

Joana Sofia Lima Brasileiro

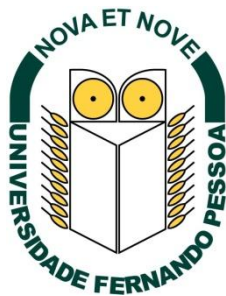
Microencapsulação de compostos bioactivos: inovação em diferentes áreas



Universidade Fernando Pessoa
Faculdade de Ciências da Saúde
Porto, 2011

Joana Sofia Lima Brasileiro

Microencapsulação de compostos bioactivos: inovação em diferentes áreas



Universidade Fernando Pessoa
Faculdade de Ciências da Saúde
Porto, 2011

Microencapsulação de compostos bioactivos: inovação em diferentes áreas

Joana Sofia Lima Brasileiro

Assinatura: _____

Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa como parte dos requisitos para
obtenção do grau de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Resumo

A microencapsulação é uma técnica na qual substâncias no estado sólido, líquido e gasoso são revestidas por um agente encapsulante, obtendo-se partículas com dimensões microscópicas. Esta técnica apresenta aplicações em vários sectores industriais, nomeadamente, nas áreas farmacêutica e alimentar, proporcionando, entre muitos outros aspectos, uma libertação controlada dos compostos bioactivos. Outra área que beneficia das vantagens da microencapsulação é o sector agrícola, procurando essencialmente reduzir o nível tóxico e a contaminação ambiental deste tipo de produtos. Adicionalmente, outros sectores (e.g. cosméticos, pigmentos, biotecnologia industrial) usufruem também das vantagens associadas a esta técnica. Durante o processo de microencapsulação, a selecção do material encapsulante, normalmente um agente polimérico, é uma etapa de importância crucial. O agente encapsulante deve ser escolhido em função das características do composto bioactivo, da aplicação pretendida e do método de formação das partículas.

O presente trabalho visa a revisão dos principais aspectos associados à microencapsulação, dando exemplos da aplicação prática nos vários sectores de actividade referidos anteriormente.

Abstract

Microencapsulation is a technique by which substances in solid, liquid and gas are surrounded with a coating material, resulting in microscopic size particles. It has been applied with success in various industrial sectors, particularly in pharmaceuticals and food, allowing, among many other advantages, the controlled release of several bioactive compounds. Another area that benefit of the advantages of microencapsulation technique is the agricultural sector, in which the aim is reducing environmental contamination and toxic level of the products. Additionally, other sectors (such as cosmetics, pigments, industrial biotechnology) also have the advantages associated with this technique. During the microencapsulation process, the crucial step is the selection of the coating material, which is typically a polymeric agent. This agent should be chosen according to the characteristics of the bioactive compound, the intended application and method of formation of particles.

The present study aims to review the main aspects related to microencapsulation, giving examples of practical application in various sectors.

Agradecimentos

Agradeço aos meus pais por me terem dado a oportunidade de me licenciar e por todos os esforços que fizeram durante estes seis anos.

Um agradecimento especial à Professora Doutora Carla Martins Lopes pela forma como me orientou na realização deste trabalho e por todo o tempo que me dedicou, facultando-me todos os ensinamentos necessários.

Agradeço ao resto da minha família pelo apoio incondicional que sempre me transmitiram.

Agradeço também a força que todos os meus amigos me deram.

Índice

	Página
I. Introdução.....	14
II. Microencapsulação: Conceitos gerais	16
2.1. Micropartículas	16
2.2. Agente encapsulante	17
2.3. Agente encapsulado/núcleo interno	18
2.4. Mecanismo de libertação	19
III. Métodos de microencapsulação	23
3.1. Métodos Químicos	24
3.1.1. Inclusão moléculas ou inclusão em complexos	24
3.1.2. Polimerização.....	26
3.2. Métodos Físicos	29
3.2.1. <i>Spray drying</i> e <i>spray coating</i>	29
3.2.2. <i>Pan coating</i>	31
3.2.3. Leito fluidizado.....	32
3.2.4. Extrusão centrífuga com múltiplos orifícios.....	34
3.3. Métodos Físico-Químicos	35
3.3.1. Coacervação e separação das fases	35
3.3.2. Emulsificação/evaporação do solvente	37
IV. Caracterização das micropartículas	39
4.1. Análise do tamanho das partículas.....	39
4.2. Avaliação da eficácia de encapsulação e análise da capacidade de carga	40
4.3. Análise morfológica.....	41
4.4. Análise química	41
4.5. Análise térmica e termodinâmica.....	42
4.6. Análise das propriedades adesivas.....	43
4.7. Análise da degradação <i>in vitro</i>	43
4.8. Análise da citotoxicidade.....	43
4.9. Análise da libertação e da permeabilidade da substância encapsulada..	44
V. Aplicação da microencapsulação em diferentes áreas.....	46
5.1. Área Farmacêutica	46

5.2. Área Alimentar	48
5.3. Área Cosmética	51
5.4. Área Agro-químicos	54
VI. Conclusão	58
VI. Bibliografia.....	60

Lista de abreviaturas

A - Fase aquosa

ADN - Ácido desoxirribonucleico

ATR - *Attenuated Total Reflection*

CC - Capacidade de carga

CD - Ciclodextrina

EC - Etilcelulose

EDM - Enzimas dehidrogenases mitocondriais

EE - Eficácia de encapsulação

HPMC - Hidroxipropilmetilcelulose

MTT - Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazólio

O - Fase oleosa

PHB - Polihidroxibutirato

PHBV - Poli(3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato)

PV (OH) - Álcool polivinílico

RCI - Reguladores de crescimento de insectos

SEM - *Scanning electron microscopy*

TEM - *Transmission electron microscopy*

Índice de Figuras

	Página
Figura 1. Estrutura das micropartículas (adaptado de Silva <i>et al.</i> , 2003).....	16
Figura 2. Exemplo da formação dos complexos de inclusão (adaptado de Davis e Brewster, 2004).....	25
Figura 3. Etapas da polimerização em emulsão (adaptado de Bourgeat-Lami, 2002).....	27
Figura 4. Etapas da polimerização em suspensão (adaptado de Rohr <i>et al.</i> , 1999).....	27
Figura 5. Processo da polimerização interfacial (adaptado de Odian, 2004).....	28
Figura 6. Esquematização das principais etapas envolvidas no processo de microencapsulação por <i>spray drying</i> (adaptado de Ré, 2006).....	30
Figura 7. Representação do processo de microencapsulação por <i>pan coating</i> (adaptado de Bansode <i>et al.</i> , 2010).....	32
Figura 8. Representação do processo de microencapsulação por leito fluidizado (adaptado de Briens e Bojarra, 2010).....	33
Figura 9. Representação esquemática do método coacervação (adaptado de Kissel <i>et al.</i> , 2006).....	36
Figura 10. Produção de micropartículas pelo método de emulsificação/evaporação do solvente (adaptado de Zanetti <i>et al.</i> , 2002).....	38
Figura 11. Factores que influenciam a eficácia de encapsulação das micropartículas (adaptado de Jyothi <i>et al.</i> , 2009).....	40
Figura 12. Reacção do teste MTT (adaptado de Laaksonen <i>et al.</i> , 2007).....	44

Figura 13. A) Têxtil/tecido com microcápsulas; B) Têxtil/tecido em contacto com a pele; C) Libertação das substâncias cosméticas dos materiais têxteis na pele (adaptado de Cheng *et al.*, 2008).....53

Figura 14. Imagens de microscopia electrónica de varrimento: (A) Fibras de algodão controlo; (B) Fibras de algodão com microcápsulas de gelatina contendo a vitamina C (adaptado de Cheng *et al.*, 2008).....54

Índice de Tabelas

	Página
Tabela 1. Exemplos de agentes encapsulantes usados na microencapsulação de acordo com a sua origem (adaptado de Anson, 2005).....	17
Tabela 2. Exemplos de agentes encapsulantes e os possíveis mecanismos de libertação (adaptado de Trindade <i>et al.</i> , 2008).....	19
Tabela 3. Métodos utilizados na elaboração das microcápsulas (adaptado de Jyothi <i>et al.</i> , 2009).....	24
Tabela 4. Exemplos de fármacos encapsulados.....	47
Tabela 5. Exemplos de substâncias alimentares encapsuladas segundo as várias categorias (adaptado de Desai e Park, 2005).....	49
Tabela 6. Exemplos de substâncias alimentares encapsuladas.....	49
Tabela 7. Exemplos de substâncias cosméticas encapsuladas.....	52
Tabela 8. Exemplos de substâncias cosméticas encapsuladas usadas em têxteis.....	53
Tabela 9. Exemplos de substâncias agro-químicas encapsuladas.....	56

I. Introdução

A microencapsulação é uma técnica que surgiu há muitas décadas, mas ainda apresenta grande aplicação, principalmente nas áreas farmacêutica, alimentar, cosmética e dos agro-químicos (Suave *et al.*, 2006). A microencapsulação compreende um conjunto de diversas técnicas que permitem o desenvolvimento de formulações, em que o seu conteúdo é protegido e a sua libertação pode ser modificada com o objectivo de actuar num determinado local, por um determinado período de tempo e a uma velocidade específica (Suave *et al.*, 2006). É um processo em que as substâncias de interesse, designadas de compostos bioactivos, são incorporadas numa matriz ou num sistema de revestimento (Tiwari *et al.*, 2010), obtendo-se micropartículas com um diâmetro que varia entre 1 e 1000µm (Obeidat, 2009). As substâncias a encapsular apresentam-se geralmente no estado líquido ou sólido, podendo também ser um gás (Trindade *et al.*, 2008).

O primeiro produto bem sucedido obtido por esta técnica - papel de cópia sem carbono - surgiu em 1954 pela National Cash Register, uma empresa norte-americana. Este produto apresentava microcápsulas de tintas, numa porção muito pequena, que continham uma solução de 2 a 6% de um pigmento. Desta forma, quando se pressionava com um lápis no mesmo, destruíam-se as microcápsulas e, conseqüentemente, era libertado o pigmento, o qual mudava de cor devido a alterações do valor de pH, levando à criação da cópia (Ré, 2000). O sucesso deste produto estimulou as pesquisas na área da microencapsulação e gerou um grande número de aplicações para as microcápsulas. Esta técnica é aplicada nos diversos sectores, com vários propósitos, nomeadamente (Depypere *et al.*, 2003; Trindade *et al.*, 2008):

- (i) melhorar as propriedades do material encapsulado, mascarando as características organoléticas (sabores, odores, cor) desagradáveis de alguns materiais;
- (ii) transformar o estado físico das substâncias para melhor manipulação das mesmas;
- (iii) possibilitar a optimização de formulações no que se refere à modulação da libertação da substância a encapsular;
- (iv) estabilizar a substância a encapsular, evitando as reacções de degradação decorrentes das condições adversas ao longo do tracto gastrointestinal (e.g. pH, sistemas enzimáticos);

- (v) reduzir ou eliminar efeitos adversos provocados por algumas substâncias a encapsular (e.g. irritação gástrica provocada pelos anti-inflamatórios não esteróides);
- (vi) separação de materiais reactivos;
- (vii) diminuição da toxicidade do composto bioactivo;
- (viii) controlar a biodisponibilidade;
- (ix) diminuir a volatilidade, impedindo a perda de substâncias;
- (x) aumentar o tempo de conservação;
- (xi) proteger as substâncias dos agentes atmosféricos (e.g. luz, humidade, calor e oxigénio).

Para além das várias vantagens desta técnica é importante também salientar algumas limitações, como por exemplo, o elevado custo e a escolha do método a aplicar no encapsulamento das substâncias devido à ausência de um processo adaptável a todas as substâncias (Venkatesan, 2009 (a)).

Existem vários métodos usados para a preparação de micropartículas, que estão subdivididos em métodos químicos, físicos e físico-químicos. No entanto, a escolha do método mais adequado depende de alguns factores, como por exemplo, das propriedades do material do núcleo, das condições de produção e dos requisitos do produto final (Bansode *et al.*, 2010).

II. Microencapsulação: Conceitos gerais

1. Micropartículas

As micropartículas são partículas de tamanho variável entre 1 e 1000µm de origem biodegradável ou não (Vyas e Khar, 2006). Fisicamente, caracterizam-se pela sua forma esférica e pelo seu aspecto sólido. As micropartículas servem para veicular vários compostos bioativos, tais como fármacos, vitaminas, ADN, péptidos, aromatizantes, corantes, óleos essenciais, nutrientes e pesticidas (Bansode *et al.*, 2010). Relativamente à sua estrutura interna e morfologia, as micropartículas podem ser divididas em dois tipos específicos: as microcápsulas e as microesferas (Figura 1), de acordo com os materiais e métodos envolvidos na sua preparação (Silva *et al.*, 2003).

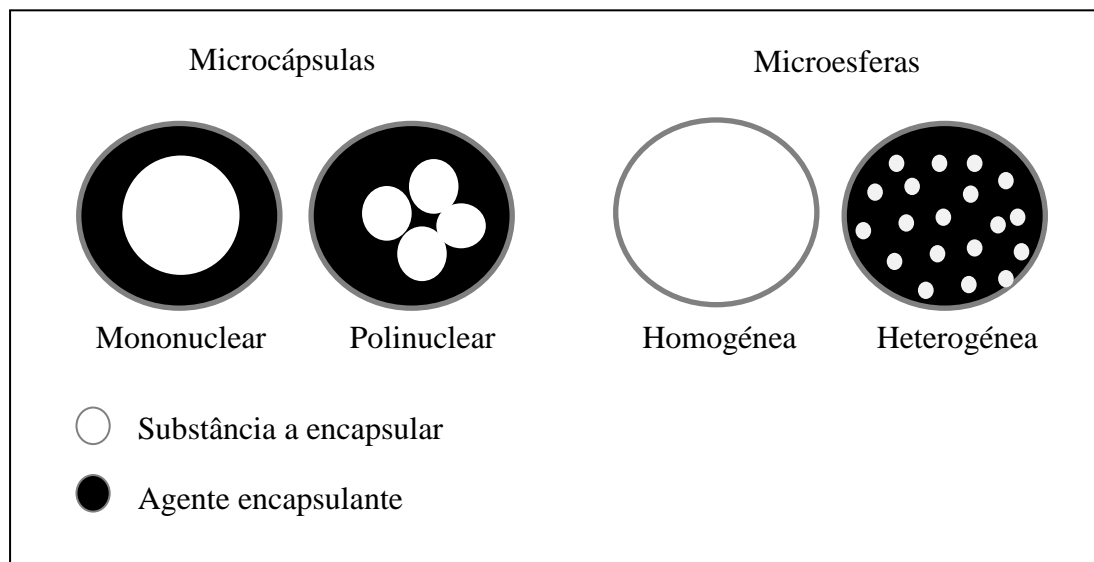


Figura 1 - Estrutura das micropartículas (adaptado de Silva *et al.*, 2003).

As microcápsulas são sistema tipo reservatório, apresentando uma estrutura muito elementar. Estas partículas são constituídas por um núcleo interno, que corresponde ao composto a encapsular, e por uma membrana de revestimento, geralmente de natureza polimérica com uma espessura variável (Suave *et al.*, 2006). Tal como se pode observar na Figura 1, as microcápsulas podem ser mononucleares, quando são constituídas por uma partícula simples, ou polinucleares, quando existe um *cluster* de partículas no interior da partícula revestida (Silva *et al.*, 2003).

As microesferas são sistemas que apresentam uma estrutura do tipo matricial. Neste tipo de sistema, as substâncias a encapsular podem estar adsorvidas à superfície da partícula

ou encapsuladas no seu interior (Azeredo, 2005). As microesferas podem ser classificadas em homogéneas, quando o núcleo se encontra no estado molecular (i.e. dissolvido), ou em heterogéneas, quando o núcleo se encontra no estado suspenso (na forma de partículas), tal como está esquematizado na Figura 1 (Silva *et al.*, 2003).

