

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
CENTRO DE CIÊNCIAS QUÍMICAS, FARMACÊUTICAS E DE ALIMENTOS
Programa de Pós-Graduação em Química



Dissertação de Mestrado

**Preparo e Caracterização de Micropartículas Poliméricas para a Liberação
Controlada do Herbicida Imazetapir**

Andressa Baptista Nörnberg

Pelotas, 2019.

Andressa Baptista Nörnberg

**Preparo e Caracterização de Micropartículas Poliméricas para a Liberação
Controlada do Herbicida Imazetapir**

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Química da
Universidade Federal de Pelotas, como
requisito parcial à obtenção do título de
Mestre em Química

Orientador: Prof. Dr. André Ricardo Fajardo

Pelotas, 2019.

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

N111p Nörnberg, Andressa Baptista

Preparo e caracterização de micropartículas poliméricas para a liberação controlada do herbicida imazetapir / Andressa Baptista Nörnberg ; André Ricardo Fajardo, orientador. — Pelotas, 2019.

64 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Química, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, 2019.

1. Alginato. 2. Celulose. 3. Biopolímeros. 4. Herbicidas. 5. Imazetapir. I. Fajardo, André Ricardo, orient. II. Título.

CDD : 540

Elaborada por Dafne Silva de Freitas CRB: 10/2175

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
CENTRO DE CIÊNCIAS QUÍMICAS, FARMACÊUTICAS E DE ALIMENTOS

Programa de Pós-Graduação em Química

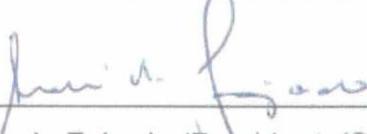
A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a
Dissertação de Mestrado

**Preparo e Caracterização de Micropartículas Poliméricas para a Liberação
Controlada do Herbicida Imazetapir**

Elaborada por
Andressa Baptista Nörnberg

Como requisito parcial para a obtenção do grau de
Mestre em Química

COMISSÃO EXAMINADORA:



Prof. Dr. André Ricardo Fajardo (Presidente/Orientador) - PPGQ/UFPel



Prof. Dr. Robson da Silva Oliboni - PPGQ/UFPel



Prof. Dr. Edinaldo Rabaioli Camargo - PPGFS/UFPel

*Aos meus pais Adriana e Lindomar, que
sempre me incentivaram a alcançar os meus
objetivos, independentemente das dificuldades
encontradas pelo caminho.*

Ao Eduardo, por ser meu maior incentivador durante essa trajetória, sendo companheiro, amigo e paciente. Sem as tuas palavras sinceras eu teria facilmente desistido.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer aos meus pais Adriana e Lindomar por me incentivar a sempre estar em busca dos meus sonhos, independente de qual seja esse sonho, o importante é vocês estarem ao meu lado. Muito obrigada por cada esforço e escolha.

Ao Eduardo, que mesmo de longe sempre se fez presente em todos os momentos e dificuldades. Sem as tuas sinceras palavras, duras, de incentivo eu teria desistido muito fácil.

Agradeço a todos da minha família por estarem presentes durante essa jornada, de alguma forma vocês me incentivam a melhorar, em especial ao tio Alexandro. A Gabriela, minha cunhada, por sempre estar presente para um desabafo durante a ida e a volta para casa. Tua companhia tornou meus dias de laboratório leve.

Aos meus colegas de laboratório Rafael, Matheus, Juliê e Thalia o meu muito obrigada, por toda a paciência, por todos os ensinamentos, por todas as conversas calorosas e por todo o incentivo. Em especial a minha amiga e colega Jaqueline que nunca deixou as adversidades se tornarem tempestades e sim em boas risadas. Enfim, posso afirmar que esse título de Mestra também é de vocês.

Gostaria de agradecer também ao aluno de iniciação científica Henrique, por toda a paciência e dedicação durante o desenvolvimento de todo esse trabalho. Sinto-me orgulhosa de ter formado um aluno com responsabilidade, dedicação e com sabedoria no que faz. Tenha certeza que os questionamentos levantados durante o desenvolvimento deste trabalho foram extremamente relevantes.

Um agradecimento especial ao meu orientador Prof. André Fajardo por ter aceitado o desafio de orientar alguém que nunca teve o contato com nenhum tipo de análise, material ou até mesmo alguns equipamentos. Por todos os puxões de orelha e por ser compreensível quando as coisas ficavam mais difíceis. Por se fazer presente e me inspirar como cientista, ao senhor meu muito obrigado.

Aos meus amigos e colegas dos laboratórios vizinhos (Thalita, Filipe, Laura e João) que sempre estavam de portas abertas seja para emprestar um material, equipamento ou intelectual.

*“Não é sobre vencer, é sobre não desistir.
Se você tem um sonho, lute por ele. Existe
disciplina para paixão. E não é sobre
quantas vezes você é rejeitado, ou quantas
vezes você caiu e foi derrotado, é sobre
quantas vezes você levantou com coragem
e seguiu em frente.”*

Lady Gaga

RESUMO

NÖRNBERG, Andressa Baptista **Preparo e Caracterização de Micropartículas Poliméricas para a Liberação Controlada do Herbicida Imazetapir**. 2019. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Química. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

A necessidade do desenvolvimento de sistemas que permitam a alteração de propriedades físico-químicas e a liberação controlada de herbicidas representa um dos principais motivos para alcançar a redução do seu uso e seus potenciais impactos negativos. Nesse sentido, essa Dissertação reporta o preparo de micropartículas de alginato e alginato/celulose (Alg e Alg/CL) para atuarem como veículos de transporte do herbicida imazetapir (IMZ), com o intuito de liberá-lo de forma gradativa no meio de cultivo. As micropartículas preparadas foram caracterizadas por diferentes técnicas (MEV, FTIR, DRX, TG/DTG), as quais possibilitaram colher informações sobre a morfologia e natureza química das mesmas. A partir dessas informações foi evidenciada a incorporação da CL na matriz de Alg e, também, a eficiente encapsulação do IMZ. Observou-se que as moléculas do IMZ passaram por uma transição da fase cristalina para amorfa, após o encapsulamento, o que sugere a interação entre o herbicida e a matriz polimérica. Ensaios de liberação (*in vitro*) mostraram que o IMZ é liberado de forma lenta a partir das micropartículas produzidas, o que não foi observado para o IMZ puro. Além disso, a presença de CL nas micropartículas reduz ainda mais a taxa de liberação do herbicida. Conforme avaliado, o perfil de liberação do herbicida seguiu um mecanismo controlado por difusão Fickiana, o qual é descrito pelo modelo cinético de Korsmeyer-Peppas. Os resultados apontam que as micropartículas descritas nessa Dissertação são potenciais candidatas para atuarem como plataformas de liberação controlada do IMZ em aplicações agrícolas, visto que há a possibilidade de manter o nível efetivo do herbicida por pelo menos 30 dias no campo de aplicação.

Palavras-chave: Alginato, celulose, biopolímeros, micropartículas, herbicidas, imazetapir, sistemas de liberação controlada, materiais biopoliméricos, materiais compósitos.

ABSTRACT

NÖRNBERG, Andressa Baptista **Polysaccharides-based beads as vehicles for encapsulation and controlled delivery of Imazethapyr**. Dissertation (Master Degree) - Chemistry Post-Graduation Program. Federal University of Pelotas, Pelotas.

The development of novel devices able to tailor the physiological, physicochemical and, also, control the release of herbicides is one of the most promising strategies to reduce their use and harmful effects. In this sense, this Dissertation describes the preparation of alginate (Alg) and alginate/cellulose (Alg/CL) microparticles and investigates their use as vehicles for controlled release of imazethapyr (IMZ). The chemical nature, structure, and morphology of the prepared microparticles was characterized by different techniques (SEM, FTIR, XRD, TG/DTG) in detail. With the analytical data, it was confirmed the incorporation of CL into the Alg matrix and also the efficient encapsulation of IMZ into the Alg and Alg/CL microparticles. It was observed that the IMZ molecules undergo a phase transition from crystalline to the amorphous state after the encapsulation process suggesting that the herbicide and the polymeric microparticles may interact. As noticed from in vitro release assays, the IMZ is released slowly from the microparticles, which did not occur with pure IMZ (not encapsulated). Also, the presence of CL into the microparticles slow down the IMZ release rate as compared to the pristine microparticle. The experimental data were fitted by mathematical models, which revealed that the herbicide release from the microparticles is governed by a Fickian diffusion mechanism, described by the Korsmeyer-Peppas kinetic model. In conclusion, the results presented in this Dissertation allow inferring that these microparticles (Alg and Alg/CL) can be ranked as promising devices to act as vehicles for controlled release of IMZ in practical applications. As assessed, such microparticles can sustain the herbicide level in the crop field for at least 30 days, which is attractive from the practical viewpoint.

Keywords: Alginate, cellulose, biopolymers, microparticles, herbicide, imazethapyr, controlled release systems, biopolymeric materials, composite materials.

Lista de Figuras

Figura 1	Comparação das variações de concentrações de herbicidas administrados por sistemas convencionais (pulverizações terrestre e aérea) e sistema de liberação controlada (SLCH).....	20
Figura 2	Imagens fotográficas das micropartículas de (a) Alg, (b) Alg/IMZ, (c) Alg/CL e (d) Alg/CL/IMZ.....	35
Figura 3	Histograma de distribuição dos diâmetros das micropartículas.....	36
Figura 4	Imagens obtidas por MEV para as micropartículas (a) Alg; (b) Alg/CL; (c) Alg/IMZ; e (d) Alg/CL/IMZ.....	36
Figura 5	Espectros de FTIR obtidos para IMZ, AS, micropartículas Alg e Alg/IMZ.....	38
Figura 6	Espectros de FTIR obtidos para IMZ, CL e micropartículas Alg/CL e Alg/CL/IMZ.....	40
Figura 7	Padrões de DRX obtidos para as micropartículas Alg, Alg/IMZ e dos seus materiais precursores.....	41
Figura 8	Padrões de DRX obtidos para as micropartículas Alg/CL, Alg/CL/IMZ e dos seus materiais precursores.....	42
Figura 9	Curvas de TG (a) e curvas de DTG (b) obtidas para as amostras micropartículas Alg e Alg/IMZ e, dos seus materiais precursores, AS e IMZ.....	42
Figura 10	Curvas de TG (a) e curvas de DTG (b) obtidas para as micropartículas de Alg, Alg/CL, Alg/CL/IMZ e dos materiais precursores, IMZ e CL.....	44
Figura 11	Curvas de intumescimento das micropartículas (a) Alg; (b) Alg/IMZ; (c) Alg/CL; e (d) Alg/CL/IMZ em diferentes condições de pH.....	45
Figura 12	Variação do pH no qual as microesferas Alg; Alg/IMZ; Alg/CL e Alg/CL/IMZ apresentam PCZ.....	47
Figura 13	Perfis de liberação <i>in vitro</i> do IMZ encapsulado nas microesferas Alg/IMZ e Alg/CL/IMZ e não encapsulado.....	48
Figura 14	Gráficos de regressão para as micropartículas (a) Alg/IMZ e (b)Alg/CL/IMZ.....	52

Lista de Tabelas

Tabela 1	Exemplos de dispositivos descritos como SLCH.....	21
Tabela 2	Valores da capacidade de carga (CC-%) e da eficiência de encapsulação (EE-%) para as micropartículas Alg/IMZ e Alg/CL/IMZ.....	34
Tabela 3	Estabilidade das micropartículas em água por um período de 28 dias.....	46
Tabela 4	Modelos matemáticos testados.....	49
Tabela 5	Tipos de mecanismo de transporte proposto pelo modelo de Kormeyer-Peppas.....	50
Tabela 6	Constantes calculadas a partir dos modelos matemáticos utilizados.....	51

Lista de Esquemas

Esquema 1.....	22
Esquema 2.....	23
Esquema 3.....	25
Esquema 4.....	26
Esquema 5.....	53

Lista de Equações

Equação 1	Eficiência de Encapsulação (EE-%)	28
Equação 2	Capacidade de Carga (CC-%)	29
Equação 3	Grau de Intumescimento.....	31
Equação 4	Ponto de Carga Zero	32
Equação 5	Taxa de Degradação.....	32
Equação 6	Liberação do Imazetapir.....	33
Equação 7	Tempo de Liberação.....	53

Lista de Abreviaturas

AS: Alginato de sódio

SLCH: Sistemas de liberação controlada de herbicidas

Alg: Micropartículas de alginato reticuladas com íons divalentes de cálcio

CL: Celulose

IMZ: Imazetapir

CaCl₂: Cloreto de Cálcio

Alg/IMZ: Micropartículas Alg carregadas com imazetapir

Alg/CL: Micropartículas Alg contendo celulose

Alg/CL/IMZ: Micropartículas Alg/CL carregadas com imazetapir

FAO-ONU: Organização de Alimentos e Agricultura das Nações Unidas

CEME-Sul: Centro de Microscopia Eletrônica do Sul - FURG

UFPel: Universidade Federal de Pelotas

FTIR: Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier

DRX: Difração de Raios-X

MEV: Microscopia Eletrônica de Varredura

HPLC-MS/MS: Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada com Espectrômetro de Massas

PCZ: Ponto de Carga Zero

EE-%: Eficiência de encapsulação

CC-%: Capacidade de carga

pH: Potencial hidrogeniônico

λ : Comprimento de onda

M: Molaridade (mol por litro)

HCl: ácido clorídrico

NaOH: hidróxido de sódio

Sumário

1. Introdução	16
2. Objetivo	18
2.1. Objetivo Geral.....	18
2.2. Objetivo Específico.....	18
3. Revisão da Literatura	19
3.1. Sistemas de Liberação dos Herbicidas.....	19
3.2. Alginato de Sódio (AS).....	22
3.3. Celulose (CL)	24
3.4. Imazetapir (IMZ)	26
4. Parte Experimental	27
4.1. Materiais.....	27
4.2. Preparo das micropartículas de Alg e Alg/CL.....	28
4.3. Preparo das micropartículas com IMZ.....	28
4.4. Técnicas de Caracterização.....	29
4.4.1. Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	29
4.4.2. Difração de Raios-X (DRX)	29
4.4.3. Análise Termogravimétrica (TGA)	30
4.4.4. Análise de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)....	30
4.4.5. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC-MS/MS). 30	
4.4.6. Intumescimento em diferentes condições de pH.....	31
4.4.7. Determinação do Ponto de Carga Zero (PCZ).....	31
4.4.8. Estabilidade <i>in vitro</i>	32
4.4.9. Ensaio de Liberação de IMZ em Água.....	32
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
5.1. Caracterização das Micropartículas.....	44
5.2. Intumescimento das micropartículas.....	48
5.3. Liberação de IMZ a partir das micropartículas.....	44
6. Conclusão	55
7. Referências	56

1. Introdução

O aumento das cargas residuais encontradas tanto nos recursos hídricos como nos solos tem gerado sérios impactos ambientais.¹ Essas cargas, muitas vezes são provenientes de atividades realizadas pelo homem como, por exemplo, o uso excessivo de defensivos agrícolas durante o cultivo de alimentos. Dentre os motivos usados para justificar esse uso está relacionado com a necessidade de aumentar a produtividade e a qualidade geral dos alimentos cultivados. Tal situação, impõe um grande desafio para o setor e para as entidades de pesquisa da área à medida que se busca aliar alta produtividade com o emprego de quantidades mínimas de defensivos agrícolas.²

Dentre os defensivos mais comercializados, encontram-se os herbicidas, utilizados na agricultura para o controle de ervas daninhas. Por consequência do seu uso exagerado e inadequado, através de sistemas e práticas convencionais, esses são responsáveis por gerar grandes quantidades de resíduos que contaminam principalmente os recursos hídricos (superficiais e subterrâneos) e o solo.^{3,4} Nesse contexto, novos procedimentos e técnicas devem ser investigados para minimizar os problemas relacionados as formas de deposição e quantidade de aplicações dos herbicidas nos meios de cultivo. Dentre as possíveis soluções, está o desenvolvimento de sistemas que permitam a alteração das propriedades físico-químicas e a liberação controlada dos herbicidas, promovendo assim a melhor eficiência e a diminuição das excessivas aplicações dos mesmos.⁵ A principal vantagem deste tipo de sistema reside no fato de que esse irá manter o nível efetivo de ingredientes ativos do herbicida no local de aplicação durante um período prolongado. Dessa forma, evita-se o uso demasiado do mesmo, que por consequência pode reduzir eventuais processos de contaminação do meio ambiente (solo e água, por exemplo).⁶

Levando em conta os diferentes tipos de sistemas que podem ser utilizados como veículos de liberação controlada de herbicida, destacam-se aqueles formulados a partir de polímeros de origem natural (ou biopolímeros).⁷ Devido às suas interessantes propriedades como, por exemplo, biodegradabilidade, biocompatibilidade, baixa toxicidade e renovabilidade, os biopolímeros têm sido amplamente utilizados no preparo de dispositivos para encapsulação e liberação

controlada de agroquímicos.^{5,8,9} Um exemplo de biopolímero empregado no preparo deste tipo de material é o alginato sódio (AS), um polissacarídeo extraído a partir de algas marrons. Sistemas de liberação controlada de herbicidas (SLCH) baseados em AS têm sido comumente reportados na literatura.⁹ Todavia, fatores relacionados ao processo de liberação dos herbicidas a partir de materiais formados por AS ainda precisam ser investigados, haja visto que a liberação do composto encapsulado pode ser ajustada quando materiais insolúveis (argilominerais, compostos inorgânicos e polímeros insolúveis) são incorporados na matriz de alginato.^{10,11} Um material insolúvel que pode ser utilizado para esta finalidade é a celulose (CL), que assim como o AS também é um polissacarídeo muito abundante na natureza e é o principal componente estrutural das plantas. De modo geral, a CL pode ser extraída da madeira de árvores e da biomassa vegetal (casca de cereais, por exemplo). Interações inter e intramoleculares (via ligações de hidrogênio) entre as cadeias de CL fazem com que a mesma seja insolúvel em meio aquoso.¹²

Nesse contexto, a presente Dissertação versa sobre o preparo de micropartículas de alginato (Alg) e alginato/celulose (Alg/CL) para que essas atuem como potenciais veículos para encapsulação e liberação controlada de herbicidas usando como modelo o imazetapir (IMZ). Além disso, espera-se demonstrar a importância da incorporação da CL na matriz de alginato, uma vez que essa pode modular a taxa de liberação das moléculas IMZ encapsuladas na matriz Alg. Os dados coletados a partir desse estudo permitirão avaliar o potencial das micropartículas desenvolvidas para atuarem como SLCH e, por consequência, pode propiciar o aumento da eficiência do uso do IMZ e assim diminuir eventuais problemas ambientais causados pelo uso convencional do mesmo.¹³

2. Objetivo

2.1. Objetivo Geral

Preparar e caracterizar as micropartículas a base de alginato e alginato/celulose e utilizá-las na encapsulação do herbicida IMZ, e avaliar o potencial dos materiais obtidos (micropartículas de Alg/IMZ e Alg/CL/IMZ) como veículos para a liberação controlada do IMZ.

