

COMPLEXOS DE INCLUSÃO BINÁRIOS, TERNÁRIOS E QUATERNÁRIOS CONTENDO ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia sidoides*

Cláudia R. F. Souza, Patrícia N. Ferraz-Freitas e Wanderley P. Oliveira*

Departamento de Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Av do Café, s/n - Bloco Q - LAPROFAR, Bairro Monte Alegre, 14040-903 Ribeirão Preto – SP, Brasil

Recebido em 08/03/2016; aceito em 08/04/2016; publicado na web em 10/06/2016

BINARY, TERNARY AND QUATERNARY INCLUSION COMPLEXES CONTAINING *Lippia sidoides* ESSENTIAL OIL. The aim of this work was the production and characterization of binary, ternary and quaternary complexes based on β -cyclodextrin (β -CD) and *Lippia sidoides* essential oil (EO). OE: β -CD formulations at proportions of 1:10 to 2:10 (binary); added with surfactant or polymer (ternary) or with both (quaternary) were prepared and submitted to spray drying at optimized operating conditions (inlet gas temperature: 160 °C, drying gas flow rate: 60 m³/h; feed flow rate: 4 g/min; pressure and flow rate of the atomizing air: 2.5 kgf/cm² and 17 lpm). The responses evaluated were the encapsulation efficiency (EE), powder properties, product morphology, and process efficiency (REC). The results showed that the addition of polymer and surfactant to β -CD, generating ternary and quaternary complexes improved the encapsulation efficiency, drying yield, and modify the particles morphology. Samples with lower EO: β -CD ratio (1:10) showed high encapsulation efficiency.

Keywords: inclusion complex, *Lippia sidoides*, essential oil, spray drying.

INTRODUÇÃO

Lippia sidoides popularmente conhecida como alecrim pimenta ou estrepa cavalo, é uma espécie vegetal com comprovadas propriedades fungicidas, bactericidas e larvicidas, devido ao elevado teor de óleo essencial ricos em timol e carvacrol (Figura 1).¹ O óleo essencial extraído desta espécie é amplamente utilizado na medicina tradicional, como agente antisséptico e anti-infeccioso, principalmente no tratamento de afecções da boca, garganta, gastrite, pele e do couro cabeludo, como antifúngica, repelente de insetos, anti-hipertensiva e antiespasmódica.^{2,3}

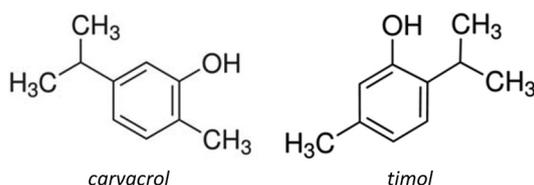


Figura 1. Estrutura química dos principais componentes do OE de *Lippia sidoides*

Atualmente, produtos derivados de plantas vêm sendo amplamente explorado pelas indústrias farmacêutica, cosmética, alimentícia e veterinária. A diversidade de compostos vegetais e seus efeitos biológicos comprovados têm contribuído fortemente para o crescente interesse em produtos derivados de plantas. Em geral, a atividade biológica destes produtos está associada à presença de compostos denominados de fitoquímicos, que são metabólitos secundários sintetizados pelas plantas, sendo classificados em diversas classes, como por exemplo, os carotenoides, alcaloides, polifenóis, terpenos, esteróis, saponinas, compostos contendo nitrogênio e enxofre.⁴

Neste sentido, se destacam os óleos essenciais (OE), que são misturas químicas complexas, compostas por monoterpenos, terpenos e sesquiterpenos.^{5,6} São compostos voláteis e odoríferos

sensíveis à luz, calor e oxigênio, e produzidos a partir do metabolismo secundário de plantas. Possuem comprovadas propriedades antimicrobianas, inseticida, antiviral e antioxidante. Assim, apesar do grande potencial de aplicação tecnológica dos óleos essenciais, eles apresentam diversas limitações, como por exemplo, complexidade química, elevada volatilidade, susceptibilidade à degradação e propensão à oxidação, insolubilidade em sistemas aquosos e em geral, baixa biodisponibilidade, que dificultam seu emprego direto em produtos mais elaborados.

Dentre as tecnologias propostas para modificar propriedades físicas e químicas dos OE, destaca-se a microencapsulação. A microencapsulação é muito usada para solucionar problemas com substâncias voláteis ou que possuem sabor e/ou odor desagradável, por aumentar a estabilidade destes em condições adversas, como na presença de luz, oxigênio, calor e pH extremos, mascarar odor e sabor desagradáveis e reduzir a volatilidade.⁷ Esta técnica consiste no revestimento ou aprisionamento de um material ou mistura de materiais em outro material ou sistema.

Uma forma muito empregada de encapsulação de OE e aromas é a formação de complexos de inclusão com β -ciclodextrina. As ciclodextrinas (CDs) são excipientes constituídos por unidades de D-glucopirranose que quando unidas formam uma estrutura cíclica. As CDs podem conter 6, 7 ou 8 unidades de glicose, sendo denominadas de α -CD, β -CD e γ -CD respectivamente (Figura 2), sendo que a ciclodextrina mais usada e estudada é a β -CD. Uma excelente revisão histórica sobre a utilização das ciclodextrinas desde seu descobrimento até os dias atuais encontra-se em Loftsson e Duchêne.⁸

Devido à sua estrutura tronco-cônica, formada por moléculas de D-glicose, as ciclodextrinas possuem capacidade de complexação molecular através da substituição das moléculas de água encontradas no meio e no interior da cavidade, que possuem elevada entalpia, por moléculas hóspedes com características hidrofóbicas. Trata-se de um processo energeticamente viável por promover uma alteração favorável de entalpia, aumento de entropia e redução da energia total do sistema, fatores que contribuem para o aumento da estabilidade do complexo formado. Interações eletrostáticas de *Van der Waals*,

