

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

ANA CRISTINA MARIOTT

**MICROENCAPSULAÇÃO DO CARVACROL NA MATRIZ DE GELATINA/GOMA
ARÁBICA RETICULADA COM TRANSGLUTAMINASE VIA COACERVAÇÃO
COMPLEXA**

FRANCISCO BELTRÃO

2021

ANA CRISTINA MARIOTT

**MICROENCAPSULAÇÃO DO CARVACROL NA MATRIZ DE GELATINA/GOMA
ARÁBICA RETICULADA COM TRANSGLUTAMINASE VIA COACERVAÇÃO
COMPLEXA**

**MICROENCAPSULATION OF CARVACROL IN THE MATRIX OF GELATIN/GUM
ARABIC RETICULATED WITH TRANSGLUTAMINASE OF COMPLEX
COACERVATION**

Trabalho de conclusão de curso de graduação
apresentada como requisito para obtenção do título
de Bacharel em Engenharia Química da Universidade
Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientadora: Ana Paula Romio.

Coorientadora: Michele Di Domenico.

FRANCISCO BELTRÃO

2021



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

Esta licença permite compartilhamento, remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, mesmo para fins comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es). Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

ANA CRISTINA MARIOTT

**MICROENCAPSULAÇÃO DO CARVACROL NA MATRIZ DE GELATINA/GOMA
ARÁBICA RETICULADA COM TRANSGLUTAMINASE VIA COACERVAÇÃO
COMPLEXA**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação
apresentado como requisito para obtenção do título
de Bacharel em Engenharia Química da Universidade
Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Data de aprovação: 10/Dezembro/2021

Ana Paula Romio
Doutora em Engenharia Química
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Michele Di Domenico
Doutora em Engenharia Química
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Tania Maria Cassol
Doutora em Química
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

“A folha de aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Curso”

FRANCISCO BELTRÃO

2021

Dedico este trabalho aos meus pais e a minha irmã,
que me incentivam e apoiam de maneira
incondicional.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço aos meus pais, por toda a motivação, empenho e sacrifício que fizeram e fazem todos os dias para que eu realize meus sonhos. A minha irmã pelo apoio, amizade e amor incondicional.

Agradeço a minha orientadora Prof.(a) Dr.(a) Ana Paula Romio, pela sabedoria com que me guiou nesta trajetória. A minha coorientadora Prof.(a) Dr.(a) Michele Di Domenico, pelo apoio e orientação.

Agradeço a banca examinadora pelos conselhos e aos professores que ajudaram no desenvolvimento desse projeto, em especial a Prof.(a) Dr.(a) Tania Maria Cassol e Prof. Dr. Claudio Novelo.

Agradeço ao meu namorado Guilherme pelo incentivo e companheirismo. Aos meus amigos, Andrini, Fátima, Karla, Mineli, Gersi, Larissa, Jaqueline e a todos os colegas que fizeram os dias da graduação serem mais leves.

Agradeço a CENTRAL DE ANÁLISES – UTFPR Campus Pato Branco, pela realização das análises de MEV, FTIR e TGA, contribuindo de maneira crucial com esta pesquisa.

Por fim, agradeço a Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), aos professores e servidores por me oportunizarem ensino de qualidade.

RESUMO

Diversos estudos identificaram o potencial de alto interesse bioativo no carvacrol. Entretanto, devido sua volatilidade, este se torna suscetível à degradação e à perda de suas características. Com o objetivo de contornar essas dificuldades e viabilizar a aplicação do carvacrol (CA), micro encapsulou-se o bioativo por coacervação complexa, revestindo as partículas com polímeros. Para esse processo escolheu-se de biopolímeros gelatina (GEL) e goma arábica (GA), como material de parede, e transglutaminase (TGL) com agente reticulante. Foram produzidas partículas com diferentes concentrações de carvacrol – 40% (2g CA), 50% (2,5g CA) e 60% (3g CA) p/p – em relação aos biopolímeros, com a finalidade de observar o comportamento do bioativo encapsulado. Avaliaram-se as micropartículas produzidas em concentrações diferentes de carvacrol, quanto à morfologia, estrutura química e resistência térmica. Quanto à morfologia, as amostras apresentaram estrutura esférica e melhor comportamento de produção na amostra de GA/GEL/2,5CA. O tamanho de partícula variou de acordo com o aumento de concentração de bioativo, em uma faixa de 468 a 608 μm . Contudo, a amostra GA/GEL/2,5CA apresentou distribuições mais largas de diâmetro. Todas as amostras apresentaram características químicas que identificam a presença do bioativo nas capsulas, contudo, a amostra GA/GEL/2,5CA apresentou maior intensidade de presença de carvacrol. Avaliando as partículas quanto à resistência térmica, verificou-se que a amostra GA/GEL/2,5CA apresentou melhor comportamento, aumentando a temperatura de início de degradação de 68,5°C (composto puro) para 130,7°C. Quando reticulada essa amostra, observou-se que a enzima transglutaminase retardou a degradação do carvacrol, em 20°C em relação à amostra sem reticulação.

Palavras-chave: coacervação complexa; carvacrol; goma arábica; gelatina.

ABSTRACT

Several studies have identified the potential for high bioactive interest in carvacrol. However, due to its volatility, it becomes susceptible to degradation and loss of its characteristics. In order to overcome these difficulties and make the application of carvacrol (CA) feasible, the bioactive was microencapsulated by complex coacervation, coating the particles with polymers. For this process, gelatin (GEL) and gum arabic (GA) biopolymers were chosen as wall materials and transglutaminase (TGL) as cross-linking agent. Particles with different levels of carvacrol - 40% (2g CA), 50% (2.5g CA) and 60% (3g CA) w/w - were produced in relation to the biopolymers, in order to observe the behavior of the encapsulated bioactive. The microparticles produced at different concentrations of carvacrol were evaluated for morphology, chemical structure and thermal resistance. Regarding morphology, the samples showed spherical structure and better production behavior in the GA/GEL/2.5CA sample. The particle size varied according to the increase in bioactive concentration, in a range of 468 to 608 μm . However, GA/GEL/2.5CA sample presented larger diameter distributions. All samples presented chemical characteristics that identify the presence of the bioactive in the capsules, however, the GA/GEL/2.5CA sample presented greater intensity of the existence of carvacrol. By evaluating the particles for thermal resistance, it was found that the sample GA/GEL/2.5CA showed better behavior, increasing the temperature at the beginning of degradation from 68.5°C (pure compound) to 130.7°C. When this sample cross-linked, it was observed that the transglutaminase enzyme slowed down the degradation of carvacrol by 20°C compared to the sample without cross-linking.

Keywords: complex coacervation; carvacrol; arabic gum; gelatin.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | |
|---|----|
| Figura 1 - Fórmula estrutural do Carvacrol e do Timol. | 16 |
| Figura 2 - Microcápsulas mononucleada (a) e multinucleada (b). | 19 |
| Figura 3 - Representação esquemática das etapas do processo de microencapsulação por coacervação. | 21 |
| Figura 4 - Micropartículas GA/GEL/CA liofilizadas | 30 |
| Figura 5 - Micrografias das microcápsulas GA/GEL/CA obtidas por MO | 32 |
| Figura 6 - Micrografias das microcápsulas obtidas através de MEV | 34 |
| Figura 7 - Micrografias das microcápsulas obtidas através de MEV. | 36 |
| Figura 8 - Avaliação de distribuição de diâmetro médio de partícula. | 37 |
| Figura 9 – Espectros de FTIR para carvacrol (CA), Gelatina (GE) e Goma Arábica (GA)..... | 38 |
| Figura 10 – Espectros de FTIR para carvacrol puro, microcápsulas com formulações GA/GLE/2CA, GA/GLE/2,5CA e GA/GLE/3CA..... | 39 |
| Figura 11 – Espectros de FTIR para Gelatina, microcápsulas sem reticulação (GA/GLE/2,5CA) e com reticulação (GA/GLE/2,5CA)..... | 41 |
| Figura 12 – TGA para gelatina (GLE), goma arábica (GA) e carvacrol (CA)..... | 42 |
| Figure 13 – TGA para (a) GA/GLE/2CA, (b) GA/GLE/2,5CA, (c) GA/GLE/3CA, (d) GA/GLE/2,5CA/TGL. | 43 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1- Concentração mínima inibitória do carvacrol | 17 |
| Tabela 2 - Principais métodos de microencapsulação. | 19 |
| Tabela 3 – Formulações empregadas na produção de microcápsulas de carvacrol. | 25 |
| Tabela 4 - Avaliação do diâmetro médio de partícula. | 37 |
| Tabela 5 – Bandas características em cm-1 das microcápsulas produzidas. | 40 |
| Tabela 6 – Estágios de decomposição térmica das microcápsulas de carvacrol em diferentes concentrações. | 43 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|------|---|
| ABNT | Associação Brasileira de Normas Técnicas |
| CA | Carvacrol |
| FTIR | Infravermelho por Transformada de Fourier |
| GA | Goma arábica |
| GEL | Gelatina |
| IPD | Índice de polidispersão |
| MEV | Microscopia Eletrônica de Varredura |
| MO | Microscopia Ótica |
| OEs | Óleos essenciais |
| TGA | Termogravimetria |
| TGL | Transglutaminase |

SUMÁRIO

| | | |
|----------------|--|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO | 12 |
| 2 | OBJETIVOS | 14 |
| 2.1 | Objetivo geral..... | 14 |
| 2.2 | Objetivos específicos..... | 14 |
| 3 | FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA | 15 |
| 3.1 | Óleos essenciais (OEs)..... | 15 |
| 3.1.1 | Carvacrol | 16 |
| 3.2 | Microencapsulação | 18 |
| 3.2.1 | Coacervação Complexa | 21 |
| 3.2.2 | Material de Parede | 22 |
| <u>3.2.2.1</u> | <u>Goma arábica</u> | <u>22</u> |
| <u>3.2.2.2</u> | <u>Gelatina</u> | <u>23</u> |
| 3.3 | Processo de reticulação | 23 |
| 4 | PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS..... | 25 |
| 4.1 | Materiais..... | 25 |
| 4.2 | Produção das microcápsulas..... | 25 |
| 4.3 | Preparo das microcápsulas..... | 25 |
| 4.4 | Caracterizações das microcápsulas..... | 27 |
| 4.4.1 | Análises de Caracterização das Micropartículas | 27 |
| 5 | RESULTADOS..... | 29 |
| 5.1 | Liofilização das amostras | 29 |
| 5.2 | Caracterização morfológica | 32 |
| 5.2.1 | Microscopia ótica (MO)..... | 32 |
| 5.2.2 | Microscopia eletrônica de varredura (MEV) | 34 |
| 5.3 | Determinação de tamanho de partícula..... | 36 |
| 5.4 | Espectroscopia na região do Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)..... | 38 |
| 5.5 | Análise térmica por Termogravimetria (TGA) | 42 |
| 6 | CONCLUSÃO | 46 |
| | REFERÊNCIAS..... | 47 |

1 INTRODUÇÃO

A busca por substituintes a aditivos sintéticos para aromatizar, conservar e aumentar a vida útil de produtos tem sido constante (ABBASZADEH *et al.*, 2014). Os óleos essenciais (OEs), como o carvacrol, têm surgido como alternativa, por apresentarem diversas propriedades benéficas (LIU *et al.*, 2017). Entretanto, a instabilidade apresentada por esse tipo de composto, quando exposto ao ambiente diretamente, dificulta sua aplicação e a manutenção de suas propriedades ativas (PEREIRA, 2018).

