

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MAYARA TICIANELLI PACCOLA

**LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FRAGRÂNCIA, TESTE COM CONSUMIDOR E
ANÁLISE SENSORIAL DE PRODUTO COSMÉTICO CONTENDO ÓLEO
ESSENCIAL DE *Citrus sinensis* (L.) Osbeck MICROENCAPSULADO**



CURITIBA

2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MAYARA TICIANELLI PACCOLA

**LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FRAGRÂNCIA, TESTE COM CONSUMIDOR E
ANÁLISE SENSORIAL DE PRODUTO COSMÉTICO CONTENDO ÓLEO
ESSENCIAL DE *Citrus sinensis* (L.) Osbeck MICROENCAPSULADO**

CURITIBA

2017

MAYARA TICIANELLI PACCOLA

**LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FRAGRÂNCIA, TESTE COM CONSUMIDOR E
ANÁLISE SENSORIAL DE PRODUTO COSMÉTICO CONTENDO ÓLEO
ESSENCIAL DE *Citrus sinensis* (L.) Osbeck MICROENCAPSULADO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Insumos, Medicamentos e Correlatos, Departamento de Farmácia, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora:

Prof^a Dra. Sandra Maria Warumby Zanin

Co-orientadoras:

Prof^a Dra. Josiane de Fátima Gaspari Dias

Prof^a Dra. Deise Prehs Montruchio

CURITIBA

2017

Paccola, Mayara Ticianelli

Liberação controlada de fragrância, teste com consumidor e análise sensorial de produto cosmético contendo óleo essencial de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck microencapsulado / Mayara Ticianelli Paccola - Curitiba, 2017.

137 f. :il. (algumas color.) ; 30 cm

Orientadora: Professora Dra. Sandra Maria Warumby Zanin

Coorientadora: Professora Dra. Josiane de Fátima Gaspari Dias

Coorientadora: Professora Dra. Deise Prehs Montruchio

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná.

Inclui bibliografia

1. Microencapsulação. 2. Polímeros. 3. Óleos essenciais. 4. Aromaterapia.
5. Fragrância. I. Zanin, Sandra Maria Warumby. II. Dias, Josiane de Fátima Gaspari.II. Montruchio, Deise Prehs. IV. Universidade Federal do Paraná. V. Título.

CDD 668.55



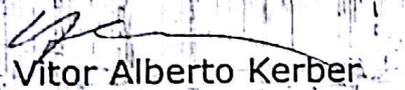
TERMO DE APROVAÇÃO

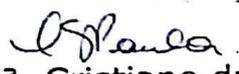
MAYARA TICIANELLI PAGCOLA

Título: "LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FRAGRÂNCIA, TESTE COM CONSUMIDOR E ANÁLISE SENSORIAL DE PRODUTO COSMÉTICO CONTENDO ÓLEO ESSENCIAL DE *Citrus sinensis* (L.) Osbeck MICROENCAPSULADO"

Dissertação aprovada como requisito parcial para a obtenção de grau de Mestre, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, da Universidade Federal do Paraná, área de concentração: Insumos, medicamentos e correlatos.


Profª. Drª. Sandra Maria Warumby Zanin
Orientadora


Prof. Dr. Vitor Alberto Kerber
Universidade Federal do Paraná


Profª. Drª. Cristiane da Silva Paula de Oliveira
Universidade Federal do Paraná

Curitiba, 17 de fevereiro de 2017.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela sabedoria, paciência e perseverança sempre. Em ser meu porto seguro em todos os momentos e me ensinar a ser uma pessoa melhor a cada dia.

A minha querida professora e orientadora, Sandra Zanin, que, muito além do ensinamento técnico e por toda colaboração nas análises e discussão do trabalho, me ensinou muitas outras coisas que levarei para o resto da vida. Meu maior agradecimento por esse mestrado foi por ter conhecido uma pessoa tão maravilhosa e humana, com coração enorme e bondade sem igual. Obrigada, por tudo.

Ao Pedro Zanin, por todo ensinamento, paciência e ajuda durante todo o percurso do trabalho. Certamente foi uma pessoa essencial para que tudo finalizasse da maneira correta.

A pessoa que mais esteve ao meu lado durante todo esse tempo, meu noivo Diego Suero, que me apoiou, me incentivou e ajudou durante o percurso.

Aos meus pais Ana Silvia, José Augusto e minhas irmãs Fernanda e Júlia, que mesmo longe, sempre me acompanham com minha felicidade, sucesso e angústias. Vocês são essenciais na minha vida e em tudo o que construí e estou construindo.

Aos alunos de Iniciação Científica, Fabrine Rezende e Rafael Fernandes, por toda dedicação e parceria no decorrer desse trabalho. Agradeço imensamente por tudo que me ajudaram e desejo muito sucesso na caminhada de vocês.

Ao Rafael Zanin, pela gentileza em fornecer as diversas matérias-primas ao longo do trabalho.

Aos colegas do laboratório, por toda ajuda e ensinamento.

Ao Carlos Gemin, por todo ensinamento e ajuda com as análises.

A Suélyn Féderle, Jennifer Araújo e Ana Raquel Firmino pela ajuda com as análises sensoriais.

A Valéria Di Mambro, pelo incentivo para o início do mestrado e por toda ajuda para conciliar meu tempo no mestrado e no trabalho. Meus sinceros agradecimentos, por tudo.

A amiga-mãe-irmã de coração e de trabalho, Vanessa Bento, por toda paciência durante esse período e por toda ajuda e ensinamento no dia-a-dia. Tudo ficou mais leve com você ao meu lado.

“A mente que se abre a uma nova idéia jamais voltará ao seu tamanho original”.

Albert Einstein

RESUMO

PACCOLA, M. T. Liberação controlada de fragrância, teste com consumidor e análise sensorial de produto cosmético contendo óleo essencial de *Citrus Sinensis* (L.) Osbeck Microencapsulado. 143fls. Dissertação de Mestrado (Curso de Ciências Farmacêuticas). Setor de Ciências da Saúde, da Universidade Federal do Paraná, UFPR, Curitiba, 2017.

Há uma crescente demanda por produtos contendo fragrâncias e óleos essenciais e muitas dessas fragrâncias são instáveis devido aos grupos aldeído, cetona e terpeno, que podem reagir com outros compostos. Tal degradação pode alterar as características sensoriais, além de produzir substâncias alergênicas. Por isso, o controle da volatilização e degradação é muito importante para prolongar as características sensoriais. Atualmente, encapsulação de fragrância em reservatórios biocompatíveis e biodegradáveis tem sido uma estratégia para diminuição de evaporação de moléculas voláteis e prolongar as características sensoriais dos cosméticos e a longevidade dos perfumes. O objetivo desse estudo foi desenvolver uma microcápsula com a finalidade de proteger o óleo essencial de laranja e preservar suas características olfativas, para aplicação em cosméticos. Foi realizado o método de microencapsulação por gelificação iônica, utilizando-se a associação entre uma goma e um polímero biodegradável, a fim de formar uma microcápsula eficiente e que libere o óleo quando aplicada sobre a pele. A encapsulação teve eficiência de 87%. As microcápsulas foram mantidas em água destilada e em gel de hidroxietilcelulose para estudo de estabilidade. As amostras sofreram leve alterações organolépticas ao longo de 90 dias e mantiveram até 98% de óleo encapsulado. Foi realizado teste com consumidor, aplicado o CATA (*check all that apply*), onde as palavras refrescante e revigorante foram mais percebidas nas amostras contendo as cápsulas e indicando preservação das características sensoriais olfativas do óleo. As considerações acerca deste estudo demonstraram que a microcápsula desenvolvida pode ser amplamente utilizada em cosméticos para liberação de fragrâncias, podendo ser utilizada em associações com outros óleos essenciais para melhorar a agradabilidade para o consumidor final.

Palavras-chave: Microencapsulação. Polímero biodegradável. Goma. Sensorial. Óleo de laranja. Fragrância.

ABSTRACT

PACCOLA, M. T. Controlled fragrance release, consumer testing and sensory analysis of cosmetic product containing essential oil of Citrus Sinensis (L.) Osbeck Microencapsulated. 143fls. Master's Dissertation (Course of Pharmaceutical Sciences). Health Sciences Division, Federal University of Paraná, UFPR, Curitiba, 2017

There is a growing demand for products containing fragrances and essential oil and many of these fragrances are unstable due to aldehyde, ketone and terpene groups that can react with other compounds. The degradation of these products may alter the sensory characteristics, besides producing allergic products. Therefore, controlling the volatilization and degradation of these compounds is extremely important to extend their sensory characteristics. Nowadays, fragrance encapsulation in biocompatible and biodegradable capsules is emerging as a strategy to reduce evaporation of volatile molecules and to prolong the sensory characteristics of the products and the longevity of perfumes. The objective of this study was to develop a microcapsule that protects the orange essential oil and that preserves its olfactory characteristics to cosmetic application. The microencapsulation by ionic gelation method was performed in this study using the association between a gum and a biodegradable polymer, for the purpose of creating an efficient microcapsule that releases the oil while applied on the skin. The encapsulation efficiency rate was 87%. The microcapsules were maintained in distilled water and Hydroxyethylcellulose gel for stability studies. The samples suffered light organoleptic alterations over 90 days and maintained until 98% of the oil encapsulated. A consumer testing was performed using CATA (check all that apply), where the words refreshing and revigorating were perceived most frequently on the samples containing the capsules and indicating preservation of olfactory sensory characteristics of the oil. The microcapsule developed can be widely used in cosmetics for fragrance release, allowing the association with other essential oils to improve final consumer pleasantness.

Key-Words: Microencapsulation. Polymer biodegradable. Gum. Sensory. Orange essential oil. Fragrance.

LISTA DE ABREVIações, SIGLAS E SÍMBOLOS

Amb	–	Temperatura ambiente
BHA	–	Hidroxianisol butilado
BHT	–	Hidroxitolueno butilado
CATA	–	<i>Check al that apply</i>
CLAE	–	Cromatografia líquida de alta eficiência
DE	–	Dextrose equivalente
DLS	–	Espalhamento de luz dinâmico
Est	–	Estufa
F1	–	Formulação 1
F2	–	Formulação 2
F3	–	Formulação 3
F4	–	Formulação 4
F5	–	Formulação 5
F6	–	Formulação 6
F7	–	Formulação 7
F8	–	Formulação 8
FDA	–	<i>Food and Drug Administration</i>
Gel	–	Geladeira
MA	–	Microcápsulas de óleo de laranja acondicionadas em água purificada, resultando em 1% de óleo
MEV	–	Microscopia eletrônica de varredura
MFA	–	Microscopia de força atômica
MG	–	Gel de hidroxietilcelulose contendo microcápsulas de óleo de laranja resultando em 1% de óleo
MT	–	Maltodextrina trehalose
MS	–	Maltodextina sucrose
NK	–	<i>Natural Killer</i>
OE	–	Óleos essenciais
OG	–	Gel de hidroxietilcelulose contendo 1% de óleo de laranja

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 -	ESTRUTURA DO ISOPRENO	28
FIGURA 2 -	PRODUTOS PRIMÁRIOS DA AUTOOXIDAÇÃO DO LIMONENO .	31
FIGURA 3 -	SUBPRODUTOS DA LARANJA E SEUS RENDIMENTOS	34
FIGURA 4 -	FÓRMULA ESTRUTURAL DO LIMONENO.....	36
FIGURA 5 -	PRODUTOS DA DECOMPOSIÇÃO DO D-LIMONENO	36
FIGURA 6 -	ESQUEMA DE NANO/MICROESFERAS.....	42
FIGURA 7 -	ESQUEMA DE NANO/ MICROCÁPSULAS	42
FIGURA 8 -	CLASSIFICAÇÃO DAS NANO/MICROCÁPSULAS DE ACORDO COM SEUS NÚCLEOS.....	43
FIGURA 9 -	COMPOSIÇÃO DOS ALGINATOS.....	44
FIGURA 10 -	CADEIAS HOMOPOLIMÉRICAS ÍONS DE CALCIO ENTRE GRUPOS DE CARGA NEGATIVA	45
FIGURA 11 -	ESTRUTURA DE CADEIA PRINCIPAL DA GOMA ARÁBICA	48
FIGURA 12 -	VISCOSIDADE DA GOMA ARÁBICA EM FUNÇÃO DE SUA CONCENTRAÇÃO	48
FIGURA 13 -	ESTABILIZAÇÃO DE GOTAS DE ÓLEO PELAS MOLÉCULAS DE GOMA ARÁBICA.....	49
FIGURA 14 -	ESTRUTURA GOMA XANTANA.....	51
FIGURA 15 -	ESTRUTURA MALTODEXTRINA	52
FIGURA 16 -	HIDRODESTILAÇÃO POR CLEVINGER	62
FIGURA 17-	ESQUEMA DE FORMAÇÃO DE MICROESFERAS DE ALGINATO DE SÓDIO PELO MÉTODO DE GELIFICAÇÃO IÔNICA EXTERNA OU DE GOTEJAMENTO.....	64
FIGURA 18 -	ESQUEMA DE FORMAÇÃO DAS MICROCÁPSULAS DE ALGINATO DE SÓDIO PELO MÉTODO DE GELIFICAÇÃO IÔNICA EXTERNA OU DE GOTEJAMENTO.....	65
FIGURA 19 -	ÓLEO DE LARANJA ANALISADO POR CG-MS.	73
FIGURA 20 -	RESULTADO DE ANÁLISE DO D-LIMONENO POR AMDIS	75
FIGURA 21 -	MICROPARTÍCULAS OBTIDAS DE SOLUÇÃO EM CONCENTRAÇÃO DE 0,4 % EM MASSA DE ALGINATO DE SÓDIO COM UTILIZAÇÃO DE CORANTE VERMELHO LIPOFÍLICO	

	FAT RED PARA MELHOR VISUALIZAÇÃO DAS PARTÍCULAS FORMADAS.....	77
FIGURA 22 -	MICROPARTÍCULAS OBTIDAS DE SOLUÇÃO EM CONCENTRAÇÃO DE 2 % EM MASSA DE ALGINATO DE SÓDIO COM UTILIZAÇÃO DE CORANTE VERMELHO LIPOFÍLICO FAT RED PARA MELHOR VISUALIZAÇÃO DAS PARTÍCULAS FORMADAS.....	78
FIGURA 23 -	ESQUEMA DE FORMAÇÃO DE MICROESFERAS	88
FIGURA 24 -	ESQUEMA DE FORMAÇÃO MICROCÁPSULAS	92
FIGURA 25 -	REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DO PERFIL DE LIBERAÇÃO DO ÓLEO ENCAPSULADO NO ÓLEO DISPERSO NO GEL (OG), MICROCÁPSULAS NA ÁGUA (MA) E MICROCÁPSULAS NO GEL (MG) APÓS 30, 60 E 90 DIAS NAS CONDIÇÕES AMBIENTE, ESTUFA E GELADEIRA.	98
FIGURA 26 -	AMOSTRAS APÓS 90 DIAS DE ESTABILIDADE DO ÓLEO DE LARANJA DISPERSO NO GEL DE HIDROXIETILCELULOSE (OG) NAS CONDIÇÕES AMBIENTE, ESTUFA E GELADEIRA – VISÃO LATERAL.	101
FIGURA 27 -	AMOSTRAS APÓS 90 DIAS DE ESTABILIDADE DE ÓLEO DE LARANJA DISPERSO NO GEL DE HIDROXIETILCELULOSE (OG) NAS CONDIÇÕES AMBIENTE, ESTUFA E GELADEIRA – VISÃO SUPERIOR.....	102
FIGURA 28 -	AMOSTRAS APÓS 90 DIAS DE ESTABILIDADE DE MICROCÁPSULA DE ÓLEO DE LARANJA ACONDICIONADA EM ÁGUA DESTILADA (MA) NAS CONDIÇÕES AMBIENTE, ESTUFA E GELADEIRA – VISÃO LATERAL	103
FIGURA 29 -	AMOSTRAS APÓS 90 DIAS DE ESTABILIDADE DE MICROCÁPSULA EM ÓLEO DE LARANJA ACONDICIONADA EM ÁGUA DESTILADA (MA) NAS CONDIÇÕES AMBIENTE, ESTUFA E GELADEIRA – VISÃO SUPERIOR	104
FIGURA 30 -	AMOSTRAS APÓS 90 DIAS DE ESTABILIDADE DE MICROCÁPSULAS DE ÓLEO DE LARANJA ACONDICIONADAS EM GEL DE HIDROXIETILCELULOSE (MG) NAS CONDIÇÕES AMBIENTE, ESTUFA E GELADEIRA – VISÃO LATERAL	105

FIGURA 31 -	AMOSTRAS APÓS 90 DIAS DE ESTABILIDADE DE MICROCÁPSULAS DE ÓLEO DE LARANJA ACONDICIONADAS EM GEL DE HIDROXIETILCELULOSE (MG) NAS CONDIÇÕES AMBIENTE, ESTUFA E GELADEIRA – VISÃO SUPERIOR.....	106
FIGURA 32 -	PIRÂMIDE OLFATIVA.....	115
FIGURA 33 -	PERFIL SENSORIAL ENTRE O ÓLEO DE LARANJA ENCAPSULADO (MG) E NÃO ENCAPSULADO (OG)	116

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 -	PRINCIPAIS ÓLEOS ESSENCIAIS UTILIZADOS EM PRODUTOS COSMÉTICOS.	33
TABELA 2 -	COMPONENTES ENCONTRADOS NO ÓLEO DE LARANJA PÊRA.	35
TABELA 3 -	TRABALHOS PARA ENCAPSULAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS.	40
TABELA 4 -	CARACTERÍSTICAS DAS GOMAS ACÁCIA SENEGAL E ACÁCIA SEYAL.....	49
TABELA 5 -	PROGRAMA DE TEMPERATURA REALIZADO	62
TABELA 6 -	COMPONENTES UTILIZADOS E SUAS CONCENTRAÇÕES PARA O PREPARO DE MICROESFERAS DE ALGINATO DE SÓDIO; ALGINATO DE SÓDIO E GOMA ARÁBICA; E ALGINATO DE SÓDIO E MALTODEXTRINA	64
TABELA 7 -	COMPONENTES UTILIZADOS E SUAS CONCENTRAÇÕES PARA O PREPARO DE MICROCÁPSULAS DE ALGINATO DE SÓDIO E GOMA XANTANA.....	66
TABELA 8 -	FORMULAÇÃO DO GEL DE HIDROXIETILCELULOSE	67
TABELA 9 -	COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS VOLÁTEIS IDENTIFICADOS EM ÓLEO ESSENCIAL DE LARANJA <i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck OBTIDA POR CG-MS.	72
TABELA 10 -	COMPARAÇÃO DOS COMPOSTOS MAJORITÁRIOS ENCONTRADOS NO ÓLEO DE LARANJA (%).....	73
TABELA 11 -	EMULSÕES PREPARADAS BASEADAS EM DIFERENTES AUTORES E COMBINAÇÕES DE TENSOATIVOS.....	86
TABELA 12 -	CARACTERÍSTICAS DAS MICROPARTÍCULAS OBTIDAS EM RELAÇÃO A FORMA E MANUTENÇÃO DA FORMA, ANÁLISE SENSORIAL PRÉVIA (ODOR, EMOLIÊNCIA, ESPALHABILIDADE) E LIBERAÇÃO DO ÓLEO ENCAPSULADO APÓS APLICAÇÃO NA PELE.	87
TABELA 13 -	AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAÇÃO DE MICROCÁPSULAS CONTENDO ÓLEO DE LARANJA	96
TABELA 14 -	PERFIL DE LIBERAÇÃO DO ÓLEO ENCAPSULADO NO ÓLEO DISPERSO NO GEL (OG), MICROCÁPSULAS NA ÁGUA (MA) E	

	MICROCÁPSULAS NO GEL (MG) APÓS 30, 60 E 90 DIAS NAS CONDIÇÕES AMBIENTE, ESTUFA E GELADEIRA.....	97
TABELA 15 -	CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS DA AMOSTRA OG EM DECORRÊNCIA DO TEMPO EM TEMPERATURA AMBIENTE, ESTUFA E GELADEIRA DURANTE ESTUDO DE ESTABILIDADE.....	100
TABELA 16 -	CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS DA AMOSTRA MA EM DECORRÊNCIA DO TEMPO EM TEMPERATURA AMBIENTE, ESTUFA E GELADEIRA DURANTE ESTUDO DE ESTABILIDADE.....	102
TABELA 17 -	CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS DA AMOSTRA MG EM DECORRÊNCIA DO TEMPO EM TEMPERATURA AMBIENTE, ESTUFA E GELADEIRA DURANTE ESTUDO DE ESTABILIDADE.	105
TABELA 18 -	MÉDIA ESTIMADA DAS AGRADABILIDADES COMPARATIVAS ENTRE AS AMOSTRAS DE ÓLEO DISPERSO NO GEL (OG) E MICROCÁPSULAS NO GEL (MG) NO TESTE COM CONSUMIDOR	108
TABELA 19 -	RESULTADOS DAS AMOSTRAS DE ÓLEO DISPERSO NO GEL (OG) E MICROCÁPSULAS NO GEL (MG) NO ATRIBUTO “ATRATIVO E INOVADOR”.....	109

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 - FAIXA ETÁRIA DOS CONSUMIDORES	107
GRÁFICO 2 - RESULTADO DA INTENSIDADE DA FRAGÂNCIA NA ESCALA JAR NO TESTE COM CONSUMIDOR	109
GRÁFICO 3 - DISTRIBUIÇÃO DAS PALAVRAS/FRASES ASSINALADAS NO CATA NO TESTE COM CONSUMIDOR	111
GRÁFICO 4 - INTENSIDADE PERFUMAÇÃO LOGO APÓS APLICAÇÃO (T0) E APÓS 2 MINUTOS (T2MIN).....	113

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	21
1.2 OBJETIVOS.....	23
1.2.1 Geral.....	23
1.2.2 Específicos	23
2 REVISÃO DE LITERATURA	24
2.1 A INDÚSTRIA COSMÉTICA	25
2.2 ÓLEOS ESSENCIAIS.....	26
2.2.1 Aspectos gerais	26
2.3 ENCAPSULAÇÃO	37
2.3.1 Aspectos gerais	37
2.3.2 Encapsulação de óleos essenciais.....	38
2.3.3 Materiais encapsulantes.....	41
2.3.3.1 Partículas poliméricas	41
2.3.3.2 Alginatos.....	43
2.3.3.2.1 Formas de obtenção.....	43
2.3.3.2.2 Constituição química e física	43
2.3.3.2.3 Usos do alginato de sódio	45
2.3.3.2.4 Produção de sistemas particulados utilizando alginato de sódio.....	47
2.3.3.3 Goma arábica	47
2.3.3.4 Goma xantana	50
2.3.4 Métodos de encapsulação.....	53
2.4 CARACTERIZAÇÃO DE SISTEMAS MICROPARTICULADOS.....	56
2.5 ANÁLISE SENSORIAL.....	57
3 MATERIAL E MÉTODOS	60
3.1 MATERIAL	60
3.1.1 Reagentes, Solventes e Polímeros	60
3.1.2 Equipamentos e Acessórios	61
3.2 MÉTODOS	61
3.2.1 Obtenção da amostra	61
3.2.2. Obtenção do óleo essencial de Citrus sinensis (L.) Osbeck.....	62
3.2.3 Caracterização do óleo de laranja.....	62
3.2.4 Método de obtenção das micropartículas: microesferas	63

3.2.5 Método de obtenção das microcápsulas	65
3.2.6 Avaliação das micropartículas através de análise sensorial prévia	66
3.2.7 Preparo do veículo gel de hidroxietilcelulose (Natrosol®)	66
3.2.8 Eficiência de encapsulação	67
3.2.8.1 Preparo das amostras	67
3.2.9 Perfil de liberação do óleo encapsulado	68
3.2.10 Estudo de estabilidade das formulações	69
3.2.11 Teste com consumidor e análise sensorial do óleo de laranja microencapsulado comparado ao óleo de laranja não encapsulado	70
3.2.11.1 Teste com consumidor	70
3.2.11.2 Teste com painel olfativo	71
3.2.11.3 Teste com painel tátil-visual	71
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	72
4.1 OBTENÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE Citrus sinensis (L.) Osbeck	72
4.2 CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO DE LARANJA	72
4.3 MÉTODO DE OBTENÇÃO DAS MICROPARTÍCULAS: MICROESFERAS E MICROCÁPSULAS	75
4.3.1 Condições de preparo das micropartículas de alginato de sódio	75
4.3.1.1 Aspectos gerais	75
4.3.1.2 Considerações preliminares ao desenvolvimento do trabalho	76
4.3.2 Avaliações preliminares das formulações das microesferas	85
4.3.2.1 Emulsionantes para preparo da emulsão	85
4.3.3 Avaliações preliminares das formulações de microcápsulas.....	86
4.4 Avaliação das microcápsulas através de análise sensorial prévia	87
4.4.1 Formação das microesferas	88
4.4.1.1 Microesferas contendo somente alginato de sódio (F1)	89
4.4.1.2 Microesferas contendo alginato de sódio e goma arábica (F2, F3 e F4)..	90
.....	90
4.4.1.3 Microesferas contendo alginato de sódio e maltodextrina (F5, F6, F7)	91
4.4.2 Formação das microcápsulas.....	92
4.4.2.1 Microcápsulas contendo alginato de sódio e goma xantana (F8).....	93
4.5 CARACTERÍSTICAS DO VEÍCULO GEL DE HIDROXIETILCELULOSE (NATROSOL®)	95

4.6 EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAÇÃO E CAPACIDADE DE ARMAZENAMENTO	96
4.7 PERFIL DE LIBERAÇÃO DO ÓLEO ENCAPSULADO	97
4.8 ESTUDO DE ESTABILIDADE DAS FORMULAÇÕES	100
4.8.1 Óleo de laranja disperso no gel de hidroxietilcelulose (OG).....	100
4.8.2 Microcápsulas de óleo de laranja acondicionadas em água destilada (MA)	102
4.8.3 Microcápsulas de óleo de laranja acondicionadas em gel de hidroxietilcelulose (MG).....	104
4.9 TESTE COM CONSUMIDOR E ANÁLISE SENSORIAL DO ÓLEO DE LARANJA MICROENCAPSULADO COMPARADO AO ÓLEO DE LARANJA NÃO ENCAPSULADO.....	107
4.9.1 Teste com consumidor	107
4.9.2. Teste com painel olfativo	113
4.9.3. Teste com painel tátil-visual	115
CONCLUSÕES	117
CONSIDERAÇÕES FINAIS	118
REFERÊNCIAS	119
ANEXO 1 – QUESTIONÁRIO AVALIAÇÃO DO GEL CORPORAL – TESTE CONSUMIDOR	138
ANEXO 2 – QUESTIONÁRIO DE ANÁLISE SENSORIAL OLFATIVA	142
ANEXO 3 – QUESTIONÁRIO TESTE SENSORIAL TÁTIL-VISUAL	143

1 INTRODUÇÃO

A procura contínua por sensações de felicidade, sucesso, autoestima e beleza está intrínseca aos seres humanos desde os seus primórdios. Homens e mulheres estão sempre buscando meios que aprimorem suas qualidades físicas. Neste cenário, os cosméticos possuem lugar de destaque nas diversas formas de expressão de sentimentos, utilizando-se do tato, visão e principalmente o olfato, no avivamento destas emoções.

A literatura demonstra que diversos produtos naturais, ao longo da história, já serviram de matéria prima para a elaboração de diversos cosméticos. Na antiguidade, os povos egípcios, árabes, gregos, romanos, já utilizavam óleos de banho e aromas com intuito de explorar e expressar os padrões de beleza da época. Está em nossa cultura, encontrar meios que realcem, retardem ou disfarcem defeitos e qualidades físicas. A busca pelo novo, pela longevidade, por sensações de prazer e bem estar e, dentro desse contexto, encontramos os óleos essenciais (OE).

Diversas são as utilidades dos óleos essenciais, destacando-se o uso na medicina, SPAs, produtos cosméticos e de higiene pessoal, produtos de limpeza e aromatizador de ambientes (LALKO; API, 2006). A formação de cápsulas contendo esses óleos é de grande interesse na otimização desses produtos, sendo altamente aplicados em diferentes áreas, como sabão em pó, amaciantes, produtos têxteis, perfumes, desodorantes, produtos capilares e até alimentícios. Agentes ativos como aromas, óleos essenciais ou perfumes que são utilizados nesses produtos, geralmente reduzem ou perdem sua atividade quando armazenados ou mesmo imediatamente durante o uso, necessitando de um controle maior relacionado com a liberação e degradação destes agentes (TEKIN et al., 2013).

Muitas dessas fragrâncias são instáveis devido aos grupos aldeído, cetona e terpeno, que podem reagir com outros compostos, e a degradação desses produtos pode alterar as características sensoriais, além de produzir produtos alérgicos (KARLBERG et al., 1992; MATURA et al., 2006). Por isso, o controle da volatilização e degradação desses compostos é muito importante para prolongar as características sensoriais desses produtos.

A encapsulação em nano ou microcápsulas é um método que diminui a liberação dos compostos voláteis, aumentando a retenção desses ativos com perfil

de liberação melhor controlado a fim de aumentar a vida útil dos produtos (SANSUKCHAREARNPON et al., 2010, TEKIN et al., 2013).

A estratégia de encapsulação pode ainda proporcionar um aumento da biodisponibilidade, preservando ou aumentando a atividade biológica de OE (MARTINS et al., 2014; ASBAHANI et al., 2015). Muito além do marketing, da inovação de produtos, a encapsulação surge como benefício à estabilidade dos ativos cosméticos, proteção contra agentes externos, manutenção das características sensoriais e liberação controlada dos ativos encapsulados (SANSUKCHAREARNPON et al., 2010).

Diferentes técnicas são utilizadas para encapsulação desses ativos, sendo a polimerização interfacial e coacervação complexa as mais utilizadas (SANSUKCHAREARNPON et al., 2010).

As demais tecnologias existentes incluem a preparação por dupla emulsão (ZHANG et al., 2006; KHOEE; YAGHOUBIAN, 2009), inclusão dentro de carreadores, como as ciclodextrinas (COSTA et al., 2015), nanopartículas lipídicas sólidas (MÜLLER; MÄDER; GOHLA, 2000), lipossomas (ASBAHANI et al., 2015), coacervação com carboidratos (CHANG; DOBASHI, 2003; SOSA; SCHEBOR; PÉREZ, 2014;), polímeros (MARTINS et al., 2014; HOSSEINKHANI et al., 2015), e polimerização *in situ* (WANG et al., 2008).

Entretanto, existem grandes desafios e peculiaridades para encapsulação dessas fragrâncias como micro/nanocarreadores biocompatíveis que podem encapsular moléculas de fragrâncias efetivamente, sem o uso de agentes reticulantes e ainda resultarem em ativos encapsulados estáveis, com propriedades adequadas de liberação (SANSUKCHAREARNPON et al., 2010). Deste modo, as propriedades de liberação de ativos encapsulados são essenciais para seleção da melhor metodologia de encapsulação.

Neste contexto, a encapsulação é utilizada como estratégia para aumentar a proteção de ativos contra fatores externos, com inúmeras vantagens. Portanto, a justificativa desse trabalho é desenvolver um carreador estável, com alta eficiência de encapsulação e perfil de liberação controlado de óleo essencial, que pode ser aplicado como componente em fragrâncias e cosméticos.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Geral

Desenvolver metodologia de encapsulação para liberação controlada de fragrâncias.

1.2.2 Específicos

- Analisar as características físico-químicas do óleo essencial de laranja;
- Desenvolver uma micropartícula efetiva para uso cosmético;
- Encapsular o óleo de laranja nessa micropartícula;
- Caracterizar as micropartículas;
- Determinar a eficiência de encapsulação das micropartículas;
- Determinar o perfil de liberação das micropartículas;
- Analisar as micropartículas inseridas em formulação semi-sólida (gel);
- Avaliar a estabilidade das formulações desenvolvidas;
- Realizar estudo com consumidor das formulações desenvolvidas;
- Realizar análise sensorial com painel treinado para as formulações desenvolvidas;

2 REVISÃO DE LITERATURA

Derivada da palavra *kosmos*, a qual significa harmonia, a palavra grega *kosmetikós* deu origem ao termo cosmético na língua portuguesa, que por sua vez denota o sentido de “ser capaz de adornar” (OUMEISH, 2001). Com significados amplos que variam desde organizar e enfeitar, até corrigir defeitos, especialmente na face, os produtos que hoje chamamos de cosméticos vem sendo utilizados por séculos a fim de promover, acima de tudo, beleza e bem-estar a todos que deles fazem uso (OUMEISH, 2001; ABURJAI; NATSHEH, 2003; BURT, 2004; BAKKALI et al., 2008; CARVALHO; ESTEVINHO; SANTOS, 2015).

Desde o surgimento da humanidade, os seres humanos buscam formas e produtos para promover, aumentar e destacar sua beleza, direcionados tanto para as mulheres quanto para os homens. Mais que um atributo de beleza, os cosméticos são uma forma de expressão de sentimentos e emoções, atingindo a visão, o tato e o olfato, trazendo para quem o usa, felicidade, poder, sucesso e autoestima (OUMEISH, 2001; BURT, 2004; BAKKALI et al., 2008)

Produtos naturais como pedras, sais marinhos, óleos de plantas aromáticas, mel, leite, ceras, gorduras, frutas, extratos de plantas, extratos animais, tudo praticamente já serviu de matéria-prima para a beleza e sempre fizeram parte da história dos cosméticos (OUMEISH, 2001).

Pigmentos, óleos para banho e aromas sempre acompanharam a história da humanidade desde a antiguidade, passando pelos povos egípcios, árabes, romanos, gregos, chegando à idade média, renascimento e períodos modernos. Utilizados com o intuito de explorar e expressar os padrões de beleza de cada época e cada cultura, o ser humano procura tornar-se mais atraente no âmbito social, compensando defeitos físicos, mascarando envelhecimento ou destacando qualidades físicas (OUMEISH, 2001; ABURJAI; NATSHEH, 2003; CARVALHO; ESTEVINHO; SANTOS, 2015).

Conforme Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e o Regulamento de Cosméticos da União Européia, cosmético pode ser definido como qualquer produto ou substância que seja utilizado na epiderme, cabelos, unhas, lábios e mucosa oral com a finalidade de limpar, perfumar, aprimorar a aparência ou corrigir odores corporais (CARVALHO; ESTEVINHO; SANTOS, 2015).

Os cosméticos podem ser agrupados em sete categorias diferentes: cuidados e manutenção da pele, limpeza, odorizante, depilante e cuidados e manutenção do cabelo, cuidados e manutenção de membranas mucosas e cosméticos decorativos (CARVALHO; ESTEVINHO; SANTOS, 2015).

2.1 A INDÚSTRIA COSMÉTICA

A procura por ativos e matérias-primas para produtos de origem natural é cada vez maior, ganhando destaque econômico nas últimas décadas, destacando-se principalmente os óleos, ceras, corantes, gomas e biopolímeros, utilizados na fabricação de produtos para consumo humano, cosméticos, alimentos, medicamentos fitoterápicos e alopáticos, entre outros (LUBBE; VERPOORTE, 2011; VERMAAK et al., 2011).

Com o aumento da demanda por produtos cosméticos orgânicos, a indústria tem investido bastante em pesquisas e acompanhado esse crescimento para aproveitar ao máximo as vantagens do desenvolvimento de produtos para cuidado pessoal e para a saúde (LUBBE; VERPOORTE, 2011).

A descoberta de propriedades biológicas dos recursos naturais e seus derivados, permitem agregar benefícios para a saúde, beleza e bem-estar além de maior segurança e valor agregado aos produtos desenvolvidos (NAKATSU et al., 2000; RAUT; KARUPPAYIL, 2014).

No cenário mundial, conforme pesquisa do grupo Kline, empresa de pesquisa de mercado com foco em indústrias, as vendas em cosméticos naturais em 2013 arrecadaram mais de 20 bilhões de euros, refletindo um crescimento aproximado de 10,6% no ano. O mercado alemão foi responsável em 2011 pela arrecadação de 2,5 bilhões de euros. Alemanha, França e Itália tem sido líderes tanto em vendas, quanto em produção neste setor de mercado. Mercados emergentes como o Brasil, Rússia, Índia e China estão sendo cada vez mais promissores nesse setor de cosméticos orgânicos e ingredientes naturais (*BI, Trade Statistics*, 2015).

O Brasil, no mercado de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos (HPPC), representa o terceiro maior mercado do mundo, perdendo apenas para Estados Unidos e China. Em 2014, apresentou um crescimento nominal de 11%, cerca de 9,4% do consumo mundial de HPPC (ABIHPEC, 2015).

