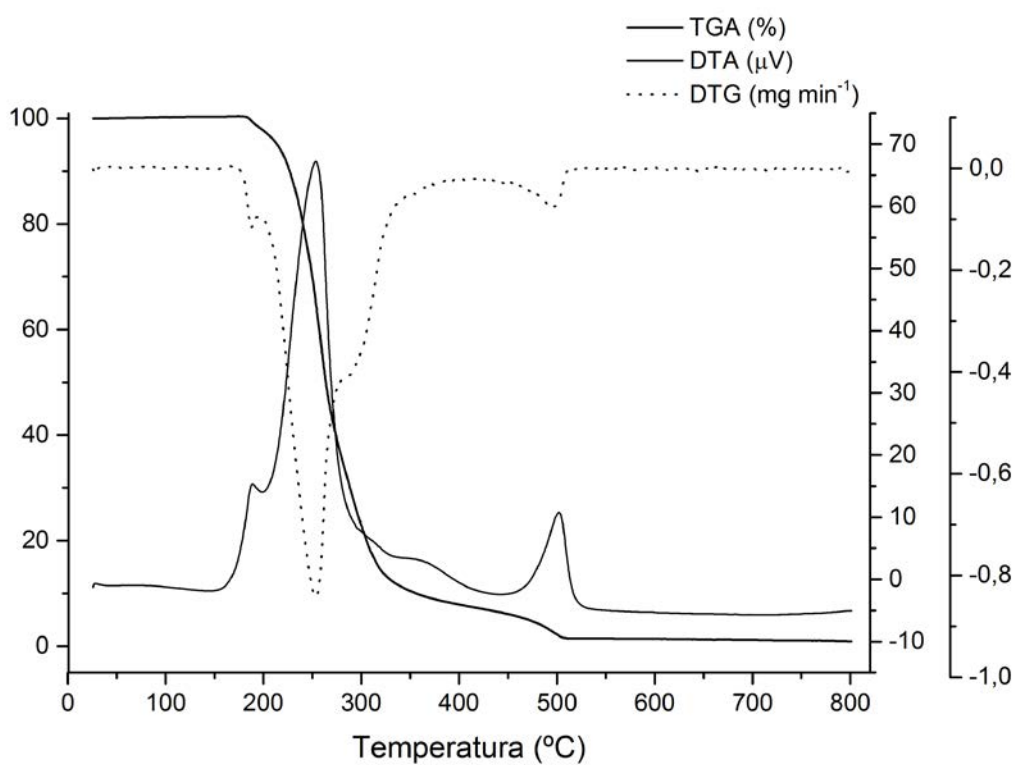


Figura 40. Perfil térmico da amostra PE-7 em atmosfera de O_2 num fluxo de 100 mL.min^{-1} .

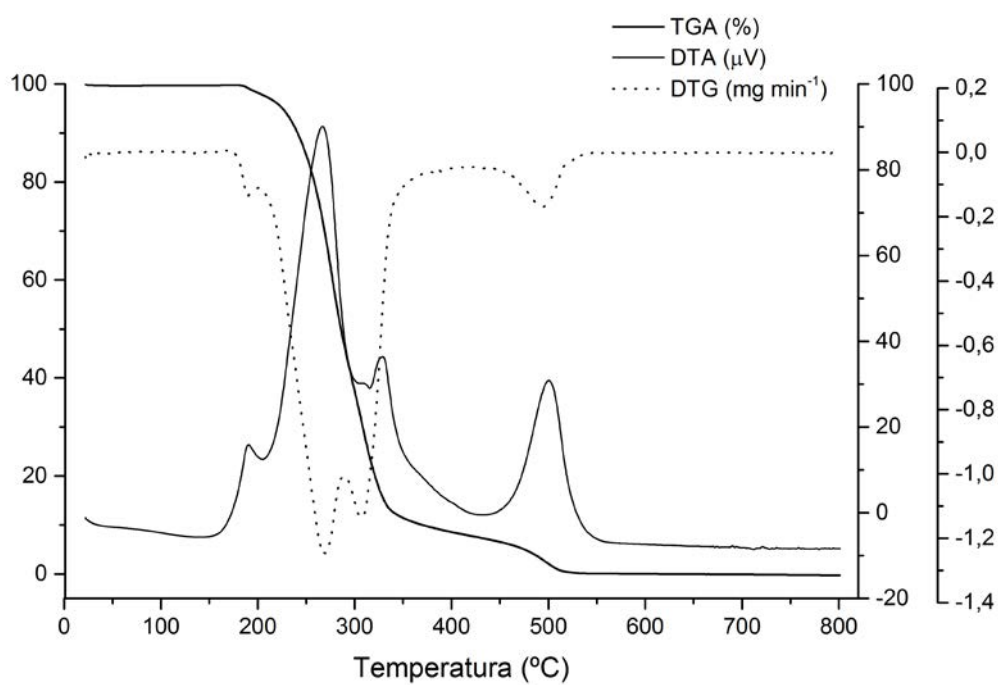


Figura 41. Perfil térmico da amostra PE-7 em atmosfera de O_2 num fluxo de 100 mL.min^{-1} .

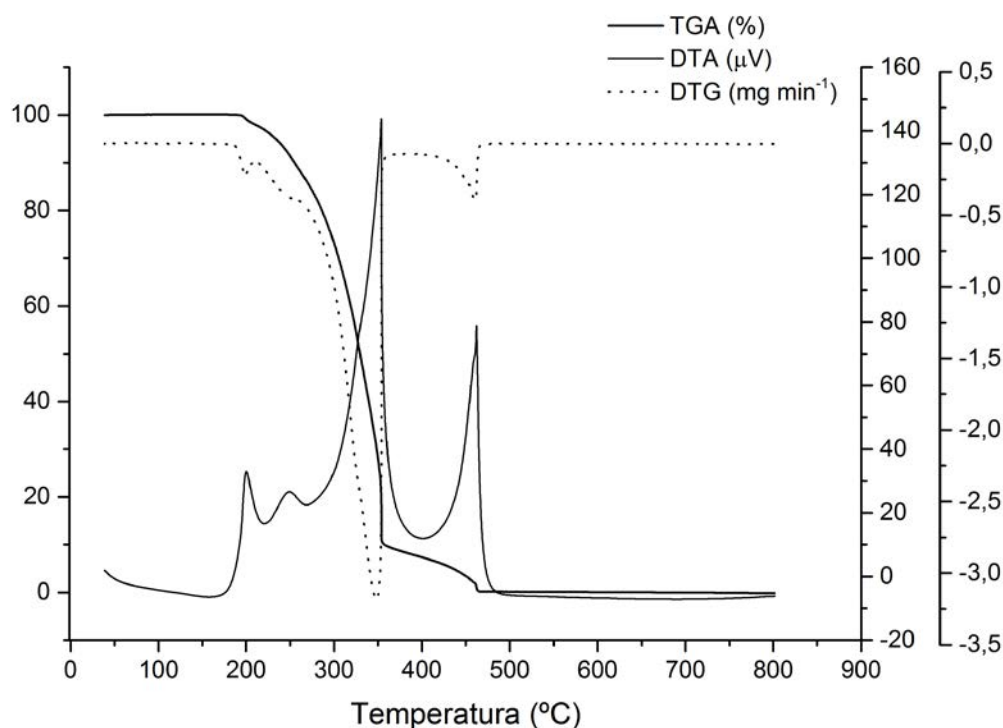


Figura 42. Perfil térmico do polímero etilcelulose pa em atmosfera de O₂ num fluxo de 100 mL.min⁻¹.

e) Amostras MPT1 e MPT2

Os perfis térmicos, em atmosfera de oxigênio, das amostras MPT1 (Figura 43) e MPT2 (Figura 44) são praticamente idênticos e indicam que estas amostras são termicamente estáveis até a temperatura de 150 °C.

Após a temperatura de 150 °C ocorre a degradação do material, cujo pico exotérmico mais intenso ocorre à 184 °C para o MPT1 e 185 °C para o MPT2. A maior perda de massa ocorre entre as temperaturas de 197 – 340 °C, com percentual médio de 85,36%.

As amostras MPT1 e MPT2 também apresentaram perfis térmicos semelhantes quando as análises foram realizadas em atmosfera de argônio. Em ambos os casos, a perda de massa ocorreu predominantemente em apenas uma etapa, próximo a 400 °C.

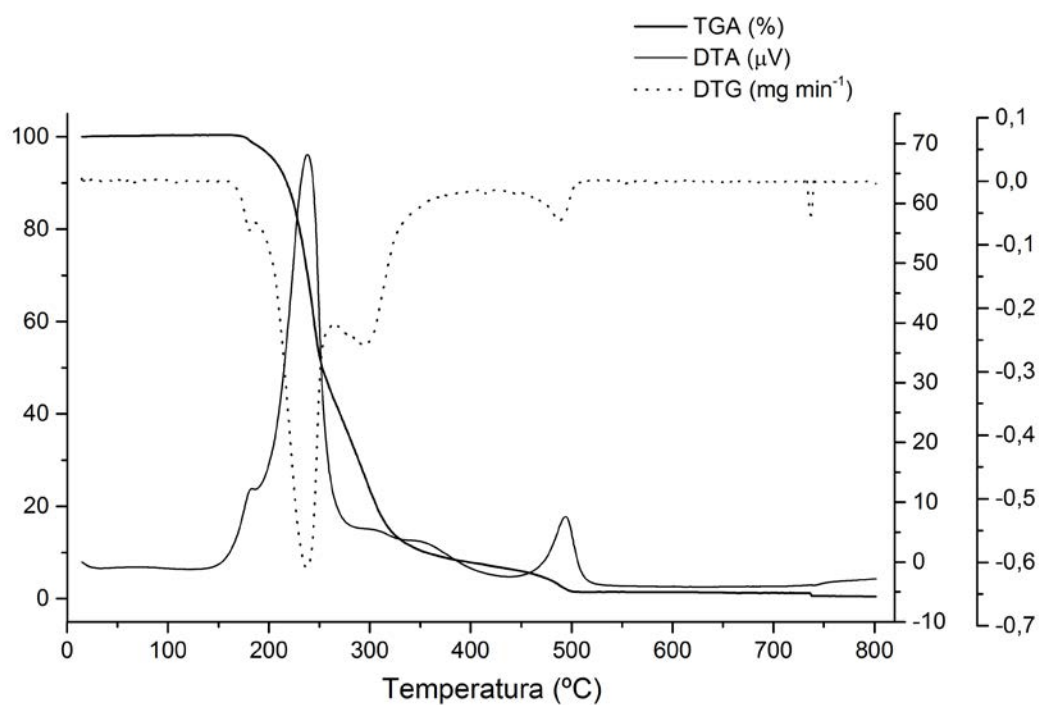


Figura 43. Perfil térmico da amostra MPT1 em atmosfera de O_2 num fluxo de 100 $mL.min^{-1}$.