O carvacrol é um composto fenólico (D'AGOTINO *et al.*, 2019) encontrado em plantas da família Lamiaceae, sendo a mais conhecida *Origanum Vulgare*, popularmente chamada de Orégano. Diversos estudos identificaram o potencial de alto interesse bioativo no carvacrol, destacando-se as atividades como ação antioxidante, antibacteriana, antifúngica (HOMAYOUNI *et al.*, 2017) e anti-inflamatória (ALMEIDA, 2015). Entretanto, quando exposto a altas temperaturas, a luz, ao oxigênio, e devido sua volatilidade, este se torna suscetível à degradação e à perda de suas características. Outro fator limitante é a pungência e o seu odor acentuado (ALMEIDA, 2015) que dificultam a sua aplicação direta.

Uma alternativa para contornar essas dificuldades e viabilizar a aplicação do carvacrol, é a microencapsulação (ASBAHANI *et al.*, 2015). Essa técnica começou a ser desenvolvida ainda nos anos 30 e vem ganhando destaque nas últimas décadas (PRATA, 2006). A microencapsulação apresenta alta flexibilidade e pode ser aplicada a diversos segmentos industriais, como de alimentos (CHAMPAGNE *et al.*, 2007; ARENAS-JAL *et al.*, 2020), cosméticos (CASANOVA *et al.*, 2016; CARVALHO *et al.*, 2016) e produtos farmacêuticos (AGUERO *et al.*, 2017).

A microencapsulação consiste no revestimento de partículas, criando uma barreira física, chamada de parede – que protege e permite troca através de sua membrana – separando o núcleo do ambiente externo (ZHANG *et al.*, 2015). As cápsulas produzidas podem apresentar tamanhos entre 1 e 1000 µm, variando de acordo com a metodologia de encapsulação adotada, que pode ser obtida através do método físico, químico ou físico-químico (SOHAIL *et al.*, 2011; BARRETO *et al.*, 2015). A escolha do procedimento adequado de encapsulação varia de acordo com

as características do material de recheio, dos materiais de parede e do produto desejado (ASSUNÇÃO *et al.*, 2014; VANINSK *et al.*, 2014; TIMILSENA *et al.*, 2020).

Para compostos que apresentam características de hidrofobicidade e suscetibilidade a temperaturas elevadas, como o carvacrol, a metodologia de encapsulação por coacervação complexa, se apresenta como alternativa (SUNGANYA *et al.*, 2017). Essa técnica físico-química consiste na interação eletrostática entre os materiais de parede, geralmente polímeros, formando uma barreira que envolve o bioativo (BAKRY *et al.*, 2015).

Os materiais de parede podem ser de origem sintética ou natural (VANINSK *et al.*, 2017). Entretanto, há um crescente interesse no uso de produtos originários de fontes renováveis. Tem-se destacado nesse quesito o uso de biopolímeros, devido à sua biodegradabilidade e baixa toxicidade (BRITO *et al.*, 2011; ARAÚJO, 2011).

Destacam-se como biopolímeros, a gelatina e a goma arábica. Esses agentes encapsulantes são os mais utilizados para o método de coacervação (ALEXANDRE *et al.*, 2019; TIMILSENA *et al.*, 2020). Isso se deve ao fato da união de uma proteína (gelatina) a um carboidrato (goma-arábica), produzirem complexos mais estáveis (GALLO, 2019). Além disso, a junção desses polímeros confere aos coacervados resistência, estabilidade e a característica de liberação controlada. Entretanto, com a finalidade de aumentar a resistência das partículas, há a possibilidade do uso de enzimas, como a Transglutaminase, com a finalidade de reticular as microcápsulas (ALVIN *et al.*, 2010).

Dentro deste contexto, o objetivo deste trabalho de conclusão de curso é estudar e analisar o comportamento do carvacrol encapsulado, verificando sua estabilidade, bem como avaliar a eficiência do método coacervação complexa com reticulação enzimática da matriz biopolimérica, aplicado ao carvacrol.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Produzir e caracterizar microcápsulas de carvacrol utilizando como carreadores os biopolímeros Goma arábica (GA) e Gelatina (GEL).

2.2 Objetivos específicos

Como objetivos específicos deste trabalho, podem ser elencados:

- Encapsular o CA através da técnica de coacervação complexa utilizando como material de parede a goma arábica e a gelatina;
- Reticular as microcápsulas de GA/GEL utilizando a enzima Transglutaminase;
- Identificar a morfologia da micropartícula úmida através de Microscopia Ótica (MO);
- Avaliar o diâmetro médio e a morfologia das partículas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV);
- Avaliar a estabilidade térmica das micropartículas por Termogravimetria (TGA);
- Realizar análise de Espectroscopia de Infravermelho Médio com Transformada de Fourier (FTIR) das micropartículas.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Óleos essenciais (OEs)

Os óleos essenciais (OEs) são compostos originários de plantas, podendo ser extraídos das folhas, caules, flores, frutos, madeira e rizomas (SARTO *et al.*, 2014). Segundo o Regulamento técnico sobre aditivos aromatizantes - RDC Nº 2, DE 15 DE JANEIRO DE 2007 - podem ser considerados como óleos essenciais produtos obtidos por mecanismos físicos, que sejam voláteis e de origem vegetal. Eles podem ser isolados, misturados entre si, desterpenados ou concentrados (ANVISA, 2007).

Cerca de 30 mil plantas no mundo são usadas para a extração de aproximadamente 150 tipos de óleos (D'AGOSTINO *et al.*, 2019). O Brasil é o quarto maior produtor mundial desses produtos (BIZZO *et al.*, 2009), sendo os principais consumidores as indústrias alimentícias, farmacêutica, cosmética e de produtos sanitários (BAKKALI *et al.*, 2008).

Nos últimos anos, houve um crescente interesse sobre OEs como alternativa para substituição de aditivos sintéticos. Um dos grandes motivos é de que as substâncias artificiais possuem diversas restrições, devido aos efeitos danosos causados aos seres humanos (carcinomas, teratogenia, toxicidade residual) (ABBASZADEH *et al.*, 2014), bem como a resistência desenvolvida por microrganismos patógenos.

Uma das vantagens da utilização de óleos essenciais é a sua baixa toxicidade, comparada a aditivos sintéticos. Segundo Liu *et al.* (2017), as substâncias naturais apresentam características biodegradáveis, bem como, maior tolerância do corpo humano, gerando danos menos invasivos (SILVA *et al.*, 2009). Com isso, pode-se ter uma maior aceitação da aplicação e a viabilização por órgãos de fiscalização sanitária e de saúde (KADAN *et al.*, 2013).

A composição química desses óleos varia devido às ações climáticas, idade das plantas e ação de predadores (NETO *et al.*, 2007). Os compostos presentes nesses vegetais exibem características interessantes principalmente para atividades microbianas (MOUREY *et al.*, 2002; ALMEIDA *et al.*, 2015) e antioxidantes

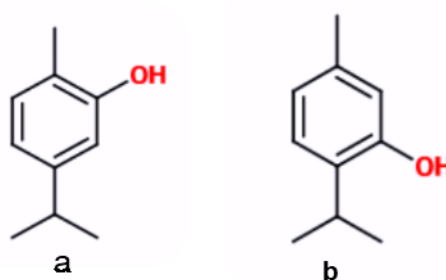
(RUBERTO *et al.*, 2000). Isso está ligado diretamente ao metabolismo secundário, onde se encontram os OEs, que conferem mecanismos de defesa as plantas (LIMA *et al.*, 2006).

3.1.1 Carvacrol

O carvacrol está presente em óleos essenciais originários da família de plantas *Lamiceai*. Ele é encontrado majoritariamente no *Origanum Vulgare*, conhecido como orégano, constituindo 73,9% do óleo (POMBO *et al.*, 2018), usado por muitas gerações como condimento e na medicina popular (COSTA *et al.*, 2009).

Composto por monoterpenos fenólicos, o carvacrol (5-isopropil-2-metifenol), é um isômero do Timol (D'AGOSTINO *et al.*, 2019), como pode ser visto na Figura 1. Este possui fórmula molecular $C_{10}H_{14}O$, massa molar de 150,217 g/mol, densidade de 0,83 g/L a 25° C (SOW *et al.*, 2017), apresenta coloração amarelada e característica líquida em temperatura ambiente. Ainda, tem por característica odor acentuado e pungência (ALMEIDA, 2015), bem como baixa solubilidade em água (NEVES, 2009).

Figura 1 - Fórmula estrutural do Carvacrol e do Timol.



Fonte: eMolecules (2020).

Legenda: Carvacrol (a), Timol (b).

Estudos têm demonstrado amplamente os potenciais bioativos do carvacrol, como comprovada atividade antioxidante, antibacteriana, antifúngica, antiparasitária (HOMAYOUNI *et al.*, 2017), inseticida (ANDERSON *et al.*, 2012), anticarcinogênica e anti-inflamatória (ALMEIDA, 2015). Segundo a ANVISA, bioativos, são substâncias que dispõem de nutrientes, ou não nutrientes, que possuem ação metabólica ou fisiológica específica (RESOLUÇÃO-RDC Nº 2, DE 7 DE JANEIRO DE 2002).

Segundo Cho *et al.* (2020), o carvacrol apresenta potencial inibitório sobre seis principais bactérias: *Escherichia Coli*, *Escherichia Coli O157:H7*, *Salmonella Typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus Aureus*, *Bacillus Cereus*. Essas bactérias se destacam por serem patógenos alimentares. De acordo com Carvalho *et al.* (2016), o carvacrol age nas bactérias, interferindo na bicamada fosfolipídica, no sistema enzimático e no controle quiosmótico levando à morte bacteriana. A concentração mínima inibitória do bioativo carvacrol sobre essas bactérias (CHO *et al.*, 2020) é apresentada na Tabela 1.

Tabela 1- Concentração mínima inibitória do carvacrol

| Microrganismo | Concentração Mínima Inibitória (µL/mL) |
|---------------------------------|---|
| <i>Escherichia Coli</i> | 0,225-0,4 |
| <i>Escherichia Coli O157:H7</i> | 3 |
| <i>Salmonella Typhimurium</i> | 0,225-0,25 |
| <i>Listeria monocytogenes</i> | 0,375-5 |
| <i>Staphylococcus Aureus</i> | 0,175-0,45 |
| <i>Bacillus Cereus</i> | 0,1875-0,9 |

Fonte: Adaptado de Cho *et al.* (2020).

Em fungos, o carvacrol atua desorganizando, despolarizando a membrana plasmática e estressando o retículo endoplasmático da célula (AHMAD *et al.*, 2014; CHAILLOT *et al.*, 2015). Estudos identificaram um potencial efeito antifúngico contra *Aspergillus (niger, fumigatus, flavus, ochraceus)*, *Alternaria alternata*, *Botrytis cinérea*, *Cladosporium spp.*, *Penicillium (citrinum, chrysogenum)*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizopus oryzae*, causadores de patologias que deterioram alimentos. A concentração mínima inibitória encontrada em estudos para esses fungos possui um valor médio de 154,5 µg/mL (ABBASZADEH *et al.*, 2014).

Em casos de atividades inflamatórias, estudos identificaram para o carvacrol um resultado atenuante a esses processos. Segundo Hotta *et al.* (2010), o bioativo apresenta efeitos de supressão sobre a enzima COX⁻², que é responsável por desencadear inflamações. Também exerce ação reguladora, ao inibir a formação de citocinas que desenvolvem processos inflamatórios (GUIMARÃES *et al.*, 2012) e reduz a produção de agentes inflamatórios (LIMA *et al.*, 2013).