Empresas brasileiras do setor são responsáveis por mais de 1,8% do PIB nacional, com um faturamento em torno de R\$101,7 bilhões. Somente o segmento de perfumaria já é capaz de movimentar mais de R\$17 bilhões, enquanto o setor de desodorantes fica em segundo lugar, faturando cerca de R\$11,5 bilhões. De forma semelhante, nas categorias de produtos para os cabelos, masculinos e infantis, o Brasil ocupa a 2ª posição do ranking de consumo mundial (ABIHPEC, 2015).

Conhecimento científico associado às inovações tecnológicas são a chave para novos produtos diferenciados, inovadores e com potencial de atender as expectativas dos consumidores que, cada vez mais, estão à procura de produtos mais eficazes, seguros e preferencialmente de origem natural. Assim, novos produtos estão sendo desenvolvidos e disponibilizados, associando componentes naturais e tecnologias mais recentes (BENITA; MARTINI; SEILLER, 1996; MANDAWGADE; PATRAVALE, 2008; MARTINS et al., 2014).

A demanda por produtos diferenciados e inovadores contendo fragrâncias é crescente e com grande possibilidade de expansão. Aromas e fragrâncias são componentes essenciais de hidratantes, sabonetes, produtos capilares, perfumes, desodorantes e também de produtos domésticos como detergentes, amaciantes, odorizantes de ambiente e alimentos (RAUT; KARUPPAYIL, 2014).

O desenvolvimento de novos processos ou otimização de outros já existentes, como a encapsulação de ativos, é uma nova contribuição para inovação e estabilidade de produtos, aprimorando o uso em função das necessidades e desejos destes consumidores (MARTINS et al, 2014)

Neste contexto, para alcançar o sucesso num mercado competitivo e exigente, a busca por produtos diferenciados é sempre um desafio e o uso de tecnologias emergentes, como a encapsulação, surge como uma alternativa para atender a todas estas finalidades, trazendo inúmeros benefícios para o consumidor final (MUYIMA et al., 2002; PATRAVALE; MANDAWGADE, 2008).

2.2 ÓLEOS ESSENCIAIS

2.2.1 Aspectos gerais

Os óleos essenciais (OE) vêm sendo amplamente empregados em todo o mundo, com maior crescimento nas indústrias cosméticas e de fragrâncias, por

apresentarem inúmeras propriedades aromáticas e biológicas (MARTINS et al., 2014; DO et al., 2015).

Dentre os mais populares, destacam-se os OE extraídos de frutas do gênero *Citrus*, como *Citrus bergamia*, tangerina; *Citrus aurantium*, bergamota; *Citrus lemon* L., limão; responsáveis pelo maior percentual comercial de fragrâncias e flavorizantes (BURT, 2004; CALO et al., 2015; DO et al., 2015; PAVELA, 2015).

Os OE são substâncias odorizantes obtidos de fonte vegetal, apresentando composição complexa em compostos voláteis, lipofílicos e aromáticos, biosintetizados por algumas plantas. São considerados metabólitos secundários produzidos no citoplasma e plastídeo de diversos vegetais, participando de interação entre as plantas e destas com os animais (atraindo agentes polinizadores e repelindo pragas), além de defesa contra microorganismos patógenos (ASBAHANI et al., 2015; CALO et al., 2015; CARVALHO; ESTEVINHO; SANTOS, 2015).

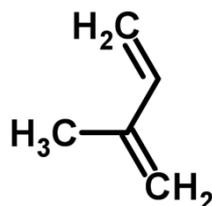
Os OE são obtidos principalmente de plantas aromáticas, pertencente às famílias Asteraceae, Myrtaceae, Lauraceae, Lamiaceae, Rutaceae e Zingiberaceae (CARVALHO; ESTEVINHO; SANTOS, 2015), extraídos das folhas, raízes, flores, frutos e sementes (SHAABAN; EL-GHORAB; SHIBAMOTO, 2012; CALO et al., 2015; CARVALHO; ESTEVINHO; SANTOS, 2015). A composição química dos OE pode variar conforme o clima, qualidade do solo, ciclo vegetativo da planta, entre outros (SHAABAN; EL-GHORAB; SHIBAMOTO, 2012).

A maioria dos OE são constituídos quimicamente por terpenos (monoterpenos, sesquiterpenos e diterpenos) e terpenóides, além de compostos aromáticos e alifáticos de baixo peso molecular. No geral, um ou dois componentes estão sempre presentes em alta concentração (20-95%) e muitos outros componentes, em concentrações menores (BAKKALI et al., 2008; SHAABAN; EL-GHORAB; SHIBAMOTO, 2012; ASBAHANI et al., 2015; CALO et al., 2015; CARVALHO; ESTEVINHO; SANTOS, 2015). Citando como exemplo, o composto 1,8-cineol representando cerca de 50% da composição do OE de *Cinnamomum camphora* (cânfora), enquanto o linalol representa 68% da composição de *Coriandrum sativum* (coentro) (BAKKALI et al., 2008).

Os terpenos são hidrocarbonetos formados por várias unidades de isopreno (FIGURA 1), sendo que o maior percentual dos componentes presentes nos OE são monoterpenos, originados da junção de duas unidades de isopreno. Esses compostos podem apresentar-se como função álcool, aldeído, cetonas, éster, éter,

fenol, entre outros. Estruturas aromáticas abrangem os derivados de fenilpropano, como cinamaldeído, eugenol, metil-eugenol e miristina. Já os terpenóides, são terpenos que sofreram alguma modificação enzimática, como adição de um oxigênio (BURT, 2004; PAVELA, 2015).

FIGURA 1- ESTRUTURA DO ISOPRENO



FONTE: Adaptado de CHEMSPIDER, 2015.

De natureza hidrofóbica, com densidade menor que a água, os OE podem ser considerados lipofílicos, com baixa solubilidade em água e solúveis em solventes orgânicos (SHAABAN; EL-GHORAB; SHIBAMOTO, 2012; CALO et al, 2015). Entre as técnicas de obtenção estão a maceração; prensagem à frio; extração com fluido supercrítico (CO₂), a qual vem sendo apontada como bastante promissora nos dias atuais e a hidrodestilação, como a mais antiga descrita (BURT, 2004; CARVALHO; ESTEVINHO; SANTOS, 2015).

A hidrodestilação baseia-se no método de destilação azeotrópica, onde a mistura heterogênea água e OE extraído da planta é destilada simultaneamente, seguida da separação óleo / água por técnicas específicas (ASBAHANI et al., 2015; CARVALHO; ESTEVINHO; SANTOS, 2015).

Diferentes técnicas para caracterização dos OE estão disponíveis atualmente, capazes de avaliar as propriedades desses produtos naturais. A avaliação das propriedades físicas incluem densidade, índice de refração, polarimetria e análise olfativa. Já as análises químicas podem incluir principalmente cromatografia gasosa (CG) e espectroscopia de massas, as quais fornecem informações precisas sobre quantificação e composição química dos óleos (DO et al., 2015).

Desde a antiguidade as plantas aromáticas são utilizadas pelos povos orientais, tanto na medicina chinesa e indiana quanto na área alimentícia, como conservantes e flavorizantes (ALI et al., 2015). Embora seu emprego seja antigo, o

termo para defini-los como tal surgiu pela primeira vez em documentos escritos no século XVI, como componentes ativos presentes nas plantas (BAKKALI et al., 2008; PAVELA, 2015).

No antigo Egito (1600 a.C.), os OE de plantas aromáticas eram empregados nos rituais de embalsamento dos mortos, para o tratamento e prevenção de doenças e para massagens relaxantes (PAVELA, 2015). Na Grécia e Roma antiga, seu uso ampliou-se, passando a ser empregados óleos de lavanda, jasmim e ylang-ylang para infusão em banhos, como aromatizantes e, para promoção do relaxamento mental, fundamentos da aromaterapia atual (OUMEISH et al., 2001; SHAABAN; EL-GHORAB; SHIBAMOTO, 2012; CALO et al., 2015; CARVALHO; ESTEVINHO; SANTOS, 2015).

A hidrodestilação foi descrita somente na Idade Média, no século XI, na Espanha (BURT, 2014; ASBAHANI et al., 2015; CALO et al., 2015; PAVELA, 2015), período que deu início a difusão do uso dos OE pela Europa. Documentos descrevem que, nesse período, já eram comercializados nos boticários cerca de 15 a 20 OE, incluindo as espécies lavanda, canela, alecrim, cravo, noz-moscada e anis (BURT, 2004).

Hoje, já são descritos mais de 3000 OE, sendo cerca de 300 comercializados (SHAABAN; EL-GHORAB; SHIBAMOTO, 2012). Sua importância industrial vai além do aroma marcante e agradável que leva a sua aplicação na indústria de fragrâncias. Os OE também podem conferir sabor e preservar alimentos, devido a sua atividade biológica contra fungos e bactérias. Os OE já foram descritos com atividade antimicrobiana, antioxidante, antifúngica, antiinflamatória, antiparasitária entre outras (DEANS; RITCHIE, 1987; BURT, 2004; SILVA; FIGUEIREDO; YANO, 2007; SOLÓRZANO-SANTOS e MIRANDA-NOVALES, 2012; CALO et al., 2015).

Grande parcela de vendas de OE na União Européia, são para finalidade flavorizante na indústria alimentícia, fragrâncias para perfumes e loções na indústria cosmética, medicamentos na indústria farmacêutica, sendo ainda bastante utilizados em aromaterapia. Como conservantes para indústria alimentícia, alguns *blends* já são comercializados na Espanha e EUA, sendo reconhecidos como seguros pelo Food and Drug Administration (FDA). A empresa DOMCA S.A. comercializa o DMC Base Natural, composto por OE de rosemary, citrus e sálvia com apelo antioxidante e conservante para preservação de verduras (BURT, 2014). Outros usos incluem

repelentes, larvicidas, (ABREU et al., 2012; CHUNG et al., 2013; PAVELA, 2015) e conservante em embalagens alimentícias (CHANG et al., 2013; BURT, 2014).

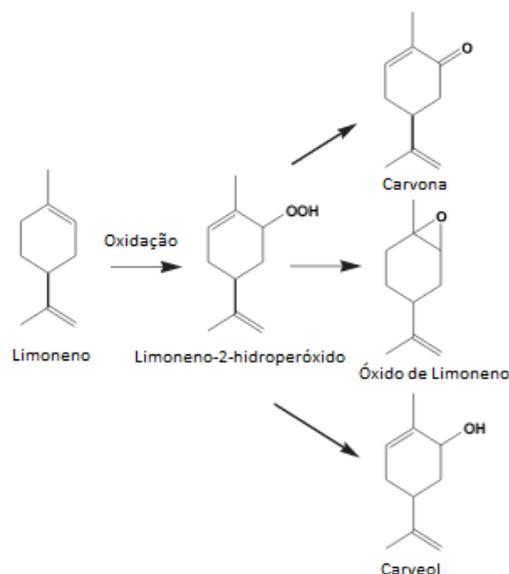
Olmedo e colaboradores (2015) descreveram os óleos essenciais de orégano, louro e alecrim como antioxidantes sequestradores de radicais livres, destacando seu uso potencial em produtos alimentícios. Os OE de espécies de patchouli foram identificados como potentes antibacterianos, contra a formação de biofilme pela bactéria *Streptococcus pyogenes* (NITHYANANDA et al., 2015). Freires e colaboradores (2014) descreveram o potencial uso antifúngico do OE extraído de folhas de coentro (*Coriandrum sativum* L.) (coriander) com atividade contra espécies de *Candida* spp, e identificaram sua habilidade em se ligar ao ergosterol na membrana fúngica, aumentando sua permeabilidade a íons e levando ao dano celular no fungo. Em um estudo comparativo, Astani, Reichling e Schnitzle (2010) demonstraram a capacidade dos componentes majoritários do OE de eucalipto, chá verde e tomilho (α -terpineno, γ -terpineno, α -pineno, p-cimeno, terpinen-4-ol, α -terpineol, timol, citral and 1,8-cineol) em inibir a atividade *in vitro* do vírus *Herpes simplex* tipo 1 (HSV-1). Também os OE de espécies de eucalipto já foram descritos como potentes antimicrobianos, apresentando maior eficácia do que seus extratos metanólicos, exibindo atividade principalmente contra bactérias gram positivas (SAFAEI-GHOMI; AHD, 2010). Em estudos *in vitro* realizados por Silva e colaboradores (2007) comprovaram a eficácia antitumoral do OE de *Zanthoxylum rhoifolium* em um modelo experimental de tumor ascítico, além de ação imunomoduladora de células *Natural Killer* (NK).

Nas últimas décadas, o emprego dos OE nos diversos ramos industriais, vem ganhando uma nova e ampla abordagem. Técnicas atuais de encapsulação de ativos vêm ampliando o uso destes produtos naturais na indústria e no mercado mundial. Por serem compostos voláteis e instáveis, os OE degradam-se rapidamente por oxidação ou volatilização pela ação do calor e da luz (WORANUCH; YOKSAN, 2013).

O uso dos OE ainda é limitado pela instabilidade de seus componentes. Terpenos, acetonas e aldeídos, por exemplo, são facilmente oxidados e degradados pela ação da luz, calor, umidade e oxigênio, levando a uma redução potencial em suas atividades biológicas e biodisponibilidade (ASBAHANI et al., 2015; COSTA et al., 2015; SEBAALY et al., 2015).

Vale ressaltar que a degradação dos OE presentes nas fragrâncias pode levar, não só a perda das características sensoriais, mas também à formação de produtos alergênicos. Vários estudos comprovaram que os produtos da oxidação do limoneno (FIGURA 2) e linalool são em sua maioria hidroperóxidos, potenciais causadores de dermatite de contato (KARLBERG et al., 1992; MATURA et al., 2006).

FIGURA 2- PRODUTOS PRIMÁRIOS DA AUTOOXIDAÇÃO DO LIMONENO



FONTE: Adaptado de SKOLD et al., 2004.

2.2.2 Na indústria cosmética

A importância dos OE para a promoção da beleza e do bem-estar vem aumentando a cada ano, muitas vezes estimulada por sua origem natural, busca de cosméticos orgânicos, em detrimento de possíveis riscos associados ao uso de produtos sintéticos, como os parabenos, por exemplo (CARVALHO; ESTEVINHO; SANTOS, 2015).

Dados de mercado do Centro para Promoção de Importações da União Europeia (CBI) mostram que em 2013, as importações europeias de OE superaram a marca de um bilhão de euros (ou 90 mil toneladas de OE), sendo o Brasil o principal fornecedor, responsável por cerca de 20% do mercado de exportação. Outros fornecedores de OE incluem Argentina, Índia, China, México, USA e Holanda (CBI, Trade Market, 2015).

Na indústria cosmética, a principal aplicação dos OE ainda é bastante centrada no ramo das fragrâncias e perfumaria. Extratos de flores, como rosa, gardênia, jasmim, narciso, tuberoze, lavanda e alfazema, são os mais utilizados (ABURJAI; NATSHEH, 2003). Outros OE são muito empregados na perfumaria como baunilha (*Vanilla sp.*), patchouli (*Pogostemon cablin*), citronela (*Cymbopogon winterianus*), sândalo (*Santalum album*), bergamota (*Citrus aurantium*), alecrim (*Rosmarinus officinalis*) e menta (*Mentha piperita*) (CARVALHO; ESTEVINHO; SANTOS, 2015).

Além do uso na perfumaria, os OE podem conferir efeitos condicionantes e brilho aos produtos cosméticos aplicados ao cabelo, sendo o aroma, um efeito adicional proporcionado pelos seus componentes. Óleos vegetais extraídos do alecrim e camomila possuem, além da função condicionante, a promoção do crescimento capilar (ABURJAI; NATSHEH, 2003).

Também o OE de camomila, tem uso difundido em produtos para pele, devido a sua propriedade antiinflamatória, antieritema e antipruriginosa, sendo amplamente utilizado para pele seca e como agente clareador de manchas (ABURJAI; NATSHEH, 2003).

Entre os óleos, de forma geral, utilizados em produtos para pele, os extraídos do gênero *Lavandula* (lavanda), como *Lavandula angustifolia*, *L. latifolia*, *L. Stoechasand* e *L. intermedia*, têm sido usados em perfumes, sabonetes e loções, uma vez que possuem propriedades antialergênicas bem elucidadas (KIM; CHO, 1999; ABURJAI; NATSHEH, 2003). Outro OE de importante aplicação cosmética é o de gerânio (*Pelargonium graveolens*) que, além de ter seu uso focado em perfumes, devido a seu odor marcante de rosa, é muito utilizado em loções para pele oleosa e com acne (ABURJAI; NATSHEH, 2003).

Os OE também são muito utilizados na indústria cosmética como conservantes nas formulações, devido as suas propriedades antimicrobianas de amplo espectro. Neste contexto, podemos citar os óleos de *Artemisia afra*, *Pteronia incana*, *Melaleuca alternifolia* Cheel, *Rosmarinus officinalis*, *Thymus vulgaris* e *Origanum onites*. Da mesma forma, esses produtos naturais também podem ser empregados com a finalidade de inibir a oxidação, prevenindo a formação de radicais livres, por apresentarem atividade antioxidante já bem caracterizada (ABURJAI; NATSHEH, 2003; BAKKALI et al., 2008).

Os OE utilizados nas formulações cosméticas, como o extraído de *Pelargonium graveolens* L'Her, podem ser utilizados a fim de aumentar a estabilidade e o tempo de prateleira, em substituição aos antioxidantes sintéticos mais utilizados, como hidroxitolueno butilado (BHT) e hidroxianisol butilado (BHA), já descritos como potencialmente tóxicos (BOUKHRIS et al., 2015).

Muitos são os empregos dos OE em cosméticos, uma vez que estes apresentam inúmeras propriedades biológicas que os tornam cada vez mais atrativos à indústria cosmética (ABURJAI; NATSHEH, 2003; CARVALHO; ESTEVINHO; SANTOS, 2015). Um resumo dos principais OE utilizados na indústria cosmética está demonstrado na Tabela 1.

TABELA 1- PRINCIPAIS ÓLEOS ESSENCIAIS UTILIZADOS EM PRODUTOS COSMÉTICOS.

PRODUTO COSMÉTICO	ORIGEM DO ÓLEO ESSENCIAL
Hidratante	Camomila (<i>Matricaria recutita</i>)
Antiidade	Baunilha (<i>Vanilla mexicana</i>), Sândalo (<i>Santalum álbum</i>), Camomila (<i>Matricaria recutita</i>)
Anti-acne	Alecrim (<i>Rosmarinus officinalis</i>)
Protetor solar	Lavanda (<i>Lavandula stoechas</i>), Orégano (<i>Origanum majorana</i>)
Pós-sol	Mentol (<i>Mentha arvensis</i>), Camomila (<i>Matricaria recutita</i>), Patchouli (<i>Pogostemon cablin</i>)
Shampoo	Alecrim (<i>Rosmarinus officinalis</i>)
Sabonete	Laranja (<i>Citrus sinensis</i> L.), Lavanda (<i>Lavendula angustifolia</i> , L. <i>latifolia</i> , L. <i>stoechas</i>)
Detifricio e creme dental	Sálvia (<i>Salvia officinalis</i>), Eucalipto (<i>Eucalyptus grandis</i>), Hortelã-pimenta (<i>Mentha piperita</i>)
Perfume, desodorante, antiperspirante	Limão (<i>Citrus limonum</i> L.), Laranja (<i>Citrus sinensis</i> L.)
Condicionante Capilar	Camomila (<i>Matricaria recutita</i>), Lavanda (<i>Lavendula angustifolia</i> , L. <i>latifolia</i> , L. <i>stoechas</i>)
Estimulante crescimento capilar	Sálvia (<i>Salvia officinalis</i>)
Enxagatório bucal	Eucalipto (<i>Eucalyptus grandis</i>), Mentol (<i>Mentha arvensis</i>)

FONTE: Adaptado de CARVALHO; ESTEVINHO; SANTOS, 2015.

2.2.3 Óleo essencial de laranja

O Brasil, na década de 80, tornou-se o maior produtor mundial de laranja. A laranja e seus subprodutos, como o óleo, a pectina e as cascas secas, possuem um

grande mercado nas indústrias de alimentos e de bebidas (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009; BRASILIAN FRUIT, 2009).

Dentre os derivados da laranja de interesse comercial e científico, encontram-se o farelo de polpa cítrica, suco, células congeladas, óleos essenciais, D-limoneno e líquidos aromáticos, em ordem decrescente de rendimento (FIGURA 3), utilizados em aromas e fragrâncias, produtos químicos, solventes, indústrias de tintas, cosméticos, medicamentos e alimentos (SANTOS et al., 2003; ABECITRUS, 2009).

FIGURA 3- SUBPRODUTOS DA LARANJA E SEUS RENDIMENTOS



FONTE: Adaptado de CARMONA, 2011.

O conhecido óleo essencial de laranja é obtido do pericarpo do fruto *Citrus sinensis* L. Osbeck (laranja pêra), família Rutaceae (BARROS et al., 1986). Deve-se ressaltar que a composição quantitativa dos óleos essenciais cítricos varia de acordo com a época, local de coleta, forma de cultivo, condições climáticas, idade da planta, período e condições de armazenamento (SANTOS et al., 2003).

O processo de prensagem a frio é o mais utilizado para extração do óleo essencial. As cascas das laranjas são prensadas, seguidas de centrifugação para obtenção de óleo, apresentando-se límpido, de cor amarelo-escuro, com um aroma forte característico, amargo, baixa solubilidade em água e alta tendência à auto oxidação (SANTOS et al., 2003; BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009).

O óleo essencial, para elaboração de aromas, é o mais estudado, tendo sido identificados até o momento, cerca de 220 componentes em sua composição. Por cromatografia gasosa e espectroscopia de massa, Sanchez e colaboradores (1994)

obtiveram a análise qualitativa e quantitativa de cerca de 24 componentes (TABELA 2) do óleo essencial de laranja pêra extraída por compressão a frio.

TABELA 2- COMPONENTES ENCONTRADOS NO ÓLEO DE LARANJA PÊRA.

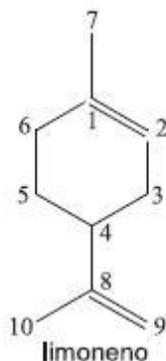
COMPONENTES	CONCENTRAÇÃO (%)
D- limoneno	91,4
Mirceno/ Octanal	4,3
α -pineno	1,4
Linalol	0,8
Sabineno	0,4
Decanal	0,4
β -felandreno	0,2
Geranial	0,2
γ -terpineno	>0,1
l-octanal	>0,1
Nonanal	>0,1
Terpinen-4-ol	>0,1
Acetato de Etilo	>0,1
Geraniol	>0,1
Tetradecanal	>0,1
β -cariofileno	>0,1
α -sinensal	>0,1
Citronelal	0,1
α -terpineol	0,1
Neral/carvona	0,1
Dodecanal	0,1
Valenceno	0,1
β -sinsensal	0,1

FONTE: Adaptado de SANCHEZ et al., 1994.

Esse óleo é constituído por uma mistura complexa de compostos químicos diferentes divididos em frações voláteis e não voláteis. As voláteis são compostas fundamentalmente por misturas de hidrocarbonetos dos grupos monoterpenos, sesquiterpenos e compostos oxigenados como aldeídos, cetonas, alcoóis, ácidos, ésteres e cetonas. As não-voláteis são constituídas principalmente por carotenoides, flavonoides e cumarinas (SANCHEZ et al., 1994; SANTOS et al., 2003).

O D-limoneno (FIGURA 4) é um hidrocarboneto majoritário do óleo de laranja e pertence à classe dos monoterpenos monocíclicos. Possui isomeria óptica, apresentando-se como (D)-limoneno e (L)-limoneno (PAKDELA PANTEA, ROY, 2001).

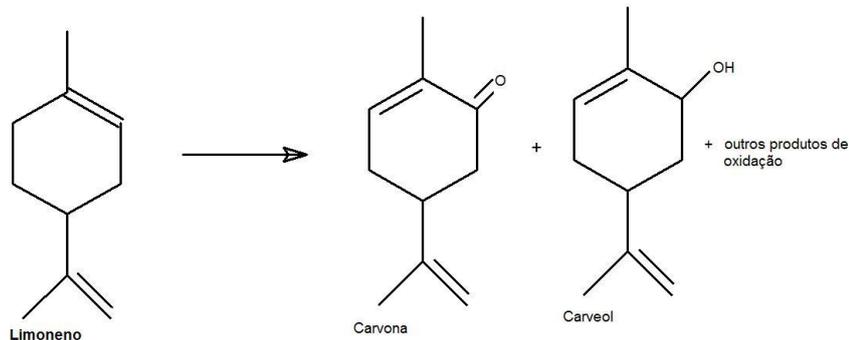
FIGURA 4- FÓRMULA ESTRUTURAL DO LIMONENO.



FONTE: Adaptado de FERRARINI, et al., 2008.

O D-limoneno é usado como componente aromático e flavorizante, para obtenção de sabores artificiais como menta e hortelã para fabricação de doces, balas e gomas de mascar (SANTOS et al., 2003). É um composto facilmente oxidado e sua decomposição (Figura 5) leva à formação de subprodutos terpênicos que inviabilizam o uso do óleo como aromatizante (FILHO, 1999).

FIGURA 5- PRODUTOS DA DECOMPOSIÇÃO DO D-LIMONENO



FONTE: Adaptado de FILHO, 1999.

O óleo oxidado é descrito normalmente com sabor mentolado ou lenhoso e pode ser determinado por análise sensorial e/ou instrumental (MELO, ULLER, PESSOA, 1997). Para prevenção de sua oxidação, recomenda-se a encapsulação desse óleo, a fim de protegê-lo e conservar suas características inerentes.

2.3 ENCAPSULAÇÃO

2.3.1 Aspectos gerais

A encapsulação é o processo em que, um ativo ou um *blend* de ativos são revestidos ou encapsulados dentro de um determinado sistema. Esse ativo pode ser sólido, líquido ou gasoso e o material de revestimento pode ser denominado transportador, encapsulante ou agente de encapsulação (LAM et al, 2010).

Para o uso das micropartículas na produção de medicamentos, alimentos e cosméticos, o material encapsulante deve ser preferencialmente biocompatível e biodegradável, sem gerar produtos tóxicos. Além disso, deve apresentar resistência o suficiente para manter suas funções de proteção e liberação de substâncias, sem que haja degradação da micropartícula no veículo em que se encontra, permanecendo viável até sua aplicação, devendo ser liberado quando e onde for necessário (CABRAL, 2004; SUAVE et al., 2006).

O encapsulante ideal deve apresentar baixa viscosidade em concentrações elevadas e ser de fácil manipulação durante o processo, ter baixa higroscopicidade para evitar aglomeração de partículas e facilitar manipulação e incorporação aos veículos, não reagir com o material encapsulado, ter capacidade de armazená-lo adequadamente dentro da estrutura, proporcionar máxima proteção ao produto ativo contra condições adversas (luz, pH, oxigênio, umidade), possuir propriedades desejadas de liberação, não possuir sabor desagradável para formulações de uso oral e ser econômico (SANTOS; FERREIRA; GROSSO, 2000; SUAVE et al., 2006).

Esses encapsulantes podem ser definidos como carreadores de moléculas ativas, resultando em micro ou nanopartículas, variando de acordo com o tamanho da partícula resultante. Os sistemas mais utilizados para esta finalidade são as partículas lipídicas, lipossomas, partículas poliméricas, divididas em micro/nanocápsulas ou micro/nanoesferas e as ciclodextrinas (MÜLLER, MÄDER et al., 2000; MARCATO, 2009).

Diferentes materiais de revestimento podem ser empregados, como por exemplo, lipídeos, polissacarídeos, proteínas, açúcares, ácidos orgânicos, derivados do ácido acrílico/metacrílico, derivados dos ácidos polilático/poliglicólico e óleo vegetal hidrogenado. A seleção do material encapsulante e do processo de encapsulação depende das propriedades do produto, como por exemplo,

propriedades físicas e químicas, solubilidade, aplicação pretendida, método a ser utilizado, tipo de liberação, biodisponibilidade, biodegradabilidade e tamanho de partícula (MÜLLER, MÄDER et al., 2000; SCHAFFAZICK et al., 2003; WISSING et al., 2004; MARCATO, 2009; GOLUBOVIC-LIAKOPOULOS et al., 2011).

Um grande número de metodologias de encapsulação tem sido desenvolvido com a finalidade de preservar propriedades e melhoria de características, como perfil de liberação destes ativos encapsulados (MÜLLER et al., 2000). Muito além do *marketing*, da inovação de produtos, a encapsulação surge como benefício à estabilidade dos ativos cosméticos, proteção contra agentes externos e liberação controlada dos ativos encapsulados (SANSUKCHAREARNPON et al., 2010).

2.3.2 Encapsulação de óleos essenciais

A grande maioria das moléculas presentes nas fragrâncias e óleos essenciais são instáveis devido à presença de alguns grupos químicos, como aldeído, cetona e terpenos. Essas substâncias são voláteis e reagem facilmente com outros compostos, sendo bastante sensíveis na presença de luz, oxigênio, alta temperatura, umidade, dentre outros fatores (TZHAYIK, CAVACO-PAULO, GEDANKEN, 2012). Desse modo, o óleo de laranja quando encapsulado, preserva suas características químicas e sensoriais.

A degradação desses compostos, além de causar alteração no sensorial dos produtos, em alguns casos, ainda resulta em produtos alérgicos ao consumidor (KARLBERG et al., 1992; MATURA et al., 2005, 2006). Desse modo, a encapsulação desses materiais voláteis e instáveis é uma técnica efetiva para proteção desses ativos contra o meio ambiente, rápida evaporação e contaminação. A técnica permite a liberação controlada do ativo, que pode ser liberado quando requerido, seja por pH, aquecimento, pressão, entre outros. (BHARGAVA et al., 2010), protegendo, estabilizando e controlando sua taxa de volatilização e degradação (SANSUKCHAREARNPON et al., 2010).

Diversos pesquisadores associaram esses produtos naturais, isolados ou em sua totalidade, a diversos agentes, como a quitosana (ASGARI, 2015; HROMIS et al., 2015; HU et al., 2015; SHEN e KAMDEM, 2015), proteínas (TZHAYIK; CAVACO-PAULO; GEDANKEN, 2012), derivados de amido (FERNANDES; BORGES;

BOTLER, 2014; OLIVEIRA; PAULA; PAULA, 2014; SILVA et al., 2014) e inclusão em ciclodextrinas (COSTA et al., 2015).

A micro ou nanoencapsulação tornou a encapsulação ainda mais promissora, uma vez que a incorporação de OE nesses sistemas agrega maior valor aos produtos, traz inúmeras vantagens como aumento da estabilidade, minimizando a degradação e rancificação de seus compostos. A encapsulação também mascara ou melhora sabores, aumenta a duração da percepção organoléptica, traz maior segurança e menor alergenicidade em produtos cosméticos, melhora a solubilidade em água, aumentando assim, sua aplicabilidade em produtos (SANSUKCHAREARNPON et al., 2010; WORANUCH; YOKSAN, 2013).

A estratégia de encapsulação pode ainda proporcionar um aumento da biodisponibilidade, preservando ou aumentando a atividade biológica de OE (MARTINS et al., 2014; ASBAHANI et al., 2015.). Neste contexto, Costa e colaboradores (2015) documentaram o aumento da atividade sequestradora do radical peróxido *in vitro* pelos OE de lavanda (*Lavandula stoechas*) e tomilho (*Thymus lotocephalus*), após a inclusão molecular em ciclodextrinas (β -ciclodextrina e a 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina). Garg e Singh (2011) incorporaram eugenol em nanopartículas lipídicas sólidas e observaram aumento na estabilidade e na atividade antifúngica *in vivo* contra *Candida albicans*. Também, o eugenol já foi incorporado em nanopartículas poliméricas com PLGA – poli (ácido láctico-co-ácido glicólico) apresentando eficiência de encapsulação em torno de 98% e propriedades antimicrobianas contra bactérias gram positivas e negativas (GOMES; MOREIRA; CASTELL-PEREZ, 2011).

No âmbito das fragrâncias, hoje se sabe que o controle da taxa de volatilização e degradação é uma etapa determinante na qualidade sensorial. Da mesma forma, a liberação controlada e sustentada dessas fragrâncias é limitante para selecionar a tecnologia de encapsulação mais apropriada (SANSUKCHAREARNPON et al., 2010).

Estudos vêm sendo realizados com o intuito de reverter essa limitação em particular dos compostos voláteis, protegendo-os da evaporação, de modo a prolongar sua liberação (SANSUKCHAREARNPON et al., 2010; ASBAHANI et al., 2015; CARVALHO; ESTEVINHO; SANTOS, 2015). Na Tabela 3, é apresentado um resumo de trabalhos com a finalidade de encapsular óleos essenciais.

TABELA 3- TRABALHOS PARA ENCAPSULAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS.

PARTÍCULA	TÉCNICA	ÓLEO ESSENCIAL	VANTAGEM
Lipossomas	RESS*	<i>Rosa centifolia</i>	Aumento das atividades antibacteriana, antioxidante, efeito antimutagênico
Lipossomas	Evaporação de fase reversa	<i>Artemisia afra</i> <i>Eucalyptus globulus</i> <i>Melaleuca alternifolia</i>	Aumento da atividade antibacteriana, liberação sustentada
Lipossomas	Hidratação de filme lipídico	<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	Terapia antifúngica para infecções dermatófitas, aumento da solubilidade em água dos fitocomponentes
Lipossomas	Hidratação de filme lipídico	<i>Origanum vulgare</i>	Melhora da solubilidade e estabilidade
Nanopartícula lipídica sólida	Técnica de precipitação e homogeneização a quente	<i>Zataria multiflora</i>	Liberação sustentada
Nanopartícula lipídica sólida	Homogeneização de alta pressão	<i>Commiphora myrrha</i>	Diminuição da perda por evaporação dos ativos, melhor eficácia antitumoral
Nanopartículas poliméricas	Coacervação	<i>Lippia sidoides</i>	Liberação sustentada, aumento da atividade larvicida
Micropartículas poliméricas	Coacervação/ complexação	<i>Pimenta dioica</i>	Aumento da atividade antimicrobiana
Micropartículas poliméricas	Spray drying	<i>Origanum vulgare</i>	Aumento da atividade antioxidante, antimicrobiana e da estabilidade
Micropartículas poliméricas	Coacervação simples	<i>Cymbopogon citratus</i>	Liberação sustentada

FONTE: Adaptado de ASBAHANI et al., 2015.

*Rapid Expansion of Supercritical Solutions.

Diferentes tipos de micro/nano partículas são produzidas utilizando polímeros biocompatíveis como material de revestimento ou matricial. A encapsulação utilizando essas matérias-primas pode além de prevenir a evaporação de fragrâncias, liberar as moléculas aromáticas de maneira sustentada em modelos cinéticos bem definidos (PEDRO et al., 2009, HOSSEINKHANI et al., 2015).

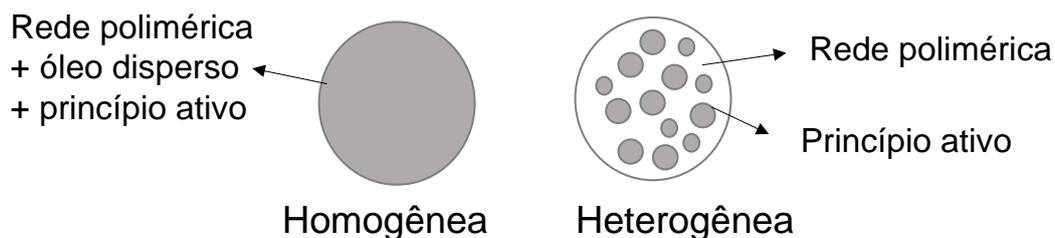
Tzhayik, Cavaco-Paulo e Gedanken (2012) demonstraram que a encapsulação da fragrância de acetato de amila (aroma de maçã-banana) em nanoesferas proteicas de soro de albumina bovina (BSA) foi eficaz em prolongar o perfil de liberação da fragrância, através de testes de perda de massa das esferas em temperatura ambiente. Sansukcharearnpon e colaboradores (2010) avaliaram o processo de encapsulação de seis fragrâncias, incluindo os OE de cânfora, citronela, e as substâncias eucaliptol, limoneno, mentol e acetato de 4-terc-butil ciclohexil em nanopartículas poliméricas preparadas com um *blend* de derivados da celulose (etilcelulose, hidroxipropilcelulose) adicionados ao álcool polivinílico. Os pesquisadores obtiveram nanopartículas com tamanho inferior a 450 nm e eficiência de encapsulação superior a 80%, sendo que as de eucaliptol e mentol foram as que apresentaram liberação mais prolongada. Fei e colaboradores (2015) utilizaram resina de melamina-formaldeído para sintetizar microcápsulas poliméricas de tamanho controlado, com a finalidade de encapsulação e liberação sustentada de OE. Em outro estudo, Hosseinkhani e colaboradores (2015) desenvolveram nanocarreadores (NC) poliméricos utilizando o biopolímero ácido poliláctico (PLA) para encapsular clorobenzeno, muito utilizado em perfumes e desodorantes. O sistema desenvolvido foi capaz de encapsular com eficiência um composto hidrofóbico, e ainda sustentar a liberação da fragrância, retardando seu efeito sem impactar na microbiota da pele. Camerlo e colaboradores (2013) demonstraram a aplicabilidade de encapsular limoneno em emulsões coloidais com matriz polimérica, prolongando sua liberação em diversas condições de armazenamento.

