



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM
ENGENHARIA E CIÊNCIA DOS MATERIAIS

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE MICROCÁPSULAS DE
GELATINA/GOMA ARÁBICA CONTENDO ÓLEOS ESSENCIAIS OU ÁCIDOS
GRAXOS DE MICROALGAS EMPREGADOS NA COSMETOLOGIA PELO
MÉTODO DE COACERVAÇÃO COMPLEXA**

LUIZA BRESCOVICI BADKE

Curitiba

2017



LUIZA BRESCOVICI BADKE

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE MICROCÁPSULAS DE
GELATINA/GOMA ARÁBICA CONTENDO ÓLEO ESSENCIAIS OU ÁCIDOS
GRAXOS DE MICROALGAS EMPREGADOS NA COSMETOLOGIA PELO
MÉTODO DE COACERVAÇÃO COMPLEXA**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção de grau de Mestre em Ciências, Área de Concentração em Engenharia e Ciência dos Materiais, ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais (PIPE) da Universidade Federal do Paraná (UFPR).

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Cláudia Eliana Bruno Marino

Coorientadora: Dr.^a Agne Roani de Carvalho

Curitiba

2017

B136s

Badke , Luiza Brescovici

Síntese e caracterização de microcápsulas de gelatina/goma arábica contendo óleo essenciais ou ácidos graxos de microalgas empregados na cosmetologia pelo método de coacervação complexa / Luiza Brescovici Badke . – Curitiba, 2017.

97 f. : il. color. ; 30 cm.

Dissertação - Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais, 2017.

Orientadora: Cláudia Eliana Bruno Marino.

Coorientadora: Agne Roani de Carvalho.

1. Microencapsulação. 2. Coacervação complexa. 3. Ácidos graxos. 4. Microalgas. 5. Calêndula. 6. Aveia. 7. Aloe vera. 8. Goma arábica. 9. Gelatina. I. Universidade Federal do Paraná. II. Marino, Cláudia Eliana Bruno. III. Carvalho, Agne Roani de. IV. Título.

CDD: 620.11



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR CIÊNCIAS EXATAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO ENGENHARIA E
CIÊNCIA DOS MATERIAIS

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ENGENHARIA E CIÊNCIA DOS MATERIAIS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **LUIZA BRESCOVICI BADKE** intitulada: **SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE MICROCÁPSULAS DE GELATINA/ GOMA ARÁBICA CONTENDO ÓLEOS ESSENCIAIS OU ÁCIDOS GRAXOS DE MICROALGAS EMPREGADOS NA COSMETOLOGIA PELO MÉTODO DE COACERVAÇÃO COMPLEXA**, após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 06 de Dezembro de 2017.

CLAUDIA ELIANA BRUNO MARINO

Presidente da Banca Examinadora (UFPR)

EZEQUIEL BURKARTER

Avaliador Externo (IFPR)

NEY PEREIRA MATTOSO FILHO

Avaliador Interno (UFPR)



**ATA DE SESSÃO PÚBLICA DE DEFESA DE MESTRADO PARA A OBTENÇÃO DO
GRAU DE MESTRE EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DOS MATERIAIS**

No dia seis de Dezembro de dois mil e dezessete às 14:00 horas, na sala de videoconferência do Lame-Cesec, Campus Politécnico da UFPR, foram instalados os trabalhos de arguição da mestranda **LUIZA BRESCOVICI BADKE** para a Defesa Pública de sua dissertação intitulada **SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE MICROCÁPSULAS DE GELATINA/ GOMA ARÁBICA CONTENDO ÓLEOS ESSENCIAIS OU ÁCIDOS GRAXOS DE MICROALGAS EMPREGADOS NA COSMETOLOGIA PELO MÉTODO DE COACERVAÇÃO COMPLEXA**. A Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ENGENHARIA E CIÊNCIA DOS MATERIAIS da Universidade Federal do Paraná, foi constituída pelos seguintes Membros: CLAUDIA ELIANA BRUNO MARINO (UFPR), EZEQUIEL BURKARTER (IFPR), NEY PEREIRA MATTOSO FILHO (UFPR), . Dando início à sessão, a presidência passou a palavra a discente, para que a mesma expusesse seu trabalho aos presentes. Em seguida, a presidência passou a palavra a cada um dos Examinadores, para suas respectivas arguições. A aluna respondeu a cada um dos arguidores. A presidência retomou a palavra para suas considerações finais. A Banca Examinadora, então, reuniu-se e, após a discussão de suas avaliações, decidiu-se pela APROVAÇÃO da aluna. A mestranda foi convidada a ingressar novamente na sala, bem como os demais assistentes, após o que a presidência fez a leitura do Parecer da Banca Examinadora. A aprovação no rito de defesa deverá ser homologada pelo Colegiado do programa, mediante o atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca dentro dos prazos regimentais do programa. A outorga do título de mestre está condicionada ao atendimento de todos os requisitos e prazos determinados no regimento do Programa de Pós-Graduação. Nada mais havendo a tratar a presidência deu por encerrada a sessão, da qual eu, CLAUDIA ELIANA BRUNO MARINO, lavrei a presente ata, que vai assinada por mim e pelos membros da Comissão Examinadora.

CURITIBA, 06 de Dezembro de 2017.

CLAUDIA ELIANA BRUNO MARINO

Presidente da Banca Examinadora (UFPR)

EZEQUIEL BURKARTER

Avaliador Externo (IFPR)

NEY PEREIRA MATTOSO FILHO

Avaliador Interno (UFPR)

Dedico

À minha família. Mesmo longe, sempre senti o amor!

AGRADECIMENTOS

Esta dissertação é fruto do trabalho e apoio de inúmeras pessoas e, agradecer a todos, é o mínimo que posso fazer para demonstrar minha gratidão e mostrar que juntos somos mais capazes do que cada um de nós individualmente.

Em primeiro lugar, agradeço à Deus por sempre me iluminar e proteger sobre tudo nos momentos de maior dificuldade.

Agradecimento todo especial para minha orientadora Prof^a. Dra. Cláudia Eliana Bruno Marino e a minha coorientadora Dra. Agne Roani de Carvalho pela orientação, pela participação constante em todas as etapas do desenvolvimento deste trabalho e pela motivação para que eu não perdesse o entusiasmo para a conclusão deste. Agradeço de coração por terem me acolhido como uma filha, pelo carinho, pelos conselhos, pela amizade e pelo grande exemplo de pessoa e profissional que vocês são.

Aos membros da banca de defesa, Ney Mattoso, Ezequiel Burkarter pela grande contribuição ao trabalho e ao tempo disponibilizado para este.

Agradeço aos colegas do grupo de Biomateriais e Eletroquímica, em especial ao Bruno, que não mediu esforços para me auxiliar, pela disponibilidade em ajudar sempre, pelo incentivo, pelo companheirismo, pela colaboração, pelo apoio durante os estudos e principalmente pela amizade, você foi essencial para a realização deste trabalho.

Agradeço ao professor André Bellin Mariano e aos colegas Dhyogo Mileo Taher e Wellington Ballmant do Núcleo de Pesquisa em Energia Autossustentável (NPDEAS) por fornecer os ácidos graxos de microalga.

Agradeço a professora Izabel Riegel Vidotti do Grupo de Pesquisa de Macromoléculas e Interfaces do Departamento de Química, pelas grandes contribuições e ensinamentos, pela realização das caracterizações no MEV, por ter composto a banca de qualificação e por disponibilizar o laboratório para a realização de experimentos.

Agradeço aos meus pais, Geolar e Vânia, pela vida e amor incondicional, meus maiores exemplos, por sempre me apoiarem nos estudos e decisões que tomei com muito amor e por todos os valores e ensinamentos que cultivaram em mim. Amo vocês!

Agradeço à minha irmã, Julia, por fazer parte da base que sustenta a minha vida. Por ser minha melhor amiga, pelo apoio, pelo incentivo, pelo amor incondicional. Te amo!

Aos amigos especiais que fiz durante o mestrado que fizeram e fazem toda a diferença na minha vida: Débora, Andrea, Mônica, Kayam, Fernando, Fabiano, Jhully, Vinícius e Marianne. Em especial agradeço pela amizade da Heloise que é muito mais que uma amiga

que se assemelha a uma irmã, pelo apoio, auxílio, caronas, conversas e conselhos nos momentos em que mais precisei.

Às minhas grandes amigas e amigo de coração, Carol, Flá, Val e Beto simplesmente pela amizade ao longo de 23 anos.

Ao Lucas, pelo grande companheirismo, pelas risadas impagáveis e pela amizade criada durante nossa época no apto 1704. Conta sempre comigo!

Aos meu primos Felipe e Deise e ao filho deles Max, por terem me acolhido com tanto carinho, pelas conversas, pela amizade, pelo companheirismo, pelos ensinamentos, por serem as pessoas maravilhosas que são.

Agradeço ao Vinicius, por todo amor, amizade, companheirismo, paciência, compreensão e que está sempre ao meu lado me apoiando e trilhando meu caminho apesar da distância. Obrigada por ser a pessoa que é!

Agradeço ao Centro de Microscopia Eletrônica pela estrutura e realização da caracterização das amostras.

Ao Instituto Senai de Inovação em Eletroquímica pela estrutura e pela realização das análises de granulometria, potencial zeta e microscopia eletrônica.

À Universidade Federal do Paraná pela infraestrutura, professores e acolhimento.

Ao Programa de Pós-graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais pela grande oportunidade.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de mestrado, auxiliando no desenvolvimento deste trabalho.

A todos agradeço, profundamente!

*Os outros só nos podem dar conselhos ou indicar-nos
o caminho a seguir, mas a formação definitiva do
caráter está nas próprias mãos de cada indivíduo.*

Anne Frank

RESUMO

Os óleos essenciais de aveia, calêndula, aloe vera e os ácidos graxos de microalgas são compostos naturais bastante utilizados na área farmacêutica e cosmética por possuírem propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, hidratantes e cicatrizantes. Esses compostos podem ser aplicados de diversas formas, como na incorporação em microcápsulas, por conferir vantagens, tais como o aumento da vida útil, uma vez que o processo é baseado na formação de uma barreira protetora, possibilita a liberação somente em condições específicas e pode mascarar aromas ou sabores. Dos métodos de obtenção de microcápsulas, a coacervação complexa se caracteriza por ser rápido, em condições brandas de temperatura, com ausência de solvente orgânico e baixa geração de resíduos. Assim, este trabalho teve como objetivo sintetizar microcápsulas utilizando goma arábica e gelatina Tipo A contendo os ácidos graxos de microalgas ou os óleos essenciais utilizando o método de coacervação complexa. As microcápsulas sintetizadas foram caracterizadas por microscopia óptica e microscopia eletrônica de varredura para análise de tamanho de partícula e morfologia, por granulometria à laser para confirmação dos tamanhos de partículas, por espectroscopia no infravermelho para análise da composição química, potencial zeta para verificar a estabilidade química e a contribuição de cargas. Para avaliar a resistência da parede da cápsula empregou-se a técnica de pressão osmótica. Foram produzidas, oito formulações em triplicata, variando três parâmetros da síntese (temperatura, velocidade de agitação e razão parede/núcleo). Os resultados mostraram que as melhores condições foram temperatura de 40°C, velocidade de agitação 10.000 rpm e razão parede/núcleo [1:1], onde nessas condições o rendimento de microcápsulas sintetizadas foi entorno de 86% e a eficiência de encapsulação foi superior à 78%. As caracterizações permitiram confirmar que as microcápsulas sintetizadas pelo método de coacervação complexa para todos os materiais de núcleo estudados apresentaram morfologia esférica e bem definida, com diâmetro médio menor que 110 µm. Ainda, em relação a rigidez das cápsulas estas apresentaram resistência mecânica na faixa de 300 MPa, essa magnitude mostra que as cápsulas podem ser aplicadas em cosmecêuticos sem que ocorra ruptura. Assim, a microencapsulação de ácidos graxos de microalgas ou óleos essenciais por coacervação complexa demonstra-se adequada e viabiliza aplicação em um produto para uso tópico aumentando sua eficiência na forma de cápsulas.

Palavras-chaves: microencapsulação; coacervação complexa; ácidos graxos; microalgas; calêndula; aveia; aloe vera; goma arábica; gelatina.

ABSTRACT

The essential oils of oats, marigold, aloe vera, and microalgae fatty acids are natural compounds widely used in the pharmaceutical and cosmetic area due to their antioxidant, anti-inflammatory, moisturizing and healing properties. These compounds may be applied in many ways, such as in the incorporation into microcapsules in order to grant advantages, such as increased useful life, since the process is based on the formation of a protective barrier, it enables the release only under specific conditions and may cover up odors or flavors. Among the microencapsulation methods, complex coacervation is characterized by being fast, under mild temperature conditions, with the absence of organic solvent and low residues production. Thereby, the objective of this work was to synthesize microcapsules using arabic gum and Type A gelatin containing microalgae fatty acids or essential oils by the complex coacervation method. The synthesized microcapsules were characterized by optical microscopy and scanning electron microscopy for analysis of particle size and morphology, by laser granulometry to confirm particle sizes, by infrared spectroscopy for analysis of chemical composition, by zeta potential to verify chemical stability and the contribution of electric charges. In order to evaluate the strength of the capsule's shell, the osmotic pressure technique was used. Eight formulations in triplicate were produced, changing three parameters of the synthesis (temperature, stirring speed and shell/core ratio). The results have shown that the best conditions were a temperature of 40°C, a stirring speed of 10.000 rpm and a shell/core ratio of [1:1]. Under these conditions, the yield of synthesized microcapsules was 86.61% and the encapsulation efficiency was higher than 78%. The other syntheses were performed by varying only the core material. The characterizations allowed to confirm that the microcapsules synthesized by the complex coacervation method for all the core materials studied presented well defined spherical morphology with mean diameters below 110 µm. Furthermore, the microcapsules exhibited mechanical strength of 313 MPa, this magnitude shows that the capsules can be applied in cosmeceuticals without rupture. Thus, the microencapsulation of fatty acids from microalgae or essential oils by complex coacervation proves to be adequate and enables its application in a product for topical use increasing its efficiency in the form of capsules.

Keywords: microencapsulation; complex coacervation; fatty acids from the microalgae; calendula oil; oats oil; aloe vera oil; arabic gum; type-A gelatin.

SUMÁRIO

| | |
|-------------------------------------------------------------|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO..... | 20 |
| 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA..... | 22 |
| 2.1. Cosméticos..... | 22 |
| 2.2. Microencapsulação | 22 |
| 2.3. Métodos de obtenção de microcápsulas | 24 |
| 2.3.1 Coacervação complexa..... | 25 |
| 2.4. Materiais de revestimento na coacervação complexa..... | 28 |
| 2.4.1. Goma arábica | 29 |
| 2.4.2. Gelatina..... | 30 |
| 2.4.3. Materiais para reticulação | 32 |
| 2.5. Materiais de núcleo na coacervação complexa | 33 |
| 2.5.1. Óleo de calêndula | 34 |
| 2.5.2. Óleo de aveia | 36 |
| 2.5.3. Óleo de aloe vera | 37 |
| 2.5.4. Óleo de microalgas | 38 |
| 2.6. Mecanismos de liberação em microcápsulas | 41 |
| 3. CENÁRIO CIENTÍFICO..... | 43 |
| 4. OBJETIVOS..... | 48 |
| 4.1. Objetivo principal..... | 48 |
| 4.2. Objetivos específicos..... | 48 |
| 5. METODOLOGIA | 49 |
| 5.1. Materiais..... | 49 |
| 5.2. Outros reagentes..... | 50 |
| 5.3. Procedimento da síntese das microcápsulas | 51 |
| 5.3.1. Rendimento do processo de microencapsulação..... | 56 |
| 5.3.2. Eficiência de microencapsulação..... | 56 |
| 5.4. Caracterização das microcápsulas..... | 56 |

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 5.4.1. Microscopia Óptica e Tamanho de Partículas | 57 |
| 5.4.2. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) | 57 |
| 5.4.3. Granulometria à laser..... | 58 |
| 5.4.4. Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) | 58 |
| 5.4.5. Potencial Zeta | 59 |
| 5.4.6. Resistência mecânica das microcápsulas..... | 59 |
| 6. RESULTADOS E DISCUSSÕES | 60 |
| 6.1. Síntese e otimização do método de obtenção das microcápsulas | 60 |
| 6.2. Análise das microcápsulas e tamanho de partículas | 63 |
| 6.3. Análise morfológica das microcápsulas sintetizadas | 68 |
| 6.4. Análise de tamanho de partícula..... | 71 |
| 6.5. Análise de composição química..... | 74 |
| 6.6. Análise de estabilidade química e contribuição de cargas | 78 |
| 6.7. Análise da propriedade mecânica das microcápsulas..... | 84 |
| 7. CONCLUSÕES..... | 91 |
| 8. TRABALHOS FUTUROS | 92 |
| 9. REFERÊNCIAS | 93 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1: Esquema ilustrativo das diferentes estruturas de micropartículas..... | 23 |
| Figura 2: Representação esquemática da formação de microcápsulas pelo método de coacervação complexa..... | 26 |
| Figura 3: Exudato gomoso no tronco da árvore Acácia..... | 29 |
| Figura 4: Estrutura proposta para a fração arabinogalactana-proteína da goma arábica e seu mecanismo de estabilização..... | 30 |
| Figura 5: Modelo compacto da estrutura de tripla hélice do colágeno..... | 31 |
| Figura 6: Estrutura química do glutaraldeído..... | 32 |
| Figura 7: Representação da reação de reticulação intramolecular e intermolecular de um polímero. (a) cadeias sem reticulação; (b) cadeias reticuladas..... | 33 |
| Figura 8: Ilustração da flor da espécie <i>Calendula officinalis</i> | 34 |
| Figura 9: Estruturas químicas dos principais constituintes da <i>Calendula officinalis</i> (A) quercetina, (B) saponina, (C) ácido calêndico e (D) rutina..... | 35 |
| Figura 10: Ilustração da planta <i>Avena sativa L.</i> | 36 |
| Figura 11: Estruturas químicas dos principais constituintes da <i>Avena sativa</i> | 37 |
| Figura 12: Ilustração da planta aloe vera..... | 37 |
| Figura 13: Estruturas químicas dos principais compostos presentes na planta aloe vera: lignina e saponina..... | 38 |
| Figura 14: Exemplos de microalgas existentes: (A) <i>Anabaena</i> , (B) <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> , (C) <i>Phaeodactylum tricornutum</i> , (D) <i>Chlorella sorokiniana</i> | 39 |
| Figura 15: Ilustração da microalga da espécie <i>Acutodesmus obliquus</i> | 39 |
| Figura 16: Estruturas químicas dos principais ácidos graxos presentes nas microalgas da espécie <i>Acutodesmus obliquus</i> | 41 |
| Figura 17: Imagem dos materiais de revestimento que foram estudados no trabalho. (A) goma arábica e (B) gelatina tipo A..... | 49 |
| Figura 18: Imagem dos materiais de núcleos que foram estudados no trabalho. (A) ácidos graxos de microalgas; (B) óleo de calêndula; (C) óleo de aveia e (D) óleo de aloe vera..... | 49 |

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Figura 19: Desenho esquemático da formação de microcápsulas pela técnica de coacervação complexa..... | 51 |
| Figura 20: Etapas da síntese (a) solução de goma arábica, (b) solução de gelatina e (c) emulsão formada..... | 52 |
| Figura 21: Fluxograma do processamento de microcápsulas com diferentes materiais de núcleo obtidas por coacervação complexa..... | 53 |
| Figura 22: Esquema do processo de secagem das microcápsulas utilizado no trabalho..... | 54 |
| Figura 23: Fotografia das microcápsulas gelatina/goma arábica preenchidas com óleo de calêndula após o processo de secagem..... | 55 |
| Figura 24: Processo realizado para encontrar a concentração crítica de glucose..... | 59 |
| Figura 25: Suspensões das <u>microcápsulas de gelatina/goma arábica contendo óleo de calêndula</u> obtidas após a coacervação complexa com variação na proporção parede/núcleo, temperatura e velocidade de homogeneização..... | 61 |
| Figura 26: Microcápsulas de gelatina/goma arábica <u>contendo (a) ácidos graxos de microalgas; (b) óleo de calêndula; (c) óleo de aveia e (d) óleo de aloe vera</u> obtidas por coacervação complexa com os melhores parâmetros de proporção parede/núcleo, temperatura e velocidade de homogeneização determinados para a síntese..... | 62 |
| Figura 27: Micrografias das microcápsulas de gelatina/goma arábica contendo <u>ácidos graxos de microalgas (MAG)</u> sintetizadas pelo método de coacervação complexa. Condições de coacervação: proporção parede/núcleo [1:1], temperatura de 40 ^o C e velocidade de homogeneização de 10.000 rpm. (A) aumento de 40x e (B) aumento de 100x..... | 63 |
| Figura 28: Micrografias das microcápsulas de gelatina/goma arábica contendo <u>óleo de calêndula (MC)</u> sintetizadas pelo método de coacervação complexa. Condições de coacervação: proporção parede/núcleo [1:1], temperatura de 40 ^o C e velocidade de homogeneização de 10.000 rpm. (A) aumento de 40x e (B) aumento de 100x..... | 63 |
| Figura 29: Micrografias das microcápsulas de gelatina/goma arábica contendo <u>óleo de aveia (MA)</u> sintetizadas pelo método de coacervação complexa. Condições de coacervação: proporção parede/núcleo [1:1], temperatura de 40 ^o C e velocidade de homogeneização de 10.000 rpm. (A) aumento de 40x e (B) aumento de 100x..... | 64 |
| Figura 30: Micrografias das microcápsulas de gelatina/goma arábica contendo <u>óleo de aloe vera (MAV)</u> sintetizadas pelo método de coacervação complexa. Condições de coacervação: proporção parede/núcleo [1:1], temperatura de 40 ^o C e velocidade de homogeneização de 10.000 rpm. (A) aumento de 40x e (B) aumento de 100x..... | 64 |

| | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Figura 31: Histogramas da distribuição do tamanho determinados por microscopia óptica das micropartículas de gelatina/goma arábica com variação dos materiais de núcleo obtidas por coacervação complexa (A) MAG, (B) MC, (C) MA e (D) MAV..... | 67 |
| Figura 32: Imagens de MEV das microcápsulas contendo (a) <u>ácidos graxos de microalgas</u> ; (b) <u>óleo de calêndula</u> ; (c) <u>óleo de aveia</u> , ambos com aumento de 200x, e (d) <u>óleo de aloe vera</u> , com aumento de 150x..... | 68 |
| Figura 33: Imagens de MEV das microcápsulas contendo óleo de calêndula aumento de 1.000x..... | 69 |
| Figura 34: Imagens de MEV das microcápsulas contendo óleo de aveia aumento de 1.000x..... | 70 |
| Figura 35: Imagens de MEV das microcápsulas contendo óleo de aloe vera aumento de 500x..... | 70 |
| Figura 36: Imagens de MEV das microcápsulas contendo ácidos graxos de microalga aumento de 200x..... | 71 |
| Figura 37: Distribuição granulométrica obtida para as microcápsulas de gelatina/goma arábica contendo (a) <u>ácidos graxos de microalgas</u> ; (b) <u>óleo de calêndula</u> ; (c) <u>óleo de aveia</u> e (d) <u>óleo de aloe vera</u> , por coacervação complexa..... | 73 |
| Figura 38: Espectros de infravermelho para os materiais de revestimento isolados gelatina (GEL), goma arábica (GA) e da microcápsula vazia (MV)..... | 74 |
| Figura 39: Espectros de infravermelho para as amostras de microcápsulas contendo <u>ácidos graxos de microalgas</u> encapsuladas com gelatina/goma arábica por coacervação complexa..... | 76 |
| Figura 40: Espectros de infravermelho para as amostras de microcápsulas contendo <u>óleo de calêndula</u> encapsuladas com gelatina/goma arábica por coacervação complexa..... | 76 |
| Figura 41: Espectros de infravermelho para as amostras de microcápsulas contendo <u>óleo de aveia</u> encapsuladas com gelatina/goma arábica por coacervação complexa..... | 77 |
| Figura 42: Espectros de infravermelho para as amostras de microcápsulas contendo <u>óleo de aloe vera</u> encapsuladas com gelatina/goma arábica por coacervação complexa..... | 77 |
| Figura 43: Representação esquemática da dupla camada elétrica formada em partículas dispersas em solução..... | 79 |
| Figura 44: Potencial Zeta das soluções dos biopolímeros estudados como materiais de revestimento para a obtenção de microcápsulas..... | 80 |

- Figura 45:** Micrografia das microcápsulas de gelatina/goma arábica contendo óleo de calêndula em: (a) solução de glicose 20% (m/m) e (b) solução de glicose 40% (m/m) pelo tempo de 1 hora, com aumento de 40x.....85
- Figura 46:** Micrografia das microcápsulas de gelatina/goma arábica contendo óleo de calêndula em solução de glicose 60% (m/m) pelo tempo de 1 hora, com aumento de 100x.....85
- Figura 47:** Micrografia das microcápsulas de gelatina/goma arábica contendo óleo de aveia em solução de glicose 60% (m/m) pelo tempo de 1 hora, com aumento de 100x.....86
- Figura 48:** Micrografia das microcápsulas de gelatina/goma arábica contendo óleo de aloe vera em solução de glicose 60% (m/m) pelo tempo de 1 hora, com aumento de 100x.....86
- Figura 49:** Micrografia das microcápsulas de gelatina/goma arábica contendo ácidos graxos de microalga em solução de glicose 40% (m/m) pelo tempo de 1 hora, com aumento de 100x.....86
- Figura 50:** Pressão osmótica da glicose e da sacarose em função da concentração.....89

LISTA DE TABELAS

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Tabela 1: Principais materiais usados como revestimento de microcápsulas..... | 28 |
| Tabela 2: Exemplos de óleos encapsulados por diferentes métodos e suas principais aplicações..... | 34 |
| Tabela 3: Equipamentos empregados para a execução do presente trabalho..... | 50 |
| Tabela 4: Sistemas de produção de microcápsulas gelatina/goma arábica com óleo de calêndula obtidas por coacervação complexa com variação nos parâmetros de proporção parede/núcleo, temperatura e velocidade de homogeneização..... | 55 |
| Tabela 5: Amostras de microcápsulas <u>gelatina/goma arábica com óleo de calêndula</u> obtidas por coacervação complexa com variação nos parâmetros de proporção parede/núcleo, temperatura e velocidade de homogeneização e valores de rendimento e eficiência de encapsulamento obtidos..... | 60 |
| Tabela 6: Diâmetro médio em conjunto com o rendimento e a eficiência de encapsulação determinados por microscopia óptica para as micropartículas de gelatina/goma arábica obtidas por coacervação complexa com variação dos materiais de núcleo..... | 65 |
| Tabela 7: Bandas características dos materiais de revestimento empregados na formação das microcápsulas..... | 75 |
| Tabela 8: Resultados da caracterização de potencial zeta das suspensões contendo microcápsulas de gelatina/goma arábica com diferentes materiais encapsulados dispersos em água destilada, pH=4,00..... | 81 |
| Tabela 9: Resultados da caracterização de potencial zeta das suspensões contendo microcápsulas de gelatina/goma arábica com óleo de calêndula dispersas em diferentes solventes..... | 83 |
| Tabela 10: Concentração de glucose, pressão osmótica e valores de espessura e raio da cápsula e porcentagem de cápsulas rompidas..... | 88 |
| Tabela 11: Valores do módulo de elasticidade das microcápsulas obtidas calculados através da Equação 3..... | 88 |

LISTA DE ABREVIações E SIGLAS

| | |
|---------------|-------------------------------------------------------------|
| cm | Centímetro |
| g | Gramma |
| ANVISA | Agência Nacional de Vigilância Sanitária |
| IUPAC | União Internacional de Química Pura e Aplicada |
| p/v | Porcentagem peso/volume |
| pH | Potencial hidrogeniônico |
| pI | Ponto isoelétrico |
| rpm | Rotações por minuto |
| µm | Micrometro |
| KBr | Brometo de potássio |
| AGP | Arabinogalactana-proteína |
| mL | Mililitro |
| MO | Microscopia óptica |
| MEV | Microscopia eletrônica de varredura |
| FTIR | Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier |
| LGP | Fase gel lamelar |
| MAG | Microcápsulas com ácidos graxos de microalga |
| MC | Microcápsulas com óleo de calêndula |
| MA | Microcápsulas com óleo de aveia |
| MAV | Microcápsulas com óleo de aloe vera |
| MV | Microcápsulas vazias |
| kV | Quilovolt |
| GC | Ácido oleico |
| LA | Ácido linoleico |
| ALA | Ácido alfa-linolênico |
| ATR | Reflectância Total Atenuada |
| R% | Rendimento do processo |
| MF | Quantidade de microcápsulas secas obtidas |
| MT | Massa teórica inicial |
| EE% | Eficiência de encapsulação |

| | |
|----------------------|-----------------------------------------------|
| MEM | Quantidade de óleo extraído das microcápsulas |
| MI | Quantidade de óleo inicial |
| kDa | Quilodalton |
| mg | Miligrama |
| mV | Milivolt |
| mm | Milímetro |
| p/n | Proporção parede/núcleo |
| ζ | Potencial Zeta |
| Pa | Pascal |
| °C | Celsius |
| MPa | Megapascal |
| π_c | Pressão osmótica crítica |
| GEL | Gelatina |
| GA | Goma arábica |

1. INTRODUÇÃO

A utilização e o desenvolvimento dos cosméticos acompanharam a evolução da humanidade. Relatos mostram que a utilização dos cosméticos teve início na pré-história. Foi no Egito onde os produtos cosméticos começaram a ser utilizados em larga escala, pois estudos indicam que nas tumbas egípcias diversos produtos cosméticos, como incensos e perfumes, eram usados como decoração. Foi somente no século XX (Era da televisão) que ocorreu uma evolução significativa na funcionalidade dos cosméticos, não sendo empregados somente para embelezamento, mas também para proteção, prevenção e correção de imperfeições na pele (BAREL; PAYE; MAIBACH, 2001).