2. Agente encapsulante

No processo de microencapsulação têm sido utilizados um número bastante vasto de agentes encapsulantes, responsáveis pelo revestimento dos compostos bioactivos, dando forma à microcápsula (Azeredo, 2005). Os agentes encapsulantes podem apresentar diferentes origens desde natural, semi-sintética ou sintética (Anson, 2005), incluindo materiais poliméricos, hidrófilos ou hidrofóbos, ou uma associação de ambos (Jain, 2004). Na Tabela 1 estão referenciados alguns exemplos de agentes encapsulantes classificados de acordo com a sua origem.

Tabela 1 - Exemplos de agentes encapsulantes usados na microencapsulação de acordo com a sua origem (adaptado de Anson, 2005).

Tipos de agentes encapsulantes	Exemplos
Naturais	Gelatina, goma agar-agar, alginato de sódio, alginato de cálcio, dextrano, quitosano, caseinato, sacarose e cera
Semi-Sintéticos	Acetato de celulose, nitrato de celulose, etilcelulose, hidroxipropilcelulose, metilcelulose, carboximetilcelulose de sódio, álcool miristílico, gliceril mono ou dipalmitato, mono, di e triestearato de glicerol
Sintéticos	Polímeros do ácido acrílico e co-polímeros

Um dos principais factores que influencia a estabilidade do composto encapsulado é o tipo de agente encapsulante utilizado na microencapsulação. A escolha do agente encapsulante deve basear-se em alguns critérios, nomeadamente nas características

físicas e químicas do composto bioactivo a encapsular (e.g. porosidade, solubilidade), no tipo de aplicação pretendido (e.g. fármaco, aditivo alimentar, fragrância, pesticida) e no método de microencapsulação seleccionado (Suave *et al.*, 2006).

De acordo com Santos *et al.* (2000) existem algumas características importantes para que o agente encapsulante possa ser considerado ideal. Segundo este autor e colaboradores, o agente encapsulante deve apresentar: (i) uma baixa viscosidade em concentrações elevadas; (ii) ser fácil de manusear durante o processo de microencapsulação; (iii) apresentar baixa higroscopicidade para impedir a aglomeração e ajudar a sua manipulação; (iv) ter uma boa capacidade de incorporar o material a encapsular para impedir a perda deste; (v) proteger o material a encapsular de circunstâncias adversas, como o oxigénio, luz e pH; (vi) não deve ser reactivo com o composto a encapsular; (vii) ter propriedades desejadas de libertação do material a encapsular, solúvel em solventes usados; (viii) apresentar sabor agradável, quando administrado por via oral; (ix) ausência de aroma; (x) ser económico.

A selecção do agente encapsulante mais adequado influencia as propriedades físicas e químicas das micropartículas obtidas. Desta forma, para além dos aspectos mencionados, este deve ter a capacidade de formar uma película coesa com o material do núcleo. Esta capacidade exige compatibilidade química e física, proporcionando as propriedades desejadas, tais como flexibilidade, resistência, impermeabilidade e estabilidade na preparação (Venkatesan *et al.*, 2009 (b)).

3. Agente encapsulado/núcleo interno

As micropartículas possuem um núcleo, no qual se encontram os compostos bioactivos. Este núcleo interno pode apresentar-se tanto no estado líquido, sólido e gasoso (Venkatesan *et al.*, 2009 (b)).

Tal como já referido anteriormente, o material a encapsular pode localizar-se no interior do núcleo da micropartícula, sob a forma dissolvida, suspensa ou emulsionada, ou, inclusivamente, encontrar-se adsorvido à superfície da micropartícula. O núcleo pode ser constituído por uma mistura de diversos agentes, tais como estabilizantes, diluentes, agentes moduladores da libertação. A capacidade de variar a composição do núcleo

permite manipular o *design* e o desenvolvimento das micropartículas de acordo com as propriedades pretendidas (Venkatesan *et al.*, 2009 (b)).

A quantidade de materiais que podem ser encapsulados é bastante diversificada. Entre estes compostos incluem-se substâncias hidrófobas (i.e., substâncias não solúveis em água) e substâncias hidrófilas (i.e., substâncias solúveis em água) (Jain, 2004).

4. Mecanismo de libertação

A técnica da microencapsulação permite que o núcleo esteja isolado do meio externo, de modo a obter um perfil de libertação desejado do composto activo (Gouin, 2004). Deste modo é possível que a libertação do núcleo ocorra no local e no momento pretendido, na quantidade ideal e no período de tempo adequado (Jain, 2004).

Existem vários factores que interferem na velocidade de libertação das substâncias encapsuladas, estando estes relacionados com a interacção entre o núcleo e o agente encapsulante (Gandera *et al.*, 1996). Entre estes factores podem referir-se, por exemplo, a volatilidade do núcleo, a proporção entre o núcleo e o agente encapsulante (Zinutti *et al.*, 1994); a viscosidade e a natureza do agente encapsulante (Gouin, 2004). Quando são utilizados agentes encapsulantes hidrossolúveis, ocorre, geralmente, uma libertação do núcleo mais rápida. Contrariamente, quando são empregues agentes encapsulantes hidrófobos, a libertação torna-se mais lenta (Whorton, 1995). Na Tabela 2 estão descritos os possíveis mecanismos de libertação das partículas formuladas com alguns exemplos de agentes encapsulantes, baseados na sua solubilidade.

Tabela 2 - Exemplos de agentes encapsulantes e os possíveis mecanismos de libertação (adaptado de Trindade *et al.*, 2008).

Agentes encapsulantes	Mecanismos de libertação
Solúveis em água	
Alginato; carragena; caseinato; celulose modificada; quitosano; gelatina; goma xantana; goma arábica; látex; polietilenoglicol; óxido de polietileno; polipectato; álcool polivinílico; amido; açúcar derivatizado.	Mecânico

Alginato; carragena; caseinato; celulose modificada; gelatina; látex; polietilenoglicol; óxido de polietileno; polipectato; álcool polivinílico; amido; açúcar derivatizado.	Dissolução
Goma xantana; goma arábica; polietilenoglicol; óxido de polietileno; açúcar derivatizado.	Térmico
Açúcar derivatizado.	Químico
Insolúveis em água	
Etilcelulose; polímero de etileno-vinil acetato; álcoois gordos, ácidos gordos; resinas de hidrocarbonetos; ftalato de hidroxipropil metilcelulose; mono, di e triacilgliceróis; parafina, ceras naturais; polianidridos; polibuteno; ácido poli(láctico-co-glicólico); polietileno; ésteres de polimetacrilato; fitalato de polivinil-acetato.	Mecânico
Polianidridos; ácido poli(láctico-co-glicólico).	Dissolução
Polímero de etileno- vinil acetato; álcoois gordos, ácidos gordos; resinas de hidrocarbonetos; mono, di e triacilgliceróis; parafina, ceras naturais; polibuteno; polietileno.	Térmico
Álcoois gordos, ácidos gordos; ftalato de hidroxipropil metilcelulose; ácido poli(láctico-co-glicólico); ésteres de polimetacrilato; fitalato de polivinil-acetato.	Químico

Para além dos factores supra citados, o mecanismo de libertação do material encapsulado pode variar de acordo com o tipo e geometria das partículas desenvolvidas.

Na literatura têm sido descritos vários mecanismos de libertação do composto bioativo a partir das micropartículas:

- **Libertação controlada por difusão** - os sistemas de libertação controlados por difusão encontram-se divididos em dois tipos: sistemas de reservatório e sistemas matriciais. Nos sistemas de reservatório, o núcleo que está rodeado pela membrana polimérica não-biodegradável, difunde-se lentamente através desta. A taxa de difusão e, conseqüentemente, a taxa de libertação dependem das propriedades químicas do núcleo interno e do agente encapsulante, bem como, das propriedades físicas do material encapsulante (e.g. dimensões dos poros) (Coimbra, 2010).

No sistema matricial, o núcleo encontra-se uniformemente disperso ou dissolvido numa matriz polimérica, sendo a taxa de libertação controlada pela taxa de difusão do núcleo através dessa mesma matriz (Coimbra, 2010).

- **Libertação activada por solvente** - os sistemas de libertação activados pelo solvente encontram-se também divididos em dois tipos: sistemas de libertação controlados pela pressão osmótica e sistemas controlados pela absorção de água (*swelling*) (Coimbra, 2010).

Os primeiros consistem em reservatórios de volume constante constituído por um invólucro de uma membrana polimérica semi-permeável (permeável ao solvente mas não ao soluto), com um orifício, e com o interior cheio de substância encapsulada no estado sólido e uma solução saturada de substância encapsulada. A pressão osmótica, formada devido à diferença de concentrações da substância encapsulada no exterior e interior da membrana semi-permeável, leva a um fluxo de fluído (água) do exterior para interior do dispositivo, forçando desta forma a solução saturada no interior a sair pelo orifício presente na membrana (Coimbra, 2010).

Quando a libertação é controlada pela absorção de água, a substância a encapsular encontra-se dispersa ou dissolvida numa matriz polimérica constituída por um polímero hidrofílico reticulado (hidrogel). Estas matrizes têm a capacidade de absorver uma grande quantidade de água sem se dissolverem sendo que, nestes casos, a taxa de libertação do fármaco é essencialmente controlada pela taxa de absorção de água da matriz polimérica (Coimbra, 2010).

- **Libertação activada por biodegradação** - quando se utilizam agentes encapsulantes como proteínas ou lípidos, podendo estes materiais ser degradados por enzimas proteases e lipases, respectivamente (Depypere *et al*, 2003);
- **Libertação controlada por alterações dos valores de pH** - baseia-se em alterações da solubilidade do material encapsulante quando este está na presença de meios com diferentes valores de pH (Reineccius, 1995);
- **Libertação activada por variação da temperatura** - este mecanismo de libertação baseia-se em alterações da temperatura, com consequente modificação do estado físico do material encapsulante, bem como, da velocidade de libertação. Existem duas concepções diferentes para este tipo de libertação, a libertação sensível à temperatura, que está relacionada com material que se colapsa ou expande quando atinge uma temperatura crítica e a libertação activada por fusão, que está relacionado com a fusão do material encapsulante por aumento da temperatura (Depypere *et al.*, 2003);

Na prática é comum que a libertação do composto bioactivo das micropartículas resulte da combinação de dois ou vários mecanismos que actuam simultaneamente, pois na maior parte dos casos não existe um mecanismo dominante responsável pela libertação da agente encapsulado (Coimbra, 2010).

III. Métodos de microencapsulação

Segundo Vila Jato (1999), o número de métodos de microencapsulação existentes superam várias centenas. No entanto, a diferença entre estes está no envolvimento ou aprisionamento do material a encapsular pelo agente encapsulante, uma vez que, o produto final é uma suspensão de micropartículas, na qual o seu tamanho é variável.

Idealmente, o método de microencapsulação deve ser simples, reproduzível, rápido e fácil de se transpor à escala industrial (Silva *et al.*, 2003).

A selecção do método de microencapsulação depende de alguns aspectos, tais como, as propriedades físico-químicas, tanto do material a encapsular como do agente encapsulante (principalmente, a solubilidade); a aplicação ou finalidade da micropartículas; o tamanho, textura e forma da micropartícula e o mecanismo de libertação do material a ser encapsulado (Bansode *et al.*, 2010).

As grandes limitações dos métodos de microencapsulação são os custos elevados de todo o processamento, bem como, a falta de disponibilidade de determinados materiais encapsulantes (Suave *et al.*, 2006).

Cada processo de microencapsulação depende de vários aspectos, contudo o princípio básico é comum a todos. De um modo geral, este corresponde à deposição do agente encapsulante sobre o agente a encapsular, seguindo uma série de etapas. Inicialmente, o agente encapsulante é dissolvido ou fundido, encontrando-se no estado líquido. Por sua vez, o agente a encapsular pode estar presente na forma de partículas pequenas (se for de natureza sólida) ou em gotas (se for de natureza líquida) ou até mesmo na forma de gás. O material a encapsular é colocado num meio apropriado e posteriormente, sobre este deposita-se o agente encapsulante. Por fim, o agente encapsulante sofre solidificação formando-se as micropartículas (Venkatesan *et al.*, 2009 (b)).

De acordo com a natureza do envolvimento ou aprisionamento entre o agente encapsulante e o material encapsulado, os métodos podem ser divididos em três grupos fundamentais: químicos, físicos ou físico-químicos (Tiwari *et al.*, 2010).

Neste trabalho não se pretende fazer uma abordagem exaustiva dos diversos métodos de microencapsulação disponíveis, apenas serão referidas as técnicas mais representativas de cada um dos grupos (Tabela 3).

Tabela 3 - Métodos utilizados na elaboração das micropartículas (adaptado de Jyothi *et al.*, 2009).

Métodos de microencapsulação	Natureza do material do núcleo	Tamanho da partícula aproximado (μm)
Métodos Químicos		
Inclusão molecular ou inclusão em complexos	Líquido	5-50
Polimerização	Líquido/Sólido	1-500
Métodos Físicos		
<i>Spray drying e spray congealing</i>	Líquido/Sólido	600
<i>Pan coating</i>	Sólido	600-5000*
Leito fluidizado	Sólido	>100
Extrusão centrífuga com múltiplos orifícios	Líquido/sólido/gás	125-3000
Métodos Físico-Químicos		
Coacervação e separação de fases	Líquido/Sólido	3-5000*
Emulsificação seguida da evaporação do solvente	Líquido/Sólido	5-5000*

*5000 μm não corresponde ao tamanho limite. Este método de microencapsulação também é aplicado para a macroencapsulação.

3.1. Métodos Químicos

3.1.1. Inclusão molecular ou inclusão em complexos

Este processo ocorre a nível molecular e utiliza normalmente a β -ciclodextrina (β -CD) como material encapsulante, sendo um método frequentemente aplicado para encapsular

compostos como vitaminas, óleos essenciais, corantes, aromas (Martin Del Valle, 2004).

O interior da β -CD apresenta carácter hidrófobo, enquanto a sua superfície externa é hidrófila. Esta estrutura torna-a capaz de actuar como uma “molécula hospedeira”, possibilitando a formação de complexos de inclusão com várias “moléculas hóspedes” de polaridade reduzida e com dimensões inferiores às cavidades da β -CD (Oliveira *et al.*, 2009), como se pode verificar na Figura 2.

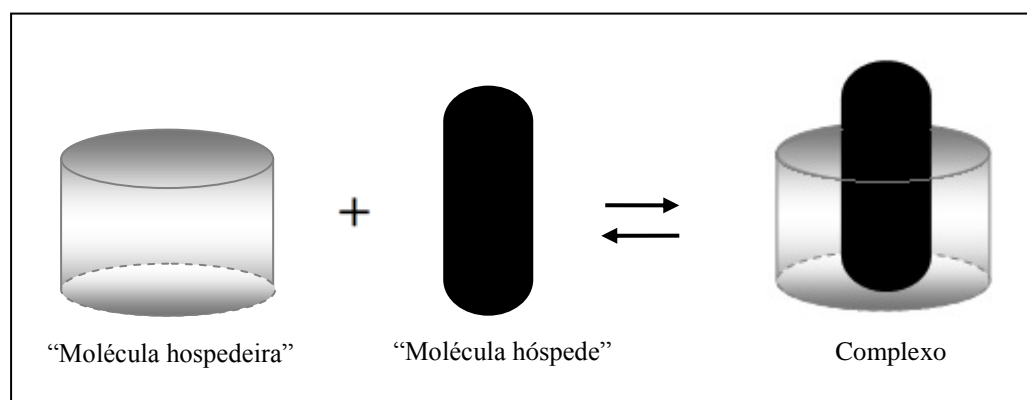


Figura 2 - Exemplo da formação dos complexos de inclusão (adaptado de Davis e Brewster, 2004).

O mecanismo deste processo envolve a substituição de moléculas de água da cavidade da β -CD por moléculas hóspede menos polares, até atingir um equilíbrio dinâmico, com ganho de energia (Brewster e Loftsson, 2007).

A formação destes complexos provém de um arranjo geométrico entre a “molécula hóspede” e a “molécula hospedeira”, bem como, da compatibilidade a nível de polaridade entre as duas (Santos e Meireles, 2010).

A formação destes complexos com a β -CD promove a estabilidade dos agentes encapsulados contra a hidrólise, a oxidação e a fotodecomposição (Loftsson e Brewster, 1996).