*e-mail: wpoliv@fcfrp.usp.br

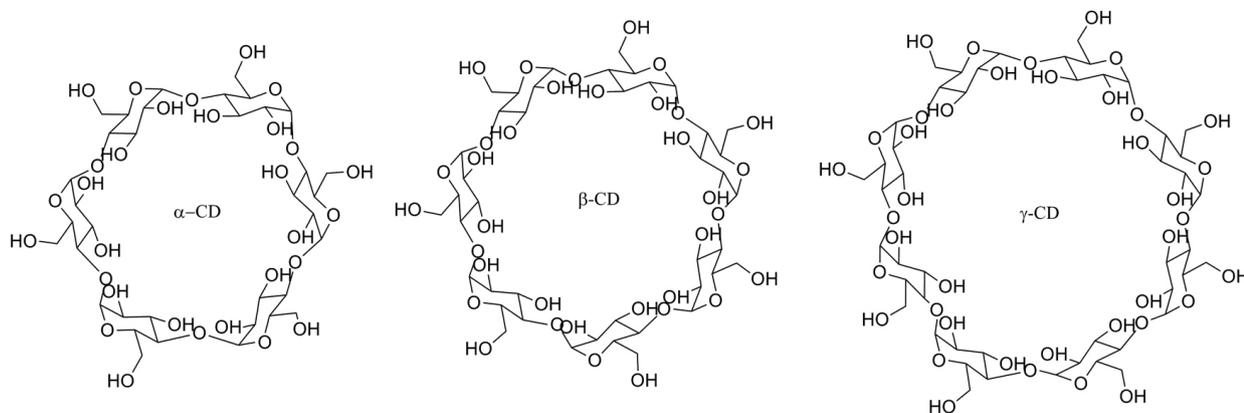


Figura 2. Estrutura química da α , β e γ -ciclodextrina respectivamente

interações hidrofóbicas e ligações de hidrogênio também contribuem para formação e estabilização dos complexos de inclusão.⁹

Por serem capazes de interagir com uma grande variedade de moléculas hóspedes e conferir propriedades multifuncionais a alimentos e insumos farmacêuticos, as CDs têm sido utilizadas como carreadores de inclusão molecular melhorando a solubilidade e estabilidade de ingredientes sensíveis como aromas e óleos essenciais. A principal propriedade das CDs é a capacidade de alterar as características físico-químicas de compostos com baixa solubilidade por meio da formação de complexos de inclusão.¹⁰ Em determinadas situações, a eficiência da complexação é baixa, inviabilizando o processo, problema que pode ser contornado pela adição de polímeros e/ou tensoativos gerando complexos multicomponentes, técnica que provoca um efeito sinérgico. Quando se adiciona um polímero ou tensoativo na solução de CD, obtêm-se complexos ternários; quando se adiciona ambos, são obtidos complexos quaternários.^{10,11} A adição de polímeros e tensoativos aos complexos de inclusões resultam em um aumento da solubilidade e/ou da taxa de dissolução do composto ativo a ser complexado requerendo menores quantidades de CD para formação do complexo. Para a avaliação do efeito sinérgico entre CD, polímero e tensoativo, na eficiência de formação de complexos binários, ternários e quaternários, utilizou-se neste estudo o kollidon VA 64 (polímero solúvel em água) e o tween 80 (tensoativo) cujas estruturas químicas estão apresentadas na Figura 3. O kollidon VA 64 (Copolímero de 1-vinil-2-pirrolidona e vinil acetato) é muito empregado na indústria farmacêutica como agente formador de filme, granulante, aglutinante e incrementador de dissolução. O tween 80 (polissorbato 80) é um tensoativo não-iônico, estabilizante, agente molhante e solubilizante muito empregado na obtenção de emulsões tipo óleo em água (O/A). Tem sido empregado com sucesso na formação de complexos de inclusão ternários (fármaco/CD/tensoativo) visando aumento da eficiência de complexação do fármaco com redução das quantidades requeridas de CD para formação do complexo, resultando em redução de efeitos tóxicos e diminuição de custos associados com as ciclodextrinas.¹²

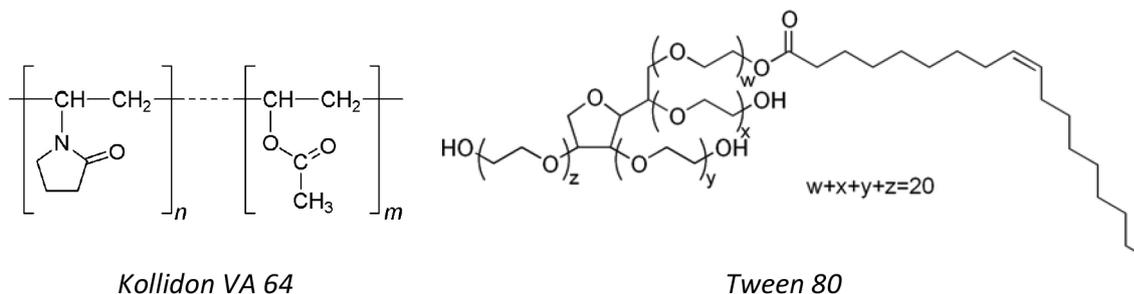


Figura 3. Estrutura química do polímero (kollidon VA 64) e do tensoativo (tween 80) utilizados para compor os sistemas de inclusão ternário e quaternário avaliados

O objetivo deste trabalho foi a obtenção e avaliação de complexos de inclusão binários, ternários e quaternários, com polímeros e/ou tensoativos, contendo OE de *Lippia sidoides*, empregando-se o processo *spray drying*.

MATERIAIS E MÉTODOS

Materiais

Matéria prima vegetal: Óleo essencial de *Lippia sidoides* obtido por destilação por arraste a vapor a partir das folhas secas e moídas, adquiridos da PRONAT Produtos Naturais Ltda, Fortaleza, Ceará.

Material de parede: Cawamax® W7 (β -ciclodextrina) - Wacker Chemie.

Adjuvantes: Kollidon® VA 64 fine (Copolímero de 1-vinil-2-pirrolidona e vinil acetato) - BASF; Tween®80 (polissorbato 80) - LabSynth.

Secador: As amostras foram submetidas à secagem em um *spray dryer* de bancada modelo SD-05 (Lab-Plant, Huddersfield, UK), operando em regime concorrente.

Obtenção dos complexos de inclusão

Preparação dos complexos de inclusão

Foram preparados complexos de inclusão binários (CB), ternários (CT) e quaternários (CQ), nas proporções de óleo essencial (OE): β -ciclodextrina (β -CD) 2:10 e 1:10 (p/p). Para os CB adicionou-se β -CD em 50 mL de água. Para os CT adicionou-se à mistura inicial o polímero (Kollidon® VA 64 fine) ou o tensoativo (Tween®80) e para os CQ adicionou-se polímero e tensoativo (Tabela 1). As formulações foram homogeneizadas em processador ultrassônico (Sonics VC750) usando sonda de 13 mm em potência de 90% por 20 minutos e em seguida foram mantidas em agitador orbital por 8 horas para hidratação dos materiais de complexação. Após, adicionou-se

OE de *Lippia sidoides* homogeneizando em processador ultrassônico por 5 minutos em potência de 90% (sonda de 13 mm), formando uma emulsão que permaneceu em repouso *over night* para que ocorresse a complexação do OE na cavidade da β -CD.