Pesquisas que almejam avanços na área da cosmetologia buscam por processos que apresentam melhores propriedades, se comparadas com os convencionais, de forma que o mercado de produtos cosméticos cresce constantemente. Setores industriais têm investido em novas tecnologias para aplicação em produtos cosméticos, farmacêuticos e muitos outros.

Uma das tecnologias promissoras é a microencapsulação de agentes ativos. A microencapsulação é uma metodologia que idealiza o modelo celular, onde o núcleo é envolvido por uma membrana, geralmente polimérica, permitindo o isolamento do material encapsulado protegendo-o do meio externo. O material encapsulante é denominado material de revestimento, enquanto que o material a ser encapsulado é chamado de núcleo ou agente ativo (GONÇALVES *et al.*, 2016; PAULO & SANTOS, 2017). Esse processo tem sido utilizado com objetivos variados, porém sua maior aplicação está relacionada à liberação do agente ativo por um período de tempo determinado, tornando-se um método promissor nas indústrias cosméticas, farmacêuticas e alimentícias (YANG *et al.*, 2015).

Na literatura encontram-se diversas técnicas que podem ser utilizadas para a obtenção de microcápsulas; a seleção dessa técnica é dependente de vários fatores como aplicação a qual a microcápsula será submetida, o tamanho das microcápsulas, o mecanismo de liberação e as propriedades do material de revestimento e do material de núcleo (KURIOKASE *et al.*, 2015; MADENE *et al.*, 2006).

A coacervação também conhecida como separação de fases é considerada a primeira técnica de microencapsulação utilizada e desde então, é empregada para a preparação de microcápsulas. É um processo de microencapsulação que se baseia na

separação do material de revestimento de um meio líquido, resultando no recobrimento do material de núcleo disperso no meio (DONG *et al.*, 2011). Diversos materiais como proteínas e polissacarídeos podem ser utilizados como materiais de revestimento na produção de microcápsulas por coacervação. A gelatina e a goma arábica são bastante utilizadas como materiais de revestimento, devido às suas excelentes propriedades de formação de película e boa solubilidade em água (MADENE *et al.*, 2006).

Os materiais que podem ser utilizados como princípio ativo são muito vastos, como fármacos, corantes, pesticidas, fragrâncias e óleos essenciais, com aplicações variadas (SILVA *et al.*, 2003). Devido às suas propriedades hidratantes, antioxidantes, anti-inflamatórias, entre outras, diversos óleos estão sendo estudados para sua aplicação como material de núcleo. Óleos como os de calêndula, aveia, aloe vera e também os ácidos graxos de microalgas se destacam por apresentarem propriedades específicas para aplicação em produtos cosmecêuticos. Isto porque são óleos que apresentam em sua composição grandes quantidades de proteínas, carboidratos e vitaminas, tornando-os protéticos e nutritivos, exibindo propriedades anti-oxidantes, anti-inflamatórias e fotoprotetivas (GHÉDIRA & GOETZ, 2016; WANG, 2015).

O processo de liberação de materiais ativos apresenta melhorias quando relacionados aos métodos convencionais empregados, no qual a substância encapsulada pode ser liberada a uma taxa constante durante longos períodos de tempo somente no local necessário, controlando a concentração dos agentes ativos e evitando sobredosagens (ZANETTI & TOME, 2005). Os principais mecanismos envolvidos na liberação são a variação do pH, temperatura ou pressão, difusão do núcleo através da parede polimérica, biodegradação, ruptura mecânica, gradiente de concentração presente e permeabilidade seletiva (KURIOKASE *et al.*, 2015; MADENE *et al.*, 2006).

Desta forma, com o intuito de ampliar os conhecimentos sobre essa tecnologia, essa pesquisa tem como objetivo principal a síntese e caracterização de microcápsulas de gelatina/goma arábica contendo como materiais de núcleo ácidos graxos de microalgas e os óleo de calêndula, aveia ou aloe vera utilizando a técnica de coacervação complexa visando favorecer a preservação dos compostos encapsulados e ainda, auxiliar sua aplicação em produtos de uso tópico.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Cosméticos

O termo “cosmético” é proveniente da palavra grega *kosméticos*, a qual é relativa ao adorno ou “hábil em adornar (enfeitar)”. Os cosméticos surgiram ainda na antiguidade, na qual pinturas rupestres datadas de 30.000 anos relatam a utilização de cosméticos rudimentares nos rituais de caça ou acasalamento (BAREL; PAYE; MAIBACH, 2001).

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) no Brasil a definição oficial de cosméticos foi dada através da Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 211, de 14 de julho de 2005, que compreende “todos os produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes como preparações constituídas por substâncias naturais ou sintéticas, de uso externo nas diversas partes do corpo humano, pele, sistema capilar, unhas, lábios, órgãos genitais externos, dentes e membranas mucosas da cavidade oral, com o objetivo exclusivo ou principal de limpá-los, protegê-los ou mantê-los em bom estado” (ANVISA, 2005).

Até meados da década de 60, os cosméticos tinham como finalidade ornamentação, beleza e ação superficial. Após determinadas pesquisas e estudos instaurou-se que a maioria das substâncias alteram a estrutura e funcionalidade da pele. Logo esses produtos passaram a ser denominados, segundo Kligman em 1984, como “cosmecêuticos”, os quais são definidos como um produto tópico que contém agentes ativos e seus mecanismos de ação conhecidos, exercendo benefícios equivalentes aos produtos farmacêuticos, porém visto como cosmético (COSTA, 2012).

Avanços no mercado desses produtos acarretam uma tendência em novas tecnologias, levando indústrias a investir na inovação buscando desenvolver produtos com melhores resultados. Assim, a implementação de técnicas de microencapsulação na área de cosméticos promove melhor estabilidade e proteção dos agentes ativos durante o transporte e armazenamento de produtos, permitindo a liberação somente quando necessária, conferindo deste modo valor agregado ao produto.

2.2. Microencapsulação

O desenvolvimento de produtos através da técnica de microencapsulação teve início na década de 50 no estudo realizado por Barret Green, o qual produziu o papel sem carbono, isto é, um revestimento sensível à pressão contendo uma fina camada de

microcápsulas de tinta que se rompiam liberando o pigmento quando uma pressão era exercida pelo lápis/caneta na superfície (KURIOKASE 2015).

A microencapsulação é uma metodologia que se baseia no recobrimento de partículas sólidas, gotículas de líquido ou gases através de uma fina camada contínua do material de revestimento, isolando e protegendo o material interno. O resultado dessa técnica é a formação de microcápsulas, as quais são definidas como sistemas esféricos e poliméricos com tamanhos que podem variar entre 1 e 5.000 μm , podendo também apresentar diferentes estruturas e morfologias, ficando ao lado das microesferas em uma definição mais abrangente, denominada de micropartículas, cuja representação está mostrada na Figura 1 (KURIOKASE *et al.*, 2015).

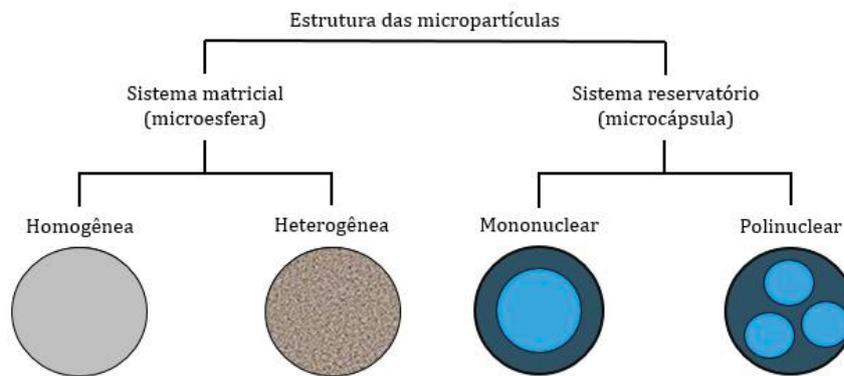


Figura 1: Esquema ilustrativo das diferentes estruturas de micropartículas (FONTE: adaptado de SILVA *et al.*, 2003).

As microesferas são sistemas do tipo matricial nas quais o composto ativo se está disperso na matriz polimérica. As microesferas podem ser divididas ainda em homogêneas e heterogêneas, com base na forma em que o agente ativo se encontra, sendo homogênea se o agente estiver dissolvido e heterogênea quando estiver suspenso ou adsorvido (SILVA *et al.*, 2003). As microcápsulas se diferem das microesferas por serem partículas conhecidas como sistemas do tipo reservatório, pois são constituídas de um núcleo interno contendo o agente ativo envolto por uma camada polimérica (material de revestimento) sem espessura específica. A microcápsula pode ser mononuclear, quando o núcleo não está dividido no interior da microcápsula, ou polinuclear, quando o núcleo se encontra subdividido (AZEREDO, 2005; SILVA *et al.*, 2003). Os diferentes formatos das microcápsulas e das microesferas podem ser característicos conforme o material de núcleo e revestimento e também o processo de obtenção empregado.

Pesquisas com foco no desenvolvimento de microcápsulas, a partir de matrizes poliméricas, apresentam diversas vantagens, pois essa tecnologia proporciona a liberação gradual do núcleo somente quando desejado (relacionada a espessura, morfologia e tamanho do revestimento formado, bem como, das características do composto encapsulado). Protege o agente ativo através da formação de uma barreira diminuindo seu contato com o meio externo (luz, umidade, veículo), diminui ou elimina reações adversas provocadas por alguns materiais e ainda, aumenta a estabilidade do agente ativo resultando um maior desempenho e administração segura (JYOTHI *et al.*, 2010).

A aplicação dessa tecnologia estende-se para diversos setores das indústrias: no setor alimentício incorporando vitaminas, corantes e também prolongando sabores, nas indústrias de agrotóxicos através da liberação de pesticidas reduzindo a contaminação ambiental, na indústria farmacêutica e na cosmética encapsulando substâncias bioativas aumentando a eficiência e durabilidade dos mesmos (DA SILVA, *et al.*, 2015; MADENE *et al.*, 2006; RUTZ, *et al.*, 2017; YANG, *et al.*, 2015).

2.3. Métodos de obtenção de microcápsulas

Atualmente, existem na literatura diversas técnicas destinadas à síntese de microcápsulas, variando os materiais de núcleo e de revestimento. Cabe salientar que a escolha do método a ser utilizado é dependente basicamente de três principais fatores, as propriedades físicas e químicas dos materiais de parede e a ser encapsulado, pois com uma pertinente combinação dos materiais de partida é possível obter microcápsulas com ampla variedade de características, o tamanho e morfologia da microcápsula desejada e a aplicação à qual a microcápsula será submetida (KURIOKASE *et al.*, 2015; AZEREDO, 2005; MADENE *et al.*, 2006).

Em geral, as técnicas utilizadas para a microencapsulação de diferentes princípios ativos podem ser divididas em duas categorias: químicos e físicos.

Métodos físicos:

- *Spray-Drying*;
- Extrusão;
- Liofilização.

Métodos químicos:

- Coacervação Simples;
- Coacervação Complexa;
- Polimerização *in situ*.

Um método muito utilizado para a obtenção de microcápsulas é o *Spray-Drying*, desenvolvido na década de 1930, que se baseia na pulverização de uma dispersão contendo a substância a ser encapsulada dissolvida em uma solução aquosa do material de parede, através de uma corrente de ar quente, onde ocorre a evaporação do solvente resultando na secagem e formação das microcápsulas. Essa metodologia é uma das mais utilizadas industrialmente, devido sua produção em larga escala com baixo custo. Porém, pode ocorrer a adesão das microcápsulas obtidas às paredes do equipamento (KURIOKASE *et al.*, 2015; MADENE *et al.*, 2006).

Outra técnica usada para se obter microcápsulas é a coacervação complexa, que envolve a interação de hidrocolóides carregados com cargas opostas, dando origem ao complexo polieletrólítico. A separação do complexo polieletrólítico ocorre com a neutralização das cargas dos hidrocolóides presentes no meio. Essa fase rica, coalesce sobre a gota do material a ser encapsulado, formando a parede da microcápsula (KIZILAY; KAYITMAZER; DUBIN, 2011; SIOW & ONG, 2013). A coacervação complexa se destaca por ser um método de microencapsulação rápido, simples, considerado o mais antigo e que permite produzir microcápsulas a partir de materiais de origem natural e com alta eficiência de encapsulamento de materiais hidrofóbicos, sob condições brandas de temperatura, quando comparado aos demais métodos de microencapsulação existentes (JYONTHI *et al.*, 2010; YANG *et al.*, 2015). No tópico a seguir será apresentado a técnica de coacervação e suas variações.

2.3.1 Coacervação complexa

Em 1949, Bungenberg e colaboradores propuseram o termo coacervação para descrever o fenômeno de separação em duas fases líquidas em sistemas coloidais. Uma das fases rica em coloides (coacervado) e a outra pobre em coloides (sobrenadante), considerada assim a técnica de microencapsulação precursora (KIZILAY; KAYITMAZER; DUBIN, 2011). De acordo com a IUPAC (União Internacional de Química Pura e Aplicada), a coacervação é a separação de duas fases líquidas em sistemas coloidais. A fase mais concentrada no componente coloidal é o coacervado e a outra fase é a solução de equilíbrio.

A coacervação é uma técnica descrita por uma separação de fases espontânea, através da formação de um complexo insolúvel de polímeros, como resultado das interações eletrostáticas entre as macromoléculas presentes na solução. Essa

metodologia permite encapsular diferentes compostos, como, vitaminas, enzimas, aromas, flavorizantes e óleos (KURIOKASE *et al.*, 2015).

O método de coacervação pode ser simples ou complexa. A coacervação simples se baseia na utilização de uma única macromolécula em solução para a formação da parede e de um solvente imiscível no polímero para induzir a coacervação, ou seja, a formação das duas fases. A coacervação complexa é a mais estudada e difundida, e se baseia na associação de duas ou mais macromoléculas, na qual através de alterações do meio, como mudanças de pH, por exemplo, verifica-se o favorecimento na formação de cargas opostas e, por interação eletrostática, ocorre a deposição do material de revestimento ao redor do material a ser encapsulado. Contudo, essa interação entre as macromoléculas pode ser modificada, devido a diferentes fatores como com a variação do pH, a escolha do material de revestimento e as condições de agitação (SIOW & ONG, 2013).

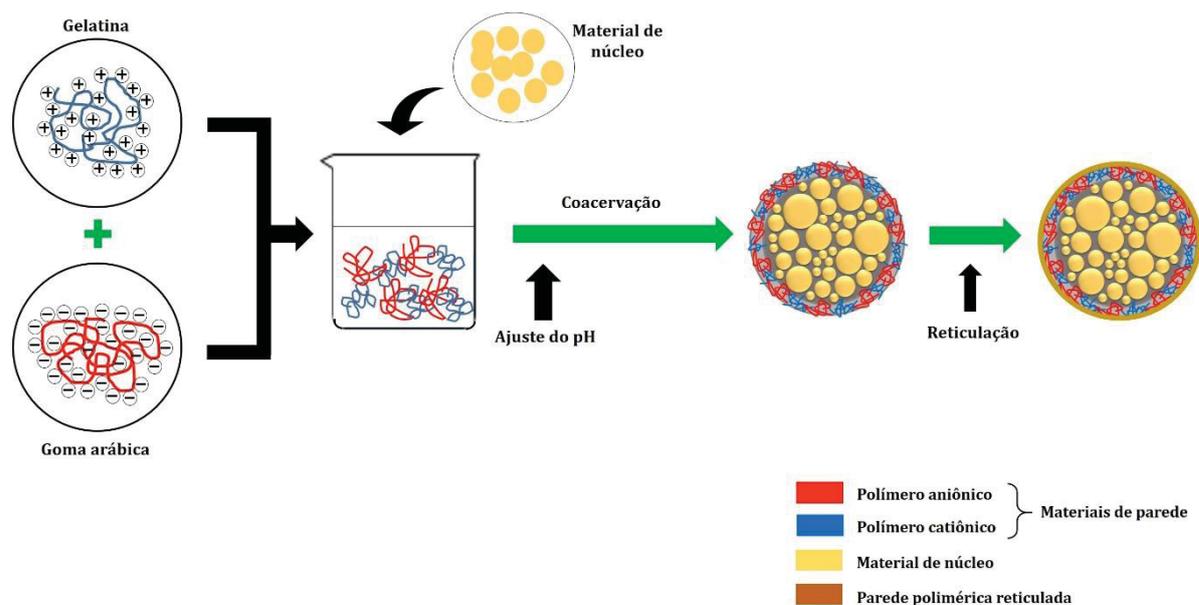


Figura 2: Representação esquemática da formação de microcápsulas pelo método de coacervação complexa. (FONTE: o autor).

O processo de obtenção de microcápsulas utilizando o método de coacervação é apresentado pelo esquema na Figura 2. Inicialmente é feita uma emulsão óleo/água na qual encontra-se solução do material de revestimento e do material a ser encapsulado, adiciona-se a solução do segundo material de revestimento, a microencapsulação acontece quando ocorre a auto organização dos coacervados (polímeros de revestimento) sobre as gotículas do material de núcleo, dando origem a parede da microcápsula através

da formação de um revestimento contínuo. Ainda, pode ser realizado o endurecimento da parede, por agentes reticulantes. A aderência do material de revestimento auxilia no isolamento e proteção das microcápsulas, além de aumentar suas propriedades mecânicas. (SIOW & ONG, 2013). A faixa de tamanho das microcápsulas obtidas por coacervação complexa está entre 2 – 5000 μm , podendo ser variado com velocidade de agitação empregada (KURIOKASE *et al.*, 2015).

Pesquisas apontam que existem propriedades físico-químicas e de condição operacional que influenciam no processo de coacervação complexa. Alguns dos parâmetros físico-químicos são a densidade de cargas, onde as cargas distribuídas na superfície das partículas geram uma força de repulsão eletrostática entre partículas quando essas cargas são iguais (positivas ou negativas) favorecendo que os colóides mantenham-se dispersos e em solução. Essa densidade de carga superficial de uma partícula está relacionada com o potencial gerado pelo íon no solvente, uma vez que, geralmente o íon H^+ determina o potencial do sistema, sendo assim dependentes do pH do meio (KIZILAY; KAYITMAZER; DUBIN, 2011). No geral, a formação de complexos entre biopolímeros, é decorrente de interações eletrostáticas entre duas macromoléculas, que encontram-se carregadas com cargas opostas. Como por exemplo interação proteína/polissacarídeo, o pH influencia diretamente no grau de ionização dos grupos aminas e carboxílicos residuais das proteínas, com isso se faz necessário ajustar esse parâmetro para obter uma boa interação entre as moléculas (KIZILAY; KAYITMAZER; DUBIN, 2011; BUTSTRAEN & SALAÜN, 2014).

Com relação aos parâmetros físicos envolvidos no processo, a temperatura é um parâmetro que influencia diretamente nos tipos de interações entre as macromoléculas empregadas. Um aumento na temperatura favorece interações covalentes. Já baixas temperaturas, contribuem na formação de pontes hidrogênio e, diminui a agitação térmica das macromoléculas auxiliando assim, na interação dos polímeros (KIZILAY; KAYITMAZER; DUBIN, 2011; BUTSTRAEN & SALAÜN, 2014). Por fim, o tamanho das microcápsulas pode ser alterado principalmente pela velocidade de agitação adotada na mistura das substâncias emulsificantes, contendo o composto a ser encapsulado. Se a velocidade de agitação for alta ($> 5000 \text{ rpm}$), essa promove um aumento nas forças de cisalhamento e na turbulência, gerando conseqüentemente, gotas menores e, tendo como resultado, microcápsulas de tamanho menor (KIZILAY; KAYITMAZER; DUBIN, 2011; BUTSTRAEN & SALAÜN, 2014). A temperatura é um parâmetro que, quando modificado,

pode melhorar o processo de microencapsulação, sendo que em temperaturas mais altas ocorre a ineficiência do processo de microencapsulação, enquanto que em baixas temperaturas ($\leq 40^{\circ}\text{C}$) são produzidas microcápsulas menores (HEISKANEN *et al.*, 2010).

Em meio aos vários processos de microencapsulação presentes na literatura, a coacervação complexa se destaca por ser uma tecnologia promissora, simples, de baixo custo, ecológica e sustentável, pois é possível a utilização de temperaturas brandas ($\sim 40^{\circ}\text{C}$), o uso da água como solvente e de polímeros naturais. Apresenta ainda eficácia de encapsulação comprovada (YANG *et al.*, 2015).

2.4. Materiais de revestimento na coacervação complexa

Para a seleção do material de revestimento devem ser levadas em consideração as propriedades físicas e químicas do material de núcleo, o método que será utilizado para a obtenção das microcápsulas e a aplicação das mesmas (KURIOKASE *et al.*, 2015). O material de revestimento não deve provocar reação com o material de núcleo, deve apresentar capacidade de encapsular e manter o material de núcleo no interior da microcápsula, fornecer máxima proteção ao material núcleo em condições não favoráveis e ser economicamente viável (SILVA *et al.*, 2014).

Inúmeros são os materiais que podem ser usados como revestimento de microcápsulas, os principais estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Principais materiais usados como revestimento de microcápsulas (FONTE: JYOTHI *et al.*, 2010).

| | |
|-----------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| Polissacarídeos | Goma arábica Alginatos Carragenana Quitosana Pectinas |
| Proteínas | Glúten Gelatina Caseína Albumina |
| Polímeros sintéticos | Poli (álcool vinílico) |

A gelatina e goma arábica são substâncias naturais bastante estudadas e que compõem melhores sistemas complexados através da coacervação. A gelatina por ser uma proteína que auxilia na formação da emulsão através da estabilização das gotas formadas, enquanto que a goma arábica é um polissacarídeo que atua como agente emulsificante,

espassante e redentor de água, além disso, são biopolímeros atóxicos, de grande abundância e biodegradabilidade.

2.4.1. Goma arábica

A goma arábica também chamada como goma de acácia, é a mais antiga e conhecida das gomas. É obtida através do exsudato gomoso de espécies conhecidas de acácia, por exemplo *Acacia Senegal* e *Acacia seyal*, como apresentado na Figura 3. A goma arábica é um polissacarídeo complexo, com estrutura altamente ramificada, também é constituída por uma mistura de sais de cálcio, magnésio e potássio referentes aos grupos das arabinogalactanas.



Figura 3: Exsudato gomoso no tronco da árvore Acácia
(FONTE: www.vegetall.com.br/goma-arabica/)

A goma é uma mistura complexa de três frações, com estruturas químicas diferentes: fração arabinogalactana (representa cerca de 85% da composição da goma); fração arabinogalactana-proteína (representa cerca 10% da composição total da goma arábica) e glicoproteína (representando 5% da composição total da goma arábica) (DA SILVA, *et al.*, 2015).

A fração arabinogalactana-proteína é considerada como a grande responsável pelas propriedades emulsificantes e a atividade interfacial conferida as gomas. Essa fração é um complexo formado por várias cadeias polissacarídicas ligadas a uma cadeia polipeptídica, dando origem a uma estrutura descrita como um modelo conhecido por wattle-blossom, o qual é formado por blocos de cadeias polissacarídicas ligados a uma cadeia proteica, como apresentado esquematicamente na Figura 4. Essa cadeia proteica apresenta caráter anfótero devido aos grupos hidrofílicos e hidrofóbicos advindos dos aminoácidos presentes na estrutura e da cadeia polissacarídica, que é hidrofílica. Devido

a essas propriedades a fração arabinogalactana-proteína auxilia na estabilização de interfaces (DA SILVA *et al.*, 2013; SANCHEZ *et al.*, 2017).

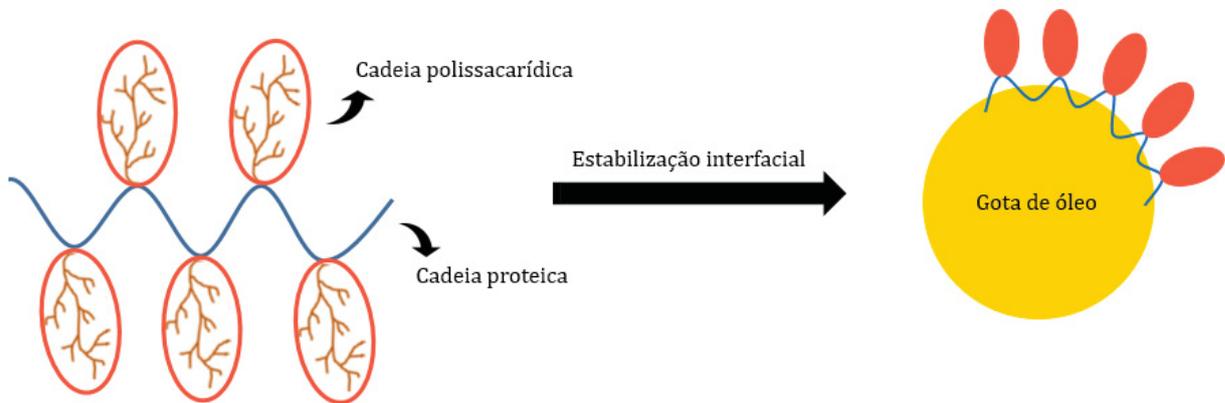


Figura 4: Estrutura proposta para a fração arabinogalactana-proteína da goma arábica e seu mecanismo de estabilização.
(FONTE: DA SILVA, *et al.*, 2015).

Esse complexo quando disperso em emulsão, modifica sua conformação na interface água/óleo, fazendo com que hidrofobicidade dos aminoácidos presentes na cadeia proteica atuem na fase oleosa, enquanto que os aminoácidos hidrofílicos em conjunto com as cadeias polissacarídicas interajam com a fase aquosa, favorecendo a formação de um filme coloidal sobre a gotícula emulsionada, proporcionando assim a estabilidade do sistema.

A fração polissacarídica apresenta na sua composição ácidos que aumentam a estabilidade do sistema por repulsão eletrostática quando ionizados enquanto que, ocorre a interação das hidroxilas com o meio aquoso (DA SILVA *et al.*, 2013; SANCHEZ *et al.*, 2017).

2.4.2. Gelatina

A gelatina é o material de encapsulação mais frequentemente utilizado no processo de coacervação; é uma proteína abundante, derivada da hidrólise parcial do colágeno, que é o principal constituinte de peles de animais, ossos, tendões e tecido conectivo (DUONSEILLE *et al.*, 2015). A gelatina pode ser tanto do Tipo A quanto do Tipo B. A gelatina do Tipo A se caracteriza por ser obtida através do processamento ácido do colágeno e, com isso seu ponto isoelétrico (pI) - valor de pH onde a carga elétrica líquida é igual a zero - fica entre 7,0 e 9,4. A gelatina do Tipo B é obtida através da hidrólise

alcalina do colágeno, configurando o ponto isoelétrico entre 4,8 a 5,2 (GÓMEZ - GUILLÉN *et al.*, 2011).

A utilização da gelatina auxilia na solução de diversos problemas como a prevenção da separação de fases em emulsões congeladas ou esterilizadas, formação de filmes e revestimentos e fornecimento de consistência e textura em produtos de baixo teor calórico. Com essas propriedades, a gelatina tem a capacidade de estabilizar superfícies através da formação de filmes e revestimentos, conferindo proteção a uma fase dispersa em um meio, sendo bastante útil para a formação e estabilização de emulsões e espumas (GÓMEZ - GUILLÉN *et al.*, 2011).

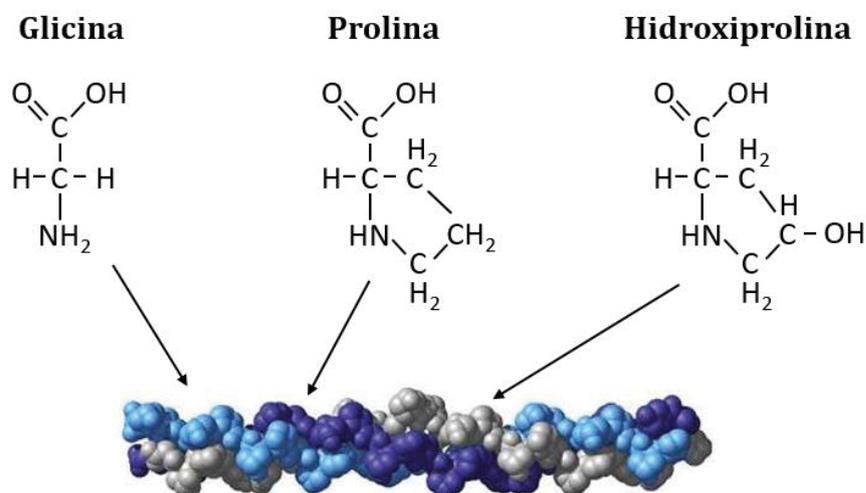


Figura 5: Modelo compacto da estrutura de tripla hélice do colágeno (FONTE: adaptado de FERREIRA DA SILVA & BARRETTO PENNA, 2012).

Por ser obtida diretamente de fontes ricas em colágeno, suas estruturas são semelhantes (Figura 5). Sendo então, a gelatina uma mistura de aminoácidos, que geralmente formam sequências repetidas, com predominância de duas cadeias iguais e uma terceira diferente (glicina; prolina e hidroxiprolina). Essas cadeias encontram-se enroladas em torno de um eixo comum, dando origem a uma tripla hélice (DUONSEILLE *et al.*, 2015; GÓMEZ - GUILLÉN *et al.*, 2011).

Como as demais proteínas, as gelatinas apresentam caráter anfótero, ou seja, podem agir como molécula catiônica ou aniônica dependendo do pH do meio. Na estrutura do colágeno uma fração dos grupos ácidos encontram-se na forma de amidas (35%), caracterizando assim o colágeno como uma proteína básica. Como grupos carboxílicos e amínicos em diferentes proporções influenciam diretamente no ponto isoelétrico da gelatina, dependendo do pré-tratamento da hidrólise empregado, a gelatina extraída irá

apresentar ponto isoelétrico diferente (DUCONSEILLE *et al.*, 2015; GÓMEZ - GUILLÉN *et al.*, 2011).