2.3.3 Materiais encapsulantes

2.3.3.1 Partículas poliméricas

O termo micro ou nanopartícula refere-se ao tamanho da partícula em questão. Partículas com diâmetro menor que 1µm são consideradas nanopartículas, e as maiores são denominadas micropartículas (SOPPIMATH et al, 2001). São consideradas esferas (FIGURA 6), quando a substância ativa encontra-se dispersa na matriz. As microesferas podem ser homogêneas ou heterogêneas conforme o princípio ativo se encontra no estado molecular (dissolvido) ou na forma de partículas (suspensão):

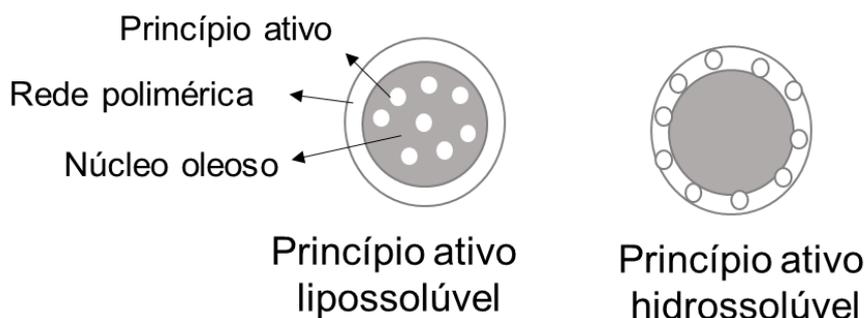
FIGURA 6- ESQUEMA DE NANO/MICROESFERAS



FONTE: Adaptado de SCHAFFAZICK et al., 2003; SILVA et al., 2003; NETO, 2009.

São consideradas cápsulas (FIGURA 7) quando constituídas por invólucro polimérico disposto ao redor de um núcleo oleoso, onde a substância ativa pode estar dissolvida nesse núcleo e/ou adsorvida à parede polimérica (COUVREER et al., 1996; SOPPIMATH et al, 2001), variando conforme a natureza e solubilidade do ativo encapsulado.

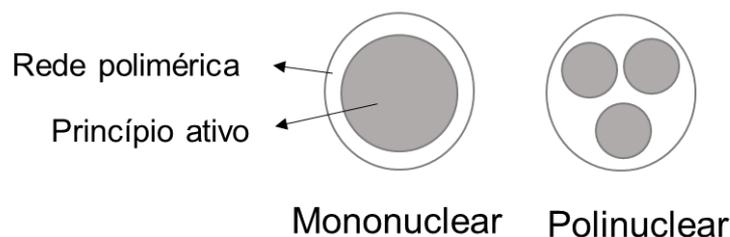
FIGURA 7- ESQUEMA DE NANO/ MICROCÁPSULAS



FONTE: Adaptado de SCHAFFAZICK et al., 2003; SILVA et al., 2003; NETO, 2009.

As nano/microcápsulas, podem ainda, conter um único núcleo ou vários núcleos, sendo classificadas como mononuclear ou polinuclear, respectivamente (FIGURA 8). De acordo com Silva e colaboradores (2003), essa disposição depende principalmente da natureza dos ingredientes utilizados e o método de fabricação

FIGURA 8- CLASSIFICAÇÃO DAS NANO/MICROCÁPSULAS DE ACORDO COM SEUS NÚCLEOS..



FONTE: Adaptado de SILVA et al., 2003.

Os polímeros merecem destaque pela sua versatilidade de uso. Podem ser desde insolúveis até solúveis pH-dependentes, permeáveis, semi-permeáveis ou impermeáveis e normalmente biodegradáveis. Devido a estas características é possível a utilização dos polímeros para as mais diversas formas de administração e liberação modificada de fármacos (LÓPEZ; FERNANDEZ, 2001). Eles podem ser classificados quanto à sua natureza (naturais, semi-sintéticos ou sintéticos) ou quanto às suas propriedades. Para escolha do polímero a ser utilizado para encapsulação, deve-se avaliar as propriedades físicas e químicas da substância a ser encapsulada, a finalidade de liberação e aplicação e o método de produção a ser utilizado (SEVERINO et al., 2011).

2.3.3.2 Alginatos

2.3.3.2.1 Formas de obtenção

Os alginatos, derivados do ácido algínico, são biopolímeros biodegradáveis e biocompatíveis. São encontrados na natureza sob forma de sais mistos de cálcio, sódio, magnésio e potássio (THU et al., 1996; SEGATO, 2007). São extraídos principalmente de algumas bactérias e de algas marinhas marrons, principalmente *Laminaria hyperborea*, *Ascophyllum nodosum* e *Macrocystis pyrifera* (GOMBOTZ; WEE, 1998).

2.3.3.2.2 Constituição química e física

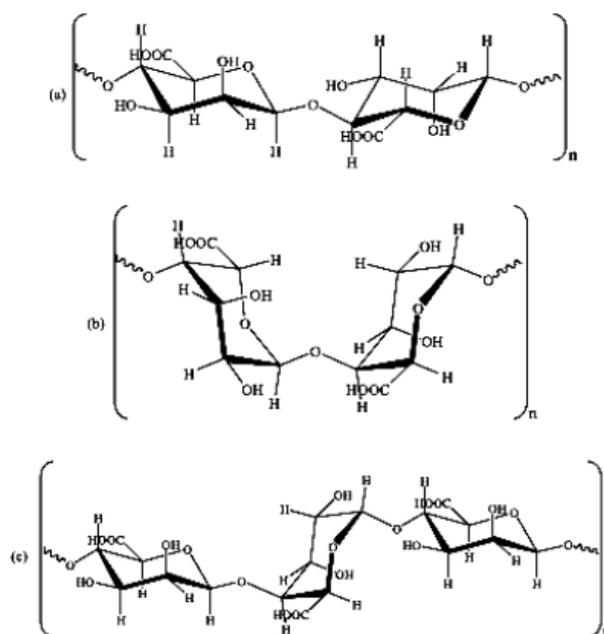
São polímeros lineares, constituídos por duas unidades monoméricas, o ácido β -D-manurônico (M) e o ácido α -L-gulurônico (G), unidos por ligações

glicosídicas entre os carbonos 1,4. Com fórmula geral representada por $(C_6H_8O)_n$, podem apresentar-se com sequência homopolimérica (MM e/ou GG) ou como sequências alternadas de MG (FIGURA 9), em proporções, ordens e massas moleculares diferentes, arranjados como blocos ao longo da cadeia (KING,1983; MOE et al., 1995; CHAN, LEE, HENG, 2000; SIMPSON et al., 2004; LEE et al.; REIS et al., 2006).

A composição do alginato, como a proporção e sequência dos blocos M e G que o constituem, é responsável pela flexibilidade da cadeia, influenciando diretamente a estabilidade e as propriedades físicas do gel, como a solubilidade (ERTESVAG E VALLA, 1998).

A viscosidade de uma solução de alginato é diretamente proporcional ao seu peso molecular. Com viscosidade de 200 a 400 mPa.s., o alginato de sódio é classificado como média viscosidade e possui grande aplicação comercial (TEIXEIRA, 2011).

FIGURA 9- COMPOSIÇÃO DOS ALGINATOS



(A): Resíduos de Ácido Manurônico. (B): Resíduos de Ácido Gulurônico. (C): Cadeia de Resíduos de Ácidos Manurônico e Gulurônico Alternados.

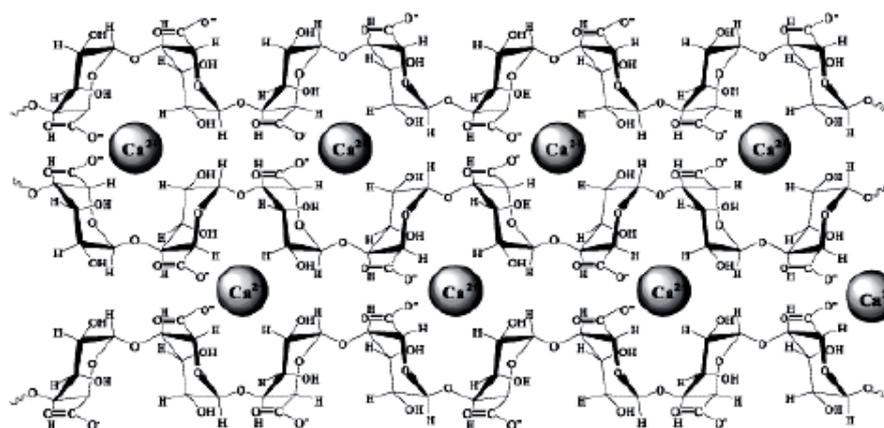
FONTA: KAWAGUTI; SAITO, 2008.

2.3.3.2.3 Usos do alginato de sódio

O alginato de sódio pode ser utilizado como agente estabilizante, suspensor, como desintegrante de cápsulas e como agente de aumento de viscosidade. Em formulações tópicas, é amplamente utilizado como espessante e agente suspensor em grande variedade de pastas, cremes e géis, e como estabilizante para emulsões óleo em água. Tem sido bastante utilizado para microencapsulação de ativos e formação de nanopartículas, pois além de não necessitar da utilização de solventes orgânicos, não necessita de condições rigorosas de temperatura e tem relativo baixo custo (BODMEIER; WANG; RAJAONARIVONY, 1993; FUNDUEANU et al., 1999; SCHOUBBEN et al., 2010).

Os alginatos tem a capacidade de formar hidrogéis pouco solúveis em presença de cátions divalentes, como Ca^{2+} e Ba^{2+} , devido à ligação cruzada destes íons com os grupos carboxílicos dos resíduos do ácido gulurônico. Esta ligação forma o modelo conhecido como “caixa de ovo” (FIGURA 10), uma rede tridimensional no qual os íons divalentes encontram-se nas cavidades eletronegativas do alginato (FUNDUEANU et al., 1999; SIMPSON et al., 2004; KAWAGUTI; SATO, 2008; DOHNAL, STEPANEK, 2010).

FIGURA 10- CADEIAS HOMOPOLIMÉRICAS ÍONS DE CALCIO ENTRE GRUPOS DE CARGA NEGATIVA



FONTE: KAWAGUTI; SAITO, 2008.

O cloreto de cálcio foi classificado como o agente gelificante mais efetivo (ALLEN et al., 1963). Esses íons estabelecem ligações entre as cadeias de alginato por interações iônicas, formando uma estrutura reticulada com grande capacidade

de reter água, formando um gel muito estável. A afinidade entre íons metálicos e o alginato varia de acordo com as propriedades dos íons, como raio iônico, efeitos estéricos, força iônica e eletronegatividade (TEIXEIRA, 2011).

O modelo “caixa de ovo” mostra a importância das unidades G na gelificação do alginato, onde alginatos ricos em GG formam géis mais rígidos e resistentes, além de manutenção da integridade por um período superior. Já os blocos M também formam ligações intermoleculares, embora menos efetivos que bloco G, portanto ligações MM ou MG resultam em géis elásticos. Portanto, a quantidade de resíduos G e o comprimento médio desses blocos são diretamente proporcionais ao potencial de formação e a força do gel. A espécie, seção e a idade da alga a partir da qual o alginato foi isolado, são responsáveis pela quantidade e distribuição de cada monômero presente (SIMPSON et al., 2004; REIS et al., 2006; TEIXEIRA, 2011).

Além da concentração e estrutura química do material do gel, sua estrutura, reticulação e porosidade também são governadas pela dispersão do alginato e pela sua cinética de formação, dependente da concentração do cátion, da força iônica e do pH. A quantidade de cálcio presente no sistema é responsável pela associação intercadeias, ou seja, níveis reduzidos de cálcio induzem uma associação temporária e aumento da viscosidade, enquanto altos níveis de cálcio resultam em precipitação, favorecendo uma associação permanente (PENICHE et al, 2004; GEORGE; ABRAHAM, 2006; TEIXEIRA, 2011).

Devido à sua porosidade, as micropartículas de alginato podem ser associadas a outros polímeros, como a poli-L-lisina e quitosana ou gomas e gelatinas, a fim de melhorar o tempo de liberação da substância encapsulada (TU et al., 2005; LIRA et al., 2009; SARAVANAN; RAO, 2010; DOHNAL, STEPANEK, 2010; MENNINI et al., 2012). Sistemas hidrogéis contendo alginato também tem sido investigados para sistemas de liberação controlados contendo proteínas e peptídeos (GOMBOTZ e PETTIT, 1995).

Em soluções aquosas a 1% (p/v), apresenta um pH de aproximadamente 7,2. Em soluções que apresentam uma concentração de álcool superior a 30%, o alginato de sódio é praticamente insolúvel (WADE, WELLER, 1994). Quanto a viscosidade, existem descrições de que uma solução aquosa a 1% a 20 °C, possui um valor de 20-401cP. A viscosidade pode variar de acordo com a concentração, pH, temperatura ou a presença de íons metálicos (ALLEN, 2000). As soluções

aquosas de alginato de sódio são mais estáveis em pH entre 4-10, abaixo de 3 ocorre precipitação (WADE, WELLER, 1994).

2.3.3.2.4 Produção de sistemas particulados utilizando alginato de sódio

São descritos na literatura três métodos convencionais para o preparo de géis de alginato de cálcio: método de gelificação iônica externa, gelificação iônica interna e emulsificação. O mais utilizado é a gelificação iônica externa, na qual a solução de alginato de sódio contendo o princípio ativo é gotejada sobre a solução gelificante, normalmente composta por solução de cloreto de cálcio com concentração ideal proporcional à concentração de alginato, resultando em partículas esféricas, únicas e independentes. Esse método não exige condições específicas para produção das partículas, não necessita utilização de solvente e possui alta eficiência de encapsulação quando comparado a outros métodos convencionais. Além de outros interferentes, o tamanho da micropartícula é principalmente determinado pelo sistema de extrusão utilizado como gotejamento, podendo ser agulha ou atomização (SMIDSRÖD; DRAGET, 1997; FUNDUEANU et al., 1998; RIBEIRO et al., 1999; SCHOUBBEN et al., 2010; TEIXEIRA, 2011).

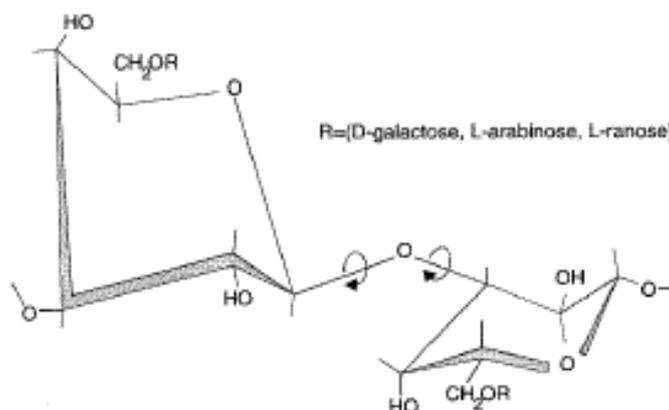
2.3.3.3 Goma arábica

A goma arábica ou goma acácia é a mais antiga e mais conhecida das gomas naturais, sendo usada há mais de 5 mil anos. A nomenclatura “arábica” é devido a sua introdução na Europa através de portos árabes, e “acácia” pois é o exsudato gomoso dessecado dos troncos e ramos da *Acacia senegal* ou outras espécies africanas de Acacia; nome que vem do grego *akakia*, de *ake*, que significa “pontudo”, referente à natureza espinhosa da planta (CAVALCANTI; GABAS, 2003; FIB, 2011)

Tal goma é um polímero natural, considerada um sal de pouca acidez, constituída principalmente por arabina, mistura complexa de sais de cálcio, magnésio e potássio do ácido arábico. Consiste principalmente de ácido D-glucurônico, L-ranose, D-galactose e L-arabinose, contendo aproximadamente 5% de proteínas responsáveis por sua propriedade de emulsificação.

O núcleo da goma (FIGURA 11) é formado principalmente por (1,3) β -D-galactano e várias cadeias laterais de galactopiranosídeo, unidas por ligações β (1,6) que podem conter L-arabinose (ROBINSON, 1991).

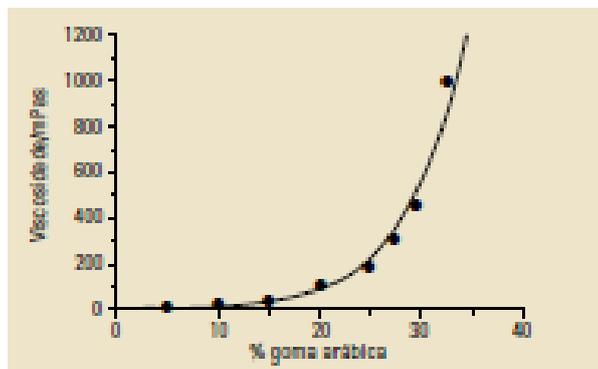
FIGURA 11- ESTRUTURA DE CADEIA PRINCIPAL DA GOMA ARÁBICA



FONTE: ROBINSON, 1991

Devido ao grande número de ramificações, a goma resulta em moléculas compactas com volume hidrodinâmico relativamente pequeno e, conseqüentemente, somente a altas concentrações as soluções tornam-se viscosas (FIGURA 12).

FIGURA 12- VISCOSIDADE DA GOMA ARÁBICA EM FUNÇÃO DE SUA CONCENTRAÇÃO



FONTE: FIB, 2011

A goma arábica apresenta comportamento newtoniano e sua viscosidade independe da taxa de cisalhamento (FIB, 2011). O pó da goma tem coloração branca, ligeiramente amarelada, inodoro e insípido. A goma arábica dissolve prontamente em água e forma soluções claras que variam da coloração amarelo muito pálido para laranja dourado, com um pH de aproximadamente 4,5

(ROBINSON, 1991). A composição química dessa goma varia de acordo com a fonte, clima, estação, idade da árvore, etc. Dados analíticos típicos estão representados na Tabela 4.

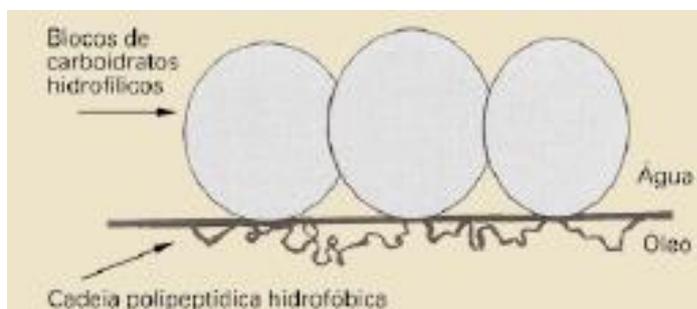
TABELA 4 – COMPOSIÇÃO E CARACTERÍSTICAS DAS GOMAS *Acacia senegal* E *Acacia seyal*

COMPOSTOS	<i>Acacia senegal</i>	<i>Acacia seyal</i>
% Galactose	44	38
% Arabinose	27	46
% Ramnose	13	4
% ácido glucurônico	14,5	6,5
% D- metil – glucurônico	1,5	5,5
% Nitrogênio	0,36	0,15
Graus/rotação específica	-30	+51
Massamolecular Média	380.000	850.000

FONTE: Adaptado FIB, 2011.

Outra característica funcional da goma é sua habilidade em emulsificar óleos essenciais e aromas. As cadeias de polipeptídios hidrofóbicos adsorvem e ancoram as moléculas na superfície, enquanto os blocos de carboidratos inibem a floculação e coalescência por repulsão eletrostática e estérica (FIGURA 13).

FIGURA 13- ESTABILIZAÇÃO DE GOTAS DE ÓLEO PELAS MOLÉCULAS DE GOMA ARÁBICA



FONTE: FIB, 2011.

Para o processo de emulsificação, somente parte da goma é envolvida, sendo assim, a concentração necessária para produção de emulsão é muito maior do que para proteínas puras. Essas emulsões são estáveis por longo período (vários meses) sem ocorrência de coalescência. O aquecimento prolongado de soluções com goma arábica pode resultar em precipitação dos componentes proteínicos fora da solução, influenciando suas propriedades de emulsificação (FIB, 2011).

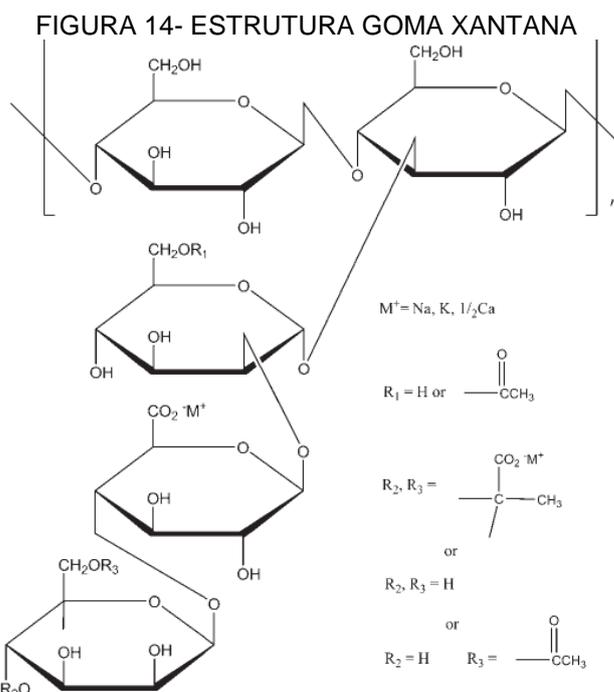
O uso da goma arábica é bastante utilizado em diversas áreas, sendo um ótimo agente encapsulante para óleos aromatizantes e como emulsionante. É

amplamente utilizado no preparo de bebidas, confeitos (gomas, pastilhas, *marshmallows*), sorvetes, etc. Devido à sua fácil e rápida solubilidade em água, facilita a reconstrução de produtos desidratados e de concentrado de aromas (FIB, 2011).

Para produtos alimentícios secos, é muito utilizado o microencapsulamento, afim de transformar o aroma de alimentos líquidos voláteis em pós, para utilização em sopas e misturas para sobremesas. Essa encapsulação também protege o óleo contra oxidação. A metodologia mais usada é por *spray dryer*, com adição de maltodextrina para diminuição de custo. As partículas formadas por esse processo tem tamanho de 10 a 200 micron e a retenção do material volátil é em torno de mais de 80%, que varia conforme concentração e viscosidade da emulsão e da proporção de goma arábica e maltodextrina (RISCH; REINECCIUS, 1988; FIB, 2011).

2.3.3.4 Goma xantana

A goma xantana é um polissacarídeo de alto peso molecular, produzido comercialmente por microorganismos da espécie *Xanthomonas campestris* (RIBEIRO; SERAVALLI, 2004). Contém D-glicose e D-manose como unidades de hexose dominantes, juntamente com o ácido D-glucurônico, e é preparada com sódio, potássio ou sal de cálcio. Cada goma xantana repete cinco resíduos de açúcar: duas glicoses, duas manoses e um ácido glucurônico (FIGURA 14)(HANDBOOK, 2009)



FONTE: HANDBOOK OF PHARMACEUTICAL INGREDIENTS, 2009.

Sua estrutura é idêntica a da celulose, com polímero composto por quatro unidades de β -D-glicose ligadas nas posições 1 e 4. A distinção entre a goma xantana e celulose é a presença de cadeias laterais de trissacarídeos na alternância de unidades de anidroglicose (JANSSON et al., 1975; MELTON et al., 1976).

A goma xantana é amplamente utilizada em cosméticos, produtos alimentícios e farmacêuticos, e geralmente é considerada atóxica e não irritante nos níveis empregado nesses produtos. Também é usada como espessante e estabilizante de produtos emulsionados. É compatível com a maioria dos outros ingredientes farmacêuticos, apresenta solubilidade tanto em água fria quanto em água quente, suas soluções são altamente pseudoplásticas e tem boa estabilidade e propriedades de viscosidade sobre uma ampla faixa de pH e temperatura. Géis de goma xantana mostram comportamento pseudoplástico, sendo diretamente proporcional à taxa de cisalhamento. A viscosidade volta ao normal imediatamente na liberação da tensão de cisalhamento (BUMPHREY, 1986; CHOLLET et al, 1999).

A goma xantana tem sido usada como um agente de suspensão para suspensões convencionais, secas e de liberação controlada. Quando a goma é misturada com certos agentes inorgânicos de suspensão, tais como magnésio, silicato de alumínio ou gomas orgânicas, podem ocorrer efeitos reológicos sinérgicos

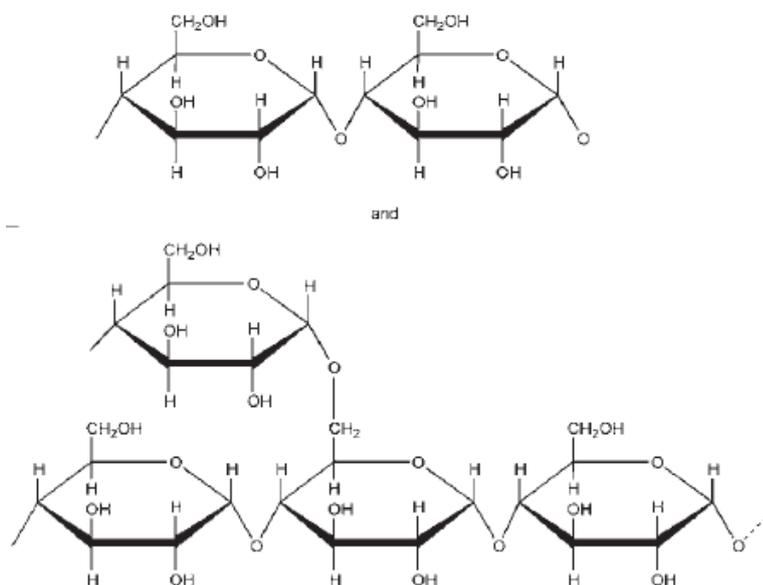
(KOVACS, 1973; GABRIËLS, PLAIZIER-VERCAMMEN, 2004; WANG et al., 2006; JUNYAPRASERT, MANWIWATTANAKUL, 2008).

Essa goma também pode ser utilizada para produção de matrizes que exibem um alto grau de entumescimento devido à absorção de água e pequena quantidade de erosão devido ao relaxamento do polímero. É bastante utilizada em combinação com alginato de sódio, quitosana, galactomanana e goma guar para preparo de comprimidos com liberação controlada (MUNDAY, COX, 2000; ZENG, 2004; VENDRUSCOLO et al., 2005; VARSHOSAZ et al, 2006; PHAECHAMUD, RITTHIDEJ, 2007).

2.3.3.5 Maltodextrina

Maltodextrina é descrita como uma mistura de polímeros de sacarídeos que consistem em unidades de D-glicose, contendo dextrose equivalente (DE) menor que 20. As unidades de D-glicose estão ligadas principalmente por ligações α (1,4) mas pode conter segmentos ramificados ligados por α (1,6) (FIGURA 15):

FIGURA 15- ESTRUTURA MALTODEXTRINA



FONTE: Handbook of Pharmaceutical Ingredients, 2009.

O valor de dextrose equivalente é definido como o poder redutor de uma substância, sendo responsável pelas suas propriedades físicas. Ou seja, sua solubilidade, higroscopicidade, doçura e compressibilidade são diretamente proporcionais ao aumento da DE e resultam nos diversificados tipos de

maltodextrina comercializados. É encontrada como pó branco ou grânulos e inodoro (HANDBOOK, 2009).

A maltodextrina é utilizada para produção de comprimidos como aglutinante e diluente. Também tem sido utilizada como carreador em emulsão óleo-em-água por produção em *spray dryer* a fim de aumentar a biodisponibilidade de drogas pouco solúveis. As Maltodextrinas com um valor DE alto são particularmente úteis em formulações de comprimidos mastigáveis. A maltodextrina pode também ser usada em formulações farmacêuticas para aumentar a viscosidade de soluções e para evitar a cristalização dos xaropes. Também é amplamente utilizada em produtos alimentícios, cosméticos e cuidados pessoais (LI; PECK, 1990; VISAVARUNGROJ, REMON, 1992; HANDBOOK, 2009).

A retenção das características sensoriais e físico-químicas de produtos encapsulados deve-se principalmente ao sistema carreador no qual está inserido. A maltodextrina é comumente usada para essa finalidade, pois apresenta elevada temperatura de transição vítrea e proporciona boa estabilidade do produto encapsulado (BHANDARI; HARTEL, 2005; JAYA; DAS, 2009).

Diversos estudos tem utilizado a maltodextrina para encapsulação de ativos, em especial os óleos essenciais. Galmarini e colaboradores (2008) encapsularam óleo essencial de laranja por *spray dryer* em diferentes matrizes amorfas com maltodextrina em diferentes combinações, com sucrose, trealose, lactose, amido modificado e goma arábica e realizaram diversas análises sensoriais comparativas. Sosa e colaboradores (2014) também compararam a performance de diferentes matrizes carreadoras de maltodextrina com trealose ou sucrose, e diferentes agentes emulsificantes para encapsulação de óleo essencial de laranja.

Müller (2011) também utilizou maltodextrina e amido modificado para encapsulação de óleo de laranja por *spray dryer* e técnicas de coacervação.

2.3.4 Métodos de encapsulação

O método de encapsulação pode influenciar o tamanho das partículas, a reprodutibilidade do perfil cinético de liberação, assim como toxicidade residual e estabilidade (LOURENÇO et al., 2006). Em geral, diversos métodos podem ser utilizados para obtenção de micropartículas, entre eles podemos citar os métodos físicos como *spray dryer* (FERNANDES, BORGES e BOTLER, 2014; SILVA et al.,

2014), *spray congealing*; físico-químicos, como a coacervação simples e complexa (DIMA *et al.*, 2014, DIMA *et al.*, 2015) emulsificação e evaporação de solvente, gelificação (HOSSEINI *et al.*, 2013) e métodos químicos como a polimerização interfacial e *in situ* (FEI *et al.*, 2015).

O método de *spray dryer* é o mais utilizado para encapsular aromatizantes. Desenvolvido na década de 30, o método é simples e consiste em um processo único de secagem de partículas atomizadas por um leito de ar quente e com a evaporação do solvente, as micropartículas são formadas (LOURENÇO, 2006; MARTINS *et al.*, 2014). O equipamento é relativamente complexo e o método é de alto custo-benefício, produz micropartículas estáveis e apresenta dificuldades com uniformidade de tamanho (CARVALHO; ESTEVINHO; SANTOS, 2015).

O método de coacervação é uma alternativa interessante e relativamente simples, pouco utilizada em processos industriais, por apresentar dificuldade de *scale-up* (MARTINS *et al.*, 2014; ASBAHANI *et al.*, 2015). O método pode ser classificado em simples, com apenas um polímero, ou complexo, com mais polímeros utilizados.

A coacervação simples consiste na adição de ânions ou soluções pobres em solvente a uma solução hidrofílica coloidal (como por exemplo, uma solução aquosa de quitosana). Essa adição das soluções altera o pH do meio e precipita as partículas (ASBAHANI *et al.*, 2015).

Já a coacervação complexa consiste em um fenômeno espontâneo que ocorre pela neutralização de cargas iônicas entre polímeros, como quitosana de característica catiônica, sendo neutralizada com goma arábica de carga aniônica, levando este processo a uma separação de fases (LOURENÇO, 2006; SANSUKCHAREARNPON *et al.*, 2010; DIMA *et al.*, 2014; ASBAHANI *et al.*, 2015). A *Givaudan Roure Flavors Corporation* e empresas cosméticas como a L'oréal apresentam patentes de métodos de encapsulação de ativos por coacervação (MARTINS *et al.*, 2014).

O método de emulsificação e evaporação do solvente é bastante utilizado, especialmente para liberação controlada. A técnica consiste na formação de uma emulsão, cuja fase externa de uma solução aquosa é estabilizada por um agente tensoativo, e a fase interna com o biopolímero e OE. O solvente é então evaporado e precipita-se, formando as micropartículas (OLIVEIRA, 1997; LOURENÇO 2006; SOUZA *et al.*, 2014; CARVALHO; ESTEVINHO; SANTOS, 2015).

De maneira geral, os materiais utilizados no processo de fabricação de micropartículas devem ser biocompatíveis e ainda, não reagir com o material do núcleo, proteger o ativo das condições externas, apresentar as propriedades desejadas de liberação, ser resistente, flexível, estável e de fácil processamento. Entre os polímeros naturais, a quitosana e o alginato de sódio são os mais utilizados (NETO, 2009).

Dois parâmetros da encapsulação que devem receber atenção são a eficiência de encapsulação e a liberação sustentada. A eficiência de encapsulação nos dá informação sobre o quanto de ativo foi realmente encapsulado nas microestruturas. Muitos fatores podem afetá-la, incluindo peso molecular do ativo, grau de hidrofiliicidade, natureza química da micro/nanopartícula, volatilidade e polaridade do ativo, técnica escolhida para encapsulação, componentes utilizados, tipos de polímero, entre outros (MARTINS et al., 2014).

A difusão do OE na matriz polimérica é influenciada por diversos fatores relacionados à cadeia polimérica, como, por exemplo, a capacidade do polímero em captar água e intumescer, a flexibilidade e mobilidade da rede polimérica e as possíveis interações entre polímero e ativo (MARTINS et al., 2014).

De forma sucinta, o mecanismo de liberação controlada do OE das micropartículas poliméricas de quitosana parece seguir um processo de intumescimento, no qual ocorre a entrada de água na matriz polimérica, seguido da difusão do OE pela matriz, sendo este processo influenciado por variações de temperatura e pH (DIMA et al., 2014; DIMA et al., 2015).

A liberação controlada de OE a partir de micropartículas muitas vezes é monitorada pela perda de massa da partícula relacionada ao tempo (TZHAYIK; CAVACO-PAULO; GEDANKEN, 2012).

Outros métodos determinam a liberação de fragrâncias através da quantificação dos OE presentes nos sistemas micro/nanoparticulados relacionada ao tempo. Para tanto, os sistemas são secos e então redispersos em soluções aquosas ou em solventes orgânicos, sob condições pré-determinadas e em tempos exatos, sendo os OE quantificados por espectrofotometria UV-VIS (FECZKÓ et al., 2010), cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (GUMI et al., 2009) ou cromatografia gasosa (SANSUKCHAREARNPON et al., 2010).

2.4 CARACTERIZAÇÃO DE SISTEMAS MICROPARTICULADOS

Uma das vantagens de se encapsular óleos essenciais em partículas poliméricas ou lipídicas é diminuir o tamanho dessas com a finalidade de sustentar a liberação (FECZKÓ; KOKOL; VONCINA, 2010; SANSUKCHAREARNPON et al.; 2010; CAMERLO et al., 2013; HOSSEINKHANI et al., 2015).

Dentro desse contexto, uma etapa importante do processo de desenvolvimento de um sistema de liberação de OE é a caracterização físico-química dessas partículas. Nesse sentido, a caracterização envolve ensaios de determinação do tamanho de partícula, potencial zeta, pH, eficiência de encapsulação, assim como ensaios sobre o perfil de liberação do ativo, estabilidade e comportamento térmico, além da morfologia da partícula (FECZKÓ; KOKOL; VONCINA, 2010; SANSUKCHAREARNPON et al.; 2010; CAMERLO et al., 2013; HOSSEINKHANI et al., 2015).

O tamanho da partícula pode ser inferido por microscopia, espalhamento de luz por difração a laser, contador Coulter, entre outros métodos (LIN et al, 2013). As técnicas de microscopia mais utilizadas para micropartículas poliméricas são a microscopia eletrônica de varredura (MEV) e microscopia de força atômica (MFA), que além de verificar o tamanho, fornece dados morfológicos (YU et al., 2002; KO et al., 2002; LIN et al, 2013; FERNANDES; BORGES; BOTREL, 2014). Técnicas de difração a laser, como o espalhamento de luz dinâmico (DLS), são as mais utilizadas. No caso do DLS, o método abrange um raio hidrodinâmico de partícula que vai de 0,3 nm até 10 μm (LIN et al, 2013).

Outra importante característica físico-química das partículas é o potencial zeta, medida esta correspondente à carga residual da superfície da partícula, que pode prever sobre a instabilidade do sistema, agregação e interação com superfícies biológicas. O potencial zeta pode ser determinado pela medida da mobilidade eletroforética das espécies carregadas da amostra em solução na presença de um campo elétrico aplicado (LIN et al, 2013).