Os complexos de inclusão obtidos foram submetidos à secagem em *spray drying*. Nas condições de temperatura do ar de secagem de 160 °C, vazão do ar de secagem 60 m³ h⁻¹ e vazão de alimentação de suspensão 4 g min⁻¹, alimentada a um atomizador tipo duplo fluido com mistura interna com pressão e vazão do ar de atomização respectivamente de 2,5 kgf cm⁻² e 17 lpm.

Tabela 1. Composição dos complexos de inclusão

Amostra	β -CD (g)	Polímero (g)	Tensoativo (g)	OE (g)
PLS1	25	-	-	5,0
PLS2	25	-	0,24	5,0
PLS3	25	0,5	-	5,0
PLS5	25	0,5	0,24	5,0
PLS7	25	-	-	2,5
PLS8	25	0,5	-	2,5
PLS9	25	-	0,24	2,5
PLS11	25	0,5	0,24	2,5

*Cálculos para 50 g de água purificada.

Rendimento do processo

A recuperação (REC) foi determinada por balanço de massa através da diferença entre a massa teórica de sólidos presentes na suspensão alimentada e a massa do produto seco obtido, sendo o resultado expresso em porcentagem.³

Caracterização físico-química

Os complexos de inclusão β -CD:OE obtidos foram caracterizados quanto ao teor de umidade, atividade de água, solubilidade, distribuição granulométrica e tamanho médio de partícula, morfologia, densidade aparente e de compactação e eficiência de encapsulação.

Umidade residual (Xp)

A umidade residual foi avaliada através de titulador Karl Fischer (mod. 870KF Tritino plus Metrohm). Utilizou-se 100 mg de micropartículas para cada determinação. Os resultados foram expressos em forma de média (desvio padrão).

Atividade de água (aw)

A aw foi determinada em um medidor de atividade de água (AquaLab 4TEV Decagon Devices) à temperatura de 25 °C, utilizando-se sensor de capacitância. As análises foram realizadas em triplicata e os resultados expressos por média (desvio padrão).

Solubilidade

A solubilidade foi determinada de acordo com método descrito por Tonon,¹³ com modificações. 1 mg de amostra foi pesada e adicionada em 10 mL de água purificada, após esta suspensão ficou em agitador magnético por 30 minutos. A suspensão foi centrifugada a 3500 rpm, por 5 minutos. Pesou-se o sobrenadante em uma placa de petri, a qual foi levada à estufa a 105 °C, até peso constante. A solubilidade foi calculada pela diferença de peso.

Distribuição granulométrica e tamanho de partícula

A distribuição granulométrica dos complexos de inclusão obtidos foi determinada por microscopia ótica e análise de imagens.

Amostras do produto seco foram dispersas em uma lâmina de vidro. Imagens foram obtidas em um microscópio óptico Olympus mod. BX60MIV em aumento de 50 vezes, capturadas por uma câmara digital e analisadas em um *software* de análise de imagens (Image Pro-plus versão 7.0).¹⁴

Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A morfologia das partículas foi avaliada em microscópio eletrônico de varredura (Zeiss mod. EVO 50) com atmosfera a vácuo de 10⁻⁵ torr. As micrografias foram geradas no modo topográfico a 12 kv, com aumento de 200, 1000, 5000 e 10000 vezes.

Densidade aparente e de compactação

As densidades aparente (d_a) e de compactação (d_c) foram determinadas a partir de compactador automático CALEVA, TDT 1-23. Realizou-se três determinações de volume, com 10 batidas, 500 batidas e 1250 batidas usando o método I da farmacopeia americana, onde a amostra é submetida a um impacto de altura de 14 mm.

A partir de d_a e d_c foram calculados o índice de Carr (I_{carr}) e a Razão de Hausner ($I_{Hausner}$). O I_{carr} (Equação 1), indica a capacidade de compactação e compressibilidade de um pó ou granulado, em forma percentual; sendo os valores entre 5 e 15% considerados com excelente capacidade de compactabilidade e compressibilidade.¹⁵

$$I_{carr} = (d_c - d_a) \cdot 100 / d_c \quad (1)$$

O valor do $I_{Hausner}$ pode ser calculado pela Equação (2). Valores de $I_{Hausner}$ menores que 1,25 indicam bom fluxo, valores maiores que 1,5 indicam fluxo ruim e valores entre 1,25 e 1,5 indicam a necessidade de adição de lubrificantes para melhorar o escoamento.¹⁵

$$I_{Hausner} = d_c / d_a \quad (2)$$

Eficiência de encapsulação (EE)

Para quantificar o teor de OE encapsulado, foi realizado o método de hidrodestilação usando aparelho de Clevenger, conforme descrito em Reineccius *et al.*,¹⁶ com algumas modificações. Em um balão de fundo redondo foi adicionado 5 g dos complexos CB, CT ou CQ, água destilada (120 mL) e esferas de vidro. O aparelho de Clevenger foi conectado ao balão, e o braço do aparelho foi condicionado com 10 mL de água. O sistema foi deixado em refluxo por 2 horas. A massa de OE foi utilizada para determinação da EE conforme Equação (3).

$$EE = \frac{\text{Massa de OE recuperado}}{\text{Massa de OE alimentada}} \times 100 \quad (3)$$

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Umidade residual (Xp)

A umidade residual foi determinada pela quantidade de água presente na amostra através do método direto baseado na reação quantitativa da água com solução volumétrica (reagente de Karl Fischer). Os produtos secos apresentam teor de umidade entre 4,40% e 5,48% (Tabela 2). Este resultado relaciona-se com as condições de secagem (temperatura do ar de entrada e saída), que foram idênticas para todas as amostras. O uso de adjuvantes também pode influenciar nos valores de umidade residual,³ as diferenças observadas quando se compara os CB com CT e CQ (Tabela 2) não apresentam significância estatística.