2.2. Objetivos Específicos

1. Desenvolver uma metodologia econômica viável e de fácil reprodutibilidade para o preparo das micropartículas (com e sem IMZ).
2. Preparar micropartículas Alg, Alg/CL, Alg/IMZ e Alg/CL/IMZ e caracterizar suas propriedades físico-químicas, estruturais, morfológicas e de intumescimento.
3. Avaliar a capacidade de encapsulação do IMZ em cada sistema obtido.
4. Investigar o processo de liberação do IMZ encapsulado em ambientes aquosos bem como o seu mecanismo.
5. Avaliar o efeito da CL no processo de liberação do IMZ.

3. Revisão da Literatura

3.1. Sistemas de Liberação dos Herbicidas

Os recursos hídricos e os solos estão se tornando cada vez mais corpos receptores de cargas residuais. Essas cargas são provenientes de efluentes transportados ou lançados no meio ambiente.¹⁴ Muitas vezes, essas cargas são oriundas de diversos processos e atividades realizadas pelo homem como, por exemplo, o uso de defensivos agrícolas na produção de alimentos. O setor agrícola justifica o emprego desses defensivos como uma maneira de aumentar a produtividade e a qualidade desses alimentos. Uma vez no solo, uma porção desses defensivos é absorvida pelas raízes das plantas e dependendo de alguns parâmetros (pH, teor de matéria orgânica, umidade) a outra porção ficará ou não retida no solo.¹⁵

A Organização de Alimentos e Agricultura das Nações Unidas (FAO-ONU) afirma que dentre os agroquímicos existentes, os herbicidas correspondem a maior parte dos defensivos agrícolas comercializados no mundo.¹⁶ Os herbicidas são agentes biológicos ou substâncias químicas que eliminam ou inibem o desenvolvimento de espécies daninhas que possam comprometer a produtividade de culturas de grande interesse comercial.¹⁷

Normalmente, sistemas convencionais de pulverização terrestre ou aérea são os mais utilizados para as aplicações dos herbicidas no meio de cultivo. A pulverização aérea é realizada por aviões agrícolas e tem como principal vantagem o alto rendimento operacional, por permitir que sejam realizadas aplicações rápidas e em maiores extensões da área de cultivo. Já os sistemas de pulverização terrestres são sistemas que utilizam maquinários agrícolas acoplados com pulverizadores e, apresenta como vantagens menor custo operacional, maior precisão e economia durante as aplicações dos defensivos, visto que, o maquinário irá alcançar apenas a área onde há a necessidade de uma remediação.¹⁸

No entanto, caso esses processos de aplicação não sejam bem executados dentro dos parâmetros técnicos, pode haver a perda na capacidade de manter os níveis de concentração efetiva dos herbicidas no solo, dentro da faixa terapêutica (**Figura 1**).¹⁹ Apesar da dosagem inicial do herbicida ser extremamente alta no início

da aplicação, depois de certo período é possível observar um declínio na concentração dessa dosagem, sendo necessário uma nova aplicação (ou reaplicação) para que o nível de efetividade seja mantido. Esse declínio pode estar relacionado a baixa estabilidade química (foto e biodegradação), alta lixiviação e volatilização dos herbicidas quando estão contidos no solo.²⁰ Como consequência disso e das excessivas aplicações, há um aumento das proporções de cargas residuais encontradas nos solos e nos recursos hídricos.^{4,20}

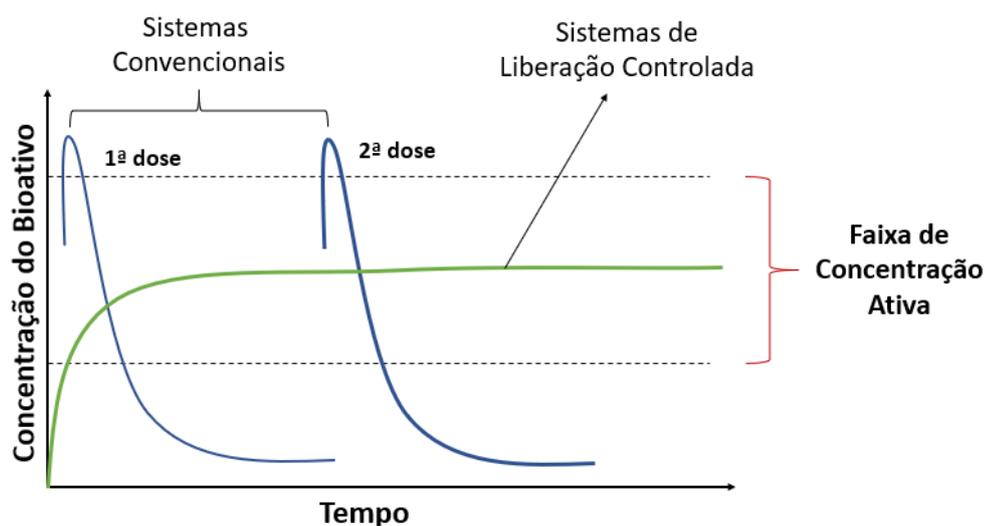


Figura 1. Comparação das variações de concentrações de herbicidas administrados por sistemas convencionais (pulverizações terrestre e aérea) e sistema de liberação controlada (SLCH). Fonte: Adaptado de Sopeña et al.²¹

Os SLCH têm sido considerados uma estratégia promissora para minimizar os problemas ocasionados pelo uso dos sistemas convencionais, visando aumentar a eficiência desse defensivo e reduzir a persistência do mesmo no solo.²² O termo “liberação controlada” é utilizado para definir sistemas que possuam a capacidade de liberar de forma contínua e prolongada uma determinada substância ativa, como os herbicidas.²³ Nesse sistema, a concentração ideal do herbicida é atingida de modo imediato no local de ação, permanecendo dentro da faixa terapêutica, de forma constante, por um longo período (**Figura 1**).²⁴ Na **Tabela 1**, são listados alguns exemplos de dispositivos empregados como SLCH.

Tabela 1. Exemplos de dispositivos descritos como SLCH.

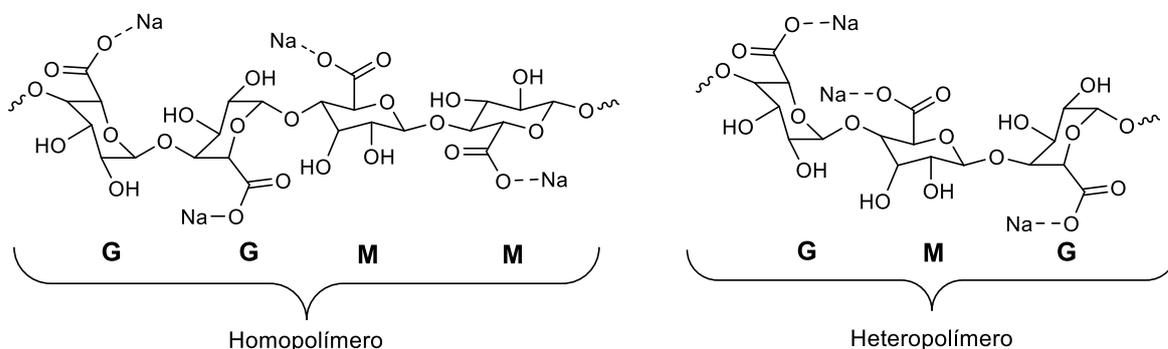
Composição	Tipo de Dispositivo	Herbicida	Ref.
Ligninas iônicas e organossolvidas	Micropartícula	Atrazina	25
Goma- <i>g-c</i> -poliacrilato/bentonita Goma- <i>g-c</i> -poli(N-isopropilacrilamida)	Hidrogel	Imazetapir	22
Poli(L-lactídeo-co-glicolídeo)-poli(etileno glicol)-poli(L-lactídeo-co-glicolídeo)	Filmes	Pendimentalina e Metazaclor	26
Poli(3-hidroxi-butirato-co-4-hidroxi-butirato)	Microcápsulas	Trifluralina	27
Quitosana e tripolifosfato de sódio	Nanopartículas	Paraquat	28
Poli(ácido láctico)	Emulsão	Lambda-Cialotrina	29
Azidobenzaldeído e carboximetilquitosana	Hidrogel	Diuron	30
Atapulgita/NH ₄ HCO ₃ /óleo de sílcio amino/poli(álcool vinílico)	Partículas	Glifosato	31
Carboximetilquitosana/argila	Hidrogel	Acetocloro	32

Os SCLH baseados em polímeros surgem como uma estratégia promissora para a encapsulação de diversas substâncias ativas, como é o caso dos herbicidas.^{33,23} Os sistemas de liberação poliméricos com dimensões na escala nano ou micro aparecem como potenciais alternativas para realizar a liberação controlada dessas substâncias.³⁴ A microencapsulação, por exemplo, consiste em micropartículas que conseguem encapsular uma variedade de materiais como, por exemplo, fármacos, catalisadores, defensivos agrícolas, entre outros. O termo micropartícula é designado para definir o tamanho da partícula, podendo variar o seu diâmetro médio entre 1 e 1000 µm.³⁴ Uma técnica muito usual e de baixo custo para a obtenção dessas micropartículas poliméricas é o método de reticulação iônica em solução via gotejamento. Nesse caso a solução polimérica é gotejada em uma solução contendo um agente reticulante que possui carga oposta à do polímero. Ao entrar em contato com o polímero, esse agente reticulante acaba formando ligações cruzadas (ou reticulações) com os grupos ionizáveis do polímero.³⁵ Um polímero comumente utilizado na formulação de microcápsulas utilizando o método de reticulação iônica é o AS.

3.2. Alginato de Sódio (AS)

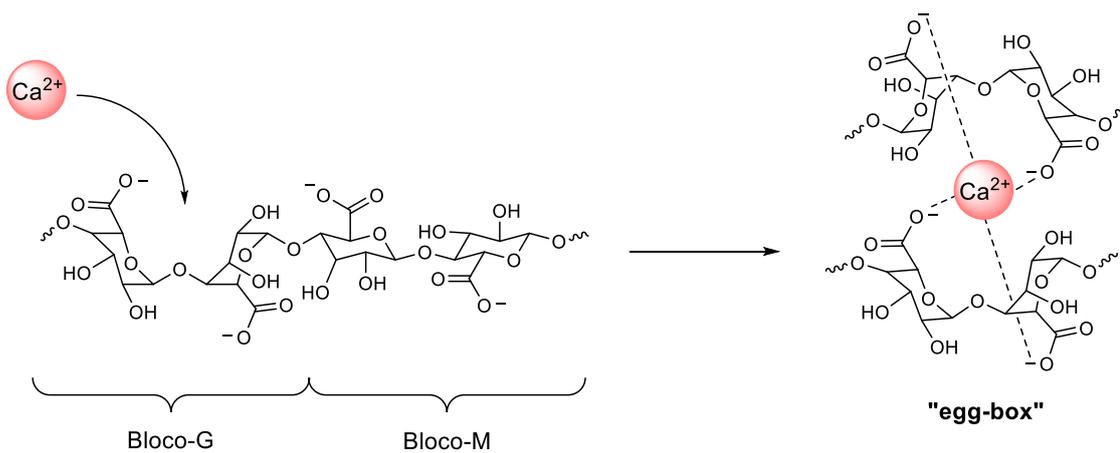
O AS é um polissacarídeo de origem natural, que pode ser extraído de todas as algas marinhas marrons e de certas espécies bacterianas.³⁶ Por apresentar características atrativas, tais como: ser atóxico, biocompatível, biodegradável, ser facilmente moldável e reticulável, ele é comumente utilizado pelo setor agrícola como veículo de transporte para a liberação controlada de herbicidas.^{37,38}

O AS é um copolímero de cadeia linear, formado por ligações glicosídicas do tipo (1→4) entre as unidades de ácido β -D-manurônico (M) e de unidades α -L-gulurônico (G) unidas por ligações glicosídicas. Essas unidades são chamadas de isômeros conformacionais, por possuírem a mesma fórmula molecular com diferentes arranjos espaciais.³⁹ Sua estrutura química (**Esquema 1**) pode apresentar tanto regiões com blocos MM e GG (homopolímero), como regiões intercaladas por blocos MG (heteropolímero) e, isso dependerá da espécie de bactéria ou alga que o AS será extraído.³⁶



Esquema 1

Quando dois blocos-G estão posicionados de maneira oposta, forma-se uma cavidade na qual na presença de cátions divalentes modificam a estrutura linear do alginato, para uma estrutura tridimensional, insolúvel conhecida como “egg-box” (**Esquema 2**).⁴⁰ O alginato possui caráter hidrofílico e pode ser reticulado tanto com cátions divalentes quanto com os polivalentes, para formar uma rede menos solúvel.⁴¹ Preferencialmente, os cátions divalentes farão a reticulação iônica com os blocos de gluronato, como é o caso dos íons divalentes de cálcio (Ca^{2+}) que apresentam o tamanho do raio iônico ideal para realizar as ligações cruzadas entre os grupos carboxílicos e/ou hidroxilas do alginato.^{42,43}



Esquema 2

Micropartículas de AS reticuladas com íons Ca^{2+} (Alg) têm sido utilizadas como encapsulantes de diferentes compostos (fármacos, biocompostos, agroquímicos, entre outros), o que possibilita o uso das mesmas como veículos de liberação controlada para diferentes finalidades.⁴⁴ Conforme demonstrado na literatura, micropartículas Alg têm sido particularmente aplicadas na agricultura como veículos de liberação controlada de agroquímicos.³⁴

Por exemplo, Patel *et al.*⁴⁵ relataram diversos estudos frente a eficiência de encapsulação e a liberação controlada do pesticida cipermetrina, o qual foi encapsulado na matriz de Alg. A eficiência de encapsulação (EE-%) do pesticida foi avaliada variando a concentração do pesticida (5, 10, 15, 20 e 25% m/v), onde foi possível observar que na concentração de 15% houve uma alta EE-%, com 96,5% de pesticida sendo encapsulado na matriz de Alg. A partir do experimento de liberação, os autores relatam que o processo de liberação da cipermetrina a partir das micropartículas produzidas ocorreu de forma lenta e sustentada durante 15 dias. A fim de modular esse tempo de liberação, os autores realizaram variações nas quantidades de Alg e de íons Ca^{2+} utilizadas na formulação das micropartículas. Contudo, a medida que os autores aumentavam as quantidades de ambos, houve um aumento na quantidade de pesticida liberado no meio, o que não é benéfico do ponto de vista prático

De modo geral, a natureza hidrofílica e a relativa alta porosidade das micropartículas preparadas com alginato fazem com que tais materiais apresentem um alto grau de permeabilidade o que facilita no processo de difusão dos compostos neles encapsulados.⁴⁶ Uma maneira de diminuir o grau de permeabilidade e

aumentar a quantidade de material encapsulado nas micropartículas de alginato é a introdução de materiais que atuem como barreiras físicas no interior das micropartículas ou que aumente o grau de reticulação das mesmas. Conforme observado na literatura, dentre os materiais utilizados para essa finalidade estão os argilominerais (bentonita, montimarilhonita), compostos inorgânicos e alguns outros polímeros insolúveis em água, como a CL.^{31,47}

Céspedes *et al.*⁴⁸ estudaram o efeito da incorporação de diferentes argilominerais (bentonita, antracito e o carvão ativado) na matriz Alg. O objetivo desse estudo era observar a diferença na eficiência de encapsulação e na taxa de liberação dos herbicidas cloridazona e metribuzina encapsulados nas micropartículas de Alg preparadas com diferentes argilominerais. Além disso, os autores relataram que houve um aumento na eficiência de encapsulação de ambos os herbicidas depois que esses agentes modificadores foram incorporados a matriz de Alg. Os maiores valores encontrados foram para as formulações preparadas com carvão ativado, o qual proporcionou um aumento de 74,9 para 99,7% na EE-% do herbicida cloridazona e de 38,1 para 90,2% na EE-% da metribuzina. Além disso, ao realizar o teste de liberação (*in vitro*) para as diferentes micropartículas preparadas, foi possível notar que taxa de liberação das micropartículas contendo os argilominerais diminuiu em comparação com as micropartículas Alg convencionais (ou seja, sem os argilominerais). Para as formulações contendo apenas o carvão ativado essa taxa de liberação foi menor em comparação com as outras formulações. Nesse caso em particular após 50 h, foram liberados aproximadamente 3,2% e 13,7% de cloridazona e metribuzina, respectivamente.