Já a eficiência de encapsulação de um sistema é uma medida percentual da quantidade de OE (ou fármaco) que se encontra encapsulada na micropartícula, em comparação com a quantidade inicial total, estando intimamente relacionada com as características do ativo encapsulado e do sistema usado (CAMERLO et al., 2013). Geralmente, sistemas lipídicos tendem a encapsular maior quantidade de ativos

lipofílicos, devido à interação entre essas moléculas. Da mesma forma, a natureza e concentração dos componentes, do polímero utilizado, o raio hidrodinâmico, o potencial zeta e o método de preparo, entre outros fatores, influenciam intimamente o percentual de ativo encapsulado (ASBAHANI et al., 2015).

Há várias técnicas de obtenção da eficiência de encapsulação, que envolvem a quantificação do OE que foi encapsulado ou que está livre, por cromatografia gasosa (CAMERLO et al., 2013) ou por análises de perda de massa (OE volatilizado) (HSIEH; CHANG; GAO, 2006).

Da mesma forma, ensaios de perfil de liberação do OE a partir das micropartículas, são de extrema importância para caracterizar o sistema de liberação e, em alguns casos, demonstrar a liberação sustentada. O perfil de liberação de um sistema microparticulado é traçado de acordo com a quantidade de OE liberado em função de determinado tempo (DIMA et al., 2014).

Aspectos como o tipo de polímero, método utilizado, tipo de partícula e tamanho, também exercem grande influência na liberação do OE, sustentando ou não sua liberação (ASBAHANI et al., 2015).

2.5 ANÁLISE SENSORIAL

Segundo a *Sensory Evaluation Division of the Institute of Food Technologists*, análise sensorial pode ser definida como a disciplina que evoca, mede, analisa e interpreta reações e características de um produto, após estímulos ao ser humano em relação à visão, tato, odor e sabor, e como esses estímulos são percebidos pelos órgãos do sentido (STONE; SIDEL, 1992).

Com relação a esses quatro passos, para evocar, são feitos os procedimentos de preparação e entrega das amostras sob condições controladas. Por ser uma ciência quantitativa, os dados numéricos são coletados para medir a relação entre as características do produto e a percepção humana. São utilizados métodos estatísticos para análise dos resultados, com delineamento experimental. Por último, para a interpretação dos resultados, são utilizadas as bases de dados e informação estatística originadas da análise sensorial, que são interpretadas dentro do contexto das hipóteses e do conhecimento prévio de suas implicações para a tomada de decisão (AMERINE; PANGBORN; ROESSLER, 1965).

Os aspectos físico-químicos, microbiológicos e sensoriais, são os componentes principais de qualidade de um produto. A análise sensorial é composta por diferentes disciplinas como biologia, neurobiologia e química dos sentidos e sua qualidade está intimamente relacionado à qualidade percebida pelo consumidor e, conseqüentemente, à escolha do produto (RIGANO, 2013).

Os participantes das análises sensoriais em cosméticos são denominados painelistas, pois fazem parte de um painel sensorial para análise dos produtos. Esses painelistas devem seguir alguns requisitos, como ter passado por um treinamento, ter interesse em participar do painel, ter boa saúde, boa memória, não ser fumante, apresentar facilidade de comunicação e estar familiarizado com os termos que serão utilizados (ALMEIDA et al, 2008). Eles devem apresentar habilidades para detectar as diferentes características sensoriais de produtos e também ser capazes de detectar a intensidade dessas diferenças (MEILGAARD et al, 1991), além de ter habilidade para descrever estas características e aplicar conceitos abstratos quando uma característica precisa ser renomeada (BITNES et al, 2007).

Para se obterem máximas sensibilidade, reprodutibilidade e confiabilidade dos resultados, os testes devem ser realizados com equipe de avaliadores devidamente selecionados e treinados, sob condições rigorosamente controladas (DUTCOSKY, 2007). O ambiente do teste, assim como erros psicológicos, relacionados à apresentação das amostras podem, também, interferir no resultado do painel. Por isso as amostras devem ser aleatorizadas para cada painalista, a fim de minimizar esses erros relacionados a ordem de apresentação das mesmas (LANZILLOTTI, 1999).

São muitas as aplicações de análise sensorial na indústria de produtos de consumo, como alimentos, cosméticos, higiene pessoal, perfumaria, têxtil e nas instituições de pesquisa, dentre elas: ferramenta decisória durante o desenvolvimento de um novo produto; para comparações quando há alteração de matéria-prima, embalagem ou processo, seja por redução de custo ou novos fornecedores; no controle de qualidade; na estabilidade durante armazenamento, dentre outros (DUTCOSKY, 2007).

O grupo de avaliadores descreve e mede objetivamente as propriedades sensoriais, colaborando com o tecnólogo, que conta com essa informação para controle do progresso durante o desenvolvimento de um produto. Também é

realizado pesquisa com consumidores, com estudo da preferência e aceitabilidade desse produto, em consequência da qualidade sensorial do produto percebida pelo consumidor.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATERIAL

3.1.1 Reagentes, Solventes e Polímeros

- Polissorbato 80, Polioxietileno (20) monooleato de sorbitano, Tween 80® (EMFAL, Lote 1249893)
- Óleo essencial de laranja pêra, *Citrus sinensis* L. Osbeck (Cutrale, lote: 160/10)
- Alginato de Sódio – Protanal® LF 20 / 40, FMC Bio Polymer, EUA, com viscosidade de 100 a 200 mPas e alto conteúdo de resíduos G (67%) - Lote 521678
- Cloreto de Cálcio (Synth, Brasil)
- Ácido acético (Synth, Brasil)
- Goma arábica (Synth, Brasil)
- Monoestearato de sorbitano, Span 60® (Lipo do Brasil, Lote H134402)
- Hidroxietilcelulose (Natrosol ®) (Colorcon, Brasil)
- Glicerina (Cedetec, Brasil)
- Goma xantana (Galena, lote 18989)
- Fenoxietanol (Lote 0000292408)
- Maltodextrina (Nutrimental)
- Amido solúvel (Biotec, Lote 35576)
- Monooleato de Sorbitano, Span 80® (Lipo do Brasil, Lote G268405)
- Quitosana (Galena, Brasil, Lote K020927281)
- EDTA dissódico (Synth)
- Hexano – Merck – lote K47247974 – val 10/2020
- Água miliQ

3.1.2 Equipamentos e Acessórios

- CG-MS – HP (Hewlett Packard) series detect – Cromatógrafo a Gás HP 6890 com Detector Seletivo de Massa HP 5973 – massas com ionização de impacto eletrônico modo negativo
- CG-fid (Agilent Technologies – 7890A- GC System – injetor automático 7683). Coluna DB5 – 10 m – 0,1 mm diâmetro – espessura filme 0,1 µm – J&W scientific
- Agitador magnético RCT basic, Ika
- Ultrassom Ultra Cleaner 1400 Unique
- Ultrassom Soni-tech 8800 Branson
- Agitador Mecânico RW20 digital Ika
- Termômetro digital Thermo
- Balança Analítica XS205 Dual Range Mettler Toledo
- Micropipeta 1000 – 5000µL KASVI
- Microscópio óptico CX41 Olympus
- Banho-Maria Prolab
- Agulha 26G – BD (13x0,45mm);
- Agulha 30G – BD (13x0,30mm);
- Seringa de vidro 10 mL – BD
- Fita medidora de pH, Merck, Alemanha

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Obtenção da amostra

A laranja-pêra, pertencente à família Rutaceae, cujo nome científico é *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, foi coletada na Fazenda Boa Esperança, Quadra 6, Município de Pratânia, Estado de São Paulo, Brasil, em maio de 2016. A sua herborização foi realizada no herbário do Museu Botânico Municipal de Curitiba (MBM). A referida planta foi identificada por Motta, J.T. e encontra-se sob o registro MBM-245441, estando à disposição e podendo ser consultada para todas e quaisquer eventualidades.

3.2.2. Obtenção do óleo essencial de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck

As laranjas maduras coletadas da espécie identificada foram descascadas manualmente e secas em bancada com circulação livre de ar.

O óleo essencial foi obtido das cascas por hidrodestilação no extrator de Clevenger, (FIGURA 16), por um período de seis horas, conforme Barreiro (2006) com adaptações.

FIGURA 16- HIDRODESTILAÇÃO POR CLEVINGER



FONTE: O autor (2017).

3.2.3 Caracterização do óleo de laranja

O óleo de laranja foi analisado em CG/MS, Cromatógrafo a Gás HP 6890 com Detector Seletivo de Massa HP 5973, equipado com software Chemstation e espectroteca NIST 13. As análises foram realizadas em coluna polar HP-5MS 5% Phenyl Methyl Siloxane (30 m x 250 μ m) 0,50 μ m espessura de filme (Agilent, USA). O programa de temperatura utilizado pode ser visualizado na Tabela 5:

TABELA 5- PROGRAMA DE TEMPERATURA REALIZADO NO CG/MS DO ÓLEO DE LARANJA

RAMPA (°C /MIN)	TEMPERATURA (°C)	PERMANÊNCIA
Inicial	40	0
5	150	0
50	300	10

FONTE: O autor (2017).

A interface foi de 280 °C; razão de split 1:1; gás de arraste He (0,5 mL/min); energia de ionização 70 eV; intervalo de aquisição de massas 10-500; solvent cut 2,5 minutos, volume injetado 0,2 µL diluído em isopropanol (1:10).

3.2.4 Método de obtenção das micropartículas: microesferas

As microesferas foram preparadas pelo método de gelificação iônica externa, com modificações (RAJABI et al., 2015; SOSA et al., 2014; XIAO; HE; ZHU, 2014; WATAYA, 2013; FUJIWARA, 2012; MÜLLER, 2011; CHUMPITAZ, 1995).

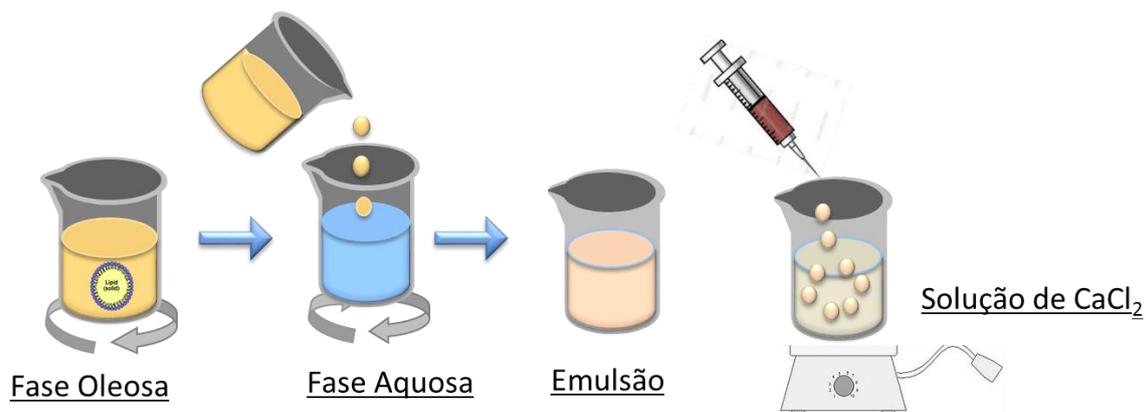
FASE 1. Para o preparo, acrescentou-se alginato de sódio e goma arábica em água destilada com aquecimento em banho maria a 50°C sob agitação manual até completar dissolução dos componentes. Em seguida, foram adicionados os tensoativos Tween 80® e Span 60® e o óleo de laranja sob agitação manual, por um minuto. O sistema disperso foi retirado do banho maria e submetido à agitação mecânica em hélice a 700 rpm por cinco minutos. Os conservantes fenoxietanol e álcool benzílico foram acrescentados quando a temperatura do meio atingiu 35°C. O mesmo processo foi utilizado substituindo-se a goma arábica por maltodextrina.

FASE 2. Preparou-se uma solução de cloreto de cálcio, em concentração adequada (1,2%).

FASE 3. Para o preparo das microesferas, com auxílio de seringa de vidro e agulha de 30G, gotejou-se a fase 1, até esgotamento na fase 2 mantida sob constante agitação, em agitador magnético a 200 rpm. As microesferas formadas permaneceram por trinta minutos na solução de cloreto de cálcio. O excesso de cloreto de cálcio foi retirado lavando-se as partículas em água destilada.

O método realizado na formação das microesferas pode ser visualizado no seguinte esquema (FIGURA 17):

FIGURA 17 - ESQUEMA DE FORMAÇÃO DE MICROESFERAS DE ALGINATO DE SÓDIO PELO MÉTODO DE GELIFICAÇÃO IÔNICA EXTERNA OU DE GOTEJAMENTO.



FONTE: O autor (2017).

Foram testadas sete formulações, com variação na concentração dos ingredientes, a fim de encontrar a mais adequada. A seguir, (TABELA 6), apresentam-se as concentrações dos componentes utilizados para o preparo de microesferas de alginato de sódio contendo óleo de laranja em suas respectivas fases.

TABELA 6- COMPONENTES UTILIZADOS E SUAS CONCENTRAÇÕES PARA O PREPARO DE MICROESFERAS DE ALGINATO DE SÓDIO; ALGINATO DE SÓDIO E GOMA ARÁBICA; E ALGINATO DE SÓDIO E MALTODEXTRINA

MATÉRIA-PRIMA	FASE	FORMULAÇÃO/ PORCENTAGEM (m/v ou v/v)						
		F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7
Alginato de Sódio	1	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6
Goma arábica		-	1	1,5	2	-	-	-
Maltodextrina		-	-	-	-	1	1,5	2
Óleo de laranja		10	10	10	10	10	10	10
Twen 80		2	2	2	2	2	2	2
Span 60		3	3	3	3	3	3	3
Fenoxietanol		0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Álcool benzílico		0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Água destilada		q.s.p.	q.s.p.	q.s.p.	q.s.p.	q.s.p.	q.s.p.	q.s.p.
Cloreto de Cálcio	2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2
Água destilada		q.s.p.	q.s.p.	q.s.p.	q.s.p.	q.s.p.	q.s.p.	q.s.p.

FONTE: O autor (2017).

3.2.5 Método de obtenção das microcápsulas

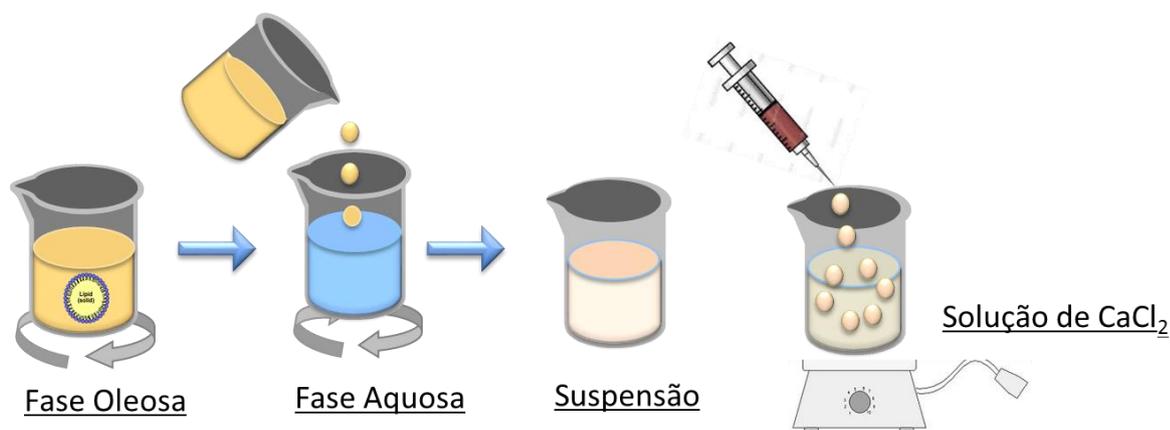
As microcápsulas foram preparadas pelo método de gelificação iônica externa ou de gotejamento, com modificações (CHUMPITAZ, 1995; MÜLLER, 2011; FUJIWARA, 2012; WATAYA, 2013; FUJIWARA, 2013; SOSA et al., 2014; XIAO; HE; ZHU, 2014; RAJABI et al., 2015).

FASE 1. Para o preparo da fase 1 acrescentou-se alginato de sódio em água destilada com aquecimento em banho maria a 50°C sob agitação manual até completa dissolução. A glicerina foi acrescentada quando a temperatura do meio atingiu 30°C. O mesmo procedimento foi adotado para a dissolução da goma xantana, porém sem o acréscimo da glicerina. Os produtos obtidos foram misturados sob agitação manual e acrescidos do óleo de laranja e dos conservantes fenoxietanol e álcool benzílico. Estes foram incorporados ao meio suspensor primeiramente sob agitação manual e então mantidos sob agitação magnética a 200 rpm durante todo o processo.

FASE 2. Preparou-se uma solução de cloreto de cálcio, em concentração adequada (1,2%).

FASE 3. Para o preparo das microcápsulas, com o auxílio de seringa de vidro e agulha 26G, gotejou-se a fase 1 até esgotamento na fase 2, mantida sob constante agitação a 150 rpm. As microcápsulas formadas permaneceram por trinta minutos na solução de cloreto de cálcio. O excesso de cloreto de cálcio foi retirado lavando-se as partículas em água destilada. Esquema do método realizado na formação das microcápsulas (FIGURA 18):

FIGURA 18- ESQUEMA DE FORMAÇÃO DAS MICROCÁPSULAS DE ALGINATO DE SÓDIO PELO MÉTODO DE GELIFICAÇÃO IÔNICA EXTERNA OU DE GOTEJAMENTO.



FONTE: O autor (2017).

Os componentes utilizados e suas concentrações para o preparo de microcápsulas de alginato de sódio e goma xantana contendo óleo de laranja são demonstrados assim (TABELA 7):

TABELA 7- COMPONENTES UTILIZADOS E SUAS CONCENTRAÇÕES PARA O PREPARO DE MICROCÁPSULAS DE ALGINATO DE SÓDIO E GOMA XANTANA.

MATÉRIA-PRIMA	FASE	F8 (%)
Alginato de Sódio	1	0,2 a 0,8
Goma Xantana		0,1 a 0,5
Glicerina		5 a 20
Óleo de laranja		10 a 30
Fenoxietanol		0,1 a 0,5
Água destilada		q.s.p.
Cloreto de Cálcio		2
Água destilada	q.s.p.	

FONTE: O autor (2017)

* Concentrações não especificadas na íntegra devido à possibilidade de processo de patente do produto obtido.

3.2.6 Avaliação das micropartículas através de análise sensorial prévia

As micropartículas obtidas – microesferas (F1 a F7) e microcápsulas (F8) - foram avaliadas em relação à forma e manutenção da forma, análise sensorial prévia (odor, emoliência, espalhabilidade) e liberação do óleo encapsulado após aplicação na pele, com a finalidade de caracterizar as formulações desenvolvidas e ajudar na seleção da mais promissora.

A formulação selecionada foi a F8. Ela foi mantida nos veículos água destilada e gel de hidroxietilcelulose e avaliada em relação a eficiência de encapsulação, perfil de liberação, estabilidade e testes sensoriais.

3.2.7 Preparo do veículo gel de hidroxietilcelulose (Natrosol®)

O preparo do gel de hidroxietilcelulose foi adaptado do Formulário Nacional da Farmacopeia Brasileira, 2012. Foram aquecidos em temperatura de 70°C o propilenoglicol e a água purificada. A esta solução foi adicionado hidroxietilcelulose, a qual foi agitada em agitador mecânico com hélice até completa dispersão, mantendo o aquecimento.

Em seguida, a solução foi resfriada até 30°C para adição dos conservantes fenoxietanol e álcool benzílico (Tabela 8):

TABELA 8- FORMULAÇÃO DO GEL DE HIDROXIETILCELULOSE

FASE	COMPONENTES	% (m/v)
1	Hidroxietilcelulose	2,0
	Propilenoglicol	10,0
	Água purificada	q.s.p.
2	Fenoxietanol	0,2
	Álcool benzílico	0,2

FONTE: Adaptado de FORMULÁRIO NACIONAL DA FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2012.

3.2.7.1 Características físico-químicas do gel de hidroxietilcelulose

Foi realizada a medida de pH do gel recém preparado, após 24 horas e após uma semana, com e sem a presença das partículas. A medida foi realizada com fita medidora de pH.

3.2.8 Eficiência de encapsulação

A eficiência de encapsulação e capacidade de armazenamento das micropartículas foram realizadas em análise por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-MS), adaptado de YANG et al. (2014).

A eficiência de encapsulação das micropartículas foi calculada de acordo com a fórmula:

$$\text{Eficiência de encapsulação (\%)} = P_1/P_2 \times 100\% \quad (1)$$

Onde P_1 é a massa (mg) do óleo de laranja encapsulado em certa massa de micropartículas; P_2 é a massa total de óleo de laranja utilizado para a preparação das micropartículas.

3.2.8.1 Preparo das amostras

As amostras foram preparadas da seguinte maneira: gel de hidroxietilcelulose contendo 1% de óleo de laranja (OG), gel de hidroxietilcelulose

contendo microcápsulas de óleo de laranja (MG), microcápsulas de óleo de laranja em água purificada (MA), ambos resultando em 1% de óleo. Para cada formulação, foi pesado 1g de amostra. Para a MG e MA, padronizou-se cerca de 40 cápsulas em cada alíquota pesada.

Para a formulação OG a fim de extrair completamente o óleo de laranja, as formulações foram acrescentadas de 5 mL de n-hexano e 5 mL de água miliQ em tubo de ensaio. Posteriormente, as amostras foram colocadas 1 minuto no vórtex e 5 min na centrífuga a 4400 rpm a 37 °C, para remoção das substâncias insolúveis. A fração com n-hexano foi transferida para balão volumétrico. A operação foi repetida até completar o balão de 25 mL.

Para a formulação MG, as micropartículas foram lavadas três vezes com água miliQ para retirada do gel antes da extração. Em seguida, foi adicionado 5mL de n-hexano e este vertido no gral. As cápsulas foram trituradas a fim de extrair todo o óleo presente e posteriormente foram transferidas para balão de 25mL, após serem filtradas em papel filtro. O processo foi repetido mais 5 vezes até completar o balão.

Para a formulação MA, manteve-se o mesmo processo da formulação MG após a lavagem das microcápsulas. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

3.2.9 Perfil de liberação do óleo encapsulado

O perfil de liberação foi realizado com metodologia adaptada de Yang et al. (2014). Primeiramente foi realizada a curva de calibração padrão com diferentes concentrações do óleo de laranja em CG-MS. Depois foi realizada uma análise comparativa entre somente o gel de hidroxietilcelulose, gel de hidroxietilcelulose contendo óleo disperso (OG) e gel de hidroxietilcelulose contendo a microcápsula sem óleo para avaliação de possíveis interferências de componentes da cápsula.

O óleo de laranja foi doseado nas três seguintes formulações OG, MG e MA. O doseamento dessas formulações foi realizado por Cromatografia Gasosa com Detector por Ionização de Chama (CG-fid).

Foi pesado 1g de cada amostra. Para MG e MA padronizou-se cerca de 40 cápsulas em cada alíquota pesada. Para o perfil de liberação, a metodologia utilizada foi a mesma descrita para Eficiência de Encapsulação.

As amostras foram analisadas após 30, 60 e 90 dias após o preparo, para avaliação do perfil de liberação do óleo encapsulado nos diferentes tempos e nas diferentes condições de armazenamento.

3.2.10 Estudo de estabilidade das formulações

As amostras foram embaladas em vidro hermeticamente fechado e o volume acondicionado do produto referente a um terço da capacidade da embalagem, para possíveis trocas gasosas. O estudo de estabilidade das formulações foi realizado de acordo com os testes pré-estabelecidos na literatura – Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos (BRASIL, 2004).

A estabilidade preliminar das amostras foi realizada através da avaliação macroscópica (homogeneidade, características organolépticas) e foi responsável por determinar inicialmente a estabilidade das amostras preparadas, após um período de 24 horas. Para as amostras macroscopicamente estáveis, também foi conduzida a análise sensorial prévia.

Para o estudo de estabilidade acelerada, realizada com a formulação final escolhida, além das formulações OG, MG e MA, foi preparado também o gel de hidroxietilcelulose puro (sem adição de óleo ou microcápsulas) a fim de comparar sua performance nas diferentes condições de armazenamento. As amostras foram verificadas com relação às características organolépticas (cor, odor, aparência) e classificadas como: normal, levemente modificada, modificada ou intensamente modificada.

Todas as amostras foram acondicionadas na temperatura ambiente ($25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), estufa ($40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) e geladeira ($5^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$). As micropartículas foram acondicionadas nos veículos gel de hidroxietilcelulose e em água destilada a fim de verificar a interferência do meio na qual está inserido, com relação à liberação e estabilidade do óleo.

3.2.11 Teste com consumidor e análise sensorial do óleo de laranja microencapsulado comparado ao óleo de laranja não encapsulado

3.2.11.1 Teste com consumidor

Para a realização de um teste de produto com consumidores, foram recrutadas mulheres, usuárias de hidratante corporal, com idade entre 18 e 55 anos e que aceitassem participar da pesquisa. O recrutamento foi realizado entre as colaboradoras do Grupo Boticário, via solicitação por email. O teste foi realizado com 66 (sessenta e seis) consumidoras para avaliação comparativa do gel com óleo de laranja não encapsulado (OG) e do gel contendo as micropartículas (MG). As consumidoras avaliaram as amostras em dois momentos. Inicialmente avaliaram visualmente no frasco e na sequência aplicaram no braço. Foi aplicado 200 µL de cada produto e as consumidoras foram instruídas a espalhar o produto até completa dissolução das partículas. Em cada volume de gel contendo as micropartículas havia, em média, seis micropartículas.

O questionário foi composto por perguntas de agradabilidade, avaliadas em escala hedônica de nove pontos, indo de 1 (desgostei extremamente) a 9 (gostei extremamente). Foram avaliadas a agradabilidade do produto no geral, da textura, da fragrância e do visual do produto no frasco.

A intensidade da fragrância foi avaliada em escala JAR (*Just About Right*), que mede o quão ideal está o atributo em questão para o consumidor (DUTCOSKY, 2013). Também foi questionado o nível de concordância com relação ao impacto/explosão da fragrância no momento da aplicação e se as voluntárias consideravam o produto atrativo e inovador, utilizando escala de concordância de cinco pontos, indo de concordo plenamente a discordo plenamente.

Também foi aplicada uma pergunta CATA (*Check-All-That-Apply*), onde a voluntária tem uma lista de palavras/frases e deve assinalar as que mais se encaixam com o produto avaliado. Este método tem como objetivo de entender a maneira de como o consumidor descreve o produto (DUTCOSKY, 2013). Os descritores utilizados no questionário foram revigorante, refrescante, cítrico, floral, desagradável, enjoativo, cheiro de fruta estragada, cheiro de fruta passada, verão, inverno, praia, campo, hidratante, pele macia, pele cheirosa, bem-estar, amadeirado, doce, especiado. O questionário, na íntegra, encontra-se anexo (ANEXO 1)

Posteriormente foi aplicado o teste estatístico ANOVA e o intervalo de confiança de 95% foi considerado estatisticamente significativo na comparação dos resultados.

3.2.11.2 Teste com painel olfativo

Foi realizada uma avaliação olfativa comparativa da intensidade de perfumação, logo após aplicação e após 2 minutos, utilizando escala linear de 10 cm ancorada em zero por “imperceptível” e em 10 por “extremamente forte” (ANEXO 2).

Participaram 12 (doze) painelistas treinados e validados para avaliação de intensidade de fragrância na referida escala, sendo que as amostras foram aplicadas em áreas delimitadas na parte interna do antebraço. Esses painelistas treinados eram colaboradores do Grupo Boticário.

A análise estatística dos dados foi realizada com o auxílio do software XLSTAT e utilizou a análise de variância com teste Fisher. Foi considerado um nível de confiança de 95%, ou seja, é necessário um p-valor inferior a 0,05 para que exista diferença significativa entre as amostras.

3.2.11.3 Teste com painel tátil-visual

Para realização técnica tátil-visual, os atributos avaliados foram espalhabilidade, absorção, pegajosidade, oleosidade, gordura, maciez, brilho e filme. (ANEXO 3).

Participaram 12 (doze) painelistas treinados e validados para avaliação tátil-visual de produtos cosméticos. Esses painelistas treinados eram colaboradores do Grupo Boticário. Eles avaliaram o perfil sensorial das amostras na região do antebraço e foi utilizada escala linear de 10 cm ancorada em zero por “ausente” e em 10 por “muitíssimo alto”.

Para análise utilizou-se o Sistema FIZZ, através do estudo da Análise de Variância (ANOVA). Foi considerado um nível de confiança de 95%, ou seja, é necessário um p-valor inferior a 0,05 para que exista diferença significativa entre as amostras.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 OBTENÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Citrus sinensis* (L.) Osbeck

Foram obtidos 420,0 g de material seco (cascas) que foi hidrodestilado em 2,5 litros de água com rendimento de 3,0 mL de óleo essencial.

4.2 CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO DE LARANJA

Conforme análise por CG-MS, como pode ser observado na Tabela 9 e na FIGURA 19, o óleo de laranja apresenta em maior quantidade, em ordem decrescente: D-limoneno, mirceno, α -pineno, careno e linalol. As quantidades aparecem no CG-MS conforme o tempo de retenção no equipamento (TABELA 9) e (FIGURA 19):

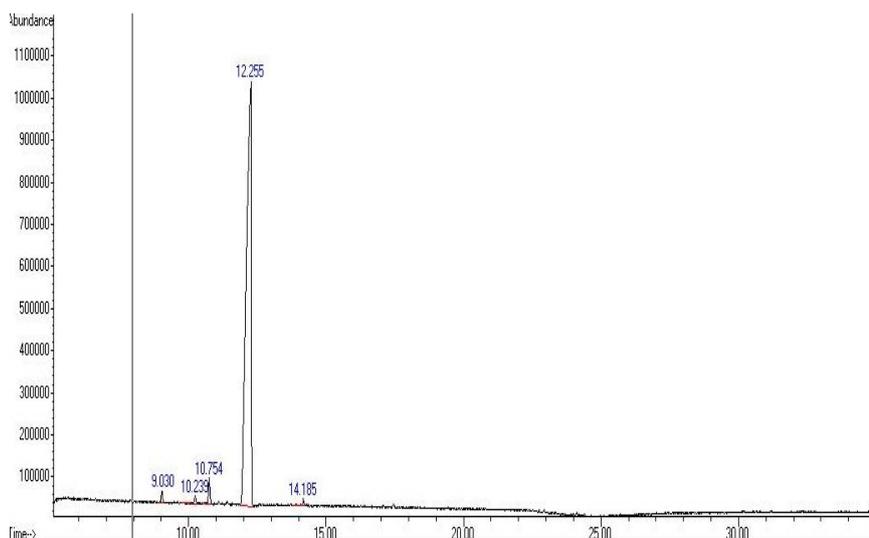
TABELA 9- COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS VOLÁTEIS IDENTIFICADOS EM ÓLEO ESSENCIAL DE LARANJA *Citrus sinensis* (L.) Osbeck OBTIDA POR CG-MS.

TEMPO DE RETENÇÃO (MIN)	NOME	QUANTIDADE (%)
9	α -pineno	0,8
10,2	careno	0,7
10,7	mirceno/ octanal	2,0
12,3	D-limoneno	96,0
14,2	linalol	0,5

FONTE: O autor (2017)

FIGURA 19- ÓLEO DE LARANJA ANALISADO POR CG-MS.

FONTE: O autor (2017).



A ordem de concentração dos compostos encontrados na análise do óleo de laranja corresponde aos mesmos encontrados na literatura, com pequenas variações nas quantidades, conforme observado na Tabela 10. Essas variações podem ser resultantes do tipo de análise empregada e outras variáveis da própria laranja, como data da coleta, clima e região, dentre outros fatores.

TABELA 10- COMPARAÇÃO DOS COMPOSTOS MAJORITÁRIOS ENCONTRADOS NO ÓLEO DE LARANJA (%)

COMPONENTES	CONCENTRAÇÃO (%)			
	SANCHEZ ET AL, 1994	BERTOLINI, 1999	MÜLLER, 2011	DADOS DA PESQUISA, 2017
D- limoneno	91,4	93,6	95,9	96,0
Mirceno / Octanal	4,3	1,8	1,8	2,0
α -pineno	1,4	0,4	0,4	0,8
Linalol	0,8	0,5	0,3	0,5
Sabineno	0,4	0,4	NQ*	NQ*
Decanal	0,4	0,6	NQ*	NQ*
β -felandreno	0,2	NQ	NQ*	NQ*
Geranial	0,2	0,1	0,1	NQ*
Careno	NQ*	NQ*	NQ*	0,7

FONTE: SANCHEZ et al., 1994; BERTOLINI, 1999; MÜLLER, 2011; Dados da pesquisa, 2017.

*NQ: não quantificado.

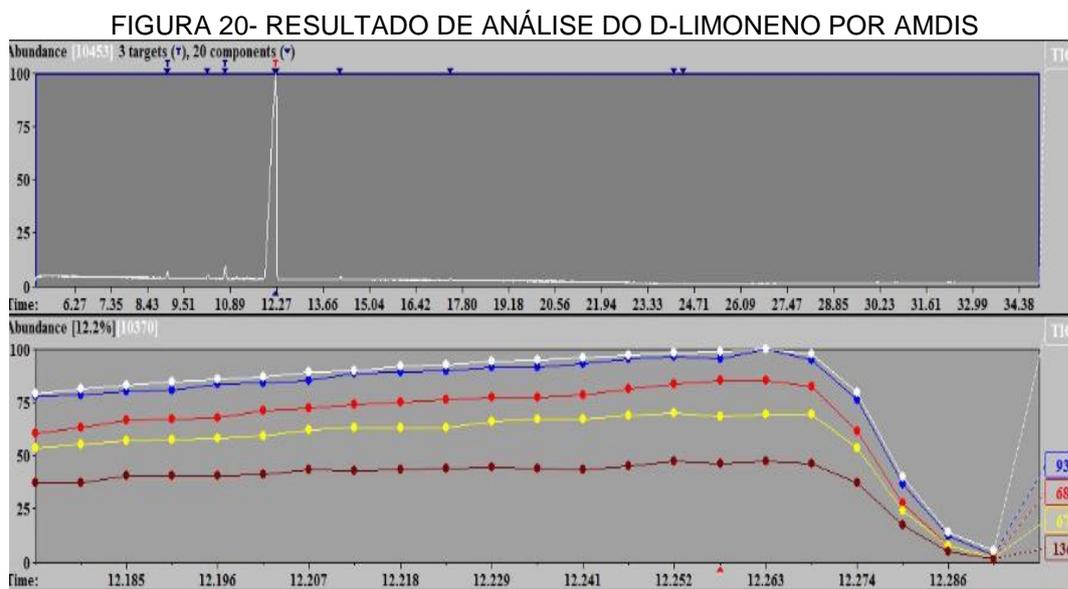
De acordo com Sanchez e colaboradores (1994); Bertolini (1999) e Müller (2011) os componentes em maior quantidade encontrados no óleo de laranja são D-limoneno, mirceno / octanal, seguidos de α -pineno e linalol, em ordem decrescente. Os resultados obtidos estão semelhantes aos desses autores. O único composto

encontrado nesse trabalho que não foi citado por esses autores foi o careno (0,7%). Mas encontra-se na literatura outros autores que também encontraram esse composto (MITIKU et al., 2000; MINH TU et al., 2002; VERZERA et al., 2004).

O D-limoneno é o componente majoritário encontrado no óleo de laranja e tem sido descrito para diversas atividades farmacológicas, incluindo efeito antioxidante, antifúngico, quimiopreventivo, além de propriedades anticarcinogênicas e antidiabéticas (WATTENBERG; COCCIA, 1991; CROWELL et al., 1992; ROBERTO et al., 2009; SINGH et al., 2010; MURALI; SARAVANAN, 2012).

O D-limoneno é um hidrocarboneto cíclico insaturado que pertence à família dos terpenos. Trata-se de um líquido incolor, volátil e oleoso e é naturalmente encontrado nas cascas das frutas cítricas, especialmente da laranja e limão. É ele o grande responsável pelo forte odor cítrico característico dessas frutas (SUN, 2007). Portanto, teoricamente, a manutenção do teor de limoneno mantém as características sensoriais olfativas do óleo em estudo. Além disso, por ser o componente majoritário, as análises de eficiência de encapsulação e perfil de liberação foram avaliadas baseados na quantidade de limoneno presente nas amostras.

Os espectros de massas dos constituintes foram comparados com os padrões existentes na biblioteca WIST do computador no aparelho. Em seguida, foram feitas comparações visuais com espectros de massa de substâncias encontrados na literatura. Os tempos de retenção dos picos maiores, mais facilmente identificados pelo espectro de massa, foram comparados com os tempos de retenção destas substâncias registrados em catálogos, observando-se a diferença que se manteve aproximadamente constante para as demais substâncias identificadas pelo computador do aparelho. O D-limoneno foi confirmado por deconvolução de seu espectro pelo software AMDIS, que compara cada ponto medido de um fragmento com os pontos medidos do íon principal e só considera os que apresentarem o mesmo comportamento, ou seja, o mesmo formato do pico (FIGURA 20)



FONTE: O autor (2017).