Atividade de água (aw)

A estabilidade de produtos secos tem relação direta com o valor da

atividade de água (*aw*), que se relaciona com a água livre, disponível para reações de degradação e crescimento microbiano. Os valores de *aw* encontrados neste presente trabalho estão representados na Tabela 2.

Tabela 2. Resultados obtidos para umidade residual (*X_p*) e atividade de água (*aw*)

Amostra	<i>X_p</i> (%)	<i>Aw</i> (-)
PLS1	4,84 (0,18)	0,080 (0,03)
PLS2	4,87 (0,08)	0,127 (0,07)
PLS3	4,40 (0,01)	0,055 (0,02)
PLS5	4,48 (0,17)	0,078 (0,03)
PLS7	5,48 (0,52)	0,084 (0,01)
PLS8	4,66 (0,08)	0,095 (0,02)
PLS9	4,48 (0,07)	0,058 (0,01)
PLS11	4,80 (0,05)	0,075 (0,01)

Resultados de *aw* entre 0,055 (PLS3) e 0,127 (PLS2) foram obtidos. Esses resultados são similares aos reportados por Carneiro¹⁷, que investigou a microencapsulação de óleo de linhaça por *spray drying* com diferentes tipos de material de parede (maltodextrina, proteína de soro de leite, goma arábica, Capsul e HiCap 100) e encontrou valores de *aw* na faixa de 0,087 a 0,181, indicando que a água presente na amostra está fortemente ligada à partícula.

Segundo Valente e Söderman¹⁸, a formação dos complexos supramoleculares entre o sistema hóspede-hospedeiro envolvendo um composto anfifílico e uma ciclodextrina é conduzida por interações não covalentes, incluindo forças de Van der Waals, hidrofobicidade, interações de transferência eletrostáticas e de carga, metal-ligante, ligação de hidrogênio e efeitos estéricos. A formação destes complexos de hóspede-hospedeiro permite o controle de automontagem baseado na anfifilicidade das moléculas hóspedes, resultando na auto-agregação de estruturas supramoleculares. Em soluções aquosas, a inclusão da molécula hóspede (desidratada) dentro da cavidade não-polar da β -CD é acompanhada pela liberação de moléculas de água. Este processo é fortemente dependente das interações entre a água-água e água-ciclodextrina que ocorre no interior da cavidade da ciclodextrina, e também de outros fatores, incluindo o tamanho, tanto da cavidade da ciclodextrina quanto da molécula hóspede, bem como a estrutura (geometria) das moléculas hospedeiras.

Desta forma, a água adsorvida pelo complexo OE: β -CD é menor que a água correspondente para a β -CD livre ($0,6301 \pm 0,002$). Isso indica que a formação do complexo de inclusão entre a β -CD e um composto hidrofóbico (no caso, os componentes presentes no óleo essencial de *L. sidoides*) envolve o deslocamento de moléculas de água da cavidade da ciclodextrina para que as moléculas hóspedes (ex. timol e carvacrol) sejam incluída no interior da mesma. Comportamento similar foi descrito por Cevallos *et al.*¹⁹ para a encapsulação em β -ciclodextrina de cinamaldeído e timol presentes em óleo essencial de canela e tomilho.

Solubilidade

A solubilização dos complexos de inclusão no meio aquoso é favorecida pelo estado amorfo das partículas obtidas pela secagem por *spray drying* que requer menor energia de solvatação, pela proporção e características dos carreadores utilizados e pelas características superficiais das partículas, como por exemplo, tamanho de partículas, morfologia, porosidade entre outras.

A solubilidade foi em média de 33%, com pouca variação (5%) entre os CB, CT e CQ, tanto entre as amostras 1:10 quanto nas 2:10 (Figura 4). A solubilidade foi superior nas amostras 1:10, com diferença máxima de 15% entre os CQ com maior e menor quantidade de OE. Entre as amostras 2:10, o CT contendo tensoativo (PSL2) apresentou maior solubilidade, comparativamente aos sistemas CB, CQ e CT contendo polímero. O polissorbato 80 (tween 80) como terceiro componente na preparação do complexo de inclusão OE:CD exerce um importante papel no incremento da taxa de solubilização do complexo em meio aquoso o que ocasiona uma maior solubilidade dos ativos presentes no óleo essencial, em especial o timol e o carvacrol. Como consequência, um aumento na atividade biológica destes componentes é esperado.

Para os complexos de inclusão contendo a proporção de OE: β -CD 1:10, o CQ apresentou maior solubilidade percentual, o que pode estar relacionado tanto ao menor teor de óleo essencial presente nesta preparação quanto ao sinergismo entre seus constituintes (polímero hidrossolúvel e tensoativo) responsáveis pelo aumento da molhabilidade e dispersão do pó em meio aquoso. Os resultados encontrados no presente trabalho são semelhantes aos encontrados na literatura, onde os usos de adjuvantes aumentaram a capacidade de solubilidade dos complexos de inclusão.^{10,20}

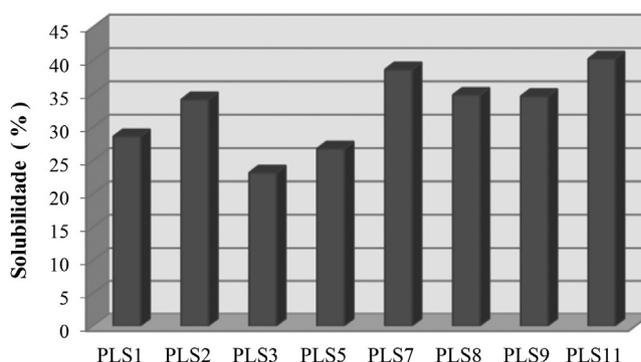


Figura 4. Solubilidade percentual dos complexos de inclusão

Formulações contendo complexos de inclusão OE: β -CD com a adição de polímero hidrossolúvel provaram ser capazes de aumentar a biodisponibilidade das formulações enquanto que são responsáveis também pela redução da quantidade de ciclodextrina necessária para formação do complexo em até 80%.¹⁰ Na presença de água, o polímero ajuda na molhabilidade das partículas, resultando na aceleração do processo de dissolução e aumentando a quantidade de composto ativo liberado *in vitro*, assim como ocorre no caso da adição de tensoativos.