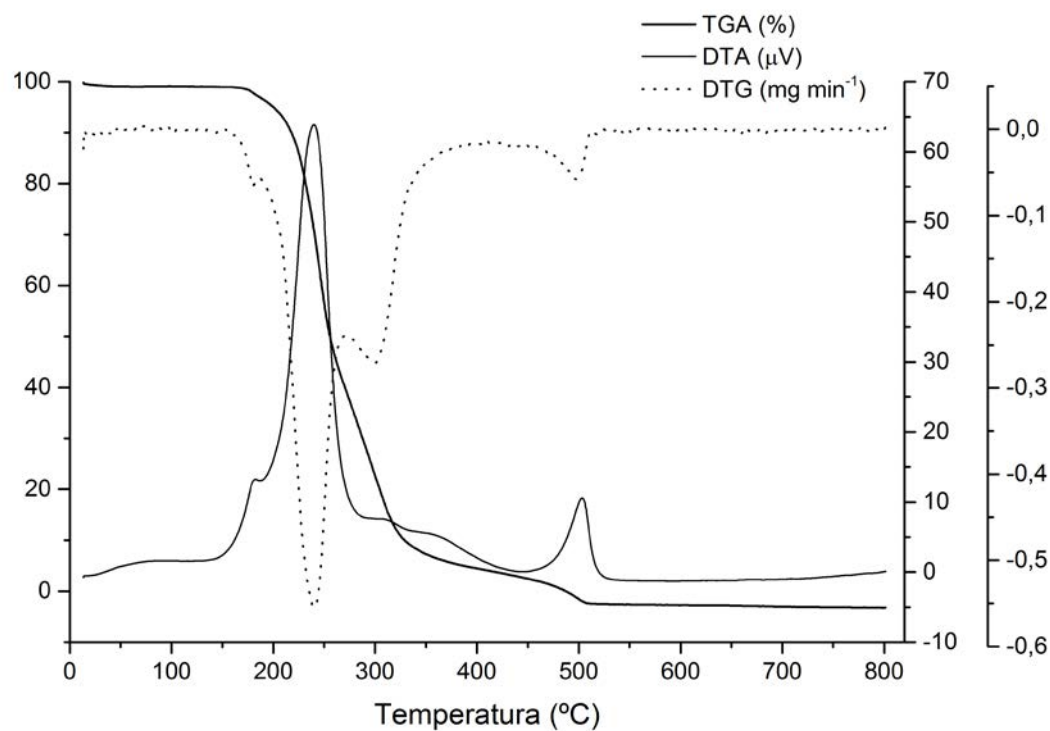


Figura 44. Perfil térmico da amostra MPT2 em atmosfera de O_2 num fluxo de 100 $mL.min^{-1}$.

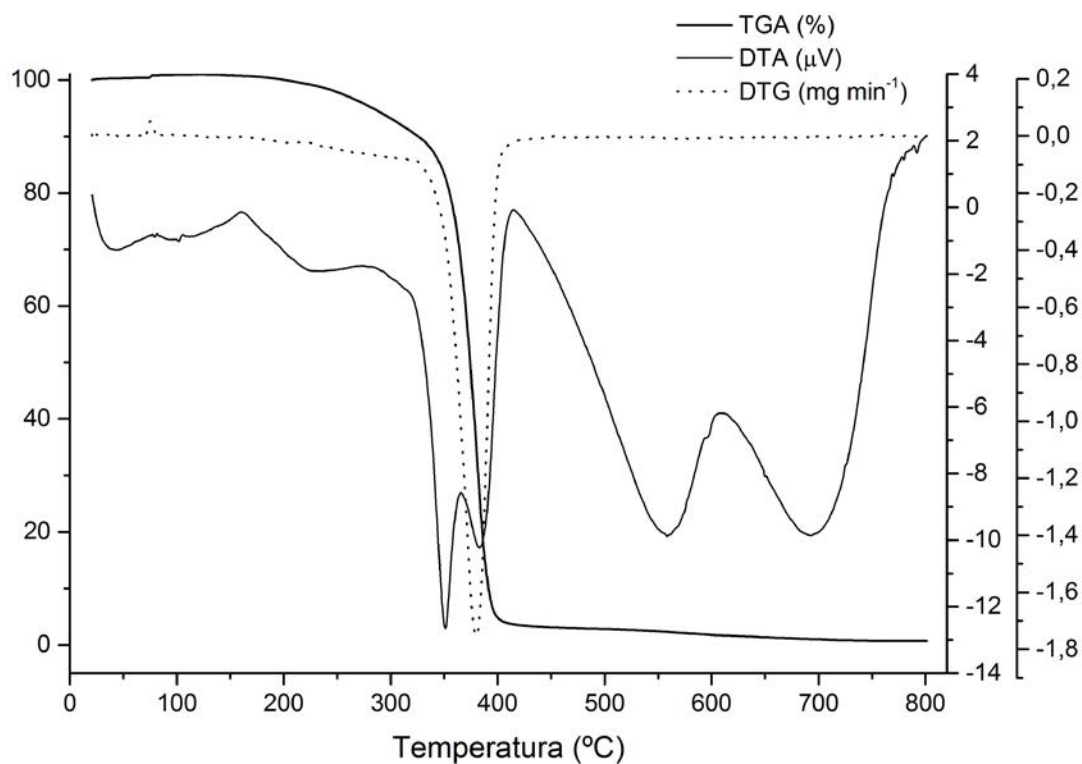


Figura 45. Perfil térmico da amostra MPT1 em atmosfera de argônio num fluxo de 100 mL.min⁻¹.

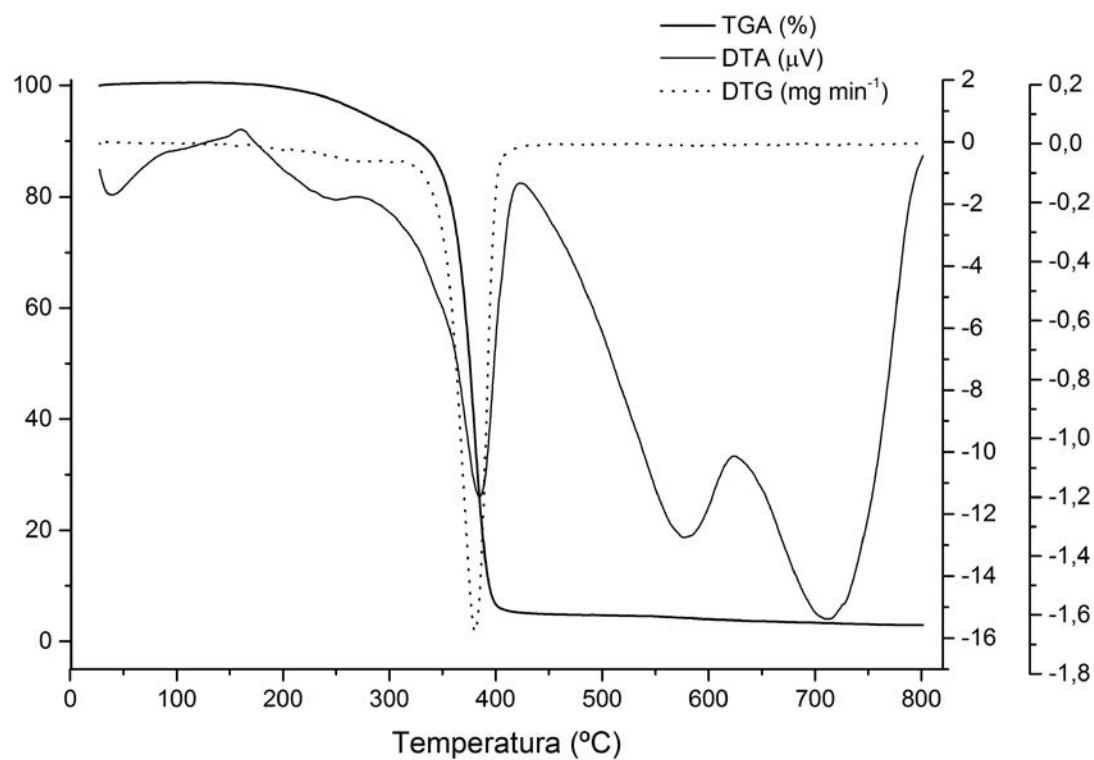


Figura 46. Perfil térmico da amostra MPT2 em atmosfera de O₂ num fluxo de 100 mL.min⁻¹.

f) Amostra PE-14

Esta amostra foi utilizada como matriz principal para a síntese das micropartículas de etilcelulose e encapsulação do TBZ. Na Figura 47 são apresentados os dados das análises térmicas da amostra PE-14. A degradação térmica em atmosfera inerte ocorre predominantemente em um estágio, sendo degradado um total de 91,41%. No primeiro e terceiro estágio ocorre pequena degradação da etilcelulose, sendo observados respectivamente os valores 3,71 e 2,84%.

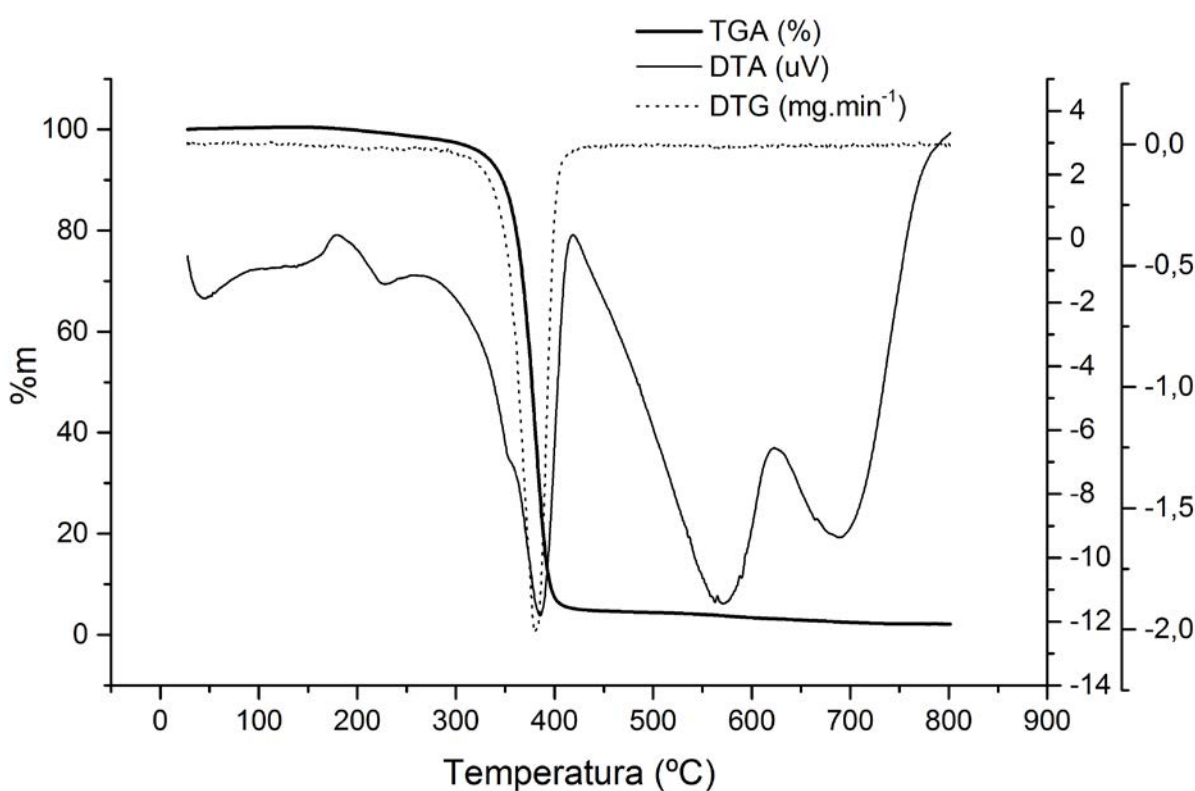


Figura 47. Perfil térmico da amostra PE-14 em atmosfera inerte num fluxo de Ar de 100 mL.min⁻¹.