A utilização da β -CD pode ser uma técnica vantajosa, pois estes compostos apresentam a capacidade de se complexarem com um elevado número de compostos hidrófobos, alteram positivamente as propriedades físico-químicas do material a encapsular, estão disponíveis em grandes quantidades, sendo o método utilizado simples e economicamente rentável (Veiga *et al.*, 2006).

3.1.2. Polimerização

Segundo Kreuter (1994), existem várias técnicas de polimerização que podem ser usadas na elaboração de micropartículas. O mecanismo geral deste método baseia-se na formação de microcápsulas por polimerização dos monómeros que são colocados no reactor de polimerização (Kasturagi *et al.*, 1995).

Este processo envolve a reacção de dois monómeros distintos, distribuídos por dois solventes imiscíveis, que formam um polímero que é o revestimento da micropartícula, uma vez que a reacção ocorre na superfície do material a encapsular (Kasturagi *et al.*, 1995).

A polimerização *in situ* em sistema emulsionado é um método que, normalmente, ocorre num meio composto por água (agente dispersante), pelo monómero, pelo tensioactivo e por um agente iniciador (Vieira *et al.*, 2002).

O monómero é uma substância orgânica, que neste método, apresenta uma solubilidade limitada na fase aquosa e intumescer o polímero formado. Quando se mistura com a água, o sistema separa-se em duas fases, a orgânica e a aquosa. Posteriormente, o sistema é agitado e a fase orgânica encontra-se na forma de gotas dispersas na fase aquosa contínua. A presença do agente tensioactivo tem como função promover a estabilidade coloidal às partículas do polímero, e a partir de uma determinada concentração, designada de concentração micelar crítica, formam-se micelas. A polimerização ocorre na parte interna hidrófoba das micelas do tensioactivo, na qual o monómero e o iniciador se difundem. O iniciador quando é adicionado gera a formação de radicais livres (oligoradicaís) (Vieira *et al.*, 2002).

De uma forma resumida, o princípio do processo de polimerização em emulsão foi sugerido por Bourgeat-Lami (2002), segundo as seguintes etapas:

- I) o tensioactivo adsorve à superfície do agente a encapsular, formando micelas à volta deste;
- II) o monómero solubiliza-se nas micelas que foram adsorvidas à superfície;
- III) ocorre a polimerização a partir dos monómeros e dos oligoradicaís que estão presentes no interior das micelas adsorvidas, obtendo-se materiais encapsulados no polímero.

A Figura 3 esquematiza as etapas referidas anteriormente.

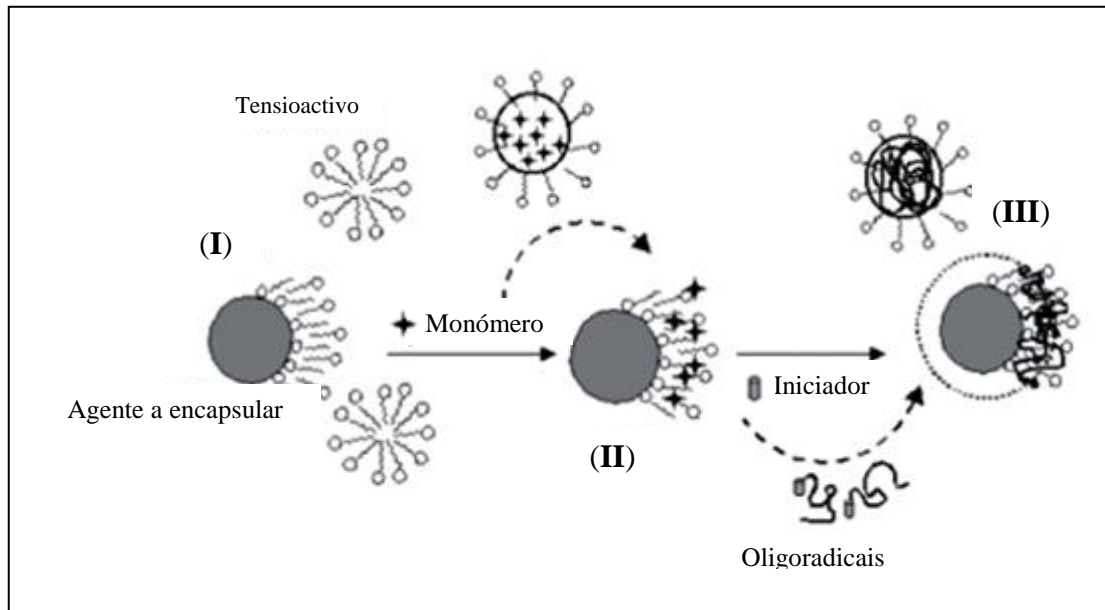


Figura 3 - Etapas da polimerização em emulsão (adaptado de Bourgeat-Lami, 2002).

A polimerização *in situ* em suspensão apresenta um sistema com um ou mais monómeros insolúveis em água, contendo um iniciador solúvel na fase orgânica. Estes são dispersos numa fase aquosa contínua devido à agitação forte e à adição de pequenas quantidades de agentes estabilizantes. A agitação deve ser suficientemente satisfatória para que o monómero se mantenha na forma de gotículas, passando lentamente a uma mistura viscosa e depois a uma partícula sólida de polímero. Os agentes estabilizadores têm como função evitar a coalescência das gotas orgânicas suspensas na fase aquosa, estabilizando as gotas do polímero (Machado *et al.*, 2007). A Figura 4 representa as etapas deste processo.

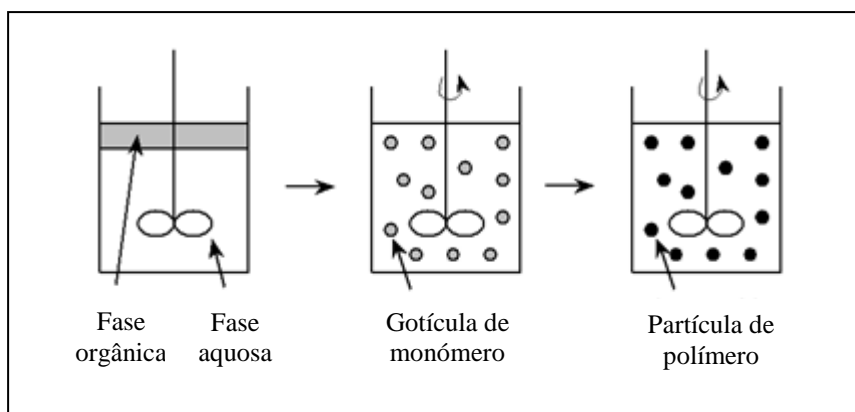


Figura 4 – Etapas da polimerização em suspensão (adaptado Rohr *et al.*, 1999).

A polimerização *in situ* interfacial baseia-se na polimerização de monómeros reactivos na interface de duas fases imiscíveis. Neste método, dois monómeros reactivos são dissolvidos separadamente em líquidos imiscíveis, sendo que um monómero é solúvel na fase aquosa e o outro monómero é solúvel na fase orgânica. A fase orgânica é dispersa na fase aquosa, juntamente com o agente a encapsular. Após isto, os monómeros reagem entre si de forma rápida na interface das fases aquosa e orgânica, formando uma fina película de polímero, como exemplifica a Figura 5 (Odian, 2004).

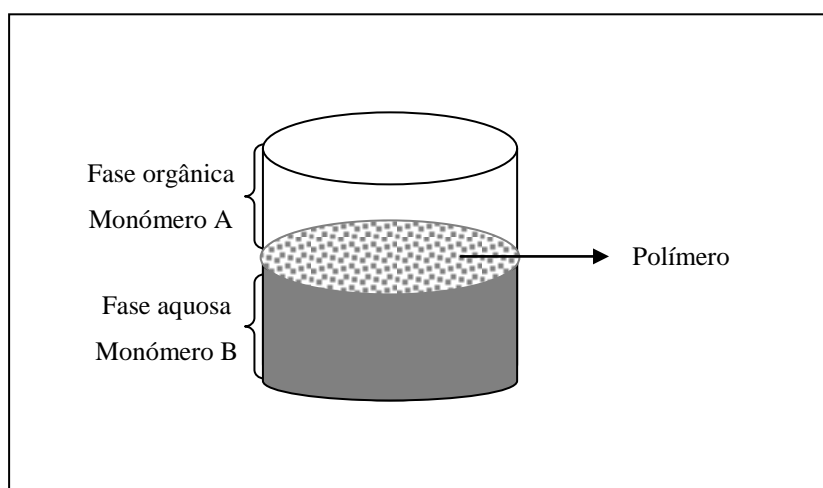


Figura 5 - Processo da polimerização interfacial (adaptado de Odian, 2004).

Esta técnica apresenta algumas limitações devido à toxicidade dos monómeros que não reagem, à elevada permeabilidade do revestimento e à fragilidade das membranas obtidas (Silva *et al.*, 2003). Apesar destes inconvenientes, a utilização de diferentes monómeros permite controlar o tamanho e a espessura do revestimento das partículas produzidas.

A técnica *spray-polycondensation*, tal como o termo indica, está relacionado com a condensação de um monómero hidrossolúvel e a obtenção do polímero numa só fase. Este método dá-se por nebulização de uma solução ou dispersão do material a encapsular em conjunto com monómeros e um catalizador (Guinchedi e Conte, 1995).

3.2. Métodos Físicos

3.2.1. *Spray drying e spray congealing*

Os métodos *spray drying* e *spray congealing* são usados há muitos anos como técnicas de microencapsulação. As semelhanças entre estes dois processos permitem a sua discussão conjunta (Venkatesan *et al.*, 2009 (b)).

O método *spray drying* é um dos mais antigos métodos de encapsulação, tendo sido originalmente utilizado, na década de 30, para preparar os primeiros compostos contendo sabores encapsulados, usando como agente encapsulante a goma acácia (Wilson e Shah, 2007).

Relativamente ao método *spray drying*, a substância a encapsular é homogeneamente dispersa ou dissolvida numa solução aquosa ou dispersão que contém o agente encapsulante, sendo o sistema atomizado numa corrente de ar quente. Posteriormente, ocorre evaporação do solvente, obtendo-se a rápida solidificação das gotículas. Esta técnica baseia-se no bombeamento da solução até ao atomizador, onde é aspergida na forma de névoa de gotículas (*spray*), até à câmara de secagem. Neste compartimento ocorre a evaporação do solvente (secagem pelo ar quente) onde as gotas líquidas passam a partículas sólidas secas, que depois são recolhidas no ciclone ou noutro sistema de colecta de pó (Braga, 2005). A Figura 6 esquematiza as etapas envolvidas na técnica de microencapsulação por *spray drying*.

É a técnica mais comumente empregue para a obtenção de micropartículas, sendo as variáveis do processo: as temperaturas do ar de entrada e de saída, o fluxo de ar ou do fluído de arraste, a distribuição da temperatura e da humidade, o tempo de permanência e a geometria da câmara (Kissel *et al.*, 2006).

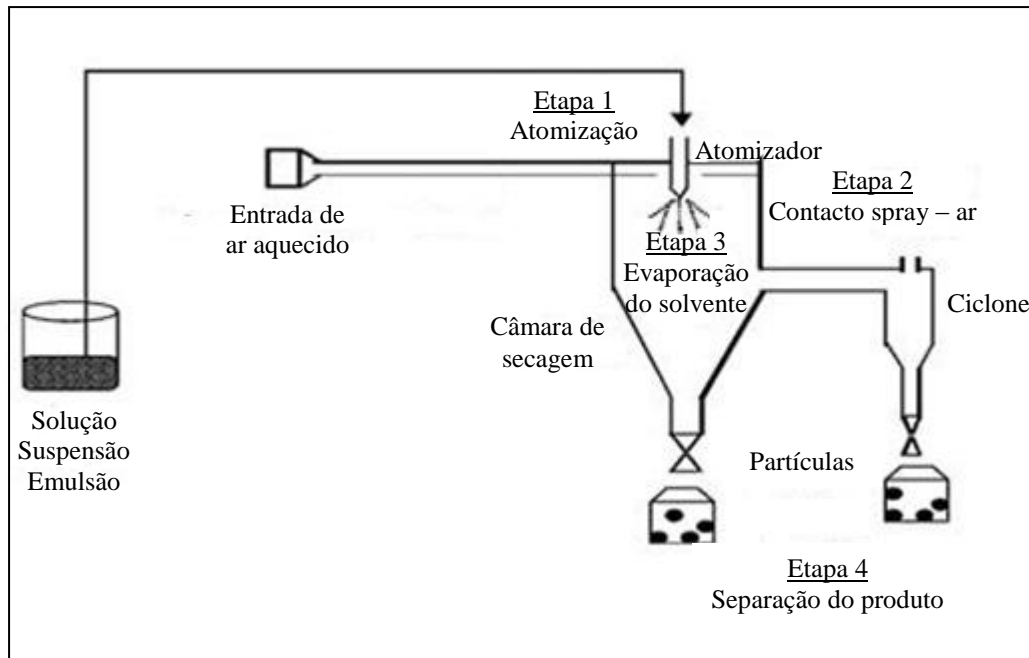


Figura 6 - Esquemática das principais etapas envolvidas no processo de microencapsulação por *spray drying* (adaptado de Ré, 2006).

A técnica de *spray drying* é um método simples, rápido, apresentando um baixo custo de processo e permite obter o produto final sem necessidade de efectuar lavagens para separar as micropartículas ou eliminar resíduos de solventes (Aftabrouchad e Doelker, 1992). A utilização de calor pode ser considerada um inconveniente, capaz de afectar as propriedades dos compostos termossensíveis, quer seja o agente encapsulado quer seja o agente encapsulante. No entanto, a relação elevada entre a superfície específica/volume das partículas promove uma rápida evaporação do solvente. Nestas circunstâncias, o tempo de exposição das partículas ao calor é reduzido (geralmente, poucos segundos), e a temperatura do núcleo não ultrapassa os 100°C, o que reduz a probabilidade de ocorrer alterações indesejáveis em compostos termossensíveis (Guinchedi e Conte, 1995).

O tipo e a concentração do agente encapsulante, a velocidade e a temperatura de alimentação do sistema são aspectos fulcrais neste método, influenciando as características das micropartículas (Silva *et al.*, 2003).

Normalmente, as condições e as variáveis do processo *spray congealing* são muito idênticas às do processo anteriormente referido. No processo *spray congealing*, o agente a encapsular é disperso ou dissolvido no agente encapsulante fundido, e não numa solução. Posteriormente, esta dispersão quente é nebulizada numa corrente de ar frio, formando as micropartículas, devido à solidificação do veículo. Para além desta

diferença em relação à técnica de *spray drying*, ainda existe o facto deste processo não utilizar água ou solventes orgânicos, utilizar menos energia e menos tempo no seu processamento, traduzindo-se em vantagens consideráveis deste método (Bansode *et al.*, 2010).

Nesta técnica a solidificação do revestimento ocorre por congelamento térmico do agente encapsulante fundido, ao passo que no caso do *spray drying*, a solidificação do revestimento é efectuada pela evaporação rápida do solvente. Resumindo, a grande diferença entre estes dois métodos é a forma como o revestimento solidifica (Leon *et al.*, 1990).

3.2.2. Pan Coating

O processo *pan coating* é dos métodos mais antigos na elaboração industrial de micropartículas. Com a aplicação deste processo obtém-se normalmente partículas sólidas de tamanho grande (aproximadamente 600µm) eficazmente revestidas (Leon *et al.*, 1990).

Na prática, as partículas sólidas do agente a encapsular sofrem rotação e, sobre estas, é vertido ou atomizado o agente encapsulante fundido ou dissolvido (Figura 7). À medida que o agente encapsulante é lançado no *coating pan* (turbina) uma corrente de ar quente passa, normalmente, através do material encapsulado a fim de remover o solvente da solução do agente encapsulante. Em determinados situações é possível eliminar os resíduos de solvente do produto final por secagem em estufa (Leon *et al.*, 1990).