A interação entre os carreadores (β -ciclodextrina, tensoativo e polímero hidrossolúvel) e as moléculas bioativas (ex. timol e carvacrol presentes no óleo essencial de *L. sidoides*) podem ocorrer por meio de íon-íon, íon-dipolo, ligações eletrostáticas dipolo-dipolo e forças de Van der Waals. Simultaneamente, a interação entre os complexos OE: β -CD, OE: β -CD-polímero, OE: β -CD-tensoativo e OE: β -CD-polímero/tensoativo se inicia na superfície externa da β -CD, onde estas moléculas formam complexos capazes de solubilizar moléculas hidrofóbicas. Vários tipos de interações entre polímeros, tensoativos e complexo OE: β -CD podem ser estabelecidas como resultado da diferença estrutural e polaridade das moléculas de β -CD dando origem a várias eficiências de complexação, de acordo com esquema proposto na Figura 5. Em solução aquosa, o polímero atua estabilizando micelas e outros tipos de agregados, reduz a mobilidade da ciclodextrina e aumenta a solubilidade dos complexos pela mudança nas propriedades de hidratação das moléculas de ciclodextrina.

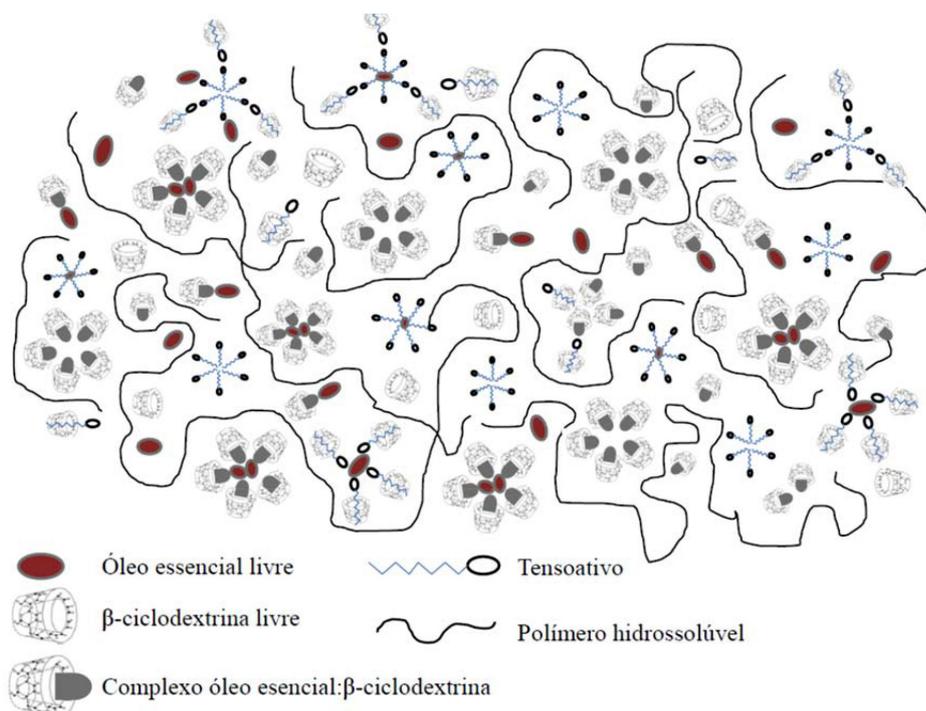


Figura 5. Representação dos vários tipos de interações que possam ocorrer em sistemas de complexação multicomponentes contendo óleo essencial, β-ciclodextrina, tensoativo e polímero hidrossolúvel (Adaptado de Miranda et al.¹⁰)

Hirlekar *et al.*²¹ investigaram o uso de polímeros (PVP K-90 e PEG 4000) em complexos de inclusão contendo β-CD e irbesartana e observou que o uso dos polímeros nos CT quase duplicou a solubilidade do complexo em relação ao complexo binário.

Resultado semelhante foi encontrado por Ribeiro *et al.*,²² que investigou o uso de PVP e HPMC em complexos de inclusão contendo SEBβ-CD (sulfobutil eter β-ciclodextrina) e vimopocetina, onde o uso do polímero aumentou em até 1,8 vezes a capacidade de solubilidade do sistema particulado.

Distribuição granulométrica e tamanho de partícula

O produto seco apresentou distribuição granulométrica estreita, com tamanho médio das partículas entre 8,16 e 13,49 μm. O tamanho das partículas foi maior nas amostras contendo a relação OE:β-CD de 1:10 que nas proporções de 2:10 (Tabela 3). Resultado semelhante ao observado por Songkro,²³ que observaram que em misturas físicas feitas com β-CD e óleo de citronela, quanto maior a proporção de óleo, menor o tamanho da partícula.

Tabela 3. Resultados da caracterização dos sistemas microparticulados obtidos

Exp	dp (μm)	da (g/cm ³)	dc (g/cm ³)	I _{Hausner} (-)	I _{Carr} (-)
PLS1	8,16	0,18	0,28	1,60	37,65
PLS2	9,00	0,16	0,28	1,71	41,49
PLS3	10,02	0,26	0,44	1,71	41,54
PLS5	10,43	0,17	0,31	1,82	45,05
PLS7	10,84	0,22	0,34	1,57	36,11
PLS8	13,49	0,30	0,37	1,38	31,15
PLS9	12,36	0,26	0,39	1,46	31,67
PLS11	11,19	0,25	0,43	1,75	42,86

dp: tamanho médio de partícula; dc: densidade de compactação; da : densidade aparente; I_{Carr}: índice de Carr; I_{Hausner}: razão de Hausner.

Os CT e CQ não apresentaram diferença de tamanho significativa quando comparados ao CB, aproximadamente 1 μm maior nas amostras 2:10, enquanto que nas amostras 1:10 os CB ficaram cerca de 2 μm menor (Tabela 3).

Os CT contendo polímero apresentaram maior tamanho de partícula (PLS3: 10,02 e PLS8: 13,49) em relação aos CT com tensoativo e CB, independente da proporção de OE utilizada. Nas amostras 2:10, quando comparado os CT com os CQ, não se observa diferença entre o tamanho médio das partículas, porém na amostra com menor teor de OE, os CT apresentaram tamanho ligeiramente superior que o CQ, 13,49 e 11,19 μm, respectivamente. A média geral do tamanho das partículas foi de 10,37 μm.

Densidade aparente e de compactação

A densidade aparente (da) e de compactação (dc) não apresentaram diferença significativa entre os complexos de inclusão obtidos nas concentrações de 1:10 e 2:10 (OE:β-CD); sendo um pouco inferior (aproximadamente 0,1 g cm⁻³), nas amostras com proporção OE:β-CD de 2:10. Como o Índice de Carr (I_{Carr}) e a Razão de Hausner (I_{Hausner}) são calculados a partir das densidades, esses valores não variaram entre as amostras com maior e menor teor de OE.