Segundo Lovison (2017), a atividade antioxidante do carvacrol, se deve ao fato de sua estrutura química apresentar uma hidroxila, que age sobre os radicais livres que causam estresse oxidativo. De acordo com Stanojèvic *et al.* (2016), utilizou-se uma concentração de 0,326 mg/mL de óleo contendo o agente ativo, para a redução de 50% de radicais, indicando ser uma boa fonte de antioxidante. Segundo Bakir *et al.* (2015) o carvacrol atua como potente e seguro fármaco antioxidante.

Entretanto, a sensibilidade do carvacrol perante aos fatores ambientais externos (luz, aquecimento, oxigênio e volatilização) causa sua degradação rápida, caso não haja proteção (PEREIRA, 2018), dificultando sua aplicação direta. Segundo Asbahani *et al.* (2015), a encapsulação pode ser uma técnica viável para garantir a estabilidade e proteção do bioativo, prolongando sua efetividade, além de permitir a liberação controlada.

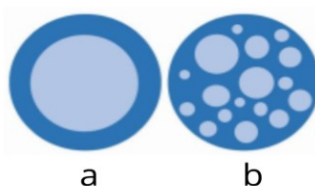
3.2 Microencapsulação

O conceito de microencapsulação advém do modelo celular, na qual se observa um núcleo protegido por uma membrana permeável (PRATA, 2006). Essa técnica é definida como um mecanismo no qual pequenas partículas - líquidas sólidas ou gasosas - são revestidas, estabelecendo um obstáculo físico entre o material de interesse e o meio externo (ZHANG *et al.*, 2015). Segundo Bakry *et al.* (2015), também pode ser definida como a construção de uma barreira funcional que evita perdas das propriedades biológicas e funcionais do material encapsulado.

O uso dessa técnica tem se expandido ao longo dos anos em aplicações nas indústrias de alimentos (CHAMPAGNE *et al.*, 2007; ARENAS-JAL *et al.*, 2020), cosméticas (CASANOVA *et al.*, 2016; CARVALHO *et al.*, 2016), farmacêuticas (AGUERO *et al.*, 2017) e têxtil (RODRIGUES *et al.* 2009). Isso se deve aos inúmeros benefícios da microencapsulação, como estabilidade do ativo encapsulado (ROCHA *et al.* 2012; AIZPURUA-OLAIZOLA *et al.*, 2016), mascaramento de propriedades indesejadas do ativo, como odor, cor e sabor (LAOKULDILOK *et al.*, 2016), possibilidade de direcionamento e controle sobre a liberação do ativo (FANG *et al.*, 2010), e, aumento do tempo de atividade das propriedades biológicas do ativo (CALVO *et al.*, 2011).

As microcápsulas são constituídas do material de núcleo e uma membrana chamada de parede. Essa barreira determina a estabilidade da partícula bem como o grau de proteção (BAKRY *et al.*, 2015) e o controle da difusão do princípio ativo (MOREIRA, 2014). Ainda, pode ser encontrada como microcápsula mononuclear ou multinuclear, como pode ser visto na Figura 2, sendo dividida em parede ou matriz polimérica e material de recheio. Essas características estão condicionadas ao material de parede e técnica de encapsulação utilizada.

Figura 2 - Microcápsulas mononucleada (a) e multinucleada (b).



Fonte: Adaptado de Arenas-Jal (2020).

O tamanho das microcápsulas se encontra entre 1 e 1000 μm (UMER *et al.*, 2011; SUNGANYA *et al.*, 2017; OZKAN *et al.*, 2019), variando de acordo com o processo de produção. Os processos de encapsulação podem ser divididos em três grupos, classificados como físico, químico e físico-químico (SOHAIL *et al.* 2011; BARRETO *et al.* 2015). Os principais métodos podem ser vistos na Tabela 2.

Tabela 2 - Principais métodos de microencapsulação.

| Tipo de método | Método de microencapsulação | Tamanho da partícula (μm) |
|-----------------------|-----------------------------|--|
| Físico | <i>Spray Dryng</i> | 5-150 (FAVARO-TRINDADE <i>et al.</i> , 2008; OZCAN <i>et al.</i> , 2019) |
| | Leito fluidizado | >100 (FÁVARO-TRINDADE <i>et al.</i> 2008) |
| | Liofilização | 1-1000 (OZCAN <i>et al.</i> , 2019) |
| Químico | Polimerização Interfacial | 1-500 (FÁVARO-TRINDADE <i>et al.</i> , 2008) |
| | Inclusão Molecular | 5-50 (FÁVARO-TRINDADE <i>et al.</i> , 2008) |
| | Gelificação iônica | 261-287 (SILVERIO <i>et al.</i> , 2018) |
| Físico-Químico | Coacervação Simples | 20-500 (FÁVARO-TRINDADE <i>et al.</i> , 2008) |
| | Coacervação Complexa | 5-500 (TRINO <i>et al.</i> , 2012) |

Fonte: Próprio autor (2020).

A escolha do sistema adequado para o desenvolvimento das microcápsulas deve ser definida pela avaliação da estabilidade e a natureza do material ativo encapsulado, bem como o agente encapsulante (ASSUNÇÃO *et al.*, 2014; VANINSK *et al.*, 2017) e as características desejadas no produto (TIMILSENA *et al.*, 2020).

Para o carvacrol, segundo Barauskaite *et al.* (2019), o emprego das tecnologias de microencapsulação, são importantes devido à possibilidade de mascarar seu odor e sabor desagradável, bem como de proteger da umidade, oxidação, temperatura e impedir sua volatilização.

Na literatura, o método mais utilizado para produzir microcápsulas de carvacrol se refere à técnica de *spray drying*, com interesse antimicrobiano (FERNANDES *et al.*, 2018; PARTHENIADIS *et al.*, 2019). Entretanto, essa técnica apresenta algumas limitações, pois utiliza temperaturas altas podendo degradar o composto (SUNGANYA *et al.*, 2017) que possui baixa estabilidade térmica. De acordo com Barauskaite *et al.* (2017), a produção de micropartículas de carvacrol por *spray drying* apresenta baixo rendimento e problemas na eficiência de encapsulação.

Uma alternativa para contornar esse problema pode ser o uso da técnica de coacervação complexa. Segundo Sunganya *et al.* (2017), esse método apresenta vantagens para encapsular agentes que possuem suscetibilidade a temperaturas elevadas, devido sua metodologia. Entretanto, essa tecnologia ainda é pouco estudada para o carvacrol.

De acordo com a plataforma de base de dados de literatura *Scopus* (2020), há um artigo científico, datado do ano de 2016, que relaciona o carvacrol a coacervação complexa. Essa pesquisa avaliou o potencial antimicrobiano do carvacrol encapsulado (MOREIRA *et al.*, 2016). Segundo Moreira *et al.* (2016), foi utilizado como material de cobertura o polímero poli (ácido láctico-co-ácido glicólico) (PLGA), em combinação com o surfactante Tergitol. Obtiveram-se partículas com tamanho entre 44,8 e 48,6 nm.

A plataforma *Science Direct* (2020), relata um artigo científico associado ao carvacrol publicado no ano de 2020, no qual são avaliadas as propriedades do ativo encapsulado por coacervação complexa e secado por atomização (HERNÁNDEZ-NAVA *et al.*, 2019). Segundo Hernández-nava *et al.* (2019), realizou-se a comparação de dois sistemas encapsulantes, o de gelatina/goma-arábica e o de

gelatina/mucilagem de chia. Para verificar a estabilidade, foram analisadas duas concentrações de carvacrol, 5 e 7,5% m/m, além da inserção de surfactante *Tween 80* no sistema. De acordo com o estudo, as quantidades de óleo e dos materiais de cobertura influenciaram na formação das cápsulas, na estabilidade e tamanho de partícula.

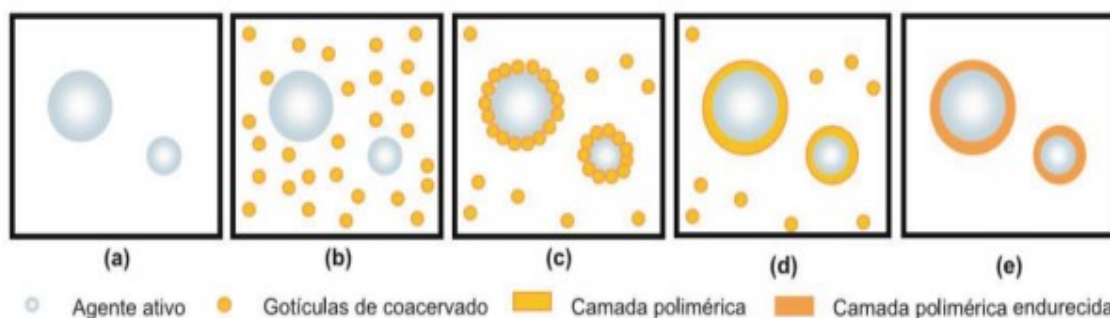
3.2.1 Coacervação Complexa

A técnica da coacervação complexa é aplicada principalmente a substâncias que apresentam características hidrofóbicas (ALVIM *et al.*, 2010) e lipofílicas (JUSTI *et al.*, 2017). As aplicações da coacervação complexa se destacam principalmente nas áreas de alimentos, farmácia e cosmética (ARAÚJO, 2011).

O mecanismo de encapsulação por coacervação complexa consiste em um fenômeno físico-químico, no qual há uma separação de fases devido à interação de eletrólitos de cargas opostas (BAKRY *et al.*, 2015). Esse processo é influenciado pelo pH, força eletrostática e força iônica (ARAÚJO, 2011; COMUNIAN *et al.*, 2016).

A coacervação baseia-se na formação de um sistema imiscível de três fases, composto pelo solvente, material de parede e material de recheio (PRATA, 2006; ARAÚJO, 2011). Por conseguinte, há a deposição do material polimérico - devido à interação eletrostática - sobre a espécie coloidal (gotículas óleo), formando a cobertura. Por fim, ocorre a solidificação da cobertura do coacervado (AZEREDO 2015; ARANHA, 2015; BARKY *et al.*, 2016), como pode ser visto na Figura 3.

Figura 3 - Representação esquemática das etapas do processo de microencapsulação por coacervação.



Fonte: SUAVE (2006).

As cápsulas produzidas por coacervação complexa quando comparada a outros métodos apresentam boa estabilidade, baixa contenção de óleo em sua superfície, bem como resistência ao calor, difusividade controlada e alta eficiência de encapsulação (BAKRY *et al.*, 2015; KAUSHIL *et al.*, 2015; ALEXANDRE *et al.*, 2019). Outra característica da coacervação complexa é de que sua produção é livre de solventes tóxicos, além disso, sua metodologia é fácil podendo ser produzida industrialmente (BAKRY *et al.*, 2015; SILVA *et al.*, 2019).

3.2.2 Material de Parede

O material de parede é constituído de polímeros, podendo ser sintéticos ou naturais (VANINSK *et al.*, 2017). Geralmente se emprega uma proteína e um carboidrato, pois produzem complexos mais estáveis (GALLO, 2019). A proteína é o polímero carregado positivamente e o polissacarídeo negativamente.

A escolha do material de parede é um fator importante, pois ela exerce influência sobre a eficiência e estabilidade da partícula, bem como a proteção e a entrega do princípio ativo (SILVA, 2019). De acordo com Sobrinho *et al.*, (2012) e Silva *et al.*, (2014) o material de parede deve apresentar características como não reatividade com o recheio, capacidade de prender e selar o ativo dentro de sua estrutura, proteção contra adversidades externas, liberação controlada nas condições requeridas e viabilidade econômica.