Existem alguns factores que interferem na microencapsulação por *pan coating*, tais como, a rotação, o diâmetro, a capacidade da turbina, a forma e tamanho das partículas sólidas que constituem o núcleo, a velocidade de atomização do agente encapsulante e o tempo de revestimento (Bansode *et al.*, 2010).

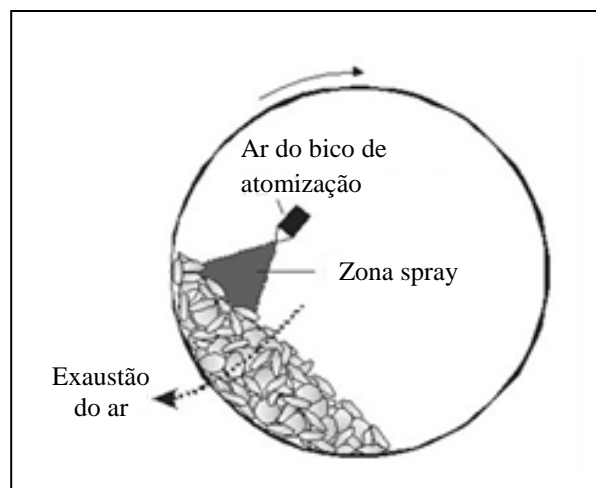


Figura 7 - Representação do processo de microencapsulação por *pan coating*, (adaptado de Bansode *et al.*, 2010).

3.2.3. Leito fluidizado

A microencapsulação por leito fluidizado baseia-se, normalmente, em colocar os componentes da formulação a preparar num reactor de leito fluidizado, onde uma corrente de ar quente, em alta velocidade, é forçada a atravessar as partículas sólidas do agente a encapsular, formando o leito fluidizado. No interior da câmara de revestimento, as partículas sólidas do núcleo são revestidas por nebulização de uma solução, dispersão ou emulsão do agente encapsulante ou mesmo uma massa fundida, com temperatura e humidade controladas (Tewes *et al.*, 2006).

O *design* do reactor de leito fluidizado permite a recirculação das partículas no leito fluidizado, isto é, quando as partículas atingem o topo da coluna são lançadas novamente no leito fluidizado, onde voltam a ser revestidas e secas. O agente encapsulante adere à superfície das partículas por evaporação do solvente ou por arrefecimento da partícula encapsulada. As sucessivas passagens das partículas, com orientação aleatória, por este ciclo de revestimento, asseguram a maior uniformidade do revestimento. A turbulência da coluna de ar é suficiente para manter a suspensão das partículas revestidas, permitindo a sua rotação, o que torna o revestimento uniforme. Este processo é contínuo até obter uma espessura adequada do revestimento. Apesar de ser um processo moroso, o processo de revestimento multicamadas ajuda na redução dos defeitos nas partículas produzidas. A quantidade de partículas revestidas depende da

longitude do reactor e do tempo de permanência do material no reactor de revestimento (Dias, 2007).

A eficácia deste processo depende primordialmente da velocidade mínima de fluidização. A utilização de valores abaixo desta velocidade faz com que o leito não fluidiza, enquanto com a aplicação de valores muito acima, as partículas sólidas são carregadas para fora do leito (Altinkaya, 2008).

Vários sensores, como sondas de temperatura, sensores de pressão, manómetros diferenciais, facilitam o controlo e a monitorização deste método, pelo que podem ser associados a estes equipamentos (Dias, 2007).

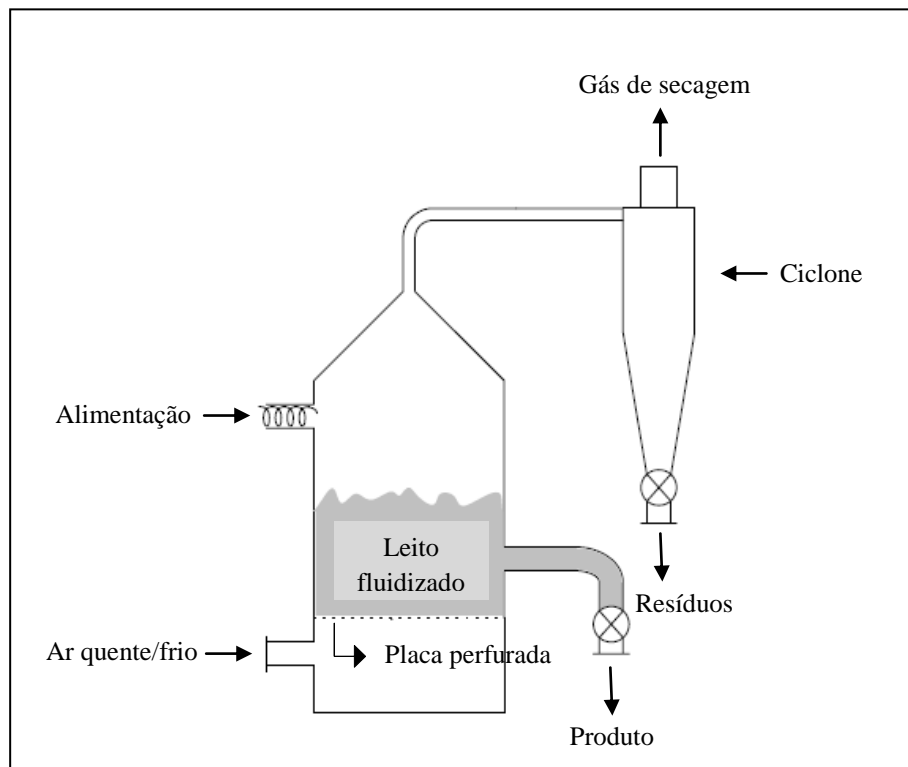


Figura 8 – Representação do processo de microencapsulação por leito fluidizado (adaptado de Briens e Bojarra, 2010).

A encapsulação pela técnica de leito fluidizado é uma das poucas tecnologias que permite que as partículas sejam revestidas com praticamente qualquer tipo de agente encapsulante (e.g. polissacarídeos, proteínas, ceras, lípidos), possibilitando a obtenção de uma ampla gama de formas de libertação controlada. Este método pode ser aplicado com agentes encapsulantes que fundam facilmente (e.g. óleos vegetais hidrogenados,

ácidos gordos, ceras) ou que sejam solúveis (e.g. amido, gomas e maltodextrinas) (Gouin, 2004).

No primeiro caso, utiliza-se uma corrente de ar frio para solidificar o revestimento, enquanto no caso de agentes solúveis utiliza-se uma corrente de ar quente para evaporar o solvente. Nas microcápsulas constituídas por agentes encapsulantes à base de material lipófilo, a libertação do núcleo ocorre por aumento da temperatura ou ruptura física do revestimento. Por sua vez, as microcápsulas com revestimentos hidrossolúveis libertam geralmente o seu conteúdo por contacto com água (Augustin *et al.*, 2001).

Uma das limitações desta técnica é que exige, normalmente, a utilização de uma quantidade significativa de substância a encapsular. No entanto, permite obter um revestimento de espessura mais uniforme do que o revestimento clássico. (Aftabrouhad e Doelker, 1992; Burgess e Hickey, 1994).

3.2.4. Extrusão centrífuga com múltiplos orifícios

A microencapsulação por extrusão centrífuga com múltiplos orifícios é uma técnica utilizada principalmente no caso de compostos termossensíveis (e.g., flavonóides, vitamina C) (Azeredo, 2005).

Este método envolve a dispersão do material a encapsular na massa fundida do agente encapsulante. A dispersão é forçada a passar, através de um extrusor rotativo contendo uma matriz com múltiplos orifícios, em direcção a um banho frio de líquido desidratante (e.g. isopropanol). Durante este trajecto, o movimento de ar quebra o material do núcleo em pequenas gotículas esféricas, sendo a parede de cada uma delas revestida de uma forma contínua com o agente encapsulante. A solidificação do agente encapsulante pode ocorrer por arrefecimento ou por contacto do material com o líquido desidratante, dependendo das propriedades do agente encapsulante (Azeredo, 2005). Nesta fase, qualquer porção oleosa é removida da superfície. Os filamentos do material extrusado são quebrados em fragmentos menores, separados e secos usando um agente *anti-caking* (e.g. tripolifosfato de cálcio) (Shahidi e Han, 1993).

No método por extrusão centrífuga com múltiplos orifícios, as variáveis de processamento incluem: a velocidade rotacional da matriz; a velocidade de fluxo do

núcleo e do agente encapsulante; a concentração, a viscosidade e a tensão superficial do material a encapsular (Venkatesan *et al.*, 2009 (b)).

3.3. Métodos Físico-Químicos

3.3.1. Coacervação e separação de fases

O método de microencapsulação mais antigo e, provavelmente, o mais utilizado baseia-se na técnica de separação de fases por coacervação (Suave *et al.*, 2006).

É uma técnica que consiste na obtenção de um sistema coloidal, a partir de uma solução contendo uma macromolécula dispersa, que apresenta duas fases líquidas imiscíveis. A fase mais concentrada no componente coloidal é o coacervado e a outra fase é a solução de equilíbrio. A fase coacervado apresenta-se no estado disperso com gotículas de líquido amorfo, que acabam por coalescer, formando uma camada contínua que se deposita à volta do material a encapsular (núcleo). Posteriormente, verifica-se a solidificação do revestimento e o isolamento das micropartículas (Dong e Bodmeier, 2006).

O mecanismo geral da coacervação por separação das fases baseia-se em três etapas, realizadas sob agitação contínua (Figura 9) (Leon *et al.*, 1990):

- **Etapa 1** - formação de três fases quimicamente imiscíveis uma fase líquida, que corresponde ao veículo, uma fase do material a ser encapsulado e uma fase do material encapsulante. Para se formar estas três fases, o agente a encapsular é disperso numa solução do material encapsulante (macromolécula), sendo que o solvente do agente encapsulante é a fase do veículo líquido;
- **Etapa 2** - deposição do agente encapsulante: consiste na deposição do agente encapsulante, que se encontra no estado líquido, sobre o material do núcleo. Esta deposição acontece se o material encapsulante for adsorvido na interface que se forma entre a substância a encapsular e a fase do veículo líquido, constituindo um pré-requisito para um revestimento efectivo. A deposição contínua do material encapsulante é promovida por uma redução da energia livre interfacial total do sistema, provocada pela

diminuição da superfície específica do material encapsulante durante a coalescência das gotículas líquidas;

- **Etapa 3** - solidificação do agente encapsulante: consiste na solidificação do material encapsulante, normalmente por técnicas térmicas, de *cross linking* (ligação cruzada) ou dessolvatação, a fim de se formar microcápsulas.

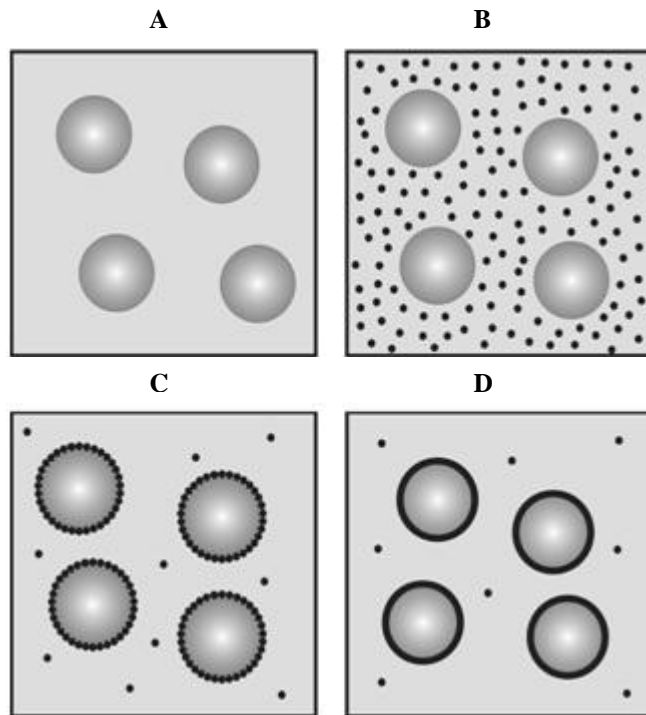


Figura 9 - Representação esquemática do método coacervação: A- Deposição das partículas sólidas ou líquidas; B - Indução da fase de separação; C - Deposição das microgotas na superfície; D - Formação da membrana de revestimento (adaptado de Kissel *et al.*, 2006).

As micropartículas formadas podem ser recolhidas por centrifugação ou filtração, lavadas com solvente apropriado e a secagem pode ser realizada por *spray drying* ou leito fluidizado (Wilson e Shah, 2007).

Este método pode ser denominado de coacervação simples ou complexa. É simples quando só está presente uma macromolécula como agente encapsulante (e.g. a gelatina) e complexa quando envolve dois ou mais colóides hidrófilos de cargas opostas (e.g. gelatina e goma acácia ou gelatina e polissacarídeos) (Gibbs *et al.*, 1999).

3.3.2. Emulsificação/evaporação do solvente

A denominação de emulsificação/evaporação do solvente é normalmente usada para designar um conjunto de procedimentos laboratoriais nos quais ocorre a formação de uma emulsão que pode ser do tipo O/A, A/O, A/O/A e O/A/O. A fase interna, onde está dissolvido o agente encapsulante, é um solvente orgânico que tem uma solubilidade limitada na fase externa da emulsão, que corresponde ao meio não-solvente. O solvente orgânico e o não-solvente mais utilizados são o diclorometano e a água, respectivamente (Suave *et al.*, 2006).

A substância a encapsular encontra-se disperso ou dissolvido na fase interna, sendo posteriormente emulsionada na fase externa, que possui um agente tensioactivo. A presença deste composto tem como objectivo prevenir a coalescência ou a agregação das partículas (Suave *et al.*, 2006). O solvente orgânico presente é depois removido por evaporação sob agitação contínua. As micropartículas formadas são posteriormente submetidas a operações complementares, como a separação, a lavagem e a secagem (Zanetti, 2002), como se pode observar na Figura 10.

Como este método utiliza solventes orgânicos, um aspecto importante a considerar na transposição à escala industrial é a selecção do solvente orgânico, a qual tem grande influência nas propriedades das micropartículas produzidas, e a técnica mais eficaz para a sua remoção do produto obtido (Arshady, 1991).

O equipamento utilizado neste método de microencapsulação é relativamente simples, consistindo essencialmente em tanques revestidos por agitadores de velocidades variáveis (Venkatesan *et al.*, 2009 (b)).

Algumas variáveis de processo incluem a velocidade de evaporação do solvente, ciclos de temperatura e velocidades de agitação (Venkatesan *et al.*, 2009 (b)).