A média da Razão de Hausner das amostras ficou em 1,62 e o Índice de Carr ficou em média 38,03% (Tabela 3), indicando que os pós obtidos apresentam propriedades de fluxo, compressibilidade e compactação ruins, sendo assim pouco viáveis para o uso direto em operações de compressão (fabricação de comprimidos), por exemplo. Para melhorar a compactação e compressibilidade de um pó, é indicado o uso de lubrificantes (ex. estearato de magnésio).²⁴

Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A Figura 6 apresenta as fotomicrografias obtidas por MEV para os sistemas microparticulados contendo óleo essencial de *Lippia sidoides*. O uso do polímero e/ou do tensoativo nos CT e CQ alterou de forma significativa a morfologia das partículas, deixando-as

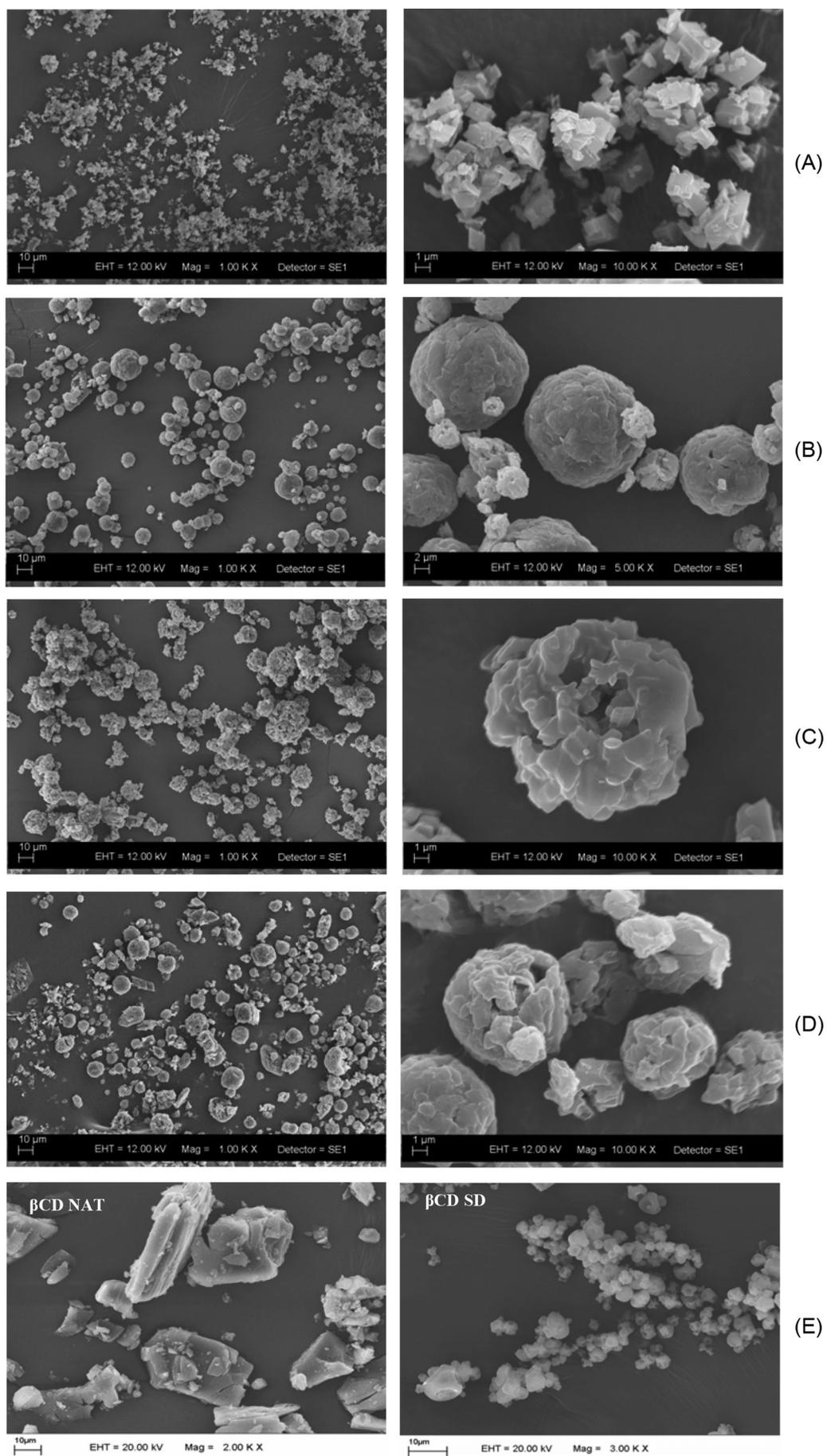


Figura 6. Micrografia dos complexos de inclusão: (A) CB; (B) CT; (C) CT; (D) CQ e (E) β -CD in natura e β -CD spray drying

arredondadas, provavelmente devido à aglomeração de β -CD. Os CB, proporção de OE: β -CD de 2:10 - PSL1 (Figura 6a) mantiveram a morfologia similar da β -CD pura (formato retangular e características mais cristalina, com pequenas partículas aderidas em sua superfície - Figura 6e [β -CDNAT]). Uma solução aquosa de β -CD foi submetida ao processo de secagem por *spray drying* visando avaliar o efeito da atomização e secagem na morfologia das partículas (Figura 6e [β -CDS]). Observa-se uma drástica mudança na morfologia das partículas secas, que passaram de lascas retangulares na β -CD *in natura* para formato mais arredondado após secagem por *spray dryer* (β -CDS). A menor granulometria se deve ao uso da sonda de ultrassom. A intensa cavitação e cisalhamento sofrido pelas partículas de β -CD durante a homogeneização em processador ultrassônico é capaz de reduzir de forma significativa o tamanho das partículas e a movimentação da suspensão auxilia o OE a entrar na cavidade hidrofóbica da β -CD.

O uso de tensoativo nos CT (PLS9) gerou partículas mais lisas, com a β -CD mais compacta (Figura 6b), enquanto os CT com polímero (PLS8) apresentaram morfologia arredondada, porém mais rugosa e menos compactada, sendo possível observar a aglomeração das β -CD (Figura 6c).