2.4.3. Materiais para reticulação

Diversos são os materiais de revestimento utilizados na síntese de microcápsulas visando liberação controlada de um composto encapsulado. Na coacervação complexa, aproximadamente 90% dos estudos utilizam no par polimérico uma proteína. Analisando a estrutura do colágeno, notou-se que era essencial uma ligação covalente entre as moléculas para os tecidos conectivos, por apresentarem características de aumento de resistência mecânica e controle do grau de flexibilidade das cadeias polipeptídicas. (MILES *et al.*, 2005; REDDY; REDDY; JIANG, 2015).

Na microencapsulação a reticulação pode ser aplicada para alterar as propriedades de barreira das paredes das microcápsulas melhorando o controle de liberação do material encapsulado. A maioria dos agentes de reticulação apresentam grupos reativos usados para imobilizar proteínas que podem produzir ligações estáveis com resíduos específicos. Geralmente, são formados por dois lados reativos derivados de moléculas desenvolvidas para interagir com as cadeias laterais da proteína, ligando-se normalmente com resíduos de lisina (MATEO, 2005; MILES *et al.*, 2005).

Diversos estudos encontrados na literatura, indicaram que o agente reticulante mais amplamente utilizado na reticulação de microcápsulas é o glutaraldeído (Figura 6). Esse agente é apresentado em estrutura linear, composto por dois aldeídos terminais, encontrado em forma de líquido incolor, solúvel em água e em solventes orgânicos, que proporcionam características desejadas de liberação controlada. A reticulação com aldeídos é rápida e forte, sendo aplicada na estruturação de paredes poliméricas de microcápsulas (REDDY; REDDY; JIANG, 2015).

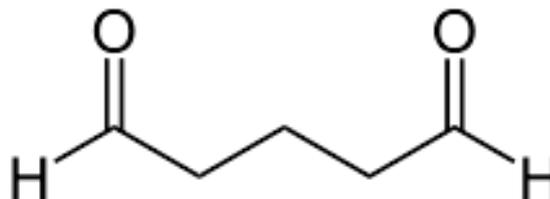


Figura 6: Estrutura química do glutaraldeído.
<https://pt.wikipedia.org/wiki/Glutaralde%C3%ADdo>

O grau de reticulação está diretamente ligado à concentração. Em baixas concentrações de glutaraldeído, o crosslinking intramolecular é dominante, enquanto que, à medida que se aumenta a concentração do reticulante ocorre um aumento das ligações transversais intermoleculares, conseqüentemente menor a solubilidade da proteína (REDDY; REDDY; JIANG, 2015). O esquema das reações de reticulação entre as cadeias poliméricas está representado na Figura 7.

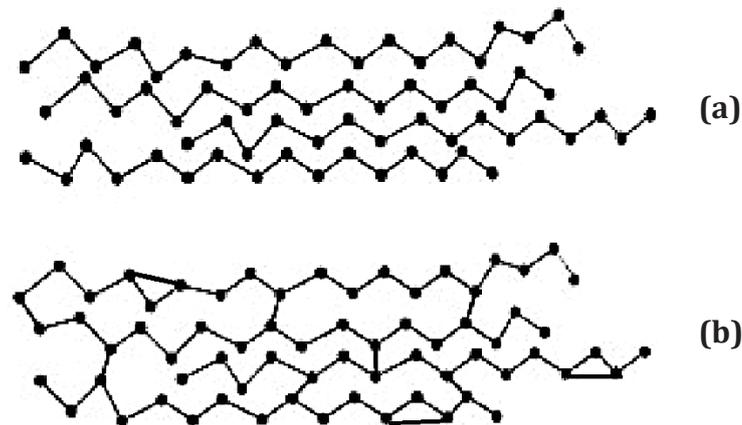


Figura 7: Representação da reação de reticulação intramolecular e intermolecular de um polímero. (a) cadeias sem reticulação; (b) cadeias reticuladas.
(FONTE: adaptado de GILLES, 1996)

2.5. Materiais de núcleo na coacervação complexa

Materiais a serem revestidos são denominados como fase interna ou material de núcleo. O núcleo pode ser composto por apenas um ou por materiais distintos. A capacidade de retenção do(s) núcleo(s) pode ser regulada por sua funcionalidade química, solubilidade, polaridade e volatilidade (JYONTHI, *et al.*, 2010).

Com base da literatura, existem diversos compostos que podem ser encapsulados. Devido às suas ótimas propriedades antioxidantes, bactericidas, antifúngicas, anti-inflamatórias e analgésicas, diversos óleos são foco de estudos para sua aplicação como material de núcleo em processos de microencapsulação. Na Tabela 2 estão apresentados exemplos típicos desses óleos essenciais empregados em diferentes técnicas de microencapsulação (EL ASBAHANI *et al.*, 2015).

Tabela 2: Exemplos de óleos encapsulados por diferentes métodos e suas principais aplicações.

| Material de núcleo | Método | Aplicação | Referência |
|----------------------------|----------------------|-----------------------|--------------------------------|
| Óleo de semente de papoula | Coacervação complexa | Industria alimentícia | (YANG <i>et al.</i> , 2015) |
| Óleo de café torrado | Coacervação complexa | Industria alimentícia | (VEIGA <i>et al.</i> , 2016) |
| Óleo essencial de “poleo” | Coacervação complexa | Industria agrícola | (GIRARDI <i>et al.</i> , 2017) |
| Óleo de palma | Coacervação complexa | Industria alimentícia | (RUTZ <i>et al.</i> , 2017) |

2.5.1. Óleo de calêndula

A *Calendula officinalis* (Asteraceae) é uma planta herbácea que tem sido utilizada para o tratamento de lesões na pele desde o século XIII na Europa, ilustrada na Figura 8. Devido ao seu longo histórico como medicamento para o tratamento de inflamações e feridas de pele, a utilização de óleo de calêndula em formulações de cosméticos é típica, principalmente por apresentar atividade anti-inflamatória eficaz (GHÉDIRA & GOETZ, 2016).



Figura 8: Ilustração da flor da espécie *Calendula officinalis*.
(FONTE: <https://gobotany.newenglandwild.org/species/calendula/officinalis/>).

Estudos fitoterápicos e fitoquímicos da calêndula foram relacionados à uma vasta quantidade de compostos químicos (GHÉDIRA & GOETZ, 2016). Os principais componentes fitoquímicos da calêndula são as saponinas, os flavonoides e o óleo calêndico (GHÉDIRA & GOETZ, 2016; OKUMA, 2015). A quercetina e a rutina são os dois principais flavonoides presentes da calêndula; os mesmos exibem propriedades antisséptica, antiviral, antioxidante, anti-inflamatória e cicatrizante. As saponinas e as mucilagens apresentam propriedades umectantes, podendo a calêndula ser aplicada em

hidratantes. O óleo calêndico é o principal constituinte das sementes da calêndula, composto por um isômero de triacilglicerol predecessor do ácido linoleico, que é um ácido graxo (Ômega 6) que confere propriedades hidratantes e nutritivas, fazendo-o atrativo às indústrias cosméticas (PARENTE, 2009; OKUMA; 2015). As estruturas químicas dos compostos estão representadas na Figura 9.

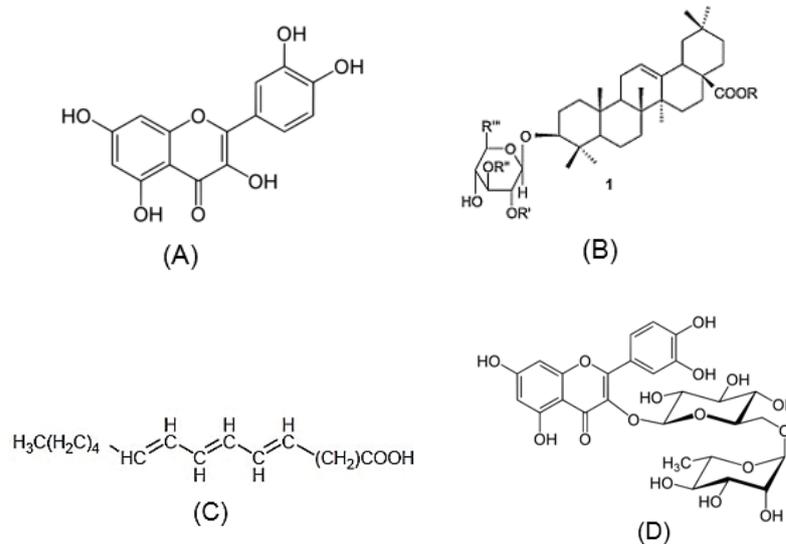


Figura 9: Estruturas químicas dos principais constituintes da *Calendula officinalis* (A) quercetina, (B) saponina, (C) ácido calêndico e (D) rutina (FONTE: adaptado de ARORA; RANI; SHARMA, 2013; GHÉDIRA & GOETZ, 2016).

O trabalho realizado por Parente e colaboradores, em 2009, teve como propósito avaliar a atividade anti-inflamatória e cicatrizante do extrato etanólico das flores da *Calendula officinalis* cultivadas no Brasil, em feridas cutâneas de ratos Wistar, através da avaliação macroscópica, histológica e da atividade antimicrobiana do extrato. Foi observado o crescimento de colágeno no tecido de granulação e de efeito antibacteriano, além da diminuição da inflamação presente resultando em crostas mais umedecidas e delgadas. Assim, foi comprovada a eficácia da utilização da calêndula no processo de cicatrização em tratamentos pós-traumáticos, ressaltando na sua atividade cicatrizante e antibacteriana *in vitro* (PARENTE *et al.*, 2009).

Já no estudo de Okuma e colaboradores, em 2015, buscou-se desenvolver uma emulsão com fase gel lamelar (LGP) contendo o óleo de calêndula, com o intuito de avaliar sua atividade cicatrizante no dorso de ratos, no qual foi gerado uma úlcera cutânea. Os ratos foram divididos em dois grupos: grupo de controle e LGP. No grupo de controle foi utilizado a collagenase (enzima) e a evolução da úlcera foi avaliada em 0, 2, 7, 14 e 21 dias após o processo de realização da ferida. A emulsão contendo 15% de óleo de calêndula,

10% de surfactante e 70% de água purificada apresentou maior estabilidade, logo, maior capacidade de contato com a ferida. A formulação proposta do gel lamelar de calêndula promoveu uma cicatrização mais evidente no modelo de úlcera cutânea na região dorsal dos ratos, mostrando que a formulação desenvolvida com o óleo da *Calendula officinalis* exibe alto potencial de melhoria em cicatrização de feridas (OKUMA *et al.*, 2015).

2.5.2. Óleo de aveia

A aveia (*Avena Sativa L.*) é uma espécie de grãos de cereais (Figura 10). O gênero é composto por 450 espécies aproximadamente. É um cereal que se diferencia dos demais, pois apresenta valor nutricional superior. Possui em sua composição química ácidos graxos, aminoácidos, sais minerais, vitaminas e alta porcentagem de lipídios. De maneira geral a aveia exibe basicamente duas utilidades: a primeira para alimentação humana e animal e a segunda nas indústrias farmacêuticas e cosméticas (SÁ *et al.*, 1998).



Figura 10: Ilustração da planta *Avena sativa L.*
(https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/2/2d/Avena_sativa_002.JPG)

O óleo encontra-se em maior concentração distribuído por todo o grão, e fornece algumas propriedades benéficas da planta ou dos grãos secos, sendo útil como antioxidante, agentes antiperoxidante, anti-inflamatório e antialergênico, podendo assim ter aplicações nas áreas dermocosméticas ou cosmética. Essas propriedades do óleo se devem à sua composição química. Estudos realizados mostram que o óleo de aveia é excelente fonte de ácidos graxos saturados e insaturados (Figura 11). Os ácidos graxos saturados são o mirístico, palmítico e esteárico, enquanto que os principais ácidos graxos insaturados presentes são o oleico, linoleico e linolênico (BRATT *et al.*, 2003; CAI *et al.*, 2011).

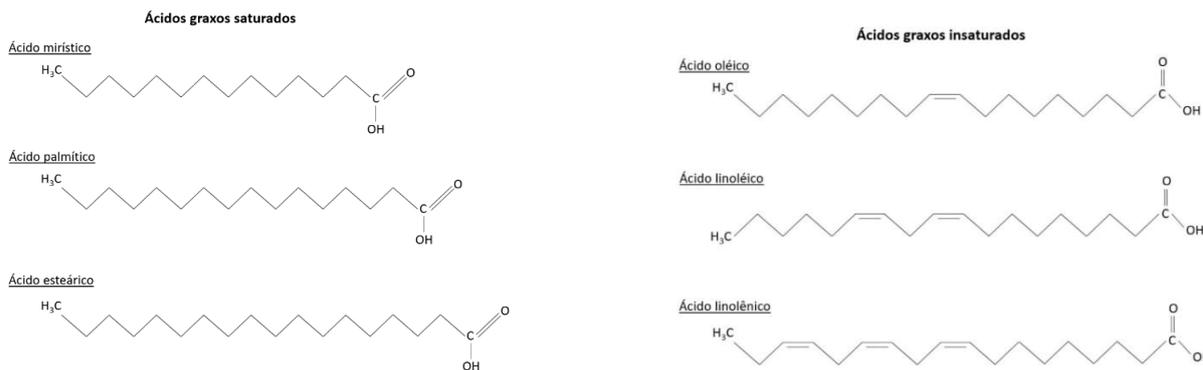


Figura 11: Estruturas químicas dos principais constituintes da *Avena sativa*.
(FONTE: adaptado de <http://www.abq.org.br/cbq/2012/trabalhos/4/741-12796.html>).

Os ácidos graxos oleico, linoleico e palmítico representam cerca de 95% da composição total do óleo. Um estudo realizado por Zhou e colaboradores em 1998, com o objetivo de analisar o efeito do meio sobre a composição dos ácidos graxos, foram quantificados ácidos graxos, nos quais os ácidos palmítico, oleico e linoleico foram os que exibiram maiores proporções e os ácidos linolênico, mirístico e esteárico em menores porcentagens, quando comparados aos demais ácidos quantificados.

2.5.3. Óleo de aloe vera

A aloe vera, popularmente conhecida como babosa, é utilizada há muito tempo na medicina tradicional (Figura 12). É uma planta de origem africana que ficou conhecida como babosa devido ao aspecto da mucilagem (gel) das suas folhas. Esse gel é composto principalmente por polissacarídeos, sais minerais e vitaminas. Por seu uso já consagrado, atualmente sua utilização nas áreas cosmética e farmacêutica vem crescendo, pois, pelo uso tópico ameniza a dor e favorece a cura de feridas (DE PAULA RAMOS & PIMENTEL, 2011).



Figura 12: Ilustração da planta aloe vera.
(<https://pixabay.com/pt/aloe-vera-agave-cacto-planta-verde-1045/>)

O óleo de aloe vera é obtido através da combinação do gel mucilaginoso, que se encontra no interior das folhas da planta e os seus principais constituintes são água e polissacarídeos, além de componentes como, aminoácidos, ácidos, lignina, saponina e vitaminas A, B, C e E, juntamente com óleos de base (FREITAS *et al.*, 2014). Dos polissacarídeos presentes, a acemana é o principal por ser responsável pela prevenção de doenças autoimunes como por exemplo reumatismo, alergias, câncer, entre outras. As saponinas irão proporcionar propriedade antisséptica e as ligninas tem função de auxiliar na penetração da pele, auxiliando na cicatrização de um ferimento. Esses componentes são responsáveis pelas propriedades anti-inflamatória, hidratante, antibacteriana, antifúngica e antiviral (Figura 13) (PARENTE *et al.*, 2013).

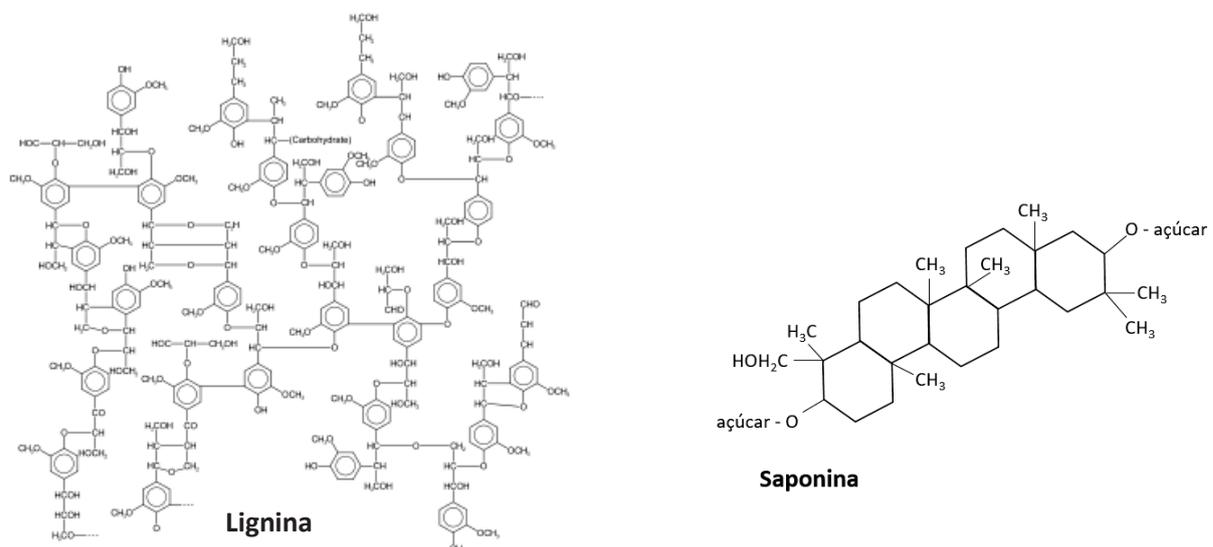


Figura 13: Estruturas químicas dos principais compostos presentes na planta aloe vera: lignina e saponina (FONTE: <http://wikipedia.org/wiki/Lignina> e www.phytochemicals.info/phytochemicals/saponins.php).

2.5.4. Óleo de microalgas

As microalgas são algas microscópicas, cujo tamanho pode variar entre 5 e 50 µm e são encontradas em águas salgadas e doces e, como as demais plantas, contém um núcleo e apresentam na sua composição altas taxas de proteínas e nutrientes (PRIYADARSHANI & RATH, 2012).

Estudos mostram que as microalgas são conhecidas por apresentarem em sua composição uma fonte de alimentação suplementar, devido ao seu alto teor de proteínas e nutrientes, podendo ser utilizadas em diferentes aplicações nas mais diversas áreas, como em tratamento de águas residuais, biocombustíveis, ração animal, produção de alimentos e aditivos alimentares e, ainda, podendo revolucionar as indústrias de

cosméticos, farmacêuticas, alimentícias e diversas outras (WANG *et al.*, 2015). Alguns exemplos de microalgas existentes são apresentados na Figura 14.

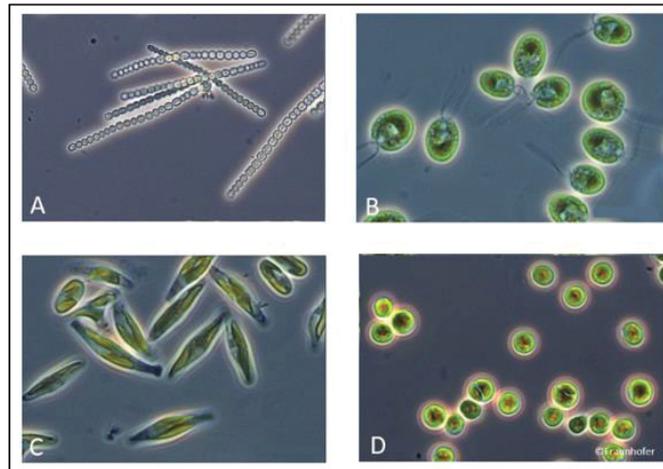


Figura 14: Exemplos de microalgas existentes: (A) *Anabaena*, (B) *Chlamydomonas reinhardtii*, (C) *Phaeodactylum tricornutum*, (D) *Chlorella sorokiniana* (FONTE: DERWENSKUS & HOLDMANN, 2016).

Existem inúmeras espécies de microalgas constituídas por diferentes linhagens, não sendo possível saber o seu número exato. Dentre essas diversas espécies se destaca a microalga *Acutodesmus obliquus* (Figura 15), também conhecida como “Curitibana” por ser encontrada na região de Curitiba e adaptar-se às condições climáticas existentes. Esta microalga recebeu esse nome após uma reclassificação, em que antes era denominada *Scenedesmus obliquus*. Essas microalgas são as mais comuns do gênero de algas verdes microalgas com formato elipsoidal, encontradas em colônias com células agrupadas em geral por 2, 4, 8 ou até 16, dispostas frequentemente em ambientes de água doce (STANKIEWICZ; ANDRADE; DOMINGUES, 1981).



Figura 15: Ilustração da microalga da espécie *Acutodesmus obliquus*. (FONTE: https://sagdb.uni-goettingen.de/detailedList.php?str_number=276-3a).

As microalgas apresentam produção de variados componentes, como proteínas, pigmentos, carboidratos e lipídeos. A biomassa da microalga é fonte de aminoácidos, alterando a concentração de proteínas entre as espécies de microalgas. Os aminoácidos encontrados em maior concentração na microalga *Acutodesmus obliquus* são a alanina, asparato, leucina, glicina e arginina, empregados em suplementação alimentar (WANG *et al.*, 2015). Os pigmentos de microalgas vêm sendo usados em indústrias alimentar, farmacêutica e cosmética. A clorofila e os carotenoides (astaxantinas, β -caroteno) são os principais pigmentos das microalgas. Os carotenoides são precursores de vitamina A e fornecem propriedade antioxidante, enquanto que a clorofila é um diéster que quando saponificado (hidrólise alcalina) dá origem ao derivado clorofilina, um corante empregado em indústrias têxteis, papelaria e alimentícia (WANG *et al.*, 2015). Pesquisas realizadas com o compostos carboidratos relataram propriedades imunoestimulador e antioxidante, podendo esses serem aplicados em terapias adesivas, nutricional e terapêutica (SPOLAORE, 2006; WANG *et al.*, 2015). Diversas espécies de microalgas apresentam alto teor lipídico compostos por bases esterificadas ou glicerol de ácidos graxos saturados e insaturados, entre esses ácidos os poli-insaturados (ômega 3 e ômega) os quais apresentam alto valor agregado e comercial (SPOLAORE, 2006; WANG *et al.*, 2015).

Os ácidos graxos são ácidos carboxílicos, geralmente monocarboxílicos, que apresentam o grupo carboxila (-COOH) ligado a uma cadeia alquílica, podendo ser saturados ou insaturados. Os ácidos graxos insaturados, possuem duplas ligações e são considerados quimicamente instáveis (MARTIN *et al.*, 2006). Os ácidos graxos encontrados em maiores proporções nas microalgas são o ácido oleico (GC), ácido linoleico (LA), ácido alfa-linolênico (ALA) e o ácido palmítico podendo haver variação da sua quantidade e qualidade conforme a espécie da microalga. Esses ácidos graxos são responsáveis pelos mecanismos de controle e reparação, prevenção e hidratação da pele, auxiliam ainda na cicatrização de feridas e melhora de queimaduras solares, podendo assim serem incorporados em indústrias farmacêuticas ou cosméticas (PRIYADARSHANI & RATH, 2012; WANG *et al.*, 2015). A Figura 16 mostra a estrutura química dos principais ácidos graxos encontrados nas microalgas.

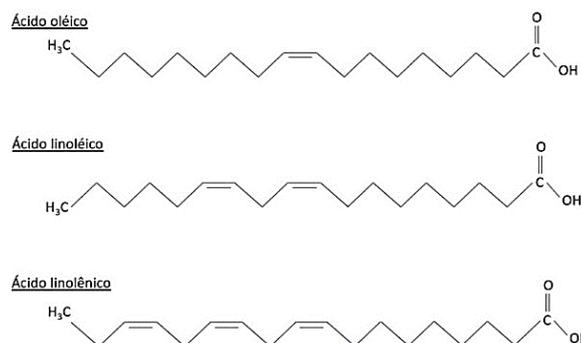


Figura 16: Estruturas químicas dos principais ácidos graxos presentes nas microalgas da espécie *Acutodesmus obliquus*.
 (FONTE: adaptado de <http://www.abq.org.br/cbq/2012/trabalhos/4/741-12796.html>).

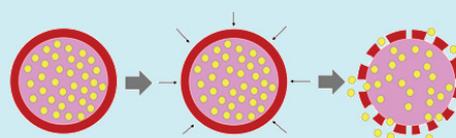
Na literatura, são encontrados estudos ainda em desenvolvimento visando diferentes aplicações para o óleo de microalgas e seus compostos. Logo, encapsular óleos essenciais ou seus componentes isolados, uma vez que, devido às suas composições apresentam propriedades específicas para a incorporação em produtos cosmeceúticos este trabalho possibilitará a utilização destes através da microencapsulação, uma técnica que é vantajosa quando comparada a aplicações existentes destes compostos, podendo assim contribuir no avanço de pesquisas em diferentes áreas.

2.6. Mecanismos de liberação em microcápsulas

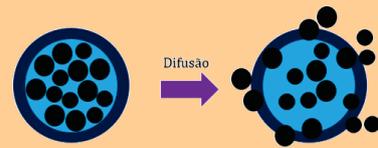
Uma vez apresentados os diversos métodos de obtenção de microcápsulas e os principais materiais de revestimento e de núcleo utilizados, o processo que envolve a síntese de microcápsulas deve considerar a liberação do material de núcleo de interesse, em condições já estabelecidas.

A liberação precisa, e apenas quando necessário, é uma propriedade de grande importância no processo de microencapsulação, pois além de liberar o material encapsulado somente no local desejado, é possível aumentar a vida útil, reduzir a toxicidade do material de núcleo (se apresentar) e proteger o material de núcleo do meio externo (GONÇALVES *et al.*, 2016; PAULO & SANTOS, 2017). Os principais estímulos para a liberação do material de núcleo de microcápsulas estão apresentados nos tópicos abaixo (DUBEY *et al.*, 2009).

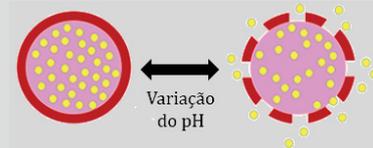
Liberação por ruptura mecânica: ocorre através de pressão externa (ex: goma de mascar).



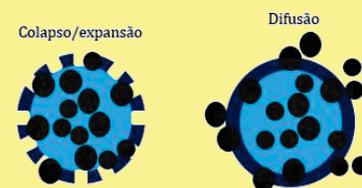
Liberação por difusão: a parede da cápsula atua como membrana semipermeável. A taxa de liberação está relacionada com as propriedades químicas dos materiais de parede e núcleo.



Liberação por variação do pH: a solubilidade ou porosidade da parede da cápsula é modificada devido a alteração do pH do meio, resultando na liberação do núcleo.



Liberação por variação da temperatura: o material é liberado a partir da variação da temperatura, a qual resulta em mudanças no estado físico (aqui ocorre o mesmo que com o pH só que pelo efeito de temperatura) da cápsula e conseqüentemente na taxa de liberação. A liberação ocorrer a partir da sensibilidade ou ativação por fusão.



Como essa pesquisa objetiva sintetizar microcápsulas de gelatina e goma arábica contendo óleos essenciais ou ácidos graxos visando aplicação na cosmetologia para uso tópico, aumentando a eficácia do produto, o método de liberação dos compostos é essencial. Para o sistema estudado, busca-se uma liberação através de fissura mecânica, através da aplicação de uma força externa sobre as cápsulas, desta maneira o material encapsulado poderá agir no momento da liberação com maior eficiência agindo em profundidade no local desejado.

3. CENÁRIO CIENTÍFICO

Diversos estudos têm sido realizados para a síntese de microcápsulas contendo um ou mais materiais ativos encapsulados pelo processo de coacervação complexa, dos quais se encontram na literatura científica alguns estudos utilizando a gelatina e a goma arábica como material de revestimento. Neste capítulo serão apresentados alguns trabalhos encontrados na literatura que abordam a síntese de microcápsulas.

No estudo publicado em 2016, desenvolvido por Sánchez e colaboradores, foram elaboradas microcápsulas de gelatina/goma arábica contendo partículas de brócolis, com tamanhos entre 65 e 125 μm , através da técnica de coacervação complexa, buscando a preservação, aumento da estabilidade química e mascarar o aroma característico do brócolis. Foi utilizada a metodologia de superfície de resposta para otimizar as condições experimentais a partir da análise das variáveis que podem influenciar o processo de microencapsulação. Também foi calculada a eficiência de encapsulamento e analisou-se a ocorrência de mudança na composição química após a microencapsulação. Com base nos resultados obtidos pela metodologia de superfície de resposta, as condições ótimas utilizadas no processo foram pH 4,5, concentração de material de parede sendo de 4% e de material de núcleo 50%. A velocidade de agitação foi de 10.000 rpm e temperatura de 50°C. As microcápsulas sintetizadas exibiram formato esféricos, porém após a secagem por liofilização o formato passou a ser irregular. Os tamanhos médios das cápsulas variaram de 50 à 100 μm e a eficiência de encapsulação teórica calculada foi de 60%, enquanto que a da prática foi de 58%. Por fim, constatou-se que a técnica microencapsulação empregada, permitiu manter a composição química, reduziu a degradação das substâncias presentes no brócolis e mascarou o odor emanado pelo brócolis.