Os biopolímeros, atualmente, tem se destacado como boas alternativas como materiais de parede, pois são oriundos de fontes renováveis, apresentam boa biodegradabilidade (BRITO *et al.*, 2011) e possuem pouca ou nenhuma toxicidade (ARAÚJO, 2011). A combinação mais identificada na literatura, que apresenta eficácia para o processo de coacervação com biopolímeros, são a goma arábica e gelatina (ALEXANDRE *et al.* 2019; TIMILSENA *et al.* 2020).

3.2.2.1 Goma arábica

A goma arábica é uma resina natural extraída da planta *Acácia Senegal*, originária da África subsaariana, composto por polissacarídeos e glicoproteínas

(ROSA, 2019). Possui características insípida, inodora, solúvel em água, baixa higroscopicidade e boas propriedades emulsificantes (AZEREDO, 2015). Apresenta estabilidade em meios ácidos (SOBRINHO *et al.*, 2012), e em pH superior a 2,2 exibe carga negativa (PRATA, 2006; AZAREDO, 2015;)

A parte proteica da goma arábica é a responsável pela sua característica emulsificante, que a torna adequada para a microencapsulação (VANINSK *et al.*, 2017; PRATA, 2006). Esse complexo de proteína confere estabilidade em longo prazo a emulsões do tipo óleo-água (ROSA, 2019), pois forma um filme a em torno das gotas de óleo (PRATA, 2006).

3.2.2.2 Gelatina

A gelatina é um hidrocolóide de origem animal, podendo ser obtido dos ossos e peles de bovinos, suínos (PRATA, 2006) e peixes (ALEXANDRE *et al.*, 2019). Ela é uma proteína de alto peso molecular (VANINSK *et al.*, 2017) e provém do colágeno, sendo uma das mais utilizadas em processos de encapsulação. Possui propriedades emulsificantes e de formação de gel (MARFIL *et al.*, 2016; PRATA, 2006), propriedades anfifílicas, além de biocompatibilidade e biodegradabilidade (SILVA, 2019).

As características da gelatina estão associadas a fatores como temperatura, pH e classe (BUREY *et al.*, 2008). A gelatina possui propriedade anfótera, ou seja, depende do meio no qual está inserida para adquirir carga positiva ou negativa (GALLO, 2019). Ainda, tem características catiônicas com pH abaixo do ponto isoelétrico e aniônicas acima do ponto isoelétrico (COMUNIAN *et al.*, 2016). Na gelatina tipo “A”, o ponto isoelétrico se encontra entre pH 7 e 9,5, e a tipo “B” possui ponto isoelétrico entre 4,5 e 5,5 (MARFIL *et al.*, 2016).

3.3 Processo de reticulação

As partículas produzidas por coacervação complexa apresentam fragilidade térmica e mecânica (ALEXANDRE *et al.*, 2019). Para contornar esses obstáculos, há a possibilidade de fortalecer as paredes das cápsulas e melhorar as suas propriedades reológicas através da reticulação (CHEN *et al.*, 2012; ANVARI *et al.*,

2016). Esse enrijecimento na parede polimérica pode ser obtido através da reticulação enzimática utilizando a enzima Transglutaminase.

Essa enzima age em proteínas através de uma reação catalítica de acil-transferência entre grupos carboxiamídicos, resíduos peptídicos e aminas primárias (CELLIS, 2009). Essa reação promove a formação da ϵ - (γ -glutamil) lisina, que causa o aumento de ligações intra e intermoleculares acrescentando a resistência da matriz polimérica (ALVIN *et al.*, 2010).

Entretanto a eficiência da reticulação depende das condições de temperatura em que a transglutaminase é trabalhada. Segundo Carvalho *et al.* 2006, a malha formada pela reticulação, apresenta maior resistência quando aplicada a 50°C. A partir dessas características, além de conferir maior rigidez à partícula encapsulada, a transglutaminase, permite agregar melhorias de aparência e textura, bem como aumento de vida de prateleira do produto.

4 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

4.1 Materiais

Para a preparação das microcápsulas, usou-se goma arábica (GA), adquirida da Sigma Aldrich, Brasil - LTDA e a gelatina tipo A (250 Bloom) (GEL) do fabricante Gelita (Brasil, LTDA). O composto bioativo Carvacrol (CA) foi adquirido da Sigma-Aldrich (Brasil, LTDA) com grau de pureza > 98% e peso molecular 150,22 g/mol. Como agente reticulante empregou-se a Transglutaminase (100 unidades/g proteína) da ACTIVA GS, AJINOMOTO.

4.2 Produção das microcápsulas

As micropartículas foram produzidas com a finalidade de encapsular diferentes concentrações de carvacrol, pela metodologia de coacervação complexa, e comparar o comportamento quanto a propriedades químicas, térmicas e morfológicas. A Tabela 3 apresenta as formulações, bem como a nomenclatura utilizada para as amostras. As proporções de polímeros foram determinadas de acordo com o encontrado na literatura (PRATA, 2006; ALVIM *et al*, 2010; ROCHA *et al*. 2012).

Tabela 3 – Formulações empregadas na produção de microcápsulas de carvacrol.

| Formulação | Carvacrol (g) | Gelatina (g) | Goma arábica (g) | Transglutaminase (g) |
|------------------|---------------|--------------|------------------|----------------------|
| GA/GEL/2CA | 2,0 | 2,5 | 2,5 | - |
| GA/GEL/2,5CA | 2,5 | 2,5 | 2,5 | - |
| GA/GEL/3CA | 3,0 | 2,5 | 2,5 | - |
| GA/GEL/2,5CA/TGL | 2,5 | 2,5 | 2,5 | 2,5 |

Fonte: Autoria própria (2021).

4.3 Preparo das microcápsulas

A técnica para produção das microcápsulas que foi utilizada é a de coacervação complexa, seguindo a metodologia com parâmetros descritos por Veiga

(2014), com algumas modificações. Foram produzidas partículas com diferentes concentrações de carvacrol: 40, 50 e 60% p/p – em relação aos biopolímeros, com a finalidade de observar o comportamento do bioativo encapsulado.

Inicialmente, 2,5 g de gelatina tipo A e 2,5 g de goma arábica, foram solubilizadas separadamente em 100 mL de água destilada e agitadas à temperatura ambiente por 24 h, em agitador magnético (modelo HJ-5, EVEN). Em seguida, as soluções foram submetidas ao aquecimento em 50°C, por 20 min, para sua gelificação. Na solução de gelatina, foi adicionada a concentração desejada de carvacrol. A mistura então foi levada a agitação mecânica (modelo AM-20, GEHAKA) em rotação constante (630 rpm) por cerca de 10 min. Em seguida, a solução gelatina/óleo foi emulsionada por 4 min, com auxílio do Ultra Turrax (modelo D-500, DRAGON LAB) no nível 3 de rotação, sendo o nível máximo do equipamento 5 (25.000 RPM) .

Na microemulsão formada foi adicionada a solução de goma arábica juntamente com 400 mL de água destilada, na temperatura de 50°C. A micro emulsão foi mantida sob agitação branda e aquecimento em banho-maria (50°C) por 10 min. Após esta etapa, foi reduzido o pH da mistura até atingir 4,0 – valor esse determinado através de ensaio de turvamento – com adição de uma solução de ácido clorídrico (HCl) 0,5 mol/L. Em seguida, as micropartículas em solução passaram por um processo lento de resfriamento até atingir 10°C, para sua solidificação.

Para o procedimento de reticulação das partículas, a temperatura da solução foi alterada para 25°C. Ao atingir a temperatura ideal para ação da enzima reticulante, adicionou-se 2,5 g de Transglutaminase, seguindo a metodologia descrita por Prata (2006). A agitação foi mantida por aproximadamente 24 h. Posteriormente, as microcápsulas foram separadas e lavadas com água destilada.

Após esse processo, para a realização de análise de Espectroscopia de Infravermelho Médio com Transformada de Fourier (FTIR), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Termogravimetria (TGA), uma parcela das amostras foi liofilizada (EDWARDS – RV 8) e então acondicionada em frascos com tampa e mantidas a 4°C em ambiente de iluminação reduzida e controlada. As partículas não liofilizadas foram acondicionadas em frascos em ambiente de temperatura controlada, e utilizadas para a realização da caracterização morfológica.

4.4 Caracterizações das microcápsulas

Para a fase de caracterização das microcápsulas foram realizadas análises químicas, térmicas e morfológicas com o intuito de avaliar as características das amostras puras de gelatina(GEL), goma arábica (GA), carvacrol (CA) e das partículas produzidas nas seguintes formulações GA/GEL/2CA, GA/GEL/2,5CA, GA/GEL/3CA e GA/GEL/2,5CA/TGL .

4.4.1 Análises de Caracterização das Micropartículas

A análise da estabilidade térmica das micropartículas foi realizada pelo medidor analítico SDT Q-600 (TA Instruments, EUA). Forão pesadas entre 9 e 10 mg de cada amostra em recipientes de platina e ensaiadas em rampa térmica de 30 até 700 °C, com razão de aquecimento de 10 °C/min. As medidas foram realizadas sob fluxo de nitrogênio na vazão constante de 80 mL/min.

Realizou-se com auxílio da microscopia óptica (MO) e por microscopia eletrônica de varredura (MEV), a análise morfológica das micropartículas. Para a apreciação por microscopia óptica, as partículas úmidas foram depositadas em lâminas e analisadas usando microscópio (LEICA – DM500). Para análise de MEV, as amostras de microcápsulas foram previamente liofilizadas, e submetidas posteriormente ao microscópio eletrônico de varredura, sob voltagem de 2,5 sob voltagem de 2,5 kV MEV. O diâmetro médio das partículas foi determinado com o auxílio de software *ImageJ*, analisando as imagens obtidas por MEV, avaliando 100 capsulas de cada formulação. O índice de polidispersão (IPD), foi determinado através da equação 1.

$$IPD = (\sigma^2/d^2) \quad (\text{equação 1})$$

Onde:

d - Diâmetro médio das microcápsulas (μm);

σ - Desvio padrão das medidas de diâmetro médio (μm).

Os espectros de infravermelho das micropartículas foram realizados em Espectrofotômetro Frontier da Perkin Elmer. Um total de 32 varreduras foram realizadas na resolução de 4 cm e as medições registradas entre 4000 e 800 cm com a finalidade de elucidar as estruturas químicas presentes nas micropartículas. Para fins comparativos, foram realizadas análises dos compostos puros (GA, GEL e CA).

5 RESULTADOS

5.1 Liofilização das amostras

Após a produção das micropartículas, submeteram-se a processo de liofilização com a finalidade de obter amostras secas. Observam-se na Figura 4, as partículas liofilizadas, na qual pode se identificar algumas características que as diferem. As formulações GA/GEL/2CA, Figura 4(a) e GA/GEL/3CA Figura 4(c) apresentam conglomerados de partículas, diferente do que visto é observado em GA/GEL/2,5CA 4(b). Contudo, na amostra reticulada, Figura 4(d), percebe-se a formação de um material sem conformidade definida, indicando que a reação da enzima com os polímeros pode ter alterado a densidade das partículas (PRATA, 2006).

Figura 4 - Micropartículas GA/GEL/CA liofilizadas



(a) GA/GEL/2CA



(b) GA/GEL/2,5CA



(c) GA/GEL/3CA



(d) GA/GEL/2,5CA/TGL

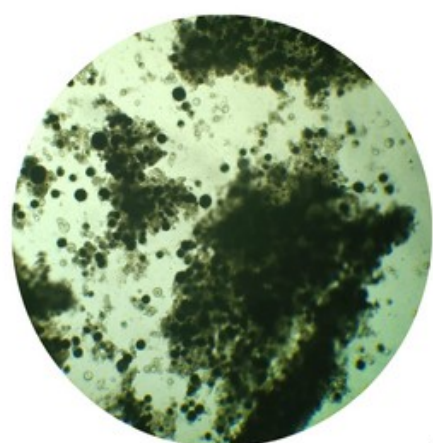
Fonte: autoria própria (2021).