Os CQ (PSL11) apresentaram uma morfologia mais heterogênea (Figura 6d), com formas muito similares aos CT contendo polímero; entretanto também se pode observar partículas com o formato da β -CD pura (cristais com forma definida). Nos CQ se pode observar uma grande variação no tamanho das partículas quando observada as fotos com ampliação de 1000x.

Songkro²³ observou que em razões óleo de citronela: β -CD menores houve uma aglomeração dos complexos de inclusão, que diminuiu com a redução das proporções de OE de 1:1 para 1:2.

Eficiência de encapsulação

A eficiência de encapsulação (EE) indica a quantidade de OE que se ligou a β -CD. A Figura 7 mostra que os complexos binários (CB), ternários (CT) e quaternários (CQ) de concentração OE: β -CD (1:10) apresentaram maior EE que os sistemas com maior quantidade de óleo (2:10). Esse resultado é esperado, considerando-se que disponibilidade de moléculas hóspedes para moléculas hospedeiras diminuir com o incremento na proporção de óleo essencial, o que faz com que o OE possua maior probabilidade de se ligar à β -CD, para formar o complexo de inclusão.

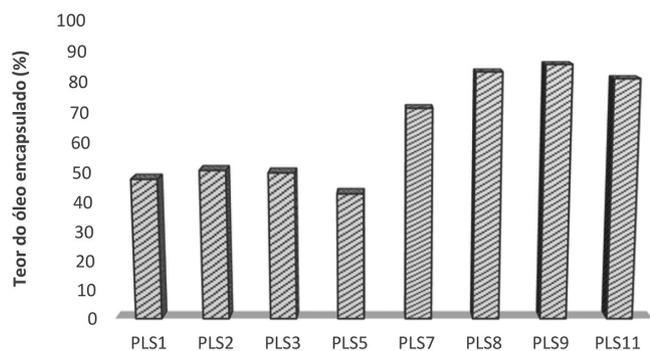


Figura 7. EE dos complexos de inclusão

Os CT com polímero e com tensoativo apresentaram maior eficiência de encapsulação do óleo essencial que os CB e CQ tanto na proporção de 1:10 quanto na proporção de 2:10, mostrando que o uso de adjuvante com a β -CD aumenta a eficiência de encapsulação em sistemas contendo β -ciclodextrina (Figura 7). Para as amostras com teor de óleo para β -CD de 1:10, os CQ encapsularam 10% mais

OE que os CB, conforme mostrado na Figura 7. Isto indica que com o uso dos dois adjuvantes (polímero e tensoativo), também ocorre um aumento na capacidade de encapsulação dos complexos ainda que menor que os CT, tanto com polímero quanto com tensoativo.

Loftsson *et al.*²⁵ analisaram CT contendo PVP e HPMC como adjuvantes em complexos de inclusão contendo β -CD e diferentes fármacos (acetazolamida, metazolamida e econazol) e observou que em todos os casos, o uso dos adjuvantes melhorou consideravelmente a incorporação da droga no complexo de inclusão.

Fernandes³ avaliou a microencapsulação de OE de *Lippia sidoides* em complexos de inclusão com β -CD por *spray drying*, em variadas condições experimentais. A eficiência de encapsulação ficou em torno de 65%, quando foi utilizada uma razão OE: β -CD de 1:10. Os resultados obtidos com o uso do processador ultrassônico (método empregado neste trabalho), na mesma concentração (1:10), observou-se EE de 71,4%, em torno de 5% superior ao reportada por Fernandes.³

Paula e colaboradores²⁶ avaliaram a obtenção de nanopartículas contendo óleo essencial de *L. sidoides* (Ls) utilizando como carreadores de encapsulação a goma angico (AG) e a quitosana (CH). Os autores avaliaram as proporções 1:10 e 1:20 (Ls:AG-CH) e constataram que o aumento na proporção de carreadores não alterou significativamente a eficiência de encapsulação que foi de 77,8% (1:10) e de 69,3% (1:20).

Recuperação do produto (REC)

A recuperação do produto foi expressa em porcentagem da massa recuperada pela massa alimentada ao secador (base seca). As amostras PLS7 a PLS11 (1:10) apresentaram média de recuperação maior que as amostras PL1 à PLS5 (2:10), 80,2 e 74,3% respectivamente.

Os CT contendo polímero apresentaram uma porcentagem de recuperação maior quando comparado aos CB e CQ, independente do teor de OE (Figura 8).

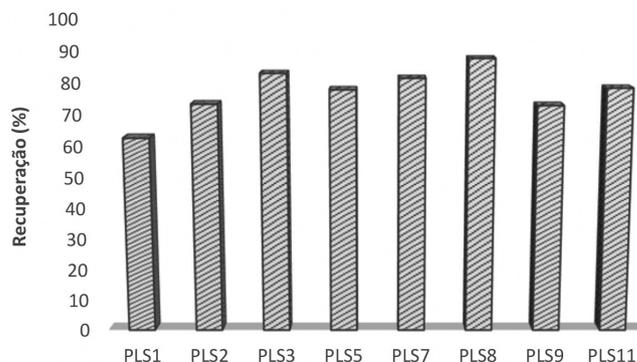


Figura 8. Recuperação dos complexos de inclusão durante secagem por *spray drying*

Os valores de recuperação de secagem deste trabalho (entre 62,7% e 87,8%), foram superiores aos reportados por Adamiec *et al.*,²⁷ que obtiveram na melhor condição o valor de 70,6%, sendo o menor valor obtido foi 29,1%.

Os valores de recuperação obtidos foram em média 77%, resultado um pouco superior aos valores frequentemente encontrado na literatura. Souza¹⁴ obteve valores de recuperação de secagem da ordem de 64% durante a obtenção de extratos secos de *Bauhinia forficata*, enquanto que Costa-Silva²⁸ obteve recuperação média de 65% durante a secagem da enzima lipase por *spray drying*.

A adição dos adjuvantes nos CT e CQ, melhorou de 10 a 20% a recuperação de secagem, respectivamente nas amostras 1:10 e 2:10.

Paula e colaboradores²⁶ obtiveram porcentagens de recuperação em torno de 30 a 60% para nanopartículas de quitosana e goma an-gico contendo óleo essencial de *L. sidoides* secas por *spray drying*.