O trabalho realizado por Dong e colaboradores (2011) tinha como propósito microencapsular o óleo de hortelã-pimenta por coacervação complexa utilizando a goma arábica e a gelatina como materiais de revestimento e a transglutaminase como reticulante, além de variar a proporção de núcleo/parede e analisar o efeito dessa variação em diferentes meios de dispersão. Observou-se que as microcápsulas obtidas eram transparentes, multinucleadas e esféricas. Além disso, constatou-se que microcápsulas com parede de menor espessura exibiram maior taxa de liberação do óleo em água, em temperatura elevada, sendo as temperaturas estudadas 160°C, 180°C e

200°C. Enquanto que em água resfriada, a taxa de liberação do óleo foi mais lenta. Assim sendo, as microcápsulas coacervadas de gelatina/goma arábica contendo o óleo de hortelã-pimenta apresentaram estabilidade de armazenamento relevante na menor temperatura.

Zhang e colaboradores (2012) sintetizaram microcápsulas de gelatina/goma arábica contendo óleo da microalga *Schizochytrium sp.* reticuladas com transglutaminase microbiana, através do método de coacervação complexa com o objetivo de avaliar a influência da variação dos parâmetros do processo de reticulação na taxa de liberação do óleo de microalga encapsulado. A síntese das microcápsulas foi estudada com valores de pH 5,0, 6,0 e 7,0; tempo de reticulação de 3, 6 e 12 horas; concentração de transglutaminase microbiana 30 U/g.proteína; 15 U/g.proteína; 7,50 U/g.proteína e 3,75 U.g/proteína e temperaturas de 5°C, 10°C e 15°C. Os resultados com base na curva de liberação do óleo, mostraram que os melhores parâmetros obtidos no trabalho foram com tempo de endurecimento de 6 horas, em temperatura de 15°C e pH 6,0 com concentração de transglutaminase microbiana sendo de 15 U/g.proteína pois, observou-se uma taxa de liberação alta (75%) até a primeira hora, tornando-se constante após a primeira hora, indicando uma liberação sustentada. Com base nos resultados observou-se que a liberação do óleo encapsulado nas microcápsulas de gelatina/goma arábica pode ser ajustada através da alteração dos parâmetros de reticulação.

Além da gelatina e da goma arábica, na literatura científica outros diversos materiais de revestimento são pesquisados para possível aplicação em microcápsulas. Um exemplo disso é o estudo realizado em 2017 por Rutz e colaboradores, onde foi encapsulado óleo de palma utilizando dois pares de materiais de parede: quitosana/goma xantana e quitosana/pectina pelo método de coacervação complexa, seguido de atomização ou liofilização. O desempenho da liberação do óleo de palma em água e simulação de fluido gastrointestinal (também aplicadas em alimentos) foram investigados, assim como a morfologia, o rendimento e eficiência de encapsulação das microcápsulas sintetizadas. Em relação ao processo de secagem aplicado, microcápsulas atomizadas apresentaram formado esférico enquanto que as liofilizadas exibiram formatos irregulares porém, com valor de rendimento superior (> 98%) para os dois sistemas estudados e perfil de liberação em água e fluido gastrointestinal satisfatórios. Já comparando as diferentes microcápsulas estudadas empregadas em alimentos o par

quitosana/goma xantana exibiram maior potencial para serem aplicadas na indústria alimentícia, pois os compostos não degradaram quando liberados.

Em 2011, Jun-Xia e colaboradores publicaram suas pesquisas sobre a obtenção de microcápsulas da proteína isolada de soja e goma arábica para encapsulação de óleo essencial de laranja-doce, avaliando o efeito do pH, força iônica, relação proteína isolada de soja/goma arábica e da carga do material encapsulado, pelo método de coacervação complexa. Com base nos resultados, foi constatado que o ponto ótimo para proteína isolada de soja/goma arábica foi obtido com o valor de pH 4,0, sendo a melhor razão de 1:1. A utilização da proteína isolada de soja e da goma arábica como materiais de revestimento permitiram eficiência de encapsulação aproximadamente entre 75 e 90%, que eram dependentes do material de núcleo.

Encontram-se ainda na literatura muitos trabalhos visando microencapsular diferentes óleos em uma matriz. Como no trabalho realizado por Yang e colaboradores em (2015) que teve como propósito a microencapsulação do óleo de semente de papoula pelo método de coacervação complexa, utilizando como materiais de revestimento o par goma arábica e gelatina, reticuladas com glutaraldeído, para melhorar a estabilidade de armazenamento do óleo. A secagem das microcápsulas realizou-se pela técnica de *spray dryer*, também conhecida por atomização. Os melhores parâmetros estudados para a coacervação foram velocidade de homogeneização de 5000 rpm, proporção 1:3 de núcleo/parede, temperatura de 40°C. Com base nas caracterizações realizadas verificou-se que as microcápsulas sintetizadas apresentaram formato esférico e distribuição de tamanho regular (5 µm), eficiência de encapsulação de 76,8% para a formulação ideal. Ainda, o teste de oxidação do óleo de semente de papoula encapsulado empregado mostrou que o processo de microencapsulação auxilia no aumento da estabilidade de armazenamento do composto e após três meses de armazenamento a eficiência não apresentou grande variação e as cápsulas exibiram boa estabilidade física.

A pesquisa de Girardi e colaboradores, realizada em 2017 teve como finalidade microencapsular óleo essencial de *Lippia turbinata* “poleo” utilizando o par gelatina/goma arábica pelo método de coacervação complexa, para aplicação no controle de patógenos fúngicos de sementes de amendoim. O processo de coacervação baseou-se na formação da emulsão da solução de goma arábica e óleo essencial Poleo através de agitação magnética, adicionando a solução de gelatina passando para agitação à 400 rpm durante 10 minutos, sendo a razão parede/núcleo de 1:1 e a temperatura mantida à 50°C

durante o procedimento. Após o ajuste do pH para 4,0 e o resfriamento do sistema até 10°C, as cápsulas foram reticuladas com formaldeído e secadas por liofilização. Foram realizados testes de eficiência de encapsulação, de liberação através da incubação em grãos de amendoim os quais foram avaliados em 0, 30, 80 e 114 dias e, as extrações ocorreram em 5, 23 e 78 dias. Os resultados mostraram uma alta eficiência de encapsulação (99,8%). Até 78 dias de ensaio verificou-se que 3,5 e 63% do óleo encapsulado foi liberado, esse aumento está relacionado com a quantidade de grãos empregados na água. A propriedade antifúngica do óleo de “Poleo” foi mantida quando encapsulado porém, foram observados efeitos adversos na germinação das sementes de amendoim dos quais originou-se efeitos alelopáticos (processo que influencia o crescimento e desenvolvimento de sistemas biológicos). Ainda assim, concluiu-se que o sistema utilizando gelatina e goma arábica foi eficaz na microencapsulação do óleo essencial de “Poleo”.

Ainda, na pesquisa de Veiga e colaboradores, realizada em 2016, buscou-se microencapsular óleo de café torrado em cápsulas de gelatina e goma arábica sintetizadas pelo método de coacervação complexa, reticuladas por ação enzimática. O desempenho das microcápsulas obtidas a 50°C e em diferentes formulações, variando quantidade de material de núcleo (25% ou 50% da fase dispersa total) e taxa de agitação (300 e 500 rpm), foi analisado o efeito sobre diâmetro médio, morfologia e eficiência de encapsulação. Os melhores resultados de eficiência de encapsulação se manifestaram utilizando 25% de óleo, sendo esta eficiência de 68%. Também para esse sistema obteve-se um diâmetro médio de 21 µm. A morfologia das microcápsulas para todos os sistemas estudados foi esférica e polinuclear.

Com base nos estudos e considerações expostos, especialmente com relação aos ácidos graxos de microalgas e nas características do complexo gelatina/goma arábica, não foram encontradas pesquisas sobre a microencapsulação de ácidos graxos da microalga “Curitibana” pelo método de coacervação complexa, visando aplicação em formulação de uso tópico. A proposta desta pesquisa é estudar a síntese de microencapsulação de agentes ativos, uma vez que essa tecnologia atua na proteção do material encapsulado de processos de degradação e ainda, melhora o processo de absorção e aspecto sensorial das formulações quando comparada com a utilização direta de óleos. Também, verificar o desempenho das microcápsulas, quanto à sua resistência mecânica, e avaliar se a

resistência mecânica apresentada é possibilita a incorporação no processo de fabricação de produtos para uso tópico.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo principal

O presente trabalho tem como objetivo principal a síntese e caracterização de microcápsulas de gelatina/ goma arábica contendo diferentes materiais de núcleo como ácidos graxos de microalgas, óleo de calêndula, óleo de aveia ou óleo de aloe vera pelo método de coacervação complexa para aplicações em cosmetologia.

4.2. Objetivos específicos

- Sintetizar microcápsulas por meio do método de coacervação complexa utilizando gelatina e goma arábica como materiais de revestimento e os ácidos graxos de microalga e diferentes óleos como materiais de núcleo;
- Determinar o rendimento e a eficiência de encapsulamento das microcápsulas sintetizadas pelo método de relação entre massas;
- Caracterizar as microcápsulas sintetizadas, através das técnicas de microscopia óptica (MO) e microscopia eletrônica de varredura (MEV), para analisar o diâmetro das microcápsulas e sua morfologia; potencial zeta para avaliar a contribuição de cargas em pH determinado e a estabilidade das cápsulas; espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) para verificar a composição química dos compostos investigados;
- Avaliar a resistência mecânica da microcápsula por pressão osmótica.

5. METODOLOGIA

5.1. Materiais

Para o processo de microencapsulação foram utilizados como materiais de parede: goma arábica de árvores acácia e gelatina (tipo A, suína) obtidas da marca Sigma-Aldrich (Figura 17). Os compostos usados como núcleo: óleo de calêndula (*Calendula officinalis*), óleo de aveia (*Avena sativa*) e óleo de *Aloe vera* (babosa) obtidos da empresa AGQ & GBM Comércio e Desenvolvimento LTDA – ME e os ácidos graxos da microalga *Acutodesmus obliquus* extraídos através do processo de percolação com cossolvente hexano e etanol com 3 horas de agitação em temperatura de 60^oC, foram fornecidos pelo Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Energia Autossustentável (NPDEAS), localizado no Centro Politécnico da UFPR (Figura 18).

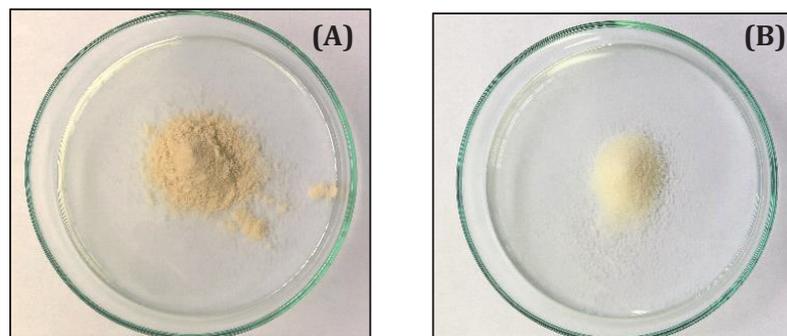


Figura 17: Imagem dos materiais de revestimento que foram estudados no presente trabalho. (A) goma arábica e (B) gelatina tipo A.

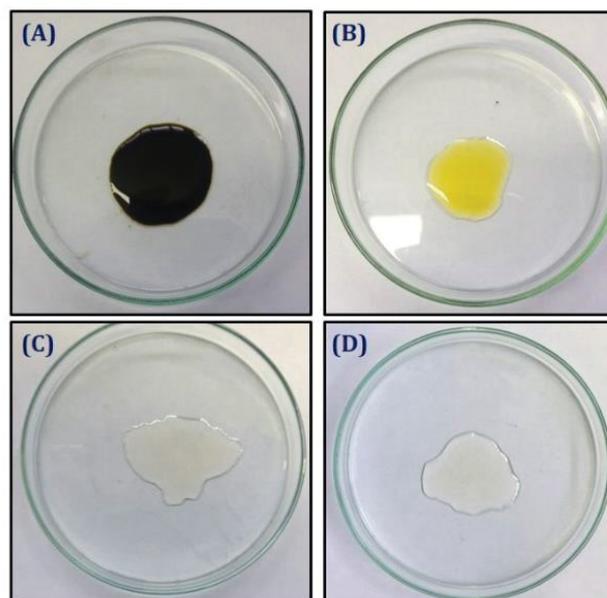


Figura 18: Imagem dos materiais de núcleos que foram estudados no presente trabalho. (A) ácidos graxos de microalgas; (B) óleo de calêndula; (C) óleo de aveia e (D) óleo de aloe vera.

5.2. Outros reagentes

O ácido clorídrico (HCl – CAS: 7647-01-0) e o hidróxido de sódio (NaOH – CAS: 1310-73-2) foram adquiridos da Vetec Química Fina Ltda (São Paulo – SP), acetona P.A. (CAS: 67-64-1) foi obtida da Neon Comercial Ltda (Suzano – SP), álcool isopropílico 99,5% (isopropanol – CAS: 67-63-0) adquirido na Sigma-Aldrich (São Paulo – SP), assim como o reticulante Glutaraldeído – grau II – solução aquosa 25% (CAS: 111-30-8). Água destilada foi utilizada em todos os experimentos.

Os equipamentos utilizados para a realização da pesquisa são apresentados a seguir, na Tabela 3.

Tabela 3: Equipamentos empregados para a execução do presente trabalho.

| Descrição | Marca | Modelo |
|-----------------------------------------------------------------------|--------------------------|---------------|
| Agitador magnético | IKA® | RH Basic 1 |
| Agitador mecânico | FISATOM® | 710 |
| Agitador mecânico | DEXTER | - |
| Balança analítica | OHAUS® | AR2140 |
| pHmetro digital | TECNOPON® | mPA - 210 |
| Termômetro | ALLA FRANCE® | Mercúrio |
| Centrífuga | Hettich® | Universal II |
| Bomba de vácuo | ABM® | - |
| Microscópio óptico | Olympus® | CH30 |
| Microscópio eletrônico de varredura | JEOL | JSM-6360 LV |
| Microscópio eletrônico de varredura | HITACHI® | TM-3000 |
| Granulômetro | Bluewave | S3500 |
| Espectrofotômetro de infravermelho por transformada de Fourier | Bruker OPTIK GmbH HTS-XT | Vertex 70 |
| Zeta Potential Analyzer | Brookhaven® | Zeta PALS |

5.3. Procedimento da síntese das microcápsulas

A metodologia utilizada para a síntese das microcápsulas por coacervação complexa foi realizada conforme ilustrado na Figura 19, baseada no trabalho de DA SILVA e colaboradores (2015).

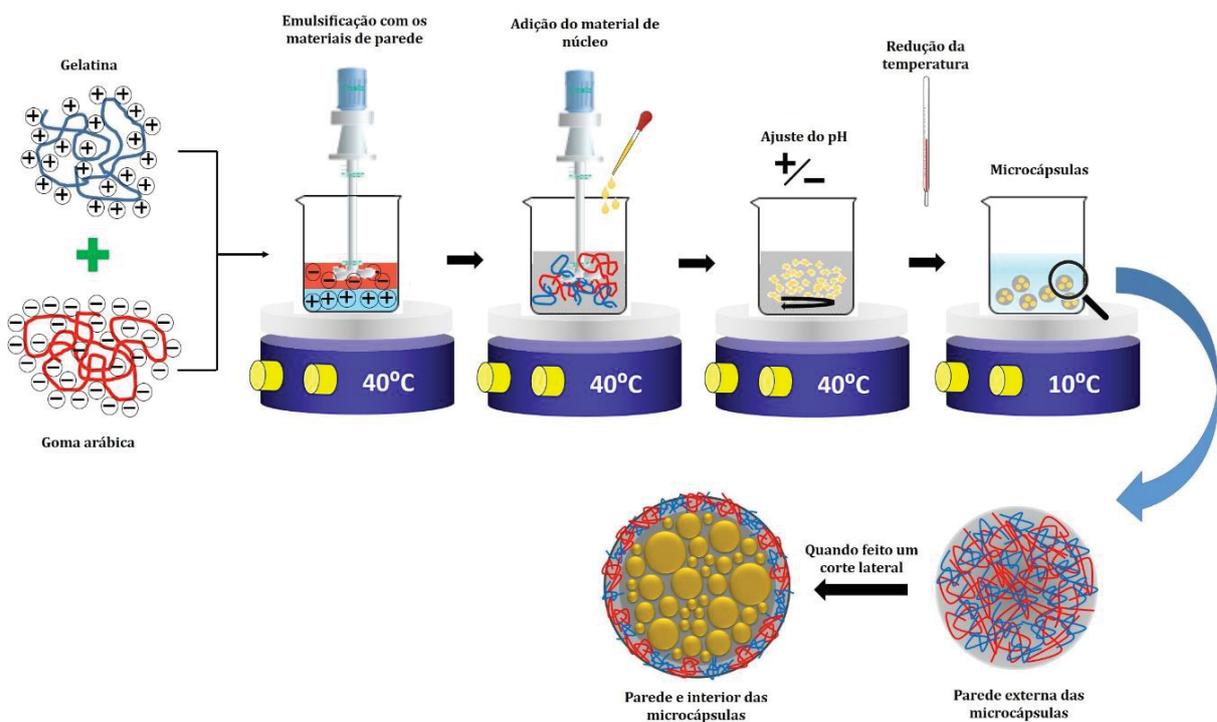


Figura 19: Desenho esquemático da formação de microcápsulas pela técnica de coacervação complexa. (FONTE: o autor).

Primeiramente, em um béquer foi preparada a solução de goma arábica na concentração de 2,5% (p/v) em água destilada sob agitação magnética constante por 24 horas, à temperatura ambiente, para melhor hidratação e solubilização (por ser um biopolímero de massa molecular variando entre 300 e 800 kDa). Após o período, em um outro béquer foi preparada a solução de gelatina na concentração de 2,5% (p/v) em água destilada e aquecida a $40 \pm 2^\circ\text{C}$, para romper as ligações de hidrogênio permitindo a hidratação. Antes de iniciar o processo, realizou-se a medição do pH para as duas soluções separadamente com o intuito de verificar se os valores estavam acima de 7,0, pois a magnitude do pH não deve estar próximo do ponto isoelétrico (pI) da gelatina (7,0 – 9,0) para não favorecer a formação de cargas positivamente carregadas, antes do processo de coacervação, visto que a gelatina acima do seu ponto isoelétrico encontra-se negativamente carregada e abaixo do ponto isoelétrico carregada positivamente. Já quando

o pH apresentou valores abaixo deste limite a correção foi realizada com o auxílio de uma solução de hidróxido de sódio (NaOH - 0,1 mol/L) e do pHmetro digital. Em seguida, acrescentou-se a solução de goma arábica na solução de gelatina, a mistura foi emulsionada por 5 minutos por um dispersor mecânico a 10.000 rpm, após adicionou-se 1 mL do material a ser encapsulado (ácidos graxos de microalga; óleo de calêndula; óleo de aveia ou óleo de aloe vera) na solução de goma arábica/gelatina ($40 \pm 2^{\circ}\text{C}$).

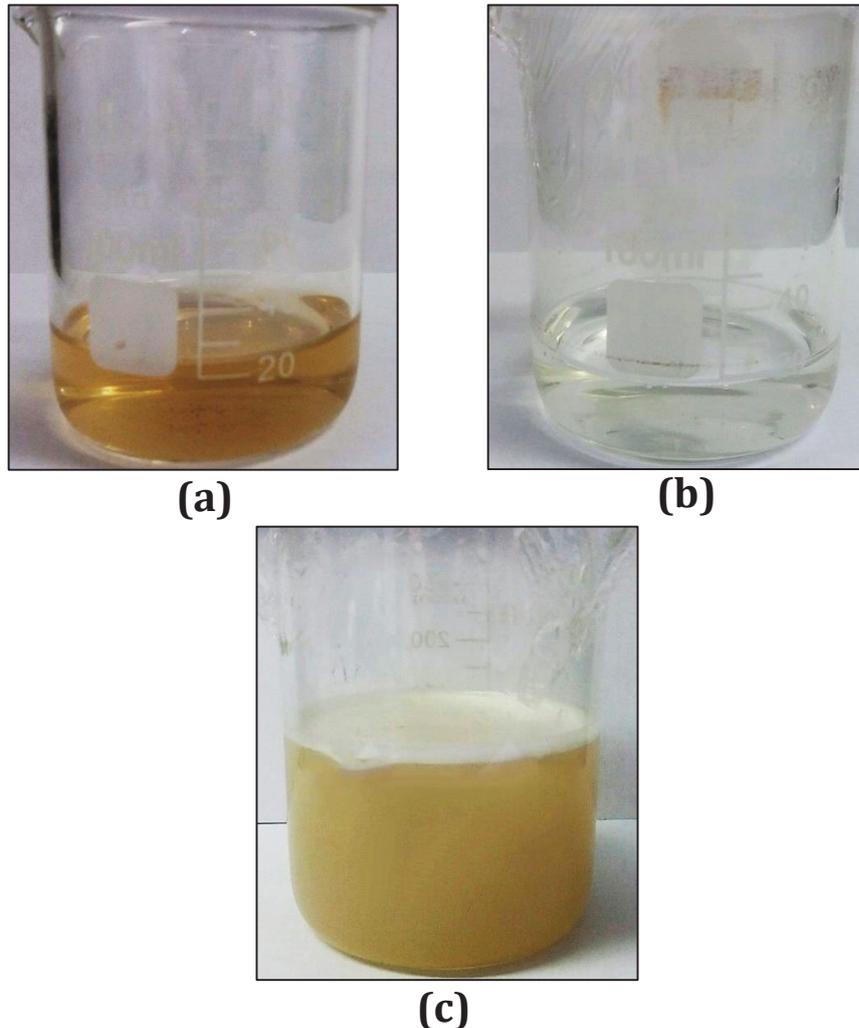


Figura 20: Etapas da síntese (a) solução de goma arábica, (b) solução de gelatina e (c) emulsão formada.

O meio reacional foi homogeneizado em dispersor mecânico a 10.000 rpm por 5 minutos, a fim de se obter uma emulsão (Figura 20 - c). A seguir, foi adicionada água destilada aquecida a $40 \pm 2^{\circ}\text{C}$ (o dobro do volume do sistema) sob agitação magnética. O pH da emulsão foi ajustado para $4,00 \pm 0,01$ utilizando uma solução de ácido clorídrico (HCl - 0,5 mol/L) com o auxílio de um pHmetro digital, pois a redução do pH influencia no grau de ionização dos grupos laterais carregados da proteína e polissacarídeo estudados. Quando o pH é reduzido a um valor abaixo do ponto isoelétrico (pI) da proteína, no caso

a gelatina, ou seja, entre 7,0 e 9,0, ocorre a ionização do grupo amino $-NH_2$ que passa a ser $-NH_3^+$, cuja carga positiva foi neutralizada pela presença da goma arábica (polissacarídeo aniônico). Essa neutralização entre as cargas opostas da gelatina e da goma arábica acarreta na interação eletrostática de atração máxima e na complexação polissacarídeo-proteína. Durante todo o processo a temperatura foi controlada e mantida a $40 \pm 2^\circ C$. O fluxograma do processo está apresentado na Figura 21.

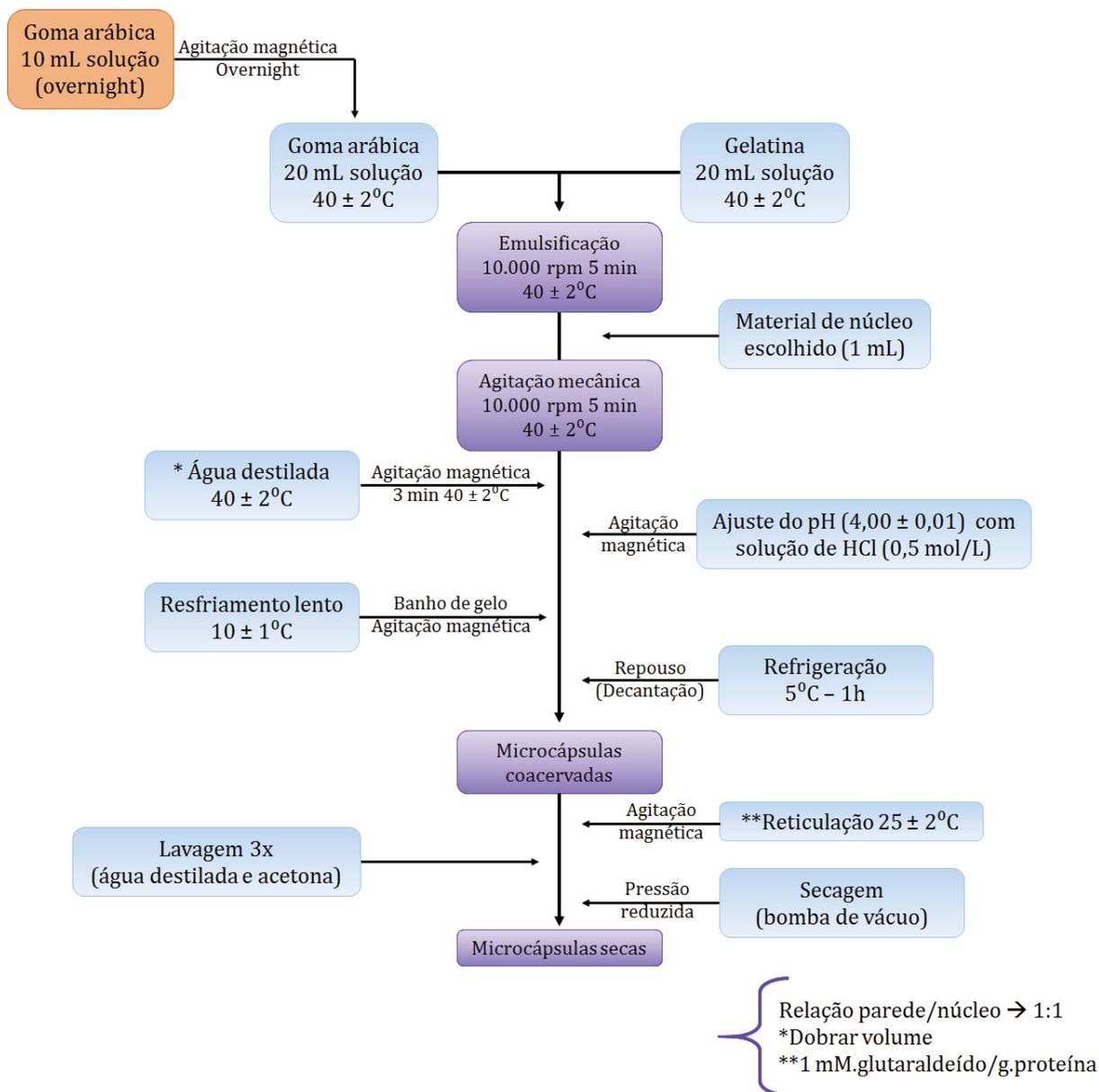


Figura 21: Fluxograma do processamento de microcápsulas com diferentes materiais de núcleo obtidas por coacervação complexa.

Após a correção do pH, o sistema foi submetido a banho de gelo mantendo-se agitação constante durante o processo de resfriamento lento até $10 \pm 1^\circ C$, pois a redução

da temperatura diminui ainda mais a solubilidade do complexo formado, auxiliando na separação de fases para que os complexos se organizem e consolidem a formação da parede polimérica, em seguida o recipiente foi acondicionado em geladeira por 4 horas, para a completa precipitação das microcápsulas formadas. Posteriormente, as microcápsulas sintetizadas foram submetidas a *crosslinking* (reticulação) em que foi utilizada uma relação de 1 mmolar glutaraldeído/g proteína, em água destilada a partir de uma solução de glutaraldeído (25% em água). O processo de reticulação foi realizado a 25°C durante 4 horas. Após o período de 4 horas as microcápsulas foram lavadas três vezes com água destilada, esperou-se a decantação das mesmas para a retirada da água com o auxílio de uma pipeta. Após a terceira lavagem com água e retirada, foi realizada a lavagem com acetona também por três vezes para que houvesse remoção de algum material de núcleo residual, finalizando com lavagem utilizando álcool isopropílico.

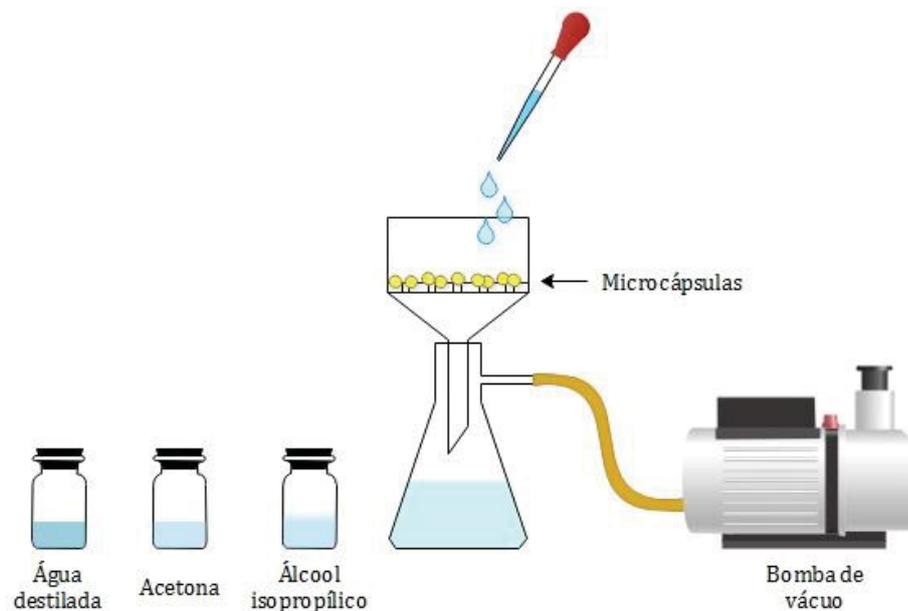


Figura 22: Esquema do processo de secagem das microcápsulas utilizado no trabalho. (FONTE: o autor).