*Imagem cedida pelo MSc. Carlos Gemin, pelo laboratório de desenvolvimento analítico do Grupo Boticário.

4.3 MÉTODO DE OBTENÇÃO DAS MICROPARTÍCULAS: MICROESFERAS E MICROCÁPSULAS

4.3.1 Condições de preparo das micropartículas de alginato de sódio

4.3.1.1 Aspectos gerais

A técnica de preparo e o polímero primário alginato de sódio utilizado foram criteriosamente escolhidos para a finalidade desejada do produto como a obtenção de partículas com boa esfericidade e uniformidade granulométrica, proteção do óleo encapsulado, fácil desagregação e imediata liberação do ativo com ausência de resíduos na pele.

A técnica de gelificação iônica externa foi selecionada tendo como base o processo brando e biocompatível, sem uso de solventes orgânicos. A técnica também não utiliza temperaturas elevadas, essencial para proteção do óleo durante o preparo das partículas. O alginato de sódio foi selecionado por tratar-se de um biopolímero de ocorrência natural, biocompatível, não tóxico e hidrossolúvel.

Experimentos preliminares foram realizados, com foco nas características desejadas das micropartículas para a finalidade deste trabalho. Durante a sua

produção, através de técnica de gelificação iônica externa, vários fatores podem influenciar as características físicas e *performance* das partículas preparadas. Para isso, além das avaliações preliminares das formulações, também foram avaliados distância e angulação da agulha, tempo de contato e velocidade de rotação da solução de cloreto de cálcio e armazenamento do produto obtido (WATAYA, 2013; FUJIWARA, 2012; TORRES, 2006; TEIXEIRA, 2001). As micropartículas resultantes tiveram a homogeneidade, esfericidade, desagregação na pele e resistência observadas e comparadas. Esses parâmetros foram criteriosamente analisados, selecionados e mantidos durante todo o processo, a fim de manter a eficiência de encapsulação, forma e tamanho padronizados.

4.3.1.2 Considerações preliminares ao desenvolvimento do trabalho

O ácido algínico na sua forma sódica é um polímero natural que apresenta variabilidade em massa molar, composição e sequências variadas em resíduos de ácido manurônico e gulurônico e, assim, suas soluções aquosas apresentam variabilidade em viscosidade e capacidade diferenciada na formação do hidrogel quando em contato com a solução ou banho gelificante composto de cloreto de cálcio. Assim, somente alginatos que possuem uma concentração adequada de resíduos e sequências de ácido gulurônico possuem a capacidade de formação de hidrogel estável na presença de íons cálcio, neste caso, a obtenção de micropartículas, que ocorre pela técnica de gotejamento ou de gelificação iônica externa.

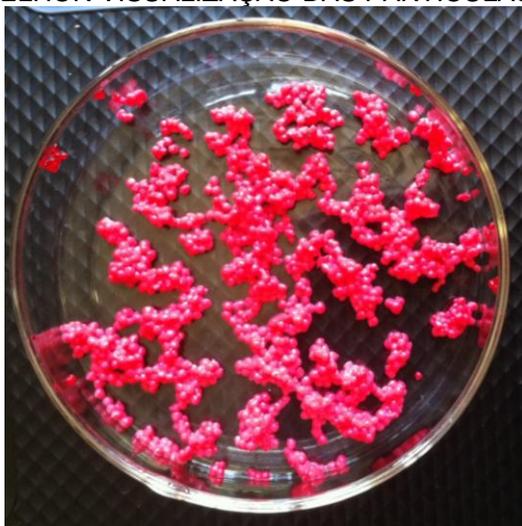
Ao gotejar a solução de alginato de sódio no banho gelificante a partícula forma-se instantaneamente pela troca dos íons sódio pelos íons cálcio na estrutura molecular, alterando a sua conformação. Contudo, alguns fatores básicos devem ser levados em conta como a finalidade do produto obtido e os parâmetros tecnológicos envolvidos. Assim, a primeira etapa foi a escolha do alginato de sódio apropriado, Protanal LF 20/40, FMC BioPolymer, que possui sequência e percentual adequado de ácido gulurônico para formação do hidrogel.

A segunda etapa refere-se à quantidade em massa a ser utilizada do polímero para obter partículas com características desejadas de espalhabilidade, tamanho e forma; concentração de cálcio no banho gelificante e condições operacionais. Após diversas tentativas a concentração mais adequada de alginato

de sódio para elaboração deste trabalho foi de 0,6 % em massa, a concentração do banho gelificante em cloreto de cálcio foi na proporção de 2:1 em massa em relação à concentração do alginato, agulha da seringa com diâmetro interno de 0,45 mm, altura do bocal da seringa até a superfície do banho gelificante de 10 cm, angulação da seringa de 45⁰, tempo de permanência no banho gelificante de 60 minutos e armazenamento das partículas em água destilada/deionizada, resultando em partículas esféricas e uniformes.

Nos testes preliminares foram avaliadas soluções de alginato de sódio com concentração de 0,4 %, 0,5 %, 0,6 %, 0,8 %, 1,0 %, 1,25 %, 1,5 % e 2,0 % em massa, baseados em estudos realizados anteriormente (LERTSUTTHIWONG et al., 2008; PRÜSSE et al., 2008; MÜLLER, 2011; WATAYA, 2013, XIAO et al., 2014). As imagens das formulações obtidas de solução em concentração de 0,4% e 2% em massa de alginato de sódio podem ser observadas a seguir (FIGURA 21) e (FIGURA 22):

FIGURA 21- MICROESFERAS OBTIDAS DE SOLUÇÃO EM CONCENTRAÇÃO DE 0,4 % EM MASSA DE ALGINATO DE SÓDIO COM UTILIZAÇÃO DE CORANTE VERMELHO LIPOFÍLICO FAT RED PARA MELHOR VISUALIZAÇÃO DAS PARTÍCULAS FORMADAS.



FONTE: O autor (2017).

FIGURA 22- MICROESFERAS OBTIDAS DE SOLUÇÃO EM CONCENTRAÇÃO DE 2 % EM MASSA DE ALGINATO DE SÓDIO COM UTILIZAÇÃO DE CORANTE VERMELHO LIPOFÍLICO FAT RED PARA MELHOR VISUALIZAÇÃO DAS PARTÍCULAS FORMADAS.



FONTE: O autor (2017)

Considerando as mesmas condições operacionais observa-se nas figuras que a forma e tamanho das partículas obtidas diferem claramente. Os pontos a serem discutidos incluem: (i) concentração polimérica utilizada, diâmetro interno da agulha, distância e angulação até a superfície do banho gelificante; (ii) velocidade de rotação e concentração da solução de cloreto de cálcio, tempo de permanência das partículas no banho gelificante e armazenamento do produto e, (i) concentração polimérica utilizada, diâmetro interno da agulha, distância e angulação até a superfície do banho gelificante.

Em trabalho de Prüsse e colaboradores (2008) foram comparadas as tecnologias de fluxo de ar co-axil, eletrostática, vibração e *Jet Cutter* para a produção de partículas de alginato de sódio. Todas as tecnologias estão baseadas na técnica de gelificação iônica externa ou de gotejamento e mostraram a influência da concentração em massa de 0,5 a 4,0 % de alginato de sódio (Protanal LF 20/40, FMC BioPolymer) em solução em água destilada/deionizada a temperatura ambiente.

As soluções de alginato de sódio apresentaram comportamento pseudoplástico não-Newtoniano, assim o valor da viscosidade dinâmica deve ser conectado ao índice de cisalhamento no qual a viscosidade foi determinada. O aumento exponencial da viscosidade dinâmica com o aumento da concentração de alginato de sódio foi observado em trabalho desenvolvido por Prüsse e

colaboradores (2008) onde a variação foi de menos 50 mPas a mais de 10.000 mPas.

Os mesmos autores consideram solução com concentração de até 2 % em massa de alginato de sódio como sendo de baixa viscosidade e aquelas com 3 % e 4 % em massa como de alta viscosidade.

Neste mesmo trabalho de Prüsse e colaboradores (2008) utilizando diferentes técnicas para obtenção de micropartículas de alginato de sódio com diâmetro de 800 (\pm 100) μ m, observou-se diferenças na altura entre o bocal de saída da solução de alginato e o banho coletor, constituído de 2 % em massa de cloreto de cálcio em água destilada/deionizada, sob agitação magnética. Na solução de cloreto de cálcio ocorre a gelificação das gotas de alginato de sódio em hidrogel de alginato de cálcio. Tanto a formação das gotas como a gelificação foram conduzidas em temperatura ambiente.

Utilizando a técnica de fluxo de ar co-axial com diâmetro interno da agulha de 0,4 mm e diâmetro externo de 0,7 mm e considerando soluções de concentração de 0,5; 1,0; 2,0; 3,0 e 4,0 % em massa de alginato de sódio, a distância entre o bocal da cânula e o banho coletor foi de 120 mm. As partículas preparadas com solução de alginato de sódio de baixa viscosidade, isto é, entre 0,5 e 2 % em massa apresentaram uniformidade de tamanho e forma arredondada. As partículas preparadas com solução de alginato de alta viscosidade, isto é, 3 e 4 % em massa também mostraram um tamanho uniforme, mas deformadas. As partículas originadas da solução em 3 % em massa de alginato apresentaram-se ligeiramente ovaladas e aquelas obtidas de solução em 4 % em massa apresentaram uma forma pronunciada de gota. A deformação das partículas é causada principalmente pelas forças de adesão das soluções de alginato mais concentradas na ponta do bocal onde as partículas produzidas são prontamente deformadas e em maior extensão que aquelas formadas a partir de soluções menos concentradas (PRÜSSE et al., 2008).

Na tecnologia eletrostática consideradas as soluções com concentração de 0,5; 1,0 e 2,0 % em massa de alginato e com diâmetro interno da agulha de 0,44 mm; solução a 3,0 % em massa de alginato e com diâmetro interno da agulha de 0,33 mm e solução a 4,0 % em massa de alginato e com diâmetro interno da agulha de 0,28 mm a distância entre o bocal da cânula e o banho coletor foi de 20 mm (PRÜSSE et al., 2008).

Nesta mesma técnica e para obter o tamanho desejado das partículas, consideradas as soluções em concentração de 0,5 e 1,0 % em massa de alginato e com diâmetro interno da agulha de 0,41 mm; soluções de concentração de 2,0 e 3,0 % em massa de alginato e com diâmetro interno da agulha de 0,25 mm e solução em concentração de 4,0 % em massa de alginato e com diâmetro interno de agulha de 0,15 mm a distância entre o bocal da cânula e o banho coletor estava entre 20-30 mm, exceto para a produção de partículas utilizando solução em concentração de 4 % em massa de alginato, onde foi ajustado para 8 mm (PRÜSSE et al., 2008).

A tecnologia eletrostática permitiu a produção de partículas uniformes em tamanho e de forma esférica sem deformações em todas as concentrações utilizadas de alginato.

Na tecnologia de vibração, consideradas as soluções em concentração de 0,5 e 1,0 % em massa de alginato e com diâmetro interno da agulha de 0,41 mm e frequência de 300 Hz ou 400 Hz respectivamente, pois nenhuma partícula pode ser produzida utilizando soluções de alginato mais concentradas, a distância entre o bocal da cânula e o banho coletor foi de 200 mm (PRÜSSE et al., 2008).

Na mesma técnica consideradas as soluções em concentração de 0,5; 1,0 e 2,0 % em massa de alginato e com diâmetro interno da agulha de 0,3 mm e frequência de 700 Hz, pois nenhuma partícula pode ser produzida utilizando soluções de alginato mais concentradas, a distância entre o bocal da cânula e o banho coletor foi de 800 mm (PRÜSSE et al., 2008).

Na mesma técnica consideradas as soluções em concentração de 0,5; 1,0 e 2,0 % em massa de alginato e com diâmetro interno da agulha de 0,5 mm e frequência de 240 Hz (solução em concentração em massa de 0,5 % de alginato) ou 310 Hz (soluções em concentração em massa de 1 ou 2 % de alginato) pois nenhuma partícula pode ser produzida utilizando soluções de alginato mais concentradas, a distância entre o bocal da cânula e o banho coletor foi de 110 mm (PRÜSSE et al., 2008).

A tecnologia ou método de vibração permitiu a produção de partículas somente em solução a 1 % em massa de alginato. As partículas preparadas em solução em concentração em massa de 0,5 % de alginato apresentaram forma levemente oval e não uniforme. Em solução a 2 % em massa de alginato as partículas apresentaram-se deformadas e a partir de concentrações mais elevadas não puderam ser preparadas (PRÜSSE et al., 2008).

O diâmetro da partícula foi proporcional à viscosidade do fluido processado até um certo limite, chamado de valor de viscosidade superior ou elevado e assim, para o sistema de alginato estudado, o valor da viscosidade foi excedido em soluções de concentrações de 3 e 4 % em massa de alginato (PRÜSSE et al., 2008).

Na tecnologia *Jet Cutter* consideradas as soluções em concentração de 0,5; 1,0; 2,0; 3,0 e 4,0 % em massa de alginato e com diâmetro interno da agulha de 0,5 mm a distância entre o bocal da cânula e o banho coletor foi de 1 m e 1,5 m e, nas mesmas concentrações de alginato com diâmetro interno da agulha de 0,4 mm a distância foi de 2,5 m e 3,5 m (PRÜSSE et al., 2008).

As partículas produzidas utilizando tecnologia *Jet Cutter* em solução em concentração de 0,5 % em massa de alginato nenhuma partícula pode ser produzida e em solução em concentração de 1 % em massa de alginato as partículas apresentaram-se mal formadas. A partir de soluções mais concentradas de 2 % e 3 % em massa de alginato foram obtidas partículas de forma arredondada e em solução a 4 % em massa de alginato de forma levemente ovalada. Isto ocorre porque as partículas produzidas com fluidos de alta viscosidade permanecem intactas ao entrar no banho gelificante devido à maior coesão, diferentemente de partículas obtidas a partir de fluidos de baixa viscosidade e pouca coesão que rompem sobre a superfície do banho de gelificação quando tentam entrar nele (PRÜSSE et al., 2008).

Neste mesmo método, em menor velocidade e maior proximidade ao banho gelificante, o problema pode ser resolvido e partículas de forma arredondada e com adequada distribuição de tamanho podem ser produzidas em todas as concentrações de alginato com exceção das produzidas em solução a 0,5 % em massa de alginato que exibiram alguma deformação (ovaladas) e distribuição levemente ampla de tamanho (PRÜSSE et al., 2008).

Em trabalho de Fundueanu e colaboradores (1999) na preparação de partículas de alginato de cálcio pela técnica de gelificação iônica externa ou de gotejamento o autor considera que os parâmetros experimentais de preparação foram escolhidos após várias tentativas. De fato, usando esta técnica, é fundamental obter gotículas esféricas que, após cair na solução de cloreto de cálcio, resultará em partículas esféricas. Para alginato de peso molecular baixo, a concentração ótima do polímero foi de 8 %, enquanto para polímero de alto peso molecular bons resultados

foram obtidos com solução de concentração 1 % em massa. Neste trabalho as concentrações do polímero foram fixadas em 1 e 8 % (m/v) respectivamente, desde que soluções mais concentradas apresentara-se muito viscosas, resultando em partículas deformadas. Em geral, as partículas obtidas pela técnica de gotejamento em ambas as concentrações poliméricas, em razão das condições suaves de preparo, mostraram uma superfície uniforme e diâmetro variando entre 1,0 e 1,4 mm com média de 1,2 mm. A distância ótima entre o orifício do bocal e a superfície da solução de cloreto de cálcio foi de 6 cm, pois distâncias menores conduziram a partículas caracterizadas por caudas curtas enquanto que a distâncias maiores foi observado deformação das mesmas.

Como observado (FIGURAs 21 e 22), as partículas preparadas com solução em concentração de 0,4 % em massa de alginato apresentaram-se menores e de forma menos definida que as partículas preparadas com solução em concentração de 2 % em massa de alginato. Considerando que todos os outros parâmetros permaneceram inalterados, a explicação para este efeito está na maior viscosidade da solução polimérica utilizada, que permite à gota permanecer intacta ao entrar no banho gelificante devido à maior coesão, segundo Prüsse e colaboradores (2008). Contudo, esta concentração polimérica de 2 % em massa mostrou-se muito elevada para os fins deste trabalho, pois as partículas mostraram-se muito rígidas durante a espalhabilidade na pele, ao contrário das partículas obtidas em solução de 0,4 % em massa de alginato que apresentaram-se muito frágeis para a encapsulação adequada do óleo de laranja.

Conforme verificado por outros autores, o aumento da concentração de alginato resulta em aumento da viscosidade e densidade da solução, influenciando diretamente a formação das gotas em uma temperatura constante. Além da influência da viscosidade, o diâmetro de abertura da agulha / bico gotejador influencia o tamanho da gota formada e, conseqüentemente, o tamanho da partícula. Sendo assim, para um mesmo diâmetro da agulha, soluções mais viscosas formam partículas maiores até um certo limite de viscosidade e também dependente da técnica utilizada (TORRES, 2006; AL-KASSAS et al., 2007; PRÜSSE et al., 2008; FUJIWARA, 2013).

Além disso, partículas formadas com alta concentração de alginato de sódio tendem a formar partículas mais compactas, mais rígidas e menos porosas que aquelas formadas com baixa concentração (AL-KASSAS et al., 2007).

Desse modo, levando-se em conta a rigidez e estrutura das partículas, padronizou-se a concentração de 0,6 % de alginato de sódio como base para as formulações desenvolvidas neste trabalho.

Quanto a altura entre o bocal da agulha e o banho gelificante, dependendo da tecnologia de gotejamento utilizada varia desde 8 mm até 3,5 m (PRÜSSE et al., 2008). Em tecnologias manuais com utilização de seringa e agulha de injetável, em estudos conduzidos por Wataya (2013) e Fujiwara (2012) não foram observadas diferenças significativas na forma das partículas em distâncias de 6 cm, 9 cm e 12 cm na obtenção de partículas esféricas e uniformes. Em trabalho desenvolvido por Fundueanu e colaboradores (1999) a distância utilizada foi de 6 cm.

Quanto a angulação da agulha em relação à superfície da solução gelificante foram comparadas, neste trabalho, angulações de 45° e 90° e não houve diferença significativa no tamanho e forma das partículas. Segundo estudo realizado por Wataya (2013) não houve diferença significativa no tamanho e forma das micropartículas para angulações de 53°, 58° e 90°. Em trabalho de Fujiwara e colaboradores (2012) foi utilizado 90° na angulação da agulha, obtendo-se partículas esféricas. Para a fabricação em grandes escalas, em processos industriais, é utilizado uma espécie de chuveiro para gotejamento das partículas, utilizando-se angulação de 180° (SYMRISE, 2007). Para este trabalho foi padronizado 45° na angulação da agulha, por melhor manuseio da seringa durante o gotejamento.

(ii) velocidade de rotação do banho gelificante, concentração da solução de cloreto de cálcio, tempo de permanência no banho gelificante das partículas formadas e armazenamento do produto.

A velocidade de rotação empregada na formação das partículas foi de 200 rpm. Em trabalho desenvolvido por López-Cacho e colaboradores (2012), foi demonstrado que quando uma solução de alginato de sódio é gotejada sobre uma solução de cloreto de cálcio, o índice de agitação produz uma força que modela o aspecto morfológico final das partículas, em relação a sua forma e superfície. Quando o índice de agitação aumenta, as partículas tendem a ser menos esféricas e mais irregulares na superfície com decréscimo na sua circularidade.

Os mesmos autores demonstraram através de imagens obtidas em microscopia eletrônica de varredura (MEV) partículas preparadas com índices de agitação de 100 rpm e 500 rpm onde se pode observar diferenças significativas na

forma e aspecto de superfície das partículas obtidas. A 100 rpm as partículas mostraram-se menores e mais arredondadas do que as obtidas a velocidade de 500 rpm, que apresentaram aspecto mais ovalado e superfície mais disforme. Em trabalho de Wataya (2013) não foram verificadas alterações em tamanho e forma de partículas sob agitação de 150, 250 e 350 rpm em solução de concentração de 0,5 e 1 % em massa de alginato de sódio e concentração de 2:1 em massa de cloreto de cálcio em relação à concentração de alginato no banho gelificante, com todos os outros parâmetros mantidos inalterados.

Neste trabalho foi utilizada solução com concentração de 2:1 em massa de cloreto de cálcio em relação à concentração de alginato de sódio em todas as formulações desenvolvidas. Diversos autores citam diferentes proporções entre cloreto de cálcio e alginato de sódio. As proporções mais utilizadas são 1:1, 2:1 e 4:1 (LERTSUTTHIWONG et al., 2008; MÜLLER, 2011; WATAYA, 2013; XIAO et al., 2014). Convém citar que em trabalho de Prüsse e colaboradores (2008) foi utilizada solução com concentração de 2 % em massa de cloreto de cálcio para solução de 0,5 a 4 % em massa de alginato de sódio.

As formulações desenvolvidas foram comparadas quanto ao tempo de imersão de 30 e 60 minutos em solução de cloreto de cálcio para avaliação do comportamento das partículas quando aplicadas sobre a pele. Ao se aplicar um produto na pele efetua-se a espalhabilidade e um certo atrito se desenvolve.

Assim, por análise sensorial prévia, observou-se que as partículas que permaneceram imersas durante 30 minutos apresentaram certa facilidade de desagregação e conseqüente liberação do óleo encapsulado, quando comparadas àquelas que permaneceram 60 minutos em imersão. Presume-se que em tempo de reação de 30 minutos formou-se menos ligações iônicas com o cátion Ca^{+2} , o que resultou em uma rede gel menos rígida conduzindo em maior facilidade de desagregação no processo de espalhabilidade do produto sobre a pele.

Esta observação está de acordo com estudos realizados por Teixeira (2011) onde foi calculado o tempo ideal de contato da solução de alginato de sódio com cloreto de cálcio, que afeta diretamente a ligação entre esses componentes. Neste estudo foi avaliado a concentração de íons cálcio nas partículas de alginato de sódio durante 24 horas. Com 60 minutos de imersão as partículas já possuíam em torno de 85 a 90 % do cálcio total que seria absorvido, já sendo o tempo suficiente para obtenção de partículas rígidas e resistentes.

Quanto ao armazenamento, inicialmente as micropartículas foram preparadas e mantidas em vidro relógio para secagem à temperatura ambiente. Porém, ocorria evaporação de água e perda de componentes, ocorrendo deformação na esfericidade, conforme citado por López-Cacho e colaboradores (2012). Segundo os autores, a secagem das partículas à temperatura ambiente é lenta e progressiva e pode influenciar o tamanho, forma, propriedades mecânicas e cinética de liberação do óleo encapsulado.

Em trabalho de Prüsse e colaboradores (2008) após o preparo, as partículas foram estocadas em refrigerador por 2 (dois) dias na mesma solução de cloreto de cálcio antes de serem caracterizadas quanto ao tamanho e forma. Este procedimento garantiu que o processo de gelificação foi efetuado e que não ocorreria mais contração das partículas. A partir destes dados, neste trabalho, as micropartículas passaram a ser armazenadas em água destilada para preservação das características iniciais.

4.3.2 Avaliações preliminares das formulações das microesferas

Além das técnicas padronizadas para o preparo das formulações, a concentração de alginato de sódio e de cloreto de cálcio, bem como os emulsionantes a serem utilizados influenciam diretamente a eficiência de encapsulação e estabilidade da partícula, bem como sua estrutura e rigidez.

4.3.2.1 Emulsionantes para preparo da emulsão

Para a formação das microesferas, primeiramente é preparada a emulsão para gotejamento na solução de cloreto de cálcio. Essa emulsão deve ser estável afim de formar uma partícula estável e homogênea. Desse modo, foram realizados testes preliminares com diferentes emulsionantes e avaliados a estabilidade da emulsão após 24 horas. Foram preparadas emulsões baseadas em diferentes autores e combinações de tensoativos conforme a Tabela 11.

TABELA 11- EMULSÕES PREPARADAS BASEADAS EM DIFERENTES AUTORES E COMBINAÇÕES DE EMULSIONANTES

EMULSIONANTES	REFERÊNCIAS	RESULTADO
Poloxamer 407	Adaptado de WATAYA, 2013	Emulsão separou de fase após 24 horas
Poloxamer 407 e monoestearato de glicerila	Adaptado de XIAO et al, 2014; WATAYA, 2013	Emulsão separou de fase após 24 horas
Tween 80 e monoestearato de glicerila	Adaptado de XIAO et al, 2014	Emulsão separou de fase após 24 horas
Tween 80	Adaptado de MÜLLER, 2011	Emulsão separou de fase após 24 horas
Tween 80 e Span 60	Adaptado de XIAO et al, 2014; Wataya, 2013; MÜLLER, 2011	Emulsão estável após 3 meses de preparo

FONTE: O autor (2017)

De acordo com os resultados (TABELA 11), com exceção da emulsão contendo Tween 80 e Span 60, todas as demais foram instáveis, ocorrendo separação de fase após 24 horas e não sendo indicada para a formação das partículas. Desse modo, optou-se pela emulsão contendo Tween 80 e Span 60 para o preparo das demais microesferas.

Após encontrada a concentração de alginato de sódio e emulsionantes ideais para a finalidade deste trabalho, foram derivadas sete formulações, com variação na concentração de goma arábica (1,0 a 2,0 %) e maltodextrina (1,0 a 2,0 %), conforme descrito em Material e Métodos.

4.3.3 Avaliações preliminares das formulações de microcápsulas

Para a formação das microcápsulas, teve-se como base os testes preliminares com diferentes concentrações de alginato de sódio e cloreto de cálcio que foram utilizados para o preparo das microesferas.

As microcápsulas, por tratarem de uma formulação sem emulsionantes, além dos testes preliminares com o polímero primário alginato de sódio, também foi verificado um polímero secundário a ser utilizado. No caso, foram avaliadas diversas concentrações da goma xantana a fim da melhor performance das partículas para o objetivo do trabalho.

4.4 Avaliação das microcápsulas através de análise sensorial prévia

O uso de micropartículas, seja microcápsulas ou microesferas é amplamente realizado em vários setores alimentícios, cosméticos e farmacêuticos, como já citados anteriormente. Diversos artigos citam encapsulação de óleos essenciais e outros ativos utilizando alginato de sódio sozinho ou associado a outros compostos como quitosana, carbopol, gomas e maltodextrina, entre outros (TU et al., 2005; LIRA et al., 2009; SARAVANAN; RAO, 2010; DOHNAL, STEPANEK, 2010; MENNINI et al., 2012; GOMBOTZ, PETTIT, 1995). Porém, em sua grande maioria, a finalidade é apenas a proteção do ativo para aplicação em produtos diversos. São raras as publicações que citam a encapsulação e posterior inserção em algum veículo para aplicação tópica, com consequente proteção do ativo, liberação apropriada na pele durante espalhabilidade e sua análise sensorial.

O grande desafio desse trabalho foi estabelecer a proporção entre proteção e liberação adequada do óleo encapsulado. Ou seja, a produção de uma micropartícula eficaz, que realmente proteja o óleo de laranja contra oxidação e degradação e mantenha suas características sensoriais, como cor e odor; e sua total liberação na pele desencadeada pela espalhabilidade, sem que mantenha resíduo do material encapsulante.

As micropartículas obtidas foram avaliadas em relação à forma e manutenção da forma, análise sensorial prévia (odor, emoliência, espalhabilidade) e liberação do óleo encapsulado após aplicação na pele (TABELA 12):

TABELA 12- CARACTERÍSTICAS DAS MICROPARTÍCULAS OBTIDAS EM RELAÇÃO A FORMA E MANUTENÇÃO DA FORMA, ANÁLISE SENSORIAL PRÉVIA (ODOR, EMOLIÊNCIA, ESPALHABILIDADE) E LIBERAÇÃO DO ÓLEO ENCAPSULADO APÓS APLICAÇÃO NA PELE.

FORMULAÇÕES	MICROPARTÍCULA	MANUTENÇÃO DA FORMA DA PARTÍCULA / ANÁLISE SENSORIAL PRÉVIA / LIBERAÇÃO DO ÓLEO ENCAPSULADO
F1	Microesfera	Não desagrega, mantém a forma, percebe-se por análise sensorial prévia a presença do óleo encapsulado
F2, F3, F4	Microesfera	Não desagrega, mantém a forma, mas com diminuição de volume (achatamento), percebe-se por análise sensorial prévia a presença do óleo encapsulado

FORMULAÇÕES	MICROPARTÍCULA	MANUTENÇÃO DA FORMA DA PARTÍCULA / ANÁLISE SENSORIAL PRÉVIA / LIBERAÇÃO DO ÓLEO ENCAPSULADO
F5, F6, F7	Microesfera	Não desagrega, mais rígidas que as anteriores, mantem a forma, mas com diminuição de volume (achatamento), percebe-se por análise sensorial prévia a presença do óleo encapsulado
F8	Microcápsula	Desagrega totalmente, não deixa resíduo sobre a pele, percebe-se por análise sensorial prévia a liberação do óleo

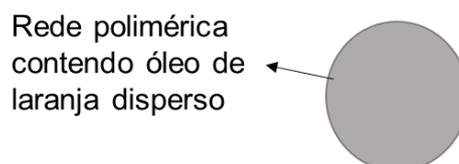
FONTE: O autor (2017)

4.4.1 Formação das microesferas

As partículas F1 a F7 são classificadas como microesferas. Nessas partículas, ocorre formação de emulsão - antes do gotejamento em cloreto de cálcio - composta pelos agentes de viscosidade (alginato de sódio, maltodextrina, goma arábica), emulsionantes e o óleo de laranja.

Desse modo, formam partículas esféricas homogêneas, com o óleo disperso por toda a matriz polimérica (FIGURA 23)

FIGURA 23- ESQUEMA DE FORMAÇÃO DE MICROESFERAS



FONTE: Adaptado de SCHAFFAZICK et al., 2003

De acordo com Silva e colaboradores (2003), as microesferas podem resultar em sistemas homogêneos ou heterogêneos. Essa classificação varia conforme as características da substância ativa. Se esta encontra-se dissolvida na matriz, resulta em sistemas homogêneos. Se encontra-se na forma de suspensão, com partículas suspensas, resulta em sistemas heterogêneos. Como o óleo de laranja compõe a emulsão formada antes do gotejamento, essa emulsão resultante forma microesferas homogêneas.

4.4.1.1 Microesferas contendo somente alginato de sódio (F1)

Na análise sensorial prévia, para as microesferas contendo somente alginato de sódio, não ocorre a desagregação da partícula quando espalhadas sobre a pele. A partícula mantém a forma inicial e o óleo continua dentro da partícula.

O hidrogel formado por alginato de sódio apresenta comportamento pseudoplástico não-Newtoniano, onde a viscosidade diminui com o aumento da taxa de cisalhamento (McHUGH, 1987, KELCO, 1996). Além de também influenciar a viscosidade, a quantidade de sequência de blocos G e M é responsável pela flexibilidade da cadeia e influencia diretamente a estabilidade e solubilidade (ERTESVAG E VALLA, 1998; REIS et al., 2006).

Para o alginato utilizado, com alta concentração de ácido gulurônico, ocorre uma maior interação iônica entre os blocos-G (blocos homopoliméricos de resíduos guluronato) e os íons cálcio. Essa interação iônica resultante durante o gotejamento do alginato de sódio na solução de cloreto de cálcio leva a formação de um gel termoestável rígido, poroso e resistente, mantendo suas propriedades por longo período de tempo. A formação desse hidrogel ocorre devido à ligação cruzada destes íons com os grupos carboxílicos dos resíduos do ácido gulurônico. Esta ligação forma o modelo conhecido como “caixa de ovo”, uma rede tridimensional no qual os íons divalentes encontram-se nas cavidades eletronegativas do alginato (FUNDUEANU et al., 1999; SIMPSON et al., 2004; KAWAGUTI; SATO, 2008; DOHNAL, STEPANEK, 2010;).

Esse modelo “caixa de ovo” mostra a importância dessas unidades G na gelificação do alginato. Segundo alguns autores, alginatos ricos em GG formam géis mais rígidos e resistentes, além de manutenção da integridade por um período superior. Portanto, a quantidade de resíduos G e o comprimento médio desses blocos são diretamente proporcionais ao potencial de formação e a força do gel (SIMPSON et al., 2004; REIS et al., 2006; TEIXEIRA, 2011). Gaserod e colaboradores (1998) estudaram e analisaram a difusão de proteínas de diversos tamanhos em gel de alginato de cálcio e os resultados mostraram que alginatos com maior quantidade de ácido gulurônico formam gel com maior coeficiente de difusão quando comparados à alginato com maior quantidade de ácido manurônico, indicando um hidrogel mais aberto e poroso.

A porosidade resultante das microesferas preparadas somente com alginato de sódio pode ocasionar a liberação inadequada do óleo durante armazenamento, afetando diretamente sua proteção e estabilidade. Desse modo, a importância da associação do alginato com algum outro componente, a fim de otimizar a performance das micropartículas requeridas. Diversos autores estudaram a associação de micropartículas de alginato a outros polímeros, como a poli-L-lisina e quitosana; ou gomas e gelatinas, e proteínas e peptídeos, a fim de melhorar o tempo de liberação da substância encapsulada (GOMBOTZ; PETTIT, 1995; TU et al., 2005; LIRA et al., 2009; SARAVANAN; RAO, 2010; DOHNAL, STEPANEK, 2010; MENNINI et al., 2012).

4.4.1.2 Microesferas contendo alginato de sódio e goma arábica (F2, F3 e F4)

Na análise sensorial prévia, as micropartículas contendo alginato de sódio e goma arábica não desagregam quando espalhadas sobre a pele. Elas mantêm a forma inicial, ocorrendo um achatamento, com diminuição do volume. O óleo continua presente dentro da partícula e não é liberado.

A goma arábica apresenta comportamento newtoniano (FIB, 2011). Um fluido newtoniano é caracterizado pela manutenção da viscosidade durante a taxa de cisalhamento. Ou seja, aplicando-se pressão no fluido, ele não altera sua viscosidade, assim como ocorre com a água e alguns óleos minerais (PEDRO, 2000).

Essa característica reológica pode ser a responsável por provocar o achatamento da partícula, porém, manter a partícula em sua integridade e não se romper e, conseqüentemente, não liberar o óleo. Essas características de não liberação do óleo também podem ser decorrentes do grande número de ramificações da goma arábica, que resulta em moléculas compactas, com volume hidrodinâmico relativamente pequeno (FIB, 2011).

Risch e Reineccius (1988) utilizaram goma arábica como encapsulante, com adição de maltodextrina para diminuição de custo. A eficiência de encapsulação foi em torno de mais de 80 %, que varia conforme concentração e viscosidade da emulsão e da proporção de goma arábica e maltodextrina.

Em diversos outros estudos, foram utilizados a goma arábica como material encapsulante, principalmente por apresentar propriedades emulsificantes. As

cadeias de polipeptídios hidrofóbicos adsorvem e ancoram as moléculas na superfície, enquanto os blocos de carboidratos inibem a floculação e coalescência por repulsão eletrostática e estérica (NUNES; MERCADANTE, 2007; KOBORI, 2010). Nestes estudos realizados, a eficiência de encapsulação foi de 69 a 96 %, variando conforme as condições específicas de cada estudo.

As micropartículas de alginato e goma arábica foram acondicionadas nos veículos água e gel de hidroxietilcelulose. Após dez dias de incorporação nesses veículos, as partículas foram avaliadas novamente. Na formulação F3, quando armazenada em gel de hidroxietilcelulose, as partículas desagregaram-se quando aplicadas sobre a pele e há a liberação do óleo. Porém, mesmo que as partículas sofreram desagregação, observou-se a presença de fragmentos sólidos após a espalhabilidade do produto.

4.4.1.3 Microesferas contendo alginato de sódio e maltodextrina (F5, F6, F7)

As partículas contendo adição de maltodextrina formam as partículas mais rígidas e com maiores tamanhos. Elas não desagregam durante espalhabilidade na pele, ocorre leve achatamento das partículas e o óleo mantém-se encapsulado. As emulsões com maltodextrina foram as que apresentaram maior viscosidade, necessitando de agulha de maior calibre (26 G) e formando partículas com o dobro de tamanho das demais, além de uma estrutura bem mais rígida.

Kha, Nguyen e Roach (2010) utilizaram matriz de maltodextrina para encapsulação de suco de *Momordica cochinchinensis* por *spray dryer*. Os maiores valores de eficiência de encapsulação encontrados no estudo são de aproximadamente 85 %, com a utilização de 20 % de maltodextrina.

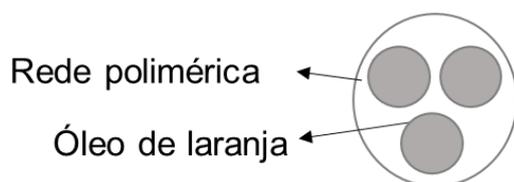
A grande maioria dos estudos que utilizam maltodextrina como encapsulantes são para finalidade alimentícia, apenas para proteção do ativo, onde as partículas podem e, muitas vezes, devem ser mais rígidas para proteção do material encapsulado. No caso do trabalho desenvolvido, esse açúcar não é indicado para tal finalidade, pois mantém a partícula muito rígida e não libera o óleo durante espalhabilidade na pele.