3.7.2 FT-IR

Os espectros de FT-IR das amostras Br partic., MPT1 e TBZ gt encontram-se na Figura 48. Os espectros foram obtidos por transmitância utilizando pastilhas de KBr. A banda observada, entre 3.320 e 3.623 cm⁻¹ é referente aos grupos hidroxilas do polímero EC, sendo o pico desta banda 3.483,4 cm⁻¹ para a EC partic. e 3.479,6 cm⁻¹ para MPT1. Segundo Cavalcanti *et al.* (2004), o deslocamento do pico para um número de onda menor é característico do enfraquecimento das

interações das hidroxilas (–OH) devido à interação do TBZ com as hidroxilas da estrutura do polímero.

Os estiramentos simétricos dos hidrogênios referentes ao grupo químico metil (–CH₃) em todas as três amostras e apresentam os valores 2.978,1 cm⁻¹ (a), 2.976,2 cm⁻² (b) e 2970,4 cm⁻¹ (c). A banda em 3.132,4 cm⁻¹ (c) é devida ao estiramento C-H do anel aromático e as bandas 1911,4 cm⁻¹ e 1797,8 cm⁻¹ são *overtone*s desta vibração. A banda em 1485,2 cm⁻¹ decorrente a vibração dos carbonos (skeleton vibration) do anel aromático (Qian *et al.*, 2013).

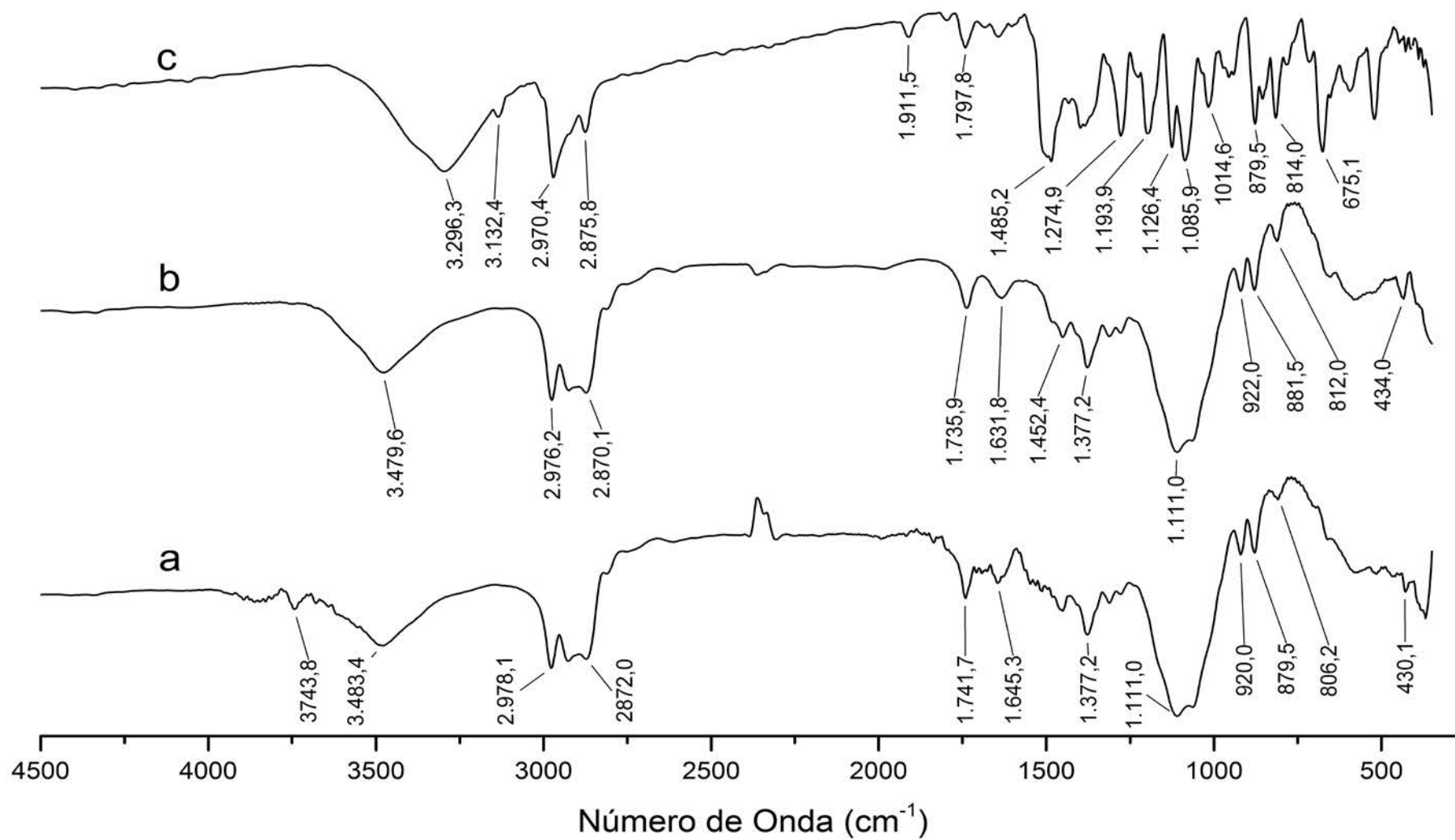


Figura 48. Espectros de FT-IR das amostras (a) Br partic., (b) MPT1 e (c) TBZ gt.

3.7.3 Espectroscopia Raman

Na Figura 49 pode ser observado pico Raman em $1597,98\text{ cm}^{-1}$ que indica a presença de TBZ na partícula de EC. Nesta mesma figura observa-se a ausência do pico em $1596,80\text{ cm}^{-1}$ na partícula sem a presença de TBZ (Br partic.). A baixa intensidade do pico observado e a ausência de outros picos característicos do TBZ podem ser explicadas pela baixa concentração do TBZ na amostra MPT1 ou pela proteção estérica do polímero impedindo que o sinal Raman seja observado.

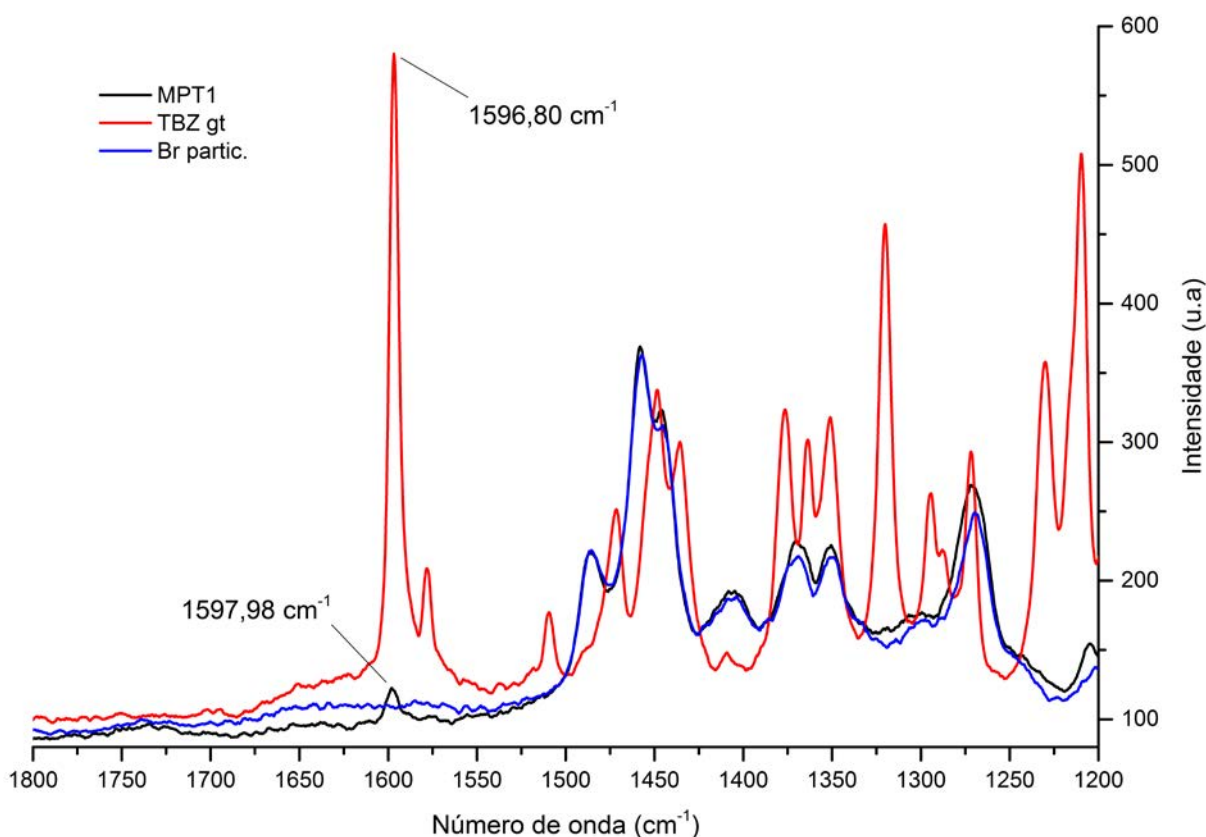


Figura 49. Espectros Raman da amostra encapsulada comparada com o TBZ gt e Br partic.

Na Figura 50 são apresentados os espectros Raman. Numa análise preliminar, pode ser observada a compatibilidade espectral das amostras EC pa, Br partic. e MPT1, indicando a predominância do polímero EC.