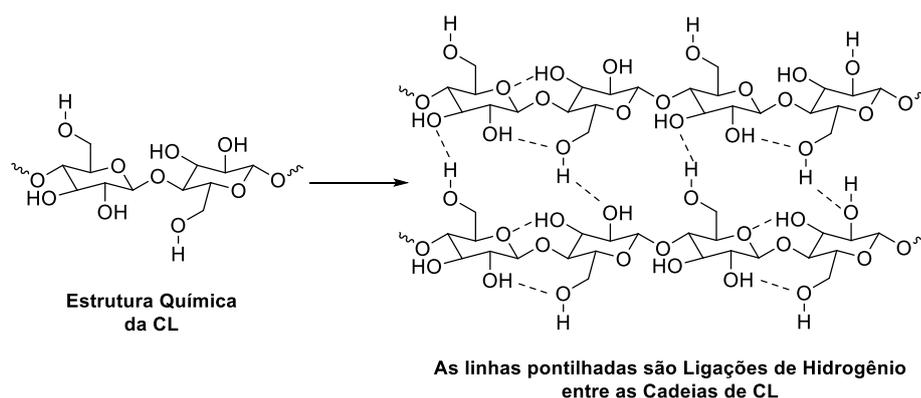
Na literatura não há relatos de dispositivos de liberação controlada de agroquímicos, formulado com materiais à base de Alg e outros polissacarídeos, como a CL. No entanto há dados que demonstram que pequenas quantidades de CL inseridas na matriz de Alg possibilitam a inibição da liberação rápida de fármacos previamente encapsulados na mesma.⁴⁹

3.3. Celulose (CL)

A CL é o polímero natural mais abundante no planeta Terra, produzido em quantidades que chegam a 10¹² toneladas/ano por diferentes organismos, incluindo

plantas, algas, biomassa vegetal e animais.⁵⁰ Por ser extraído de fontes renováveis, a CL torna-se um material de baixo custo e ambientalmente correto. É um polissacarídeo de cadeia linear composto por unidade de D-glucopiranosose unidas por ligações glicosídicas do tipo β -(1 \rightarrow 4). Sua estrutura apresenta grupos hidroxilas que realizam interações intra e intercadeias que interagem por ligações de hidrogênio, resultando na formação de microfibrilas (**Esquema 3**).

As microfibrilas possuem uma estrutura helicoidal que permitem a criação de fases cristalinas (regiões altamente ordenadas), alternadas com fases amorfas (domínios desordenados).⁵¹ As fortes interações realizadas pelas ligações de hidrogênio, além de serem responsáveis pela estrutura espacial linear das moléculas de CL, proporcionam a formação de fibras insolúveis que impedem a solubilidade em água dificultando a degradação das mesmas.⁵²



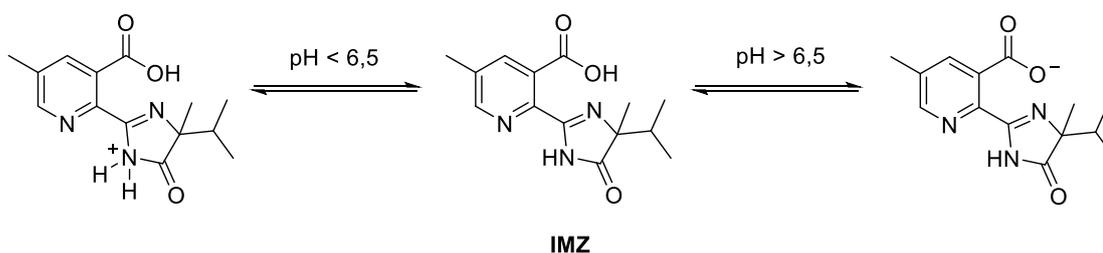
Esquema 3

Devido a sua biocompatibilidade, biodegradabilidade, ser atóxico e de baixo custo a CL tem atraído cada vez mais atenção de diversos pesquisadores, podendo ser incorporada em vários biopolímeros para preparação de diferentes biocompósitos, a fim de melhorar as propriedades físicas e mecânicas dos materiais.⁵³ Além disso, a incorporação de CL em matrizes poliméricas podem aumentar o efeito de barreira no interior da mesma, o que pode, por exemplo, ser útil para modular a taxa de liberação de moléculas encapsuladas nessas matrizes.⁵⁴

3.4. Imazetapir (IMZ)

O herbicida IMZ é um dos defensivos agrícolas mais utilizados no controle de gramíneas infestantes de folhagem larga, comumente utilizado em culturas de soja e no arroz irrigado. Possui um comportamento anfótero, por possuir em sua estrutura grupos carboxílicos (ácido) e um grupamento amida (básico).⁵⁵ O IMZ possui um coeficiente de ionização (pKa) de 3,9 – sendo que no grupo carboxílico é possível observar um pKa de 2,1 e no grupamento amida um pKa de 1,9.⁵⁶

Em solos alcalinos a sorção do IMZ é reduzida, em decorrência do predomínio na forma de um carboxilato (COO⁻) das moléculas dissociadas, as quais seriam repelidas pelas cargas negativas dos colóides presentes no solo, permanecendo mais biodisponíveis na solução do solo (**Esquema 4**). Como resultado, sob alta precipitação pode ocorrer a lixiviação do IMZ, levando ao acúmulo do herbicida no subsolo ou na contaminação de águas subterrâneas.⁵⁷



Esquema 4

Conforme levantado, alguns trabalhos na literatura utilizam o IMZ como modelo para o desenvolvimento de SLCH. Por exemplo, Kumar *et al.*²² relataram o desenvolvimento de formulações de hidrogéis para a liberação sustentada do IMZ visando a aplicação tanto pré como pós-emergencial. Segundo os autores, é esperado uma melhora no controle de plantas daninhas com menores taxas de aplicação e maior seletividade. Hidrogéis compósitos a base de goma guar graftizada com poliacrilatos e bentonita para aplicações pré-emergencial e nano hidrogéis a base de goma guar graftizada com poli(*N*-isopropiacrilamida) para aplicações pós-emergencial foram sintetizados e utilizados para encapsular o IMZ. Testes de liberação do IMZ foram realizadas pelos autores em meio aquoso durante um período de 30 dias utilizando o herbicida puro (ou seja, não encapsulado) e os dois tipos de hidrogéis sintetizados. A partir destes testes foi possível observar um

efeito "burst" no perfil de liberação do herbicida não encapsulado. Efeito "burst" denota um aumento abrupto na concentração de um composto no meio de liberação em um curto intervalo de tempo, o que é indesejado do ponto de vista prático. Foi notado ainda que 99,8% do IMZ não encapsulado é liberado em um curtíssimo intervalo de tempo. Em seguida, há um declínio na concentração do herbicida no meio de liberação, demonstrando a baixa estabilidade da formulação não encapsulado de IMZ. Em contrapartida, as formulações de hidrogéis testadas liberaram o IMZ de forma lenta e gradual, podendo ser observado uma estabilidade na concentração liberada de IMZ após 3–5 dias de teste, dependendo do tipo de hidrogel. De acordo com os autores, ambos os hidrogéis sintetizados mostraram uma bioeficácia ao conseguirem manter altos os níveis de liberação de IMZ durante 30 dias.

Apesar de saber a importância na diminuição das excessivas aplicações, pouco tem se estudado sobre a liberação controlada do herbicida IMZ. Kumar *et al.*²² foram um dos poucos autores a relatar na literatura estudos sobre o desenvolvimento de SLCH usando o IMZ como exemplo. Isso reforça a importância e a necessidade do desenvolvimento de novos materiais aplicáveis como veículos para liberação controlada de IMZ.

4. Parte Experimental

4.1. Materiais

- Alginato de sódio (SA) de algas marrons com viscosidade média (relação entre blocos M/G de aproximadamente de 1,56 e faixa de peso molecular de 80-120 kDa) (Sigma-Aldrich, EUA);
- Microfibras de celulose (CL) isoladas a partir de cascas de arroz de acordo com o protocolo descrito por Voss et al.⁵⁸
- Cloreto de cálcio (CaCl₂) (P.A., ACS Synth, Brasil);
- Imazethapyr (IMZ) (90% de pureza, ADAMA BRASIL S.A., Brasil)

4.2. Preparo das micropartículas de Alg e Alg/CL

As micropartículas de Alg foram preparadas a partir da dissolução de 600 mg de AS em água destilada (30 mL), mantendo-se sob agitação à temperatura ambiente, até a completa homogeneização da solução. Em seguida, a solução resultante foi transferida para uma seringa de plástico com uma agulha (diâmetro interno de 1,0 mm) e depois, cuidadosamente, gotejada em uma solução de CaCl₂ (5% m/v, 100 mL) sob agitação magnética lenta a temperatura ambiente, para a formação das micropartículas. Logo após as micropartículas foram recuperadas por filtração simples, lavadas com água destilada para remoção do excesso de cálcio e secas em estufa a 37 °C durante 24 h.

Para o preparo das micropartículas de alginato contendo CL (denotadas Alg/CL) foram preparadas de forma semelhante as micropartículas Alg, porém com pequenas modificações. Aproximadamente 30 mg de CL foram adicionados à solução de AS (600 mg em 30 mL de água destilada) sob agitação vigorosa, antes do gotejamento na solução reticulante (CaCl₂). A relação da massa Alg/CL foi fixada em 1:0,05, considerando experimentos anteriores.

4.3. Preparo das micropartículas com IMZ

A fim de realizar a encapsulação do IMZ na matriz polimérica, diferentes concentrações do herbicida (5, 10, 15 e 20% m/m em relação à massa total de polissacarídeos) foram adicionadas em soluções de Alg e Alg/CL antes do processo de gotejamento. Posteriormente, as micropartículas obtidas foram recolhidas, enquanto que as soluções restantes de CaCl₂ foram analisadas por HPLC-MS/MS a fim de determinar as quantidades residuais de IMZ. A partir desses dados, a capacidade de carga (CC-%) e a eficiência de encapsulação (EE-%) para cada condições testadas foram calculadas pelas **Equações (1) e (2)**, respectivamente:

$$EE (\%) = \frac{C_1 - C_2}{C_1} \times 100 \quad (1)$$

C_1 : massa inicial de herbicida na solução

C_2 : massa do herbicida restante no sobrenadante

$$CC (\%) = \frac{m_{IMZ}}{m_m} \times 100 \quad (2)$$

m_{IMZ} : massa de herbicida encapsulado nas micropartículas

m_m : massa das micropartículas

4.4. Técnicas de Caracterização

As diferentes amostras das micropartículas obtidas (Alg, Alg/IMZ, Alg/CL e Alg/CL/IMZ) foram caracterizados pelas técnicas de Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR), Difração de Raios-X (DRX), Análises Termogravimétricas (TGA), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC-MS/MS). Além disso, outros parâmetros como intumescimento em diferentes pH, pH de ponto de carga zero (pH_{PCZ}), estabilidade das micropartículas e liberação *in vitro* também foram avaliados.

4.4.1. Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A composição química das micropartículas preparados foi avaliada por FTIR utilizando um equipamento da marca Shimadzu, modelo IR-Affinity-1 (Japão). Para as análises, foram preparadas pastilhas contendo as amostras sólidas previamente maceradas e misturadas com KBr anidro. As análises foram realizadas em um intervalo de comprimento de onda de 400 a 4000 cm^{-1} com 80 varreduras por amostra.

4.4.2. Difração de Raios-X (DRX)

As análises de DRX foram realizadas em convênio com outra instituição (CEME-Sul/FURG de Rio Grande). As medidas de DRX foram feitas em um difratômetro da marca Siemens, modelo D500 (Alemanha) equipado com uma fonte de radiação $\text{Cu-K}\alpha$ ($\lambda = 1,54 \text{ \AA}$), utilizando uma tensão de 40 kV e uma corrente de 1,75 mA. As medidas foram feitas em um ângulo de varredura (2θ) de 5 a 70°, com

resolução de 0,02° e velocidade de varredura de 2°/min. As amostras foram analisadas na forma de pó.

4.4.3. Análise Termogravimétrica (TGA)

As análises termogravimétricas (TGA) foram realizadas no equipamento SDT Q600, da marca TA Instruments, modelo TA60 (EUA) em uma faixa de temperatura de 30 a 500 °C, sob um fluxo de N_{2(g)} de 100 mL/min, a uma taxa de aquecimento de 10 °C/min. Amostras com peso entre 0,1 a 10,0 mg foram pesadas previamente e colocadas em um porta amostra de platina hermeticamente fechado antes da análise.

4.4.4. Análise de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As imagens de MEV foram realizadas em convênio com outra instituição (CEME-Sul/FURG - Rio Grande, RS). A avaliação morfológica das amostras Alg, Alg/IMZ, Alg/CL e Alg/CL/IMZ foi realizada com auxílio de um MEV da marca JEOL, modelo JSM - 6610LV (EUA). Para a obtenção das imagens de MEV, a porção superficial de cada amostra foi previamente metalizada com uma fina camada de Au em um metalizador da marca DentonVacuum, modelo Desky (EUA). As imagens foram obtidas a partir de regiões de superfície e de fratura utilizando uma aceleração potencial de 10 kV.

4.4.5. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC-MS/MS)

A Cromatografia líquida de alta eficiência foi usado para análises quantitativas. O instrumento HPLC-MS/MS Q-Exactive Focus (Thermo Scientific) equipado com o analisador de massas do tipo quadrupolo e Orbitrap. As amostras tiveram volume de injeção de 10,0 µL, com temperatura de análise de 40 °C, com um tempo de corrida de 5 min. A coluna analítica foi a Accucore C18, com vazão de bombeamento da fase móvel de 0,25 mL/min. A detecção foi por espectrometria de massas em série (MS/MS), com o aparecimento do íon molecular de 290,14992.

O perfil da fase móvel A foi água ultrapura contendo 0,1% de ácido fórmico, 5 mM de formiato de amônio e fase B metanol.