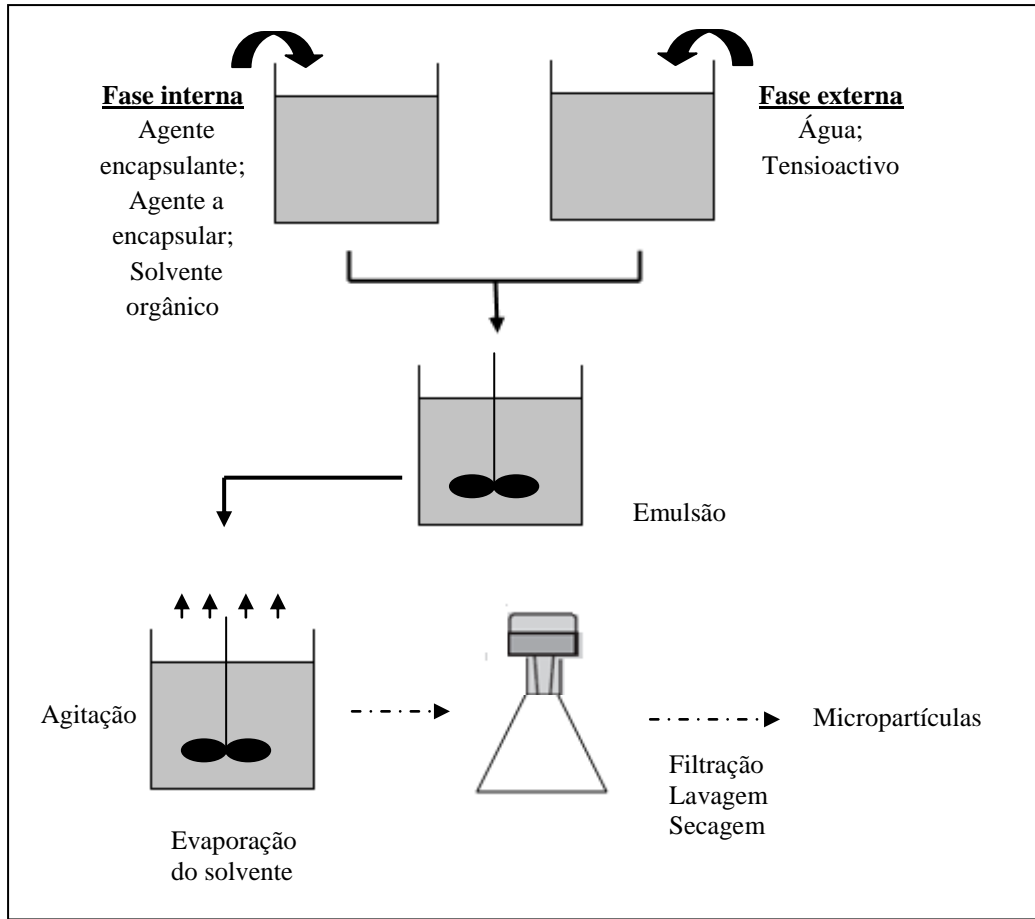


Figura 10 - Produção de micropartículas pelo método de emulsificação/evaporação do solvente (adaptado de Zanetti *et al.*, 2002).

IV. Caracterização das micropartículas

A caracterização das micropartículas é um aspecto muito importante no desenvolvimento de um vector, destinado ao transporte de compostos bioativos. As micropartículas apresentam diversas microestruturas, que vão determinar o mecanismo de libertação e a estabilidade do próprio vector (Alagusundaram *et al.*, 2009).

Neste capítulo apresentam-se algumas das propriedades a considerar na caracterização das formulações contendo micropartículas.

4.1. Análise do tamanho das partículas

Actualmente, um método bastante utilizado e eficaz na determinação das dimensões das micropartículas é a difracção a laser. Esta técnica permite analisar uma variedade de tamanhos, desde poucos nanómetros a alguns milímetros. Este método é muito vantajoso na medida em que se trata de um processo provido de rapidez, facilidade de operação, grande precisão e reprodutibilidade dos resultados e automatização do processo (calibração, medição e limpeza) (http://www.fritsch.de/uploads/media/Image_portugiesisch_Soquimica_02.pdf).

Outra técnica que poderá ser utilizada para determinar a dimensão das partículas, na região submicrométrica, é a *Dynamic Light Scattering*.

A separação das micropartículas em porções de vários tamanhos pode ser determinada usando um agitador mecânico - um aparelho automático de tamisação a seco. Este aparelho automático utiliza um conjunto de, normalmente, cinco tamises padronizados acoplados a um agitador produzindo os movimentos característicos da tamisação a seco (movimentos verticais e horizontais). Os tamises são colocados por ordem decrescente da abertura da malha e depois coloca-se uma determinada quantidade do produto das micropartículas no tamis superior. Posteriormente, durante um determinado período de tempo, estes tamises sofrem uma vibração permitindo calcular a percentagem de pó obtida em cada tamis (Wua *et al.*, 2003).

4.2. Avaliação da eficácia de encapsulação e análise da capacidade de carga

A avaliação da eficácia de encapsulação é dada pela razão entre a quantidade de substância encapsulada nas micropartículas e a quantidade teórica (total) de substância usada. Este parâmetro pode ser calculado pela seguinte expressão matemática (Bhojar *et al.*, 2011):

$$EE (\%) = \frac{A}{B} \times 100$$

na qual, A corresponde à quantidade de substância encapsulada e B corresponde à quantidade de substância teórica usada.

Após a obtenção das micropartículas, a amostra é submetida a uma ultra-centrifugação com o objectivo de separar as micropartículas (precipitado) do meio líquido. Na etapa seguinte, promove-se a ruptura das micropartículas com saída do material encapsulado. O conteúdo é analisado, por um método analítico validado, para determinar a quantidade de substância encapsulada presente (Gonsalves *et al.*, 2009).

Esta análise depende de vários factores, tal como se pode verificar no esquema seguinte (Figura 11).

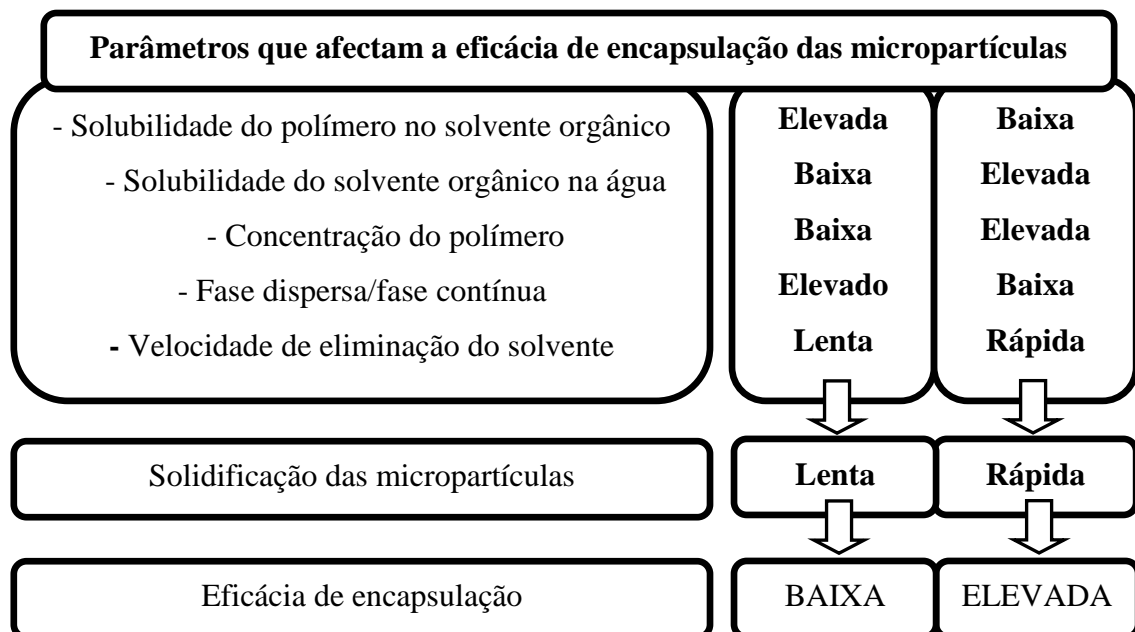


Figura 11 - Factores que influenciam a eficácia de encapsulação das micropartículas (adaptado de Jyothi *et al.*, 2009).

A capacidade de carga também pode ser determinada por uma expressão matemática (Alagusundaram *et al.*, 2009):

$$CC (\%) = \frac{C}{D} \times 100$$

na qual, C corresponde à quantidade calculada de substância encapsulada e D indica a quantidade total da massa do sistema.

4.3. Análise morfológica

A análise da morfologia da superfície das micropartículas pode ser realizada por microscopia de força atômica (Yang *et al.*, 2000). Este processo permite o estudo de partículas com uma resolução elevada até aos nanómetros, bem como a análise topográfica da superfície em imagens reais e em três dimensões (Gaczynska e Osmulski, 2008). Deste modo, esta técnica permite observar os processos *in situ* que ocorrem na interface. Pode-se visualizar também secções de corte, efectuar a medição da rugosidade superficial, realizar análise em profundidade, entre outras possibilidades (<http://nanoparticles.org/pdf/Scalf-West.pdf>).

Outras formas para avaliar a morfologia da superfície das micropartículas são a microscopia electrónica de varrimento (SEM - *scanning electron microscopy*) e a microscopia electrónica de transmissão (TEM - *transmission electron microscopy*). Estas técnicas permitem obter informação morfológica e informação topográfica. É possível visualizar detalhes, como a forma e a características de superfície, de materiais heterogéneos numa escala nanométrica (nm) ou micrométrica (μm). A capacidade de obter imagens com grande precisão e tridimensionais torna as análises microscópicas de SEM e TEM tão populares (Dixit *et al.*, 2010).

4.4. Análise química

Uma das técnicas utilizadas para analisar a composição das micropartículas, tanto relativamente ao agente encapsulante como ao núcleo, é a espectroscopia na região dos infravermelhos com transformada de Fourier (Gonsalves *et al.*, 2009). Esta técnica é

muito usada na análise da estrutura de polímeros, bem como na análise dos grupos funcionais, por ser um processo simples e rápido. A energia infravermelha absorvida é determinada pelos arranjos específicos dos grupos funcionais das moléculas orgânicas.

Para analisar os compostos à superfície dos materiais utiliza-se um acessório – ATR (*Attenuated Total Reflection*) (McMurry, 2000).

Outra técnica referenciada na literatura para a análise química das micropartículas é a espectroscopia de Raman, que permite, em poucos segundos, identificar o material orgânico e inorgânico, fornecendo informação química e estrutural do material usado nas micropartículas. Esta técnica baseia-se na dispersão da luz quando incide sobre o material a ser analisado. Esta luz permite trocas de frequências específicas do material que está a ser analisado (Gomes, 2009).

A espectroscopia Raman tem em consideração apenas o material a ser analisado, apresentando a vantagem de não ser necessário qualquer tipo de preparação nem alteração da superfície da amostra a ser analisada (Gomes, 2009).

4.5. Análise térmica e termodinâmica

Uma técnica que se usa para avaliar a estabilidade térmica das micropartículas é a análise termogravimétrica. Esta técnica baseia-se na medição da perda de massa contínua devido à temperatura, que aumenta de forma controlada. Esta perda de massa relaciona-se com a estrutura molecular, surgindo devido à evaporação da mistura residual, quando a temperatura é baixa, ou à deterioração do polímero, quando a temperatura é elevada. Desta forma, a perda da massa traduz-se numa alteração na composição que é característica de cada polímero (Cordeiro, 2007).

Os resultados de massa perdida são retirados de um termograma em função da temperatura (Cordeiro, 2007).

O processo da análise dinâmica e termomecânica está relacionado com o comportamento dos materiais plásticos quando submetidos a alterações mecânicas, ou seja, trata-se do comportamento viscoelástico do sistema. Esta técnica consiste em colocar o polímero a uma determinada temperatura e tensão para se avaliar o seu

comportamento (isto é, determinação da temperatura de transição vítrea de polímeros (Sandler *et al.*, 1998).

4.6. Análise das propriedades adesivas

O método utilizado para avaliar as propriedades adesivas das micropartículas é a determinação do potencial zeta. Este transmite a carga eléctrica na superfície das micropartículas, que está interligado com a estabilidade física destes sistemas (agregações) (Teeranachaideekul *et al.*, 2007). Este parâmetro é influenciado por alterações na interface com o meio dispersante e avalia o fenómeno electrocinético resultante do movimento de uma fase sólida (com carga de superfície) relativamente a uma fase líquida (electrólito) (Le Roy Boehm e Fessi, 2000).

4.7. Análise da degradação *in vitro*

O estudo da degradação *in vitro* deve simular, o melhor possível, o ambiente a que as micropartículas estão expostas. A análise da degradação *in vitro* é realizada pela perda de teor em substância activa através de um método analítico validado previamente, em relação ao tempo (Schnabel, 1992).

4.8. Análise da citotoxicidade

As micropartículas podem apresentar alguma citotoxicidade e para se analisar essa actividade é possível aplicar um teste muito simples, designado de teste MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazólio). O teste de MTT é um teste colorimétrico que tem como objectivo medir a viabilidade, proliferação e activação das células. É um processo sensível e quantitativo, rápido e de baixo custo. Este método traduz-se na capacidade das enzimas dehidrogenases mitocondriais (EDM) nas células vivas, transformarem a solução do substrato MTT, de cor amarela, num produto designado de Formazan, de cor azul escura/arroxeadada. A quantidade deste produto é proporcional ao número de células viáveis contendo mitocôndrias activas (Laaksonen *et al.*, 2007). A Figura 12 traduz a reacção do teste MTT.

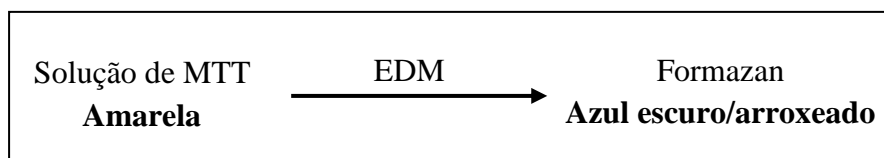


Figura 12 - Reacção do teste MTT (adaptado de Laaksonen *et al.*, 2007).

4.9. Análise da libertação e da permeabilidade da substância encapsulada

Para avaliar a libertação e a permeabilidade do agente encapsulado tem sido desenvolvidas diversas técnicas *in vitro* e *in vivo*. No caso de analisar a libertação, calcula-se a percentagem de agente encapsulado libertado das micropartículas em função do tempo, através de um método de doseamento validado. A influência das condições tecnológicas e a dificuldade de simular as condições *in vivo* permitiu o desenvolvimento de diversos métodos de libertação *in vitro*. No entanto, não existe ainda um método *standard*.

A cinética de libertação do agente encapsulado pode ser avaliada por vários modelos matemáticos referenciados na literatura. Costa e Sousa Lobo (2001) elaboraram um excelente trabalho de revisão sobre esta temática. Dentro dos modelos mais frequentemente utilizados para determinar a cinética de libertação referem-se os seguintes:

- **modelo designado de cinética de ordem zero** – libertação da substância encapsulada a partir de formas farmacêuticas que não se desagregam.

$$\frac{M_t}{M_\infty} = K_0 t + b$$

na qual M_t representa a quantidade absoluta de substância encapsulada libertada no tempo t e M_∞ a quantidade total de substância libertado num tempo infinito, a qual deverá corresponder à quantidade total de substância encapsulada incorporado ao sistema polimérico no $t = 0$; K_0 é uma constante cinética e b é a quantidade inicial de substância encapsulada na solução (Lopes *et al.*, 2005).

- **modelo baseado na equação de Higuchi** - descreve a velocidade de libertação controlada da substância encapsulada a partir de um sistema matricial.

$$\frac{M_t}{M_\infty} = K_H \sqrt{t} + b$$

na qual K_H corresponde à constante de libertação de Higuchi, que reflecte as características do desenho da formulação (Lopes *et al.*, 2005).

• **modelo baseado na equação de Korsmeyer-Peppas** - é utilizado para descrever a libertação do soluto quando o mecanismo que prevalece é uma combinação da difusão da substância encapsulada (transporte Fickiano) e do transporte Caso II (não - Fickiano). Neste modelo, a relação entre a velocidade de libertação e o tempo é igual a:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = K t^n + b$$

em que K é uma constante cinética, que incorpora características estruturais e geométricas do mecanismo e n é o expoente de libertação que, de acordo com o valor numérico que assume, caracteriza o mecanismo de libertação da substância encapsulada (Lopes *et al.*, 2005).

V. Aplicação da microencapsulação em diferentes áreas

5.1. Área Farmacêutica

A primeira pesquisa realizada no âmbito da microencapsulação de compostos farmacêuticos foi publicada em 1931 por Bungen Burg de Jong e Kan, que obtiveram micropartículas de gelatina através do processo de coacervação (Venkatesan *et al.*, 2009 (b)).

A microencapsulação na Indústria Farmacêutica engloba uma vasta gama de aplicações, nomeadamente (Venkatesan *et al.*, 2009 (b)):

- (i) mascarar o sabor amargo de vários fármacos, como por exemplo o paracetamol e a nitrofurantoína;
- (ii) reduzir irritações no tracto gastrointestinal causadas por alguns fármacos;
- (iii) libertação de determinados fármacos formulados em micropartículas, como por exemplo a aspirina, causam menos hemorragias gastrointestinais do que as preparações convencionais;
- (iv) converter um líquido num pseudo-sólido para facilitar a sua manipulação, bem como o seu armazenamento (e.g. o eprazinone);
- (v) reduzir as propriedades higroscópicas do fármaco (por exemplo, do cloreto de sódio);
- (vi) reduzir o odor e a volatilidade de várias substâncias, tais como o tetracloreto de carbono;
- (vii) fornecer protecção às substâncias a encapsular contra efeitos atmosféricos;
- (viii) separar as substâncias incompatíveis;
- (ix) modular a libertação das substâncias activas.