Aparência das partículas obtidas por *spray drying*

Foram obtidas fotografias dos pós após o processo de secagem, visando registrar as características visuais dos sistemas particulados formados. A aparência macroscópica dos pós obtidos pelos CB, CT e CQ foram similares, independente da proporção de OE como pode-se observar na Figura 9. Porém, apesar do aspecto visual semelhante, os produtos contendo maior proporção de OE apresentaram aspecto sensorial oleoso, o que pode indicar presença de OE na superfície da partícula.

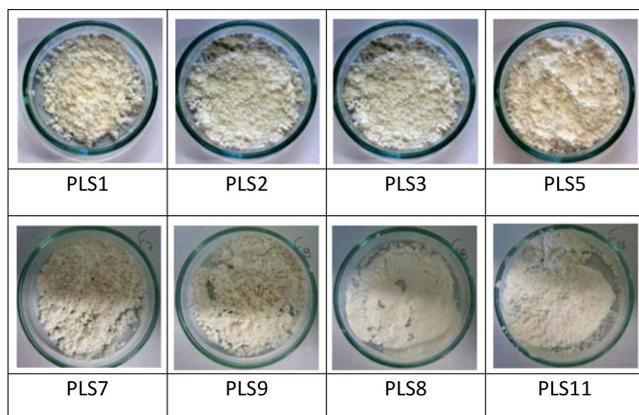


Figura 9. Fotografias dos sistemas microparticulados obtidos por *spray drying*

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho indicaram que a eficiência de encapsulação diminui cerca de 28% com o aumento da razão OE: β -CD de 1:10 para 2:10. Observou-se que a adição de adjuvantes (tensoativo e polímero) formando os complexos ternários e quaternários aumentou em até 10% o teor de óleo encapsulado. A adição desses adjuvantes também modificaram a morfologia das partículas, deixando-as mais arredondadas quando comparada com os complexos binários, que mantiveram a estrutura original da β -ciclodextrina, porém com tamanho reduzido, devido ao uso do processador ultrassônico. Os complexos ternários contendo polímero apresentaram maior recuperação de secagem atingindo o valor de 87% na amostra 1:10, elevado para secadores em escala laboratorial.

Os resultados apresentados neste trabalho permitem concluir que os complexos ternários (polímero ou tensoativo) apresentaram maior vantagem em relação aos parâmetros avaliados, como maior retenção de OE e maior eficiência de encapsulação.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a CAPES pela concessão de bolsa de estudos para P.N. Ferraz-Freitas e a FAPESP pelo auxílio financeiro a pesquisa (Procs. # 2011/10333-1; 2014/15905-1).

REFERÊNCIAS

- Nunes, R. S.; Lira, A. M.; Ximenes, E.; Silva, J. A.; Santana, D. P.; *Scientia Plena* **2005**, *1*, 182.
- Pascual, M. E.; Slowing, K.; Carretero, E.; Mata, D. S.; Villar, A.; *J. Ethnopharm.* **2001**, *76*, 201.
- Fernandes, L. P.; *Tese de Doutorado*, Universidade de São Paulo, Brasil, 2008.
- Pietta, P.; Minoggio, M.; Bramati, L.; in: *Studies in Natural Products Chemistry*; Atta-ur-Rahman, ed.; Elsevier, 2003, cap. 7.
- Matos, F. J. A.; Oliveira, F.; *Rev. Bras. Farm.* **1998**, *70*, 84.
- Loza-Tavera, H.; *Advances in Experimental Medicines and Biology* **1999**, *464*, 49.
- Müller, P. S.; *Dissertação*, Universidade Federal do Paraná, 2011.
- Loftsson, T.; Duchêne, D.; *Int. J. Pharm.* **2007**, *329*, 1.
- Alves, L. D. S.; Lyra, M. A. ; Rolim, L. A.; Presmich, G. M. A.; Rolim-Neto, P. J.; *Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.* **2012**, *33*, 17.
- Miranda, J. C.; Martins, T. E. A.; Veiga, F.; Ferraz, H. G.; *Braz. J. Pharm. Sci.* **2011**, *47*, 665.
- Taupitz, T.; Dressman, J. B.; Buchanan, C. M.; Klein, S.; *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2013**, *83*, 378.
- Chadha, R.; Bala, M.; Arora, P.; Jain, D. V. S.; Pissurlenkar, R. S.; Coutinho, E. C. *Carbohydrate Polymers.* **2014**, *103*, 300.
- Tonon, R. V.; *Tese de Doutorado*, Universidade Estadual de Campinas, Brasil, 2009.
- Souza, C. R. F.; *Dissertação*, Universidade de São Paulo, Brasil, 2003.
- Alves, G. M. C.; Rolim L. A.; Rolim Neto P. J.; Leite A. C. L.; Brondani, D. J.; *Quim. Nova* **2008**, *31*, 413.
- Reineccius, T. A., Reineccius, G. A., Peppard, T. L.; *J. Food Science* **2004**, *69*, 58.
- Carneiro, H. C. F.; *Dissertação*, Universidade Estadual de Campinas, Brasil, 2011.
- Valente, A. J. M.; Söderman, O. *Advances in Colloid and Interface Science* **2014**, *205*, 156.
- Cevallos, P. A. P.; Buera, M. P.; Elizalde, B. E.; *J. Food Eng.* **2010**, *99*, 70.
- Sherje, A.P.; Londhe, V.; *J. Pharm. Innov.* **2015**, *10*, 324.
- Hirlekar, R. S.; Sonawane, S. N.; Kadam, V. J.; *AAPS PharmSciTech.* **2009**, *10*, 858.
- Ribeiro, L.; Loftsson, T.; Ferreira D.; Veiga, F.; *Chem. Pharm. Bull.* **2003**, *51*, 914.
- Songkro, S.; Hayook, N.; Jaisawang, J.; Maneenuan, D.; Chuchome, T.; Kaewnopparat, N.; *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2012**, *72*, 339.
- Silva Júnior, N. P.; *Dissertação*, Universidade Estadual Paulista, Brasil, 2006.
- Loftsson, T.; Fridriksdóttir, H.; *Int. J. Pharm.* **1998**, *163*, 115.
- Paula, H. C. B.; Sombra, F. M.; Abreu, F. O. M. S.; Paula, R. C. M. *J. Braz. Chem. Soc.* **2010**, *21*, 2359.
- Adamiec, J.; Kalembe, D.; *Drying Technol.* **2006**, *24*, 1127.
- Costa-Silva, T. A.; *Dissertação de mestrado*, Universidade de São Paulo, Brasil, 2010.