4.4.6. Intumescimento em diferentes condições de pH

O efeito do pH do meio na capacidade de intumescimento das micropartículas preparadas foi avaliado por meio da determinação do parâmetro grau de intumescimento. Amostras secas das micropartículas (20 mg) foram imersas em frascos contendo água destilada, a temperatura ambiente, com diferentes pHs (5, 6 e 7). Os pHs foram ajustados usando soluções de ácido clorídrico (HCl) ou hidróxido de sódio (NaOH 1,0 M). Em intervalos de tempo pré-determinados, as micropartículas intumescidas foram recolhidas, o excesso de líquido de superfície foi cuidadosamente removido e eles foram pesadas numa balança analítica. Este procedimento foi realizado em triplicata para cada amostra. O cálculo do grau de intumescimento em cada intervalo de tempo foi realizado utilizando a **Equação (3)**:

$$\text{Grau de intumescimento (\%)} = \frac{(m_{int} - m_{seco})}{m_{seco}} \times 100 \quad (3)$$

Sendo:

m_{seco} : Massa das micropartículas no estado seco (g)

m_{int} : Massa das micropartículas no estado intumescido (g)

4.4.7. Determinação do Ponto de Carga Zero (PCZ)

A determinação do PCZ foi realizada, a fim de, determinar em qual pH a quantidade de espécies positivas é equivalente ao número de espécies negativas. O teste foi realizado em triplicata, sendo que foram testadas as amostras Alg, Alg/IMZ, Alg/CL e Alg/CL/IMZ. As amostras foram pesadas em balança analítica, imersas em solução de NaCl (0,1 mol/L) com diferentes pHs (2-12) durante 24 h e mantidas a temperatura ambiente. Os pHs foram ajustados utilizando soluções de HCl (0,1 mol/L) ou NaOH (0,1 mol/L) e para isso foi utilizado um pHmetro (Hannah Instruments, modelo HI2211, USA). Feito isso, adicionou-se 50 mg de microesferas

em cada Erlenmeyer. Os frascos foram mantidos sob agitação (150 rpm) em um agitador de mesa durante 24 h a temperatura ambiente. Posteriormente, as microesferas foram recolhidas, as soluções foram filtradas e os valores de pH foram novamente medidos utilizando um pHmetro. Cada ensaio foi realizado em triplicata. O cálculo do PCZ para cada amostra foi realizado utilizando a **Equação (4)**:

$$\Delta pH = pH_{inicial} - pH_{final} \quad (4)$$

4.4.8. Estabilidade *in vitro*

Foram realizados ensaios de estabilidade *in vitro* para as micropartículas Alg, Alg/IMZ, Alg/CL e Alg/CL/IMZ. Para isso, as amostras secas foram pesadas (aproximadamente 30 mg) e inseridas em frascos contendo água destilada, em pH 6, a temperatura ambiente. As amostras permaneceram imersas durante quatro semanas, onde a cada sete dias as amostras eram secas em estufa (35 °C por 24 h), pesadas e reinseridas nos frascos. Cada ensaio foi realizado em triplicata. A taxa de degradação foi calculada utilizando a **Equação (5)**:

$$Estabilidade (\%) = \frac{m_{s2}}{m_{s1}} \times 100 \quad (5)$$

Sendo:

m_{s1} : massa das microesferas secas antes da imersão (g)

m_{s2} : massa das microesferas secas depois da imersão (g)

4.4.9. Ensaio de Liberação de IMZ em Água

A taxa de liberação do herbicida IMZ encapsulado nas micropartículas Alg/IMZ e Alg/CL/IMZ, foram monitoradas em meio aquoso por meio de ensaios *in vitro*. Para isso, cerca de 200 mg de cada amostra de micropartículas foram dispostas em um erlenmeyer (500 mL) contendo 250 mL de água destilada (pH 6). Para fins comparativos, IMZ puro também foi testado. Assim, 30 mg de IMZ puro foram também imersos em 250 mL de água destilada (pH 6). Os sistemas foram mantidos em repouso sob temperatura ambiente. Após intervalos de tempo pré-

determinados, alíquotas de 1 mL, foram coletadas a fim de se determinar a quantidade de IMZ liberada. A quantificação do IMZ foi feita por HPLC. Durante esse processo, as alíquotas retiradas das amostras foram substituídas por 1 mL de água destilada (pH 6), a fim de manter o volume constante do sistema de liberação. A porcentagem de IMZ liberada, após cada intervalo de tempo, foi calculada usando a **Equação (6)**.

$$IMZ \text{ liberado} = \left[\frac{\text{Quantidade de IMZ na solução}}{\text{Quantida de IMZ encapsulado}} \right] \times 100\% \quad (6)$$

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Caracterização das Micropartículas

As micropartículas de Alg e Alg/CL, com diferentes concentrações de IMZ (5, 10, 15 e 20% (m/v)) foram preparadas pela reticulação iônica entre os grupos carboxílicos ($-\text{COO}^-$) do alginato e os íons Ca^{2+} . Por apresentarem forte interação eletrostática, as micropartículas são formadas imediatamente após o gotejamento da solução polimérica na solução reticulante de CaCl_2 . Após a coleta das micropartículas da solução reticulante, o sobrenadante (solução residual de CaCl_2) foi analisado utilizando o utilizando a técnica de HPLC-MS/MS, a fim de determinar a quantidade de IMZ não encapsulada nas micropartículas. A partir dessas informações, foram calculados os parâmetros CC-% e EE-%, os quais são exibidos na **Tabela 2**.

Tabela 2. Valores da capacidade de carga (CC-%) e da eficiência de encapsulação (EE-%) para as micropartículas Alg/IMZ e Alg/CL/IMZ.

Amostras	Concentração de IMZ	CC-%	EE-%
	(m/m-%)		
Alg/IMZ	5	3	66
	10	7	74
	15	9	68
	20	12	70
Alg/CL/IMZ	5	3	70
	10	7	83
	15	11	85
	20	14	84

Os resultados apresentados na tabela acima, mostram que as micropartículas Alg obtiveram maior EE-% e CC-% para os sistemas preparados com 10% (m/m) de IMZ, sendo possível observar uma eficiência de encapsulamento do herbicida igual 74%. Além disso, ao incorporar a CL na matriz de Alg promoveu um aumento da EE-% de todos os sistemas testados. Em particular, para as micropartículas Alg/CL preparadas com 15% (m/m) do herbicida, o valor de EE-% atingiu 85%. Tal aumento provavelmente ocorreu, pois a CL atua como uma barreira dentro dos macroporos presentes na matriz de Alg.⁵⁹ A presença de macroporos na matriz de Alg, facilita na difusão de moléculas de IMZ para o meio externo, diminuindo a eficiência de encapsulação.⁶⁰ Uma potencial interação entre as moléculas de IMZ e CL também pode explicar esse aumento nos valores de EE-% para as micropartículas Alg/CL. Além disso, observa-se que juntamente ao aumento da proporção de herbicida na micropartícula há um declínio na EE-%, porém há um aumento na CC-% do material, o que demonstra que o IMZ não encontra-se retido apenas na parte interna do material, como também encontra-se retido pelo lado externo do material. Vale ressaltar, que o parâmetro CC-% mensura a relação entre o IMZ encapsulado nas porções internas e externas das micropartículas.

Neste contexto, as micropartículas Alg/IMZ e Alg/CL/IMZ formuladas com 10 e 15% de IMZ, respectivamente, foram selecionadas para realizar os experimentos de caracterização e ensaios de liberação *in vitro* do herbicida IMZ. Em termos práticos, temos que para cada 1 g de micropartículas Alg temos 0.074 g de IMZ encapsulado, enquanto que para cada 1 g de micropartículas Alg/CL temos 0.08 g de IMZ. A

Figura 2, apresenta imagens fotográficas das micropartículas Alg, Alg/IMZ, Alg/CL e Alg/CL/IMZ antes do processo de secagem. Todas as amostras apresentaram forma esférica, o que é esperado para micropartículas de Alg preparadas por meio de gotejamento.² As micropartículas de Alg/CL possuem uma coloração esbranquiçada provavelmente devido a presença da CL. As micropartículas carregadas com o IMZ (**Figuras 2(b) e 2(d)**) não possuem alteração no aspecto visual quando comparadas com as micropartículas vazias (**Figuras 2(a) e 2(c)**).

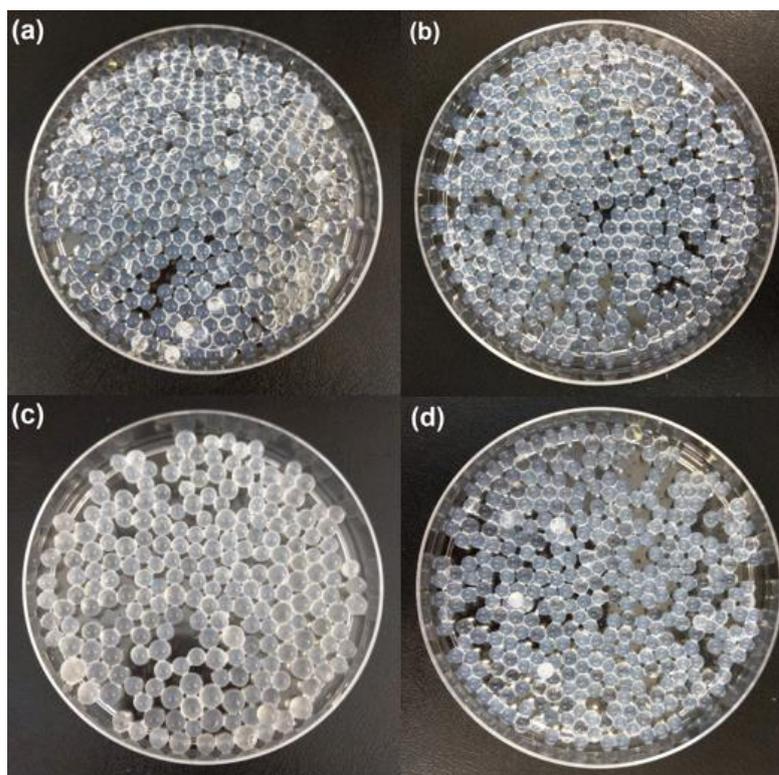


Figura 2. Imagens fotográficas das micropartículas de (a) Alg, (b) Alg/IMZ, (c) Alg/CL e (d) Alg/CL/IMZ.

Além das micropartículas apresentarem forma esférica, possuem diâmetro na escala milimétrica. Na **Figura 3** são apresentadas as distribuições dos diâmetros calculados para as micropartículas Alg, Alg/IMZ, Alg/IMZ e Alg/CL/IMZ. Os diâmetros foram estimados utilizando 50 micropartículas (para cada amostra) e um paquímetro digital (Paquímetro Inox 150 mm Digital, LEE Tools), com as amostras intumescidas e o valor apresentado é a média simples e o desvio padrão. As micropartículas formadas somente com Alg e Alg/CL apresentaram um diâmetro médio de $3,6 \pm 0,03$ mm e $4,02 \pm 0,04$ mm, enquanto que as micropartículas Alg/IMZ e Alg/CL/IMZ

apresentaram um aumento no diâmetro médio para $4,05 \pm 0,03$ mm e $4,24 \pm 0,02$ mm. Esses resultados demonstram que ao incorporar na matriz de Alg a CL há um aumento no diâmetro médio das micropartículas.

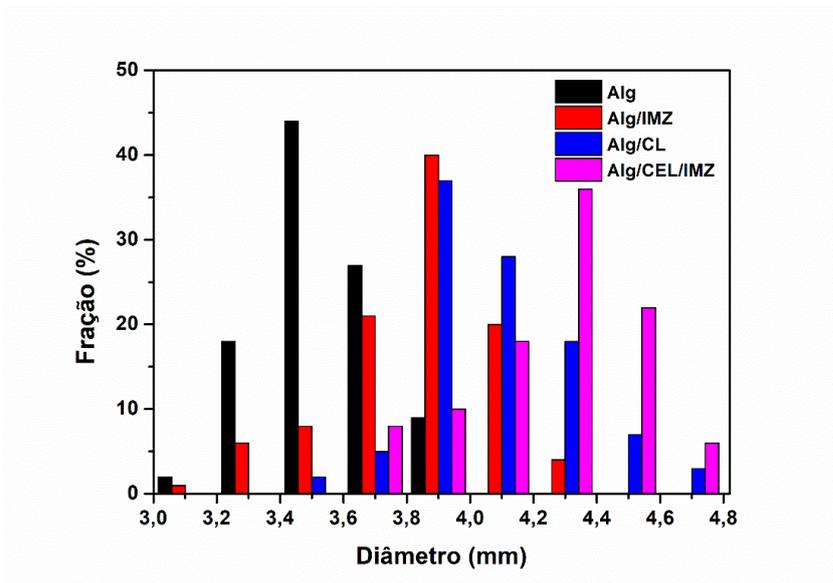


Figura 3. Histograma de distribuição dos diâmetros das micropartículas.

A avaliação morfológica das regiões superficiais das micropartículas foi feita a partir de imagens obtidas por MEV. As imagens de MEV são apresentadas na **Figura 4(a)** e **4(b)** para amostras de Alg e Alg/CL e **Figura 4(c)** e **4(d)** para as amostras Alg/IMZ e Alg/CL/IMZ.

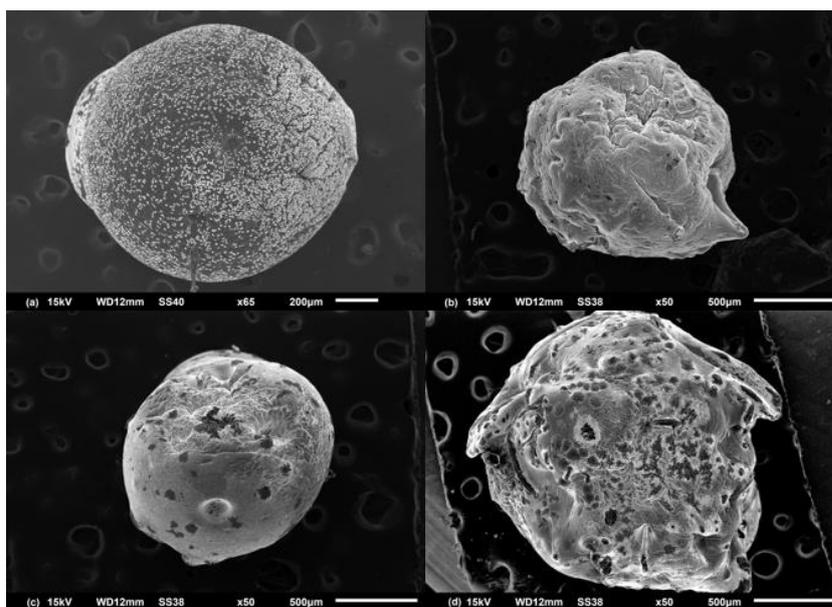


Figura 4. Imagens obtidas por MEV para as micropartículas (a) Alg; (b) Alg/CL; (c) Alg/IMZ; e (d) Alg/CL/IMZ.

Nas imagens de MEV apresentadas na **Figura 4** pode-se evidenciar a morfologia esférica para todas as amostras. Na **Figura 4(a)** é possível observar uma superfície com rugas, característico para as micropartículas de Alg.⁶⁰ Ao incorporar a CL na matriz de Alg, **Figura 4(b)**, há uma redução da rugosidade na superficiais das micropartículas, sugerindo que a interação interfacial e a adesão da CL na matriz de Alg. Já as imagens de MEV obtidas para Alg/IMZ e Alg/CL/IMZ, **Figura 4(c)** e **4(d)**, observa-se uma diminuição na rugosidade na superfície das micropartículas, devido a encapsulação do herbicida na matriz polimérica. Além disso, em ambas as amostras é possível notar o aparecimento de regiões com fragmentos escuros, indicando a presença do IMZ na superfície das micropartículas.

Afim de identificar os diferentes grupos funcionais presentes na estrutura dos materiais obtidos, utilizou-se a técnica espectroscopia na região do infravermelho.⁶² O espectro de FTIR obtido para o AS, observado na **Figura 5**, apresenta bandas características de sua estrutura, como em 3439 cm^{-1} que está associado ao estiramento das ligações O-H dos grupos hidroxila do alginato, o que possibilita interações significativas com a água, ocasionando no aumento da intensidade desta banda mostrada no espectro.⁴⁴ Em 2924 cm^{-1} são observadas as vibrações do estiramento C-H das ligações alifáticas. Além disso, bandas em 1632 e 1434 cm^{-1} são atribuídas aos estiramentos simétrico e assimétrico do grupo carboxilato livre ($-\text{COO}^-$), respectivamente, comprovando a presença de íons na estrutura do alginato. As bandas posteriores são extremamente relevantes e podem ser usadas para a caracterização do alginato, como em 1028 cm^{-1} atribuída ao estiramento do grupamento éter (C-O-C) do anel piranosídico e em 817 cm^{-1} referente ao estiramento C-O com contribuições das deformações C-C-H e C-O-H.⁶³

No espectro de Alg reticulados com íons Ca^{2+} , além de apresentar bandas características do AS, também é possível observar diferenças significativas entre os espectros. Como na região de absorção do estiramento vibracional das ligações O-H do Alg, no qual, houve um leve deslocamento para regiões de menor intensidade, 3433 cm^{-1} . Essa diferença é justificada pela participação dos grupos hidroxila e carboxilato do alginato com os íons Ca^{2+} para a formação de uma estrutura quelante e por haver a diminuição de ligações de hidrogênio entre os grupos funcionais hidroxila.⁶³ Bandas em 1620 e 1427 cm^{-1} referente ao estiramento $-\text{COO}^-$,

deslocaram-se para regiões de menor intensidade, isto porque quando há a substituição dos íons Na^+ (do AS) pelos íons Ca^{2+} a densidade de carga, o raio e o peso atômico do cátion são alterados. Além disso, as ligações cruzadas nos metais divalentes ocorrem por intermédio dos oxigênios do grupo carboxilato, interagindo por meio de forças eletrostáticas, resultando numa estrutura tridimensional conhecida como “egg box”, resultando na modificação da vibração do estiramento $-\text{COO}^-$, confirmando assim a reticulação do alginato com os íons Ca^{2+} .⁶⁴

Além disso, na **Figura 5** estão contidos os espectros para as micropartículas de Alg/IMZ e dos materiais precursores (Alg e IMZ). No espectro do herbicida IMZ é possível observar bandas como em 3244 cm^{-1} referente ao estiramento da ligação $-\text{CONH}-$, e em 2965 cm^{-1} do estiramento $-\text{OH}$ dos grupos carboxílicos, além disso, observa-se a banda em 1745 cm^{-1} referente ao estiramento $\text{C}=\text{O}$ encontrados no grupo carboxílico presentes na estrutura do herbicida. Ao observarmos os espectros das micropartículas contendo o herbicida (Alg/IMZ), além de ser possível notar bandas características das micropartículas do Alg, há o aparecimento de uma nova banda em 1745 cm^{-1} , atribuída ao IMZ presente na matriz polimérica. O aparecimento dessa banda, sugere a eficiência da encapsulação do herbicida na matriz polimérica.⁶⁵

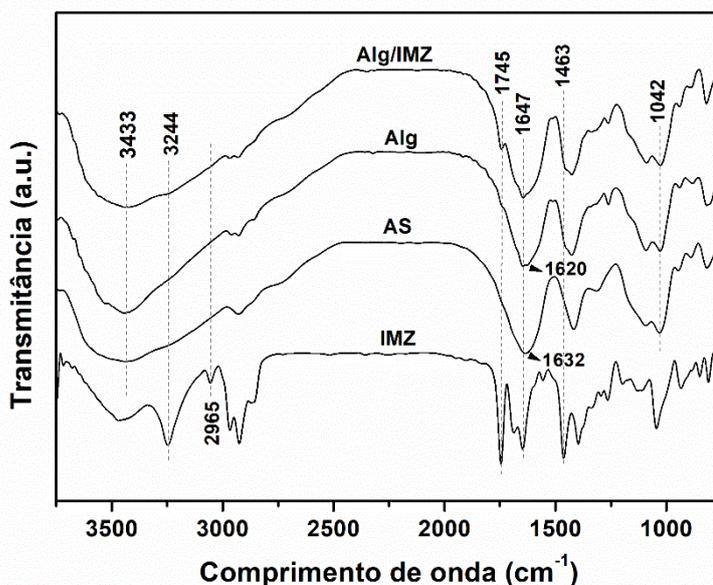


Figura 5. Espectros de FTIR obtidos para IMZ, AS, micropartículas Alg e Alg/IMZ.