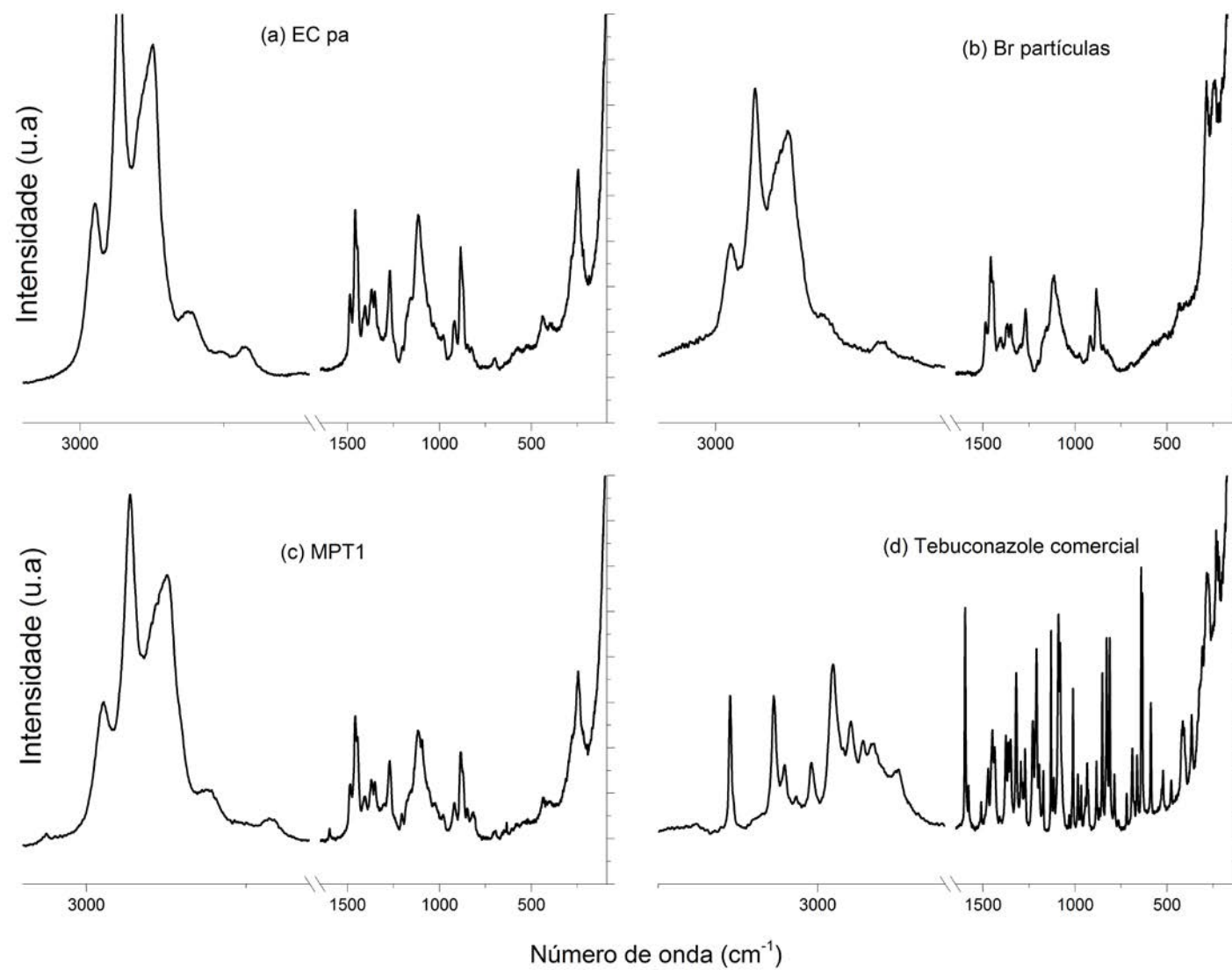


Figura 50. Espectros Raman das amostras (a) EC pa, (b) Br partic, (c) MPT1 e (d) TBZ gt.

3.7.4 Difração de raios-x (DRX)

Os resultados de DRX para as amostras estudadas são apresentados na Figura 51. O TBZ apresentou picos bem definidos e característicos de arranjos cristalinos. A EC comercial possui caráter predominantemente amorfo. As micropartículas de EC (**b**, **c** e **e**) são amorfas, ou seja, não apresentam picos característicos de fases cristalinas. Esta observação revela que o biocida TBZ presente nas micropartículas está disperso a nível molecular e possivelmente de modo homogêneo na matriz polimérica.

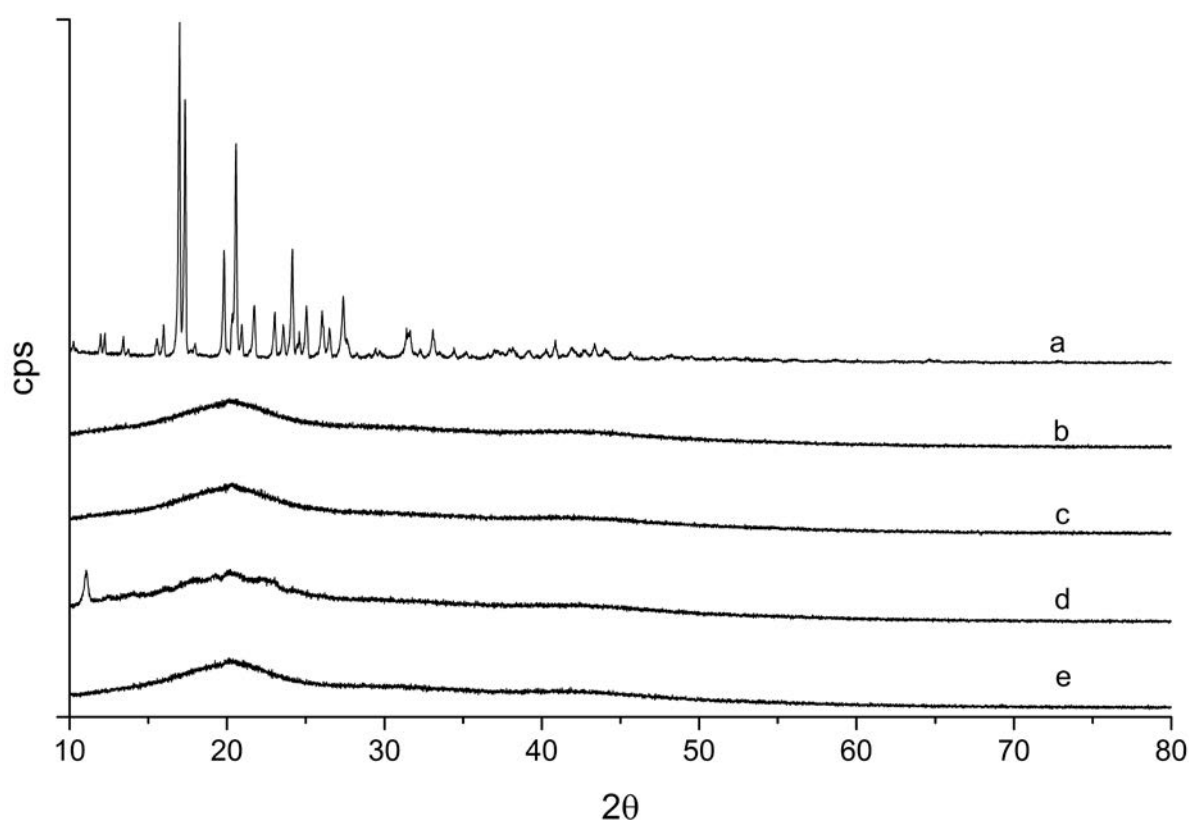


Figura 51. Difrátogramas de DRX das amostras (a) TBZ grau técnico, (b) MPT2, (c) MPT1, (d) EC pa e (e) Br partículas.

3.8 Estudo computacional da molécula de tebuconazole

Devido à necessidade de associar as bandas do espalhamento Raman com os modos vibracionais da molécula de TBZ foi realizada a otimização teórica da estrutura molecular do tebuconazole (Figura 52) utilizando o método B3LYP/6-

311++G (d, p). A numeração dos átomos presentes na estrutura do fungicida foi feita conforme nome oficial proposto pela IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry), (RS)-1-(4-Chlorophenyl)-4,4-dimethyl-3-(1H,1,2,4-triazol-1-ylmethyl)pentan-3-ol.

A partir da estrutura otimizada foram calculados os raios de ligação dos átomos que constituem a molécula de tebuconazole, sendo estes resultados apresentados na Tabela 15.

A química computacional quântica combinada com espectroscopia Raman tem sido usada como ferramenta para análise vibracional de moléculas, tais como os biocidas (Sebastian *et al.*, 2009). A estrutura química do TBZ foi otimizada e foi calculado o espectro Raman teórico.

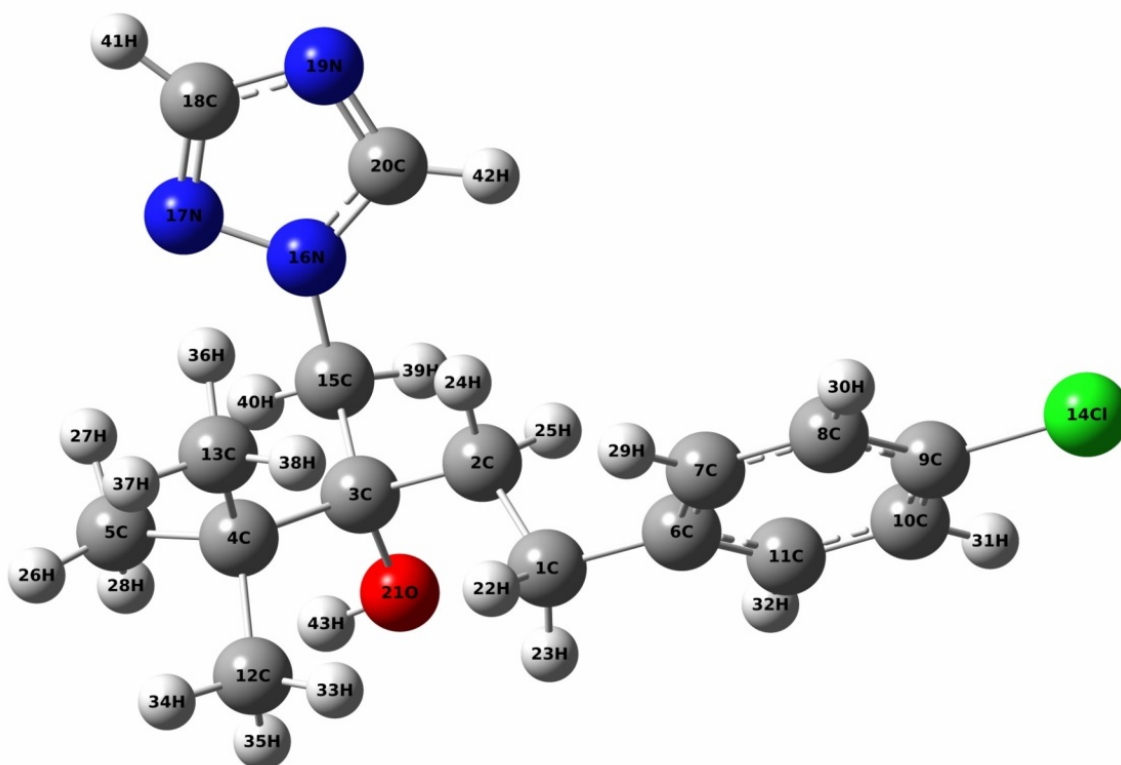


Figura 52. Estrutura molecular da molécula do tebuconazole otimizada por cálculo teórico DFT pelo método B3LYP/6-311++G (d, p).