5.2 Caracterização morfológica

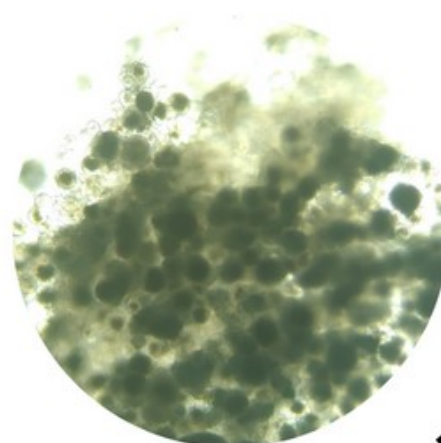
5.2.1 Microscopia ótica (MO)

Na Figura 5 são apresentadas as imagens obtidas através de microscopia ótica, das microcápsulas GA/GEL com diferentes concentrações de carvacrol, avaliadas ainda úmidas.

Figura 5 - Micrografias das microcápsulas GA/GEL/CA obtidas por MO

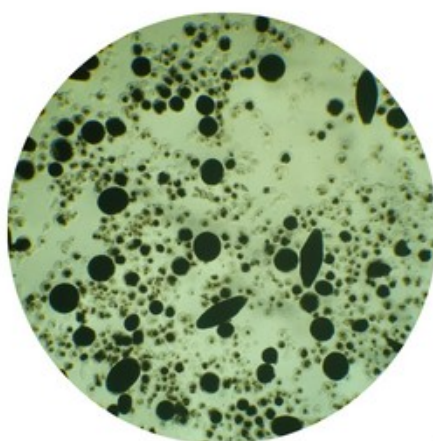


4X

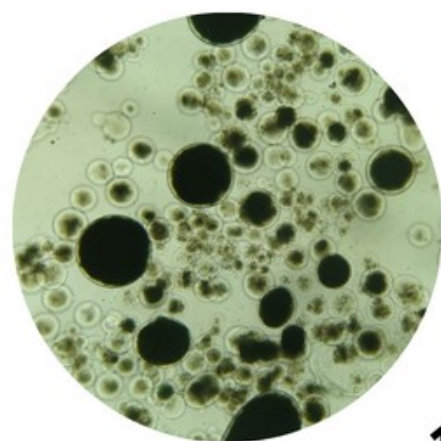


10X

(a) GA/GEL/2CA

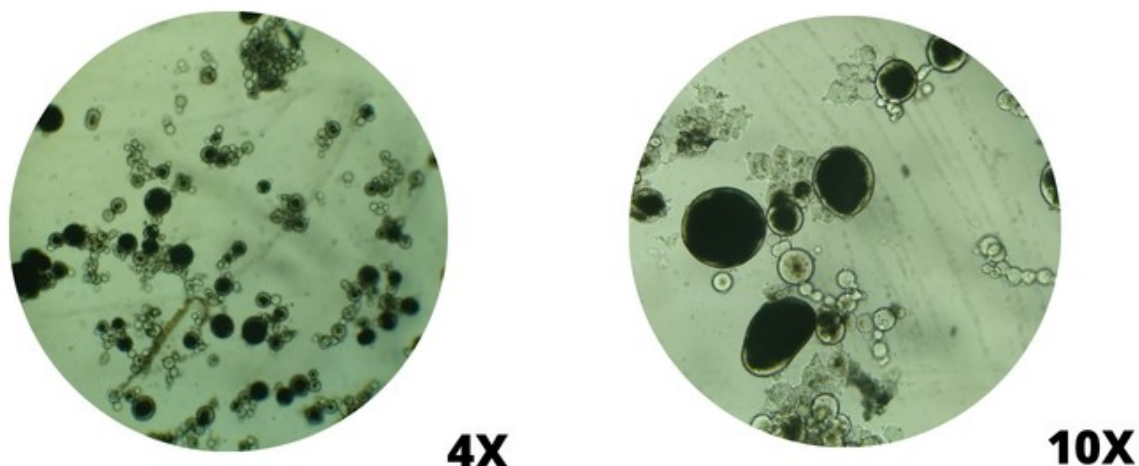


4X



10X

(b) GA/GEL/2,5CA



(c) GA/GEL/3CA

Fonte: Autoria própria (2021).

Percebe-se a formação predominante de estruturas esféricas, nas amostras, entretanto, observa-se que com o aumento da concentração de CA, ocorre uma leve desuniformidade na esfericidade da partícula. Comunian *et al.* (2013), não obteve alterações morfológicas ao aumentar a proporção de recheio, de uma proporção de 0,5:1 para 1:1. Entretanto Rocha-Selmi (2013), identificou esse comportamento ao encapsular aspartame, usando níveis de material de recheio superiores ao material de parede. Com isso, nota-se que o aumento gradativo concentração de bioativo pode levar a alterações na conformação da cápsula, o que é esperado já que esse aumento na proporção de óleo/polímero reduz a espessura da parede da microcápsula.

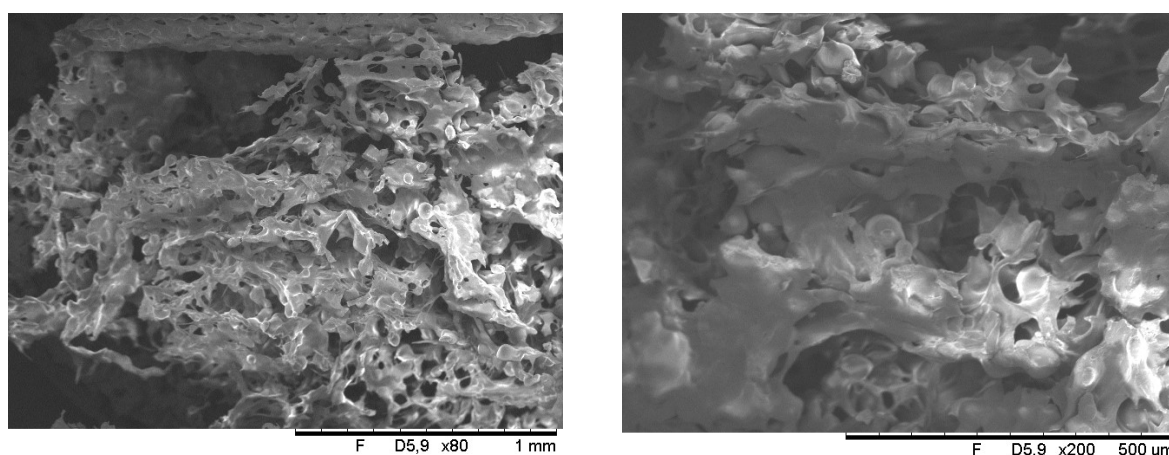
O material de parede se apresenta transparente, permitindo visualizar o recheio em seu interior distribuído de forma mononucleada em sua maioria, com uma coloração mais escura. Para amostra GA/GEL/2CA, verifica-se a formação de aglomerados de partículas e material de parede disponível na superfície das microcápsulas, identificadas também no trabalho de Hernández-Nava *et al.* (2019). Essa amostra se apresenta monodispersa e com diâmetro de partícula mais uniforme e menor, quando comparado com as amostras GA/GEL/2,5CA e GA/GEL/3CA, que de acordo com a razão de núcleo e material de parede teve aumento de diâmetro e polidispersão de partícula. Hernández-Nava *et al.* (2019) também identificou em seu estudo um aumento de distribuição de tamanho partícula ao aumentar a disponibilidade de carvacrol no meio reacional.

Avaliando qualitativamente o potencial de encapsulação quanto à variabilidade de concentração do bioativo carvacrol, visualmente pode-se perceber que as amostras GA/GEL/2CA e GA/GEL/2,5CA, apresentam cápsulas mononucleadas recheadas. Entretanto na amostra GA/GEL/3CA, é possível observar estruturas de cápsulas sem a presença de recheio. Segundo Hernadéz-Nava *et al.* (2019), à medida que a concentração de óleo aumenta, a quantidade de óleo no núcleo das microcápsulas aumenta, corroborando com a Figura 5 (c), na qual apresenta diâmetro de partícula maior, com maior volume encapsulado, e coacervados menores sem a presença de núcleo.

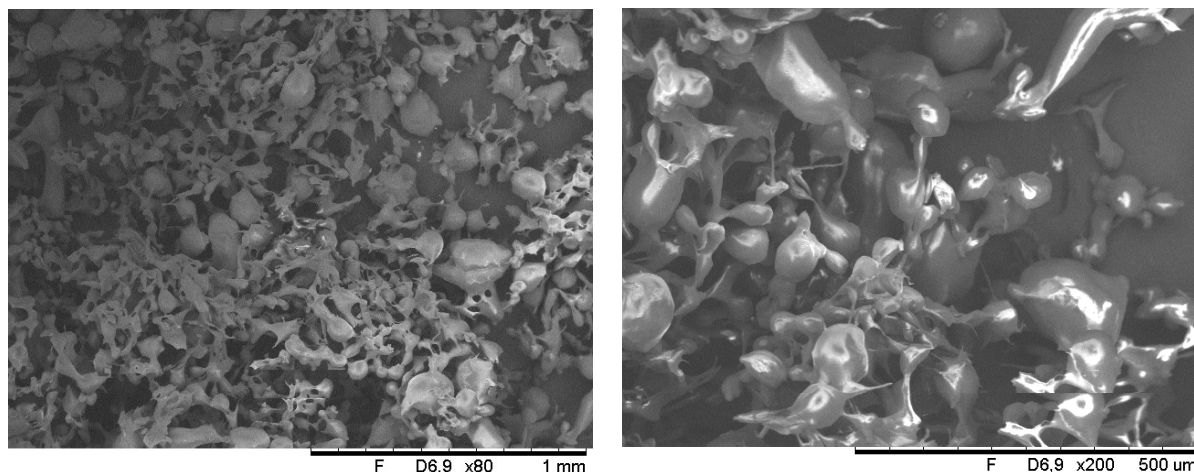
5.2.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Para realizar a análise morfológica da amostra, através da microscopia eletrônica de varredura (MEV), as micropartículas foram secas por liofilização previamente. As amostras foram analisadas em base seca, dessa maneira podendo ter sofrido alterações estruturais devido ao processo de liofilização, provocando efeito de conexão entre as partículas como é possível visualizar na Figura 6 (PRATA, 2006).