Além disso, também foram realizadas as análises de FTIR para as micropartículas Alg/CL e Alg/CL/IMZ e para os seus precursores (Alg, CL e IMZ). Na **Figura 6**, encontra-se o espectro da CL o qual apresenta bandas características de polissacarídeo como em 3410 cm^{-1} atribuída ao estiramento dos grupos hidroxila e em 2896 cm^{-1} referente ao estiramento C–H, das ligações alifáticas. A banda em 1640 cm^{-1} é observada devido ao modo de flexão de moléculas de água retidas na estrutura do polímero. O sinal em 1164 e 987 cm^{-1} são associados aos movimentos de C–O–C e C–O, respectivamente, das ligações glicosídicas. Além disso, a banda em 898 cm^{-1} é atribuída as vibrações C–H características das ligações $\beta(1\rightarrow4)$ da CL.⁴⁴

Em comparação com o espectro Alg, nota-se que a introdução da CL na matriz de alginato alterou a posição da banda associada ao estiramento O–H para um menor número de onda (de 3433 para 3428 cm^{-1}) e ainda causou um alargamento da mesma, conforme observado no espectro obtido para Alg/CL. Tal alargamento sugere a formação de ligações de hidrogênio intermoleculares entre os dois polissacarídeos.⁸ No espectro de Alg a banda observada em 1630 cm^{-1} é atribuída aos grupo carboxilas do alginato. Contudo, ao observarmos o espectro Alg/CL é possível notar um deslocamento dessa banda de 1630 para 1643 cm^{-1} , indicando a interação intermolecular entre as hidroxilas presentes na estrutura da CL e as carboxilas do alginato, provavelmente através de ligações de hidrogênio.⁶⁵

Na **Figura 6**, é apresentado o espectro de FTIR obtido para as micropartículas Alg/CL/IMZ. Comparando com o espectro Alg/CL não é possível observar modificações nas bandas características dos materiais precursores (Alg e CL). Contudo nota-se o surgimento de uma nova banda em 1742 cm^{-1} característico do estiramento C=O dos grupos carboxila provenientes do IMZ, confirmando assim a encapsulação do IMZ na matriz polimérica.

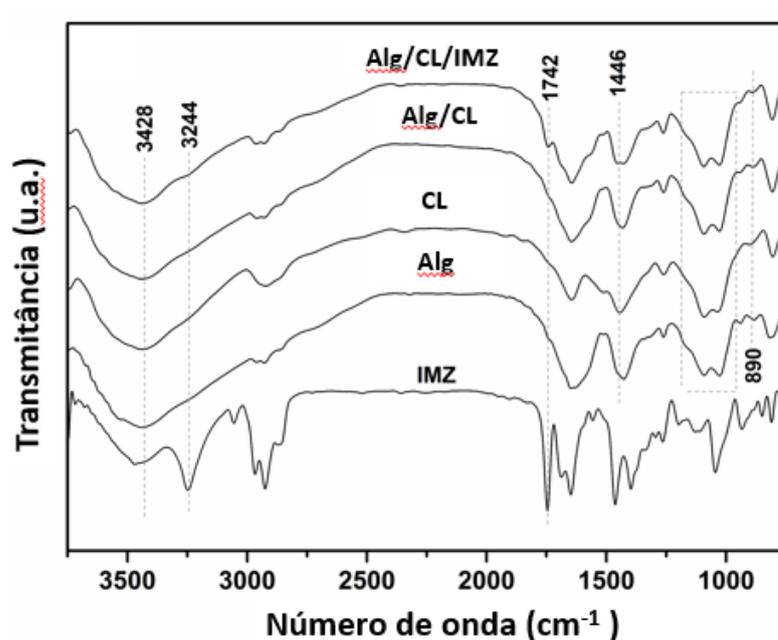


Figura 6. Espectros de FTIR obtidos para IMZ, CL e micropartículas Alg/CL e Alg/CL/IMZ.

Para investigar a estrutura química das micropartículas, foram obtidos padrões de DRX dos materiais formulados e, também dos seus materiais precursores. Conforme mostrado na **Figura 7**, o padrão de difração do AS apresentou três picos de difração em ângulos 2θ iguais a $13,6^\circ$ e $22,5^\circ$ que são designados pelos planos de reflexão, respectivamente, (110) da unidade gulurônica (G) e (002) da unidade manurônica (M).^{66,67} Após a reticulação com íons Ca^{2+} , os picos de difração do alginato desapareceram, o que indica que esse processo afetou o arranjo cristalino do AS. Em contraste, o padrão de difração de raios-X do Alg apresentou picos de difração em 2θ iguais a $31,2^\circ$, $45,5^\circ$ e $56,5^\circ$, que estão associados à estrutura da “egg-box”.⁶⁸

O IMZ apresenta no seu padrão de difração diversos picos de difração caracterizando uma estrutura altamente ordenada. Após o encapsulamento, os picos cristalinos característicos do herbicida desapareceram, como pode ser observado no padrão de difração das micropartículas Alg/IMZ da **Figura 7**. A perda da estrutura cristalina do IMZ nas micropartículas demonstra a interação do herbicida com a matriz polimérica, permanecendo na parte amorfa da micropartícula, confirmando a encapsulação do IMZ na matriz polimérica. Provavelmente, as forças de interação entre a matriz de Alg e o IMZ prejudicaram o processo de cristalização após o procedimento de encapsulamento. Além disso, a ausência de novos picos de

difração em comparação com o padrão Alg sugere que o encapsulamento de IMZ não afeta a estrutura de alginato- Ca^{2+} .

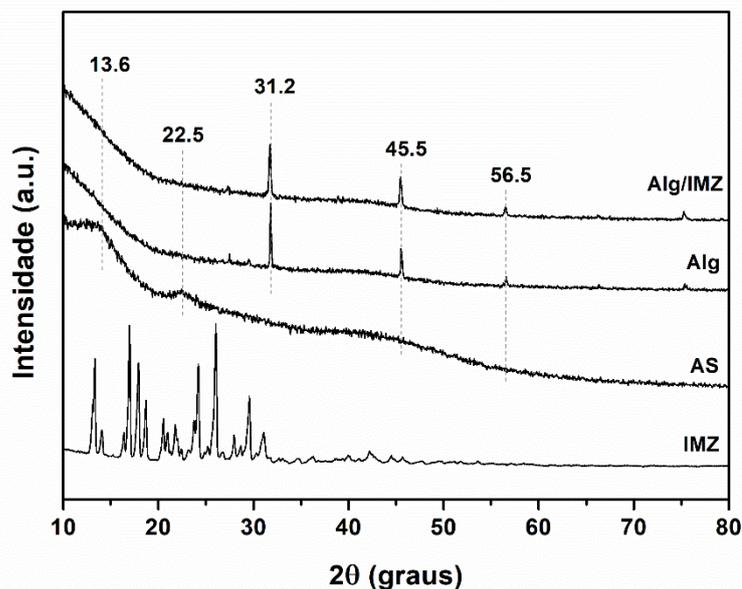


Figura 7. Padrões de DRX obtidos para as micropartículas Alg, Alg/IMZ e dos seus materiais precursores.

Além disso, padrões de DRX também foram obtidos para as micropartículas Alg/CL e dos seus materiais precursores (Alg e CL) (**Figura 8**). A amostra de CL apresentou picos de difração característicos com ângulos 2θ de $15,9^\circ$ e $22,3^\circ$ que correspondem aos planos de reflexão (101) e (200), o que sugere que a estrutura cristalina da CL.⁶⁹ Já no espectro das micropartículas de Alg/CL esses picos não foram observados, indicando uma boa dispersão da CL na matriz de alginato. Além disso, o baixo teor de fibras de CL na contribuí para uma maior agregação dos cristais na matriz de alginato.⁷⁰ Na **Figura 8** é possível observar o espectro para as micropartículas após a incorporação do IMZ, no qual, também foi possível notar o desaparecimento dos picos cristalinos do IMZ, confirmando a encapsulação do herbicida na matriz polimérica.

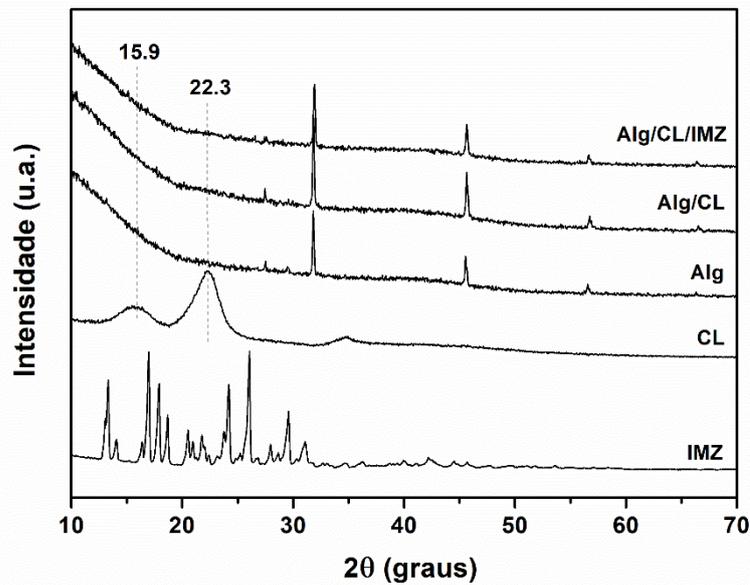


Figura 8. Padrões de DRX obtidos para as micropartículas Alg/CL, Alg/CL/IMZ e dos seus materiais precursores.

Análises termogravimétricas (TGA) foram realizadas a fim de determinar a estabilidade térmica e/ou a taxa de decomposição das micropartículas em função de da temperatura. Na **Figura 9(a)** e **9(b)** são apresentadas as curvas de TG e confirmadas pelas curvas de DTG (primeir/a derivada das curvas de TG), respectivamente, para as amostras Alg e AS.

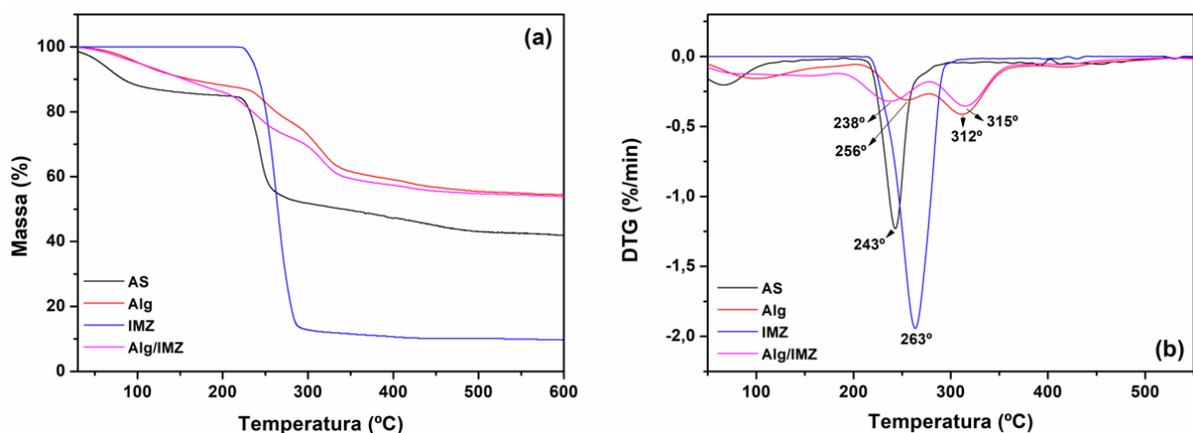


Figura 9. Curvas de TG (a) e curvas de DTG (b) obtidas para as amostras micropartículas Alg e Alg/IMZ e, dos seus materiais precursores, AS e IMZ.

A curva de TG obtida para o AS exibiu dois estágios de perda de massa. A primeira degradação térmica ocorrendo entre 30 e 110 °C pode ser atribuída a vaporização de água e componentes voláteis presentes na superfície da amostra, corresponde a perda de massa de 13%. O segundo estágio, próximo a 224 °C é atribuído à quebra das ligações glicosídicas presentes na estrutura química do AS.⁷¹ Já para as curvas de TG das micropartículas de Alg, observa-se quatro estágios de perda de massa. A primeira degradação térmica da micropartícula começa em torno de 40 °C variando até 180 °C atribuída como a expulsão de moléculas de água da superfície da micropartícula, correspondente a perda de peso máxima de 11%. Na etapa seguinte, correspondendo a perda de peso máxima de ocorre em torno de 236 °C, referente a degradação de cadeias laterais e oxidação parcial do Alg. A última etapa ocorre por volta de 398 °C e corresponde a completa oxidação de compostos biogênicos dentro das micropartículas de Alg.⁷²

Em contraste com as micropartículas de Alg, as micropartículas de Alg/IMZ exibiram uma degradação térmica em uma faixa de temperatura menor (197 a 271 °C), o que acarreta a baixa estabilidade térmica das micropartículas (**Figura 9(a) e 9(b)**). Isso acontece porque o IMZ reduz as interações que ocorrem entre a matriz de Alg e com os íons Ca^{2+} , para promover ligações de hidrogênio entre os grupos -COO^- do Alg e os grupos -OH presente na estrutura química do IMZ, deixando a matriz de Alg menos estável. Porém quando comparado a estabilidade do IMZ e das micropartículas de Alg/IMZ, observa-se um aumento na estabilidade térmica ao encapsular o IMZ, pois as interações necessitam de altos valores energéticos para fragmentar e, assim, tornam as micropartículas de Alg/IMZ termicamente mais estável.⁷³ Esse aumento na estabilidade do IMZ é um dos pontos positivos dos SLCH, visto que, muitas vezes os herbicidas sofrem a degradação por fotólise, o que diminui sua eficiência sendo necessário uma nova dosagem.⁷⁴

Na **Figura 10(a) e 10(b)**, são apresentadas as curvas de TG e DTG obtidas para as micropartículas de Alg/CL e para os seus materiais precursores. Observa-se pelas curvas de TG da CL duas etapas de degradação térmica. A primeira está relacionada a perda inicial de peso observada na faixa de temperatura de 35 e 97 °C, devido a evaporação da umidade. A principal degradação térmica foi observada em torno de 218 °C, devido a degradação térmica dos materiais celulósicos.⁷⁵ Análises das curvas de TG/DTG obtidas para as micropartículas Alg/CL, revelam

que esse material apresenta uma estabilidade maior com a dispersão da CL na matriz de Alg, devido ao aumento da temperatura máxima de degradação térmica inicial das micropartículas. Esse fato pode estar relacionado com a interação entre os grupos $-OH$ da CL e os grupos $-COO^-$ do Alg, conseqüentemente, reduzindo as interações entre os íons Ca^{2+} e aumentando as ligações de hidrogênio entre as duas matrizes poliméricas.⁷⁶

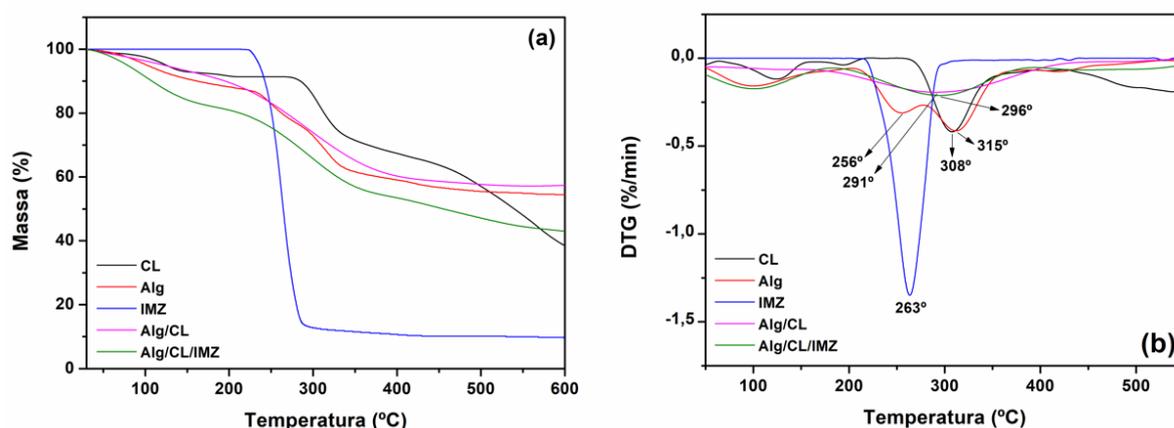


Figura 10. Curvas de TG (a) e curvas de DTG (b) obtidas para as micropartículas de Alg, Alg/CL, Alg/CL/IMZ e dos materiais precursores, IMZ e CL.