Tabela 15. Raios atômicos dos átomos da molécula do tebuconazole calculados com o programa Gaussian 09W.

Ligação	Raio (Å)	Ligação	Raio (Å)	Ligação	Raio (Å)
R (2,1)	1,5431	R(16,15)	1,4602	R(30,8)	1,0826
R(3,2)	1,5457	R(17,16)	1,3601	R(31,10)	1,0826
R(4,3)	1,5861	R(18,17)	1,3225	R(32,11)	1,0854
R(5,4)	1,5478	R(19,18)	1,3601	R(33,12)	1,0882
R(6,1)	1,5138	R(20,19)	1,3210	R(34,12)	1,0936
R (7,6)	1,3985	R(21,3)	1,4411	R(35,12)	1,0917
R (8,7)	1,3936	R(22,1)	1,0917	R(36,13)	1,0901
R(9,8)	1,3903	R(23,1)	1,0918	R(37,13)	1,0939
R(10,9)	1,3910	R(24,2)	1,0924	R(38,13)	1,0925
R(11,10)	1,3928	R(25,2)	1,0952	R(39,15)	1,0906
R(12,4)	1,5472	R(26,5)	1,0931	R(40,15)	1,0883
R(13,4)	1,5433	R(27,5)	1,0903	R(41,18)	1,0793
R(14,9)	1,7606	R(28,5)	1,0972	R(42,20)	1,0790
R(15,3)	1,5689	R(29,7)	1,0854	R(43,21)	0,9634

A estrutura otimizada do TBZ apresenta dois planos, o anel triazol e o núcleo aromático que formam as ligações π da estrutura e determinam as características dos orbitais HOMO (*highest occupied molecular orbital*) e LUMO (*lowest unoccupied molecular orbital*).

Numa análise da distribuição das cargas na molécula de TBZ, a Tabela 16 apresenta as cargas atômicas de Mulliken. Estas cargas são uma indicação direta da polarização dos átomos que constituem a molécula de tebuconazole. Nas Figuras 43 a 49 são apresentados os orbitais HOMO e LUMO formados na molécula de TBZ.

Tabela 16. Cargas atômicas de Mulliken dos átomos da molécula do tebuconazole calculados com o programa Gaussian 09W.

Átomo	Carga de Mulliken	Átomo	Carga de Mulliken
1C	-0,298252	22H	0,151463
2C	-0,240133	23H	0,161276
3 C	-0,394520	24H	0,210917
4 C	0,508008	25H	0,237981
5 C	-0,496920	26H	0,159304
6 C	0,435823	27H	0,185403
7 C	-0,383628	28H	0,104589
8 C	-0,535348	29H	0,144194
9 C	-0,149625	30H	0,200108
10 C	0,500987	31H	0,198469
11 C	-0,426849	32H	0,163652
12 C	-0,433596	33H	0,151463
13 C	-0,777567	34H	0,144148
14 Cl	0,430722	35H	0,161276
15 C	-0,515817	36H	0,158197
16N	0,080448	37H	0,163467
17 N	-0,110111	38H	0,154485
18C	-0,116319	39H	0,245084
19 N	-0,091615	40H	0,217004
20C	-0,152057	41H	0,170433
21O	-0,085562	42H	0,172204

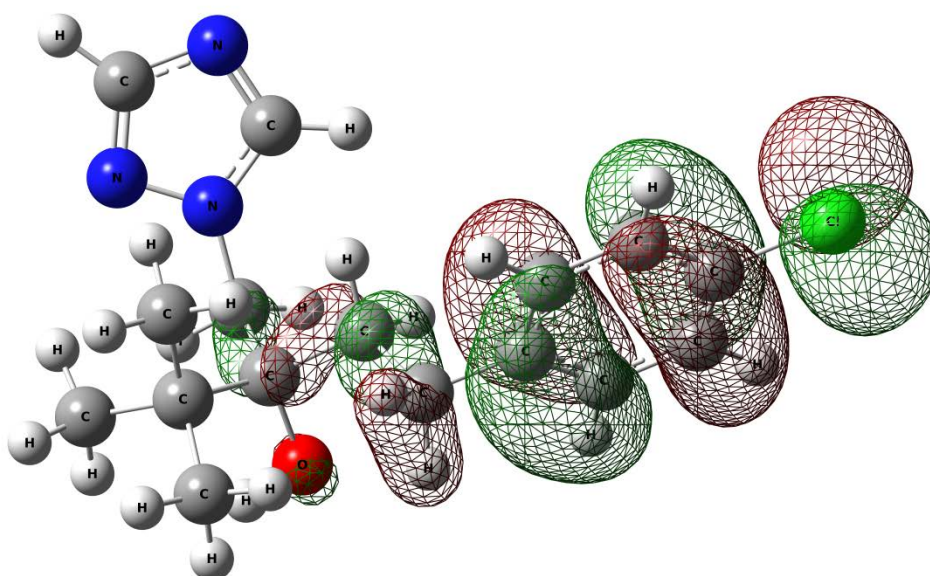


Figura 53. Mapa de contribuição dos orbitais HOMO do TBZ.

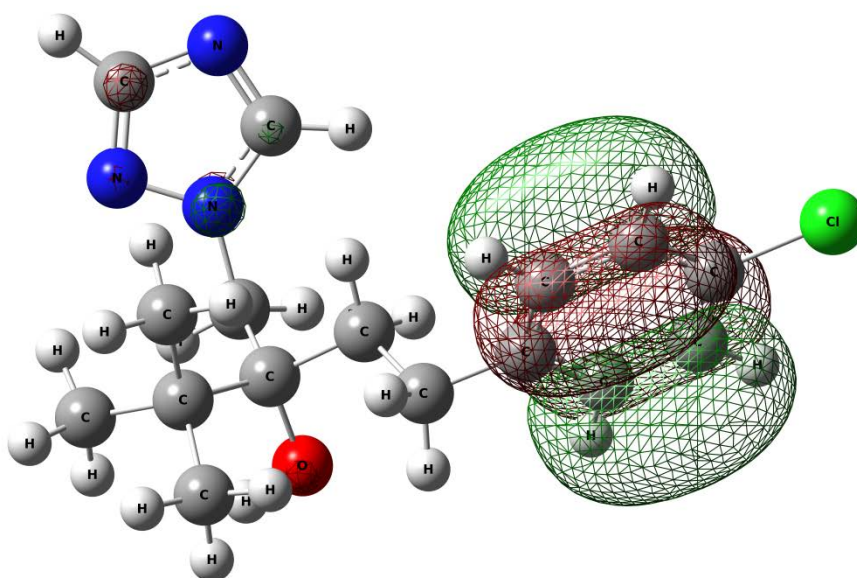


Figura 54. Mapa de contribuição dos orbitais HOMO-1 do TBZ.

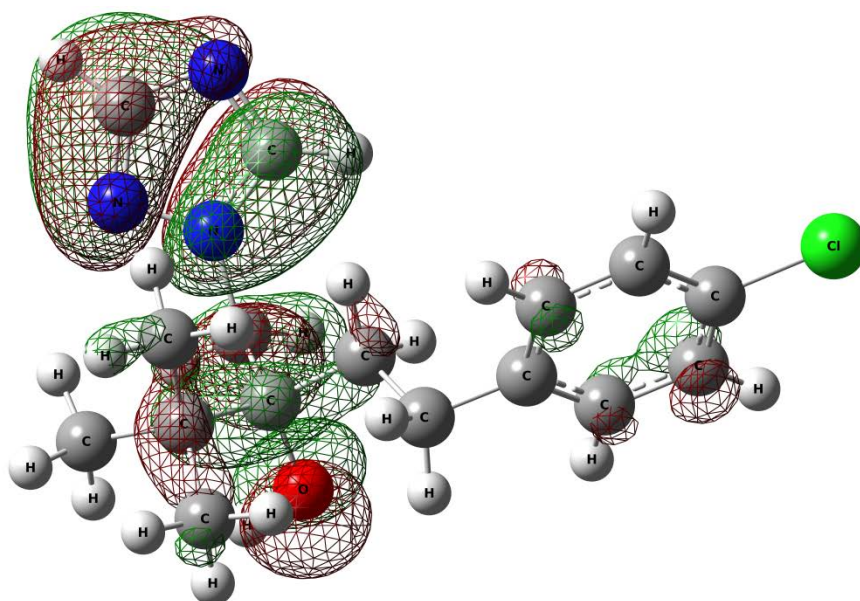


Figura 55. Mapa de contribuição dos orbitais HOMO-2 TBZ.

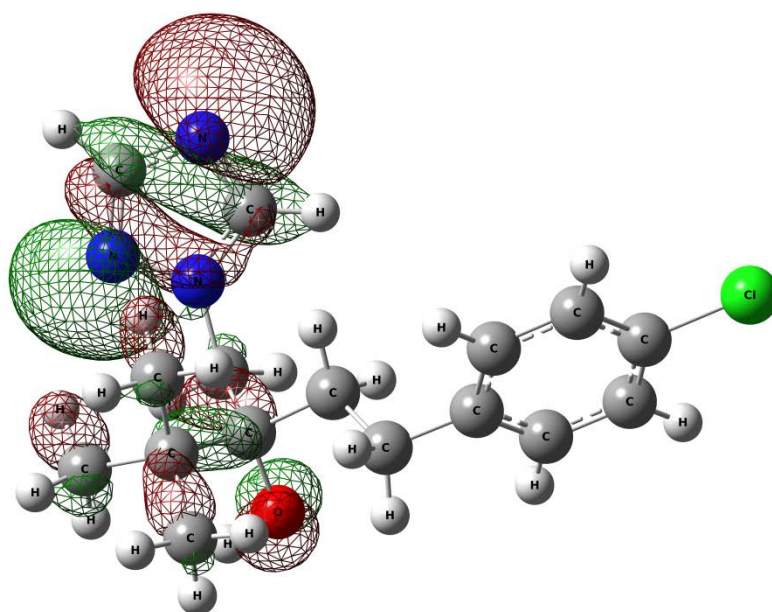


Figura 56. Mapa de contribuição dos orbitais HOMO-3 do TBZ.

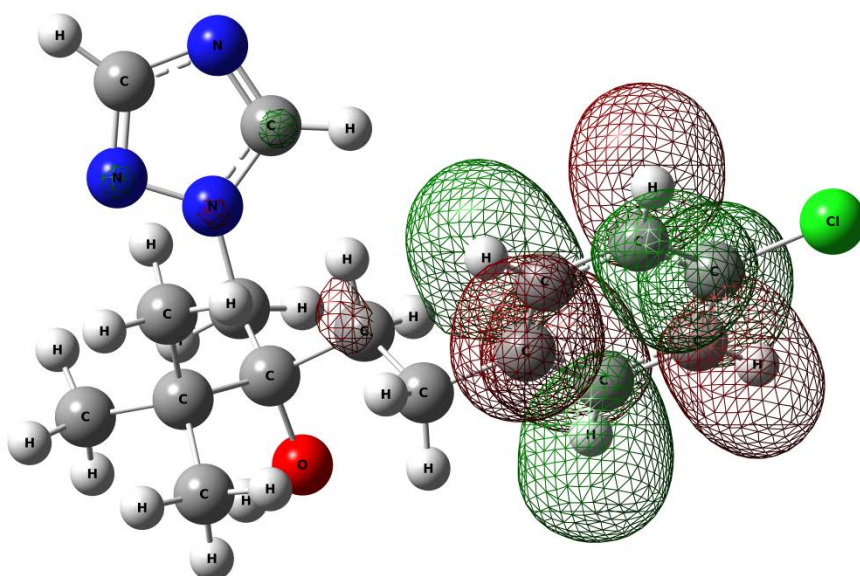


Figura 57. Mapa de contribuição dos orbitais LUMO do tebuconazole.