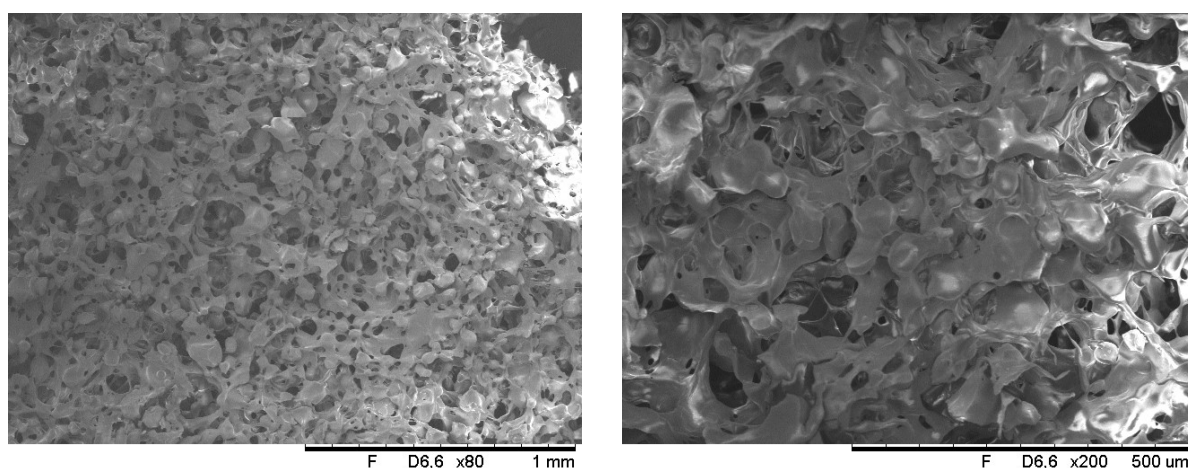
Figura 6 - Micrografias das microcápsulas obtidas através de MEV



(a) GA/GEL/2CA



(b) GA/GEL/2,5CA



(c) GA/GEL/GA/GEL/3CA

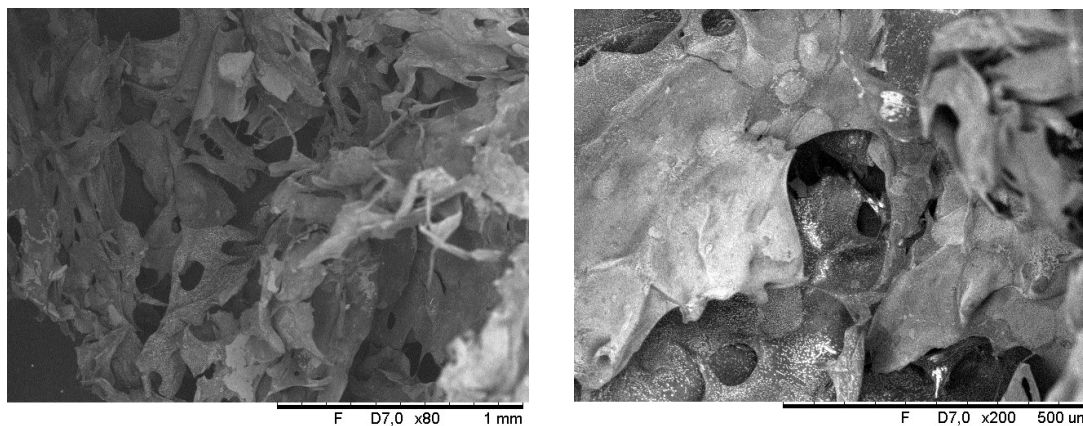
Fonte: Aatoria Própria (2021).

Avaliando todas as imagens de MEV, referente a cada concentração de bioativo, foi possível observar a formação de partículas esféricas mais alongadas, que permitiram a encapsulação de carvacrol em todas as formulações. Ponderando qualitativamente, as imagens obtidas pela MEV, evidencia-se que na Figura 6(b) há um número maior de partículas com infrequente formação de filme, demonstrando que a razão de material de parede e óleo distribui-se de maneira mais efetiva. Entretanto, para 6(a) e (c), verifica-se a formação de modo mais intenso de estruturas contínuas.

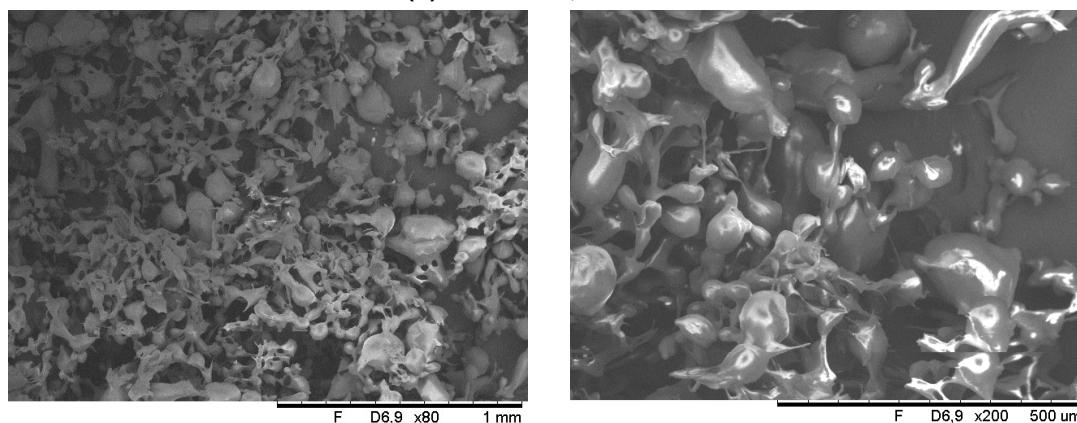
Comparando o efeito da reticulação no processo e encapsulação, observa-se na Figura 7(a), o aumento de uma estrutura contínua e interligada, diminuindo a

presença de poros na superfície. Aurenice da Motta (2019) destaca esse efeito como “teia de aranha”, sendo observado também por Alvin e Grosso (2010).

Figura 7 - Micrografias das microcápsulas obtidas através de MEV.



(a) GA/GEL/2,5CA/TGL



(b) GA/GEL/2,5CA

Fonte: Autoria Própria (2021)

5.3 Determinação de tamanho de partícula

Através das imagens de microscopia eletrônica de varredura (Figura 6) é possível observar que a concentração de carvacrol utilizada influenciou a morfologia das micropartículas. Isso pode ser analisado através do diâmetro médio de partícula destacado na Tabela 4, realizado através da avaliação de 100 cápsulas de cada formulação. Além disso, foi realizado o cálculo do índice de polidispersão (IPD) que afere a distribuição dos tamanhos, ou seja, maiores valores de IPD indicam faixas mais amplas de dimensão (VEIGA, 2014).

Tabela 4 - Avaliação do diâmetro médio de partícula.

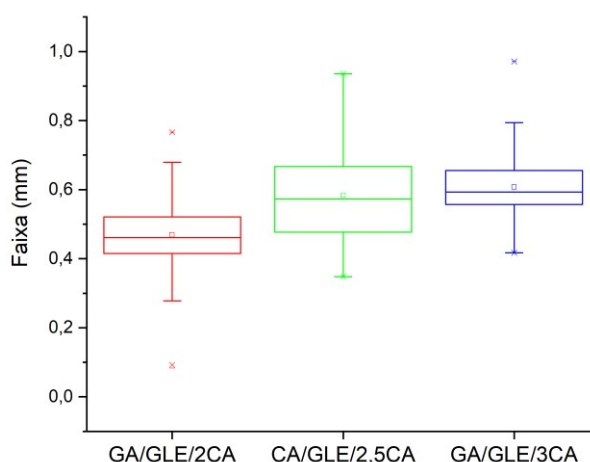
| Formulação | Diâmetro médio (μm) | Desvio padrão (μm) | IPD (-) |
|--------------|----------------------------------|---------------------------------|---------|
| GA/GEL/2CA | 468,94 | $\pm 96,00$ | 0,042 |
| GA/GEL/2,5CA | 583,18 | $\pm 128,44$ | 0,049 |
| GA/GEL/3CA | 607,55 | $\pm 92,26$ | 0,023 |

Fonte: autoria própria (2021)

Observa-se que o diâmetro encontrado, é corroborado com o encontrado pela literatura (TRINO *et al*, 2012). O diâmetro teve um acréscimo gradativo de acordo com o aumento da concentração de CA. Esse efeito se deve ao fato de que se utilizou a mesma amplitude e mesmo tempo de dispersão em ambas as concentrações. Com isso, ao aumentar o percentual de carvacrol, aumentou-se a viscosidade no meio reacional, tornando mais difícil o processo de emulsificação.

Identifica-se que a formulação GA/GEL/2CA apresentou um diâmetro médio consideravelmente menor em relação às outras composições, mas um índice de polidispersão aproximado de GA/GEL/2,5CA. Contudo, é possível perceber, através do IPD e da Figura 8, que GA/GEL/2,5CA, mesmo possuindo um diâmetro médio inferior a GA/GEL/3CA, apresenta uma maior amplitude de variação de diâmetro. Mostrando-se dessa maneira menos estável quanto à formação uniforme de partículas.

Figura 8 - Avaliação de distribuição de diâmetro médio de partícula.

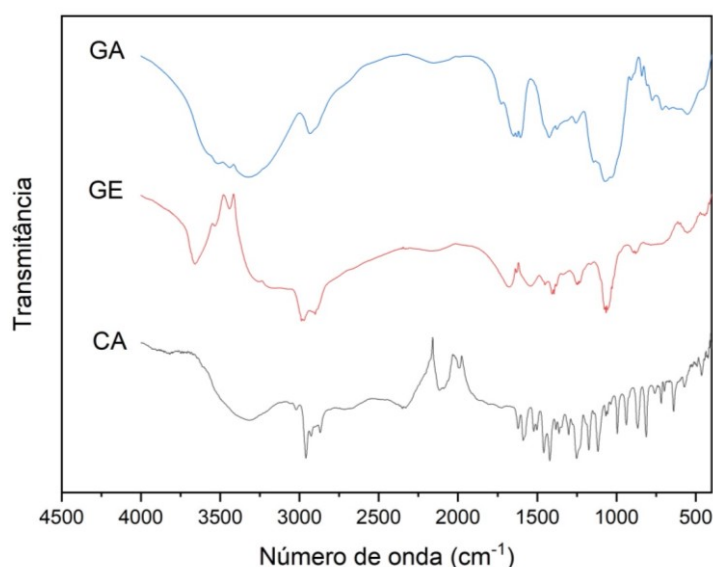


Fonte: Autoria própria (2021).

5.4 Espectroscopia na região do Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Na Figura 9 são apresentados, em transmitância, os espectros de infravermelho, dos componentes puros utilizados para a produção de microcápsulas, sendo eles a goma arábica (pó), gelatina tipo A (pó) e o carvacrol (óleo).

Figura 9 – Espectros de FTIR para carvacrol (CA), Gelatina (GE) e Goma Arábica (GA).