Já ao encapsular o herbicida IMZ na matriz de Alg/CL, observa-se um aumento na estabilidade térmica do material, por haver uma elevação na temperatura máxima de degradação inicial das micropartículas. Esse acréscimo é decorrente da interação entre a CL e o IMZ, como consequência, disso a interação dos íons Ca^{2+} e as cadeias do Alg se mantém estável degradando o material numa temperatura maior. A forte interação entre a CL e o IMZ, pode dificultar a liberação do herbicida da micropartícula.

5.2. Intumescimento das micropartículas

A cinética de intumescimento das amostras Alg, Alg/IMZ, Alg/CL e Alg/CL/IMZ frente a solução com diferentes pHs (5, 6 e 7) também foi avaliada **Figura 11(a-d)**.

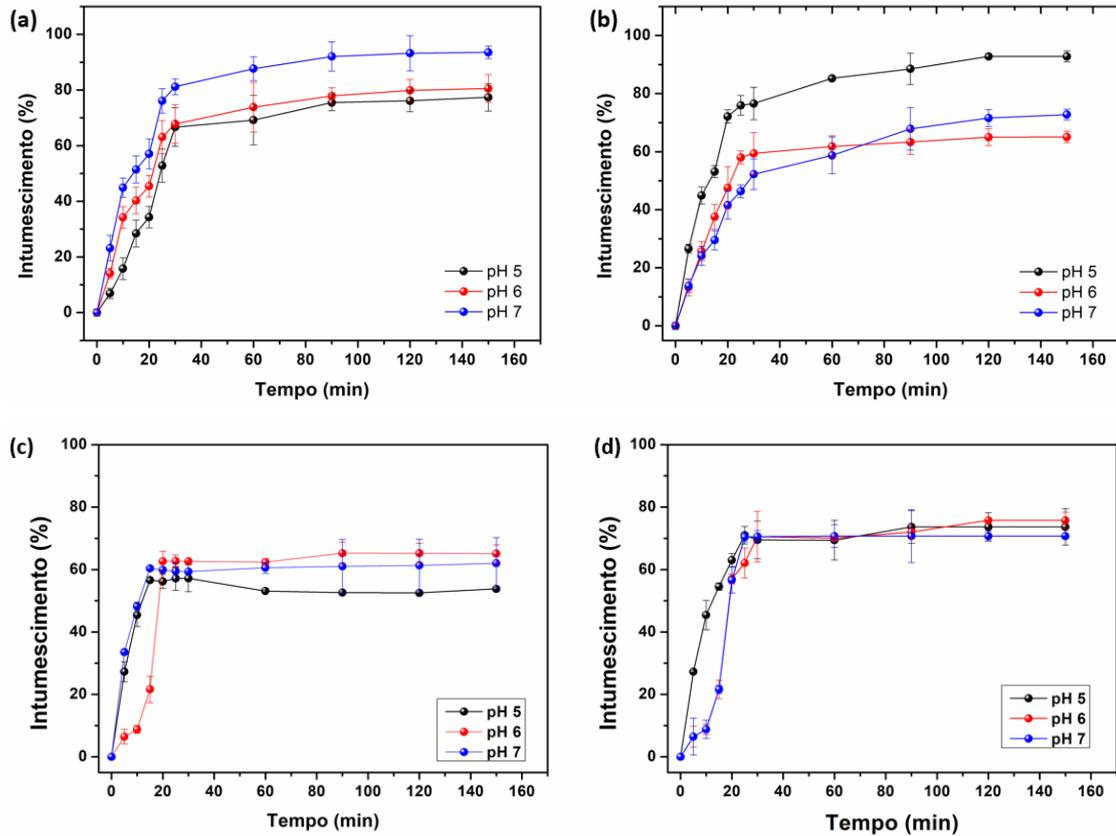


Figura 11. Curva de intumescimento das micropartículas (a) Alg; (b) Alg/IMZ; (c) Alg/CL; e (d) Alg/CL/IMZ em diferentes condições de pH.

De acordo com os resultados obtidos dos ensaios de grau de intumescimento em função do tempo, ambas as amostras apresentaram uma cinética de intumescimento rápida, alcançando o máximo de inchaço em 30 min. Conforme o tempo passa, ambas as curvas de intumescimento tendem a se estabilizar, o que caracteriza o cessamento do processo de absorção. Apesar das micropartículas apresentarem comportamento semelhante, a **Figuras 11(a)**, observa-se que sob condições básicas a micropartícula de Alg apresenta maior intumescimento, devido à quebra das interações entre os grupos -COO^- do Alg e os íons Ca^{2+} . Dessa forma, a quantidade de grupos negativamente carregados aumenta na superfície da micropartícula, aumentando a repulsão eletrostática entre eles fazendo com que haja o aparecimento de canais na amostra e desta forma a micropartícula intumescer em pH neutro.⁷⁷ Ao encapsular o IMZ na matriz de Alg, **Figura 11(b)**, é possível observar que esse comportamento é invertido, havendo o diminuição no intumescimento das micropartículas em meio básico, isso pode estar associado a interação entre o Alg e o IMZ, pelo lado externo da micropartícula, diminuindo a

quantidade de grupos negativos na superfície e, conseqüentemente, diminuindo o intumescimento.

Na **Figura 11(c)**, observa-se o mesmo comportamento das micropartículas de Alg/CL. Ao dispersar a CL na matriz de Alg, há uma diminuição na capacidade máxima de intumescimento das micropartículas. Esta menor capacidade de absorção apresentada pelas micropartículas pode ser explicada pela alta cristalinidade da CL e pelo efeito de reforço causado pelas interações entre a CL e o Alg. As ligações de hidrogênio entre esses dois polissacarídeos reduzem a disponibilidade de grupos funcionais hidrofílicos que acarretam a interação com as moléculas de água.^{78,79} No entanto, ao encapsular o IMZ na micropartículas de Alg/CL (**Figura 11(d)**) há um aumento capacidade de absorção das micropartículas, em ambos pHs. Isto pode estar acontecendo por conta da interação entre a CL e o IMZ, deixando os grupos do Alg mais susceptíveis as interações com a água, aumentando o intumescimento.

Foram realizados estudos *in vitro* para investigar a estabilidade das micropartículas em meio aquoso. As amostras foram mantidas imersas em água destilada por um período de 28 dias à temperatura ambiente com eventual agitação. A taxa de degradação de cada amostra foi calculada após esse período e os resultados são apresentados na **Tabela 3**.

Tabela 3. Estabilidade das micropartículas em água por um período de 28 dias.

Amostra	Degradação (%)
Alg	74,7 ± 1
Alg/IMZ	67,9 ± 1
Alg/CL	66,4 ± 2
Alg/CL/IMZ	67,8 ± 1

Após quatro semanas imersas em água destilada (pH 6), as micropartículas de Alg apresentaram a maior taxa de degradação quando comparada com as micropartículas de Alg/CL. Apesar de a taxa de degradação serem muito próxima, essa diferença pode estar relacionada com a eficiência que a pequena porção de CL contribui para uma melhora na estabilidade física do material.⁷⁹ Como demonstrado anteriormente, as micropartículas de Alg apresentam uma morfologia altamente

porosa o que facilita a difusão de água para o interior das mesmas, acarretando a dissolução de alguns fragmentos de cadeias o que acaba gerando um processo de degradação nas micropartículas.⁸⁰

O desenvolvimento de dispositivos para a liberação controlada de qualquer ingrediente ativo deve ser avaliado frente as suas propriedades superficiais de tais dispositivos, pois a superfície do dispositivo irá determinar a eficiência da liberação. O ponto de carga zero (PCZ) é um parâmetro usado para determinar em qual pH a superfície das micropartículas estará neutra, ou seja, em que pH o número de espécies positivas será equivalente com o número de espécies negativas. Por esse parâmetro é possível avaliar o comportamento da micropartícula frente ao seu intumescimento e acionar a liberação do soluto.

Na **Figura 12**, encontram-se os valores estimados do PCZ para cada micropartícula. As amostras de Alg e Alg/CL apresentaram valores aproximados (6,26 e 6,23), o que indica que a incorporação da CL exerce um efeito insignificante na região da superfície, por estar restrita na fase principal da micropartícula. Já as micropartículas de Alg/IMZ e Alg/CL/IMZ houve um declínio para os valores do PCZ (4,72 e 4,62) indicando que as micropartículas carregadas exibem uma superfície mais negativa.

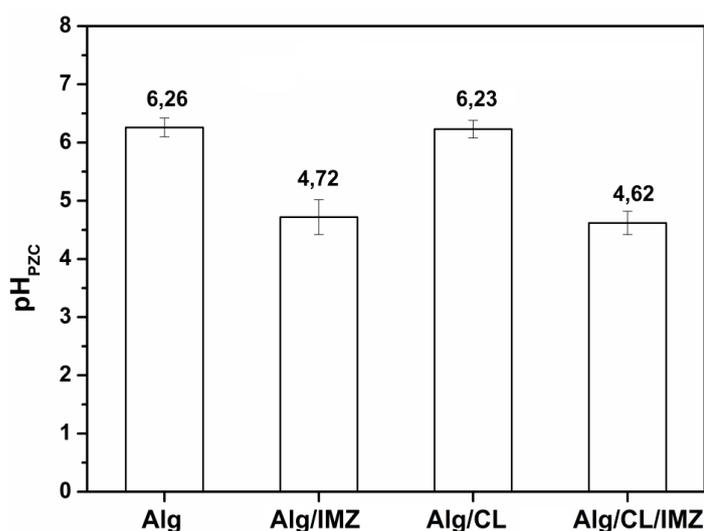


Figura 12. Variação do pH no qual as microesferas Alg; Alg/IMZ; Alg/CL e Alg/CL/IMZ apresentam PCZ.

Apesar do IMZ ser anfótero por haver em sua estrutura química grupos carboxílicos (ácido) e grupamento amina (básico), em condições experimentais (pH

6) há uma desprotonação dos grupos carboxílicos, acarretando o aumento de cargas negativas na superfície do material. Os resultados obtidos, neste parâmetro, demonstram que moléculas do IMZ estão contidas também na superfície do material, corroborando com a análise morfológica. Dessa forma, em pHs maiores que o PCZ há o aumento a quantidade de cargas negativas na superfície da micropartícula, enquanto que e pHs menores que o PCZ haverá o aparecimento de cargas positivas e, portanto, não há um aumento no intumescimento das micropartículas de Alg/IMZ e Alg/CL/IMZ por conta dessa quantidade de carga negativa na superfície do material.

5.3. Liberação de IMZ a partir das micropartículas

A **Figura 13** apresenta os resultados dos ensaios de liberação (*in vitro*), comparando os perfis cinéticos do IMZ encapsulado nas micropartículas de Alg e Alg/CL à temperatura ambiente, em pH 6, durante 30 dias. Para fins comparativos, o perfil de liberação do IMZ puro também foi avaliado.

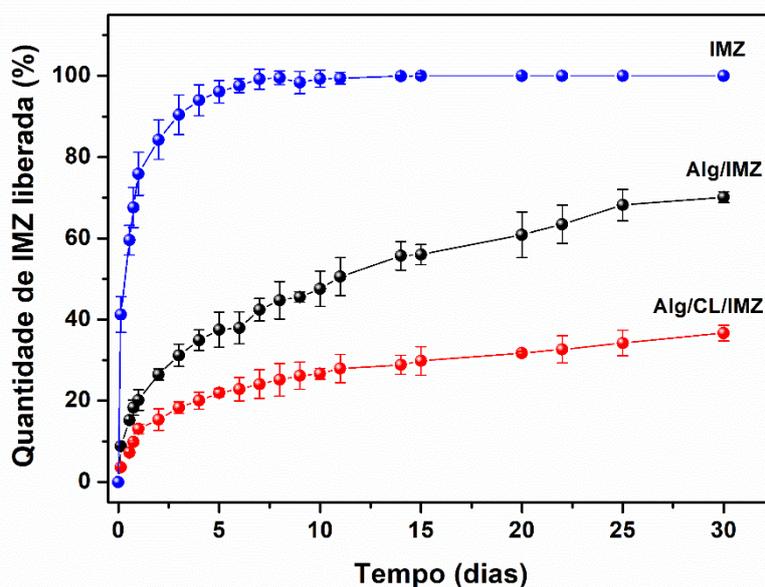


Figura 13. Perfis de liberação *in vitro* do IMZ encapsulado nas microesferas Alg/IMZ e Alg/CL/IMZ e não encapsulado.

Analisando as curvas de liberação é possível notar que em 3 dias 90% do IMZ não encapsulado foi liberado na solução. Esse percentual atingiu 100% antes do 7º

dia de teste. Em contrapartida, ao compararmos a curva de liberação do IMZ com as curvas de liberação das micropartículas (Alg/CL e Alg/CL/IMZ) é possível observar que estas apresentaram um perfil lento e sustentável ao longo dos 30 dias de teste. De modo geral, ambas as micropartículas apresentaram uma taxa de liberação inicial rápida, provavelmente devido a liberação de moléculas de IMZ encapsuladas na porção superficial das micropartículas. Conforme ainda observado, a presença da CL na matriz de Alg afetou o perfil de liberação do herbicida quando comparado com as micropartículas de Alg/IMZ, liberando cerca de 37% de IMZ ao longo dos 30 dias enquanto as micropartículas de Alg/IMZ demonstraram uma liberação duas vezes maior (~70%).

A fim de obter informações sobre os mecanismos que regem no processo de liberação do IMZ, das micropartículas preparadas, os dados da **Figura 13** foram examinados usando diferentes modelos matemáticos os quais são descritos na **Tabela 4**.

Tabela 4. Modelos matemáticos testados.

Modelo	Equação	Forma Linearizada
Korsmeyer-Peppas	$\frac{M_t}{M_o} = k_{KP} t^n$	$\log\left(\frac{M_t}{M_o}\right) = \log k_{KP} + n \log t$
Ordem-zero	$\frac{M_t}{M_o} = k_o t$	–
Primeira-ordem	$\frac{M_t}{M_o} = e^{-k_1 t}$	$\ln\left(\frac{M_t}{M_o}\right) = -k_1 t$
Higuchi	$\frac{M_t}{M_o} = k_H t^{1/2}$	–
Hixson-Crowell	$\left(\frac{M_t}{M_o}\right)^{1/3} = k_{HC} t$	–

* Nota: M_t/M_o denota a fração de liberação de IMZ até o tempo "t" (M_t é a quantidade cumulativa de liberação de IMZ no tempo "t" e M_o é a quantidade de IMZ encapsulada nas micropartículas preparadas). k_o , k_1 , k_H , k_{HC} e k_{KP} são as constantes dos modelos matemáticos, enquanto n é o expoente de liberação do modelo Korsmeyer-Peppas.⁶⁰

Em geral as equações que descrevem o perfil de liberação de um agente ativo são associadas a forma física do sistema de liberação – cilíndrica, esférica, filmes, gel – ao modo de difusão (estático ou dinâmico) e as características da matriz polimérica (porosa ou densa).

O modelo matemático de Korsmeyer-Peppas é bastante conhecido por explicar alguns tipos de cinéticas de liberação de agentes ativos e, é expresso pela equação demonstrada na **Tabela 3**. Essa equação é usada para interpretar e descrever a liberação do ingrediente ativo (herbicida) quando o mecanismo que prevalece é uma combinação da difusão do herbicida pelo transporte Fickiano ou via transporte não-Fickiano (Caso II). Nesta equação é possível observar não só a difusão do herbicida, mas também o relaxamento das cadeias do polímero, como um processo determinante na liberação do herbicida.

O expoente de liberação (n) atribui características do mecanismo de liberação, esse expoente é encontrado utilizando o modelo matemático de Korsmeyer-Peppas. Se n for igual a 0,43 o mecanismo que controla a liberação do herbicida se dá por sistemas de difusão Fickiana – descrita para o transporte de fluídos de uma região de alta concentração para regiões de baixa concentração; Já se n for igual a 1, a cinética de liberação é de Ordem-zero, sendo a liberação controlada por mecanismos de transporte do Caso II – a liberação ocorre pelo intumescimento do polímero através do relaxamento da matriz ou a liberação mediante erosão; além disso, se caso os valores de n estiverem entre os valores de 0,43 e 1 indicam uma cinética de transporte anômalo, com uma combinação dos dois mecanismos de difusão e de transporte de Caso II (**Tabela 5**).

Tabela 5. Tipos de mecanismo de transporte proposto pelo modelo de Korsmeyer-Peppas.