4.4.2 Formação das microcápsulas

A F8 resulta na formação de microcápsula, pois não contém a presença de emulsionantes na formulação. Ou seja, a formulação, antes de ser gotejada em cloreto de cálcio, apresenta-se na forma de uma suspensão, com hidrogel formado pelo alginato de sódio e goma xantana, e óleo disperso. A formação das microcápsulas ocorre a partir do gotejamento dessa suspensão em solução de cloreto de cálcio.

As microcápsulas resultantes apresentam o material encapsulante como revestimento, na parte externa, e o óleo de laranja permanece protegido em seu interior. Elas resultam em distribuição polinuclear do óleo (FIGURA 24):

FIGURA 24- ESQUEMA DE FORMAÇÃO MICROCÁPSULAS



FONTE: Adaptado de SCHAFFAZICK et al. (2003).

De acordo com Silva e colaboradores (2003), microcápsulas mononucleares ou polinucleares dependem, principalmente, da natureza dos ingredientes utilizados e do método escolhido para a fabricação das micropartículas.

Segundo Madene e colaboradores (2006), o processo de encapsulação utilizado irá influenciar diretamente diversas características das micropartículas resultantes, dentre elas o formato da matriz formada (filme, esfera, partícula irregular), a estrutura (porosa ou compacta) e estrutura física (amorfa ou cristalina) que, por sua vez, irão influenciar a difusão do óleo ou as substâncias externas (oxigênio, solvente) bem como a estabilidade do óleo durante armazenamento.

De acordo com Amrita e colaboradores (1999), a escolha do material encapsulante depende de diversos fatores como o objetivo e especificidade do produto encapsulado, natureza do material encapsulante, o processo de encapsulação e custo apropriado.

4.4.2.1 Microcápsulas contendo alginato de sódio e goma xantana (F8)

As microcápsulas contendo alginato de sódio e goma xantana apresentaram a melhor performance quando comparada as demais microesferas, com relação à forma e manutenção da forma, e análise sensorial prévia (odor, emoliência e espalhabilidade). Elas desagregam totalmente quando espalhadas sobre a pele, liberam totalmente o óleo e não deixam nenhum resíduo do material encapsulante. Devido à sua ótima performance para o objetivo do trabalho, essa formulação foi escolhida como a formulação final para realização do estudo de estabilidade, eficiência de encapsulação, perfil de liberação e análise sensorial.

A suspensão formada entre o hidrogel e o óleo necessita de manutenção da agitação e temperatura antes da inserção na seringa. Ela apresenta-se mais viscosa, por isso a necessidade de uma agulha maior (26 G), quando comparada às formulações F1, F2, F3 e F4. A suspensão foi mantida sob temperatura constante para não alterar a viscosidade e, conseqüentemente, manter o tamanho das micropartículas.

Em estudo realizado por Rosa (2012) na encapsulação por liofilização de extrato de amora-preta, rico em compostos fenólicos, a eficiência foi dependente do revestimento utilizado. Foram realizados testes comparativos entre três formulações: com goma xantana; com quitosana e hidrogel de xantana; e quitosana, sendo que os melhores resultados de eficiência de encapsulação foram obtidos com a utilização de apenas goma xantana como material de revestimento (70,6 %).

Todos os materiais encapsulantes foram criteriosamente selecionados a fim de obter a melhor performance e proteção do óleo. No caso da F8, por resultar em microcápsula, ocorre a manutenção das propriedades e características olfativas do óleo. Segundo Trubiano e Lacourse (1988) e Shahidi e Han (1993), para encapsulação de compostos aromáticos, o carreador não deve interferir nem reagir com o óleo encapsulado, deve ser de fácil manuseio, obter o máximo de proteção do óleo contra fatores externos, obter boas propriedades de estabilidade e comportamento de liberação efetivo a fim de liberar o óleo no tempo e local desejados. De acordo com Lubbers e colaboradores (1998), o processo de preparo e armazenamento das partículas, material de embalagem e matérias-primas utilizadas geralmente podem causar modificações na característica olfativa do óleo

pela redução da intensidade da fragrância ou pela produção de compostos secundários.

A goma xantana foi selecionada devido às suas diversas vantagens para uso em cosméticos e ao perfil reológico ideal para o objetivo do trabalho, para aplicação na pele e não manutenção de resíduos dos componentes utilizados. Essa goma geralmente é considerada atóxica e não irritante nos níveis empregados em produtos cosméticos. É compatível com a maioria dos outros componentes, apresenta solubilidade tanto em água fria quanto em água quente, e tem boa estabilidade e propriedades de viscosidade sobre uma ampla faixa de pH e temperatura (CHOLLET et al, 1999; BUMPHREY, 1986).

Os géis de goma xantana são classificados com comportamento altamente pseudoplástico, sendo diretamente proporcional à taxa de cisalhamento. A viscosidade volta ao normal imediatamente na liberação da tensão de cisalhamento (PEDRO, 2000; CHOLLET et al, 1999; BUMPHREY, 1986).

O comportamento pseudoplástico do hidrogel é a grande vantagem da microcápsula formada e a principal responsável por obter as características ideais de proteção e liberação do óleo. Durante a espalhabilidade das micropartículas na pele, ocorre o aumento da taxa de cisalhamento. Esse aumento da taxa de cisalhamento resulta na diminuição da viscosidade da microcápsula e consequente liberação do óleo anteriormente protegido em seu interior. Desse modo, o óleo de laranja e seu odor característico é liberado na sua maneira pura e protegida.

A goma xantana juntamente com o alginato de sódio, apresentam comportamento sinérgicos com relação a reologia, intensificando o comportamento pseudoplástico. Quando a goma é misturada com certos agentes inorgânicos de suspensão, tais como magnésio, silicato de alumínio ou gomas orgânicas, podem ocorrer efeitos reológicos sinérgicos (WANG et al., 2006; GABRIËLS, PLAIZIER-VERCAMMEN, 2004; KOVACS, 1973). Provavelmente esse é o grande fator que ocasione o melhor rompimento da partícula e liberação do óleo.

Essa goma também pode ser utilizada para produção de matrizes que exibem um alto grau de entumescimento devido à absorção de água e pequena quantidade de erosão devido ao relaxamento do polímero. É bastante utilizada em combinação com diversos outros ingredientes. Zeng e colaboradores (2004) utilizaram a goma xantana associada com alginato de sódio para encapsulação de ranitidina para liberação controlada. Associando a goma ao alginato e a acetato de

zinco, os autores conseguiram liberação controlada do medicamento durante 24 horas. Já a associação do alginato com a goma xantana para fim cosmético não foi encontrado na literatura.

Sendo assim, por se tratar da formulação com melhor performance para o presente trabalho, a F8 foi escolhida para os demais testes de eficiência de encapsulação, perfil de liberação, estudo de estabilidade e análise sensorial. Essa formulação foi mantida nos veículos água e gel de hidroxietilcelulose para as demais análises.

4.5 CARACTERÍSTICAS DO VEÍCULO GEL DE HIDROXIETILCELULOSE (NATROSOL®)

Na observação quanto as características físico-químicas do Gel de Hidroxietilcelulose, foi verificado que o pH manteve-se constante entre 6,0 e 6,5 no produto recém preparado, após 24 horas e após uma semana, com e sem a presença das partículas.

Optou-se pelo gel de hidroxietilcelulose devido ao seu alto uso em cosméticos, por tratar-se de uma formulação em gel incolor, que permite a observação das partículas a olho nu e verificação de sua estabilidade. Além disso, por tratar-se de um gel não iônico, não influencia diretamente no roubo de cargas e desestabilização das micropartículas, aumentando assim sua estabilidade.

Outra opção de veículo em gel bastante utilizado atualmente são os carbômeros e a carboximetilcelulose. As amostras iniciais foram acondicionadas em carbômero, porém, ocorreram grande desestabilização após 24 horas.

Em estudo realizado por Nguyen e colaboradores (2015), foi desenvolvido nanocarreadores com base em alginato de sódio para aplicação tópica. Como veículo da formulação, foi utilizado carboximetilcelulose e carbômero 940 (Carbopol® 940). Os dois géis apresentam carga negativa quando dispersos em água e liberam íons sódio que podem desestabilizar as partículas. Desse modo, durante o estudo de estabilidade das formulações após 35 dias houve degradação das nanopartículas. Esse aumento da porosidade das partículas ou baixa estabilidade pode estar associado à natureza química do veículo, à força iônica ou ao pH.

O carbômero, quando na forma de pó, a maior parte das carboxilas encontra-se em um emaranhado compacto, na forma neutralizada. Ao ser hidratado, parte das partículas ainda será encontrada no estado associado (COOH), mas o número de cargas negativas aumenta (COO-), fazendo a molécula desenrolar e estender, o que aumenta ligeiramente sua viscosidade. Quando é adicionado uma base à formulação, ocorre a dissociação de mais carboxilas e o aumento da repulsão entre as moléculas de carbômero, resultando em maior organização e formação do gel (LABA, 1993; LOCHHEAD, 2015).

4.6 EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAÇÃO E CAPACIDADE DE ARMAZENAMENTO

A eficiência de encapsulação teve média de 87% (Tabela 13):

TABELA 13- AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAÇÃO DE MICROCÁPSULAS CONTENDO ÓLEO DE LARANJA

AMOSTRA	QUANTIDADE TEÓRICA DE ÓLEO (G)	QUANTIDADE REAL DE ÓLEO OBTIDO POR CG (G)	EE
1	0,0101721	0,0085	84%
2	0,0100212	0,0089	89%
3	0,0100293	0,0087	87%

FONTE: O autor (2017)

*Análise realizada em triplicata.

Diferentes metodologias de encapsulação e suas variações, materiais de revestimento e suas concentrações e características, além de diversas outras variáveis, fornecem diferentes resultados para eficiência de encapsulação obtida.

Gonsalves e colaboradores (2009) realizaram a microencapsulação do óleo essencial de *Citrus sinensis* (L) Osbeck pelo método da coacervação simples. No estudo foi utilizada a quitosana como polímero formador de parede e a eficiência de encapsulação foi de apenas 31,16 %.

Carmona (2011) também realizou estudos para microencapsulação de óleo de laranja. O método utilizado foi a secagem por atomização onde foram realizados vários testes para padronização do processo. Também foram avaliadas diferentes misturas de materiais de parede contendo concentrado proteico de soro de leite, maltodextrina e goma arábica em diferentes razões ou puros. No estudo foram

avaliados e comparados diferentes variáveis, entre as quais o teor de sólidos totais, teor de óleo, pressão de homogeneização, temperatura de saída do secador, higroscopicidade, umidade, óleo total e quantidade de óleo encapsulado. Todas essas variáveis associadas levaram a diferentes resultados de eficiência de encapsulação, que variaram de 49 a 84 %.

Os maiores valores de eficiência de encapsulação foram encontrados em estudos realizados por Müller (2011). Foi analisada a viabilidade do uso da microencapsulação de óleo essencial de laranja através de métodos *spray dryer*, utilizando a maltodextrina e amido modificado, e microencapsulação por coacervação, utilizando alginato de sódio. As eficiências de encapsulação foram superior a 99 % para os dois métodos.

4.7 PERFIL DE LIBERAÇÃO DO ÓLEO ENCAPSULADO

Para a avaliação do perfil de liberação, quantifica-se o óleo remanescente no sistema, a partir da quantidade inicial. Deve-se atentar, neste caso, ao ambiente onde o sistema é incubado, cuidando-se para mimetizar o máximo possível as condições de temperatura e umidade que se deseja criar para o sistema (HSIEH, CHANG e GAO, 2006; CAMERLO et al., 2013).

Os valores de óleo essencial de laranja que permaneceram encapsulados nas microcápsulas durante o período de tempo avaliado e condições de armazenamento estão descritos na Tabela 14:

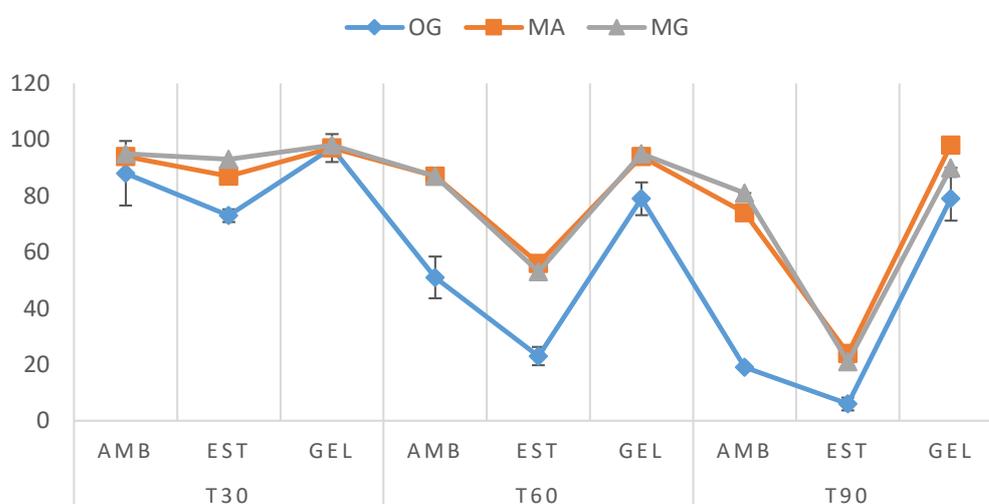
TABELA 14- PERFIL DE LIBERAÇÃO DO ÓLEO ENCAPSULADO NO ÓLEO DISPERSO NO GEL (OG), MICROCÁPSULAS NA ÁGUA (MA) E MICROCÁPSULAS NO GEL (MG) APÓS 30, 60 E 90 DIAS NAS CONDIÇÕES AMBIENTE, ESTUFA E GELADEIRA.

TEMPO	CONDIÇÃO	QUANTIDADE DE ÓLEO ENCAPSULADO (%) E DESVIO PADRÃO					
		OG	DP	MA	DP	MG	DP
T30	Amb	88	±11,47	94	±3,86	95	±0,06
	Est	73	±2,27	87	±8,52	93	±0,08
	Gel	97	±4,97	97	±0,91	98	±3,66

TEMPO	CONDIÇÃO	QUANTIDADE DE ÓLEO ENCAPSULADO (%) E DESVIO PADRÃO					
		OG	DP	MA	DP	MG	DP
T60	Amb	51	±7,43	87	±1,21	87	±3,52
	Est	23	±3,25	56	±4,67	53	±4,87
	Gel	79	±5,82	94	±1,43	95	±1,78
T90	Amb	19	±0,48	74	±5,64	81	±2,84
	Est	6	±2,26	24	±5,72	21	±3,33
	Gel	79	±7,77	98	±2,49	90	±2,34

FONTE: O autor (2017)

FIGURA 25- REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DO PERFIL DE LIBERAÇÃO DO ÓLEO ENCAPSULADO NO ÓLEO DISPERSO NO GEL (OG), MICROCÁPSULAS NA ÁGUA (MA) E MICROCÁPSULAS NO GEL (MG) APÓS 30, 60 E 90 DIAS NAS CONDIÇÕES AMBIENTE, ESTUFA E GELADEIRA.



FONTE: O autor (2017).

O principal objetivo dessa análise foi avaliar o perfil de liberação do óleo encapsulado quando comparado ao óleo não encapsulado. E ainda, assim, verificar em qual veículo as micropartículas apresentam melhor comportamento de proteção do óleo seja na água ou no gel de hidroxietilcelulose.

Após 30 dias de estabilidade, todas as amostras em todas as condições permaneceram com, no mínimo, 87 % do óleo encapsulado. Com exceção da amostra OG na estufa, que teve perda de 27 % do óleo e resultou em 73 % ainda encapsulado.

Já após 60 dias, as amostras na estufa obtiveram maior perda do óleo, como já era previsto para essa condição, devido à elevada temperatura que resulta em oxidação e volatilidade do óleo. Na estufa, foram mantidos 56 % e 53 % de óleo encapsulado para as amostras MA e MG, respectivamente. Já para a amostra OG

nessa mesma condição, restou-se apenas 23 % do óleo encapsulado, ou seja, 77 % do óleo foi oxidado e/ou volatilizado. Em temperatura ambiente, a amostra OG apresentava apenas 51 % do óleo encapsulado, enquanto as amostras MA e MG tinham 87 % ainda encapsulados. Na geladeira, a amostra OG apresentava 79 % de óleo encapsulado e 94 % e 95 % para as amostras MA e MG, respectivamente.

Após 90 dias de estabilidade, as amostras na estufa obtiveram grande perda na quantidade de óleo. Para a amostra OG, restou apenas 6 % do óleo, ou seja, quase todo o óleo já tinha sofrido volatilização e/ou oxidação. As amostras encapsuladas na estufa também tiveram bastante redução de óleo, restando 24 % e 21 % para as amostras MA e MG, respectivamente. Esses resultados ficaram bem próximos do valor de óleo não encapsulado quando em temperatura ambiente, que obteve 19 % de óleo. Nessa mesma temperatura, as amostras MA e MG apresentavam 74 % e 81 %, respectivamente, do óleo encapsulado. Em geladeira todas as amostras obtiveram grande quantidade de óleo ainda encapsulado, porém com menor quantidade para o óleo não encapsulado, com 79 %, 98 % e 90 %, respectivamente, para as amostras OG, MA e MG.

Sendo assim, em análise de todos os resultados apresentados, deve-se ressaltar algumas considerações. O óleo de laranja, quando encapsulado nas microcápsulas desenvolvidas, é protegido contra oxidação e/ou volatilização e mantém suas características iniciais. Para maior proteção do óleo e manutenção da integridade e características das microcápsulas, elas devem ser mantidas em temperatura de 5 a 25°C durante armazenamento. Além disso, não devem ser armazenadas em temperaturas elevadas e mantidas sob proteção de luz e umidade, assim como orientação para os demais medicamentos e cosméticos.

As microcápsulas permanecem estáveis e podem ser incorporadas nos dois veículos avaliados gel de hidroxietilcelulose e água destilada, pois não houve diferença significativa com o óleo encapsulado nos diferentes veículos, com resultados bastante próximos para as amostras MA e MG.

Essas orientações devem ser consideradas quando deseja-se uma maior manutenção da performance e proteção do óleo durante armazenamento.

Em estudo realizado por Müller (2011) foram desenvolvidos e comparados diferentes encapsulantes para o óleo de *Citrus Sinensis* (L.) Osbeck. A eficiência de encapsulação em temperatura ambiente, as micropartículas com amido modificado e maltodextrina mantiveram as concentrações de óleo essencial estáveis após 10

meses (300 dias) de preparo. Já as microcápsulas de alginato de sódio secas em estufa, após 5 meses (150 dias), mantiveram o teor de óleo essencial retido. Para ambas as partículas, foi mantida a concentração inicial de 99% do óleo encapsulado durante o período de estabilidade.

Carmona (2011) também realizou estudo de estabilidade de micropartículas de óleo de laranja. Na análise, as amostras foram armazenadas durante 5 semanas, a 40°C. No trabalho foi identificado o D-limoneno (principal constituinte do óleo de laranja) e os seus compostos resultantes da oxidação (epóxido de limoneno e carvona). Os resultados obtidos mostraram que partículas constituídas por altos teores de concentrado protéico do soro de leite foram mais estáveis contra a oxidação do que as produzidas a partir de goma arábica. Embora a goma arábica tenha proporcionado altas retenções de óleo, este polímero foi inferior em relação à proteína para proteger as micropartículas contra a oxidação.

Charve e Reineccius (2009), observaram que as proteínas tiveram uma alta retenção de limoneno (86 %) durante 28 dias de armazenamento. Estes autores apontam que as perdas de limoneno foram principalmente devidas à formação de produtos de oxidação, concluindo que partículas com proteínas como material encapsulante são menos permeáveis ao oxigênio do que os carreadores tradicionais e apresentaram superfície homogênea.

4.8 ESTUDO DE ESTABILIDADE DAS FORMULAÇÕES

4.8.1 Óleo de laranja disperso no gel de hidroxietilcelulose (OG)

As características organolépticas da formulação OG foram de acordo com os tempos e condições avaliadas (Tabela 15):

TABELA 15- CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS DA AMOSTRA OG EM DECORRÊNCIA DO TEMPO EM TEMPERATURA AMBIENTE, ESTUFA E GELADEIRA DURANTE ESTUDO DE ESTABILIDADE

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO	CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS	TEMPO (DIAS)			
		T0	T30	T60	T90
Ambiente (25 ± 2 °C)	Cor	N	N	LM	IM
	Odor	N	N	LM	IM
	Aparência	N	N	LM	IM

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO	CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS	TEMPO (DIAS)			
		T0	T30	T60	T90
Estufa (40 ± 2 °C)	Cor	N	N	M	IM
	Odor	N	N	M	IM
	Aparência	N	N	M	IM
Geladeira (5 ± 2 °C)	Cor	N	N	N	LM
	Odor	N	N	N	LM
	Aparência	N	N	N	LM

LEGENDA:

N - Normal, sem alteração em relação ao aspecto inicial.

LM - Levemente modificado em relação ao aspecto inicial.

M- Modificado em relação ao aspecto inicial.

IM – Intensamente modificada em relação ao aspecto inicial.

FONTE: O autor (2017)

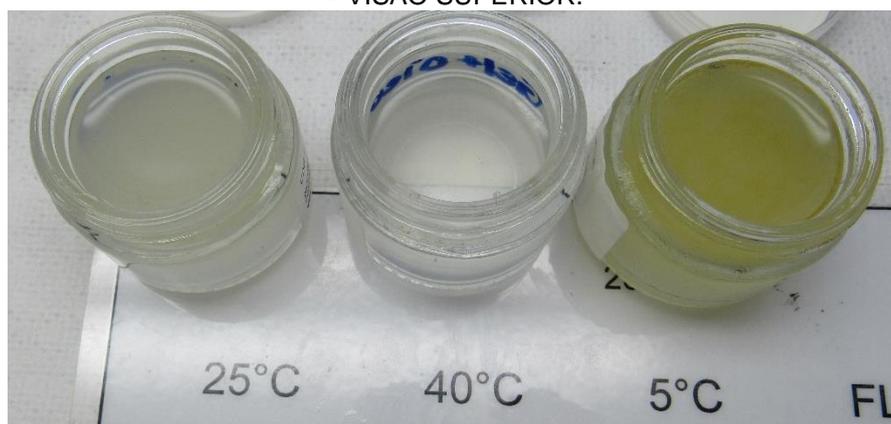
Essas características podem ser melhor visualizadas nas Figuras 26 e 27, que mostram as formulações após 90 dias no teste de estabilidade.

FIGURA 26- AMOSTRAS APÓS 90 DIAS DE ESTABILIDADE DO ÓLEO DE LARANJA DISPERSO NO GEL DE HIDROXIETILCELULOSE (OG) NAS CONDIÇÕES AMBIENTE, ESTUFA E GELADEIRA – VISÃO LATERAL.



FONTE: Imagem cedida pelo pesquisador MSc. Carlos Gemin, do laboratório de estabilidade do Grupo Boticário.

FIGURA 27- AMOSTRAS APÓS 90 DIAS DE ESTABILIDADE DE ÓLEO DE LARANJA DISPERSO NO GEL DE HIDROXIETILCELULOSE (OG) NAS CONDIÇÕES AMBIENTE, ESTUFA E GELADEIRA – VISÃO SUPERIOR.



FONTE: Imagem cedida pelo pesquisador Ms. Carlos Gemin, do laboratório de estabilidade do Grupo Boticário

As características organolépticas e as fotos das formulações condizem com a análise do perfil de liberação do óleo encapsulado. Como pode ser observado, após 90 dias de estabilidade, as amostras que em ambiente e estufa estavam intensamente modificadas, onde pode-se perceber pela imagem que a coloração do gel mudou bastante, ficando quase totalmente transparente, indicando a grande diminuição de óleo de laranja existente. E pelos resultados de perfil de liberação, nessas amostras restavam menos de 20 % de óleo encapsulado. Já em geladeira, onde havia 79% de óleo de laranja presente, percebe-se a amostra levemente modificada, com diminuição da intensidade da cor amarela com relação à amostra no tempo inicial.

4.8.2 Microcápsulas de óleo de laranja acondicionadas em água destilada (MA)

As características organolépticas da formulação MA foram de acordo com os tempos e condições avaliadas (Tabela 16):

TABELA 16- CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS DA AMOSTRA MA EM DECORRÊNCIA DO TEMPO EM TEMPERATURA AMBIENTE, ESTUFA E GELADEIRA DURANTE ESTUDO DE ESTABILIDADE

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO	CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS	TEMPO (DIAS)			
		T0	T30	T60	T90
Ambiente (25 ± 2 °C)	Cor	N	N	N	LM
	Odor	N	N	N	LM
	Aparência	N	N	N	LM

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO	CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS	TEMPO (DIAS)			
		T0	T30	T60	T90
Estufa (40 ± 2 °C)	Cor	N	N	LM	IM
	Odor	N	N	LM	IM
	Aparência	N	N	LM	IM
Geladeira (5 ± 2 °C)	Cor	N	N	N	N
	Odor	N	N	N	N
	Aparência	N	N	N	N

LEGENDA:

N - Normal, sem alteração em relação ao aspecto inicial.

LM - Levemente modificado em relação ao aspecto inicial.

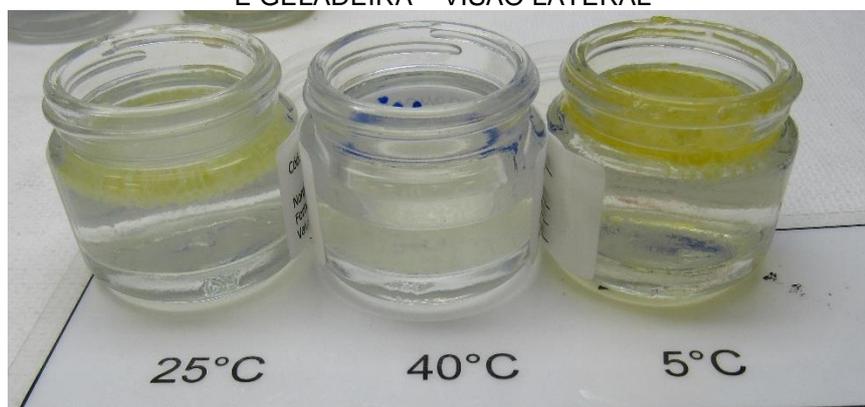
M- Modificado em relação ao aspecto inicial.

IM – Intensamente modificada em relação ao aspecto inicial.

FONTE: O autor (2017)

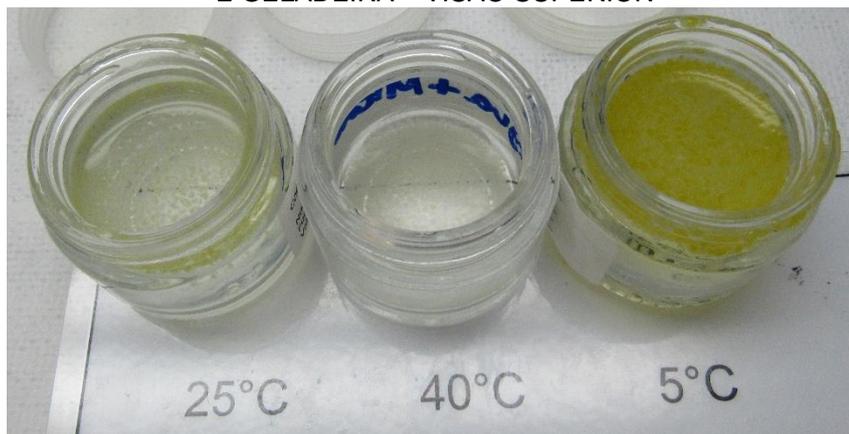
Essas características podem ser melhor visualizadas nas Figuras 28 e 29, que mostram as formulações após 90 dias de estudo de estabilidade.

FIGURA 28- AMOSTRAS APÓS 90 DIAS DE ESTABILIDADE DE MICROCÁPSULA DE ÓLEO DE LARANJA ACONDICIONADA EM ÁGUA DESTILADA (MA) NAS CONDIÇÕES AMBIENTE, ESTUFA E GELADEIRA – VISÃO LATERAL



FONTE: Imagem cedida pelo pesquisador Ms. Carlos Gemin, do laboratório de estabilidade do Grupo Boticário

FIGURA 29- AMOSTRAS APÓS 90 DIAS DE ESTABILIDADE DE MICROCÁPSULA EM ÓLEO DE LARANJA ACONDICIONADA EM ÁGUA DESTILADA (MA) NAS CONDIÇÕES AMBIENTE, ESTUFA E GELADEIRA – VISÃO SUPERIOR



FONTE: Imagem cedida pelo pesquisador Ms. Carlos Gemin, do laboratório de estabilidade do Grupo Boticário

Após 90 dias de estabilidade, a amostra em estufa estava intensamente modificada. Esse fato pode ser comprovado através do perfil de liberação, onde mostra que restava apenas 24 % de óleo de laranja encapsulado nessa condição. Como pode ser verificado na Figura 29, as microcápsulas aparecem quase transparentes, indicando que ainda há a sua presença, porém quase sem óleo em seu interior. Já a amostra em temperatura ambiente estava levemente modificada, com 74 % do óleo encapsulado. Observa-se a diferença da coloração entre as amostras, indicando a maior presença do óleo quando há maior intensidade da cor amarela. Na geladeira, a amostra apresenta aspecto normal, sem modificações, com 98 % do óleo encapsulado, verificado visualmente pela cor amarela intensa.

4.8.3 Microcápsulas de óleo de laranja acondicionadas em gel de hidroxietilcelulose (MG)

As características organolépticas formulação MG foram de acordo com os tempos e condições avaliadas conforme (Tabela 17):

TABELA 17- CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS DA AMOSTRA MG EM DECORRÊNCIA DO TEMPO EM TEMPERATURA AMBIENTE, ESTUFA E GELADEIRA DURANTE ESTUDO DE ESTABILIDADE

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO	CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS	TEMPO (DIAS)			
		T0	T30	T60	T90
Ambiente ($25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$)	Cor	N	N	N	LM
	Odor	N	N	N	LM
	Aparência	N	N	N	LM
Estufa ($40 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$)	Cor	N	N	LM	IM
	Odor	N	N	LM	IM
	Aparência	N	N	LM	IM
Geladeira ($5 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$)	Cor	N	N	N	N
	Odor	N	N	N	N
	Aparência	N	N	N	N

LEGENDA:

N - Normal, sem alteração em relação ao aspecto inicial.

LM - Levemente modificado em relação ao aspecto inicial.

M- Modificado em relação ao aspecto inicial.

IM – Intensamente modificada em relação ao aspecto inicial.

FONTE: O autor (2017)

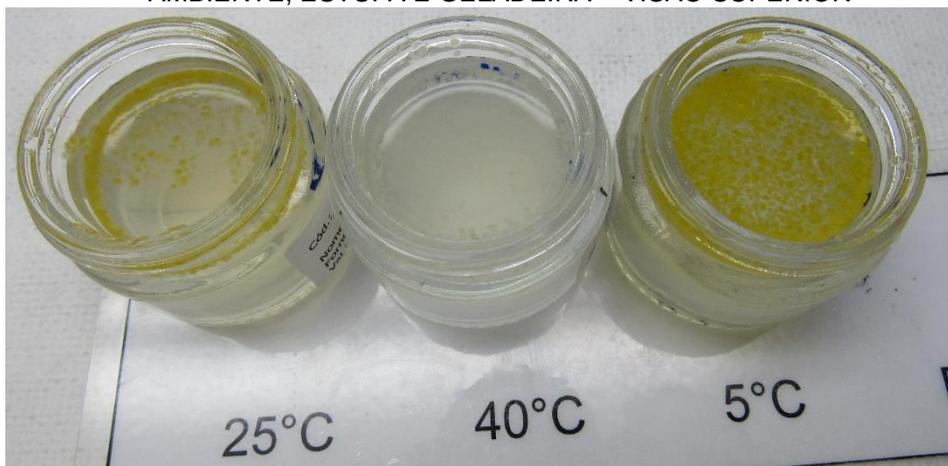
Essas características podem ser melhor visualizadas nas Figuras 30 e 31, que mostram as formulações após 90 dias de estudo de estabilidade.

FIGURA 30- AMOSTRAS APÓS 90 DIAS DE ESTABILIDADE DE MICROCAPSULAS DE ÓLEO DE LARANJA ACONDICIONADAS EM GEL DE HIDROXIETILCELULOSE (MG) NAS CONDIÇÕES AMBIENTE, ESTUFA E GELADEIRA – VISÃO LATERAL



FONTE: Imagem cedida pelo pesquisador MSc. Carlos Gemin, do laboratório de estabilidade do Grupo Boticário

FIGURA 31- AMOSTRAS APÓS 90 DIAS DE ESTABILIDADE DE MICROCÁPSULAS DE ÓLEO DE LARANJA ACONDICIONADAS EM GEL DE HIDROXIETILCELULOSE (MG) NAS CONDIÇÕES AMBIENTE, ESTUFA E GELADEIRA – VISÃO SUPERIOR



FONTE: Imagem cedida pelo pesquisador MSc. Carlos Gemin, do laboratório de estabilidade do Grupo Boticário

O estudo de estabilidade da amostra MG apresentou comportamento bastante semelhante à amostra MA, indicando que as microcápsulas podem ser acondicionadas tanto em água destilada quanto em gel de hidroxietilcelulose.

Sobre a estabilidade da amostra, a Anvisa pontua que:

...o produto deve manter-se íntegro durante todo o teste mantendo seu aspecto inicial em todas as condições, exceto em temperaturas elevadas. A cor e odor devem permanecer estáveis por, no mínimo, 15 dias à luz solar. Pequenas alterações são aceitáveis em temperaturas elevadas (ANVISA, 2004, pág. 30).

De acordo com os parâmetros definidos pela Anvisa, as amostras de óleo de laranja encapsuladas obtiveram boa performance e podem ser consideradas estáveis durante o período de estabilidade acelerada avaliado. Para maior preservação das amostras, elas devem ser mantidas em local fresco, seco e arejado, ao abrigo da luz solar.

Diversos fatores podem influenciar a estabilidade de qualquer produto cosmético. Cada ingrediente que o compõe pode ser responsável em afetar sua estabilidade e performance. Além da própria formulação, as variáveis durante o processo de fabricação, o material de embalagem e/ou acondicionamento, condições ambientais e de transporte também podem influenciar na estabilidade.

Essas alterações podem ser ocasionadas por fatores externos ou fatores inerentes à formulação, sendo classificadas como fatores extrínsecos ou intrínsecos, respectivamente. O tempo, temperatura, luz e oxigênio, umidade, material de

acondicionamento e microorganismos são os grandes representantes dos fatores extrínsecos. Já as incompatibilidades físicas (separação de fase, precipitação) e químicas (pH e demais reações e interações químicas) na formulação, compõe os fatores intrínsecos (ANVISA, 2004).

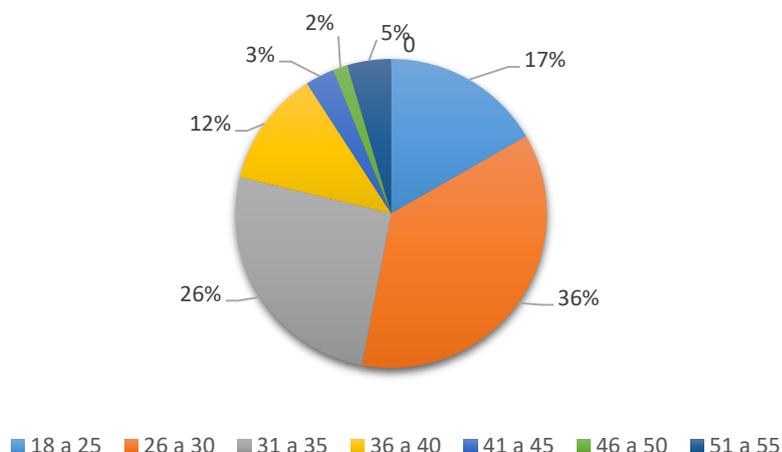
O estudo de estabilidade de produtos cosméticos é de extrema importância para o pesquisador e o consumidor final. Ele fornece informações com relação ao grau de estabilidade dos produtos nas variadas condições em que pode estar sujeito durante toda sua vida útil. Essa estabilidade é relativa e pode variar em função do tempo e de fatores que aceleram ou retardam as alterações no produto. As modificações dentro dos parâmetros aceitáveis e limites determinados podem não ser motivo de reprovação do produto. Tudo vai depender da interpretação dos dados obtidos e de critérios pré-estabelecidos segundo a experiência do formulador (ANVISA, 2004).