Na Tabela 4 apresentam-se alguns exemplos de fármacos que foram encapsulados com sucesso, bem como, outros aspectos a ter em conta na elaboração das micropartículas.

Tabela 4 - Exemplos de fármacos encapsulados.

Fármacos encapsulados	Material encapsulante	Método	Finalidade da microencapsulação	Referência bibliográfica
Paracetamol	Acetato ftalato de celulose	Emulsificação/evaporação do solvente	Mascarar o sabor	Sprockel e Prapaitrakul, 1990
Ácido acetilsalicílico	EC	Emulsificação/evaporação do solvente	Mascarar o sabor, libertação prolongada, reduzir irritação gástrica	Dash <i>et al.</i> , 2010
Dinitrato de isossorbida	PHB	<i>Spray drying</i>	Libertação prolongada	Kim <i>et al.</i> , 2000
Levonogestrel	PHB	Emulsificação/evaporação do solvente	Contraceptivo de longa duração	Lu <i>et al.</i> , 2001
Alendronato de sódio	PHBV/hidroxiapatita	Emulsificação/evaporação do solvente	Reparação óssea/libertação local prolongada	Huang <i>et al.</i> , 2009
Gentamicina	PHBV/hidroxiapatita	Emulsificação/evaporação do solvente	Sistema de libertação controlado de longa duração	Wang <i>et al.</i> , 2007
Diclofenac de sódio	EC	Coacervação/Separação de fases	Libertação prolongada	Ahmad <i>et al.</i> , 2011
<i>Vibrio cholerae</i>	Eudragit® L30D-55 e FS30D	<i>Spray drying</i>	Estabilidade e libertação controlada de fármacos e outros agente bioativos (e.g. antígenos)	Año <i>et al.</i> , 2011

PHB - Polihidroxibutirato; PHBV - Poli(3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato); EC - Etilcelulose

Um sistema de libertação controlado de fármacos pode superar alguns problemas da terapêutica convencional, bem como, melhorar a eficácia terapêutica de um determinado fármaco. Para obter a máxima eficácia terapêutica do sistema farmacêutico, o agente encapsulado deve alcançar o local pretendido na quantidade ideal e no período de tempo certo, diminuindo a toxicidade e os efeitos adversos (Jain, 2004).

5.2. Área Alimentar

Na indústria alimentar, a microencapsulação tem como função revestir um ou mais ingredientes ou aditivos (núcleo) por um agente encapsulante de natureza comestível, modificando e melhorando a aparência e as propriedades de uma substância (Azeredo, 2005).

A aplicação da microencapsulação em compostos alimentares apresenta vários objectivos (Kuang *et al.*, 2010), tais como:

- (i) diminuir as interacções da substância encapsulada em relação aos factores ambientais, impedindo perdas de aroma, alteração da cor ou diminuição do valor nutricional;
- (ii) separar os componentes incompatíveis ou reactivos;
- (iii) mascarar substâncias com sabores indesejáveis;
- (iv) melhorar a solubilidade da substância encapsulada e a sua incorporação em sistemas secos;
- (v) permitir que a libertação da substância encapsulada seja modificada, ocorrendo de forma lenta ou a partir de um determinado estímulo;
- (vi) reduzir a velocidade de evaporação de substâncias voláteis;
- (vii) facilitar a manipulação da substância a encapsular;
- (viii) promover a diluição homogénea do núcleo;
- (ix) aumentar o tempo de armazenamento das substâncias a encapsular.

Nesta área, tal como o nome indica, as substâncias a encapsular são normalmente adicionadas aos alimentos, e incluem uma vasta gama de compostos, tais como agentes acidulantes, aromatizantes, adoçantes, corantes, lípidos, minerais e vitaminas, enzimas e microrganismos (probióticos) (Kailasapathy, 2006). A Tabela 5 apresenta alguns exemplos de substâncias alimentares encapsuladas segundo as várias categorias referidas.

Tabela 5 - Exemplos de substâncias alimentares encapsuladas segundo as várias categorias (adaptado de Desai e Park, 2005).

Categoria de substâncias alimentares encapsuladas e exemplos
Acidulantes ácido láctico, glucono-delta-lactona, vitamina C, ácido acético, sorbato de potássio, ácido sórbico, propionato de cálcio, cloreto de sódio
Aromatizantes óleos de menta, óleos de cebola, óleo de alho, especiarias de oleo-resinas
Adoçantes açúcares
Corantes urucu, β -caroteno, cúrcuma, licopeno
Lípidos óleo de peixe, ácido linolénico, óleo de sardinha, ácido palmítico, óleo de gordura de foca (todos que contenham elevado teor de ácidos gordos insaturados)
Vitaminas e minerais solúveis em gordura: vitamina A, D, E e K solúvel em água: vitamina C, vitamina B1, vitamina B2, vitamina B6, vitamina B12, ácido fólico
Enzimas e microorganismos lipases e invertases, <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Penicillium roqueforti</i>

Tal como foi anteriormente referido, a microencapsulação na área alimentar é aplicada com diversos propósitos, alguns dos quais estão referenciados na Tabela 6.

Tabela 6 - Exemplos de substâncias alimentares encapsuladas.

Substâncias alimentares encapsuladas	Agente encapsulante	Método	Finalidade da microencapsulação	Referência bibliográfica
Vitamina C (Acidulante)	Quitosano-tripolifosfato	<i>Spray drying</i>	Evitar a oxidação de alimentos e permitir a sua dissolução em temperaturas específicas	Desai e Park, 2006

Óleo de alho (Aromatizante)	β -CD	Inclusão molecular	Transformar aromatizantes líquidos em pó estável, para facilitar o manuseamento; prevenir a volatilização quando submetidos a elevadas temperaturas; Evitar a sua oxidação, aumentando o tempo de armazenamento	Wang <i>et al.</i> , 2011
Óleo de peixe (Lípidos)	Hidroxipropil β -ciclodextrina	Leito fluidizado	Evitar a degradação oxidativa durante o processamento e o armazenamento	Anwar <i>et al.</i> , 2010
Licopeno (Corante)	Gelatina e sacarose	<i>Spray drying</i>	Facilidade em manusear; melhor solubilidade e incorporação nos alimentos; prevenir a sua oxidação, proporcionando um maior tempo de armazenamento.	Shu <i>et al.</i> , 2006
Vitamina A (Vitaminas e minerais)	Gelatina	Coacervação	Reduzir maus sabores, melhorar a estabilidade quando se presencia extremos de temperatura e humidade, reduzir possíveis interacções com outros ingredientes	Wilson e Shah, 2007
<i>Lactobacillus casei</i> (Enzimas e microorganismos)	Alginato e gelatina	Extrusão	Aumentar a estabilidade e reduzir o tempo de maturação	Li <i>et al.</i> , 2009

5.3. Área cosmética

A tecnologia dos cosméticos está em constante desenvolvimento ao nível da aplicabilidade de matérias-primas e formulações com ingredientes activos. Estes avanços têm permitido a implementação de novos sistemas de cosméticos em contraste com as formas clássicas, tais como os cremes ou os géis (Jansen e Maibach, 2001).

A microencapsulação é uma técnica muito popular na área cosmética e o domínio das suas aplicações tem sido extensivamente ampliada e hoje inclui, fundamentalmente, a microencapsulação de compostos muito voláteis, como fragrâncias e extractos vegetais para o cuidado pessoal (Shalaka *et al.*, 2009).

De modo semelhante ao que acontece noutras áreas, a nível da cosmética, a microencapsulação apresenta vários benefícios, designadamente (Babtsov *et al.*, 2005):

- (i) proteger a substância a encapsular da oxidação, da acção de factores ambientais (e.g. luz e calor) e de possíveis interacções com outras substâncias;
- (ii) melhorar a estabilidade e as funções gerais;
- (iii) aumentar a estabilidade de componentes instáveis, como vitamina C, retinol (vitamina A);
- (iv) melhorar e mantém a bio-actividade das substâncias a fim de penetrarem nas células da pele a um nível mais profundo;
- (v) aumentar o prazo de validade das substâncias a encapsular;
- (vi) melhorar o aspecto táctil e visual de uma variedade de cosméticos;
- (vii) permitir a modulação da libertação dos ingredientes activos.

Na Tabela 7 estão referidos alguns exemplos de substâncias cosméticas encapsuladas encontradas na literatura.

Tabela 7 - Exemplos de substâncias cosméticas encapsuladas.

Substâncias cosméticas encapsuladas	Material encapsulante	Método	Finalidade da microencapsulação	Referência bibliográfica
Cânfora				
Citronelal				
Eucaliptol	Mistura de polímeros: EC, HPMC e PV (OH)	Coacervação	Reduzir a volatilidade e a degradação das	Sansukcharearnpon <i>et al.</i> , 2010
Mentol			fragrâncias, prolongando as	
Limoneno			características sensoriais das mesmas	
Acetato de 4-terc-butylcyclohexyl				
Óleo de tomilho	Polilactida	Coacervação	Proteger a substância e melhorar a sua estabilidade	Martins <i>et al.</i> , 2009
Perfume	Gelatina e pectina	Coacervação complexa	Evitar a evaporação dos componentes mais voláteis, mantendo a sua composição original	Meyer, 1992
Óleo Migrin	Melamina e formol	Polimerização <i>in situ</i>	Proteger a substância, aumentando a sua estabilidade	Hong e Park, 1999

HPMC - hidroxipropilmetilcelulose; PV (OH) - álcool polivinílico

Na área da cosmética, um novo sector, designado de têxteis-cosméticos, está a gerar grande interesse ao nível da comunidade científica. Este termo significa que os ingredientes cosméticos são introduzidos no interior do tecido/têxtil, e quando em contacto com a pele são libertados através dos movimentos naturais do corpo (Figura 13) (Cheng *et al.*, 2008).

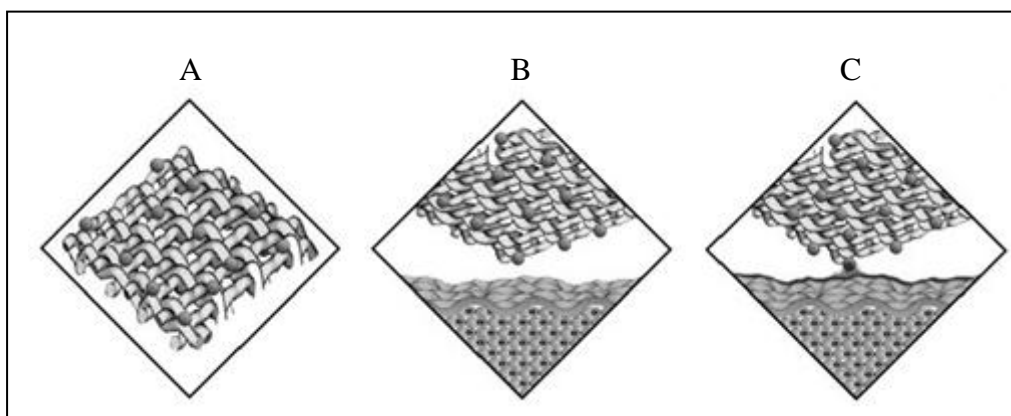


Figura 13 - A: Têxtil/tecido com microcápsulas; B: Têxtil/tecido em contacto com a pele; C: Libertação das substâncias cosméticas dos materiais têxteis na pele (adaptado de Cheng *et al.*, 2008).

Neste sector, os ingredientes cosméticos de maior interesse são as vitaminas, os óleos essenciais, os agentes hidratantes, os calmantes e os agentes anti-envelhecimento. A fim de alcançar os efeitos funcionais, a microencapsulação parece ser uma forma alternativa de proporcionar um efeito satisfatório e com maior durabilidade (Cheng *et al.*, 2008). Na Tabela 8 estão descritos alguns exemplos de substâncias cosméticas microencapsuladas e posteriormente usados em têxteis.

Tabela 8 - Exemplos de substâncias cosméticas encapsuladas usados em têxteis.

Substâncias cosméticas encapsuladas	Material encapsulante	Método	Finalidade da microencapsulação	Referência bibliográfica
Perfume (limoneno, metil-diidroshaminato, metilcetona cedryl, galaxolide)	Poliuretano-uréia	Polimerização interfacial	Prolongar a durabilidade das fragrâncias	Rodriguesa <i>et al.</i> , 2009
(Scentfashion®)				
Óleo de perfume	EC	Emulsificação	Evitar a volatilização dos componentes do óleo, preservando as suas características	Whitaker, 1991
Vitamina C	Gelatina	Emulsificação	Preservar a sua estabilidade	Cheng <i>et al.</i> , 2008

Para melhor compreender todo o procedimento envolvido na introdução das micropartículas nos têxteis, descreve-se em seguida o processo referente à vitamina C. Cheng e colaboradores (2008) utilizaram amostras de tecido 100% algodão cortadas em peças de 20x20cm. Paralelamente, as microcápsulas de gelatina veiculando a vitamina C foram diluídas com água desionizada, numa relação de 1:10. Posteriormente, esta preparação foi submetida a agitação de 1200rpm durante 10 minutos, usando uma placa magnética, com o objectivo de obter uma melhor dispersão das microcápsulas. Utilizou-se uma substância, o Textile binder (Devan Chemicals), para melhorar a fixação das micropartículas ao tecido de algodão. Na etapa seguinte, as amostras de tecido foram imersas na preparação contendo as micropartículas, depois colocadas no aparelho de acabamento têxtil, designado de *vertical padder*, sendo submetidas a uma pressão constante de 1,5 kg/cm² e a uma velocidade de 7,5 rpm, seguindo a secagem do tecido a uma temperatura ambiente. A Figura 14 mostra as fibras de algodão com e sem as micropartículas incorporadas, através da microscópica electrónica de varrimento.

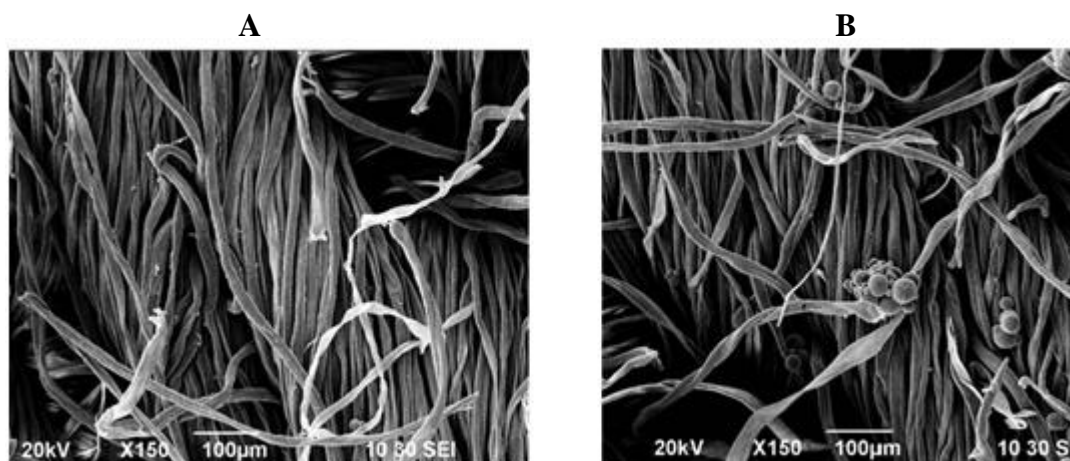


Figura 14 – Imagens de microscopia electrónica de varrimento: (A) Fibras de algodão controlo; (B) Fibras de algodão com microcápsulas de gelatina contendo a vitamina C (adaptado de Cheng *et al.*, 2008).