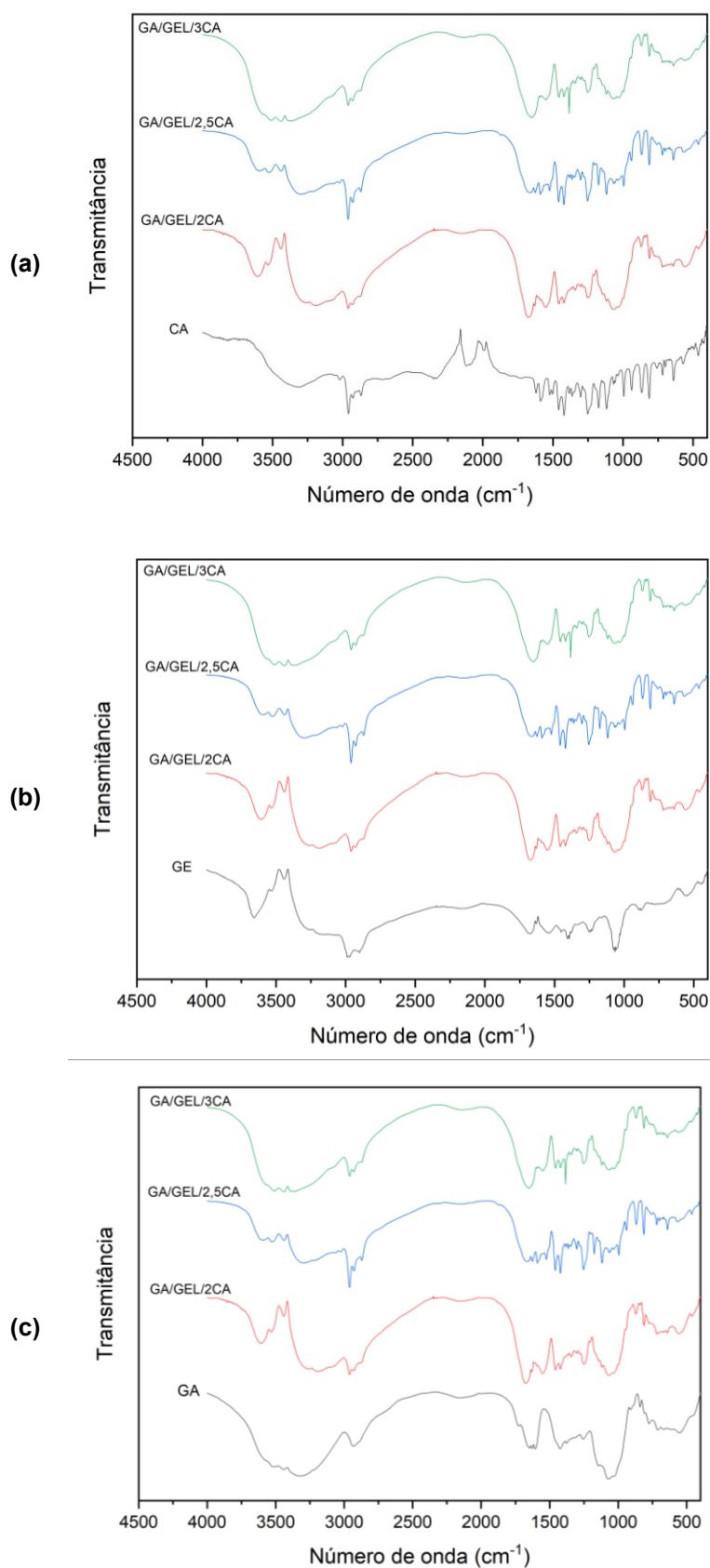


Fonte: Autoria própria (2021).

Observando as informações esboçadas pela Figura 9, pode-se verificar a sobreposição de bandas dos componentes nas regiões de 2700-3500 cm^{-1} e de 1600-800 cm^{-1} . O carvacrol apresentou a deformação C-H fora do plano caracterizado pela banda 811-813 cm^{-1} , região espectral identificada também em outros estudos (VALDERRAMA E ROJAS, 2017; HERNÁNDEZ-NAVA *et al.*, 2019), correspondente ao composto benzênico di 1,4 substituído presente em sua estrutura (VALDERRAMA e ROJAS, 2017).

Ao compararmos as microcápsulas na Figura 10 encontramos diferentes concentrações com os compostos puros, é possível observar o comportamento dos espectros de forma congruente aos picos das amostras produzidas.

Figura 10 – Espectros de FTIR para carvacrol puro, microcápsulas com formulações GA/GEL/2CA, GA/GEL/2,5CA e GA/GEL/3CA.



Fonte: autoria própria (2021).

Legenda: A01: GA – goma arábica; GEL – gelatina; CA – carvacrol;

Na Tabela 5, é possível identificar de forma discriminada as principais bandas características dos compostos (SKOOG, 2000; VEIGA, 2014), utilizados para encapsulação, bem como o bioativo, e picos encontrados nos espectros.

Tabela 5 – Bandas características em cm^{-1} das microcápsulas produzidas.

| | $\nu\text{O-H}$ | $\nu\text{C-H}$ | $\nu\text{C=O}$ | $-\text{CO-NH-}$ R | $\delta_s\text{NH}_3^+$ | $\nu\text{C-O}$ | $\delta\text{C-H}$ fora plano |
|-------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|--------------------------------|-------------------------|-----------------|-------------------------------------|
| CA | | 2.959 | | | | | 813 |
| GEL | 3.442 | 2.969 | 1.677 | - | 1.541 | 1.242 | - |
| GA | 3.323 | - | 1.648 | - | - | 1.424 | - |
| GA/GLE/2CA | 3.442 | 2.960 | 1.674 | - | 1.549 | 1.421 | 811 |
| GA/GLE/2,5CA | 3.441 | 2.961 | 1.667 | - | 1.524 | 1.421 | 812 |
| GA/GLE/3CA | 3.441 | 2.961 | 1.647 | - | 1.550 | 1.421 | 812 |
| GA/GLE/2,5CA/TGL | 3.290 | 2.960 | 1.664 | 1.670- 1550 | 1.549 | 1.422 | 811 |

Fonte: Autoria própria (2021)

Legenda: ν estiramento, δ_s deformação.

A Figura 10 apresenta os espectros de infravermelho para as diferentes concentrações de carvacrol incorporadas nas microcápsulas. Quando comparada as amostras ao carvacrol puro, é possível identificar a banda de absorção correspondente ao composto característico, localizado em $811\text{-}813\text{ cm}^{-1}$, identificado na literatura (VALDERRAMA E ROJAS, 2017). Ainda é possível observar na Figura 10(a) que a amostra GA/GLE/2,5CA, apresenta maior intensidade no pico do CA que GA/GLE/2CA e GA/GLE/3CA para essa região espectral, que se encontra a ligação C-H fora do plano. Isso pode ser indício de uma maior eficiência de encapsulação do ativo nesta razão de óleo/polímero utilizada na produção das microcápsulas.

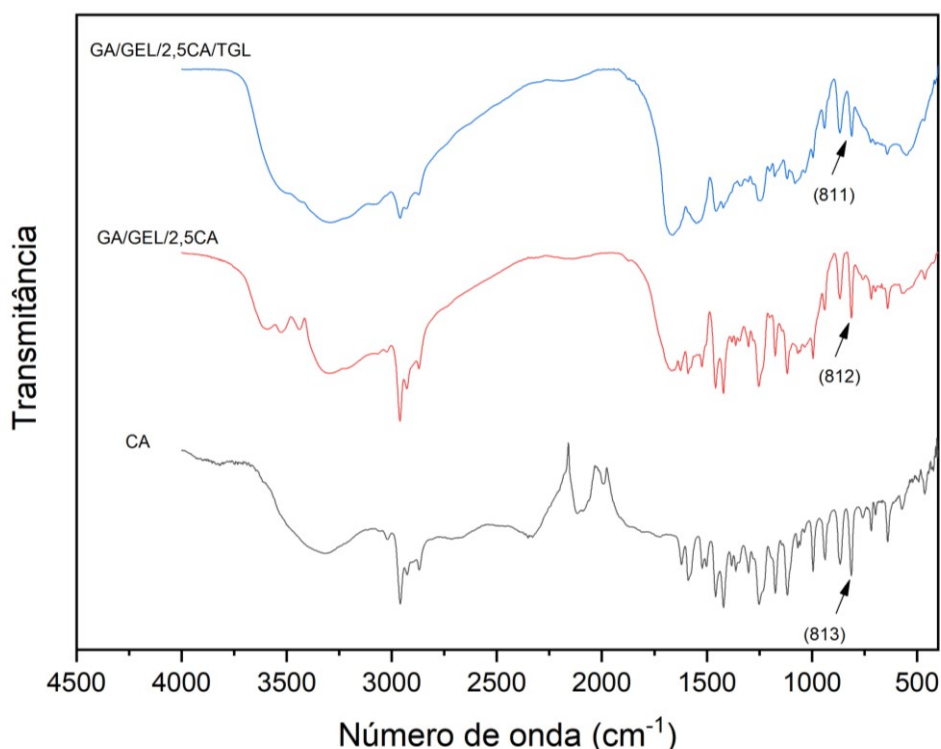
Observa-se que na região banda de 1677 cm^{-1} , ocorre um deslocamento negativo de banda de acordo com o aumento da concentração de carvacrol, isso pode ser indício de que o bioativo propiciou interações diferentes entre as ligações C=O. Ainda, é possível visualizar, a presença de picos que caracterizam a gelatina em todos os espectros, em 3440 cm^{-1} , 2960 cm^{-1} e 1560 cm^{-1} , que correspondem respectivamente ao estiramento da ligação O-H e C-H, e a deformação da ligação N-H (HOSSAN *et al.* 2014).

Comparando os espectros da goma arábica (GA) pura, com as formulações de microcapsulas, pode-se observar a presença de picos característicos em todas as amostras, como é possível ser visto na Figura 10 (c). Observa-se que na região

banda de 2934 cm^{-1} , ocorre um deslocamento de banda de mesma intensidade para todas as concentrações de bioativo, isso pode ser indício de que o bioativo propiciou interações entre as ligações C-O.

Além do efeito da concentração de bioativo nas regiões espectrais, é possível analisar a consequência da reticulação sobre os polímeros, quanto a seus picos de referência. Segundo Macedo *et al.* (2005), a transglutaminase age sobre a gelatina, que apresenta grupamento de amida primária (glutamina) e amina primária (lisina) (CARVALHO *et al.*, 2006; VEIGA, 2014), gerando dessa reação à presença de amida monosubstituída, localizada por Veiga (2014) na região espectral de 1550 cm^{-1} . Esse espectro se apresenta na amostra GA/GLE/2,5CA/TGL na região de banda $1550\text{ a }1670\text{ cm}^{-1}$, que pode ser visto na Figura 11, como uma alteração no comportamento da amplitude da banda.

Figura 11 – Espectros de FTIR para Gelatina, microcápsulas sem reticulação (GA/GLE/2,5CA) e com reticulação (GA/GLE/2,5CA/TGL).



Fonte: autoria própria (2021).

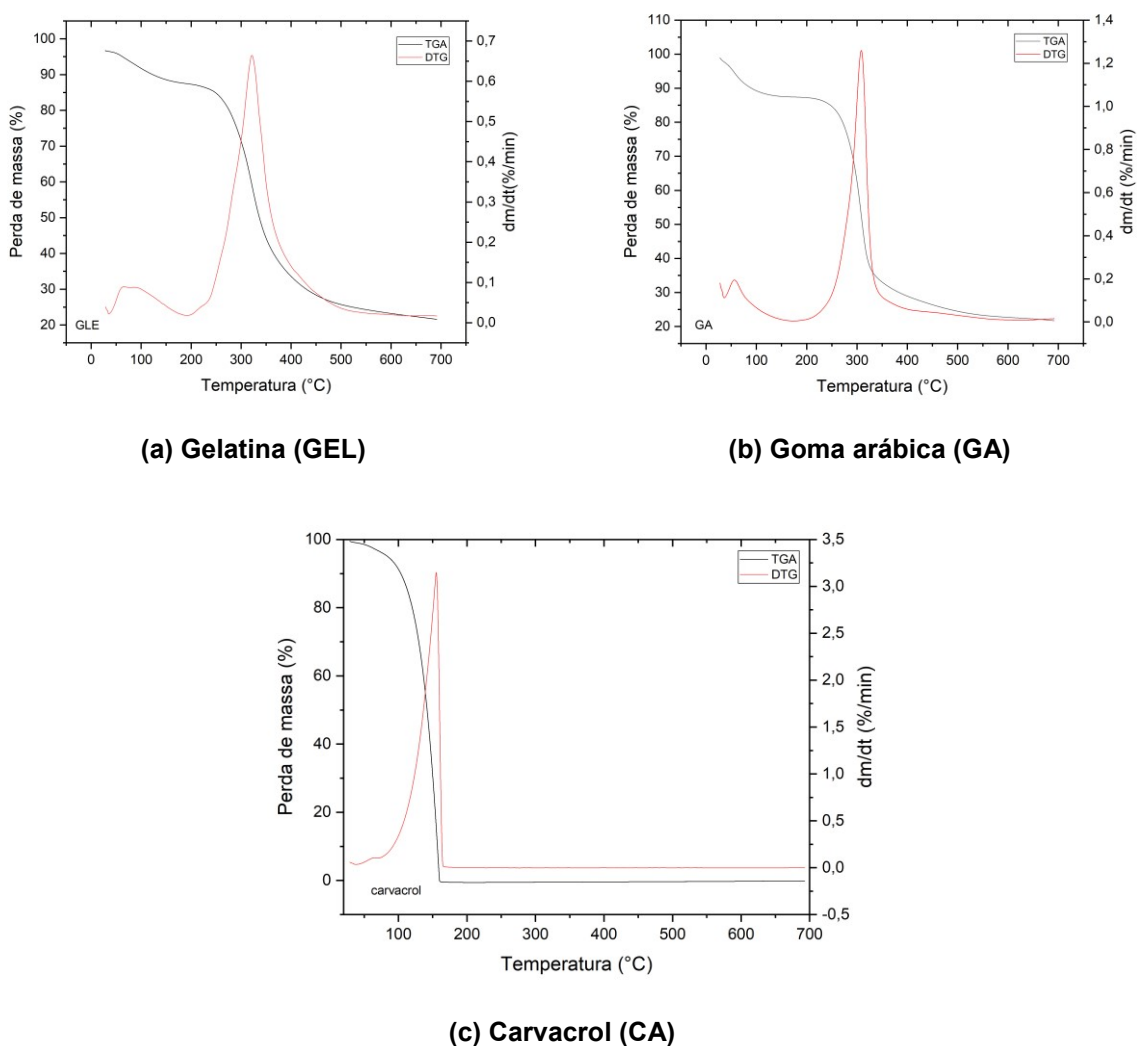
Legenda: CA – carvacrol; GA/GLE/2,5CA/TGL (amostra reticulada);