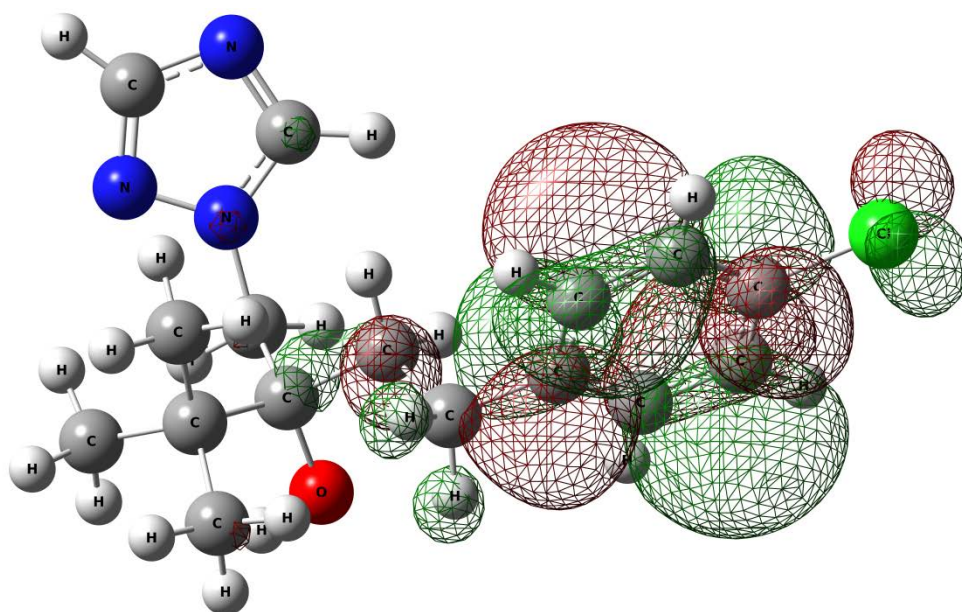


Figura 58. Mapa de contribuição dos orbitais LUMO+1 do tebuconazole.

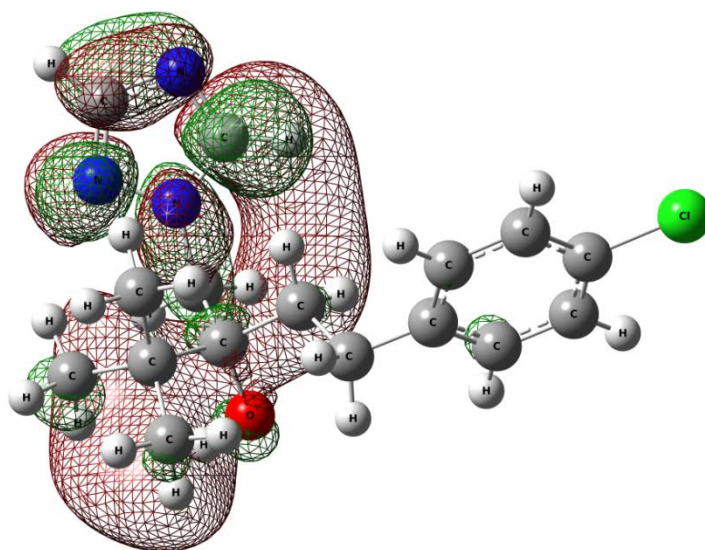


Figura 59. Mapa de contribuição dos orbitais LUMO+2 do tebuconazole.

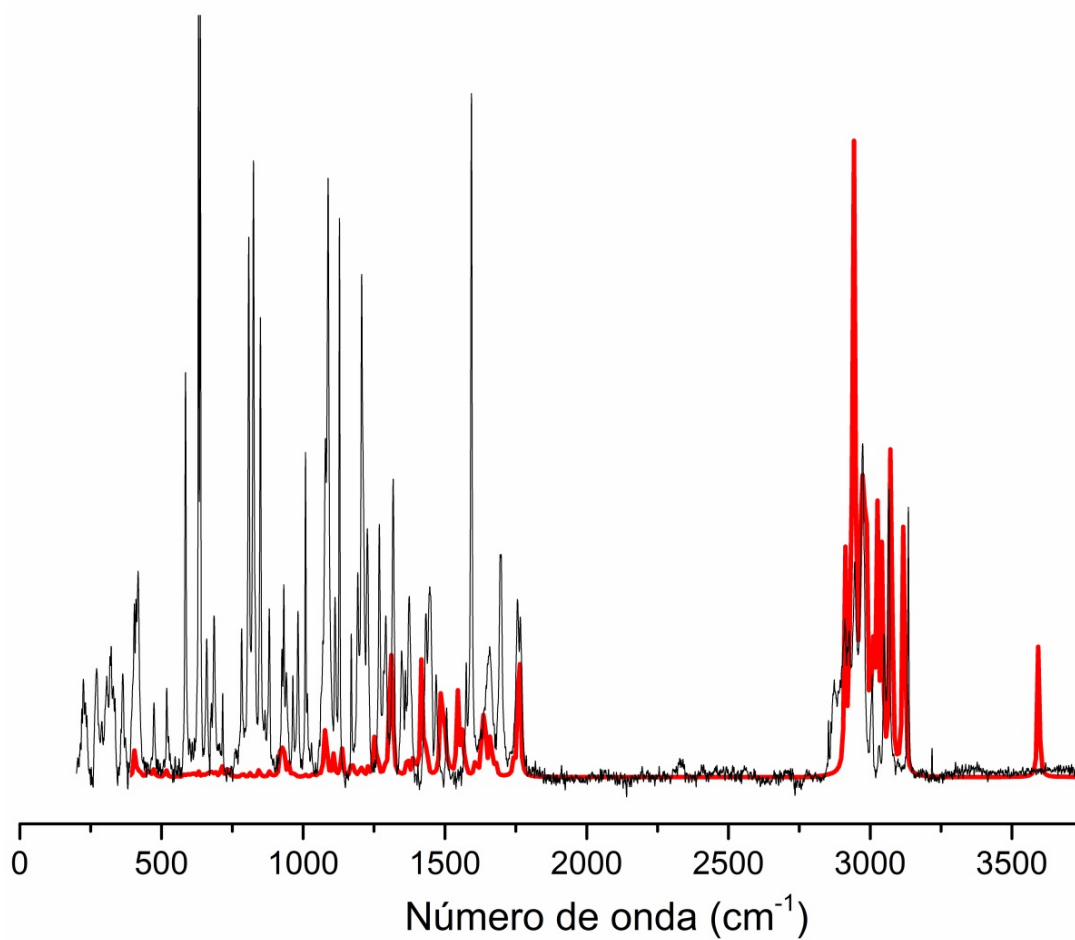


Figura 60. Espectros Raman teórico (-) e experimental (-) para o tebuconazole.

Uma vez obtido o espectro Raman teórico, este foi comparado com o espectro experimental (Figura 60) e o fator de ajuste dos dados de frequência do espectro teórico foi de 0,96460. Para calcular o grau de correlação, expresso pelo valor de r^2 , entre os espectros teórico e experimental foi utilizada a correlação linear dos picos de ambos os espectros e o resultado encontra-se na Figura 61. O coeficiente de correlação $r^2 = 0,9997$ indica que os dados experimentais e teóricos possuem alto grau de correlação.

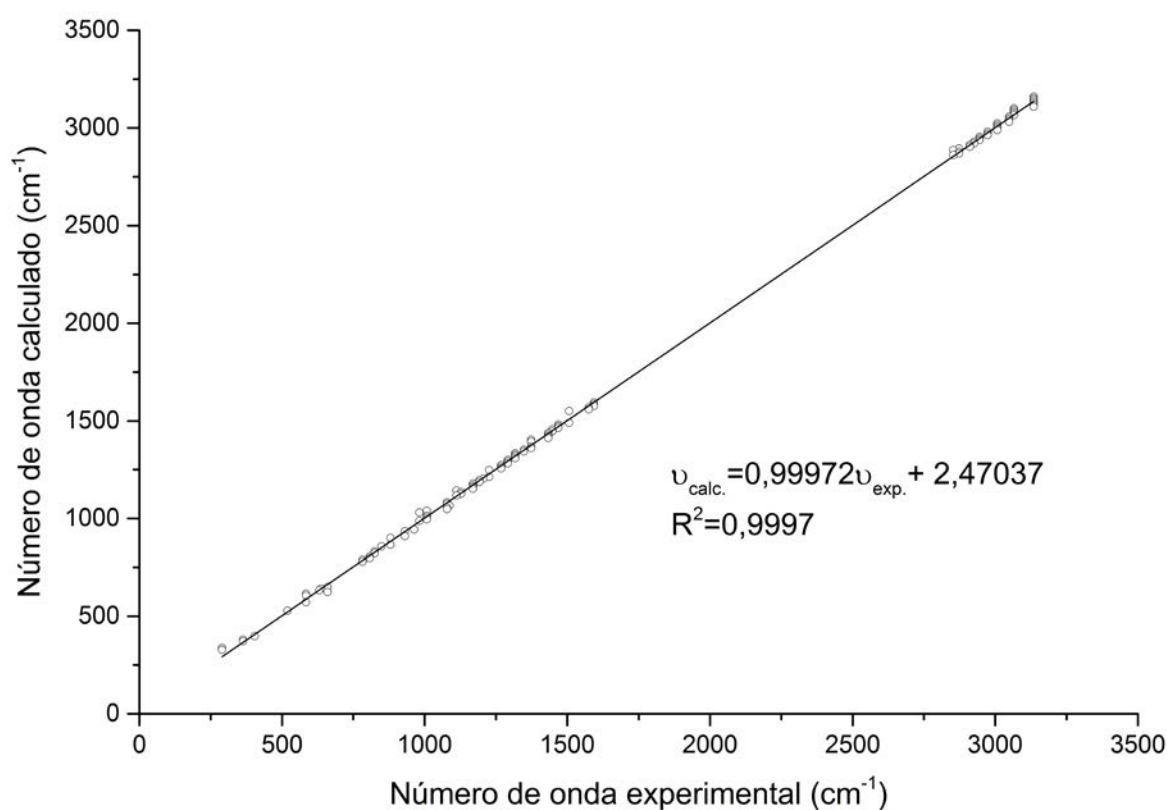


Figura 61. Relação linear entre os números de onda experimental e teórico do tebuconazole.