4.9 TESTE COM CONSUMIDOR E ANÁLISE SENSORIAL DO ÓLEO DE LARANJA MICROENCAPSULADO COMPARADO AO ÓLEO DE LARANJA NÃO ENCAPSULADO

4.9.1 Teste com consumidor

As consumidoras que participaram do teste tinham entre 18 a 55 anos, com maior porcentagem entre 18 a 35 anos (GRÁFICO 1)

GRÁFICO 1- FAIXA ETÁRIA DOS CONSUMIDORES



FONTE: O autor (2017).

Para agradabilidade geral e da fragrância, não houve diferença significativa entre as amostras. Já para análise visual e textura, houve diferença significativa, como pode ser observado na Tabela 18.

TABELA 18- MÉDIA ESTIMADA DAS AGRADABILIDADES COMPARATIVAS ENTRE AS AMOSTRAS DE ÓLEO DISPERSO NO GEL (OG) E MICROCÁPSULAS NO GEL (MG) NO TESTE COM CONSUMIDOR

AGRADABILIDADE	AMOSTRA	MÉDIA ESTIMADA	GRUPOS*
Geral	OG	6,9	A
	MG	6,7	A
Fragrância	OG	6,0	A
	MG	6,0	A
Textura	OG	7,2	A
	MG	6,5	B
Visual	OG	6,3	A
	MG	7,1	B

*Letras diferentes para os grupos indicam que houve diferença significativa, ou seja $p\text{-valor} < 0,05$ (ANOVA).

FONTE: O autor (2017)

Na agradabilidade geral, as consumidoras gostaram moderadamente das amostras, com média próximo de 7. Com relação à fragrância, elas gostaram ligeiramente, com média próximo de 6. A baixa agradabilidade da fragrância pode ser explicada pela sua baixa complexidade, uma vez que o produto foi constituído por óleo de laranja, conferindo um perfume cítrico simples, não comumente encontrado na indústria de cosméticos. Como ideias futuras para melhor aceitação do produto final, sugere-se combinar o óleo de laranja com um bouquet de notas aromáticas a fim de melhorar sua agradabilidade.

Houve diferença significativa entre as amostras para textura, sendo que a amostra OG foi melhor avaliada. A classificação ficou entre gostei ligeiramente e moderadamente (média de 6,5) para a amostra MG e gostei moderadamente (média 7,2) para a amostra OG. Nos comentários da pesquisa os consumidores afirmaram não gostar da dissolução das cápsulas por demorar mais do que gostariam para serem absorvidas.

Também houve diferença significativa no aspecto visual das amostras, porém a amostra MG foi melhor avaliada, representando que os consumidores gostaram mais do visual da amostra contendo as microcápsulas. A classificação ficou entre gostei ligeiramente e moderadamente (média de 6,3) para a amostra OG

e gostei moderadamente (média 7,1) para a amostra MG. Por ser um visual inovador, diferente do que é comumente usado nos cosméticos, as voluntárias avaliaram positivamente

Quando questionado com relação ao aspecto visual do produto, se é atrativo e inovador, 87 % das voluntárias concordaram para a amostra MG, com diferença significativa. Já para a amostra OG apenas 40% das voluntárias concordaram, como pode ser observado na Tabela 19.

TABELA 19- RESULTADOS DAS AMOSTRAS DE ÓLEO DISPERSO NO GEL (OG) E MICROCÁPSULAS NO GEL (MG) NO ATRIBUTO “ATRATIVO E INOVADOR”.

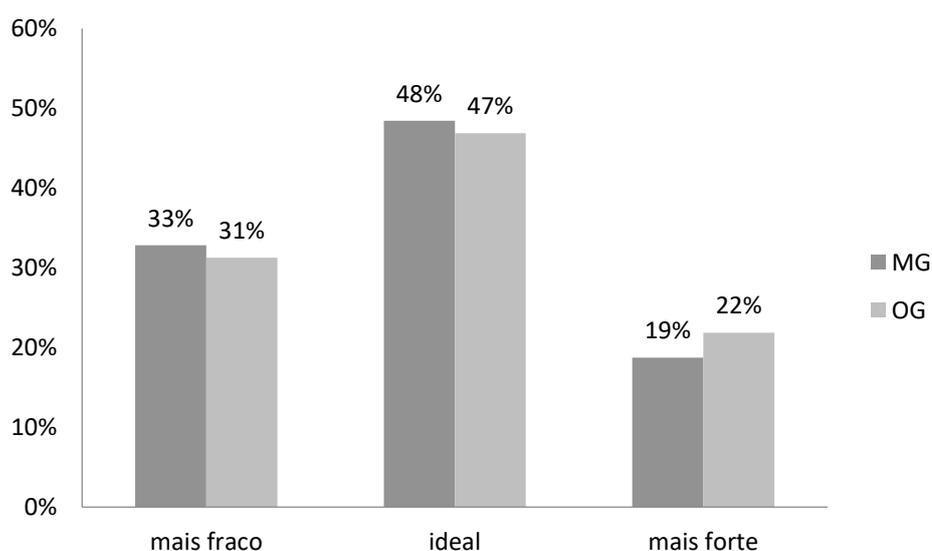
AMOSTRA	RESPOSTA	PROPORÇÃO	GRUPOS*
MG	Indiferente	6%	A
	Discordo	6%	A
	Concordo	88%	B
OG	Indiferente	25%	A
	Discordo	34%	A
	Concordo	41%	A

*Letras diferentes para os grupos indicam que houve diferença significativa, ou seja p-valor<0,05 (ANOVA).

FONTE: O autor (2017).

Com relação à intensidade percebida da fragrância, avaliada através da escala JAR, não houve diferença entre as amostras. Ambas tenderam a ser mais fracas do que as consumidoras gostariam, conforme observado no Gráfico 2.

GRÁFICO 2- RESULTADO DA INTENSIDADE DA FRAGRÂNCIA NA ESCALA JAR NO TESTE COM CONSUMIDOR



FONTE: O autor (2017).

Para impacto/ explosão da fragrância no momento da aplicação, as amostras ficaram bem semelhantes, com 80 % de concordância para ambas as amostras. Aqui, o fato de a fragrância estar encapsulada não interferiu na explosão e impacto da fragrância, ou seja, ambas amostras liberam o odor na mesma intensidade quando aplicadas sobre a pele.

TABELA 20 - RESULTADOS DAS AMOSTRAS DE ÓLEO DISPERSO NO GEL (OG) E MICROCÁPSULAS NO GEL (MG) NO ATRIBUTO "IMPACTO/ EXPLOSÃO DA FRAGRÂNCIA".

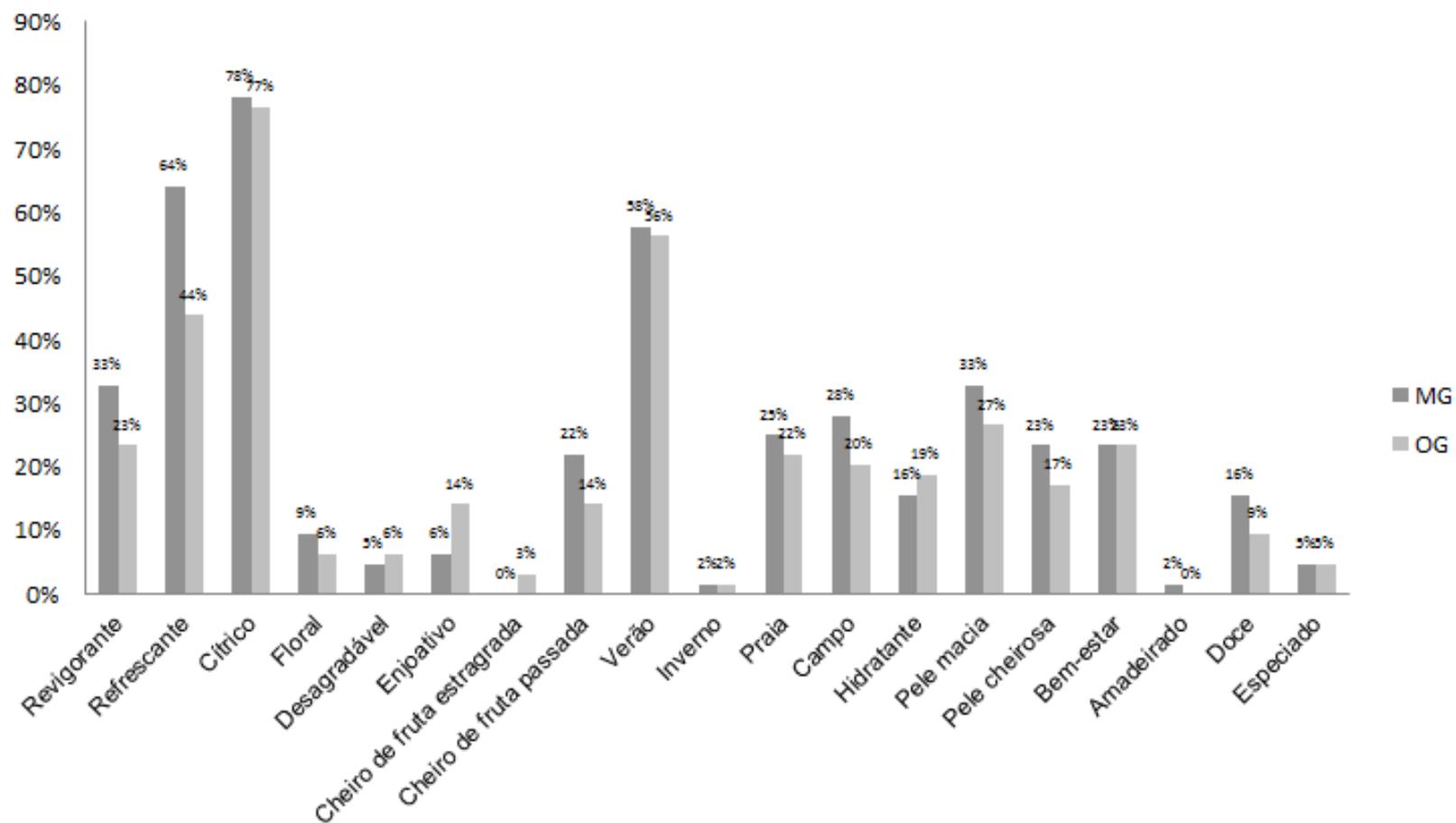
AMOSTRA	RESPOSTA	PROPORÇÃO	GRUPOS*
MG	Indiferente	5%	A
	Discordo	16%	A
	Concordo	80%	B
OG	Indiferente	6%	A
	Discordo	14%	A
	Concordo	80%	B

*Letras diferentes para os grupos indicam que houve diferença significativa, ou seja p-valor<0,05.

FONTE: O autor (2017)

Porém, ao descreverem as amostras, pode-se perceber maior número de citações para as palavras: revigorante e refrescante para a amostra MG, indicando que a microcápsula cumpriu seu papel de preservar o óleo e evitar sua oxidação, claramente comprovado pelos consumidores, onde foi percebida a manutenção da características peculiares do óleo de laranja quando encapsulado, diferente do óleo apenas disperso no gel. No geral as duas amostras foram mais fortemente relacionadas com cítrico, verão, refrescante e revigorante (GRÁFICO 3):

GRÁFICO 3- DISTRIBUIÇÃO DAS PALAVRAS/FRASES ASSINALADAS NO CATA NO TESTE COM CONSUMIDOR



FONTE: O autor (2017)

A grande maioria das moléculas presentes nos óleos essenciais são instáveis devido à presença de alguns grupos químicos, como aldeído, cetona e terpenos. Essas substâncias são voláteis e reagem facilmente com outros compostos, sendo bastante sensíveis na presença de luz, oxigênio, alta temperatura, umidade, dentre outros fatores (TZHAYIK, O.; CAVACO-PAULO, A.; GEDANKEN, 2012), alterando suas características sensoriais (SOSA et al., 2014). Desse modo, o óleo de laranja quando encapsulado, provavelmente teve maior manutenção de suas características químicas, mantendo conseqüentemente, suas características olfativas que, na visão do consumidor, remetem à revigorante e refrescante.

O teste com consumidor foi realizado cerca de 10 dias após o preparo das amostras, provavelmente se tivesse sido realizado num tempo maior após o preparo, essa diferença teria ficado mais evidente, pois o óleo de laranja encapsulado estaria mais protegido contra oxidação com relação ao óleo não encapsulado.

Sosa e colaboradores (2014) encapsularam óleo essencial de laranja em duas micropartículas diferentes: uma com maltodextrina trehalose (MT) e outra com maltodextrina sucrose (MS). Nas análises, eles correlacionaram os resultados cromatográficos com os resultados sensoriais, também na análise de CATA. Nos resultados obtidos, cada cápsula teve maior retenção de um tipo de volátil diferente: maior retenção de limoneno para a MT e maior retenção de α -pineno e mirceno para a MS. Essa diferença também resultou em grande diferença no perfil sensorial entre as cápsulas. Na correlação entre os resultados, o α -pineno foi mais fortemente associado com laranja fresca; o mirceno mais associado com laranja madura, doce de laranja e tangerina; e D-limoneno com casca de laranja e suco em pó. Desse modo, verifica-se que o tipo de carreador utilizado interfere diretamente nos compostos voláteis que serão retidos e, conseqüentemente, no sensorial olfativo resultante.

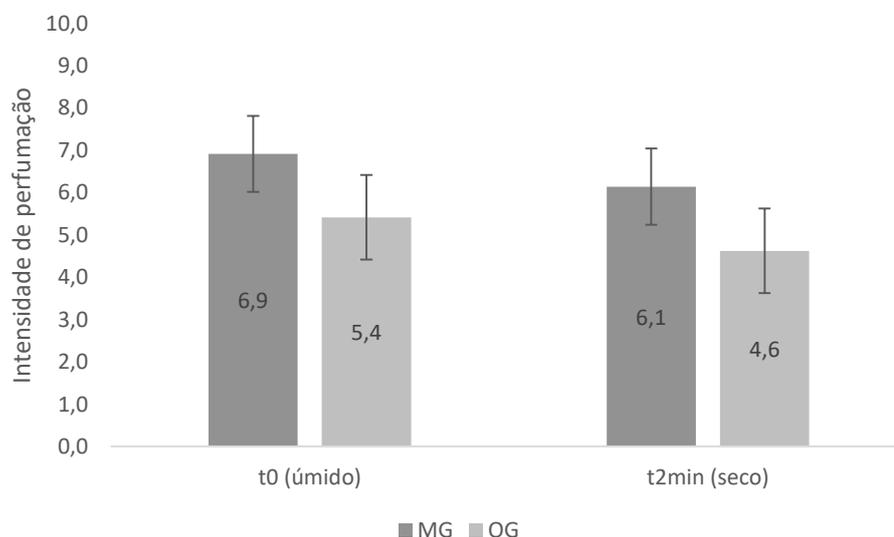
Em outro estudo realizado por Moretti e Fiori (2014), o óleo de laranja foi encapsulado por *spray dryer* e realizada a análise sensorial comparativa entre óleo de laranja encapsulado e não encapsulado, através de descritores que eram avaliados por intensidade de 1 a 10. Nos resultados obtidos, foi possível observar variabilidade na intensidade dos descritores entre as amostras de óleo encapsulado e não encapsulado. Essas alterações apontam perdas aromáticas de alguns atributos e aparecimento de outros aromas indesejados, resultantes das

modificações ocasionadas pela oxidação da amostra. No geral, o óleo não encapsulado sofreu maior mudança aromática durante o período do estudo. Os descritores ácido, floral e cítrico começaram a ser percebidos somente após 45 dias para o óleo encapsulado, enquanto floral e cítrico já são percebidos no começo do estudo para o óleo não encapsulado. O termo laranja oxidada, o descritor que mais indica oxidação, começa a ser percebido após 15 dias de armazenamento, sendo potencializada ao longo do estudo, com maior intensidade para o óleo não encapsulado.

4.9.2. Teste com painel olfativo

Com relação ao teste realizado com painelistas olfativos, existe diferença significativa para intensidade de perfumação entre as amostras em ambos os tempos avaliados ($p_{t0} = 0,0196$ e $p_{t2min} = 0,0316$). Ou seja, durante aplicação do produto na pele, quando as cápsulas começam a se romper, e após 2 minutos de aplicado, quando o produto já foi absorvido na pele, há diferença na intensidade de perfumação entre o óleo encapsulado e não encapsulado (GRÁFICO 4):

GRÁFICO 4- INTENSIDADE PERFUMAÇÃO LOGO APÓS APLICAÇÃO (T0) E APÓS 2 MINUTOS (T2MIN).



FONTE: O autor (2017).

Segundo Matura e colaboradores (2005), a degradação dos compostos presentes nos óleos essenciais pode resultar em produtos alérgicos ao consumidor

e ainda, segundo Sosa e colaboradores (2014), esses compostos podem ocasionar alterações no sensorial olfativo dos produtos, como verificado nos resultados do painel olfativo.

A encapsulação desses materiais voláteis é uma técnica efetiva para proteção desses ativos contra o meio ambiente, rápida evaporação e contaminação. Segundo Bhargava e colaboradores (2010), a técnica permite a liberação controlada do ativo, que pode ser liberado quando requerido, seja por pH, aquecimento e pressão. No caso das microcápsulas avaliadas, a liberação do óleo encapsulado ocorre via pressão mecânica das partículas contra a pele, resultando em rompimento e liberação do óleo, liberando-o em sua forma mais íntegra. Desse modo, a encapsulação protege o óleo contra degradação e mantém suas características, identidade e intensidade olfativa, além de estabilizar e controlar sua taxa de volatilização e degradação (SANSUKCHAREARNPON et al., 2010).

Esse teste reforça ainda mais a grande vantagem da encapsulação para preservação das características e identidade olfativa do óleo de laranja e, conseqüentemente, do produto final para o consumidor, seja em cosméticos, produtos alimentícios, sanitizantes, entre outras. A técnica ainda pode ser aplicada para diversos outros óleos ou associação dos mesmos, afim de otimizar e proteger o produto final, manter suas características e aumentar o tempo de prateleira, otimizando tempo e custo. Uma vez que as amostras haviam sido preparadas há 30 dias, os resultados mostram que as cápsulas foram efetivas em preservar o óleo essencial, mantendo a intensidade de perfumação por mais tempo.

A estrutura de um perfume ou de qualquer fragrância é constituída de uma pirâmide olfativa, (FIGURA 32), que são constituídas e agrupadas por diferentes famílias olfativas de acordo com suas características olfativas. Cada família é composta por essências. Cada essência é utilizada para transmitir uma sensação, fixação e volatilidade diferente. Essa volatilidade, aliado ao seu peso molecular são os grandes responsáveis pelas notas de saída, de corpo e de fundo.

FIGURA 32- PIRÂMIDE OLFATIVA



FONTE: Adaptado de SENSORY BRASII, 2016.

As notas de saída, por possuírem moléculas com menor peso molecular e maior volatilidade, evaporam mais rapidamente e são responsáveis pela primeira impressão do perfume, aquelas notas frescas que são sentidas logo após sua borrifação. As frutas cítricas são as grandes representantes dessa classe, que incluem bergamota, laranja, limão, entre outros. Elas são as grandes responsáveis pelo toque de frescor resultante da fragrância.

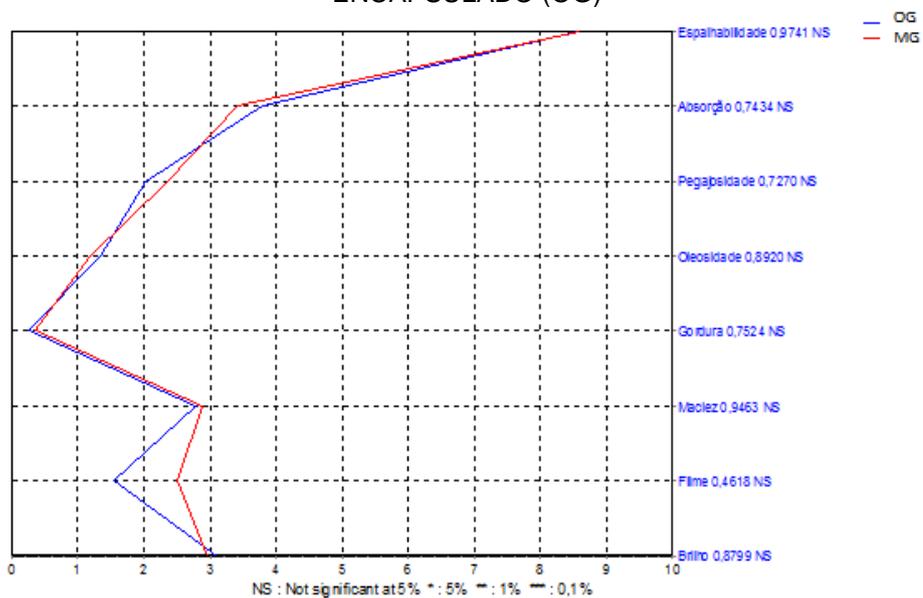
O óleo de laranja, por ter alta volatilidade e evaporar rapidamente quando constituinte de uma fragrância, seja para aplicação em perfume ou qualquer outro cosmético, apresenta grande vantagem quando encapsulado. Essa encapsulação protege o óleo e garante sua identidade olfativa por mais tempo. Por isso as empresas de grande porte tem investido tanto nessas técnicas para melhora da *performance* e manutenção da identidade olfativa de seus produtos. Desse modo, pode prolongar-se o frescor e as notas cítricas das fragrâncias por maior tempo.

4.9.3. Teste com painel tátil-visual

Não houve diferença significativa em nenhum dos atributos avaliados com relação a espalhabilidade, absorção, pegajosidade, oleosidade, gordura, maciez, formação de filme e brilho. Porém, para o atributo filme, o óleo encapsulado apresentou maior intensidade quando comparado ao óleo sem cápsula, com intensidade de 2,5 e 1,5, respectivamente. Esse filme percebido pelos painelistas provavelmente é resultante do hidrogel de alginato de sódio e goma xantana que

compõe a cápsula do óleo encapsulado. Não foram encontrados estudos na literatura que comparem por análise sensorial os ativos brutos e encapsulados.

FIGURA 33- PERFIL SENSORIAL ENTRE O ÓLEO DE LARANJA ENCAPSULADO (MG) E NÃO ENCAPSULADO (OG)



FONTE: O autor (2017).

CONCLUSÕES

O encapsulamento de ativos voláteis é uma metodologia altamente utilizada na indústria com a finalidade de proteger esses ativos contra oxidação e proporcionar um perfil de liberação controlado.

Baseado na encapsulação do óleo essencial de laranja por alginato de sódio e goma xantana, obteve-se a proteção efetiva do óleo. Nos resultados obtidos no trabalho, foi verificado a eficiência da encapsulação de 87 % de óleo de laranja.

O óleo microencapsulado quando aplicado em formulação de gel de hidroxietilcelulose apresentou diversas vantagens que também foram comprovadas através do estudo de estabilidade, perfil de liberação, teste com consumidor e análise sensorial com painel treinado.

No estudo de estabilidade e perfil de liberação, o óleo de laranja microencapsulado apresentou maior proteção contra oxidação e manutenção de suas características químicas, quando comparado ao óleo de laranja não encapsulado.

No teste com consumidor, as palavras refrescante e revigorante foram mais percebidas nas amostras contendo as cápsulas e indicando preservação das características sensoriais olfativas do óleo. Na análise sensorial com painel treinado, houve diferença significativa na intensidade da fragrância microencapsulada quando comparada a fragrância não encapsulada. Esses dois testes comprovaram a manutenção das características sensoriais olfativas do óleo quando encapsulado.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Como sugestão para trabalhos futuros, pode ser realizado a análise sensorial e teste com consumidor nos diferentes tempos, a fim de correlacionar esses resultados com o estudo de estabilidade e o perfil de liberação.

A metodologia desenvolvida pode ser adicionada em outro produto cosmético, desde que seja alguma formulação não-iônica, podendo ser realizado *blend* de óleos essenciais ou outras substâncias ativas para aumento da *performance* e agradabilidade pelo consumidor final.

REFERÊNCIAS

- ABECITRUS. Associação Brasileira de Exportadores de Cítricos. **Subprodutos de laranja**. Disponível em: <<http://www.abecitrus.com.br/subprodutosbr.html>>. Acesso em 10 de fev. de 2016.
- ABIHPEC. Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos. **Panorama do setor**. Disponível em: <<https://www.abihpec.org.br/2015/04/panorama-do-setor-2015/>>. Acesso em 01 agos. de 2015.
- ABREU, F. O. M. S et al. Chitosan/cashew gum nanogels for essential oil encapsulation. **Carbohydrate Polymers**, v. 89, p. 1277- 1282, 2012.
- ABURJAI, T.; NATSHEH, F. M. Plants Used in Cosmetics. **Phytotherapy Research**, v. 17, p. 987-1000, 2003.
- ALI, B. et al. Essential oils used in aromatherapy: A systemic review. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 5, n. 8, p. 601-611, 2015.
- AL-KASSAS, R. S.; AL-GOHARY, O. M. N.; AL-FAADHEL, M. M. Controlling of - systemic absorption of gliclazide through incorporation into alginate beads. **International Journal of Pharmaceutics**, vol.341, n 1-2, p. 230-237, 2007.
- ALLEN JR, L.V. Agentes de viscosidade. **International Journal of Pharmaceutical Compounding**, v. 2, n. 6, p. 216-226, nov/dez, 2000.
- ALLEN, L. et al. Edible corn carbohydrate food coatings. I Development and physical testing of a starch alginate coating. **Food Technology**, v. 17, p. 1437, 1963.
- ALMEIDA, I. F.; GAIO, A. R.; BAHIA, M. F. Hedonic and descriptive skinfeel analysis of two oleogels: comparison with other topical formulations. **J Sens Stud**, 23 (1): 92-113, 2008.
- AMERINE, M .A; PANGBORN, R. M.; ROESSLER, E. B. Principles of sensory evaluation of food. New York: **Academic Press**, 1965.
- AMRITA, K., DABUR, R. S. KAPOOR, C. M. Application of microencapsulation technology in dairy industry. **Indian Food Industry**, 18, 57–64, 1999
- ANCHISI, C.; MELONI, M. C.; MACCIONI, A. M. Chitosan beads loaded with essential oils in cosmetic formulations. **Journal of Cosmetic Sciences**, v. 57, n. 3, p. 205-214, 2006.
- ARAUJO, J. et al. Effect of polymer viscosity on physicochemical properties and ocular tolerance of FB-loaded PLGA nanospheres. **Colloids Surf B Biointerfaces**, v. 72, p. 48, 2009.
- ASBAHANI, A. E. et al. Essential Oils: From extraction to encapsulation **International Journal of Pharmaceutics** v. 483, p. 220–243, 2015.

ASTANI, A., REICHLING, J., SCHNITZLER, P. Comparative study on the antiviral activity of selected monoterpenes derived from essential oils. **Phytotherapy Research**, v. 24, p. 673-679, 2010.

ATOJKOVSKA, J.; BUGARSKI, B.; OBRADOVIC, B. Evaluation of alginate hydrogels under in vivo – like bioreactor conditions for cartilage tissue engineering. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**. v. 21, p. 2869-2879, 2010.

AVGOUSTAKIS, K. Pegylated poly (lactide) and poly (lactide-co-glycolide) nanoparticles: preparation, properties and possible applications in drug delivery. **Current Drug Delivery**, v. 4, p. 321, 2004.

BAKKALI, F.; AVERBACK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMARB, M. Biological effects of essential oils- a review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008.

BARREIRO, A. P. **Produção de biomassa, rendimento e composição do óleo essencial de manjeriço (Ocimum basilicum L.) em função de reguladores vegetais**. 96fls. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas -Botânica) – Instituto de Biociências, UNESP – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2006.

BARROS, C. B. de; YABIKU, H. Y.; D´ANDREA PINTO, A. J. **Óleos essenciais cítricos do Brasil**, 2 ed. Fundação Cargill, Campinas, 1986.

BECK, R.; GUTERRES, S.; POHLMANN, A. **Nanocosmetics and Nanomedicines: New Approaches for Skin Care**. Berlin: Springer-Verlag, 2011.

BENITA, S.; MARTINI, M.-C.; SEILLER, M. Cosmetic applications of vesicular delivery systems. **Drugs and the Pharmaceutical Sciences**, v. 73, p. 587-631, 1996.

BESHEER, A. et al. Characterization of PLGA nanospheres stabilized with amphiphilic polymers: hydrophobically modified hydroxyethyl starch vs pluronics. **Molecular Pharmaceutics**, v. 6, p. 407, 2009.

BHANDARI, B. R., HARTEL, R. W. Phase transitions during food powder production and powder stability. *In* **C. Onwulata (Ed.), Encapsulated and powdered foods**, p. 261-292. Boca Raton, FL: Taylor & Francis, 2005.

BITNES, J. et al. Effect of product knowledge on profiling performance comparing various sensory laboratories. **J Sens Stud**, 22 (1): 66-80, 2007.

BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 588-594, 2009.

BODMEIER R, W. J. Microencapsulation of drugs with aqueous colloidal polymer dispersions. **Journal of Pharmaceutical Science**. p. 82, 191–194, 1993.

- BONILLA, J. et al. Effect of essential oils and homogenization conditions on properties of chitosan-based films. **Food Hydrocolloids**, v. 26, p. 9-16, 2012.
- BOUKHRIS, M. et al. Chemical composition, biological activities and DNA damage protective effect of *Pelargonium raveolens* L'Hér. Essential oils at different phenological stages: **Industrial Crops and Products**, v. 74, p. 600-606, 2015.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos**. Brasília, 2004.
- BRASILIAN FRUIT. **Programa de promoção das exportações das frutas brasileiras e derivados**. Disponível em: <<http://www.Brazilianfruit.org.br>>. Acesso em 10 de fev. de 2016.
- BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods- a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, p. 223-225, 2004.
- CALO, J.R. et al. Essential oils as antimicrobials in food systemse: A review. **Food Control**, v. 54, p. 111-119, 2015.
- CAMERLO, A. et al. Fragrance encapsulation in polymeric matrices by emulsion electrospinning. **European Polymer Journal**, v. 49, p. 3806-3813, 2013.
- CAO-HOANG, L., FOUGÈRE, R., WACHÉ, Y. Increase in stability and change in supramolecular structure of β -carotene through encapsulation into polylactic acid nanoparticles. **Food Chemistry**, v. 124, p. 42-49, 2011.
- CARMONA, P. A. O. **Secagem por atomização e microencapsulação de óleo de laranja**: estudo das propriedades da emulsão e do tipo de material de parede sobre as características do pó e a estabilidade de D-limoneno. Dissertação de Mestrado, UNICAMP – Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. SP, 2011.
- CARVALHO, I. T.; ESTEVINHO, B. N.; SANTOS, L. Application of microencapsulated essential oils in cosmetic and personal healthcare products - a review. **International Journal of Cosmetic Science**, 2015 (no prelo).
- CAVALCANTI, O. A.; GABAS, V. G. S. Influence of arabic gum in acrylic polymer isolated films. Study of swelling properties and permeability. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 39, n. 4. São Paulo: out./dez, 2003.
- CBI - Centre for the Promotion of Imports from developing countries. **Trade statistics for natural ingredients for cosmetics**. Disponível em:<<http://www.cbi.eu/market-information/natural-ingredients-cosmetics/trade-statistics>>. Acesso em: 01 agos. de 2015.
- CHAN, E. S. Preparation of Ca-alginate beads containing high oil content: influence of process variables on encapsulation efficiency and bead properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 84, p. 1267-1275, 2011.

CHAN, L. W.; LIM, L. T.; HENG, P. W. S. Microencapsulation of oils using sodium alginate. **Journal of Microencapsulation**, v. 17, n. 6, p. 757-766, 2000.

CHANGA, C.P.; DOBASHIB, T. Preparation of alginate complex capsules containing eucalyptus essential oil and its controlled release. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 32 (3), p. 257-262, 2003.

CHEMSPIDER. Structure Search. Disponível em: <http://www.chemspider.com/structuresearch.aspx>. Acesso em: 10 de agos. de 2015.

CHOLLET, J. K et al. Development of a topically active imiquimod formulation. **Pharm Dev Technol**, v. 4(1): 35-43, 1999.

CHUMPITAZ, L.D.A. **Microencapsulação de óleo essencial de laranja por atomização**. Dissertação de Mestrado, UNICAMP - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos. SP, 1995.

CHUNG, S.K. et al. Microencapsulation of essential oil for insect repellent in food packaging system. **Journal of Food Science**, v. 78, n. 5, p. 709-714, 2013.

COSTA, P. et al. Cyclodextrins enhance the antioxidant activity of essential oils from three Lamiaceae species. **Industrial Crops and Products**, v. 70, p. 341-346, 2015.

CROWELL, P. L et al. **Chemoprevention of mammary carcinogenesis by hydroxylated derivatives of D-limonene**. *Carcinogenesis*, 13, p. 1261, 1992.

CRUZ, M. C. P. et al. Evaluation of the diffusion coefficient for controlled release of oxytetracycline from alginate/chitosan/poly (ethylene glycol) microbeads in simulated gastrointestinal environments *Biotechnol. Biotechnology and Applied Biochemistry*, v. 40, n. 3, p. 243-253, 2004.

DEANS, S. G.; RITCHI, G. Antibacterial properties of lant essential oils. **International Journal of Food Microbiology**, v. 5, p.165-180, 1987.

DIMA, C. et al. Microencapsulation of essential oil of pimento *Pimenta dioica* (L) Merr. By chitosan/k-carrageenan complex coacervation method. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 22, p. 203-211, 2014.

DIMA, C. et al. The kinetics of the swelling process and the release mechanisms of *Coriandrum sativum*. Essential oil from chitosan/alginate/inulin microcapsules. **Food Chemistry**, 2015 (no prelo).

DO, T. K. T. et al. Authenticity of essential oils. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 66, p. 146-157, 2015.

DOHNAL, J.; STEPANEK, F. Inkjet fabrication and characterization of calcium alginate microcapsules. **Powder Technology**, v. 200, p. 254-259, 2010.

DUTCOSKY, S. D. **Análise sensorial de Alimentos**. 4.ed. Curitiba: Editora Champagnat, 2013.

EIMANN, F. V. **Microencapsulação de óleo essencial de capim-limão utilizando o processo de coacervação simples**. 120 fls. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

encapsulated β TC3 cells. **Biomaterials**, v. 25, n. 13, p. 2603-2610, 2004.

ERENO, D. Beleza Fundamentada. **Pesquisa Fapesp**, v. 146, p. 80-85, 2008.

ERTESVAG, H., VALLA, S. Biosynthesis and applications of alginates. **Polymer Degradation and Stability**, v. 59, p. 85-91, 1998.

ESMAEILI, A.; ASGARI, A. *In vitro* release and biological activities of Carum copticum essential oil (CEO) loaded chitosan nanoparticles. **International Journal of Biological Macromolecules**, 2015 (no prelo).

ESSA, S.; RABANEL, J. M.; HILDGEN P. Characterization of rhodamine loaded PEG-g-PLA nanoparticles (NPs): effect of poly (ethylene glycol) grafting density. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 411, p. 178-187, 2011.

EUROPEAN UNION. European Parliament e Council of the European Union. Regulation N.1223. Of the European Parliament and of the Council on cosmetic products. **Official Journal of the European Union**, 2009.

FEI, X. et al. Microencapsulation mechanism and size control of fragrance microcapsules with melamine resin Shell. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical Engineering Aspects**, v. 469, p. 300-306, 2015.

FERNANDES, R. V. B.; BORGES, S. V.; BOTREL, D. A. Gum arabic/starch/maltodextrin/inulin as wall materials on the microencapsulation of rosemary essential oil. **Carbohydrate Polymers**, v. 101, p. 524-532, 2014.

FIB. **Food Ingredients Brazil**, n. 17, 2011. Disponível em: <www.revista-fi.com> Acesso em 10 de fev. de 2016.

FILHO, L. P. **Fracionamento de óleo de casca de laranja por dissolução em dióxido de carbono supercrítico e adsorção em sílica gel**. Dissertação de Mestrado. Engenharia Química. Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC, Florianópolis, 1999.

FORMULÁRIO NACIONAL DA FARMACOPEIA BRASILEIRA- Ministério da Saúde-Brasil. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. 2. ed. Brasília: Anvisa, 2012.

FREIRES, I. A. et al. Coriandrum sativum L. (Coriander) essential oil: antifungal activity and mode of action on Candida spp., and molecular targets affected in human whole-genome expression. **Plos One**, v. 9, n. 6, 2014.

FREITAS, M. N.; MARCHETTI, J. M. Nimesulide PLA microspheres as a potential sustained release system for the treatment of inflammatory diseases. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 295, n. 1, p. 201-211, 2005.

FUJIWARA, G. M. et al. Production and characterization of alginate-starch-chitosan microparticles containing stigmasterol through the external ionic gelation technique. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 49, n. 3, jul./sep., 2013.