Valores de n	Mecanismos de transporte do agente ativo
0,43	Difusão Fickiana
$0,43 < n < 1,0$	Transporte anômalo ou não-Fickiano
1,0	Transporte do Caso II ou liberação de Ordem- zero

O modelo de Ordem-zero é definido pela equação demonstrada na **Tabela 4**, e baseia-se na liberação lenta do agente ativo a partir de substâncias que não desagregam com facilidade do material. Já o modelo matemático de primeira-ordem segue o perfil de dissolução, contendo agentes ativos hidrossolúveis em matrizes porosas, liberam o agente ativo de forma proporcional a quantidade remanescente no seu interior tal que a quantidade de agente ativo liberada por unidade de tempo tende a diminuir.

Outro modelo baseia-se na equação de Higuchi, também encontrado na **Tabela 4**, usada para prever a velocidade com que é liberado o agente ativo a partir de um sistema matricial. Este modelo descreve o mecanismo de liberação do agente ativo como um processo de difusão baseado na Lei de Fick, dependendo da raiz quadrada do tempo. No entanto, o uso desse modelo para sistemas que intumescem não é válido, visto que, os sistemas desse tipo podem degradar por erosão.

Por fim, o modelo matemático de Hixson-Crowell assume que a taxa de liberação é limitada pela dissolução das partículas do herbicida e não pela difusão que possa ocorrer através da matriz polimérica.

Os dados experimentais foram testados utilizando os modelos matemáticos descritos na **Tabela 4**. A partir da forma linear desses modelos, foram confeccionados gráficos e os parâmetros cinéticos (ou constantes) associados a cada modelo foram calculados por meio da regressão linear dos dados. Todos os parâmetros calculados estão resumidos na **Tabela 6**.

Tabela 6. Constantes calculadas a partir dos modelos matemáticos utilizados.

Modelo	Constantes	Alg/IMZ	Alg/CL/IMZ
Ordem-zero	k_0 (% dia ⁻¹)	0.019	0.009
	R ²	0.870	0.781
Primeira-ordem	k_1 (dia ⁻¹)	0.051	0.049
	R ²	0.646	0.517
Hixson-Crowell	k_{HC} (% ^{1/3} dia ⁻¹)	0.012	0.008
	R ²	0.733	0.656
Higuchi	k_{HC} (% dia ^{-1/2})	0.018	0.060
	R ²	0.870	0.944
Korsmeyer-Peppas	k_{KP} (dia ⁻¹)	0.199	0.112
	n	0.38	0.40
	R ²	0.998	0.978
	$t_{0.5}$ (dias)	11.30	43.73

O modelo matemático que forneceu o maior valor de R^2 (coeficiente de determinação linear) foi considerado capaz de explicar os dados de liberação e, portanto, capaz de indicar o melhor mecanismo de liberação do IMZ a partir das micropartículas. Após observar os valores de R^2 calculados para cada modelo, fica nítido que o modelo de Korsmeyer-Peppas apresentou maior robustez para explicar os dados experimentais ($R^2 > 0.97$).

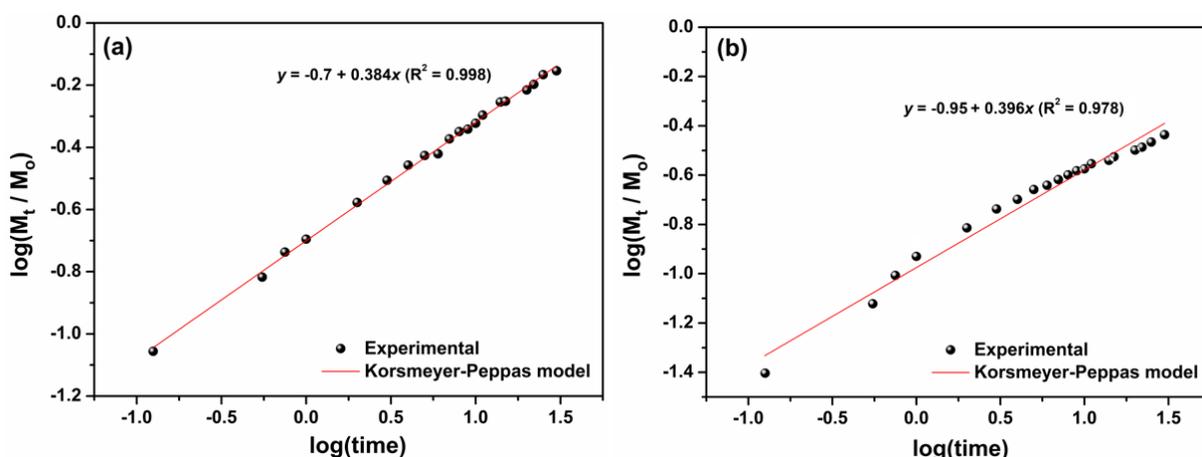


Figura 14. Gráficos de regressão para as micropartículas (a) Alg/IMZ e (b) Alg/CL/IMZ.

O modelo de Korsmeyer-Peppas propõe que se o parâmetro n for menor ou igual a 0,43 tem-se que o mecanismo de liberação que segue a Lei de Fick. Essa lei descreve como acontece transporte de fluídos de uma região de alta concentração para regiões de baixa concentração química, sob condições permanentes. A difusão é um processo que depende do tempo, ou seja, o tempo de relaxação do polímero é maior que o tempo específico de difusão do solvente.

A constante do modelo de Korsmeyer-Peppas (k_{KP}) incorpora características estruturais e geométricas do sistema polimérico testado e do composto encapsulado. Os valores de k_{KP} mostram que a liberação é mais lenta para as micropartículas contendo a CL, uma vez que o valor de k_{KP} é menor para Alg/CL/IMZ do que para aquele calculado para Alg/IMZ. De modo geral, esse resultado sugere maior interação entre o herbicida e o dispositivo de transporte contendo CL. Além disso, os valores de k_{KP} (menores que 0,2 em ambos os casos) indicam que o IMZ é liberado das micropartículas Alg/IMZ e Alg/CL/IMZ de maneira controlada.

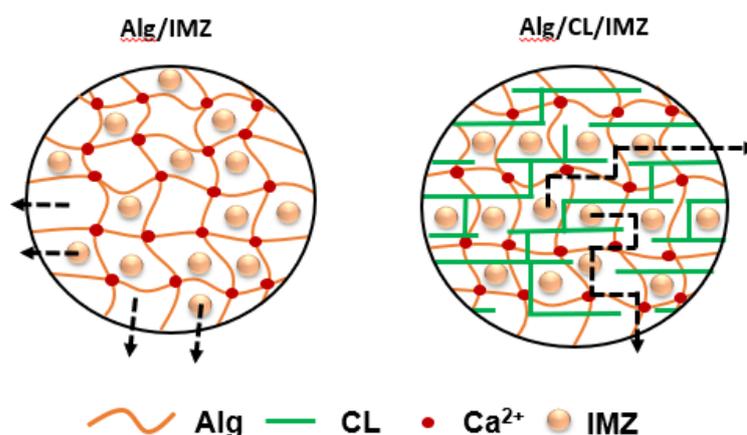
Outro parâmetro matemático que pode ser calculado a partir do modelo de Korsmeyer-Peppas é o tempo necessário para liberar 50 % da quantidade inicial de

IMZ encapsulado nas micropartículas. Este parâmetro é denotado $t_{0.5}$ e é calculado pela **Equação (7)**:

$$t_{0.5} = \left(\frac{0.5}{k_{KP}} \right)^{1/n} \quad (7)$$

Como pode ser observado na **Tabela 5**, os valores de $t_{0.5}$ calculados para para as micropartículas de Alg/IMZ e Alg/CL/IMZ foram de e 11,30 e 43,75 dias, respectivamente. Estes resultados confirmam que a incorporação de CL na matriz de alginato pode ser considerada uma estratégia promissora para retardar a taxa liberação do IMZ das micropartículas. Sugere-se que as micropartículas de CL insolúveis dispersas na matriz de alginato atuam como uma barreira física contra a difusão do IMZ para o meio externo.

Quando suficientemente dispersa, a CL causa esse efeito de tortuosidade que perturba a liberação de solutos. Este efeito é o resultado da disposição de partículas de CL dentro do dispositivo polimérico, tal efeito fornece caminhos mais longos (tortuosos) que dificultam a difusão do soluto em direção as partes externas das micropartículas, retardando a liberação do composto encapsulado, nesse caso o IMZ (**Esquema 5**).⁵⁴



Esquema 5

Os resultados obtidos e descritos até aqui, demonstram que as propriedades físico-químicas e de liberação das micropartículas de Alg e Alg/CL são adequadas para que essas atuem como potenciais veículos transportadores para encapsulação

e liberação controlada de herbicidas, como o IMZ. Estudos adicionais deverão ser realizados a fim de se avaliar o comportamento das micropartículas em condições próximas àquelas encontradas no campo. Ainda, a ação do IMZ liberado a partir das micropartículas em plantas consideradas danosas para a cultura alvo (arroz ou soja) também deverá ser avaliada.

6. Conclusão

Nessa dissertação é apresentado o preparo de micropartículas de Alg e Alg/CL encapsulando o herbicida IMZ, onde a metodologia empregada mostrou-se satisfatória. A formação das micropartículas reticuladas fisicamente com Ca^{2+} foi confirmada pelas análises de FTIR, DRX e TGA. Além disso, foi possível também evidenciar a incorporação da CL na matriz de Alg. A presença da CL na matriz de Alg aumentou a eficiência de encapsulação do IMZ.

As técnicas analíticas demonstraram que as moléculas do IMZ passaram por uma transição de fase cristalina para amorfa, após o encapsulamento. Foi confirmado, também, que há uma ligeira interação entre as matrizes e o IMZ.

Os ensaios *in vitro* de liberação demonstraram que as micropartículas realizam uma liberação controlada e prolongada do IMZ em até 30 dias. O mecanismo de liberação do IMZ é realizado por difusão Fickiana. As micropartículas de Alg/CL/IMZ realizam uma liberação mais lenta do que as micropartículas de Alg/IMZ, devido a formação da barreira física formada pela incorporação da CL na matriz de Alg, o que ocasiona um efeito de tortuosidade, retardando a liberação do IMZ das micropartículas.

Todos os resultados apresentados e discutidos sugerem que as micropartículas Alg e Alg/CL encapsuladas com o IMZ, possuem grande potencial para serem aplicados com veículo de transporte de herbicida, ecologicamente correto, por se tratar de dois polissacarídeos.

Contudo o que foi abordado aqui, testes de liberação em solo e lixiviação ainda são de extrema importância para confirmarem a eficiência do material preparado no solo. Ainda, testes de campo deverão ser realizados no futuro para que a eficiência dos dispositivos seja comprovada.

7. REFERÊNCIAS

- ¹ FLORES-CÉSPEDES, F.; DAZA-FERNÁNDEZ, I.; VILLAFRANCA-SÁNCHEZ, M.; FERNÁNDEZ-PÉREZ, M.; MORILLO, E.; UNDABEYTIA, T. Lignin and Ethylcellulose in Controlled Release Formulations to Reduce Leaching of Chloridazon and Metribuzin in Light-textured Soils. **Journal of Hazardous Materials**, v. 343, p. 227-234, 2018.
- ² ROY, A.; SINGH, S. K.; BAJPAI, J.; BAJPAI, A. K. Controlled Pesticide Release from Biodegradable Polymers. **Central European Journal of Chemistry**, v. 12, p. 453-469, 2014.
- ³ BROWN, J.; BACH L.; ALDOUS, A.; WYERS A.; DEGAGNÉ J. Groundwater-dependent ecosystems in Oregon: an assessment of their distribution and associated threats. **Frontiers in Ecology and the Environment**, v. 9, p. 97-102, 2011.
- ⁴ LAINI, A.; BARTOLI, M.; LAMASTRA, L.; CAPRI, E.; BALDERACCHI, M.; TREVISAN, M. Herbicide Contamination and Dispersion Pattern in Lowland Springs. **Science of the Total Environment**, v. 438, p. 312-318, 2012.
- ⁵ NERI-BADANGA, M. C.; CHAKRABORTYA, S. Carbohydrate Polymers as Controlled Release Devices for Pesticides. **Journal Of Carbohydrate Chemistry**. v.38, p.67-85, 2019.
- ⁶ FACETO, L.; OLIVEIRA, J.; CAMPOS, E. Applications of Controlled Release Systems for Fungicides, Herbicides, Acaricides, Nutriente and Plant Growth Hormones: A Review. **Advanced Science, Engineering and Medicine**, v. 6, p. 373-387, 2014.
- ⁷ NERI-BADANG, M. C.; CHAKRABORTY, S. Carbohydrate polymers as controlled release devices for pesticides. **Journal of Cabohydrate Chemistry**. v.38, p, 67-85, 2019.
- ⁸ UHRICH, K. E.; CANNIZZARO, S. M.; LANGER, R. S.; SHAKESHEFF, K. M. Polymeric Systems for Controlled Drug Release. **Chemical Reviews**, v. 99, p. 3181-3198, 1999.
- ⁹ CAMPOS, E. V. R.; OLIVEIRA, J. L.; FACETO, L. F.; SINGH, B. Polysaccharides as safer release systems for agrochemicals. **Agronomy for Sustainable Development**. v. 35, p. 47-66, 2015.

- ¹⁰ LI, J.; LU, J.; LI, Y. Carboxymethylcellulose/Bentonite Composite Gels: Water Sorption Behavior and Controlled Release of Herbicide. **Journal of Applied Polymer Science**. v.112, p.261-268, 2009.
- ¹¹ GUILHERME, M. R.; FAJARDO, A. R.; MOIA, T. A.; KUNITA, M. H.; RUBIRA, A. F.; TAMBOURGI, E. B. Porous Nanocomposite Hydrogel of Vinyleted Montmorillonite-crosslinked Maltodextrin-co-dimethylacrylamide as a Highly Stable Polymer Carrier for Controlled Release Systems. **European Polymer Journal**. v.46, p.1465-1474, 2010.
- ¹² SIRVIÖ, J. A.; KOLEHMAINEN, A.; LIIMATAINEN, H.; NIINIMÄKI, J.; HORMI, O. E. O. Biocomposite Cellulose-alginate films: promising packaging materials. **Food Chemistry**. v. 151, p. 343-351, 2014.
- ¹³ KRAEMER, A. F.; MARCHESAN, E.; AVILA, L. A.; MACHADO, S. L. O.; GROMS, M. Destino Ambiental dos Herbicidas do Grupo das Imidazolinonas – Revisão. **Planta Daninha**. v. 27, p. 629-639, 2009.
- ¹⁴ BRASIL, **Resolução CONAMA nº 357**, de 17 de março de 2005. Classificação de águas, doces, salobras e salinas do Território Nacional. Publicado no D.O.U.
- ¹⁵ GUERRA, N.; OLIVEIRA JÚNIOR, R. S. O.; CONSTANTIN, J.; NETO, A. M. O.; GEMELLI, A.; PEREIRA JÚNIOR, D.M.; GUERRA, A. Persistence of Biological Activity and Leaching Potential of Herbicides Aminocyclopyrachlor and Indaziflam in Soils With Different Textures. **Planta Daninha**. v.34, p.345-355, 2016.
- ¹⁶ MATEO-SAGASTA, J.; ZADEH, S. M.; TURRAL, H.; BURKE, J. Water Pollution from Agriculture: A Global Review. **Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome**, 2017. Disponível em: < <http://www.fao.org/3/a-i7754e.pdf>> Acesso em 14/03/2019.
- ¹⁷ SILVA, A. A.; SILVA, J. F. Tópicos em Manejo de Plantas Daninhas. **Editora Viçosa**, p.267-324, 2007.
- ¹⁸ OLIVEIRA, D. D.; LOPES, J. M.; KOVALESKI, M.; WERNER, V. Vantagens e Desvantagens da aplicação de agroquímicos via aérea e terrestre. **Enciclopédia Biosfera**. v. 14, p.714-728, 2017
- ¹⁹ SANTOS, F. M.; MARCHESAN, E.; MACHADO, S. L. O.; VILLA, S. C. C.; AVILA, L. A.; MASSONI, P. F. S. Controle Químico de Arroz-Vermelho na Cultura do Arroz Irrigado. **Planta Daninha**. v. 21, p.131-136, 2003.