O espectro teórico (Figura 62) foi utilizado para identificar os picos de espalhamento Raman e associa-los à estrutura química do TBZ. O pico de espalhamento Raman em 1638 cm^{-1} está associado ao estiramento simétrico carbono-carbono do anel aromático $\nu(\text{C-C anel})$.

Em 3006 cm^{-1} tem-se o estiramento simétrico, $\nu(\text{CH}_3)$, no carbono 5c (Figura 62). O pico em 3042 cm^{-1} está associado ao tipo de estiramento descrito para o

carbono 5c, porém para os carbonos 12c e 13c. A frequência observada em 3195 cm^{-1} foi associada ao estiramento assimétrico dos hidrogênios do anel aromático. Já a frequência em 3.249 cm^{-1} refere-se ao estiramento simétrico dos hidrogênios do anel triazol.

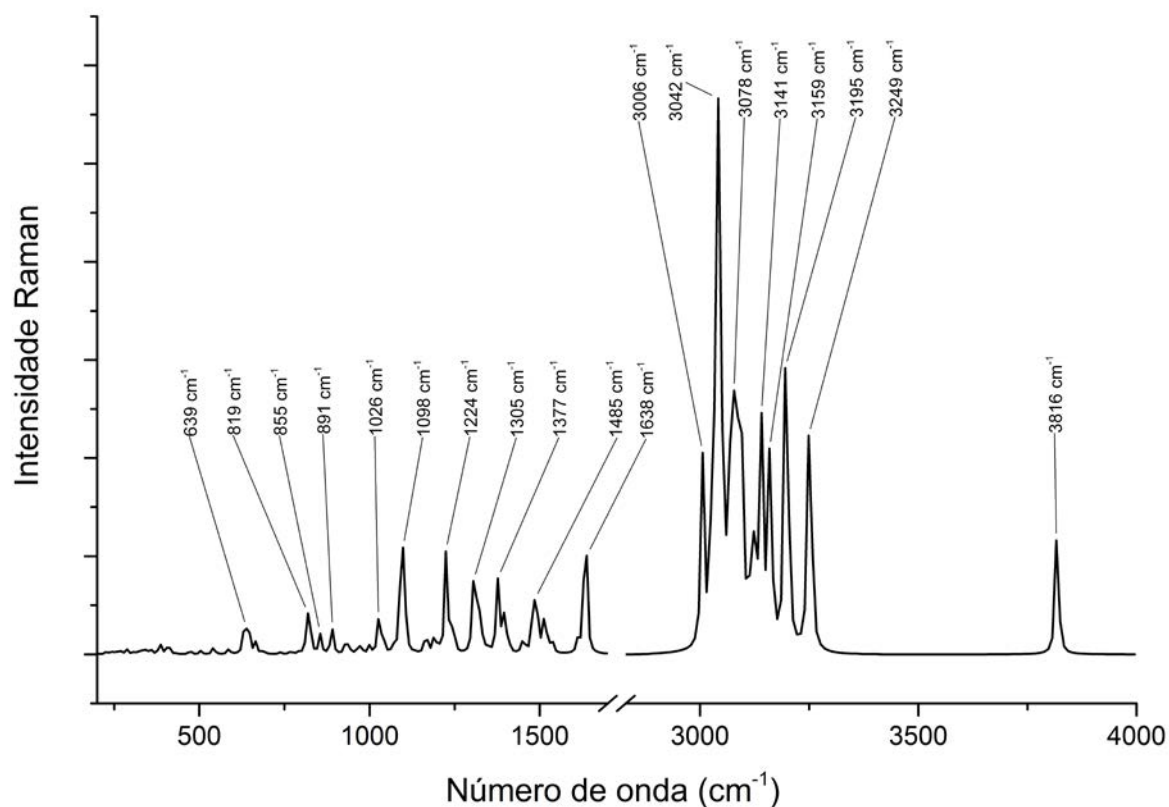


Figura 62. Espectro Raman teórico do TBZ obtido pelo método DFT utilizando o software Gaussian 09W.

4. Conclusão

Os parâmetros de síntese de micropartículas de etilcelulose: concentração do polímero (EC), massa do surfactante, velocidade e tempo de homogeneização de alta velocidade são preponderantes na formação das micropartículas de etilcelulose. Foram obtidas micropartículas de etilcelulose com diâmetro médio variando de 0,26 μm ($\pm 0,13$) a 1,64 μm ($\pm 0,1,86$) variando-se estes parâmetros, sendo que o principal efeito sobre o diâmetro das micropartículas foram a concentração do polímero (+0,28) e velocidade de homogeneização (-0,43).

O rendimento das micropartículas variou entre 10,07 e 96,59%, sendo encontrado que o principal responsável pelo rendimento obtido foi a concentração do surfactante. A amostra EEC50 apresentou a melhor distribuição com média de distribuição igual 0,21 ($\pm 0,078$) μm .

A encapsulação do tebuconazole nas partículas de etilcelulose foi confirmada pelas análises cromatográficas e espectroscópicas, sendo obtida a eficiência de encapsulação média de 76,0 ($\pm 4,9$) para EEC25, 69,6 ($\pm 4,0$) para EEC50, 60,6 ($\pm 2,3$) EEC100 e 45,5 ($\pm 1,1$) EEC200. A presença do tebuconazole no meio reacional durante a formação das micropartículas alterou a sua morfologia e possivelmente está relacionado à interação das moléculas do polímero com o TBZ.

Um dos efeitos dessa interação é acompanhado pelo enfraquecimento das ligações das hidroxilas demonstrado via espectroscopia Raman. A eficiência de encapsulação foi reduzida com o aumento da concentração de TBZ no meio reacional, fato este que corrobora com o argumento da saturação da malha polimérica.

Os testes de liberação do TBZ demonstraram que a liberação ocorre mais intensamente nas amostras com maior massa de TBZ. Um exemplo desta observação é o fato da amostra EEC200 liberar 80,12 % do material encapsulado e a amostra de menor massa de TBZ, EEC25 liberar apenas 32,69%. Estes dados demonstram a influência da matriz na liberação do TBZ devido à interação por forças intermoleculares.

Os dados obtidos pela análise térmica indicam que as partículas de etilcelulose são termicamente estáveis até a temperatura de 160°C e podem ser utilizadas em temperaturas inferiores sem que ocorra a sua degradação térmica significativa.

Os resultados de DRX indicaram claramente que a distribuição do TBZ nas partículas de EC foi a nível molecular, ou seja, não houve a formação de cristais no interior das microesferas. Este fato foi observado devido à ausência de picos cristalinos dada a amorficidade das amostras.

Os resultados dos cálculos teóricos do TBZ foram úteis para identificar os as bandas vibracionais de IR e identificar os picos Raman. A correlação entre os números de onda experimentais e aqueles calculados foi 0,9997 (r^2). Apenas 0,03% da variância dos picos não foram correlacionados.

A presença de TBZ nas partículas foi adequadamente quantificada por cromatografia a gás e também foi identificada pela presença do pico Raman em 1597,98 cm^{-1} . O deslocamento deste pico foi atribuído às interações intermoleculares do TBZ com a matriz.

5. Perspectivas

Com base nos resultados alcançados neste trabalho, sugere-se o aprofundamento das discussões e estudos abaixo relacionados:

- Avaliar o efeito da adição de outros polímeros com o objetivo de aumentar a eficiência de encapsulação;
- Estudar o efeito do surfactante sobre a solubilidade do TBZ e de outros ingredientes ativos;
- Estudar o mecanismo de liberação dos ingredientes ativos a partir das micropartículas utilizando técnicas específicas como o grau de intumescimento, etc.

6. Referências

ARAÚJO, R. A. et al. Impacto causado por deltametrina em coleópteros de superfície do solo associados à cultura do milho em sistemas de plantio direto e convencional. **Neotropical Entomology**, v. 33, n. 3, p. 379-385, 2004.

ASRAR, J. et al. Controlled release of tebuconazole from a polymer matrix microparticle: release kinetics and length of efficacy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 15, p. 4814-4820, 2004.

BAKER, R. W. **Controlled release of biologically active agents**. New York: John Wiley, 1987.

BILATI, U.; ALLEMANN, E.; DOELKER, E. Development of a nanoprecipitation method intended for the entrapment of hydrophilic drugs into nanoparticles. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 24, n. 1, p. 67-75, 2005.

BIRNBAUM, D. T.; BRANNON-PEPPAS, L. Microparticle drug delivery systems. In: BROWN, D. M. (Ed.). **Drug delivery systems in cancer therapy**. Totowa: Humana Press, 2003. p.117-136.

BRASIL. Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior. **Balança comercial brasileira em novembro de 2013**. Disponível em: <http://www.mdic.gov.br/arquivos/dwnl_1387386514.zip>. Acesso em: 05 jan. 2013.

ČADKOVÁ, E. et al. pK a constant determination of two triazole pesticides: tebuconazole and penconazole. **Journal of Solution Chemistry**, v. 42, n. 5, p. 1075-1082, 2013.

CALDAS, S. S. et al. Pesticide residue determination in groundwater using solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography with diode array detector and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 4, p. 642-650, 2010.

CAVALCANTI, O. A. et al. Characterisation of ethylcellulose films containing natural polysaccharides by thermal analysis and FTIR spectroscopy. **Acta Farmacéutica Bonaerense**, v. 23, n. 1, p. 53-57, 2004.

CHEVREUIL, M. et al. Occurrence of organochlorines (PCBs, pesticides) and herbicides (triazines, phenylureas) in the atmosphere and in the fallout from urban and rural stations of the Paris area. **Science of the Total Environment**, v. 182, n. 1, p. 25-37, 1996.

CORREIA, F. V.; LANGENBACH, T.; CAMPOS, T. M. Avaliação do transporte de atrazina em solos sob diferentes condições de manejo agrícola. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, n. 2, p. 525-534, 2010.

CORREIA, F. V. et al. Adsorção de atrazina em solo tropical sob plantio direto e convencional. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 17, p. 37-46, 2007.

COSTA, P.; SOUSA LOBO, J. M. Modeling and comparison of dissolution profiles. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 13, n. 2, p. 123-133, 2001.

DASH, S.; MURTHY, P. N.; NATH, L.; CHOWDHURY, P. Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems. **Acta Poloniae Pharmaceutica**, v. 67, n. 3, p. 217-223, 2010.

DORES, E. F. G. C.; DE-LAMONICA-FREIRE, E. M. Contaminação do ambiente aquático por pesticidas. Estudo de caso: águas usadas para consumo humano em Primavera do Leste, Mato Grosso - análise preliminar. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 27-36, 2001.

DUBEY, R.; SHAMI, T. C.; RAO, K. U. B. Microencapsulation technology and applications. **Defence Science Journal**, v. 59, n. 1, p. 82-95, 2009.

FERNANDEZ, P. et al. Nano-emulsion formation by emulsion phase inversion. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 251, n. 1, p. 53-58, 2004.