O processo de secagem das microcápsulas (Figura 22) foi realizado à pressão reduzida com o auxílio de uma bomba de vácuo, as microcápsulas foram adicionadas em um filtro de *buchner* e novamente lavadas, com água destilada, acetona e álcool isopropílico obtendo-se como resultado final microcápsulas secas com aspecto de um pó de coloração clara (Figura 23).

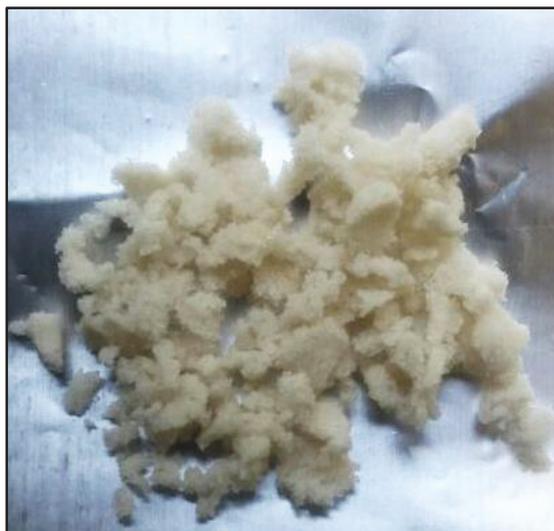


Figura 23: Fotografia das microcápsulas gelatina/goma arábica preenchidas com óleo de calêndula após o processo de secagem.

No presente trabalho, as microcápsulas de gelatina/goma arábica contendo ácidos graxos de microalgas são denominadas por MAG e as microcápsulas de gelatina/goma arábica preenchidas com óleo de calêndula, óleo de aveia e óleo de aloe vera são designadas por MC, MA e MAV respectivamente.

Para a otimização do processo de microencapsulação, foram produzidas microcápsulas a partir de oito formulações diferentes (Tabela 4), para o sistema contendo o óleo de calêndula. Posteriormente, com base nestes resultados, os melhores parâmetros foram utilizados para as demais sínteses. Foram analisadas três variáveis: proporção parede/núcleo, temperatura e velocidade de homogeneização, com base na literatura científica.

Tabela 4: Sistemas de produção de microcápsulas gelatina/goma arábica com óleo de calêndula obtidas por coacervação complexa com variação nos parâmetros de proporção parede/núcleo, temperatura e velocidade de homogeneização.

| AMOSTRA | Proporção parede/núcleo | Temperatura (°C) | Velocidade de agitação (rpm) |
|---------|-------------------------|------------------|------------------------------|
| 1 | 1:1 | 60 | 900 |
| 2 | 1:1 | 60 | 10.000 |
| 3 | 1:1 | 40 | 900 |
| 4 | 1:1 | 40 | 10.000 |
| 5 | 1:2 | 60 | 900 |
| 6 | 1:2 | 60 | 10.000 |
| 7 | 1:2 | 40 | 900 |
| 8 | 1:2 | 40 | 10.000 |

5.3.1. Rendimento do processo de microencapsulação

As microcápsulas secas de goma arábica/gelatina contendo os diferentes materiais de núcleo foram pesadas e o rendimento do processo (R%) foi calculado através da Equação 1.

$$(R\%) = \frac{MF \text{ (base seca)}}{MT \text{ (base seca)}} \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

Onde: MF é a quantidade de microcápsulas secas obtidas (g) e MT é a massa inicial constituída de goma arábica, gelatina e material de núcleo (g).

5.3.2. Eficiência de microencapsulação

A determinação do conteúdo encapsulado baseou-se no procedimento descrito por Yuan, L., *et al.* (2006). A massa total de microcápsulas secas resultantes da síntese foi aferida, as quais foram maceradas utilizando almofariz e pistilo, lavadas com acetona, filtradas e secas à temperatura ambiente. A massa resultante compreende o material de revestimento residual, sendo possível assim calcular a quantidade de material de núcleo encapsulado, extraído pela acetona, conforme a Equação 2.

$$(EE\%) = \frac{MEM}{MI} \times 100 \quad \text{Equação 2}$$

Onde: MEM é a quantidade de óleo extraído das microcápsulas obtidas (g) e MI é a quantidade de óleo inserido inicialmente.

5.4. Caracterização das microcápsulas

As microcápsulas obtidas pelo processo de coacervação complexa foram caracterizadas por Microscopia Óptica, Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Granulometria à laser, Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR), Potencial Zeta e Reologia.

A metodologia realizada para o preparo das amostras para cada caracterização está descrita nos subitens 5.3.1. a 5.3.6.

5.4.1. Microscopia Óptica e Tamanho de Partículas

Com o intuito de verificar a morfologia e o diâmetro das microcápsulas obtidas, foi realizada a análise por Microscopia Óptica de Transmissão das microcápsulas MAG, MC, MA e MAV.

Para essa análise foram adicionadas quatro gotas da suspensão contendo as microcápsulas diretamente sobre uma lâmina de vidro; esse procedimento foi análogo para as diferentes amostras. Foi utilizado um microscópio óptico Olympus, modelo - CH30 instalado no Laboratório Multiusuário do Departamento de Química da UFPR. As microcápsulas foram visualizadas com objetivas de 40 e 100 vezes e através de uma câmera acoplada ao microscópio e conectada ao computador, foram obtidas micrografias das microcápsulas com a utilização do software Micam 1.6.

A determinação do diâmetro médio e a distribuição de tamanhos das partículas para as diferentes microcápsulas foi realizada através das imagens obtidas digitalizadas, com aproximadamente 100 cápsulas e com o auxílio do programa *ImageJ* versão 1.50, onde, as médias, desvio padrão e os gráficos das medidas foram obtidos.

5.4.2. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As microcápsulas sintetizadas foram analisadas através de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), para analisar a superfície das microcápsulas, estimar o diâmetro médio das partículas formadas e confirmar a morfologia observada por Microscopia Óptica. Foram utilizados dois microscópios diferentes para a realização da análise: MEV de bancada HITACHI modelo TM-3000 do Instituto Senai de Inovação em Eletroquímica do Paraná e MEV JEOL JSM 6360 – LV do Centro de Microscopia Eletrônica da UFPR.

O preparo das amostras para realizar as análises no MEV de bancada: a suspensão de microcápsulas ficou sob agitação magnética durante 15 minutos para obter-se uma boa dispersão. A seguir, duas gotas da amostra foram dispostas sobre fita dupla face de carbono fixada no porta-amostra, para secagem a temperatura ambiente durante o período de 2 horas. Após a secagem, a amostra foi levada ao microscópio para a realização da análise. A tensão de aceleração foi de 15 kV e as imagens foram adquiridas com ampliações de 40 e 100 vezes utilizando-se o software Hitachi TM3000.

Para as análises no MEV JEOLJSM 6360 – LV, a suspensão das cápsulas ficou em agitação magnética por 15 minutos para dispersão da mesma. Após, 3 gotas da amostra foram depositadas sobre o *stub*. Para a secagem, o *stub* foi acondicionado em dessecador de sílica-gel por 24 horas. Por fim, as amostras foram metalizadas por deposição de uma fina camada de ouro e, analisadas.

5.4.3. Granulometria à laser

Para avaliar a distribuição do tamanho das partículas das amostras de microcápsulas em suspensão aquosa foi utilizada a técnica de granulometria à laser, com o auxílio do equipamento Manual Microtac Bluewave instalado no Instituto Senai de Inovação em Eletroquímica, em que as amostras foram analisadas em via úmida, dispersas em água destilada com pH de medida sendo de 4,00.

5.4.4. Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de FTIR foram obtidos para os polímeros usados como material de parede, para os materiais de núcleo na forma pura, as microcápsulas vazias, bem como para as microcápsulas preenchidas com os compostos propostos. As análises foram realizadas no Instituto Senai de Inovação em Eletroquímica por meio da utilização do equipamento Bruker OPTIK GmbH HTS-XT, modelo Vertex 70, operando nos modos Transmissão e ATR (Refletância Total Atenuada) com cristal de diamante, numa faixa de observação de 4000 a 400 cm^{-1} com resolução de 4 cm^{-1} , em que cada espectro foi resultado de 32 varreduras e as análises realizadas em triplicata. Esta metodologia foi empregada com a finalidade de confirmar a presença dos óleos essenciais e dos ácidos graxos de microalga no interior das microcápsulas de gelatina/goma arábica, por meio da detecção dos grupos funcionais característicos de cada composto puro e também para cada tipo de microcápsula obtida.

Para a realização das análises tanto as amostras sólidas (gelatina e goma arábica) e as amostras líquidas (ácidos graxos de microalgas e demais óleos estudados), bem como as microcápsulas contendo material de núcleo foram preparadas com a deposição de alíquotas das amostras diretamente no porta amostras do equipamento, para serem analisadas no modo ATR – *Attenuated Total Reflectance*.

5.4.5. Potencial Zeta

Para avaliar a estabilidade das microcápsulas em meio aquoso e em solventes orgânicos, além da contribuição de cargas, as amostras das microcápsulas sintetizadas foram analisadas por Potencial Zeta. Utilizou-se o equipamento Zeta Potential Analyzer modelo Zeta PALS, da marca Brookhaven, situado no Instituto Senai de Inovação em Eletroquímica. As suspensões das amostras foram dispostas em uma cubeta de vidro, previamente higienizada, a qual foi inserida no porta amostras do equipamento e as análises foram realizadas em triplicata. Os valores de potencial zeta foram calculados usando a equação de *Smoluchowski* para cápsulas em meio aquoso e usando a equação de *Hückel*.

5.4.6. Resistência mecânica das microcápsulas

Com o objetivo de avaliar a resistência mecânica da parede das cápsulas sintetizadas, realizou-se o ensaio de pressão osmótica. As microcápsulas foram adicionadas em uma solução de glucose 60% (m/m) e em seguida, deixadas em repouso por 1 hora. Posteriormente foram analisadas com o auxílio de um Microscópio Óptico de Transmissão modelo Alphaphot YS2, da marca Nikon. As amostras foram dispostas diretamente sobre uma lâmina de vidro e analisadas com aumentos de 40x e 100x.



Figura 24: Processo realizado para encontrar a concentração crítica de glucose. (FONTE: o autor).

6. RESULTADOS E DISCUSSÕES

6.1. Síntese e otimização do método de obtenção das microcápsulas

Neste item estão apresentados os resultados das sínteses das microcápsulas preenchidas com óleo de calêndula obtidas utilizando a coacervação complexa, optou-se por utilizar o óleo de calêndula para a otimização do método com base na sua viscosidade em temperatura ambiente (valor médio de viscosidade) e coloração do óleo (amarelada) auxiliando na verificação de óleo residual após a síntese. Baseando-se nas indicações detectadas pelos testes preliminares foi realizado um planejamento experimental com os parâmetros a serem investigados nesse estudo. Para a síntese, os parâmetros de proporção parede/núcleo, temperatura e velocidade de homogeneização foram variados em [1:1] e [1:2]; 40^oC e 60^oC; 900 rpm e 10.000 rpm respectivamente, para a continuidade do estudo. A Tabela 5 apresenta as oito formulações diferentes preparadas com as variáveis dos parâmetros estudados para a encapsulação do óleo de calêndula por coacervação complexa, juntamente com os valores de rendimento e de eficiência de encapsulação obtidos no presente estudo.

Tabela 5: Amostras de microcápsulas gelatina/goma arábica com óleo de calêndula obtidas por coacervação complexa com variação nos parâmetros de proporção parede/núcleo, temperatura e velocidade de homogeneização e valores de rendimento e eficiência de encapsulamento obtidos.

| Amostras | Proporção p/n | Temperatura (°C) | Velocidade de agitação (rpm) | Rendimento (R%) | Eficiência (EE%) |
|----------|---------------|------------------|------------------------------|-----------------|------------------|
| 1 | 1:1 | 60 | 900 | 72,0 ± 1,0* | 28,7 ± 1,6* |
| 2 | 1:1 | 60 | 10.000 | 81,6 ± 0,7* | 43,4 ± 1,2* |
| 3 | 1:1 | 40 | 900 | 83,0 ± 2,0* | 34,4 ± 1,0* |
| 4 | 1:1 | 40 | 10.000 | 89,8 ± 0,5* | 79,6 ± 0,6* |
| 5 | 1:2 | 60 | 900 | 69,6 ± 0,7* | 36,4 ± 0,7* |
| 6 | 1:2 | 60 | 10.000 | 78,4 ± 1,3* | 58,6 ± 1,0* |
| 7 | 1:2 | 40 | 900 | 84,9 ± 1,2* | 41,3 ± 0,9* |
| 8 | 1:2 | 40 | 10.000 | 85,3 ± 1,0* | 50,7 ± 1,3* |

* Valores médios realizados em triplicata.

As amostras de 1 a 4 possuem a proporção de parede/núcleo [1:1], variação da temperatura e velocidade de agitação. Amostras 1 e 2, temperatura de 60°C e agitação 900 e 10.000 rpm, respectivamente. Amostras 3 e 4, temperatura de 40°C e agitação de 900 e 10.000 rpm. Enquanto que as amostras de 5 a 8 possuem proporção de parede/núcleo [1:2] e variação da temperatura e velocidade de agitação. As amostras 5 e 6, obtidas a temperatura de 60°C e agitação de 900 rpm para amostra 5 e 10.000 rpm para amostra 6 e as amostras 7 e 8, sintetizadas a temperatura de 40°C e velocidade de agitação de 900 e 10.000 rpm, respectivamente. As oito formulações estudadas são apresentadas na Figura 25.

Os ensaios 2, 3, 4, 7 e 8 foram os que apresentaram rendimento acima de 80%. É possível observar que os melhores resultados de rendimento foram para as amostras obtidas na temperatura de 40°C, indicando que a temperatura influenciou no processo de separação de fases na coacervação. Uma vez que temperaturas elevadas promovem a agitação das macromoléculas podendo provocar a desestabilização dos complexos formados entre polissacarídeos e proteínas, o rendimento pode ser reduzido, além disso, o aumento da temperatura acarreta no aumento das interações hidrofóbicas, enquanto que baixas temperaturas favorecem as ligações de hidrogênio, auxiliando a formação de complexo polissacarídeo-proteína (KIZILAY; KAYITMAZER; DUBIN, 2011).

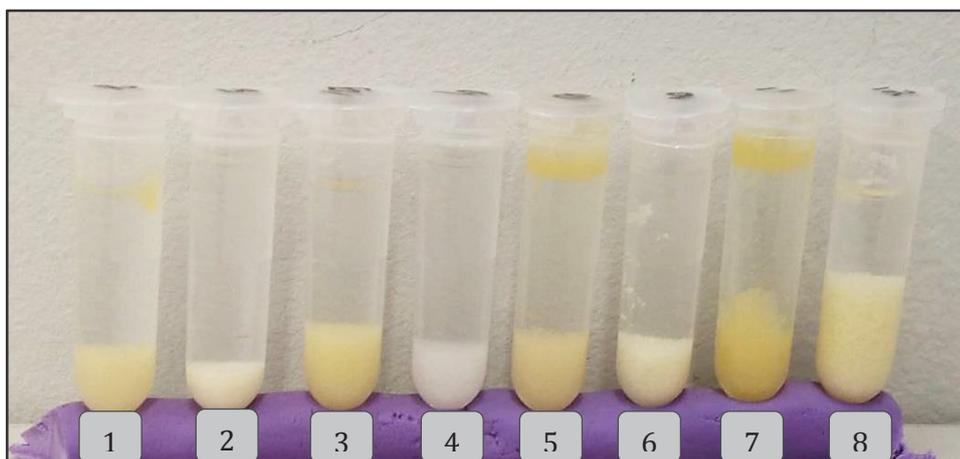


Figura 25: Suspensões das microcápsulas de gelatina/goma arábica contendo óleo de calêndula obtidas após a coacervação complexa com variação na proporção parede/núcleo, temperatura e velocidade de homogeneização.

Observa-se com base na Figura 25 que independente da relação de agitação, temperatura e proporção parede/núcleo as diferentes amostras apresentaram coloração amarelada, indicando a presença de óleo livre, após o processo de coacervação das microcápsulas. Verificou-se maior quantidade de óleo de calêndula livre para as amostras

1, 3, 5 e 7, as quais foram sintetizadas com velocidade de agitação de 900 rpm, sendo mais evidente a presença do óleo livre nas amostras 5 e 7 devido ao aumento de concentração do material de núcleo (1:2) corroborando com os valores de eficiência de encapsulação obtidos. Conforme aumenta-se a concentração do material de núcleo, mantendo-se fixas as proporções de materiais de revestimento, atinge-se o limite em que não há quantidade suficiente do complexo formado para revestir o material a ser encapsulado, verificando-se dessa maneira material de núcleo livre no meio, podendo assim causar redução na eficiência de encapsulamento (LI *et al.*, 2013).

Analisando as amostras 2, 4, 6 e 8, obtidas sob agitação de 10.000 rpm, nota-se uma coloração mais clara, próxima ao branco e com os valores de eficiência calculados foi possível verificar que a síntese realizada para a amostra 4 foi a mais eficiente, visto que apresentou um valor de eficiência de encapsulação de 79,60% e rendimento de 89,83%. Isso indica que a perda do óleo inicial adicionado foi baixa para o processo utilizando os parâmetros aqui determinados. Com o aumento da taxa de agitação a distribuição do tamanho e o diâmetro médio das microcápsulas tende a diminuir através da quebra de gotas pela velocidade de cisalhamento, além disso, valores de agitação mais baixos (< 2000 rpm) dificultam a quebra de gotas do material a ser encapsulado e na formação da emulsão (LIAO *et al.*, 2010).

Após a identificação que a síntese das microcápsulas de gelatina/goma arábica contendo óleo de calêndula obtidas variando-se os parâmetros de proporção parede/núcleo [1:1], temperatura (40⁰C) e velocidade de homogeneização (10.000 rpm) empregados na amostra 4 foi mais eficaz, onde as sínteses posteriores foram realizadas variando-se apenas o material núcleo; as microcápsulas obtidas estão apresentadas na Figura 26.

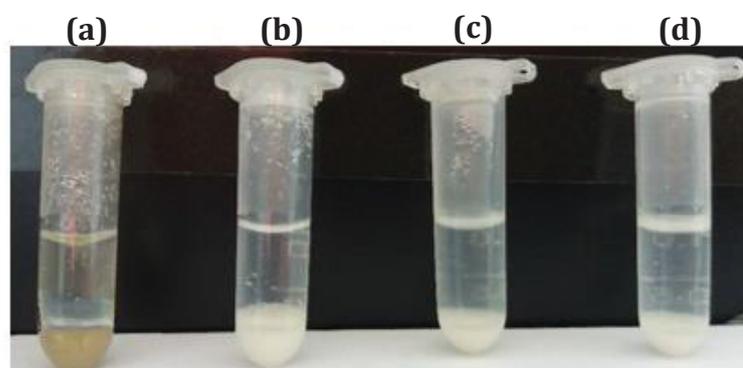


Figura 26: Microcápsulas de gelatina/goma arábica contendo (a) ácidos graxos de microalgas; (b) óleo de calêndula; (c) óleo de aveia e (d) óleo de aloe vera obtidas por coacervação complexa com os melhores parâmetros de proporção parede/núcleo, temperatura e velocidade de homogeneização determinados para a síntese.

6.2. Análise das microcápsulas e tamanho de partículas

Com o intuito de constatar a formação das microcápsulas como resultado da síntese por coacervação complexa e avaliar a sua morfologia interna. O material coacervado úmido foi observado por microscopia óptica, da qual foram obtidas micrografias com aumento de 40 e 100 vezes. As micrografias das microcápsulas de gelatina/goma arábica preenchidas com ácidos graxos de microalgas, óleo de calêndula, óleo de aveia e óleo de aloe vera estão apresentadas nas Figuras 27, 28, 29 e 30, respectivamente.

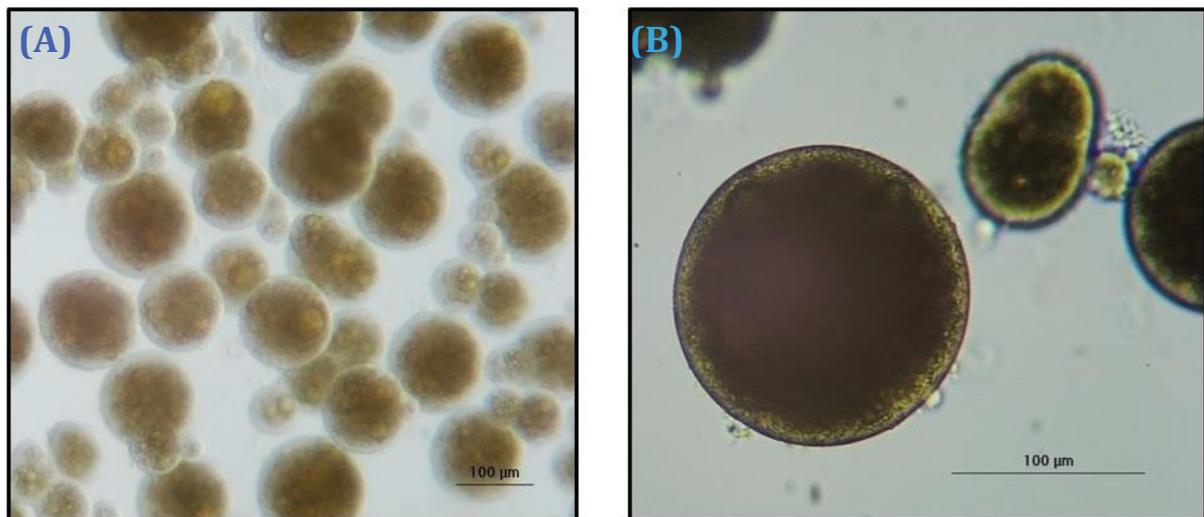


Figura 27: Micrografias das microcápsulas de gelatina/goma arábica contendo ácidos graxos de microalgas (MAG) sintetizadas pelo método de coacervação complexa. Condições de coacervação: proporção parede/núcleo [1:1], temperatura de 40°C e velocidade de homogeneização de 10.000 rpm. (A) aumento de 40x e (B) aumento de 100x.

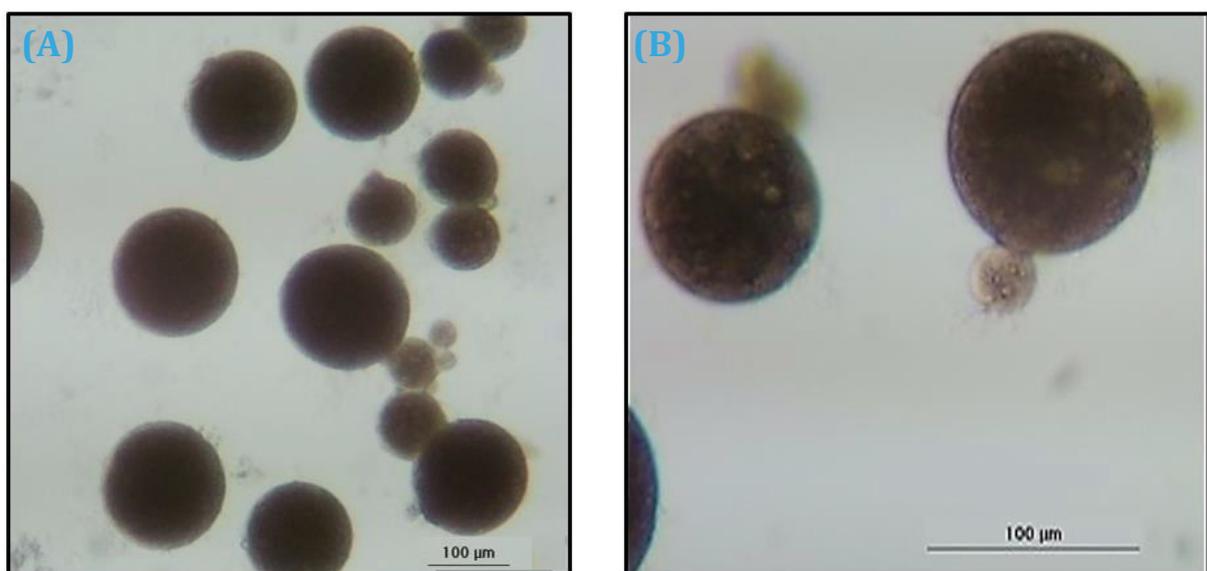


Figura 28: Micrografias das microcápsulas de gelatina/goma arábica contendo óleo de calêndula (MC) sintetizadas pelo método de coacervação complexa. Condições de coacervação: proporção parede/núcleo [1:1], temperatura de 40°C e velocidade de homogeneização de 10.000 rpm. (A) aumento de 40x e (B) aumento de 100x.

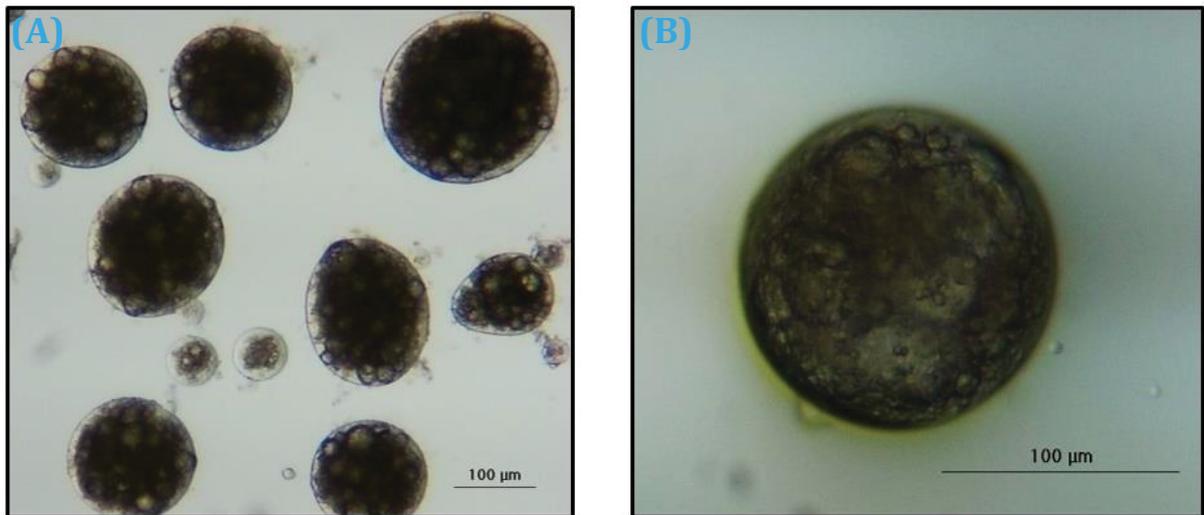


Figura 29: Micrografias das microcápsulas de gelatina/goma arábica contendo óleo de azeite (MA) sintetizadas pelo método de coacervação complexa. Condições de coacervação: proporção parede/núcleo [1:1], temperatura de 40°C e velocidade de homogeneização de 10.000 rpm. (A) aumento de 40x e (B) aumento de 100x.

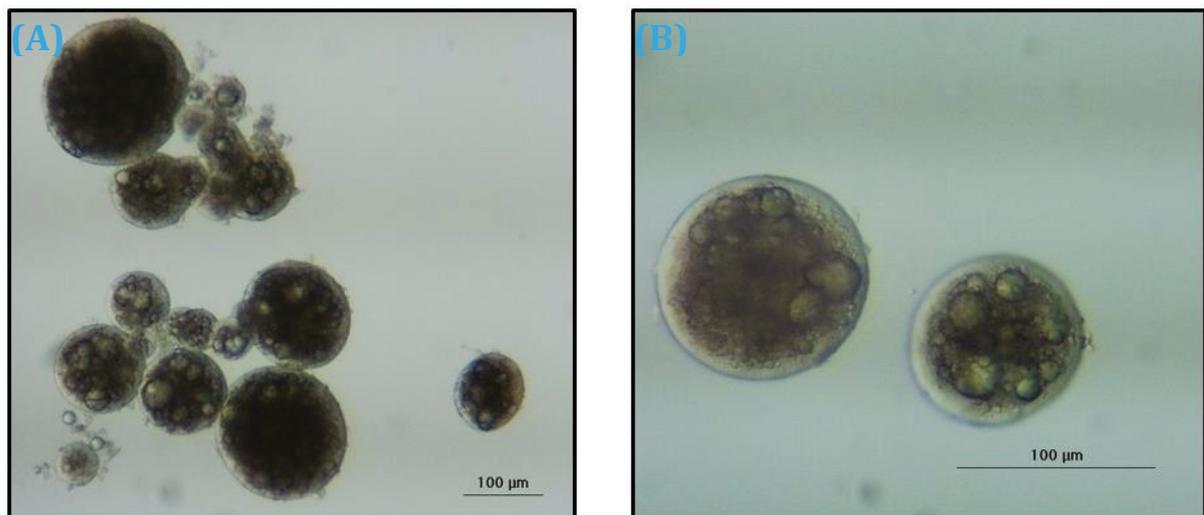


Figura 30: Micrografias das microcápsulas de gelatina/goma arábica contendo óleo de aloe vera (MAV) sintetizadas pelo método de coacervação complexa. Condições de coacervação: proporção parede/núcleo [1:1], temperatura de 40°C e velocidade de homogeneização de 10.000 rpm. (A) aumento de 40x e (B) aumento de 100x.

Por meio da análise das Figuras 27, 28, 29 e 30 é possível observar que as microcápsulas de gelatina/goma arábica contendo diferentes compostos no seu interior foram satisfatoriamente sintetizadas através da técnica de coacervação complexa. Nota-se que todas as microcápsulas obtidas com os diferentes materiais de núcleo apresentaram morfologia esférica, com paredes bem definidas. Como o material de parede dos coacervados é transparente, nota-se claramente que todas as microcápsulas apresentaram estruturas multinucleadas, sendo possível observar a presença dos ácidos

graxos e dos diferentes óleos bem distribuídos. Esses resultados são consistentes e característicos da técnica de coacervação.