5.4. Área Agro-químicos

Um sector na qual a microencapsulação também apresenta um elevado interesse é o dos agro-químicos (e.g. pesticidas, herbicidas). A microencapsulação foi introduzida nesta área na década de 50. Contudo, recentemente tem-se assistido a avanços significativos

em virtude da quantidade elevada e do grau de toxicidade elevado dos produtos utilizados na agricultura (Suave *et al.*, 2006).

A microencapsulação visa tornar a eficácia dos pesticidas adequados para o controlo eficiente de pragas nos campos, tais como insectos, ácaros, roedores, nematóides, plantas daninhas. As micropartículas obtidas nesta área são combinações do agente pesticida com o agente encapsulante, que o protege e liberta de acordo com a necessidade de controlar a peste. Os pesticidas a ser encapsulados incluem uma vasta gama, podendo ser substâncias inorgânicas, substâncias orgânicas de baixo peso molecular, substâncias de elevado peso molecular, tais como péptidos ou proteínas e microbianos (e.g., micopesticidas) (Goertz, 2000).

A microencapsulação dos agro-químicos apresenta vantagens em relação às formulações convencionais, pois transmite uma maior segurança para o meio ambiente, trabalhadores e consumidores por minimizar o tempo de exposição do usuário durante o seu manuseio bem como evitar o escoamento das substâncias para fontes de água. Outras vantagens foram atribuídas à microencapsulação de pesticidas (Goertz, 2000; Tsuji, 2001; Bajpai e Giri, 2002 (a)):

- (i) protecção das substâncias a encapsular da degradação ambiental;
- (ii) manipulação da biodisponibilidade e persistência;
- (iii) redução da fitotoxicidade de sementes e plantações;
- (iv) elevada selectividade dos organismos alvo e não-alvo;
- (v) uso de pesticidas incompatíveis (e.g. produtos químicos e pesticidas microbianos);
- (vi) possível redução das taxas de aplicação;
- (vii) aplicação do produto mais eficaz;
- (viii) diminuição da perda do pesticida por degradação, evaporação ou dissolução e escoamento para fontes de água, evitando a contaminação ambiental.

Tal como acontece com todos os tratamentos com base em moléculas biologicamente activas, focar o alvo é fundamental para se obter sucesso. Por vezes, a libertação dos pesticidas é realizada em direcção ao alvo (e.g. herbicidas foliares) (Hall, 1990). Alternativamente, o alvo pode deslocar-se na direcção do pesticida (insecticidas residuais) (Gustafson, 1990). Deste modo, a eficiência da microencapsulação pode ser definida como a razão entre a quantidade de agro-químico que atingem a praga e a

quantidade de agro-químico aplicado, por unidade de área de cultivo. A transferência dos pesticidas ocorre através de contacto e também em fases móveis, tais como o ar e a água (Goertz, 2000).

Contudo, estas formulações dependem do método de aplicação e das condições climáticas, pois segundo Bajpai e Giri (2002 (b)), da quantidade de agro-tóxicos aplicado, apenas cerca de 10% é que consegue atingir o seu alvo específico a fim de se conseguir a resposta biológica desejada. Uma possível justificação é o facto dos agro-químicos se movimentarem em vários compartimentos ambientais (solo, águas residuais e subterrâneas) (Bajpai e Giri, 2002 (b)). A Tabela 9 descreve alguns exemplos práticos de agro-químicos encapsulados.

Tabela 9 - Exemplos de substâncias agro-químicas encapsuladas.

Agroquímicos encapsulados	Agente encapsulante	Método	Finalidade da microencapsulação	Referência bibliográfica
Trifluralina	Copolímero amido-ureia (poliureia e poliamida)	Polimerização interfacial	Evitar perdas, tornando a sua aplicação mais eficaz	Koestler, 1982
Norfluazon	EC	Evaporação do solvente	Diminuir a sua mobilidade através do solo e proteger da fotodegradação	Pérez-Martínez <i>et al.</i> , 2001
Ethyl (2E,4Z)-2,4-decadienoate	Poliamida	Polimerização interfacial	Aumentar a eficácia de controlo do insecticida	Light e Beck, 2010
Óleo essencial de <i>Citrus sinensis</i> (limoneno)	Quitosana	Coacervação simples	Aumentar a estabilidade	Gonsalves <i>et al.</i> , 2009
Alachlor	EC	Emulsificação /evaporação do solvente	Reduzir as perdas de herbicidas da degradação, lixiviação e volatilização, mantendo a eficácia biológica	Sopeña <i>et al.</i> , 2007

Além dos pesticidas referidos anteriormente, existem fortes incentivos ambientais para se utilizar “pesticidas naturais”, traduzindo-se num avanço da tecnológica da microencapsulação. Alguns pesticidas biológicos, como o *Bacillus thuringiensis israeliensis* e o *Trichoderma harzianum*, foram encapsuladas em dois tipos de polímeros, polímeros naturais, como alginatos, ou polímeros sintéticos, como polietileno (Markus e Linder, 2006).

Outro avanço corresponde à introdução do termo Reguladores de Crescimento de Insectos (RCI). Além dos pesticidas sintéticos usados actualmente, como os organofosforados, os organoclorados, os carbamatos e os óleos derivados do petróleo, o uso de RCI, como por exemplo o piriproxifem, tem vindo a aumentar (Markus e Linder, 2006). A principal vantagem dos RCI é a sua não toxicidade em relação aos mamíferos, pois tem como alvo somente os insectos. Schwartz e colaboradores (2003) microencapsularam o piriproxifem, através do método polimerização interfacial, usando como agente encapsulante o poliuretano ou um hidrogel de poliureia, demonstrando ser um regulador de crescimento de insectos activos contra as larvas do *Culex pipiens*.

VI. Conclusão

Com o presente trabalho constatou-se que a microencapsulação é uma técnica muito aplicada em diversas áreas. A ampla utilização desta técnica resulta, em parte, da preparação de produtos com características melhoradas.

Segundo vários resultados de trabalhos efectuados, a microencapsulação é um processo que promove a protecção de um diversificado leque de compostos bioactivos do ambiente circundante, aumentando notavelmente a sua estabilidade. A libertação destes compostos pode ser modulada, envolvendo um ou vários mecanismos de libertação em simultâneo, dependendo das suas propriedades, bem como, do material que os revestem.

Não existe um método único para desenvolver micropartículas, mas sim diversos, que necessitam de pessoas especializadas e equipamentos específicos. A selecção destes métodos depende, essencialmente, do tipo do material a encapsular, da sua aplicação, bem como do mecanismo de libertação pretendido para a sua acção. A principal diferença entre estes baseia-se na forma de aprisionamento/envolvimento da substância a encapsular pelo agente encapsulante, uma vez que a combinação entre estes pode ser de natureza física, química ou físico-química.

Os sistemas de microencapsulação oferecem potenciais vantagens em detrimento dos sistemas de libertação convencionais. Na área farmacêutica, permite desenvolver sistemas de libertação precisos de pequenas quantidades de fármacos, constatando-se uma concentração reduzida noutros locais, que não sejam o tecido ou órgão alvo, bem como, a protecção de compostos lábeis antes e depois da sua administração.

Na área alimentar, as substâncias encapsuladas são excessivamente degradáveis, pelo que perdem as suas propriedades de interesse e o seu valor de mercado. Considerando os diversos trabalhos publicados nesta área, conclui-se que as técnicas de microencapsulação podem proteger os compostos de forma a aumentar notavelmente a sua estabilidade.

Na área cosmética, a microencapsulação assume um papel de interesse crescente. Esta técnica constitui um sistema de transporte ideal e exclusivo de várias substâncias cosméticas. Os resultados da aplicação da microencapsulação demonstram o melhoramento da aparência táctil e visual de uma variedade de produtos cosméticos, para além da protecção das substâncias utilizadas.

Uma vertente muito popular e consideravelmente ampliada na área cosmética é o desenvolvimento inovador de produtos têxteis-cosméticos, que se traduzem em benefícios biológicos.

Na área dos agro-químicos, a microencapsulação permite que as substâncias sejam libertadas ao longo do tempo. Desta forma, os agricultores podem aplicar os pesticidas com menor frequência, em vez de várias aplicações de concentrações muito elevadas, para poder combater a perda da eficácia devido à lixiviação, evaporação e degradação.

A protecção dos agentes pesticidas traduz-se também na diminuição do risco para o ambiente, bem como, para as pessoas que possam estar expostos aos produtos químicos, fornecendo uma estratégia mais eficiente para controlar as pragas.

VII. Bibliografia

- Aftabrouhad, C. e Doelker, E. (1992). Preparation methods for biodegradable microparticles loaded with water-soluble drugs. *STP Pharma Sciences*, 2(5), pp. 365-380.
- Ahmad, M., Madni, A., Usman, M., Munir, A., Akhtar, N. e Khan, H. M. S. (2011). Pharmaceutical microencapsulation technology for development of controlled release drug delivery systems. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 75(66), pp. 384-387.
- Alagusundaram, M., Chetty, C. M. S., Umashankari, K., Badarinath, A. V., Lavanya, C. e Ramkanth, S. (2009). Microspheres as a novel drug delivery systems - a review. *International Journal of ChemTech Research*, 1(3), pp. 526-534.
- Altinkaya, S. A. (2008). Controlled release of drugs from tablet coatings. In: Gad, S. C. (Ed.). *Pharmaceutical Manufacturing Handbook Production and Processes*. Cary, North Carolina, John Wiley & Sons, Inc., pp. 1102-1103.
- Año, G., Esquisabel, A., Pastor, M., Talavera, A., Cedré, B., Fernández, S., Sifontes, S., Aranguren, Y., Falero, G., García, L., Solís, R. L., Pedraz, J. L. (2011). A new oral vaccine candidate based on the microencapsulation by spray-drying of inactivated *Vibrio cholera*. *Vaccine*, 29(34), pp. 5758-5764.
- Anson, R. (2005). Microencapsulation: For enhanced textile performance. *Performance Apparel Markets*, 12, pp. 21-39.
- Anwar, S. H., Weissbrodt, J. e Kunz, B. (2010). Microencapsulation of fish oil by spray granulation and fluid bed film coating. *Journal of Food Science*, 75(6), pp. E359-E371.
- Arshady, R. (1991). Preparation of biodegradable microspheres and microcapsules. Part 2. Polyactides and related polyesters. *Journal Controlled Release*, 17(1), pp. 1-21.
- Augustin, M. A., Young, B., Sanguanasri, L., Margetts, C. (2001). Microencapsulation of food ingredients. *Food Australia*, 53(6), pp. 220-223.
- Azeredo, H. M. C. de (2005). Encapsulação: aplicação à tecnologia de alimentos. *Alimento e Nutrição*, 16(1), pp. 89- 95.

Babtsov, V., Shapiro, Y. e Kvitnitsky, E. (2005). *Method of Microencapsulation*. United States Patent 6932984.

Bajpai, A. K. e Giri, A. (2002). Swelling dynamics of a macromolecular hydrophilic network and evaluation of its potential for controlled release of agrochemicals. *Reactive & Functional Polymer*, 53 (2-3), pp. 125-141. b)

Bajpai, A. K. e Giri, A. (2002). Swelling dynamics of a ternary interpenetrating polymer network (IPN) and controlled release of potassium nitrate as a model agrochemical. *Journal of Macromolecular Science*, 39(1-2), pp. 75-102. a)

Bansode, S. S., Banarjee, S. K., Gaikwad, D. D., Jadhav, S. L. e Thorat, R. M. (2010). Microencapsulation: a review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 1(2), pp. 38-43.

Bhoyar, P. K., Morani, D. O., Biyani, D. M., Umekar, M. J., Mahure, J. G. e Amgaonkar, Y. M. (2011). Encapsulation of naproxen in lipid-based matrix microspheres: characterization and release kinetics. *Journal of Young Pharmacists*, 3(2), pp. 105-111.

Bourgeat-Lami, E. (2002). Organic-inorganic nanostructured colloids. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 2(1), pp. 1-24.

Braga, G. K. (2005). *Determinação das especificações do processo de spray drying na obtenção de micropartículas biodegradáveis para a liberação sustentada de princípios ativos com aplicação odontológica*. Ribeirão Preto, Dissertação apresentada para obtenção do Grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas pela Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

Brewster, M. E. e Loftsson, T. (2007). Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59(7), pp. 645-666.

Briens, L. e Bojarra, M. (2010). Monitoring fluidized bed drying of pharmaceutical granules. *AAPS PharmSciTech*, 11(4), pp. 19612-1618.

Burgess, D. J. e Hickey, A. J. (1994). Microsphere technology and applications. In: Warbrick, J. e Boylan, J. C., (Eds.). *Encyclopedia of Pharmaceutical technology*. New York, Marcel Dekker, pp. 1-29.

Cheng, S. Y., Yuen, C. W. M., Kan, C. W. e Cheuk, K. K. L. (2008). Development of cosmetic textiles using microencapsulation technology. *Research Journal of Textile and Apparel*, 12(4), pp. 41-51.

Coimbra, P. M. A. (2010). *Preparação e Caracterização de Sistemas de Libertação Controlada de Fármacos com base em Polímeros de Origem Natural*. Coimbra, Dissertação apresentada para a obtenção do Grau de Doutor em Engenharia Química pela Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra.

Cordeiro, R. A. (2007). *Preparação e caracterização de microsferas para libertação controlada de fármacos em Oftalmologia*. Coimbra, Relatório da cadeira de projecto do curso de Engenharia Biomédica da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra.

Costa, P. e Sousa Lobo, J.M. (2001). Modeling and comparison of dissolution profiles. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 13(2), pp. 123-133.

Dash, V., Mishra, S. K., Singh, M., Goyal, A. K. e Rath, G. (2010). Release kinetic studies of aspirin microcapsules from ethyl cellulose, cellulose acetate phthalate and their mixtures by emulsion solvent evaporation method. *Scientia Pharmaceutica*, 78(1), pp. 93-101.

Davis, M. E. e Brewster, M. E. (2004). Cyclodextrin-based pharmaceuticals: Past, Present and Future. *Nature Reviews Drug Discovery*, 3(12), pp. 1023-1035.

Depypere, F., Dewettinck, K., Ronsse, F. e Pieters, J. G. (2003). Food powder microencapsulation: principles, problems and opportunities. *Applied Biotechnology Food Science and Policy*, 1(2), pp.75-94.

Desai, K. G. e Park, H. J. (2006). Effect of manufacturing parameters on the characteristics of vitamin C encapsulated tripolyphosphate-chitosan microspheres prepared by spray-drying. *Journal of Microencapsulation*, 23(1), pp. 91-103.

Desai, K. G. H. e Parka, H. J. (2005). Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *Drying Technology*, 23(7), pp. 1361-1394.

Dias, V. H. R. (2007). *Produção de granulados em leito fluidizado de acordo com uma concepção experimental*. Lisboa, Dissertação apresentada para obtenção do Grau de

Mestre em Farmacotecnia Avançada pela Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa.

Dixit, M., Kini, A. G. e Kulkarni, P. K. (2010). Preparation and characterization of microparticles of piroxicam by spray drying and spray chilling methods. *Research in Pharmaceutical Sciences*, 5(2), pp. 89-87.

Dong, W. e Bodmeier, R. (2006). Encapsulation of lipophilic drugs within enteric microparticles by a novel coacervation method. *International Journal of Pharmaceutics*, 326(1-2), pp. 128-138.

Fritsch. Especialistas líderes em equipamentos de laboratório. [Em linha]. Disponível em <http://www.fritsch.de/uploads/media/Image_portugiesisch_Soquimica_02.pdf>. [Consultado em 26/05/2011].

Gaczynska, M. e Osmulski, P. A. (2008). AFM of biological complexes: What can we learn?. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 13(5), pp. 351-367.

Gibbs, B. F., Kermash, S., Alli, I. e Mulligan, C. N. (1999). Encapsulation in the food industry: a review. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 50(3), pp. 213-224.

Giunchedi, P. e Conte, U. (1995). Spray-drying as a preparation method of microparticulate drug delivery systems: overview. *STP Pharma Sciences*, 5(4), pp. 276-290.

Goertz, H. M. (2000). Controlled release technology, agricultural. In: Kirk-Othmer (Ed.). *Encyclopedia of Chemical Technology*, 4th Edition. John Wiley & Sons, Inc, pp. 251-274.