FLORES CÉSPEDES, F. et al. Bentonite and anthracite in alginate-based controlled release formulations to reduce leaching of chloridazon and metribuzin in a calcareous soil. **Chemosphere**, v. 92, n. 8, p. 918-924, 2013.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS.

Tebuconazole: (RS)-1-p-chlorophenyl-4,4-dimethyl-3-(1H-1,2,4-triazol-1-ylmethyl)pentan-3-ol. AGP:CP/369 (2000). Disponível em: <http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/Specs/Old_specs/TEBUCONA.pdf>. Acesso em: 09 set. 2014.

GIRI, T. K. et al. Prospects of pharmaceuticals and biopharmaceuticals loaded microparticles prepared by double emulsion technique for controlled delivery. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 21, n. 2, p. 125-141, 2013.

GREEN, B. K.; SCHLEICHER, L. Oil containing microscopic capsules and method of making them. COMPANY, T. N. C. R. United State of America. 2,800,457: 11 p. 1957.

GUAN, H. N. et al. A novel photodegradable insecticide: preparation, characterization and properties evaluation of nano-imidacloprid. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 92, n. 2, p. 83-91, 2008.

HIGUCHI, T. Rate of release of medicaments from ointment bases containing drugs in suspension. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 50, n. 10, p. 874-875, 1961.

HOSSEINI, A.; KÖRBER, M.; BODMEIER, R. Direct compression of cushion-layered ethyl cellulose-coated extended release pellets into rapidly disintegrating tablets without changes in the release profile. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 457, n. 2, p. 503-509, 2013.

JYOTHI, N. V. N. et al. Microencapsulation techniques, factors influencing encapsulation efficiency. **Journal of Microencapsulation**, v. 27, n. 3, p. 187-197, 2010.

KORSMEYER, R. W. et al. Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 15, n. 1, p. 25-35, 1983.

KOS, M. et al. Genetic engineering of plant volatile terpenoids: effects on a herbivore, a predator and a parasitoid. **Pest Management Science**, v. 69, n. 2, p. 302-311, 2013.

KUMBAR, S. G. et al. Encapsulation efficiency and release kinetics of solid and liquid pesticides through urea formaldehyde crosslinked starch, guar gum, and starch plus guar gum matrices. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 82, n. 11, p. 2863-2866, 2001.

KYDONIEUS, A. F. **Controlled release technologies**: methods, theory and applications. Boca Raton: CRC Press, 1980.

LARKIN, P. **Infrared and Raman spectroscopy**: principles and spectral interpretation. Amsterdam: Elsevier, 2011. 230 p.

LEE, P. I.; GOOD, W. R. **Overview of controlled-release drug delivery**. Ardsley: American Chemical Society, 1987.

LEE, Y. S. et al. Production of nanoparticles-in-microparticles by a double emulsion method: a comprehensive study. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 83, n. 2, p. 168-173, 2013.

LI, X. G.; HUANG, M. R.; BAI, H. Thermal decomposition of cellulose ethers. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 73, n. 14, p. 2927-2936, 1999.

LIU, Y.; TONG, Z.; PRUD'HOMME, R. K. Stabilized polymeric nanoparticles for controlled and efficient release of bifenthrin. **Pest Management Science**, v. 64, n. 8, p. 808-812, 2008.

LOPES, C. M.; LOBO, J. M. S.; COSTA, P. Modified release of drug delivery systems: hydrophilic polymers. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 2, p. 143-154, 2005.

LUDOVICE, M. T. F.; ROSTON, D. M.; TEIXEIRA FILHO, J. Efeito da faixa-filtro na retenção de atrazina em escoamento superficial. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 7, n. 2, p. 323-328, 2003.

MADELUNG, P. et al. Impact of sodium dodecyl sulphate on the dissolution of poorly soluble drug into biorelevant medium from drug-surfactant discs. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 467, n. 1/2, p. 1-8, 2014.

MALATO, S. et al. Optimization of pre-industrial solar photocatalytic mineralization of commercial pesticides: Application to pesticide container recycling. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 25, n. 1, p. 31-38, 2000.

MARKUS, A.; LINDER, C. Advances in the technology for controlled-release pesticide formulation. In: BENITA, S. (Ed.). **Microencapsulation**: methods and industrial applications. 2nd ed. New York: Taylor & Francis, 2005. p. 55-77. (Drugs and the pharmaceutical sciences, v. 158).

MAYYA, K. S.; BHATTACHARYYA, A.; ARGILLIER, J. F. Micro-encapsulation by complex coacervation: influence of surfactant. **Polymer International**, v. 52, n. 4, p. 644-647, 2003.

MOSQUERA, C.; MARTÍNEZ, M.; GUERRERO, J. 14C tebuconazole degradation in Colombian soils. **Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences**, v. 75, n. 2, p. 173-181, 2010.

MURTAZA, G. Ethylcellulose microparticles: a review. **Acta Poloniae Pharmaceutica**, v. 69, n. 1, p. 11-22, 2012.

NATIONAL CASH REGISTER CO. (United State). B. K. Green; L. Schleiche. **Oil containin microscopic capsules and method of making them**. US2800458, 30 jun. 1953, 23 jul. 1957.

PELCZARSKA, A. et al. New high throughput screening method for drug release measurements. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 85, n. 1, p. 151-157, 2013.

PÉREZ-MARTÍNEZ, J. I. et al. Ethyl cellulose polymer microspheres for controlled release of norfluazon. **Pest Management Science**, v. 57, n. 8, p. 688-694, 2001.

QIAN, K. et al. Release kinetics of tebuconazole from porous hollow silica nanospheres prepared by miniemulsion method. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 169, p. 1-6, 2013.

RASMUSSEN, J. S. et al. Rapid detection of propiconazole and tebuconazole in wood by solid phase desorption: ion mobility spectrometry. **Wood Science and Technology**, v. 45, n. 2, p. 205-214, 2011.

REZAEI, M. et al. Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1116, n. 1-2, p. 1-9, 2006.

RIBEIRO, A. C. A. et al. Resíduos de pesticidas em águas superficiais de área de nascente do Rio São Lourenço-MT: validação de método por extração em fase sólida e cromatografia líquida. **Química Nova**, v. 36, n. 2, p. 284-290, 2013.

RILEY, R. T. Starch xanthate-encapsulated pesticides - a preliminary toxicological evaluation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 31, n. 2, p. 202-206, 1983.

RIYAJAN, S. A.; SAKDAPIPANICH, J. T. Development of a controlled release neem capsule with a sodium alginate matrix, crosslinked by glutaraldehyde and coated with natural rubber. **Polymer Bulletin**, v. 63, n. 4, p. 609-622, 2009.

SAJID, M.; AKASH, H. Characterization of ethylcellulose and hydroxypropyl methylcellulose microspheres for controlled release of flurbiprofen. **Journal of Pharmaceutics & Drug Delivery Research**, v. 2, n. 1, p. 1-10, 2013.

ŠAŠIĆ, S. **Pharmaceutical applications of Raman spectroscopy**. Hoboken: Wiley-Interscience, 2008.

SCHEYER, A. et al. Analysis of trace levels of pesticides in rainwater using SPME and GC-tandem mass spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 384, n. 2, p. 475-487, 2006.

SEBASTIAN, S.; SUNDARAGANESAN, N.; MANOHARAN, S. Molecular structure, spectroscopic studies and first-order molecular hyperpolarizabilities of ferulic acid by density functional study. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 74, n. 2, p. 312-323, 2009.

SHOAIB, M. H. et al. Evaluation of drug release kinetics from ibuprofen matrix tablets using HPMC. **Pakistan journal of pharmaceutical sciences**, v. 19, n. 2, p. 119-124, 2006.

SIEPMANN, J.; PEPPAS, N. Modeling of drug release from delivery systems based on hydroxypropyl methylcellulose (HPMC). **Advanced drug delivery reviews**, v. 48, n. 2, p. 139-157, 2001.

SILVA, D. R. O. D. et al. Pesticides monitoring in surface water of rice production areas in southern Brazil. **Ciência Rural**, v. 39, n. 9, p. 2383-2389, 2009.

SILVA, D. R. O. D. et al. Pesticide occurrence in groundwater near irrigated rice fields. **Química Nova**, v. 34, n. 5, p. 748-752, 2011.

SINGH, B.; SHARMA, D. K.; GUPTA, A. Controlled release of thiram fungicide from starch-based hydrogels. **Journal of Environmental Science and Health Part B - Pesticides Food Contaminants and Agricultural Wastes**, v. 42, n. 6, p. 677-695, 2007.

SOPEÑA, F.; MAQUEDA, C.; MORILLO, E. Controlled release formulations of herbicides based on micro-encapsulation. **Ciencia e Investigacion Agraria**, v. 36, n. 1, p. 27-42, 2009.

SPERNARTH, L.; MAGDASSI, S. Preparation of ethyl cellulose nanoparticles from nano-emulsion obtained by inversion at constant temperature. **Micro & Nano Letters**, v. 2, n. 4, p. 90-95, 2007.

STOUT, E. I.; SHASHA, B. S.; DOANE, W. M. Pilot-plant process for starch xanthide encapsulated pesticides. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 24, n. 1, p. 153-159, 1979.

SUN, C. et al. Encapsulation and controlled release of hydrophilic pesticide in shell cross-linked nanocapsules containing aqueous core. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 463, n. 1, p. 108-114, 2014.

SYNGENTA BRASIL. Demand 2,5 CS. 2009. Especificações técnicas. Disponível em: <<http://www.syntinela.com.br/website/produtos-e-marcas/control-de-pragas-urbanas-e-de-jardim/produtos/demand25cs/especificacoes-tecnicas.asp>>. Acesso em: 02 dez. 2013.

TECNOCELL AGROFLORESTAL LTDA. **Lantec 2,5 MC**. Carapicuíba. Ficha técnica. Disponível em: <http://www.tecnocellagro.com.br/arquivos/1/ftecnica_124.pdf>. Acesso em: 01 fev. 2014.

VIEIRA, E. O. et al. Avaliação da contaminação do carbofuran nos solos do Distrito de Irrigação do Gorutuba. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 13, n. 3, p. 250-256, 2009.

VOINOVA, O. N. et al. Microbial polymers as a degradable carrier for pesticide delivery. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 45, n. 4, p. 384-388, 2009.

WHITE, M. A. The chemistry behind carbonless copy paper. **Journal of Chemical Education**, v. 75, n. 9, p. 1119, 1998.

YANG, C. Y.; TSAY, S. Y.; TSIANG, R.-C. An enhanced process for encapsulating aspirin in ethyl cellulose microcapsules by solvent evaporation in an O/W emulsion. **Journal of Microencapsulation**, v. 17, n. 3, p. 269-277, 2000.

YE, M. et al. Occupational pesticide exposures and respiratory health. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 10, n. 12, p. 6442-6471, 2013.

ZHU, Y. Y. et al. Nanoencapsulation of beta-cypermethrin by complex coacervation in a microemulsion. **Journal of Surfactants and Detergents**, v. 12, n. 4, p. 305-311, 2009.

Apêndice 1 - Imagens das partículas de EC do planejamento experimental 2⁴ obtidas por FEG-MEV.