A análise por microscopia óptica foi também utilizada para determinar a distribuição do tamanho e o tamanho médio das micropartículas úmidas. Com base nas micrografias, verificou-se visualmente que as micropartículas sintetizadas por coacervação complexa possuem diâmetros próximos de 100 μm , estando de acordo com trabalhos encontrados na literatura, os quais apresentam variações de tamanho entre 3 e 800 μm (JYONTHI *et al.*, 2010).

O estudo da microencapsulação empregando a técnica de coacervação complexa foi apropriado para encapsular os ácidos graxos de microalgas e também os óleos essenciais como pode ser observado na Tabela 6.

Tabela 6: Diâmetro médio em conjunto com o rendimento e a eficiência de encapsulação determinados por microscopia óptica para as micropartículas de gelatina/goma arábica obtidas por coacervação complexa com variação dos materiais de núcleo.

| AMOSTRAS | Diâmetro médio \pm desvio padrão (μm) | Rendimento médio (R%) | Eficiência (EE%) |
|----------|------------------------------------------------------|-----------------------|------------------|
| [MAG] | 100* \pm 32 | 80,2 \pm 0,7* | 77,9 \pm 0,6* |
| [MC] | 96* \pm 35 | 88,3 \pm 0,5* | 79,4 \pm 0,7* |
| [MA] | 99* \pm 33 | 89,2 \pm 0,4* | 79,6 \pm 0,8* |
| [MAV] | 102* \pm 34 | 88,6 \pm 0,3* | 78,3 \pm 0,2* |

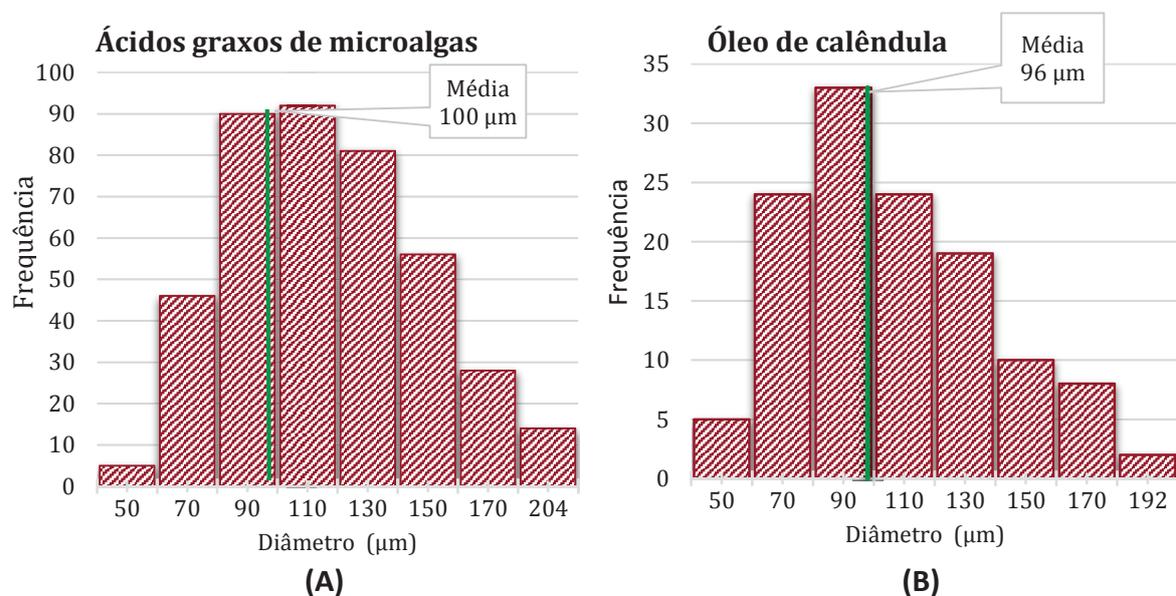
* Desvio padrão

A partir da análise da Tabela 6, nota-se que o diâmetro médio das microcápsulas estudadas variou de 96 a 102 μm . Os desvios padrão altos apresentados são correspondentes à grande variação e pouca homogeneidade na distribuição de tamanho das micropartículas, comportamento este que pode ocorrer devido a limitações da técnica no controle de tamanho das microcápsulas sintetizadas.

Ainda, é possível observar que os valores de rendimento obtidos foram todos superiores à 80% e os de eficiência de encapsulação foram superiores à 77%, indicando que as sínteses realizadas foram bem sucedidas e as condições ótimas determinadas.

Comparando os valores de rendimento e eficiência das microcápsulas contendo ácidos graxos de microalgas com as microcápsulas contendo óleos essenciais é notável uma redução, tanto no rendimento quanto na eficiência de encapsulação, indicando que estes podem ser influenciados pelo tipo do material de núcleo. Esse comportamento pode estar relacionado com a viscosidade do composto a ser encapsulado, uma vez que a viscosidade é um parâmetro que interfere no processo de microencapsulação. Apesar dessa redução, o rendimento do método estudado foi elevado ($> 80\%$) isso indica que, para a síntese de coacervação complexa utilizando os parâmetros de proporção parede/núcleo [1:1], temperatura de 40°C e velocidade de homogeneização 10.000 rpm pré-estabelecidos, foi possível encapsular materiais de núcleo com diferentes composições químicas, ampliando a gama de aplicações do método experimental desenvolvido neste trabalho.

Para as microcápsulas contendo os diferentes materiais de núcleo obtidas, analisaram-se as imagens de microscopia óptica, a partir dos quais foi possível determinar os valores dos diâmetros das partículas estudadas. Para analisar a distribuição de tamanhos das partículas das amostras foram gerados histogramas com os resultados obtidos. As distribuições do tamanho das micropartículas e o diâmetro médio encontram-se na Figura 31.



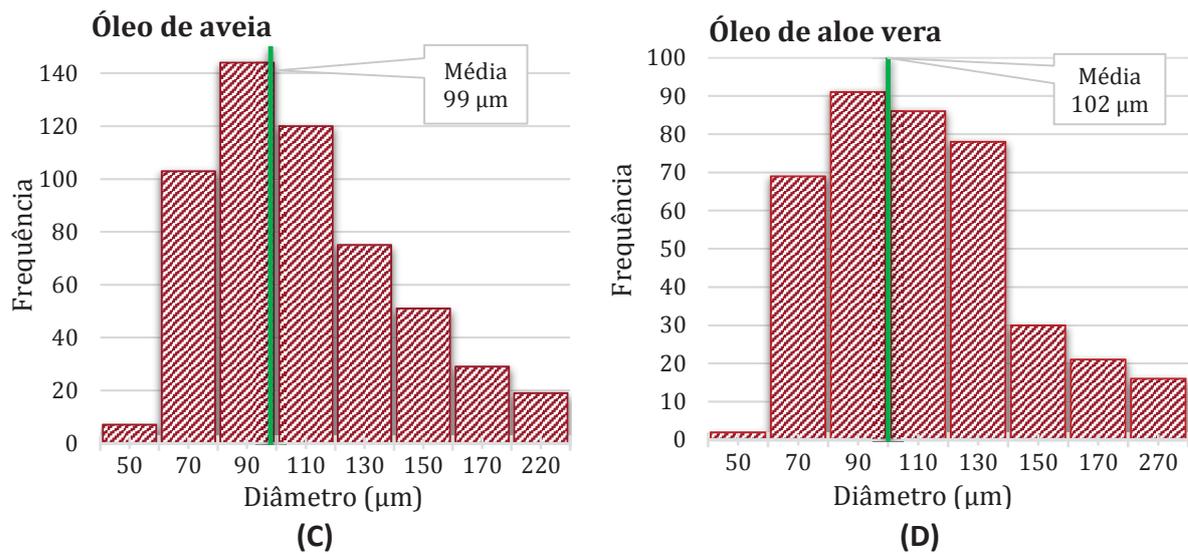


Figura 31: Histogramas da distribuição do tamanho determinados por microscopia óptica das micropartículas de gelatina/goma arábica com variação dos materiais de núcleo obtidas por coacervação complexa (A) MAG, (B) MC, (C) MA e (D) MAV.

Analisando-se a Figura 31, nota-se que a distribuição de tamanhos de micropartículas apresenta uma faixa ampla de diâmetro, independente do material de núcleo. As microcápsulas contendo ácidos graxos de microalgas [MAG] apresentaram uma faixa de diâmetro de 40 μm a 225 μm, onde a maior proporção das micropartículas possui tamanhos entre 100 μm e 120 μm. As microcápsulas com óleo de calêndula [MC] apresentaram faixa de diâmetro entre 40 μm a 192 μm, sendo que a maior proporção possui tamanhos entre 80 μm e 100 μm. Já para as microcápsulas sintetizadas com óleo de aveia [MA] verificou-se uma faixa de diâmetro entre 45 μm e 218 μm e a proporção máxima possui tamanhos entre 80 μm e 100 μm. Por fim, as microcápsulas obtidas com óleo de aloe vera [MAV] exibiram uma faixa de diâmetro de 48 μm a 266 μm, e a maior proporção das partículas foi com tamanhos entre 80 μm e 100 μm.

Cabe ainda ressaltar que o maior tamanho apresentado pelas microcápsulas sintetizadas usando ácidos graxos de microalgas e as contendo os demais óleos como materiais de núcleo, são muito próximos entre si, com distribuição unimodal e um pico principal à volta do diâmetro médio. Essas amplas variações da faixa de diâmetro das microcápsulas, indicam que existe limitações no processo de coacervação complexa, sendo difícil obter cápsulas com baixa variação de tamanhos, devido à complexidade de controlar os parâmetros envolvidos no método.

6.3. Análise morfológica das microcápsulas sintetizadas

A análise por microscopia eletrônica de varredura (MEV) permitiu observar a eficiência da rota proposta para síntese das microcápsulas, assim como na análise realizada por microscopia óptica. A microscopia eletrônica de varredura tem sido empregada para a obtenção de informações referentes ao tamanho, a forma e por vezes, a distribuição do material encapsulado no interior das microcápsulas.

As microcápsulas coacervadas secas de gelatina/goma arábica contendo ácidos graxos de microalgas; óleo de calêndula; óleo de aveia ou óleo de aloe vera, foram avaliadas morfológicamente, o que permitiu visualizar a estrutura externa das microcápsulas e avaliar a porosidade e integridade das mesmas. As imagens obtidas por MEV de bancada para as microcápsulas estão apresentadas na Figura 32.

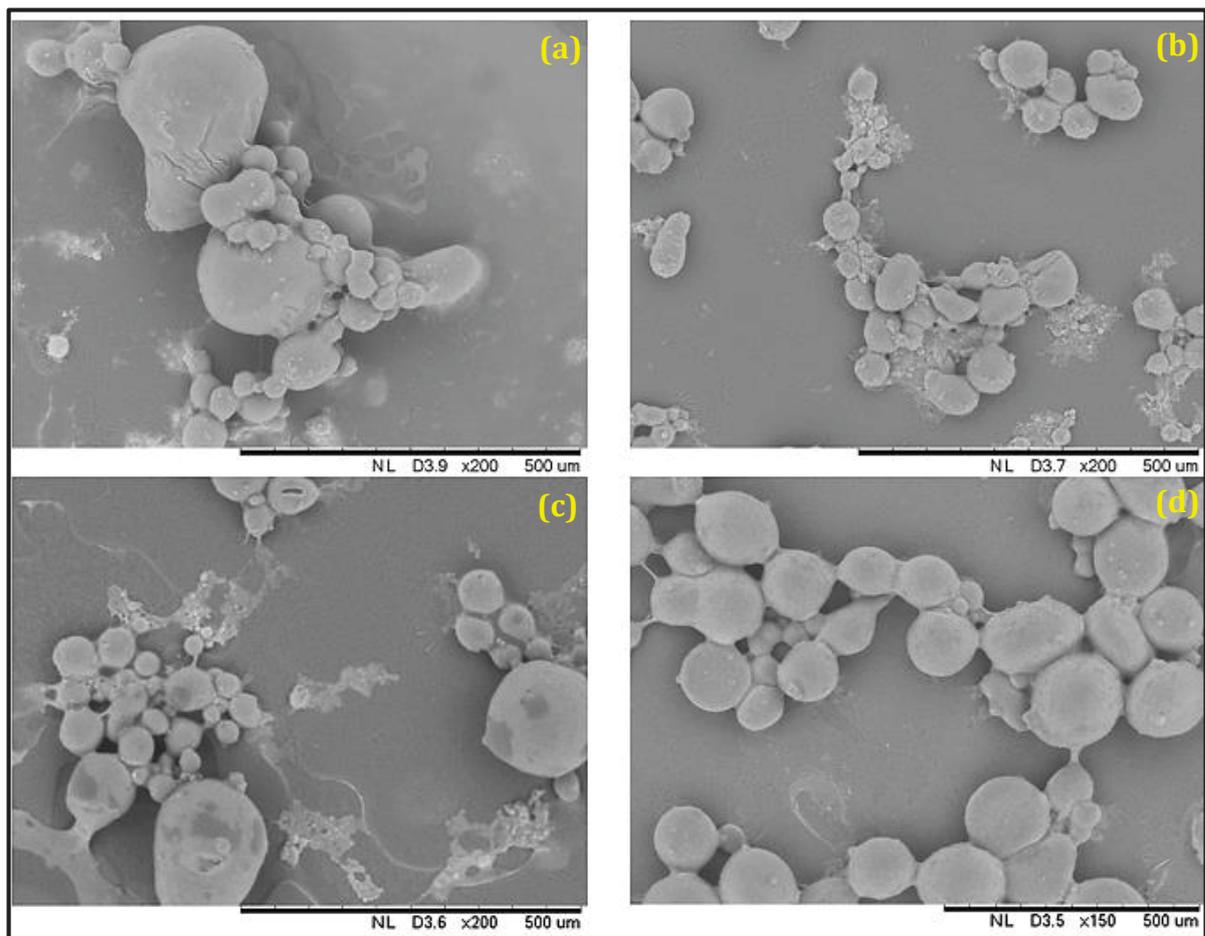


Figura 32: Imagens de MEV das microcápsulas contendo (a) ácidos graxos de microalgas; (b) óleo de calêndula; (c) óleo de aveia, ambos com aumento de 200x, e (d) óleo de aloe vera, com aumento de 150x.

Analisando as imagens da Figura 32 nota-se que a maioria das microcápsulas manteve sua morfologia esférica, como visto na microscopia óptica. A obtenção de

partículas esféricas é desejável, pois exibem fluidez maior, menor razão superfície/volume sugerindo uma cobertura completa do material de núcleo, com isso, favorecendo a retenção desse material (RÉ, 1998). Ainda, é percebido que para todas as amostras houve a aglomeração das microcápsulas, as quais resultam da baixa força de repulsão das cápsulas, acarretando na aglomeração das mesmas. Na análise das imagens obtidas por microscopia óptica, as microcápsulas sintetizadas foram observadas dispersas em água, porém, o fenômeno de aglomeração não foi notado ou evidente. Isso pode estar relacionado ao tamanho das microcápsulas, uma vez que, partículas muito pequenas são propensas a ter uma baixa dispersão em água, produzindo assim aglomerados, quando encontradas nesse meio (GUIGNON *et al.*, 2002).

Com o intuito de avaliar a porosidade e integridade da parede das microcápsulas sintetizadas foi realizada a análise de microscopia eletrônica utilizando o equipamento MEV JEOL JSM 6360 - LV. As micrografias obtidas das microcápsulas contendo, óleo de calêndula (Figura 33), óleo de aveia (Figura 34), óleo de aloe vera (Figura 35) e os ácidos graxos de microalgas (Figura 36) são apresentadas abaixo. Com base nas imagens, verifica-se que a maioria das partículas apresentaram formato esférico e as paredes se mantiveram contínuas. A formação de paredes contínuas é bastante importante para as microcápsulas, pois assegura uma maior retenção e proteção do material encapsulado.

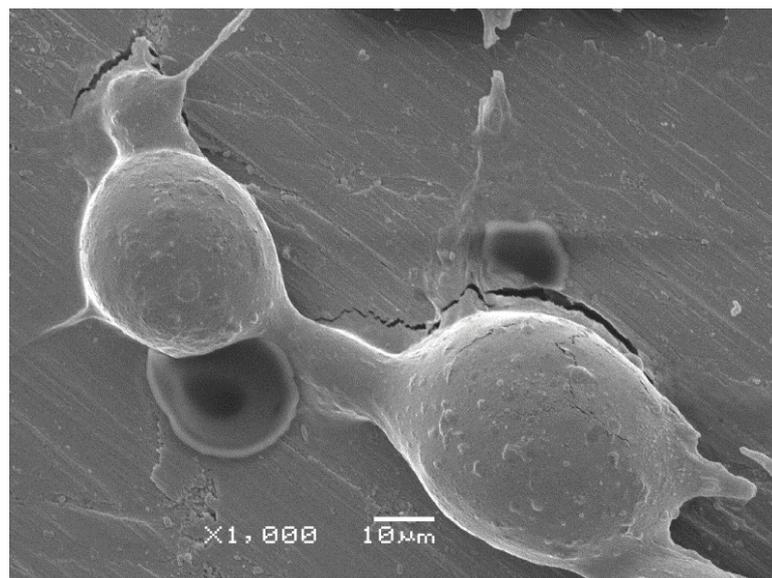


Figura 33: Imagens de MEV das microcápsulas contendo óleo de calêndula aumento de 1.000x.

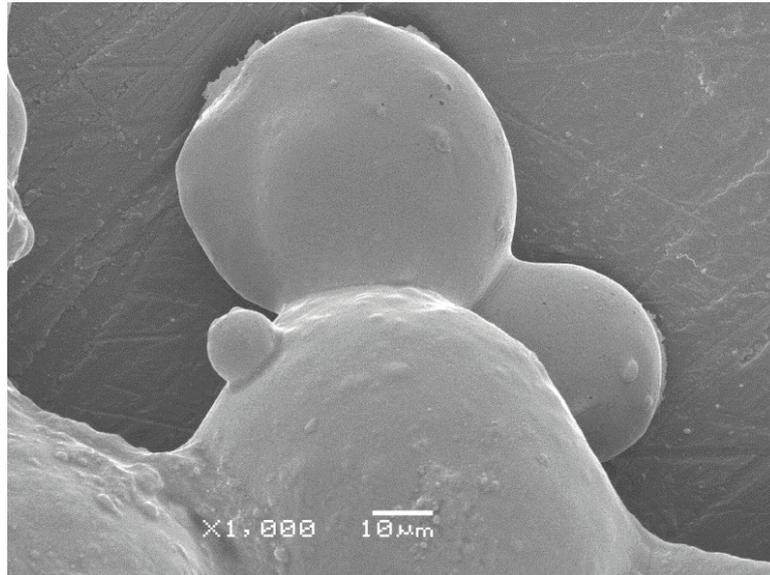


Figura 34: Imagens de MEV das microcápsulas contendo óleo de aveia aumento de 1.000x.



Figura 35: Imagens de MEV das microcápsulas contendo óleo de aloe vera aumento de 500x.

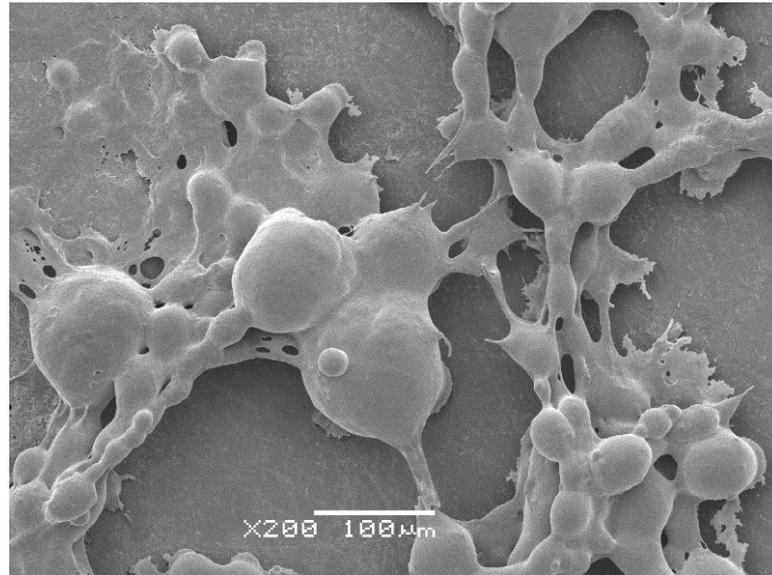


Figura 36: Imagens de MEV das microcápsulas contendo ácidos graxos de microalga aumento de 200x.

Vale ainda ressaltar, que apesar do comportamento de aglomeração observado, as microcápsulas mantiveram-se estáveis, ou seja, não houve rompimento durante a caracterização.

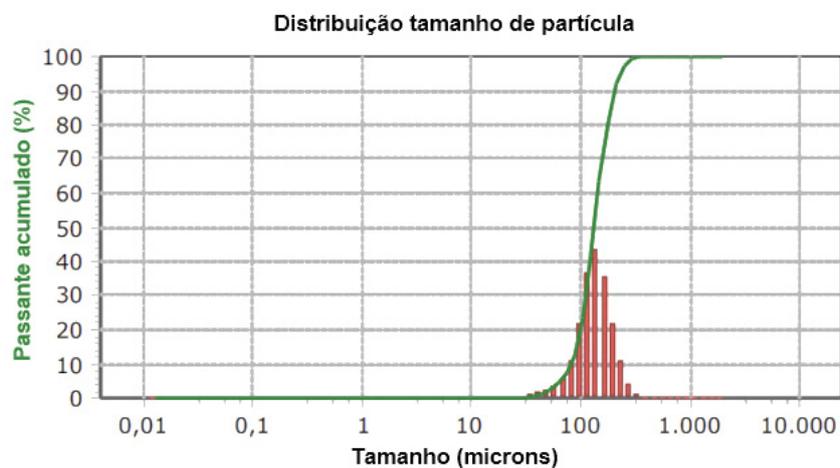
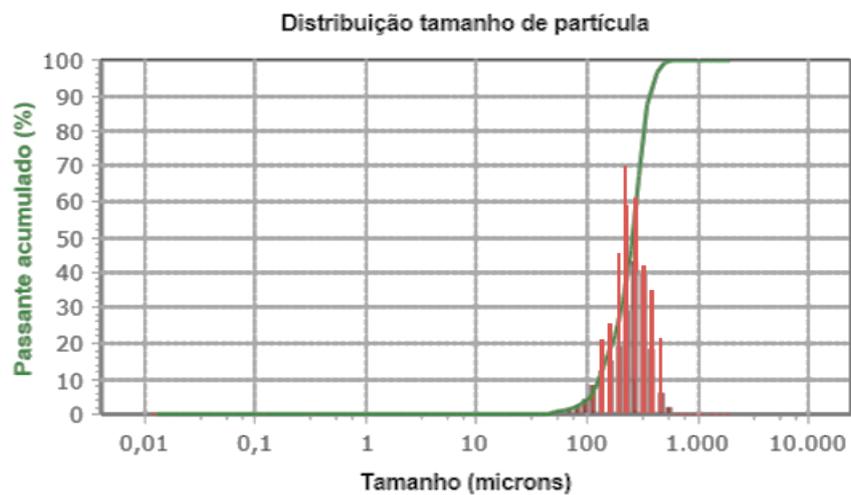
Ainda através das imagens obtidas pelas análises foi realizada uma estimativa do tamanho das partículas dos quatro sistemas de microcápsulas estudados, porém como a faixa de tamanhos obtidos é ampla, as imagens apresentadas não são significativas. Assim, todas as microcápsulas estudadas (MAG, MC, MA e MAV) apresentaram variação do valor de diâmetro entre 40 μm e 270 μm , os quais corroboram com os resultados da faixa de distribuição de tamanhos das micropartículas obtidos através da técnica de microscopia óptica, detalhada no tópico anterior.

6.4. Análise de tamanho de partícula

Para a confirmação dos valores de diâmetros obtidos através da utilização do software *ImageJ*, foi realizada a análise de tamanho de partícula por granulometria à laser, uma vez que foi observada a rápida decantação das microcápsulas e a técnica foi empregada por permitir a melhor homogeneização das amostras durante a análise além de ser possível verificar a presença de aglomerações das partículas sintetizadas.

O tamanho das micropartículas é um parâmetro primordial com relação à aplicação que serão submetidas. O emprego de microcápsulas em produtos da indústria

cosmética está aumentando pois, quando incorporadas em produtos de uso tópico por exemplo, no momento que rompem o material encapsulado poderá agir com maior eficiência, pois o mesmo será liberado somente no local desejado, sendo facilmente absorvido através da pele. Geralmente, quanto maior o tamanho da cápsula maior será a quantidade de material encapsulado no seu núcleo, com isso pode-se potencializar a ações dos compostos no meio disperso. Os resultados dos diâmetros médios das microcápsulas de gelatina/goma arábica contendo ácidos graxos de microalgas e os demais óleos estudados sintetizadas por coacervação complexa estão apresentados na Figura 37.



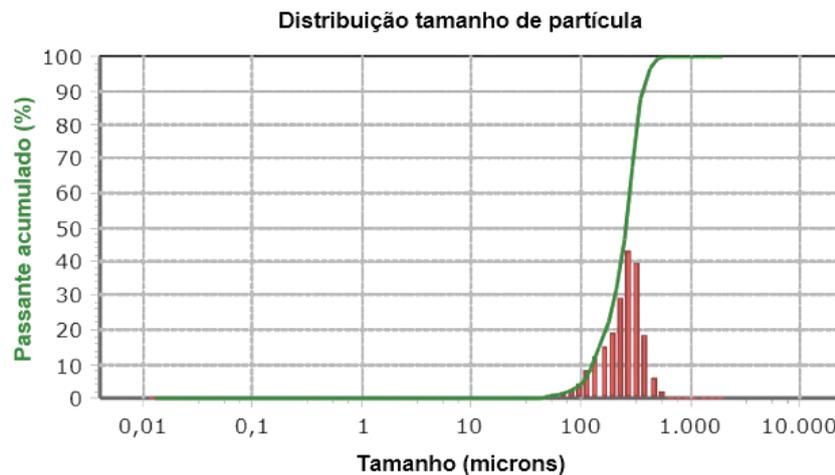
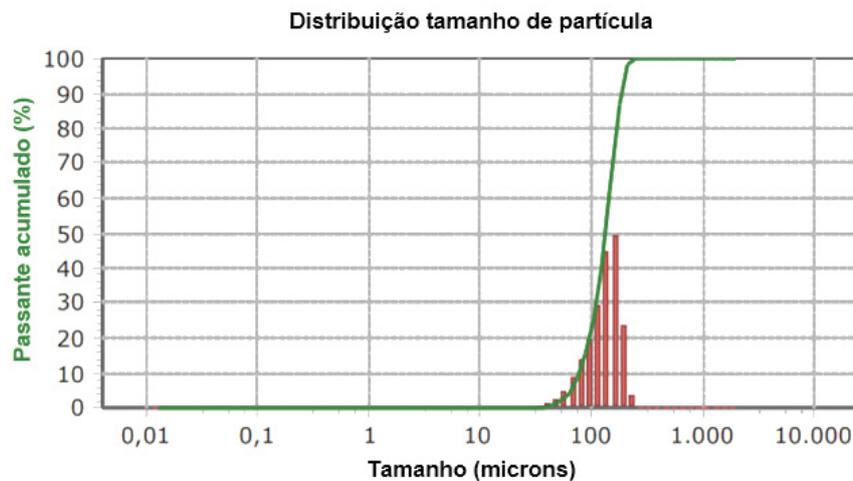


Figura 37: Distribuição granulométrica obtida para as microcápsulas de gelatina/goma arábica contendo (a) ácidos graxos de microalgas; (b) óleo de calêndula; (c) óleo de aveia e (d) óleo de aloe vera, por coacervação complexa.

Através da Figura 37 é possível afirmar que para todas as amostras há uma ampla faixa de distribuição das partículas, que variou de 37 μm a 275 μm . A amostra MAG apresentou diâmetro médio de 110 μm , a amostra MC 104 μm de diâmetro médio, enquanto que a amostra MA tamanho médio de 102 μm e a amostra MAV valor de diâmetro médio de 107 μm . Comparando os valores desses resultados com os valores de tamanho médio obtidos na outra análise foi possível verificar que foram próximos. Com isso, confirma-se que o método de coacervação complexa é eficiente para a encapsulação dos compostos estudados usando gelatina e goma arábica como materiais de parede e as cápsulas obtidas apresentaram diâmetros médios abaixo de 110 μm , totalmente

preenchidas com o material de núcleo, logo podem ser aplicadas em produtos de uso tópico contribuindo deste modo no aumento da eficácia destes produtos na proteção bactericida, no tratamento de lesões ou queimaduras solares.

6.5. Análise de composição química

A técnica de espectroscopia no infravermelho pode fornecer informações químicas das interações que envolvem o processo de coacervação complexa entre os materiais de revestimento, sendo esses, a gelatina Tipo A e a goma arábica e também certificar se existe interação com os materiais de núcleo estudados. Com isso, esta técnica foi empregada buscando confirmar a formação do complexo polissacarídeo/proteína durante o processo de microencapsulação e, se os materiais de núcleo foram encapsulados. Os espectros da gelatina, goma arábica e da microcápsula vazia, são apresentados na Figura 38.