Gomes, I. I. F. (2009). *Interacção de proteínas com superfícies nanoestruturadas e nanopartículas de metais nobres*. Lisboa, Dissertação apresentada para obtenção do Grau de Doutor em Química Inorgânica pela Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa.

Gonsalves, J. K. M. C., Costa, A. M. B., Sousa, D. P. de, Cavalcanti, S.C.H. e Nunes, R.S. (2009). Microencapsulação do óleo essencial de *Citrus sinensis* (L) Osbeck pelo método da coacervação simples. *Scientia Plena*, 5(11), pp. 1-8.

- Gouin, S. (2004). Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends in Food Science & Technology*, 15(7-8), pp.330-347.
- Gustafson, D. I. (1990). Controlled delivery and soil application. In: Wilkins, R. M. (Ed.). *Controlled Delivery of Crop-Protection Agents*, London, Taylor and Francis, pp. 23-42.
- Hall, F. R. (1990). Controlled delivery and foliar spraying. In: Wilkins, R. M. (Ed.). *Controlled Delivery of Crop-Protection Agents*, London, Taylor and Francis, pp. 3-22.
- Hong, K e S. Park, M. (1999). Melamine resin microcapsules containing fragrant oil: synthesis and characterization. *Materials Chemistry and Physics*, 58(2), pp. 128-131.
- Huang, W., Wang, Y. J., Ren, L., Du, C. e Shi, X. T. (2009). A novel PHBV/HA microsphere releasing system loaded with alendronate. *Materials Science & Engineering C-Materials for Biological Applications*, 29(7), pp. 2221-2225.
- Jain, N. K. (2004). *Controlled and novel drug delivery*. Delhi, CBS Publishers & Distributors.
- Jansen, J. e Maibach, H. I. (2001). Encapsulation to deliver topical actives. In: Barel, A. O., Paye, M. e Maibach, H. I. (Eds.). *Handbook of Cosmetic Science and Technology*. New York, Marcel Dekker, Inc., p. 171.
- Jyothi, N. V., Prasanna, M., Prabha, S., Ramaiah, P. S., Srawan, G. e Sakarkar, S. N. (2009). Microencapsulation techniques, factors Influencing encapsulation efficiency: A review. *The Internet Journal of Nanotechnology*, 3 (1). [Em linha]. Disponível em <http://www.ispub.com/journal/the_internet_journal_of_nanotechnology/volume_3_number_1_61/article/microencapsulation-techniques-factors-influencing-encapsulation-efficiency-a-review.html> [Consultado em 01/04/2011].
- Kailasapathy, K. (2006). Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yoghurt. *LWT - Food Science and Technology*, 39(10), pp. 1221-1227.
- Kasturagi, Y., Sugiura, Y.C., Lee, K., Otsugi, K. e Kurihara, K. (1995). Selective inhibition of bitter taste of various drugs by lipoprotein. *Pharmaceutical Research*, 12(5), pp. 658-662.

Kim, G. J., Bang, K. H., Kim, Y. B. e Rhee, Y. H. (2000). Preparation and characterization of native poly(3-hydroxybutyrate) microspheres from *Ralstonia eutropha*. *Biotechnology Letters*, 22(18), pp. 1487-1492.

Kissel, T., Maretschek, S., Packhauser, C., Schnieders, J. e Seidel, N. (2006). Microencapsulation techniques for parenteral depot systems and their application in the pharmaceutical industry. In: Benita, S. (Ed.). *Microencapsulation: methods and industrial applications*. 2nd Edition. Boca Raton, CRC Press Taylor & Francis Group, pp. 104.

Koestler, R. C. (1982). *Microencapsulated Trifluralin*. United States Patent 4360376.

Kreuter, J. (1994). Nanoparticles. In: Swarbrick, J. e Boylan, J. C. (Eds.). *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. New York, Marcel Dekker, pp.165-190.

Kuang, S. S., Oliveira, J. C. e Crean, A. M. (2010). Microencapsulation as a tool for incorporating bioactive ingredients into food. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50(10), pp. 951-968.

Laaksonen, T., Santos, H., Vihola, H., Salonen, J., Riikonen, J., Heikkilä, T., Peltonen, L., Kumar, N., Murzin, D.Y., Lehto, V.P. e Hirvonen, J. (2007). Failure of MTT as a toxicity testing agent for mesoporous silicon microparticles. *Chemical Research in Toxicology*, 20(12), pp. 1913-1918.

Le Roy Boehm, A. L. e Fessi, H. (2000). Applications pharmaceutiques du potentiel Zeta – intérêt pour la caractérisation des vecteurs colloïdaux. *Journal de Pharmacie de Belgique*, 55(2), pp. 40-48.

Leon, L., Herbert, A. L. e Joseph, L. K. (1990). *The theory and practice of industrial pharmacy*. Bombay, Varghese Publishing House, pp. 412-428.

Li, X. Y., Chen, X. G., Cha, D. S., Park, H. J. e Liu, C. S. (2009). Microencapsulation of a probiotic bacteria with alginate-gelatin and its properties. *Journal of Microencapsulation*, 26(4), pp. 315-324.

Light, D. M. e Beck, J. J. (2010). Characterization of microencapsulated pear ester, (2E,4Z)-ethyl-2,4-decadienoate, a kairomonal spray adjuvant against neonate codling moth larvae. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(13), pp. 7838-7845.

- Loftsson, T. e Brewster, M. E. (1996). Pharmaceutical applications of cyclodextrins. 1. Drug solubilization and stabilization. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 85(10), pp. 1017-1025.
- Lopes, C. M., Lobo, J. M. S., Costa, P. (2005). Formas farmacêuticas de liberação modificada: polímeros hidrofílicos, *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 41(2), pp. 143-154.
- Lu, B., Wang, Z. R. e Yang, H. (2001). Long-acting delivery microspheres of levonorgestrel-poly(3-hydroxybutyrate): their preparation, characterization and contraceptive tests on mice. *Journal of Microencapsulation*, 18(1), pp. 55-64.
- Machado, F., Lima, E. L. e Pinto, J. C. (2007). Uma revisão sobre os processos de polimerização em suspensão. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, 17(2), pp. 166-179.
- Markus, A. e Linder, C. (2006). Advances in the technology for controlled-release pesticide formulations. In: Benita, S. (Ed.). *Microencapsulation: methods and industrial applications*. 2nd Edition. Boca Raton, CRC Press Taylor & Francis Group, p. 55-76.
- Martin Del Valle, E. M. (2004). Cyclodextrins and their uses: a review. *Process Biochemistry*, 39(9), pp. 1033-1046.
- Martins, I. M., Rodrigues, S. N., Barreiro, F. e Rodrigues, A. E. (2009). Microencapsulation of thyme oil by coacervation. *Journal of Microencapsulation*, 26(8), pp. 667-675.
- McMurry, J. (2000). *Organic Chemistry*. United States of America, Thomson LearningTm.
- Meyer, A. (1992). Perfume microencapsulation by complex coacervation. *Chimia*, 46(4), pp. 101-102.
- Obeidat, W. M. (2009). Recent patents review in microencapsulation of pharmaceuticals using the emulsion solvent removal methods. *Recent Patents on Drug Delivery & Formulation*, 3(3), pp. 178-192.
- Odian, G. (2004). Step Polymerization. In: Odian, G. (Ed.). *Principles of Polymerization*. 4th Edition. New York, John Wiley & Sons, Inc., pp. 90-94.

Oliveira, R., Santos, D. e Coelho, P. (2009). Ciclodextrinas: formação de complexos e sua aplicação farmacêutica. *Revista da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Fernando Pessoa*, 6, pp. 70-83.

Pacific Nanotechnology Part I: Introduction to Nanoparticle Characterization with AFM. [Em linha]. Disponível em <<http://nanoparticles.org/pdf/Scalf-West.pdf>>. Consultado em 6/10/2011].

Pérez-Martínez, J.I., Morillo, E., Maqueda, C., Ginés, J.M. (2001). Ethyl cellulose polymer microspheres for controlled release of norfluazon. *Pest Management Science*, 57(8), pp. 688-694.

Ré, M. I. (2000). Microencapsulação: Em busca de produtos inteligentes. *Ciência Hoje*, 27(162), pp. 24-29.

Ré, M. I. (2006). Formulating drug delivery systems by spray drying. *Drying Technology*, 24(4), pp. 433-446.

Reineccius, G.A. (1995). Controlled release techniques in the food industry. In: Risch, S.J. e Reineccius, G.A. (Eds.). *Encapsulation and controlled release of food ingredients*. Washington, D.C., ACS, pp. 8-25.

Rodriguesa, S. N., Martinsa, I. M., Fernandesb, I. P., Gomesa, P. B., Matab, V. G., Barreirob, M. F. e Rodrigues, A. E. (2009). Scentfashion®: Microencapsulated perfumes for textile application. *Chemical Engineering Journal*, 149(1-3), pp. 463- 472.

Rohr, T., Knaus, S., Sherrington, D. C. e Gruber, H. (1999). Synthesis of sugar-containing hydrophilic porous polymer supports via suspension polymerization. *Acta Polymerica*, 50(8), pp. 286-292.

Sandler, S., Karo, W., Bonesteel, J. e Pearce, E. (1998). *Polymer Synthesis and Characterization*. New York, Academic Press.

Sansukcharearnpona, A., Wanichwecharungruangb, S., Leepipatpaiboonb, N., Kerdcharoend, T., Arayachukeata, S. (2010). High loading fragrance encapsulation based on a polymer-blend: Preparation and release behavior. *International Journal of Pharmaceutics*, 391(1-2), pp. 267-273.

Santos, A. B., Ferreira, V. P. e Grosso, C. R. F. (2000). Microcápsulas: Uma alternativa viável. Microencapsulação de produtos sensíveis à oxidação óleo-resina de páprica. *Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento*, 3(16), pp. 26-30.

Santos, D. T. e Meireles, M. A. A. (2010). Carotenoid pigments encapsulation: fundamentals, techniques and recent trends. *The Open Chemical Engineering Journal*, 4, pp. 42-50.

Schnabel, W. (1992). *Polymer degradation - principles and practical applications*. Oxford, Hanser, pp. 179-184.

Schwartz, L., Wolf, D., Markus, A., Wybraniec, S., e Wiesman, Z. (2003). Controlled-release systems for the insect growth regulator pyriproxyfen. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(20), pp. 5985-5989.

Shahidi, F. e Han, X. Q. (1993). Encapsulation of food ingredients. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 33(6), pp. 501-547.

Shalaka, D., Naik, S. R., Amruta, A. e Parimal, K. (2009). Vitamin E loaded pectin alginate microspheres for cosmetic application. *Journal of Pharmacy Research*, 2(6), pp. 1098-1102.

Shu, B., Yu, W., Zhao, Y. e Liu, X. (2006). Study on microencapsulation of lycopene by spray-drying. *Journal of Food Engineering*, 76(4), pp. 664-669.

Silva, C., Ribeiro, A., Ferreira, D. e Veiga, F. (2003). Administração oral de peptídeos e proteínas: II. Aplicação de métodos de microencapsulação. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 39(1), pp. 1-9.

Sopeña, F., Cabrera, A., Maqueda, C. e Morillo, E. (2007). Ethylcellulose formulations for controlled release of the herbicide alachlor in a sandy soil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(20), pp. 8200-8205.

Sprockel, O. L. e Prapaitrakul, W. (1990). A comparison of microencapsulation by various emulsion techniques. *International Journal of Pharmaceutics*, 58(2), pp. 123-127.

Suave, J., Dall'agnol, E. C., Pezzin, A. P. T., Silva, D. A. K., Meier, M. M. e Soldi, V. (2006). Microencapsulação: Inovação em diferentes áreas. *Health and Environment Journal*, 7(2), pp. 12-20.

Teeranachaidekul, V., Souto, E. B., Junyaprasert, V. B. e Muller, R. H. (2007). Cetyl palmitate-based NLC for topical delivery of Coenzyme Q₁₀ – Development, physicochemical characterization and *in vitro* release studies. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 67(1), pp. 141-148.

Tewes, F., Boury, F. e Benoit, J. P. (2006). Biodegradable microspheres: advances in production technology. In: Benita, S. (Ed.). *Microencapsulation: methods and industrial applications*. 2nd Edition. Boca Raton, CRC Press Taylor & Francis Group, pp. 1-41.

Tiwari, S., Goel, A., Jha, K. K. e Sharma, A. (2010). Microencapsulation techniques and its application: a review. *The Pharma Research*, 3(12), pp. 112-116.

Trindade, C. S. F., Pinho, S. C. e Rocha, G. A. (2008). Review: Microencapsulation of food ingredients. *Brazilian Journal Of Food Technology*, 11(2), pp. 103-109.

Tsuji, K. (2001). Microencapsulation of pesticides and their improved handing safety. *Journal of Microencapsulation*, 18(2), pp. 137-147.

Veiga, F., Pecorelli, C. e Ribeiro, L. (2006). *As ciclodextrinas em Tecnologia Farmacêutica*. Coimbra, MinervaCoimbra.

Venkatesan, P., Manavalan R. e Valliappan K. (2009). Microencapsulation: a vital technique in novel drug delivery system. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 1(4), pp. 26-35. b)

Venkatesan, P., Muralidharan, C., Manavalan, R. e Valliappan, K. (2009). Selection of better method for the preparation of microspheres by applying analytic hierarchy process. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 1(3), pp. 64-78. a)

Vieira, R. A. M., Sayer, C., Lima, E. L. e Pinto, J. C. (2002). In-line and in-situ monitoring of semi-batch emulsion copolymerizations using near-infrared spectroscopy. *Journal of Applied Polymer Science*, 84(14), pp. 2670-2682.

Vila Jato, J. L. (1999). *Tecnologia farmacéutica: Aspectos fundamentais de los sistemas farmacêuticos y operaciones básicas*. Madrid, Sintesis Editorial.

Vyas, S. P. e Khar, R. K. (2006). *Targeted and controlled drug delivery*. Delhi, CBS Publishers & Distributors.

Wang, J., Cao, Y., Suna, B. e Wang, C. (2011). Physicochemical and release characterisation of garlic oil- β -cyclodextrin inclusion complexes. *Food Chemistry*, 127(4), pp. 1680-1685.

Wang, Y. J., Wang, X. D., Wei, K., Zhao, N. R., Zhang, S. H. e Chen, J. D. (2007). Fabrication, characterization and long-term in vitro release of hydrophilic drug using PHBV/HA composite microspheres. *Materials Letters*, 61(4-5), pp. 1071-1076.

Whitaker, D. M. (1991). *Stabilized perfume containing microcapsules and method of preparing same*. United States Patent 5051305.

Whorton, C. (1995). Factors influencing volatile release from encapsulation matrices. In: Risch, S. J. e Reineccius, G. A. (Eds.). *Encapsulation and controlled release of food ingredients*. Washington DC, ACS, pp.134-142.

Wilson, N. e Shah, N. P. (2007). Microencapsulation of vitamins. *ASEAN Food Journal*, 14(1), pp. 1-14.

Wua, P., Huang, Y., Changa, J., Tsaib, M. e Tsaia, Y. (2003). Design and evaluation of sustained release microspheres of potassium chloride prepared by Eudragit. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 19(2-3), pp. 115-122.

Yang, Y., Chia, H. e Chung, T. (2000). Effect of preparation temperature on the characteristics and release profiles of PLGA microspheres containing protein fabricated by double-emulsion solvent extraction/evaporation method. *Journal of Controlled Release*, 69(1), pp. 81-96.

Zanetti, B. G., Soldi, V., Lemos-Senna, E. (2002). Efeito da adição de polietilenoglicóis nas formulações de microesferas de acetobutirato de celulose sobre a eficiência de encapsulação da carbamazepina e morfologia das partículas. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 38(2), pp. 229-236.

Zinutti, C., Kedzieewicz, F., Hoffman, M. e Maincent, P. (1994). Preparation and characterisation of ethylcellulose microspheres containing 5-fluorouracil. *Journal of Microencapsulation*, 11(5), pp. 555–563.