- ²⁰ SANTOS, F. M.; MARCHESAN, E.; MACHADO, S. L. O.; AVILA, L. A.; ZANELLA, R.; GONÇALVES, F. F. Persistência dos Herbicidas Imazethapyr e Clomazone em Lâmina de Água do Arroz Irrigado. **Planta Daninha**. v. 26, p. 875-881, 2008.
- ²¹ SOPEÑA, F.; MAQUEDA, C.; MORILLO, E. Controlled release formulations of herbicides based on micro-encapsulation. **Ciencia e Investigación Agraria**. v. 35, p. 27-42, 2009.
- ²² KUMAR, V.; SINGH A.; DAS T. K.; SARKAR, D. J.; SINGH, S. B.; DHAKA, R.; KUMAR A. Release Behavior and Bioefficacy of Imazethapyr Formulations Based on Biopolymeric Hydrogels. **Journal of Environmental Science and Health, Part B.**, v. 52, p. 402-409, 2017.
- ²³ NERI-BADANGA, M. C.; CHAKRABORTYA, S. Carbohydrate Polymers as Controlled Release Devices for Pesticides. **Journal Of Carbohydrate Chemistry**. v.38, p.67-85, 2019.
- ²⁴ NURUZZAMAN, M.; RAHMAN, M. M.; LIU, Y.; NAIDU, R. Nanoencapsulation, Nano-guard for Pesticides: A New Window for Safe Application. **Journal of Agricultural na Food Chemistry**. v.64, p.1447-1483, 2016.
- ²⁵ TAVERNA, M. E.; BUSATTO, C. A.; LESCOANO, M. R.; NICOLAU, V. V.; ZALAZAR, C. S.; MEIRA, G. R.; ESTENOZ, D. A. Microparticles based on ionic and organosolv lignins for the controlled release of atrazine. **Journal of Hazardous Materials**. v.359, p. 139-147, 2018.
- ²⁶ RYCHTER, P.; LEWICKA, K.; PASTUSIAK, M.; DOMANSKI, M.; DOBRZYNSKI, P. PLGA-PEG terpolymers as a carriers of bioactive agentes, influence of PEG blocks content on degradation and release of herbicides into soil. **Polymer Degradation and Stability**. v. 161, p. 95-107, 2019.
- ²⁷ CAO, L.; LIU, Y.; XU, C.; ZHOU, Z.; ZHAO, P.; NIU, S.; HUANG, Q. Biodegradable poly(3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate) microcapsules for controlled release of trifluralin with improved phostability and herbicidal activity. **Materials Science and Engineering: C**. v. 102, p. 134-141, 2019.
- ²⁸ GRILLO, R.; PEREIRA, A. E. S.; NISHISAKA, C. S.; LIMA, R.; OEHLKE, K.; GREINER, R.; FRACETO, L. F. Chitosan/tripolyphosphate nanoparticles loaded with paraquat herbicide: An environmentally safer alternative for weed control. **Journal of Hazardous Materials**. v. 278, p. 163-171, 2014.

- ²⁹ LIU, B.; WANG, Y.; YANG, F.; HONG, X.; SHEN, H.; CUI, H. WU, D. Construction of a controlled-release delivery system for pesticides using biodegradable PLA-based microcapsules. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. v. 144, p. 38-45, 2016.
- ³⁰ YI, Y. XU, S.; SUN, H.; CHANG, D.; YIN, Y; ZHENG, H.; XU, H.; LOU, Y. Gelation of photocrosslinkable carboxymethyl chitosan and its application in controlled release of pesticide. **Carbohydrate Polymers**. v.86, p.1007-1013, 2011.
- ³¹ CHI, Y.; ZHANG, G.; XIANG, Y.; CAI, D.; WU, Z. Fabricação de um Herbicida de Liberação de Temperatura Controlada Usando um Nanocompósito. **ACS Sustainable Chemistry e Engineering**. v.5, p. 4969-4975, 2017.
- ³² LI, J.; LI, Y.; HUAPING, D. Controlled Release of Herbicide Acetochlor from Clay/Carboxymethylcellulose Gel Formulations. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**. v.56, p.1336-1342, 2008.
- ³³ TAVERNA, M. E.; BUSATTO, C. A.; LESCANO, M. R.; NICOLAU, V. V.; ZALAZAR, C. S.; MEIRA, G. R.; ESTENOZ, D. A. Microparticles Based on Ionic and Organosolv Lignins for the Controlled Release of Atrazine. **Journal of Hazardous Materials**. v. 359, p. 139-147, 2018.
- ³⁴ CAMPOS, E.; BRANQUINHO, J.; CARREIRA, A. S.; CARVALHO, A.; COIMBRA, P.; FERREIRA, P.; GIL, M. H. Designing Polymeric Microparticles for Biomedical and Industrial Applications. **European Polymer Journal**. v.49, p.2005-2021, 2013.
- ³⁵ WU, Y.; YANG, W.; WANG, C.; HU, J.; FU, S. Chitosan Nanoparticles as a Novel Delivery System for Ammonium Glycyrrhizinate. **International Journal of Pharmaceutics**. v.295, p.235-245, 2005.
- ³⁶ AGÜERO, L.; ZALDIVAR-SILVA, D.; PEÑA, L.; DIAS, M. L. Alginate Microparticles as Oral Colon Drug Delivery Device: A Review. **Carbohydrate Polymers**. v. 168, p. 32-43, 2017.
- ³⁷ KUMAR, S.; BHANJANA, G.; SHARMA, A.; SIDHU, M. C.; DILBAGHI, N.; Synthesis, Characterization and on field evaluation of pesticide loaded sodium alginate nanoparticles. **Carbohydrate Polymers**. v.101, p.1061-1067, 2014.
- ³⁸ COSTA, M. P. M.; PRATES, L. M.; BAPTISTA, L.; CRUZ, M. T. M. Interaction of Polyelectrolyte Complex Between Sodium Alginate and Chitosan Dimers with a Single Glyphosate Molecule: A DFT and NBO Study. **Carbohydrate Polymers**. v.198, p.51-60, 2018.

- ³⁹ DRAGAN, E. S.; Design and Applications of Interpenetrating Polymer Network Hydrogels. A Review. **Chemical Engineering Journal**. v. 243, p. 572-590, 2014.
- ⁴⁰ GRANT, G. T.; MORRIS, E. R.; REES, D. A.; SMITH, P. J. C.; THOM, D. Biological Interactions Between Polysaccharides and Divalent Cations: The Egg-Box Model. **FEBS Letters**. v. 32, p.195-198, 1973.
- ⁴¹ GUAN, H.; CHI, D.; YU, J.; LI, H. Encapsulates ecdysone by internal gelation of alginate microspheres for controlling its release and photostability. **Chemical Engineering Journal**. v.168, p. 94-101, 2011.
- ⁴² LEE, K. Y.; Mooney, D. J. Alginate: Properties and Biomedical Applications. **Progress in Polymer Science**. v.37, p. 106-126, 2012.
- ⁴³ MØRCH, Y. A.; DONATI, I.; STRAND, B. L.; SKJÅK-BRÆK, G. Effect of Ca²⁺, Ba²⁺, and Sr²⁺ on Alginate Microbeads. **Biomacromolecules**. v. 7; p. 1471-1480, 2006.
- ⁴⁴ HOU, L.; WU, P. Exploring the Hydrogen-bond Structures in Sodium Alginate Through Two-dimensional Correlation Infrared Spectroscopy. **Carbohydrate Polymers**. v. 205, p. 420-426, 2019.
- ⁴⁵ PATEL, S.; BAJPAI, J.; SAINI, R.; BAJPAI, A. K.; ACHARYA, S. Sustained release of pesticide (Cypermethrin) from nanocarriers: Na effective technique for environmental and crop protection. **Process Safety and Environmental Protection**. v.117, p. 315-325, 2018.
- ⁴⁶ DULONG, C. V.; MOCANU, G.; PICTON, L.; CERF, D. L. New amphiphilic and pH-sensitive hydrogel for controlled release of a model poorly water-soluble drug. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. v.73, p.345-350, 2009.
- ⁴⁷ GUO, T.; PEI, Y.; TANG, K.; HE, X.; HUANG, J.; WANG, F. Mechanical and drug release properties of alginate beads reinforced with cellulose. **Journal of Applied Polymer Science**. v.134, p.1-9. 2017.
- ⁴⁸ CÉSPEDES, F. F.; SÁNCHEZ, M. V.; GARCÍA, S. P.; PÉREZ, M. F. Modifying sorbents in controlled release formulations to prevent herbicides pollution. **Chemosphere**. v.69, p.785-794, 2007.
- ⁴⁹ ABDOLLAHI, M.; ALBOOFETILEH, M.; BEHROOZ, R.; REZAEI, M.; MIRAKI, R. Reducing water sensitivity of alginate bio-nanocomposite film using cellulose

nanoparticules. *International Journal of Biological Macromolecules*. v. 54, p. 166-173, 2013.

⁵⁰ MELO, B. C.; PAULINO, F. A. A.; CARDOSO, V. A.; PEREIRA, A. G. B.; FAJARDO, A. R.; RODRIGUES, F. H. A. Cellulose Nanowhiskers Improve the Methylene Blue Adsorption Capacity of Chitosan-g-poly(acrylic acid) Hydrogel. **Carbohydrate Polymers**. v.181, p.358-367, 2018.

⁵¹ YADAV, C.; SAINI, A.; MAJI, P. K. Energy Efficient Facile Extraction Process of Cellulose Nanofibres and Their Dimensional Characterization Using Light Scattering Techniques. **Carbohydrate Polymers**. v.165, p.276-284, 2017.

⁵² LAVOINE, N.; DESLOGES, I.; DUFRESNE, A.; BRAS, J. Microfibrillated Cellulose – Its Barrier Properties and Applications in Cellulosic Materials: A Review. **Carbohydrate Polymers**. v.90, p.735-764, 2012.

⁵³ SMYTH, M.; M'BENGUE, M-S.; TERRIEN, M.; PICART, C.; BRAS, J.; FOSTER, E. J. The effect of hydration on the material and mechanical properties of cellulose nanocrystal-alginate composites. **Carbohydrate Polymers**. v.179, p.186-195, 2018.

⁵⁴ GUILHERME, M. R.; AOUADA, F. A.; FAJARDO, A. R.; MARTINS, A. F.; PAULINO, A. T.; DAVI, M. F. T.; RUBIRA, A. F.; MUNIZ, E. C. Superabsorbente hydrogels based on polysaccharides for applications in agriculture as soil conditioner and nutriente carrier: A review. **European Polymer Journal**. v.72, p.365-385, 2015.

⁵⁵ KRAEMER, A. F.; MARCHESAN, E.; AVILA, L. A.; MACHADO, S. L. O.; GROMS, M. Destino Ambiental dos Herbicidas do Grupo das Imidazolinonas – Revisão. **Planta Daninha**. v. 27, p. 629-639, 2009.

⁵⁶ KAH, M.; BROWN, C. D.; Adsorption of Ionisable Pesticides in Soils. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**. v.188, p.149-217, 2006.

⁵⁷ ADAKA, P.; KUMAS, J.; SHAKIL, N. A. Bio-efficacy of controlled Release Formulations of Imazethapyr Against Weeds in Soybean and its Residue. **Annals of Plant Protection Sciences**. v.23, p.140-143, 2015.

⁵⁸ VOSS, G. T.; GULARTE, M. S.; VOGT, A. G.; GIONGO, J. L.; VAUCHER, R. A.; ECHENIQUE, J. V. Z.; SOARES, M. P.; LUCHESE, C.; WILHELM, E. A. Polysaccharide-based Film Loaded with Vitamin C and Propolis: A Promising Device to Accelerate Diabetic Wound Healing. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 552, p. 340-351, 2018.

- ⁵⁹ RITGER, P. L.; PEPPAS, N. A. A simple equation for description of solute release II. Fickian and anomalous release from swellable devices. **Journal of Controlled Release**. v. 5, p. 37-42, 1987.
- ⁶⁰ CÓRDOBA, A. L.; DELADINO, L.; MARTINO, M. Effect of Starch Filler on Calcium-alginate Hydrogels Loaded With Yerb Mate Antioxidants. **Carbohydrate Polymers**. v.95, p.315-323, 2013.
- ⁶¹ LIN, N.; HUANG, J.; CHANG, P. R.; FENG, L.; YU, J. Effect of Polysaccharide Nanocrystals on Structure, Properties, and Drug Release Kinetics of Alginate-based Microspheres. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. v.85, p.270-279, 2011.
- ⁶² SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de Análise Instrumental**. 5. ed. Bookman, p. 435, 2002.
- ⁶³ DAEMI, H.; BARIKANI, M. Synthesis and Characterization of Calcium Alginate Nanoparticles, Sodium Homopolymannunate Salt and its Calcium Nanoparticles. **Scientia Iranica**. v. 19, p. 2023-2028, 2012.
- ⁶⁴ VOO, W.-P.; LEE, B.-B.; IDRIS, A.; ISLAM, A.; TEY, B.-T.; CHAN, E.-S. Production of Ultra-High Concentration Calcium Alginate Beads with Prolonged Dissolution Profile. **Royal Society of Chemistry**. v. 5, p. 36687-36695, 2015.
- ⁶⁵ YANG, G.; ZHANG, L.; PENG, T.; ZHONG, W. Effects of Ca⁺² Bridge Cross-linking on Structure and Pervaporation of Cellulose/Alginate Blend Membranes. **Journal of Membrane Science**. v.175, p.53-60, 2000.
- ⁶⁶ KUILA, S. B.; RAY, S. K. Degradation of Dioxane by Pervaporation using Filled Blend Membranes of Polyvinyl Alcohol and Sodium Alginate. **Carbohydrate Polymers**. v. 101, p. 1154-1165, 2014.
- ⁶⁷ SUNDARRAJAN, P.; ESWARAN, P.; MARIMUTHU, A.; SUBHADRA, L. B.; KANNAIYAN, P. One Pot Syntesis and Characterizations of Alginate Stabilized Semiconductor Nanoparticles. **Bulletin of the Korean Chemical Society**. v. 33, p.3218-3224, 2012.
- ⁶⁸ BAJPAI, M.; SHUKLA, P.; BAJPAI, S. K.; Ca(II)+Ba(II) Ions Crosslinked Alginate Gels Prepared by a Novel Diffusion Through Dialysis Tube (DTDT) Approach and Preliminary BSA Release Study. **Polymer Degradation and Stability**. v. 134, p. 22-29, 2016.
- ⁶⁹ MARIÑO, M.; SILVA, L. L.; DURÁN, N.; TASIC, L. Enhanced Materials from Nature: Nanocellulose from Citrus Waste. **Molecules**. v.20, p.5908-5923, 2015.

- ⁷⁰ MA, X.; LI, R.; ZHAO, X.; JI, Q.; XING, Y.; SUNARSO, J.; XIA, Y. Biopolymer composite fibres composed of calcium alginate reinforced with nanocrystalline cellulose. **Composites Part A: Applied Science and Manufacturing**. v. 96, p.155-163, 2017.
- ⁷¹ LIU, Y.; ZHAO, J. -C.; ZHANG, C. -J.; GUO, Y.; CUI, L.; ZHU, P.; WANG, D.-Y. Bio-based Nickel Alginate and Copper Alginate Films with Excellent Flame Retardancy: Preparation, Flammability and Thermal Degradation Behavior. **The Royal Society of Chemistry**. v. 79, p. 64125-64137, 2015.
- ⁷² SARKAR, N.; SAHOO, G.; DAS, R.; PRUSTY, G.; SWAIN, S. K. Carbon Quantum dot Tailored Calcium Alginate Hydrogel for pH Responsive Controlled Delivery of Vancomycin. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**. v.109, p.359-371, 2017.
- ⁷³ FERNANDES, R. S.; MOURA, M. R.; GLENN, G. M.; AOUADA, F. A. Thermal, microstructural, and spectroscopic analysis of Ca²⁺ alginate/clay nanocomposite hydrogel beads. **Journal of Molecular Liquids**. v.265, p. 327-336, 2018.
- ⁷⁴ BUNDT, A. C.; AVILA, L. A.; PIVETTA, A.; AGOSTINETTO, D.; DICK, D. P.; BURAUDEL, P. Imidazolinone Degradation in Soil in Response to Application History. **Planta Daninha**. v.33, p. 341 – 349, 2015.
- ⁷⁵ WANG, L-F.; SHANKAR, S.; RHIM, J-W. Properties of Alginate-based Films Reinforced with Cellulose Fibers and Cellulose Nanowhiskers Isolated from Mulberry Pulp. **Food Hydrocolloids**. v.63, p. 201-208, 2017.
- ⁷⁶ HUQ, T.; FRASCHINI, C.; KHAN, A.; RIEDL, B.; BOUCHARD, J.; LACROIX, M. Alginate based nanocomposite for microencapsulation of probiotic: Effect of cellulose nanocrystal (CNC) and lecithin. **Carbohydrate Polymers**. v. 168, p. 61-69, 2017.
- ⁷⁷ ZHAO, Y.; HAIJIA, S.; FANG, L.; TAN, T. Superabsorbent hydrogels from poly(aspartic acid) with salt-, temperature- and pH- responsiveness properties. **Polymer**. v. 46, p.5368-5376, 2005.
- ⁷⁸ LESSA, E. F.; GULARTE, M. S.; GARCIA, E. S.; FAJARDO, A. R. Orange waste: a valuable carbohydrate source for the development of beads with enhanced absorption properties for cationic dyes. **Carbohydrate Polymers**. v.157, p.660-668, 2017.

⁷⁹ GUO, T.; PEI, Y.; TANG, K.; HE, X.; HUANG, J.; WANG, F. Mechanical and drug release properties of alginate beads reinforced with cellulose. **Journal of Applied Polymer Science**. v. 134, p. 44495, 2017.

⁸⁰ CHIAOPRAKOBKIJ, N.; SANCHAVANAKIT, N.; SUBBALEKHA, K.; PAVASANT, P.; PHISALAPHONG, M. Characterization and biocompatibility of bacterial cellulose/alginate composite sponges with human keratinocytes and gingival fibroblasts. **Carbohydrate Polymers**. v.85, p.548-553, 2011.