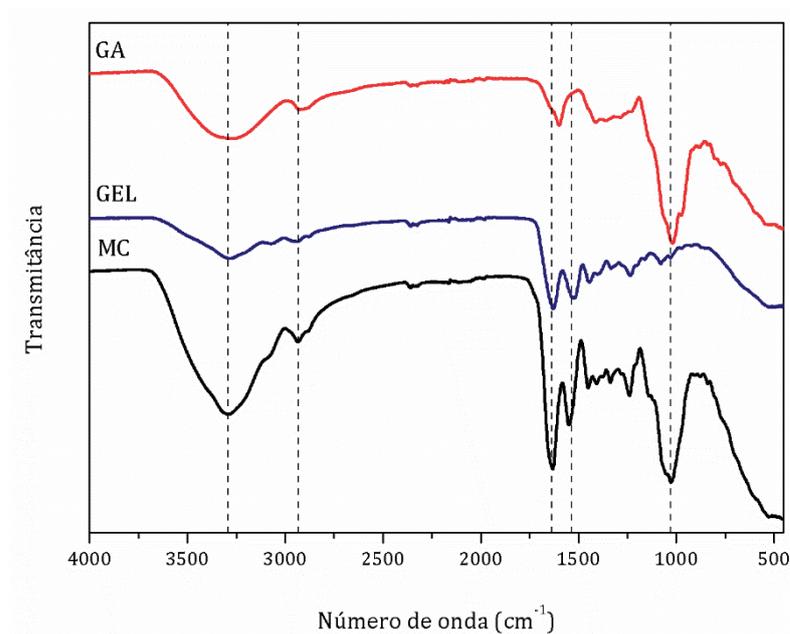


Figura 38: Espectros de infravermelho para os materiais de revestimento isolados: gelatina (GEL), goma arábica (GA) e microcápsula vazia (MV).

Analisando os espectros apresentados na Figura 38 é possível verificar que as bandas características da gelatina e da goma arábica são evidentes também no espectro da microcápsula vazia, sendo assim um indicativo de que ocorreu a formação do complexo polissacarídeo/proteína. As principais bandas características da goma arábica e da gelatina estão exibidas na Tabela 7.

Tabela 7: Bandas características dos materiais de revestimento empregados na formação das microcápsulas (DONG *et al.*, 2014; YANG *et al.*, 2015).

| Componente | Banda (cm ⁻¹) | Ligação | Grupamento característico |
|--------------|---------------------------|-------------------|-------------------------------------------------------------|
| Goma arábica | 3284 | -OH (estiramento) | Ácido carboxílico Ácido glucurônico Ácido carboxílico |
| | 2925 | CH ₂ | |
| | 1604 | C=O | |
| | 1414 | C=O | |
| | 1014 | -CO- | |
| Gelatina | 3298 | -NH- -OH | Amida A |
| | 2938 | =C-H | Amida B |
| | 1637 | C=O | Amida I |
| | 1522 | C-N | Amida II |

Quando se desenvolve a coacervação espera-se que ocorra uma reação entre as cargas positivas e negativas dos grupamentos amino e carboxílicos dos materiais de revestimento utilizados na pesquisa, assim analisando o espectro das microcápsulas vazias obtido, é possível verificar que houve a formação da parede de gelatina/goma arábica da cápsula, pois observa-se no espectro das microcápsulas bandas de absorção características dos polímeros de partida descritos acima (CEBI *et al.*, 2016; MUYONGA; COLE; DUODU, 2004; DONG *et al.*, 2014; YANG *et al.*, 2015). Desta maneira, confirmando a formação do complexo polissacarídeo/proteína.

Para confirmar o encapsulamento dos materiais de núcleo escolhidos nesse estudo, realizou-se a análise dos compostos a serem encapsulados puros, assim como os materiais de revestimento e, das microcápsulas sintetizadas preenchidas contendo: ácidos graxos de microalgas, óleo de aveia, óleo de calêndula e óleo de aloe vera. Os espectros de infravermelho obtidos são apresentados nas Figuras 39 à 41 abaixo, respectivamente.

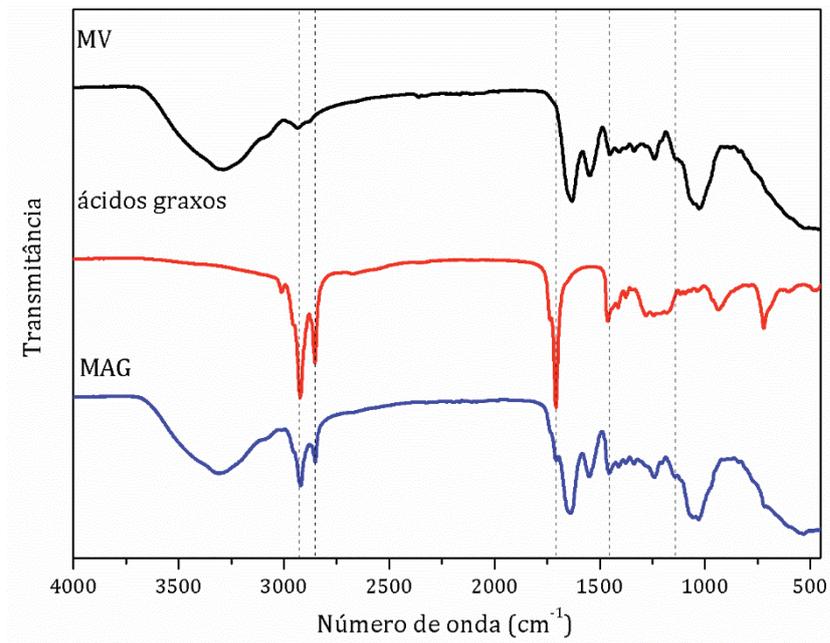


Figura 39: Espectros de infravermelho para as amostras de microcápsulas contendo ácidos graxos de microalgas encapsuladas com gelatina/goma arábica por coacervação complexa.

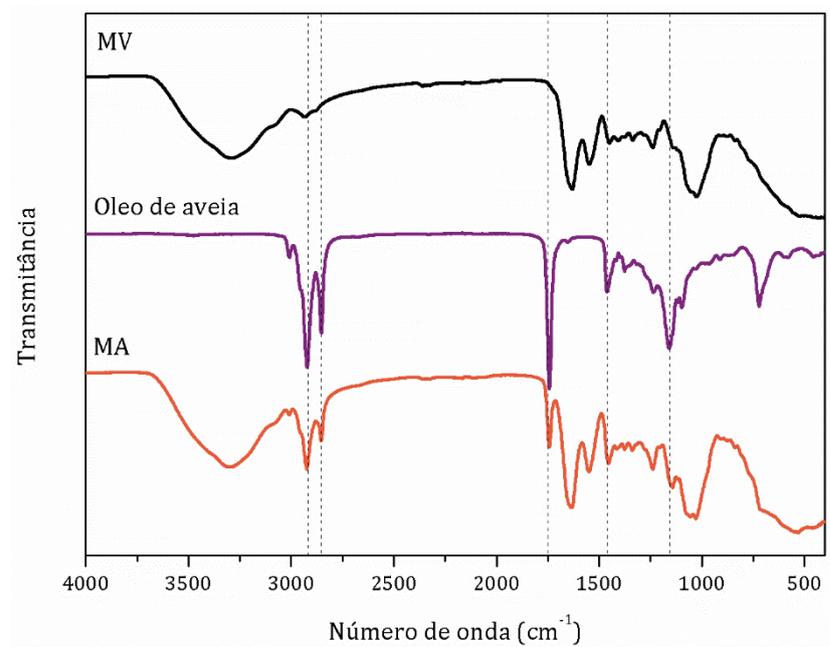


Figura 40: Espectros de infravermelho para as amostras de microcápsulas contendo óleo de aveia encapsuladas com gelatina/goma arábica por coacervação complexa.

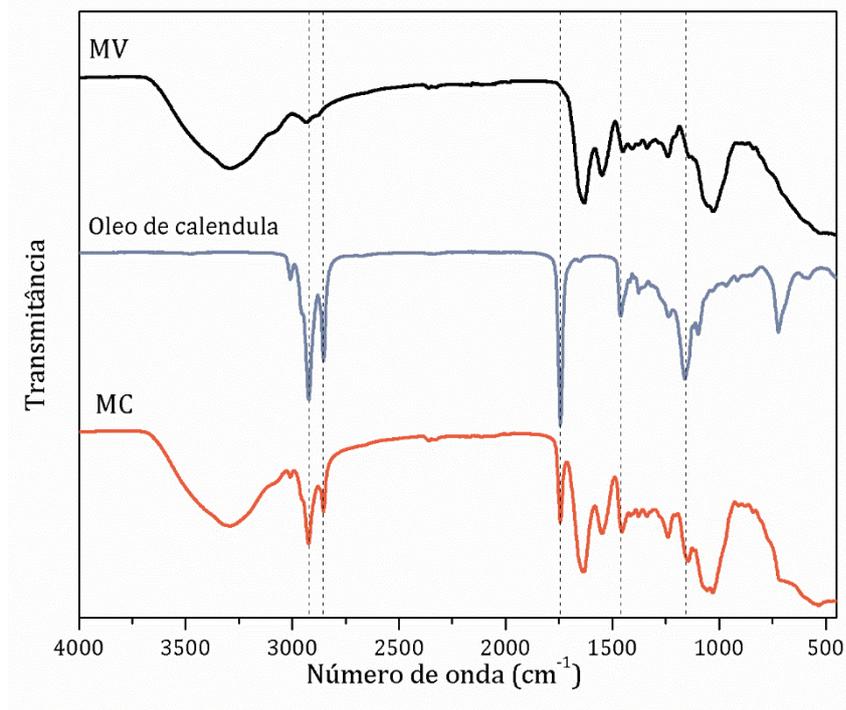


Figura 41: Espectros de infravermelho para as amostras de microcápsulas contendo óleo de calêndula encapsuladas com gelatina/goma arábica por coacervação complexa.

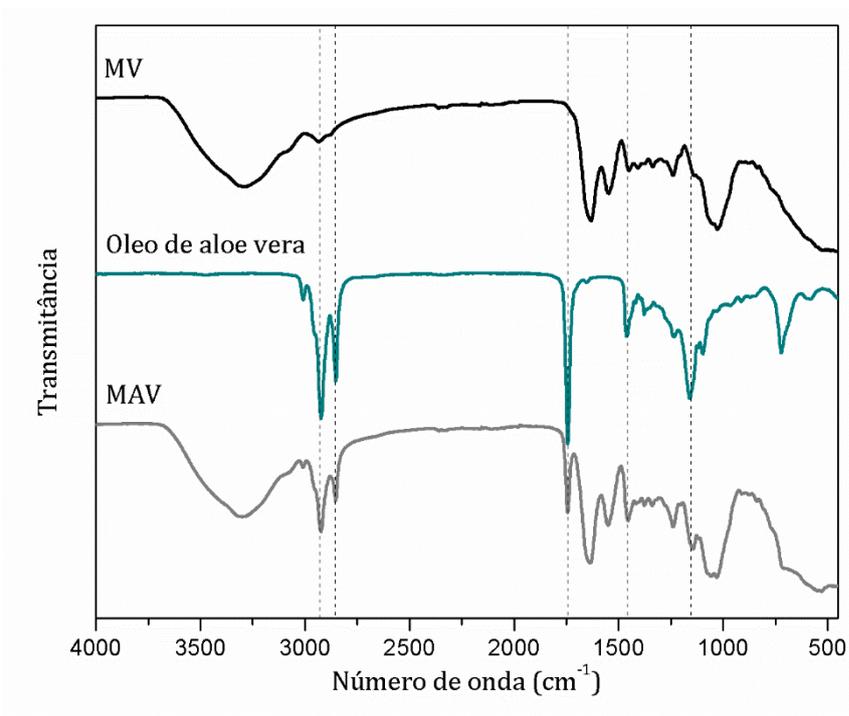


Figura 42: Espectros de infravermelho para as amostras de microcápsulas contendo óleo de aloe vera encapsuladas com gelatina/goma arábica por coacervação complexa.

Ao comparar os espectros dos materiais de revestimento e material de núcleo com os espectros das microcápsulas sintetizadas é possível notar uma grande semelhança

entre os espectros. A similaridade entre os espectros apresentados nas Figuras 39, 40, 41 e 42 está relacionada com ao número de átomos de carbono e às insaturações, uma vez que todos os materiais de núcleo estudados são obtidos de matérias-primas vegetais. Com base nos espectros das microcápsulas contendo os materiais de núcleo é possível observar bandas características dos compostos orgânicos presentes nos materiais propostos como, a banda de absorção em 2911 cm^{-1} corresponde à vibração de estiramento assimétrico da ligação $=\text{C-H}$; a absorção em 2853 cm^{-1} referente ao estiramento simétrico da ligação C-H característica do grupo $(\text{C-H})\text{CH}_2$; em 1743 cm^{-1} a banda associada à vibração de estiramento da ligação C=O ; banda de absorção em 1453 cm^{-1} referente à deformação angular das ligações C-H do grupo CH_2 ; em 1160 cm^{-1} a banda de absorção correlata ao estiramento da ligação C-O (CEBI *et al.*, 2016; DONG *et al.*, 2014; YANG *et al.*, 2015).

Com isso, afirma-se que os compostos estudados foram efetivamente encapsulados nas microcápsulas de gelatina/goma arábica, uma vez que os espectros das microcápsulas vazias, dos materiais de núcleo puros e das microcápsulas sintetizadas preenchidas com os compostos, quando comparados e sobrepostos, é possível verificar que o espectro das microcápsulas contendo núcleo apresenta tanto bandas características dos materiais de revestimento, como as bandas de absorção características dos materiais de núcleo encapsulados. Ainda, com base nos resultados é visto que não houve interação dos materiais de núcleo pois, não ocorreu deslocamento das bandas características dos materiais puros quando no espectro das microcápsulas preenchidas, deste modo sendo possível confirmar a eficiência do método de coacervação complexa para a síntese e obtenção de microcápsulas preenchidas com ácidos graxos de microalgas e óleos essenciais.

6.6. Análise de estabilidade química e contribuição de cargas

Grande parte dos materiais particulados adquirem uma carga elétrica superficial quando estão dispersos em uma solução, formando uma camada elétrica na superfície da partícula. Esta primeira camada é denominada camada de Stern podendo ser carregada positivamente ou negativamente dependendo das características da partícula e do meio. Próximo a camada de Stern, existe uma segunda camada conhecida como camada difusa formada por contra íons. Os íons, por estarem em movimento formam um plano de

cisalhamento onde o potencial elétrico reduz exponencialmente em função da distância da camada de *Stern*. O valor do potencial elétrico em relação à referência no plano de cisalhamento é chamado Potencial Zeta (DA SILVA *et al.*, 2015; HONARY & ZAHIR, 2013). Assim, o potencial zeta é uma medida indireta da carga superficial de uma partícula. O modelo esquemático da dupla camada elétrica é representado na Figura 43.

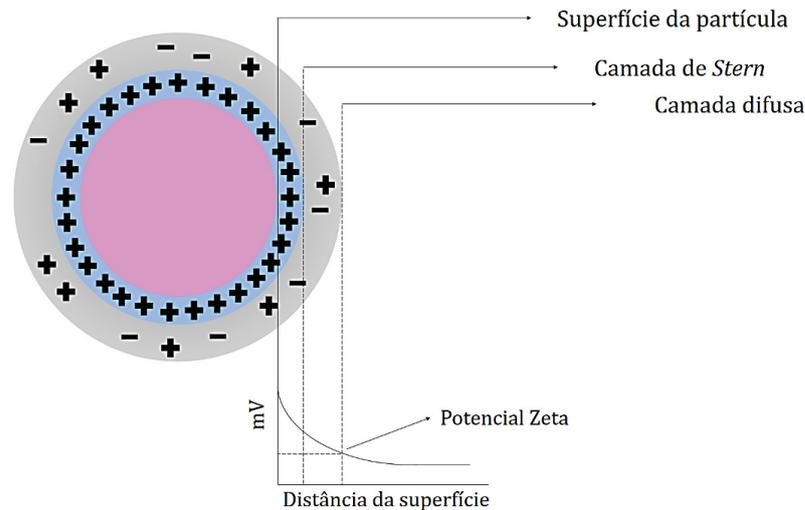


Figura 43: Representação esquemática da dupla camada elétrica formada em partículas dispersas em solução (adaptado de DA SILVA *et al.*, 2015)

As partículas quando formadas podem apresentar desestabilização e floculação. Para melhorar esse comportamento o contato entre as partículas deve ser o menor possível (SHARMA *et al.*, 2014). Uma melhor abordagem pode ser feita entendendo duas das formas de estabilização de partículas e moléculas, uma sendo o efeito da repulsão eletrostática e outra a estabilidade estérica.

Repulsão eletrostática: Partículas carregadas apresentam dupla camada e quando partículas com mesma carga quando se aproximam, as camadas difusas das partículas se sobrepõem, gerando um fenômeno de repulsão eletrostática. Um exemplo é no caso de uma emulsão, quando uma gotícula se aproxima da outra, as camadas difusas se sobrepõem, gerando um fenômeno de repulsão eletrostática, evitando floculação e desestabilização (SHARMA *et al.*, 2014). Para evitar a floculação irreversível a carga presente na superfície da gotícula deve ser superior à energia cinética fornecida pelo movimento browniano, estando essa na ordem de 30 mV, em módulo. Por isso o potencial zeta é uma técnica importante para estudar emulsões, pois, quanto maior o valor de potencial zeta, maior será a estabilidade das emulsões.

Estabilidade estérica: quando se faz uso de macromoléculas para a estabilização de emulsões ocorre o fenômeno denominado efeito estérico. Essas macromoléculas são compostas por longas cadeias que interagem parcialmente com a interação óleo-água, se adsorvendo na superfície da partícula estabilizada. Quando duas partículas se aproximam pode ocorrer a interpenetração entre moléculas, assim, quanto menor a distância entre partículas, maior a estabilidade da emulsão (DA SILVA *et al.*, 2015).

Além disso, o Potencial Zeta é um indicativo das interações que estão ocorrendo na partícula, por exemplo polieletrólitos. No caso de cápsulas produzidas por complexação polieletrólítica, onde cargas positivas e cargas negativas que estão interagindo por força eletrostática do tipo atrativa dão origem a parede da cápsula, o excesso de carga dessa interação vai dar origem da carga da partícula, ou seja, o valor do potencial zeta irá variar com base nas moléculas do polímero que não interagiram completamente.

Para a confirmação do valor de pH ideal para formação do complexo polissacarídeo/proteína encontrado na literatura (DA SILVA *et al.*, 2015) e avaliar o comportamento dos mesmos, foi realizado um teste simples de avaliação do potencial zeta em função do pH, das soluções dos polímeros de partida (goma arábica e gelatina). O gráfico obtido é apresentado na Figura 44.

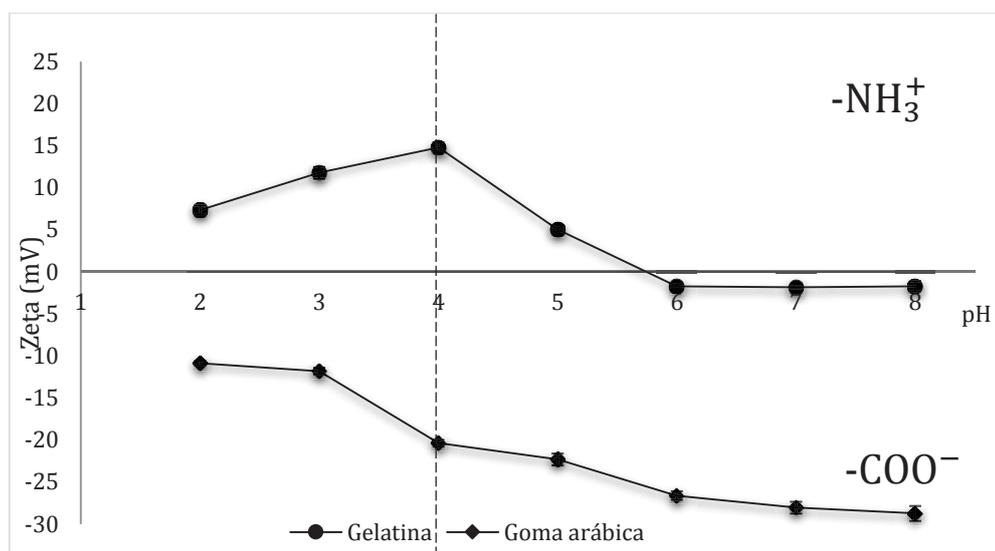


Figura 44: Potencial Zeta das soluções dos biopolímeros estudados como materiais de revestimento para a obtenção de microcápsulas.

Com base no gráfico, verifica-se que a gelatina Tipo A apresentou ponto isoeletrico de 5,8. A gelatina é uma macromolécula anfótera, ou seja, é composta por dois

grupamentos funcionais e com isso apresenta ponto isoelétrico. Uma vez que na condição de 5,8 a gelatina apresentou potencial zeta nulo, esse comportamento aponta que os grupamentos ácidos e básicos da gelatina encontram-se equivalentemente ionizados o que indica a neutralização da carga global da gelatina, caracterizando assim o ponto isoelétrico. Para o processo de microencapsulação o valor de ponto isoelétrico é importante pois, quando se utiliza valor de pH inferior ao ponto isoelétrico a carga global da partícula torna-se positiva, enquanto que para pH superior a esse ponto a carga fica negativa. Como o método de encapsulação depende da distribuição de cargas, é possível controlar o início e a dimensão da interação que ocorrerá entre os polímeros participantes da reação de complexação polieletrólítica através do controle do pH. Já a goma arábica, por ser um polissacarídeo aniônico, permaneceu carregada negativamente em toda a faixa de pH estudada. Esse comportamento de desprotonação dos grupos carregados da goma arábica, está relacionado diretamente com a forma que irá interagir com o outro biopolímero.

Ainda, buscou-se confirmar o valor de pH ideal. No gráfico avaliou-se a condição na qual a gelatina encontra-se com o maior variação positiva e a goma arábica com maior variação negativa onde o módulo do potencial zeta seja mais próximo entre os dois polímeros, o que indicaria uma condição ideal de interação em estequiometria (1:1), o qual foi obtido no valor de pH 4,0.

Após confirmado do valor de pH para a complexação eletrolítica dos polímeros de partida, foi realizada uma análise de potencial zeta para as microcápsulas sintetizadas por coacervação complexa dispersas em suspensão aquosa com valor de pH 4,00. Os valores de potencial zeta obtidos estão expostos na Tabela 8.

Tabela 8: Resultados da caracterização de potencial zeta das suspensões contendo microcápsulas de gelatina/goma arábica com diferentes materiais encapsulados dispersos em água destilada, pH=4,00.

| AMOSTRAS | Potencial Zeta Médio \pm Desvio Padrão (mV) |
|----------|-----------------------------------------------|
| MV | -6,6 \pm 0,7 |
| MAG | -6,5 \pm 0,5 |
| MC | -5,4 \pm 0,2 |
| MA | -4,8 \pm 0,7 |
| MAV | -6,9 \pm 0,7 |

Com base nos resultados médios de potencial zeta encontrados na Tabela 8, fica evidente que as suspensões das microcápsulas sintetizadas para os sistemas estudados mostraram tendência a decantação quando em meio aquoso, pois os valores de zeta obtidos foram baixos. Essa magnitude deve-se à força de repulsão gerada pelas partículas carregadas, não sendo esta suficiente para superar a agregação. O comportamento observado para os sistemas estudados sugere que houve uma interação quase que total entre os polissacarídeos e proteínas. Essa interação, resultando de um valor de carga baixo, aponta que existe estabilidade estérica da partícula, pois, esse método desenvolve partículas com cargas muito próximas de zero e essas mesmas partículas, apesar de agregarem, exibem facilidade de dispersar. Os valores negativos de potencial zeta são referentes aos grupos de ácidos carboxílicos sob forma de ânion carboxilato ($-\text{COO}^-$) da goma arábica, indicando uma maior contribuição de cargas superficiais negativas para os sistemas estudados.

O potencial zeta é uma técnica que caracteriza o material estudado quanto as suas aplicações, indicando se as microcápsulas irão interagir com outras moléculas do meio na qual serão incorporadas. Quando se tem uma partícula neutra a tendência de interação com partículas carregadas de uma formulação cosmética por exemplo, é menor. Um cosmético tem como principal veículo as emulsões, sendo as de caráter não-iônico e aniônico as mais usuais (HONARY & ZAHIR, 2013). Assim, como as microcápsulas obtidas exibiram potencial zeta negativo para todos os sistemas estudados, podem ser aplicadas em formulações cosméticas neutras à aniônicas. Se as cápsulas forem incorporadas em formulação neutra não haverá grande interação, pois a variação de potencial zeta que a cápsula vai gerar será pequeno. Porém, se as mesmas cápsulas fossem dispostas em uma formulação catiônica irá ocorrer interação fraca, com base nos valores, mas, essa interação poderá acarretar na imobilização e retirada da funcionalidade das moléculas da formulação final.

Para mais, buscou-se avaliar a estabilidade das microcápsulas em diferentes solventes orgânicos, as cápsulas foram novamente lavadas com água destilada e colocadas em tubos de ensaio. Em cada tubo foi adicionado 10 mL de solvente. As amostras foram submetidas à um ciclo de centrifugação e repouso por 24 horas, para então realizar a medição do potencial zeta dos sistemas. Os solventes orgânicos escolhidos para esse teste foram o etanol e o hexano por serem solventes com polaridades diferentes. Os resultados obtidos estão representados na Tabela 9.

Tabela 9: Resultados da caracterização de potencial zeta das suspensões contendo microcápsulas de gelatina/goma arábica com óleo de calêndula dispersas em diferentes solventes.

| AMOSTRA | SOLVENTE | Constante dielétrica | Momento dipolar | Potencial Zeta Médio \pm Desvio Padrão (mV) |
|---------|----------|----------------------|-----------------|-----------------------------------------------|
| MV | Hexano | 1,88 | 0,00 | -40,10 \pm 0,8 |
| | Etanol | 30 | 1,69 | -17,70 \pm 6 |
| | Água | 80 | 1,85 | -5,61 \pm 0,7 |
| MAG | Hexano | 1,88 | 0,00 | -33,81 \pm 1,0 |
| | Etanol | 30 | 1,69 | -18,16 \pm 0,5 |
| | Água | 80 | 1,85 | -6,51 \pm 0,5 |
| MC | Hexano | 1,88 | 0,00 | -39,42 \pm 0,4 |
| | Etanol | 30 | 1,69 | -21,43 \pm 0,7 |
| | Água | 80 | 1,85 | -5,38 \pm 0,3 |
| MA | Hexano | 1,88 | 0,00 | -40,03 \pm 1,1 |
| | Etanol | 30 | 1,69 | -16,34 \pm 0,6 |
| | Água | 80 | 1,85 | -4,80 \pm 0,7 |
| MAV | Hexano | 1,88 | 0,00 | -35,13 \pm 1,0 |
| | Etanol | 30 | 1,69 | -20,98 \pm 0,9 |
| | Água | 80 | 1,85 | -6,93 \pm 0,7 |

Observando os resultados apresentados, verifica-se que ocorreu uma mudança significativa nos valores do potencial zeta para todas as amostras com a modificação do meio de dispersão das microcápsulas. Analisando o potencial zeta obtido utilizando os diferentes solvente orgânicos, os valores apresentaram-se na faixa entre $|16,34 \text{ mV}|$ e $|21,43 \text{ mV}|$ para o etanol, entre $|33,81 \text{ mV}|$ e $|40,10 \text{ mV}|$ para o hexano e variou de $|4,80 \text{ mV}|$ e $|6,93 \text{ mV}|$ para as microcápsulas presentes em água. Esse comportamento esta relacionado com a constante dielétrica dos solventes estudados. O etanol tem momento dipolar 1,69 sendo um solvente polar com constante dielétrica de 30, a água apresenta momento dipolar de 1,85 também sendo um solvente polar com constante dielétrica de 80.

Já o hexano, tem momento dipolar 0,00 sendo assim um solvente apolar e sua constante dielétrica de valor 1,88. Quanto mais elevada a constante dielétrica maior a quantidade de íons H^+ dissociáveis no meio. Os valores de potencial zeta foram elevados, assim o sistema passou a ser estável, quando disperso em hexano, pois não existe presença de íon H^+ dissociável no solvente.

Logo, o fator que explica esse comportamento é a concentração iônica dos solventes. Partículas quando dispersas em água e etanol, vai existir a presença de contra-íons no meio que acabam compactando a camada difusa da partícula, ou seja, a partícula tem uma maior dimensão que a camada difusiva. Porém, quando dispersas em solvente orgânico que não existe a presença dos contra-íons, nesse caso o hexano, logo, a camada difusiva é maior que a dimensão da partícula.

6.7. Análise da propriedade mecânica das microcápsulas

Com o intuito de avaliar a propriedade mecânica da parede das microcápsulas e sua influência na liberação do material encapsulado, foi realizado o cálculo da resistência mecânica da parede de gelatina/goma arábica das microcápsulas por meio de uma análise físico-química empregando a técnica de pressão osmótica crítica.

A pressão osmótica é a pressão mínima necessária a ser aplicada a uma solução para alcançar o equilíbrio osmótico. Esse equilíbrio é obtido quando ocorre a interrupção do processo de osmose no qual, alguns dos componentes da solução com maior concentração passam ao meio de menor concentração através de uma membrana semipermeável (GAO, *et al.*, 2001; DARWISH *et al.*, 2014).

As propriedades mecânicas das partículas, como por exemplo a rigidez, são essenciais para a definição do processo e na maioria das aplicações para as quais se destinam os materiais. Assim, se fez necessário estudar a propriedade mecânica das cápsulas, mais especificamente o módulo de elasticidade, também conhecido como módulo de Young, que fornece a medida de rigidez de um material sólido (MURRAY, 1997). É uma propriedade intrínseca dos materiais, que depende da microestrutura e composição química, podendo ser obtida pela razão entre a tensão aplicada e a deformação do material.