FUJIWARA, G. M. **Microencapsulação de estigmasterol utilizando alginato de sódio, quitosana e amido**. Dissertação de mestrado - Universidade Federal do Paraná – UFPR. Setor de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2012.

FUKUDA, M. et al. Properties of sustained release hot-melt extruded tablets containing chitosan and xanthan gum. **Internaciotional Journal of Pharmaceutics**, v. 310 (1-2), p. 90-100, 2006.

FUKUMOTO, S. et al. Flavor components of monoterpenes in citrus essential oils enhance the release of monoamines from rat brain slices. **Nutritional Neuroscience**, v. 9, p. 73-80, 2006.

FUNDUEANU, G. et al. Physico-chemical characterization of Ca-alginate microparticles produced with different methods. **Biomaterials**, v. 20. p. 1427-1435, 1999.

FUNDUEANU, G.; NASTRUZZI, C.; CARPOV, A.; DESBRIERES, J.; RINAUDO, M. Physico-chemical characterization of Ca-alginate microparticles produced with different methods. **Biomaterials**, v. 20, p. 1427-1435, 1999.

GABRIELS, M.; PLAIZIER-VERCAMMEN, J. Experimental designed optimization and stability evaluation of dry suspensions with artemisinin derivatives for paediatric use. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 283 (1-2), p. 19-34, 2004.

GALMARINI, M. V. et al. Aromatic profiles of spray-dried encapsulated orange flavours: Influence of matrix composition on the aroma retention evaluated by sensory analysis and electronic nose techniques. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 43 (9), p. 1569–1576, 2008.

GARG, A.; SINGH, S. Enhancement in antifungal activity of eugenol in immunosuppressed rats through lipid nanocarriers. **Colloids Surfaces Biointerfaces**, v. 87, n. 2, p. 280-288, 2011.

GEORDE, M.; ABRAHAN, T. E. Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs: Alginate and Chitosan – a review. **Journal of Controlled-Release**, v. 114, p. 1-14, 2006.

GOMBOTZ, W. R.; WEE, S. F. Protein release from alginate matrices. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 31, p. 267-285, 1998.

GOMBOTZ, W. R; PETTIT, D. K. Biodegradable polymers for protein and peptide drug delivery. **Bioconjug Chem**, v. 6, p. 332-351, 1995

GOMES, C.; MOREIRA, R. G.; CASTELL-PEREZ, E. Poly (DL-lactide-co-glycolide) (PLGA) nanoparticles with entrapped trans-cinnamaldehyde and eugenol for antimicrobial delivery applications. **Journal of Food Sciences**, v. 76, n. 2, p. 16-24, 2011.

GÓMEZ-ESTACA, J. et al. Biodegradable gelatine chitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation. **Food Microbiology**, v. 27, p. 889-896, 2010.

GONSALVES, J. K. M. C et al. Microencapsulação do óleo essencial de Citrus sinensis (L) Osbeck pelo método da coacervação simples. **Scientia Plena**, v.5, n.11, 2009.

GUMI, T. et al. Vanillin release from macrocapsules. **Desalination**, v. 245, p. 769-775, 2009.

HOSSEINI, S.F. et al. Two-step method for encapsulation of oregano essential oil in chitosan nanoparticles: Preparation, characterization and in vitro release study. **Carbohydrate Polymers**, v. 95, p.50- 56, 2013.

HOSSEINKHANI, B. et al. Novel biocompatible nanocapsules for slow release of fragrances on the human skin. **New Biotechnology**, v. 32, n.1, p. 40-46, 2015.

HROMIŠ, N.M.; et al. Optimization of chitosan biofilm properties by addition of caraway essential oil and beeswax. **Journal of Food Engineering**, v. 158, p. 86-93, 2015.

HSIEH, W.; CHANG, C.; GAO, Y. Controlled release properties of Chitosan encapsulated volatile Citronella Oil microcapsules by thermal treatments. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 53, p. 209-214, 2006.

HU, J. et al. Effect of chitosan nanoparticles loaded with cinnamon essential oil on the quality of chilled pork. **Food Science and Technology**, v. 63, n. 1, p. 519-526, 2015.

JANSSON, P.E. et al. Structure of extracellular polysaccharide from *Xanthomonas campestris*. **Carbohydr Res**, v. 45, p. 275-282, 1975.

JAYA, S., DAS, H. Glass transition and sticky point temperatures and stability/mobility diagram of fruit powders. **Food Bioprocess Technology**, v. 2, 89-95, 2009.

JUNYAPRASERT, V. B; MANWIWATTANAKUL, G. Release profile comparison and stability of diltiazem-resin microcapsules in sustained release suspensions. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 352 (1-2), p. 81-91, 2008.

KANAKUBO, Y.; ITO, F.; MURAKAMI, Y. Novel one-pot facile technique for preparing nanoparticles modified with hydrophilic polymers on the surface via block polymer-assisted emulsification/evaporation process. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 78, p. 85, 2010.

KARLBERG, A. T.; MAGNUSSON, K.; NILSSON, U. Air oxidation of d-limonene (the citrus solvent) creates potent allergens. **Contact Dermatitis**, v. 26, p. 332-340, 1992.

KAWAGUTI, H. Y.; SAITO, H. H. Produção de isomaltulose, um substituto da sacarose, utilizando glicosiltransferase microbiana. **Química Nova**, v. 31, p. 134-143, 2008.

KHA, T. C.; NGUYEN, M. H.; ROACH, P. D. Effects of spray drying conditions on the physicochemical and antioxidant properties of the Gac (*Momordica cochinchinensis*) fruit aril powder. **Journal of Food Engineering**, v. 98, n. 3, p.385-392, 2010.

KHOEE, S; YAGHOUBIAN, M. An investigation into the role of surfactants in controlling particle size of polymeric nanocapsules containing penicillin-G in double emulsion. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 44, p. 2392-2399, 2009.

KIM, H. M.; CHO, S. H. Lavender oil inhibits immediate-type allergic reaction in mice and rats. **Journal of Pharmaceutics and Pharmacology**, v. 51, p. 221-226, 1999.

KING, A. H. Brown seaweed extracts (Alginates). **Food Hydrocolloids**, v. 2, p. 115-188, 1983.

KNOWLTON, J. Handbook of Cosmetic Science and Technology. Cotswold Publishing Company. **Oxon**, p. 225, 1996.

KO, J. A. et al. Preparation and characterization of chitosan microparticles intended for controlled drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 249, p. 165-174, 2002.

KOBORI, C. N. **Composição e estabilidade de carotenoides em alimentos**. 247fls. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Programa de Pós Graduação em Ciência dos Alimentos. Faculdade de Engenharia de Alimentos – UNICAMP- Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2010.

KOVACS, P. Useful incompatibility of xanthan gum with galactomannans. **Food Technol**, v. 27 (3), p. 26-30, 1973.

LABA, D. Rheological Properties of Cosmetics and Toiletries. **Cosmetic Science and Technology Series**, v. 13. Marcel Dekker: New York, 1993.

LALKO, J.; API, A. M. Investigation of the dermal sensitization potential of various essential oils in the local lymph node assay. **Food and Chemical Toxicology**, v. 44, p. 739-746, 2006.

LAM, K. H. et al. Microencapsulation: past, present and future. **Minerva Biotecnológica**, v. 22, n. 1, p. 23, 2010.

LANZILLOTTI, R. S.; LANZILLOTTI, H. S. Análise Sensorial sob enfoque da decisão fuzzy. **Rev Nutr**, 2 (2): 145-57, 1999.

LEE, H. Y. et al. Influence of viscosity and uronic acid composition of alginates on properties of alginate films and microspheres produced by emulsification. **Journal of Microencapsulation**, v. 23, n.8, p.192-927, 2006.

LEGRAND, P. et al. Influence of polymer behaviour in organic solution on the production of polylactide nanoparticles by nanoprecipitation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 344, p. 33, 2007.

LERTSUTTHIWONG, P. et al. Preparation of alginate nanocapsules containing turmeric oil. **Carbohydrate Polymers** 74, 209–214, 2008.

LI, L. C; PECK, G. E. The effect of moisture content on the compression properties of maltodextrins. **J Pharm Pharmacol**, v. 42 (4), p. 272-275, 1990.

LI, X. et al. Nanoparticles for the oral delivery of 5-Fluorouracil using high pressure homogenization-emulsification as the preparation method and in vitro/in vivo studies. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 34, p.107, 2008.

LIN, P. et al. Techniques for physicochemical characterization of nanomaterials. **Biotechnology Advances**, v. 32, p. 711-726, 2014.

LIRA, A. A. M. et al. Preparation and characterization of chitosan-treated alginate microparticles incorporating all-trans retinoic acid. **Journal of Microencapsulation**, v. 26, n. 3, p. 243-250, 2009.

LOCHHEAD, R. **Gums, thickeners and rheology modifiers** [Curso]. 70th Annual Scientific Meeting, Society of Cosmetic Chemists, New York – NY, USA, Dec. 9-10, 2015.

LÓPEZ-CACHO, J.M et al. Robust Optimization of Alginate-Carbopol 940 Bead Formulations. **The Scientific World Journal**, 2012.

LOURENÇO, V. A. **Desenvolvimento e avaliação de micropartículas de quitosana para a veiculação de dimetilaminoetanol (DMAE) na pele**. Ribeirão Preto, 118 fls. Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo- USP, Ribeirão Preto, 2006.

LUBBE, A.; VERPOORTE, R. Cultivation of medicinal and aromatic plants for specialty industrial materials. **Industrial Crops and Products**, v. 34, n. 1, p. 785-801, 2011.

LUBBERS, S.; LANDY, P; VOILLEY, A. Retention and release of aroma compounds in food containing proteins. **Journal of Food Technology**, 52, 68–74, 1998

MADENE, A.; JACQUOT, M.; SCHER, J.; DESOBRY, S. Flavour encapsulation and controlled release – a review. **International Journal of Food Science and Technology**, 41, 1-21, 2006.

MAIA, A. M. S. et al **Copolimerização da acrilamida sobre a goma xantana**. Anais do 10º Congresso Brasileiro de Polímeros - Foz do Iguaçu, PR. Outubro, 2009. Disponível em:< <https://www.ipen.br/biblioteca/cd/cbpol/2009/PDF/1449.pdf>>. Acesso em 14 de mar. de 2016.

MANDAWGADE, S. D.; PATRAVALE, V. B. Development of SLNs from natural lipids: application to topical delivery of tretinoin. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 363, p. 132-138, 2008.

MARTINS, D. et al. Antitumoral activity of L-ascorbic acid-poly- D,L-(lactide-co-glycolide) nanoparticles containing violacein. **International Journal of Nanomedicine**, v. 5, p. 77, 2010.

MARTINS, I. M. et al. Microencapsulation of essential oils with biodegradable polymeric carriers for cosmetic applications. **Chemical Engineering Journal**, v. 245, p.191-200, 2014.

MATURA, M. et al. Not only oxidizedR-(p)- but alsoS-()-limonene is a common cause of contact allergy in dermatitis patients in Europe. **Contact Dermatitis**, v. 55, p. 274-279, 2006.

MATURA, M. et al. Selected oxidized fragrance terpenes are common contact allergens. **Contact Dermatitis**, v. 52, p. 320-328, 2005.

MAUL, J. et al. Polystyrene and Styrene Copolymers. **Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry**, Weinheim, 2007.

McHUGH, D. J. Production, properties and uses of alginates in production and utilization of products from comercial seaweeds. Australia. FAO. **Fisheries Technical Paper**, cap. 2, p. 58-115, 1987.

MEILGAARD, M; CIVILLE, G. C.; CARR, B. T. Consumer test and in-house panel acceptance tests. *In*: Meilgaard, M.; Civille, G. V.; Carr, B.T., editors. Sensory Evaluation techniques. Florida: **CRC Press**; p.142-47, 1991.

MELO; S. A. B. V.; ULLER, A. M. C.; PESSOA, F. L. P. Modelagem e simulação da desterpenação do óleo da casca de laranja com CO₂ supercrítico em modo semi-contínuo, **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 17, n. 4, 1997.

MELTON, L. D. et al. Covalent structure of the polysaccharide from *Xanthomonas campestris*: evidence from partial hydrolysis studies. **Carbohydr Res**, v. 46, p. 245-257, 1976.

MENNINI, N. et al. Quality by design approach for developing chitosan-Ca-alginate microspheres for colon delivery of celecoxib-hydroxypropyl- β -cyclodextrin-PVP complex. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 80, p. 67-75, 2012.

MINH TU, N. T. et al. Volatile constituents of Vietnamese pummelo, orange, tangerine and lime peel oils. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 17, p. 169-174, 2002.

MITIKU, S.B. et al. Volatile components of peel cold-pressed oils of two cultivars of sweet orange (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) from Ethiopia. **Flavour and Fragrance Journal**, v.15, p. 240-244, 2000.

MOE, S. T. et al. Alginates. *In* A. M. Stephen (Ed.), **Food polysaccharides and their applications**, New York: Marcel Dekker, p. 245-286. 1995.

MORAIS, G. G. **Desenvolvimento e avaliação da estabilidade de emulsões O/A com cristais líquidos acrescidas de xantina para tratamento da hidrolipodistrofia ginóide (celulite)**. 181 fls. Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo- USP, Ribeirão Preto, 2006.

MORETTI, M.; FIORI, J. J. **Microencapsulação do óleo essencial de laranja por spray drying e análise da sua estabilidade oxidativa**. XX COBEQ. Congresso Brasileiro de Engenharia Química. Florianópolis-SC, 2014.

MÜLLER, P. S. **Microencapsulação de óleo essencial de laranja**. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Paraná- UFPR, Curitiba, 2011.

MÜLLER, R. H.; MÄDER, K.; GOHLA, S. Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery a review of the state of the art. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 50, p. 161–177, 2000.

MUNDAY, D. L.; COX, P.J. Compressed xanthan and karaya gum matrices: hydration, erosion and drug release mechanisms. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 203, p. 179-192, 2000.

MURALI, R. SARAVANAN, R. Antidiabetic effect of d-limonene, a monoterpene in streptozotocin-induced diabetic rats. **Biomedicine & Preventive Nutrition**. Volume 2, Issue 4, p. 269–275, October–December 2012

MUYIMA, N. Y. O. et al. The potential application of some novel essential oils as natural cosmetic preservatives in an aqueous cream formulation. **Flavour and fragrance Journal**, v. 17, n. 4, p. 258-266, 2002.

NAKATSU, T., LUPO, A. T., CHINN, J. W., KANG, R. K. Biological activity of essential oils and their constituents. **Studies in natural products chemistry**, v. 21, p. 571-631, 2000.

NETO, B.P.C. **Desenvolvimento de sistemas micro e nanoestruturados de quitosana/MDI para aplicações cosméticas**. Natal, 124 fls. Dissertação de Mestrado em Engenharia Química – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal- UFRN, 2009.

NGUYEN, H. T. P. et al. **Novel alginate-based nanocarriers as a strategy to include high concentrations of hydrophobic compounds in hydrogels for topical application**. *Nanotechnology* 26, 2015.

NITHYANAND, P. et al. Essential oils from commercial and wild Patchouli modulate Group A Streptococcal biofilms. **Industrial Crops and Products**, v. 69, p. 180-186, 2015.

NIU, X. et al. Preparation and characterization of chitosan microspheres for controlled release of synthetic oligopeptide derived from BMP-2. **Journal of Microencapsulation**, v. 26, n. 4, p. 297-305, 2009.

NUNES, I. L.; MERCADANTE, A. Z. Encapsulation of Lycopene Using Spray - Drying and Molecular Inclusion Processes. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 50, n. 5, p. 893-900, 2007.

NUTRASWEET KELCO. **Alginates**. 4.ed. [s.l.], 1996. (also available in URL <www.nutrasweetkelco.com>).

OLIVEIRA, E. F.; PAULA, H. C. B.; PAULA, R. C. M. Alginate/cashew gum nanoparticles for essential oil encapsulation. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 113, p. 146-151, 2014.

OLMEDO, R. H.; ASENSIO, C. M.; GROSSO, N. R. Thermal stability and antioxidant activity of essential oils from aromatic plants farmed in Argentina. **Industrial Crops and Products**, v. 69, p. 21-28, 2015.

OUMEISH, Y. The cultural and philosophical concepts of cosmetics in beauty and art through the medical history of mankind. **Clinics in Dermatology**, v. 19, p. 375-386, 2001.

PAKDELA, H.; PANTEA, D.; ROY, C. Production of dl-limonene by vacuum pyrolysis of used tires. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 57, n. 1, p. 91-107, 2001.

PARK, C. R, MUNDAY, D. L. Evaluation of selected polysaccharide excipients in buccoadhesive tablets for sustained release of nicotine. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 30 (6), p. 609-617, 2004.

PARLAMENTO EUROPEU- CONSELHO DA UNIÃO EUROPÉIA. Regulamento (CE) nº 1223/2009 do Parlamento Europeu e do Conselho de 30 de novembro de 2009 relativo aos produtos cosméticos. **Jornal Oficial da União Européia**. L. 342/59, 22 dez, 2009.

PATRAVALE, V. B.; MANDAWGADE, S. D. Novel cosmetic delivery systems: an application update. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 30, p. 19-33, 2008.

PAVELA, R. Essential oils for the development of eco-friendly mosquito larvicides: A review. **Industrial Crops and Products**, v. 76, p. 174-187, 2015.

PEDRO, A. S. et al. Chitosan: An option for development of essential oil delivery systems for oral cavity care. **Carbohydrate Polymers**, v. 76, p. 501-508, 2009.

PEDRO, R., **Reologia aplicada a produtos cosméticos**. Curso de Cosmetologia Express, Racine, São Paulo, 2000.

PEH, K. K.; WONG, C. F. Application of similarity factor in the development of controlled release diltiazem tablet. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 26, p. 723-730, 2000.

PENICHE, C. et al. Formation and stability of shark liver oil loaded chitosan/calcium alginate capsules. **Food Hydrocolloids**, v.18, p. 865-871, 2004.

PHAECHAMUD, T., RITTHIDEJ, G. C. Sustained-release from layered matrix system comprising chitosan and xanthan gum. **Drug Development and Industrial Pharmacy**; v. 33 (6), p. 595-605, 2007.

PRÜSSE, U.; BILANCETTI, L.; BUCKO, B.; BUKOWSKI, J.; GEMEINER, P.; LEWINSKA, D.; MONOJLOVIC, V.; MASSART, B.; NASTRUZZI, C.; NEDOVIC, V.; PONCELET, D.; SIEBENHAAR, S.; TOBLER, L.; TOSI, A.; VIKARTOVSKÁ, A.; VORLOP, K-D. Comparison of different technologies for beads production. **Chemical Papers**, v.62 (4) p. 364-374, 2008.

QUINTANAR-GUERRERO, D. et al. Preparation and Characterization of Nanocapsules from Preformed Polymers by a New Process Based on Emulsification-Diffusion Technique. **Pharmaceutical Research**, v. 15, p. 1056, 1998.

QV, X. Y. ; ZENG, Z. P.; JIANG, J. G. Preparation of lutein microencapsulation by complex coacervation method and its physicochemical properties and stability. **Food Hydrocolloids**, v. 25, p. 1596-1603, 2010.

RAJAONARIVONY, M. et al. Development of a new drug carrier made from alginate. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 82 (9), p. 912-917, 1993.

RAUT, J. S.; KARUPPAYIL, S. M. A status review on the medicinal properties of essential oils. **Industrial Crops and Products**, v. 62, p. 250-264, 2014.

REIS, C. P. et al. Review and current status of emulsion/dispersion technology using an internal gelation process for the design of alginates particles. **Journal of Microencapsulation**, v. 23, n.3, p. 245-257, 2006.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química de alimentos**. São Paulo: Edgard Blücher Ltda, 2004.

RIBEIRO, J.C. et al. Efficacy of free and nanoencapsulated Eucalyptus citriodora essential oils on sheep gastrointestinal nematodes and toxicity for mice. **Veterinary Parasitology**, v. 204, p. 243-248, 2014.

RIGANO, L. Aspectos Sensoriais em Cosméticos. Cosmetics & Toiletries. **Tecnopress**. Mar/Abr, Vol 25. 2013.

RINAUDO, M. Chitin and chitosan: Properties and applications. **Progress in Polymer Science**, v. 31, p. 603-632, 2006.

RISCH, S. J; REINECCIUS, G. A. Spray-dried orange oil- effect of emulsion size on flavor retention and shelf life. **Flavor encapsulation**, p. 67-77, Washington, 1988.

ROBERTO, D et al. **Antioxidant Activity of Limonene on Normal Murine Lymphocytes: Relation to H₂O₂ Modulation and Cell Proliferation**. Nordic Pharmacological Society. Basic Clin Pharmacol Toxicol, 106, pp. 38–44, 2009.

ROBINSON, D. S. **Bioquímica y valor nutritivo de los alimentos**. Editorial ACRIBIA S. A., Zaragoza, 1991.

ROMO-HUALDE, A. et al. Supercritical fluid extraction and microencapsulation of bioactive compounds from red pepper (*Capsicum annum* L.) by-products. **Food Chemistry**, v. 133, p. 1045-1049, 2012.

ROSA, C. G. da. **Microencapsulação de extratos metanólicos de amora-preta (*Rubus Fruticosus*) e ácido gálico**. 111f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Departamento de Ciência e Tecnologia Industrial da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. RS, 2012

ROWE, R. C.; SHESKEY, P. J.; QUINN, M. E. **Handbook of Pharmaceutical Excipients**, 6. ed. Pharmaceutical Press: Londres, 2009.

SAFAEI-GHOMI, J.; AHD, A. A. Antimicrobial and antifungal properties of the essential oil and methanol extracts of *Eucalyptus largiflorens* and *Eucalyptus intertexta*. **Pharmacognosy. Magazine**, v. 6, p.172-175, 2010.

SÁNCHEZ, R. et al. Desterpenización de aceite esencial de naranja por extracción con etanol diluido. **Alimentaria**, v. 31, n. 249, p. 59-61, 1994.

SANSUKCHAREARNPON, A. et al. High loading fragrance encapsulation based on a polymer-blend: Preparation and release behavior. **International Journal of Pharmaceutics**, p. 267-273, 2010.

SANTOS, A. B.; FERREIRA, V. P.; GROSSO, C. R. F. Microcápsulas: uma alternativa viável. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**. Brasília, ano 3, n.16, set/out, 2000.

SANTOS, A. C. A.; SERAFINI, L. A.; CASSEL, E. **Estudo de processos de extração de óleos essenciais e bioflavonóides de frutas cítricas**. Caxias do Sul: EDUCS, p. 19-29, 2003.

SANTOS, J. E. et al. Caracterização de Quitosanas Comerciais de Diferentes Origens. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 13, n. 4, p. 242-249, 2003.

SARAVANAN, M.; RAO, P. K. Pectin–gelatin and alginate–gelatin complex coacervation for controlled drug delivery: Influence of anionic polysaccharides and drugs being encapsulated on physicochemical. **Carbohydrate Polymers**, v. 80 (3), p. 808-816, 2010

SCHAFFAZICK, S. R. et al. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. **Química Nova**, v. 26, n. 5, p. 726-737, 2003.

SCHROOYEN, P. M. M.; VAN DER MEER, R.; DE KRUIF, C. G. Microencapsulation: its application in nutrition. **Proceedings-Nutrition Society of London**, v. 60, n. 4, p. 475-479, 2001.

SEBAALY, C. et al. Preparation and characterization of clove essential oil-loaded liposomes. **Food Chemistry**, v. 178, p. 52-62, 2015.

SEGATO, M, P. **Estudos termoanalíticos do ácido algínico e dos alginatos de metais alcalinos, alcalinos-terrosos, amônio, mono-, di-, trietanolamônio**. 112fls. Dissertação de Mestrado em Ciências. Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2007.

SENSORY BRASIL. Disponível em < <http://www.sensorybrasil.com.br/>>. Acesso em: 06 jan 2017.

SEVERINO, P. et al. Polímeros Sintéticos Biodegradáveis: Matérias-primas e Métodos de Produção de Micropartículas para uso em Drug Delivery e Liberação Controlada. **Polímeros**, v. 21 n. 4, 2011.

SEVERINO, P. et al. Polymorphism, crystallinity and hydrophilic-lipophilic balance of stearic acid and stearic acid-capric/caprylic triglyceride matrices for production of stable nanoparticles. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 86, p. 125-130, 2011.

SHAABAN, H. A. E.; EL-GHORAB, A. H.; SHIBAMOTO, T. Bioactivity of essential oils and their volatile aroma components: Review. **Journal of Essential Oil Research**, v. 24, n. 2, p. 203-212, 2012.

SHAHIDI, F. HAN, X. Q. Encapsulation of food ingredients. *Critical Reviews In: Food Science and Nutrition*, 33, 501–547, 1993.

SHEN, Z.; KAMDEM, D. P. Development and characterization of biodegradable chitosan films containing two essential oils. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 74, p. 289-296, 2015.

SILVA, E. K. et al. Water adsorption in rosemary essential oil microparticles: Kinetics, thermodynamics and storage conditions. **Journal of Food Engineering**, v.140, p. 39-45, 2014.

SILVA, S. L. et al. Chemotherapeutic potential of the volatile oils from *Zanthoxylum rhoifolium* Lam leaves. **European Journal of Pharmacology**, v. 576, p. 180-188, 2007.

SILVEIRA, K.; WOOD, C. D.; LUCAS, E. F. **Família de copolímeros de poli(acrilamida) via modificação pós-sintética**. I Encontro de Engenharia, Ciências de Materiais e Inovação do Estado do Rio de Janeiro. Nova Friburgo, RJ, 2015.

SIMPSON, N. E. et al. The role of the CaCl²-guluronic acid interaction on alginate encapsulated β TC3 cells. **Biomaterials**, v. 25, p. 2603-2610, 2004.

SINGH, P. et al. Chemical profile, antifungal, antiaflatoxigenic and antioxidant activity of Citrus maxima Burm. and Citrus sinensis (L.) Osbeck essential oils and their cyclic monoterpene, DL-limonene. **Food Chem. Toxicol.** 48, 1734–1740, 2010.

SINGH, S. et al. Preparation and evaluation of buccal bioadhesive tablets containing clotrimazole. **Curr Drug Deliv**, v. 5 (2), p. 133-141, 2008

SKOOLD, M. et al. Contact Allergens Formed on Air Exposure of Linalool. Identification and Quantification of Primary and Secondary Oxidation Products and the Effect on Skin Sensitization. **Chemical Research Toxicology**, v. 17, p. 1697-1705, 2004.

SMIDSROD, O.; DRAGET, K. I.; IN BERGHSTAHL, E. D. **Food colloids- proteins, lipids and polysaccharides**. Alginate Gelation Technologies, p. 279-293, 1997.

SOLÓRZANO-SANTOS, F.; MIRANDA-NOVALES, M. G. Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agents. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 23, n. 2, p. 136-141, 2012.

SOPPIMATH, K. S. et al. Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices. **Journal of controlled release**, v. 70, p. 1-20, 2001.

SOSA, N. et al. Insights in the Use of Trehalose and Modified Starches for the Encapsulation of Orange Essential Oil. **Food Bioprocess Technol**, v. 7, p. 1745-1755, 2014.

SOSA, N.; SCHEBOR, C.; PÉREZ, O. E. Encapsulation of citral in formulations containing sucrose or trehalose: Emulsions properties and stability. **Food and Bioproducts Processing**. v. 92, p. 266-274, 2014.

SOUTO, E. B. et al. Preparação de nanopartículas poliméricas a partir de polímeros pré-formados – parte II. **Polímeros**, v. 22, p. 101-106, 2012.

SOUZA, J. M et al. Properties and controlled release of chitosan microencapsulated limonene oil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 24, p. 691-698, 2014.

STONE, H. S.; SIDEL, J. L. Sensory evaluation practices. San Diego, CA. **Academic Press**, 1992.

SUAVE, J. et al. Microencapsulação: inovação em diferentes áreas. **Revista Saúde e Ambiente**, Joinville, v. 7, n. 2, p. 12-20, dez, 2006.

SUN, J. D-limonene: safety and clinical applications. **Alternative Medicine Review**, vol. 12, n. 3, p. 259-264, 2007.

TAN, Y. et al. Fabrication of size-controlled starch-based nanospheres by nanoprecipitation. **ACS Applied Materials & Interfaces**, p. 956, 2009.

TEIXEIRA, V. F. T. **Estudo da obtenção de biocatalisadores com matrizes de alginato de cálcio visando a produção de biodiesel**. Dissertação de Mestrado em Produção Vegetal. Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes - RJ, 2011.

TEKIN, R.; BAC, N.; ERDOGMUS, H. Microencapsulation of Fragrance and Natural Volatile Oils for Application in Cosmetics, and Household Cleaning Products. **Macromolecular Symposia**, p. 35-40, 2013.

TEWES, F. et al. Comparative study of doxorubicin-loaded poly (lactide-co-glycolide) nanoparticles prepared by single and double emulsion methods. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 66, p. 448, 2007.

THU, B. et al. Alginate polycation microcapsules II. Some functional properties. **Biomaterials**, v. 17, p. 1069-1079, 1996.

TORRES, M. A., **Produção e caracterização de microesferas de quitosana natural e modificada quimicamente e o seu uso na adsorção de proteínas**. 146fls. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Programa de Pós Graduação em Engenharia Química. Desenvolvimento de Processos Biotecnológicos. UNICAMP- Universidade Estadual de Campinas. SP, 2006.

TRUBIANO, P. C. LACOURSE, N. L. Emulsion-stabilizing starches: use in flavour encapsulation. *In: Flavour Encapsulation* (edited by Risch, S.J; Reineccius, G. A). pp. 45–54. ACS Symposium Series 370. Washington, DC: **American Chemical Society**, 1988.

TU, J. et al. Alginate microparticles prepared by spray-coagulation method: preparation, drug loading and release characterization. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 303, p.171-181, 2005.

TZHAYIK, O.; CAVACO-PAULO, A.; GEDANKEN, A. Fragrance release profile from sonochemically prepared protein microsphere containers. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 19, p. 858-863, 2012.

VARSHOSAZ, J. et al. Use of hydrophilic natural gums in formulation of sustained-release matrix tablets of tramadol hydrochloride. **AAPS Pharm Sci Tech**, v. 7 (1), p. 168-174, 2006

VARSHOSAZ, J. et al. Use of natural gums and cellulose derivatives in production of sustained release metoprolol tablets. **Drug Deliv**; v. 13 (2), p. 113-119, 2006

VENDRUSCOLO, C. W et al. Xanthan and galactomannan (from *M. scabrella*) matrix tablets for oral controlled delivery of theophylline. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 296 (1–2), p. 1-11, 2005.

VERMAAK, I. et al. African seed oils of commercial importance- Cosmetic applications. **South African Journal of Botany**, v. 77, n. 4, p. 920-933, 2011.

VERZERA, A. et al. Biological lemon and sweet orange essential oil composition. **Flavour and Fragrance Journal**, v.19, p.544-548, 2004.

VISAVARUNGROJ, N; REMON, J.P. Evaluation of maltodextrin as binding agent. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 18, p. 1691-1700, 1992.

WADE, A.; WELLER, P. J. **Pharmaceutical Excipients: Handbook**. 2. ed. American Pharmaceutical Association: Washington 1994.

WANG, J. et al. Folate-decorated hybrid polymeric nanoparticles for chemically and physically combined paclitaxel loading and targeted delivery. **Biomacromolecules**, v. 10, p. 228, 2010.

WANG, P. et al. Prolonged-release performance of perfume encapsulated by tailoring mesoporous silica spheres. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 23, p. 29-34, 2008.

WANG, Q. et al. Alginate/starch blend fibers and their properties for drug controlled release. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, p. 842-847, 2010.

WANG, X. Q et al. Long-term studies on the stability and oral bioavailability of cyclosporine a nanoparticle colloid. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 322 (1-2), p. 146-153, 2006.

WATAYA, E.S. **Parâmetros de qualidade na produção e incorporação de micropartículas de alginato de sódio em bases galênicas**. Trabalho de conclusão de curso. Universidade Federal do Paraná- UFPR, Curitiba, 2013.

WATTENBERG, L.W; COCCIA, J. B. **Inhibition of 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone carcinogenesis in mice by d-limonene and citrus fruit oils**. *Carcinogenesis*, 12, p. 115, 1991

WHEATLEY, M. A.; LEWANDOWSKI, J. Nano-sized ultrasound contrast agent: salting-out method. **Molecular Imaging**, v. 9, p. 96, 2010.

WISSING, S. A.; MADER, K.; MULLER, R. H. Solid lipid nanoparticles (SLN) as a novel carrier system offering prolonged release of the perfume Allure (Chanel). **Proceedings of the International Symposium on Controlled Release of Bioactive Materials 27th**, p. 311-312, 2000.

WORANUCH, S.; YOKSAN, R. Eugenol-loaded chitosan nanoparticles: Thermal stability improvement of eugenol through encapsulation. **Carbohydrate Polymers**, v. 96, p. 578-585, 2013.

XIAO, Z.; HE, L.; ZHU. The preparation and properties of three types of microcapsules of sweet orange oil using alginate and chitosan as wall material. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 29, p. 350-355, 2014.

YU, Z. et al. Preparation and characterization of microparticles containing peptide produced by a novel process: spray freezing into liquid. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 54, n. 2, p. 221-228, 2002.
of insulin. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 327, p. 153-159, 2006.

ZENG, W. M. Oral controlled release formulation for highly water-soluble drugs: drug–sodium alginate–xanthan gum–zinc acetate matrix. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 30 (5), p. 491-495, 2004.

ZHANG, N. et al. Lectin-modified solid lipid nanoparticles as carriers for oral administration of insulin. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 327, p. 153-159, 2006.

ANEXO

ANEXO 1 – QUESTIONÁRIO AVALIAÇÃO DO GEL CORPORAL – TESTE CONSUMIDOR

A amostra 574 é um produto tradicional e a amostra 928 apresenta o diferencial de uma fragrância encapsulada (bolinhas amarelas), fazendo com que a fragrância fique preservada por mais tempo no produto.

O questionário a seguir apresenta perguntas sobre a textura, a fragrância e o aspecto visual do produto dos dois produtos.

- * 5. Indique o quanto você gostou do produto de uma maneira geral.

	928	574
Agradabilidade geral	<input type="text"/>	<input type="text"/>

- * 6. Indique o quanto você gostou da textura.

	928	574
Agradabilidade geral	<input type="text"/>	<input type="text"/>

- * 7. Indique o quanto você gostou da fragrância.

	928	574
Agradabilidade geral	<input type="text"/>	<input type="text"/>

- * 8. Indique o quanto você gostou do visual do produto no frasco.

	928	574
Agradabilidade geral	<input type="text"/>	<input type="text"/>

- * 9. Como está a intensidade da fragrância?

	928	574
Intensidade	<input type="text"/>	<input type="text"/>

* 10. Você usaria este produto?

	Com certeza usaria	Provavelmente usaria	Não sei se usaria	Provavelmente não usaria	Com certeza não usaria
928	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
574	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

* 11. Você compraria este produto?

	Com certeza compraria	Provavelmente compraria	Não sei se compraria	Provavelmente não compraria	Com certeza não compraria
928	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
574	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

* 12. Sobre as frases abaixo, diga se você concorda ou discorda:

	928	574
Esta fragrância tem impacto/explosão na hora da aplicação.	<input type="text"/>	<input type="text"/>
O aspecto visual do produto é atrativo e inovador.	<input type="text"/>	<input type="text"/>

* 15. Quais das palavras abaixo combinam com a AMOSTRA 574:

- Revigorante
- Refrescante
- Cítrico
- Floral
- Desagradável
- Enjativo
- Cheiro de fruta estragada
- Cheiro de fruta passada
- Verão
- Inverno
- Praia
- Campo
- Hidratante
- Pele macia
- Pele cheirosa
- Bem-estar
- Amadeirado
- Doce
- Especiado

* 16. Deixe aqui outros comentários sobre a amostra 574:

* 13. Quais das palavras abaixo combinam com a AMOSTRA 928:

- Revigorante
- Refrescante
- Cítrico
- Floral
- Desagradável
- Enjoativo
- Cheiro de fruta estragada
- Cheiro de fruta passada
- Verão
- Inverno
- Praia
- Campo
- Hidratante
- Pele macia
- Pele cheirosa
- Bem-estar
- Amadeirado
- Doce
- Especiado

* 14. Deixe aqui outros comentários sobre a amostra 928:

ANEXO 2 – QUESTIONÁRIO DE ANÁLISE SENSORIAL OLFATIVA

Avalie as amostras 928 e 574, com relação à intensidade de perfumação.

1. Logo após aplicação.



2. Após 2 minutos.



ANEXO 3 – QUESTIONÁRIO TESTE SENSORIAL TÁTIL-VISUAL

Com base nos atributos abaixo, avalie as amostras 928 e 574.

1. Espelhabilidade



2. Absorção



3. Pegajosidade



4. Oleosidade



5. Gordura



6. Maciez



7. Brilho



8. Filme