Fundamentando-se que as microcápsulas sintetizadas contendo diferente materiais de núcleo exibiram uma faixa de distribuição de tamanhos semelhantes, assim como sua morfologia, optou-se por realizar o ensaio utilizando as microcápsulas contendo óleo de calêndula. O comportamento das microcápsulas de gelatina/goma arábica foi avaliado a partir da deformação induzida por pressão osmótica, conforme Darwish e colaboradores (2014) em soluções de glucose de 20%, 40% e 60% (m/m). Para encontrar a concentração crítica de glucose necessária para deformar as microcápsulas, foi feita uma

contagem de no mínimo 100 cápsulas e quando a quantidade de cápsulas rompidas foi superior a 50% dentro do tempo de uma hora, encontrou-se a concentração crítica de glucose, sendo esta de 60% (m/m) assim, as demais cápsulas foram dispersas em solução com concentração crítica de glucose. Os resultados obtidos para as microcápsulas contendo óleo de calêndula dispersas em solução de concentração 20%, 40% e 60% são apresentados nas Figuras 45 (a) e (b) e 46, respectivamente. Já as microcápsulas preenchidas com óleo de aveia, óleo de aloe vera e ácidos graxos de microalgas dispersas em solução de glucose 60% (m/m) são exibidas nas Figuras 48, 49 e 50.

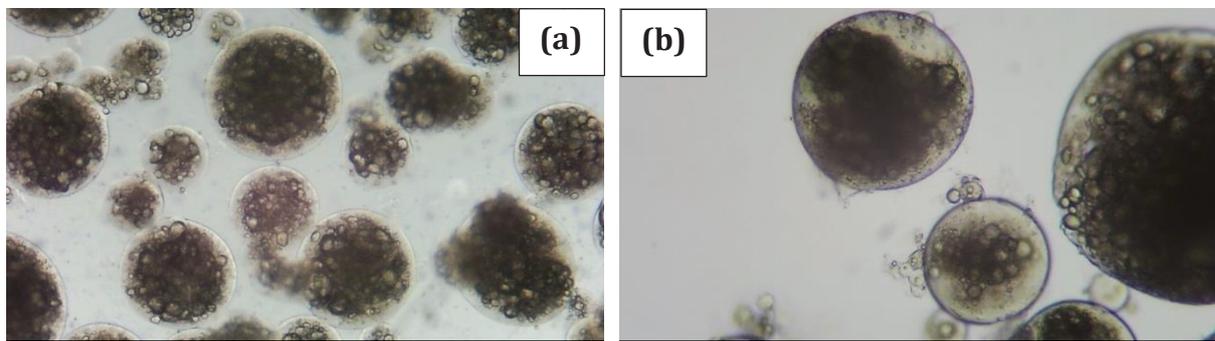


Figura 45: Micrografia das microcápsulas de gelatina/goma arábica contendo óleo de calêndula em: (a) solução de glucose 20% (m/m) e (b) solução de glucose 40% (m/m) pelo tempo de 1 hora, com aumento de 40x.



Figura 46: Micrografia das microcápsulas de gelatina/goma arábica contendo óleo de calêndula em solução de glucose 60% (m/m) pelo tempo de 1 hora, com aumento de 100x.

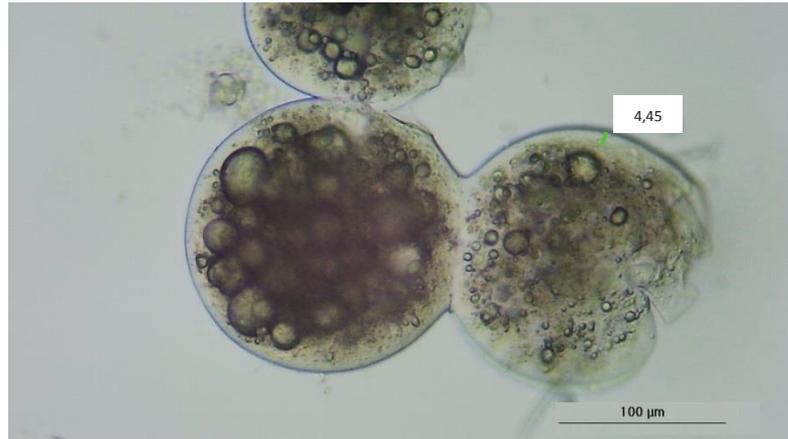


Figura 47: Micrografia das microcápsulas de gelatina/goma arábica contendo óleo de aveia em solução de glucose 60% (m/m) pelo tempo de 1 hora, com aumento de 100x.

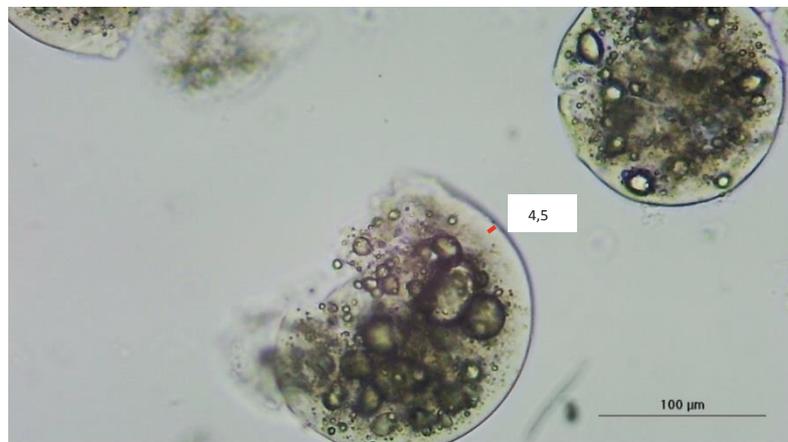


Figura 48: Micrografia das microcápsulas de gelatina/goma arábica contendo óleo de aloe vera em solução de glucose 60% (m/m) pelo tempo de 1 hora, com aumento de 100x.

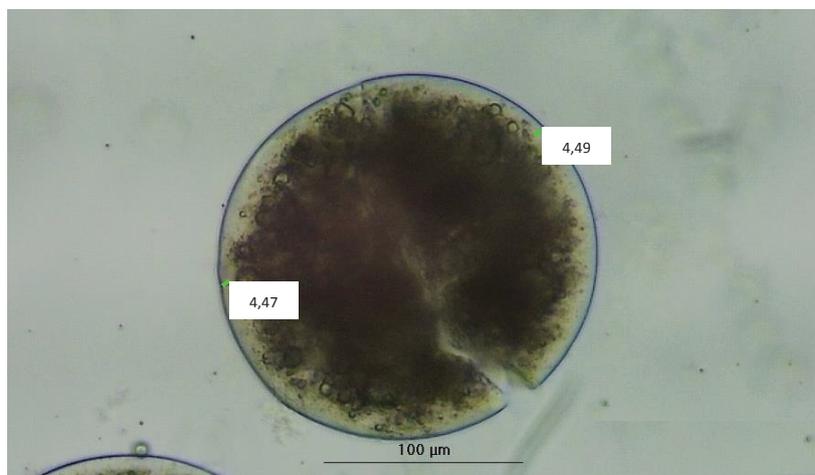


Figura 49: Micrografia das microcápsulas de gelatina/goma arábica contendo ácidos graxos de microalga em solução de glucose 60% (m/m) pelo tempo de 1 hora, com aumento de 100x.

Após a determinação da concentração de glucose necessária para promover o rompimento de 50% das microcápsulas, foi possível calcular o módulo de elasticidade da parede polimérica através da Equação 3 (GAO *et al.*, 2001).

$$\pi_c = 4\mu \left(\frac{\delta}{R}\right)^2 \quad \text{Equação 3}$$

onde: π_c é a pressão osmótica crítica (Pa), μ é o módulo de elasticidade (Pa); δ espessura da parede da microcápsula (m) e R o raio da cápsula (m).

Os valores de espessura da parede foram medidos a partir das micrografias obtidas por Microscopia Óptica, o raio da microcápsula foi calculado a partir dos diâmetros médios obtidos para a cápsulas contendo óleo de calêndula, enquanto que o valor da pressão osmótica foi adquirido com base no gráfico plotado por Darwish e colaboradores em 2014 (Figura 50). Conhecendo todos os valores, foi possível calcular o módulo de elasticidade da parede da microcápsula. Os valores dos parâmetros correlacionados com o módulo de elasticidade são apresentados na Tabela 10.

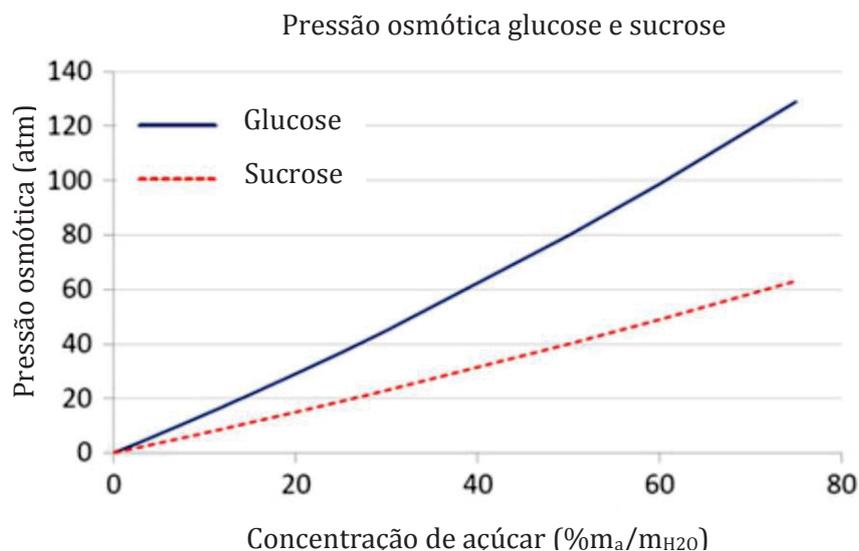


Figura 50: Pressão osmótica da glucose e da sucrose em função da concentração (DARWISH *et al.*, 2014).

Tabela 10: Concentração de glucose, pressão osmótica e valores de espessura e raio da cápsula e porcentagem de cápsulas rompidas

| Concentração de glucose | Pressão osmótica (MPa) | Espessura da parede (μm) | Raio da cápsula (μm) | Porcentagem rompida |
|----------------------------------------------------------|------------------------|---------------------------------------|-----------------------------------|---------------------|
| Microcápsulas contendo óleo de calêndula | | | | |
| 20% | 3,04 | 4,5 \pm 4 | 52 | 15% |
| 40% | 6,08 | 4,5 \pm 4 | 52 | 28% |
| *60% | 10,1 | 4,5 \pm 4 | 52 | 52% |
| Microcápsulas contendo óleo de aveia | | | | |
| *60% | 10,1 | 4,5 \pm 4 | 51 | 58% |
| Microcápsulas contendo óleo de aloe vera | | | | |
| *60% | 10,1 | 4,5 \pm 4 | 54 | 53% |
| Microcápsulas contendo ácidos graxos de microalga | | | | |
| *60% | 10,1 | 4,5 \pm 4 | 55 | 59% |

* Concentração crítica de glucose

Dispondo os valores obtidos para a concentração crítica de glucose, na Equação 3 constatou-se que as microcápsulas sintetizadas apresentaram módulo de elasticidade próximos, os quais encontram-se na Tabela 11.

Tabela 11: Valores do módulo de elasticidade das microcápsulas obtidas calculados através da Equação 3.

| AMOSTRAS | Módulo de elasticidade |
|--------------------------------------------------|------------------------|
| Microcápsula contendo óleo de calêndula | 325 MPa |
| Microcápsula contendo óleo de aveia | 338 MPa |
| Microcápsula contendo óleo de aloe vera | 365 MPa |
| Microcápsula contendo ácidos graxos de microalga | 378 MPa |

Microcápsulas de alginato e quitosana contendo carbonato de sódio com tamanho médio de 17 μm exibiram módulo de elasticidade de $\sim 1,9$ kPa (RAJAMANICKAM *et al.*, 2016) assim como, micropartículas com multicamadas de polialilamina e poliestireno sulfonato apresentaram módulo de elasticidade de 500 MPa com um tamanho médio de partícula na faixa entre 20 nm e 20 μm (FERY; DUBREUIL; MÖHWALD, 2004). Na coacervação complexa, as propriedades dos coacervatos, determinadas pela natureza dos biopolímeros utilizados para formar a parede da microcápsula, podem ser alteradas através de reações químicas utilizando reagentes específicos, influenciando assim nas propriedades mecânicas e térmicas, bem como, na permeabilidade da parede e liberação do núcleo das micropartículas (FUGUET; PLATERINK; JANSSEN, 2007, GROSSO & ALVIM, 2010).

A reticulação química após a síntese de micropartículas de gelatina e goma arábica por coacervação complexa permite a modificação da liberação do material encapsulado comparando as micropartículas não reticuladas (PRATA *et al.*, 2008), bem como da resistência das cápsulas. O uso de glutaraldeído, por exemplo, para microcápsulas compostas de gelatina pelo método de coacervação complexa, resulta em uma reticulação parcial tornando as microcápsulas mais resistentes ao calor e também à umidade (FUGUET; PLATERINK; JANSSEN, 2007). Grosso e Alvim (2010) mostraram que partículas reticuladas com concentração elevada de glutaraldeído, quando submetidas ao processo de secagem por pulverização, são mais resistentes suportando melhor o processo de secagem.

Essa magnitude mostra que as microcápsulas produzidas têm potencial para serem incorporadas em formulações cosméticas, isso porque considerando que a pressão aplicada por uma envasadora no processo de envase de um creme cosmético é de aproximadamente 0,6 Mpa (CAMARGO INDUSTRIAL, 2017), é possível introduzir as microcápsulas sem que ocorra o rompimento das mesmas, uma vez que as microcápsulas desenvolvidas possuem um módulo de elasticidade muito superior. Já no processo de aplicar o creme sobre a pele, por exemplo, durante a execução de uma massagem, pode-se superar a pressão necessária para o rompimento das cápsulas, essas podem ser incorporadas na formulação e exercer liberação por rompimento mecânico. Esse valor de resistência da cápsula pode ser modificado pelo grau de reticulação, assim as cápsulas podem ser sintetizadas de acordo com a necessidade, possibilitando uma maior gama de aplicações.

Com base nesses resultados obtidos, é possível confirmar que foi possível sintetizar as microcápsulas de gelatina/goma arábica pelo método de coacervação complexa, não havendo limitações durante o processo, uma vez que para todos os compostos estudados, as microcápsulas obtidas apresentaram formatos, tamanhos, rendimento e eficiência de encapsulação similares. Ainda, em relação a pressão mecânica exercida pelas partículas, essa pode ser modificada a partir da concentração de reticulante, sendo possível variar conforme a necessidade de aplicação das microcápsulas.

7. CONCLUSÕES

Considerando os objetivos propostos, é possível concluir que a coacervação complexa constituiu-se de uma metodologia adequada para sintetizar microcápsulas de goma arábica/gelatina contendo ácidos graxos de microalgas ou óleos essenciais pois o rendimento (>80%) e a eficiência de encapsulação (>77%) obtidos foram altos para os sistemas estudados. Através das caracterizações, as microcápsulas apresentaram-se esféricas, polinucleadas e com superfícies lisas. Por análise química foi possível confirmar a formação da parede polimérica e que não ocorreu interação entre os materiais de parede e de núcleo. As microcápsulas são influenciadas diretamente pela variação da polaridade do meio de dispersão e o diâmetro médio obtido variou entre 96 μm e 110 μm conferindo eficiente absorção em uso tópico. Desta forma, a microencapsulação destes óleos essenciais e ácidos graxos da microalga “Curitibana” por coacervação complexa que trata-se de um método rápido, eficiente e viável às indústrias, demonstra ser uma alternativa promissora para aplicações em cosmeceuticos para uso tópico, podendo agir mais profundamente no local desejado, aumentando a eficiência de ações bactericidas, anti-inflamatórias, cicatrizantes, anestésiantes dos materiais de núcleo estudados. Por fim, o teste de pressão osmótica mostrou que as cápsulas sintetizadas apresentaram boa resistência mecânica para a incorporação em formulações cosméticas, sem que haja o rompimento durante envasamento e transporte, podendo concluir também que a condição de reticulação empregada foi adequada para as cápsulas estudadas.

8. TRABALHOS FUTUROS

Como sugestão para trabalhos futuros para continuidade da pesquisa:

- Avaliar a atividade antioxidante dos materiais de núcleo isoladamente, bem como, quando incorporados nas microcápsulas;
- Estudar a liberação dos agentes encapsulados pelo método de Célula de Franz.

9. REFERÊNCIAS

- Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Resolução RDC nº 211 de 14/07/2005, 2005.
- ARORA, D.; RANI, A.; SHARMA, A. A review on phytochemistry and ethnopharmacological aspects of genus *Calendula*. **Pharmacognosy reviews**, v. 7, n. 14, p. 179, 2013.
- AZEREDO H. M. C. Encapsulação: aplicação à tecnologia de alimentos. **Embrapa**, v. 16 p. 89–97, 2005.
- BAREL, A.O.; PAYE, M.; MAIBACH, H. I. In: **Handbook of Cosmetics Science and Technology**. 4. ed. New York: Marcel Deckker, Inc., 2001. 904 p.
- BRATT, K.; SUNNERHEIM, K.; BRYNGELSSON, S. *et al.* Avenanthramides in oats (*Avena sativa* L.) and structure– antioxidant activity relationships. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 51, n. 3, p. 594-600, 2003.
- BUTSTRAEN, C. & SALAÜN, F. Preparation of microcapsules by complex coacervation of gum Arabic and chitosan. **Carbohydrate Polymers**, v.99, p. 608-616, 2014
- CAI, S.; HUANG, C., JI, B. *et al.* In vitro antioxidant activity and inhibitory effect, on oleic acid-induced hepatic steatosis, of fractions and subfractions from oat (*Avena sativa* L.) ethanol extract. **Food chemistry**, v. 124, n. 3, p. 900-905, 2011.
- CAMARGO INDUSTRIAL, Gestão de ativos industriais. Disponível em: [http://www.camargoindustrial.com.br/maquina-usada/?e=2+Envasadoras+Pack 643-654](http://www.camargoindustrial.com.br/maquina-usada/?e=2+Envasadoras+Pack+643-654)
Acesso em: 10 de novembro de 2017.
- CEBI, N.; DURAK, M.Z.; TOKER, O.S. *et al.*, An evaluation of Fourier transforms infrared spectroscopy method for the classification and discrimination of bovine, porcine and fish gelatins. **Food Chemistry**, v. 190, p. 1109-1115, 2016.
- COSTA, A. **Tratado internacional de cosmecêuticos**. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2012.
- DA SILVA, B.C.; DE OLIVEIRA, M.; FERREIRA, J.G.L. *et al.* Polyelectrolyte complexes from gum arabic and gelatin: Optimal complexation pH as a key parameter to obtain reproducible microcapsules. **Food Hydrocolloids**, v. 46, p. 201-207, 2015.
- DARWISH, M.A.; ABDULRAHIM, H.K.; HASSAN, A.S. *et al.* The forward osmosis and desalination. **Desalination and Water Treatment**, v. 57, p. 1-27, 2014.
- DE PAULA RAMOS, A.; PIMENTEL, L.C. Ação da Babosa no reparo tecidual e cicatrização/Effectiveness of Aloe vera on the tissue repair and healing process. **Brazilian Journal of Health**, v. 2, n. 1, 2013.
- DERWENSKUS, F. & HOLDMANN, C. Microalgae – Underestimated all-rounders. DOI: **10.1002/chemv.201500106**, 2016.
- DONG, Z.; MA, Y.; HAYAT, K.; JIA, C. *et al.* Morphology and release profile of microcapsules encapsulating peppermint oil by complex coacervation. **Journal of Food Engineering**, v. 104, n. 3, p. 455–460, 2011.

- DONG, C.; CAI, H.; ZHANG, X. et al. Synthesis and characterization of monodisperse copper nanoparticles using gum acácia. **Physica E**, v. 57, p. 12-20, 2014.
- DUBEY R.; SHAMI, T.C.; BHASKER RAO K. Microencapsulation technology and applications. **Defence Science Journal**, v. 59, p. 82-95, 2009.
- DUCONSEILLE, A.; ASTRUC, T.; QUINTANA, N. *et al.* Gelatin structure and composition linked to hard capsule dissolution: A review. **Food Hydrocolloids**, v.43, p. 360-376, 2015.
- EL ASBAHANI, A.; MILADI, K.; BADRI, W. *et al.* Essential oils: From extraction to encapsulation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 483, n. 1-2, p. 220-243, 2015.
- FERREIRA DA SILVA, T.; BARRETTO PENNA, A. L. Colágeno: Características químicas e propriedades funcionais. **Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso)**, v. 71, n. 3, p. 530-539, 2012.
- FERY, A.; DUBREUIL, F.; MÖHWALD, H. Mechanics of artificial microcapsules. **New Journal of Physics**, v. 6, p. 1-13, 2004.
- FREITAS, V. S.; RODRIGUES, R. A. F.; GASPI, F. O. G. Pharmacological activities of *Aloe vera* (L.) Burm. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 16, n. 2, p. 299-307, 2014.
- FUGUET, E.; PLATERINK, C.V.; JANSSEN, H. Analytical characterisation of glutardialdehyde cross-linking products in gelatine-gum arabic complex coacervates. **Analytica chimica acta**, v. 604, p. 45-53, 2007.
- GAO, C.; DONATH, E.; MOYA, S. et al. Elasticity of hollow polyelectrolyte capsules prepared by the layer-by-layer technique. **The European Physical Journal E**, v. 5, p. 21-27, 2001.
- GHÉDIRA, K. & GOETZ P. *Calendula officinalis* L. (Asteraceae): souci. **Phytothérapie**, v. 14, p. 62-67, 2016.
- GILLES, K. Advances in Packaging and Assembly Polymers. **Microelectronics International**, v. 13, p. 19-22, 1996.
- GIRARDI, N.S.; GARCIA, D.; PASSONE, M.A. *et al.* Microencapsulation of *Lippia turbinata* essential oil and its impact on peanut seed quality preservation. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 116, p. 227-233, 2017.
- GÓMEZ-GUILLÉN, M. C. GIMÉNEZ B.; LÓPEZ-CABALLERO, M.E. *et al.* Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. **Food hydrocolloids**, v. 25, n. 8, p. 1813-1827, 2011.
- GONÇALVES, A.; ESTEVINHO, B.N.; ROCHA, F. Microencapsulation of vitamin A: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 51, p. 76-87, 2016.
- GROSSO C.R.F.; ALVIM, I.D. Microparticles obtained by complex coacervation: influence of the type of reticulation and the drying process on the release of the core material. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, p. 1069-1076, 2010.
- GUIGNON, B.; DUQUENOY, A.; DUMOULIN, E. Fluid bed encapsulation of particles: Principles and practice. **Drying technology**, v. 20, p. 419-447, 2002.

HEISKANEN, H.; DENFIL, P.; MARKKU H.; *et al.* Effect of emulsification conditions on the properties of microspheres prepared by solvent extraction process. **Chem Eng. Technol.**, v. 33, p. 1635-1644, 2010.

HONARY, S.; ZAHIR, F. Effect of zeta potential on the properties of nano-drug delivery systems-a review (Part 1). **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 12, n. 2, p. 255-264, 2013.

JUN-XIA, X.; HAI-YAN, Y.; JIAN, Y. Microencapsulation of sweet orange oil by complex coacervation with soybean protein isolate / gum Arabic. **Food Chemistry**, v. 125, n. 4, p. 1267-1272, 2011.

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

KIZILAY, E.; KAYITMAZER, A.B.; DUBIN, P.L. Complexation and coacervation of polyelectrolytes with oppositely charged colloids. **Advances in colloid and interface science**, v. 167, n. 1, p. 24-37, 2011.

KURIOKASE, A.B.; SATHIREDDY, P.; PRIYA, S.P. A Review on Microcapsules. **Global Journal of Pharmacology**, v. 9, p. 28-39, 2015.

LI, Q. *et al.* Effects of processing conditions of poly (methacrylate) encapsulated liquid curing agent on the properties of self-healing composites. **Composites Part B: Engineering**, v. 49, p. 6-15, 2013.

LIAO, L.; ZHANG, W.; ZHAO Y.; LI, W. Preparation and Characterization of Microcapsules for Self-healing Materials. **Chem. Res. Chinese universities**, 2010.

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

MARTIN, C. A. *et al.* Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutrição**, 2006.

MATEO, C.; ABIAN, O.; BERNEDO, M. *et al.* Some special features of glyoxyl supports to immobilize proteins. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 37, n. 4, p. 456-462, 2005.

MILES, C.A.; AVERY, N.C.; RODIN, V.V.; *et al.* The Increase in Denaturation Temperature Following Cross-linking of Collagen is Caused by Dehydration of the Fibres **Journal of Molecular Biology**, v. 346, p.551-556, 2005.

MURRAY, G.T. **Handbook of Materials Selection for Engineering Applications: Mechanical Engineering** (Marcel Dekker Inc, New York), 1997.

MUYONGA, J.H.; COLE, C.G.B.; DUODU, K.G. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopic study of acid soluble collagen and gelatin from skins and bones of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*). **Food Chemistry**, v. 86, p. 325-332, 2004.

OKUMA, C. H. *et al.* Development of lamellar gel phase emulsion containing marigold oil (*Calendula officinalis*) as a potential modern wound dressing. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 71, p. 62-72, 2015.

PARENTE, L. M. L. *et al.* Aloe vera: características botânicas, fitoquímicas e terapêuticas. **Arte Méd Ampl**, v. 33, n. 4, p. 160-4, 2013.

PARENTE, L.M.L.; SILVA, M.S.B.; BRITO, L.A.B. *et al.* Efeito cicatrizante e atividade antibacteriana da *Calendula officinalis* L. cultivada no Brasil. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v. 11, p. 383-391, 2009.

PRATA, A.S.; ZANIN, H.A.; RE, M.I.; *et al.* Release properties of chemical and enzymatic crosslinked gelating-gum Arabic microparticles containing a fluorescent probe plus vetiver oil. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v.67, p.171-178, 2008.

PRIYADARSHANI, I. & RATH, B. Commercial and industrial applications of micro algae – A review. **Journal of Algal Biomass Utilization**, v. 3, n. 4, p. 89–100, 2012.

RAJAMANICKAM, R.; BAEK, S.; GWON, K. *et al.* Mechanical stimuli responsive and highly elastic biopolymer/nanoparticle hybrid microcapsules for controlled release. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 4, p. 4278-4286, 2016.

RÉ, M.I. Microencapsulation by spray drying. **Drying Technology**, v.16, p. 1195-1236, 1998.

REDDY, N.; REDDY, R.; JIANG, Q. Crosslinking biopolymers for biomedical applications. **Trends in Biotechnology**, v. 33, p. 362-369, 2015.

RUTZ, J.K.; BORGES, C.D.; ZAMBIAZI, R.C. *et al.*, Microencapsulation of palm oil by complex coacervation for application in food systems. **Food Chemistry**, v.220, p. 59-66, 2017.

SÁ, R.M.; DE FANCISCO, A.; SOARES, F.C.T. Composição química do cultivar de aveia (*Avena sativa* L) IAC 7 e influência do processamento térmico sobre suas características. **Brazilian Journal Food Technology**, v. 1, n. 1, p. 53-58, 1998.

SÁNCHEZ, F.M.; GARCÍA, F.; CALVO, P. *et al.* Optimization of broccoli microencapsulation process by complex coacervation using response surface methodology. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 34, p. 243-249, 2016.

SHARMA, S.; SHUKLA, P.; MISRA, A. *et al.* Interfacial and colloidal properties of emulsified systems: Pharmaceutical and biological perspective. In: **Colloid and Interface Science in Pharmaceutical Research and Development**. 2014. p. 149-172.

SILVA, C.; RIBEIRO, A.; FERREIRA, D.; *et al.* Administração oral de peptídeos e proteínas: II. Aplicação de métodos de microencapsulação. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 39, p. 1–20, 2003.

SILVA, V.M.; VIEIRA, G.S.; HUBINGER, M.D. Influence of different combinations of wall materials and homogenisation pressure on the microencapsulation of green coffee oil by spray drying. **Food Research International**, v. 61, p. 132–143, 2014.

SIOW & ONG. Effect of p on garlic oil encapsulation by complex coacervation. **Food Processing & Technology**, v. 4, p. 1-5, 2013.

SPOLAORE, P.; JOANNIS-CASSAN, C.; DURAN, E. *et al.* Commercial applications of microalgae. **Journal of bioscience and bioengineering**, v. 101, n. 2, p. 87-96, 2006.

STANKIEWICZ, E.H.; ANDRADE, L.F.; DOMINGUES, L.L. Levantamento ficológico do Rio Iguaçu, alga unicelulares - I. 1 ed. Curitiba: SURHEMA, 1981.

VEIGA, C.C.; SIMONI, R.C.; ALMEIDA, M.M.C. Microencapsulation of roasted coffee oil by complex coacervation with gelatin/gum arabic enzymatically crosslinked. **Brazilian Journal of Food Research**, v. 7, p. 156-172, 2016.

WANG, H.M.D.; CHEN, C.; HUYNH, P.; *et al.* Exploring the potential of using algae in cosmetics. **Bioresource Technology**, v. 184, p. 355–362, 2015.

YANG, Xun *et al.* Development and evaluation of novel microcapsules containing poppy-seed oil using complex coacervation. **Journal of Food Engineering**, v. 161, p. 87-93, 2015.

YUAN, L.; LIANG, G.; XIE, J.; *et al.* Synthesis and characterization of microencapsulated dicyclopentadiene with melamine-formaldehyde resins. **Colloid and Polymer Science**, v. 285, p. 781-791, 2006.

ZANETTI, F.L.P.; TOMÉ, F.M. **Estudo teórico a eficiência e vantagens da encapsulação de fármacos em Ciclodextrinas**. V Encontro Latino Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba, 2005.

ZHANG, K.; ZHANG, H.; XUECHAO, H. *et al.* Synthesis and release studies of microalgal oil-containing microcapsules prepared by complex coacervation. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 89, p. 61-66, 2012.

ZHOU, M.; ROBARDS, K.; GLENNIE-HOLMES; M. *et al.* Structure and pasting properties of oat starch. **Cereal Chemistry**, v.75, p. 273-281, 1998.