;

5.5 Análise Térmica

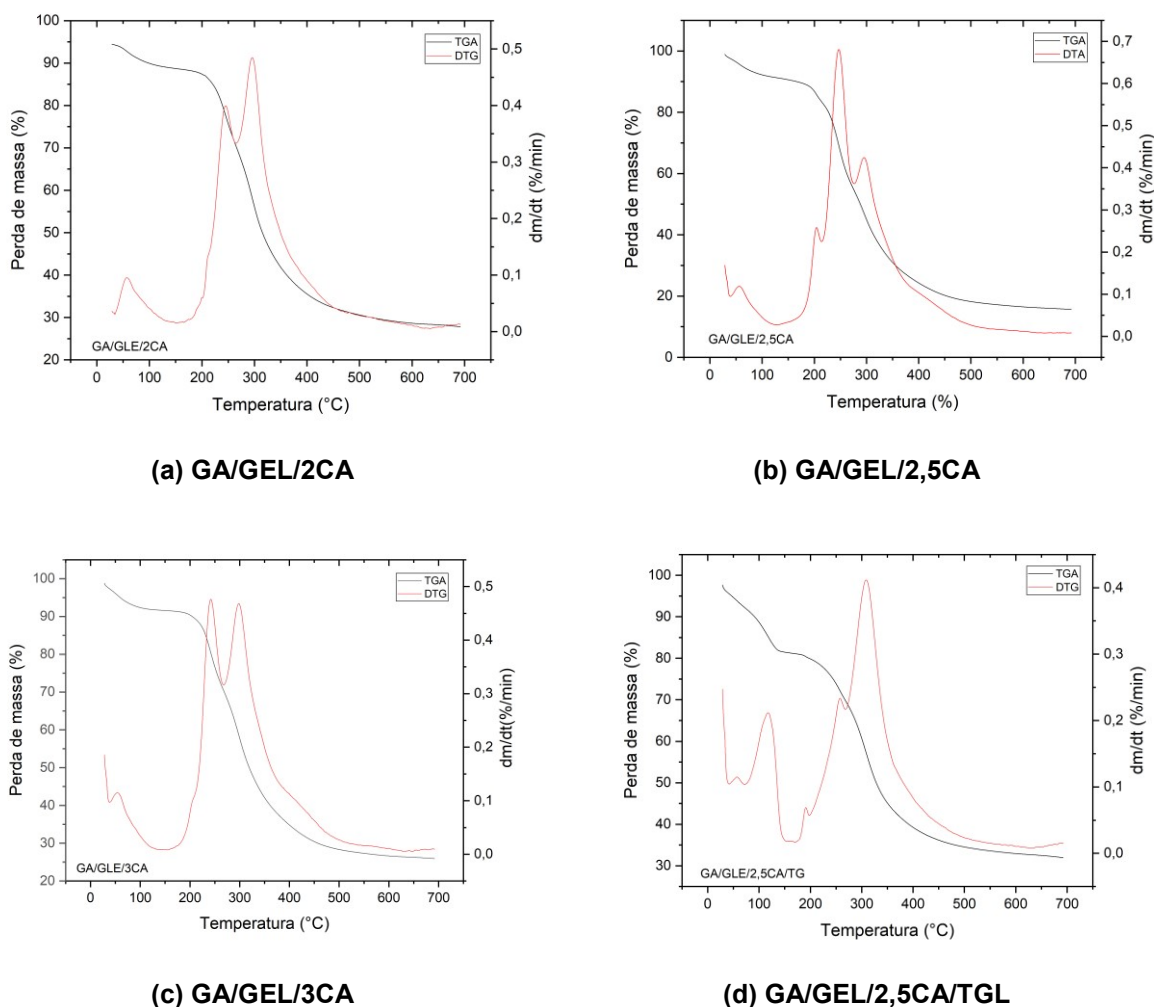
A perda de massa relacionada com a elevação de temperatura pode ser avaliada de acordo com as curvas de termogravimetria (TG) e a derivada da Termogravimetria (DTG). É possível observar na Figura 12, às curvas correspondentes a gelatina tipo A (GEL), goma arábica (GA) e o carvacrol (CA), plotadas através do software (*TA instruments universal analysis 2000*).

Figura 12 – TGA para gelatina (GEL), goma arábica (GA) e carvacrol (CA).



Fonte: autoria própria (2021).

Figure 13 – TGA para (a) GA/GEL/2CA, (b) GA/GEL/2,5CA, (c) GA/GEL/3CA, (d) GA/GEL/2,5CA/TGL.



Fonte: autoria própria (2021).

Tabela 6 – Estágios de decomposição térmica das microcápsulas de carvacrol em diferentes concentrações.

| Material | T.onset (°C) | %massa | T.onset (°C) | %massa | T.onset (°C) | %massa | T.onset (°C) | %massa |
|------------------|--------------|--------|--------------|--------|--------------|--------|--------------|--------|
| CA | | | 68,5 | 97,6 | | | | |
| GEL | 30,7 | 12,6 | | | | | 87,4 | 65,1 |
| GA | 28,1 | 12,6 | | | 178,3 | 65,6 | | |
| GA/GEL/2CA | 28,7 | 11,3 | | | 149,8 | 18,5 | 264,3 | 42,8 |
| GA/GEL/2,5CA | 29,4 | 8,8 | 130,7 | 8,1 | 215,3 | 28,6 | 276,7 | 38,8 |
| GA/GEL/3CA | 29,4 | 4,7 | | | 136,6 | 24,9 | 267,6 | 18,3 |
| GA/GEL/2,5CA/TGL | 32,7 | 7,5 | 152,5 | 1,5 | 197,5 | 10,4 | 268,9 | 37,6 |

Fonte: autoria própria (2021).

Legenda: A01: GA – goma arábica; GEL – gelatina; CA – carvacrol;

A goma arábica apresentou três estágios de degradação térmica, que são apresentados na Figura 12 (b). O primeiro estágio refere-se a uma perda de massa de 12,6% e variação de temperatura de 28°C a 178,29°C. Cozic *et al.* (2009) e Teodoro (2016), relatam em suas pesquisas a ocorrência desse primeiro estágio em temperaturas inferiores a 200°C, sendo esse período referente à eliminação da água na superfície (COZIC *et al.*, 2009; HIJO *et al.*, 2014; TEODORO, 2016). O Segundo estágio, onde o pico se encontra na temperatura média de 310°C, ocorreu uma perda de aproximadamente 66% de massa relacionada à degradação do polímero GA (COZIC *et al.*, 2009; KLEIN *et al.*, 2015; CAMPELLO *et al.*, 2015).

A curva de TGA para a gelatina, apresentada na Figura 12 (a) apresentou semelhança de comportamento ao da goma arábica. O primeiro estágio refere-se à perda de 12,6% de massa, que ocorre na região até 100°C, sendo esse a região de desidratação do biopolímero. O pico na região de 320°C caracteriza o segundo estágio de degradação, ocorre à perda de aproximadamente 65,11% da massa, ponto que evidencia a decomposição da cadeia da gelatina. Esse comportamento, também foi identificado por Xiao *et al.* (2018).

A Figura 12 (c) retrata o comportamento típico da degradação de óleo essencial. Para o caso do carvacrol, ele apresenta apenas um evento de degradação com intervalo de 70°C a 160°C, com pico máximo localizado em 158°C com uma perda de massa de 97,5%. Aravelo (2019) encontrou em seu estudo a degradação máxima do carvacrol em 180°C, corroborando com o valor encontrado nesse trabalho. Essa elevada perda de massa, justifica-se pela alta volatilidade do óleo (EL ASBAHANI, 2015; THEODORO, 2016).

Observa-se na Tabela 6, que em ambas as formulações realizadas ocorrem uma primeira região de início de degradação até aproximadamente 40° C, sendo esse comportamento visualizado nos polímeros puros, atribuído à perda de umidade. Dois picos na região de 250°C e 300°C, observados na Figura 13 em ambas as amostras, são visualizados podendo corresponder à degradação dos biopolímeros.

Na Figura 13 (b), GA/GEL/2,5CA, observa-se comportamento particular na região de 200°C, não presente nas outras amostras. Esse pico se encontra aproximado ao pico de degradação do carvacrol, podendo sinalizar que houve uma maior taxa de encapsulação do bioativo. Destaca-se também que a amostra

GA/GEL/2,5CA, apresentou maior resistência térmica quando comparada ao composto puro (ARAÚJO *et al.*, 2007). Isso é corroborado pela análise de FTIR, no qual identifica essa amostra com maior intensidade de pico, ou seja, maior presença de óleo encapsulado.

Outro ponto importante é referente à perda de massa de material de parede. Segundo Hijo *et al.* (2015), quanto menor for a perda de massa – comparado ao composto puro - maior será a estabilidade da microcápsula. Isso corrobora com os dados da Tabela 6, no qual identifica que em ambas as formulações de encapsulação, houve uma diminuição da perda de massa.

Ainda é possível comparar o efeito da resistência térmica da partícula quando reticulada. O comportamento da partícula quando inserido o agente reticulante é visualizado, na Figura 13 (d). Observam-se picos de degradação na região até 100°C, possivelmente oriundos da enzima transglutaminase, e da desidratação das partículas. Entretanto, percebe-se a existências de três períodos compatíveis aos identificados na Figura 13 (c), da amostra sem reticulação.

Ao comparar a amostra reticulada a sem a ação da enzima, na Tabela 6, percebe-se que a transglutaminase agiu retardando o início da degradação do carvacrol, em cerca de 20°C. Contudo, ao comparar os períodos de degradação dos polímeros, não se observa aumento significativo da resistência térmica dos materiais de parede.

6 CONCLUSÃO

As amostras apresentaram estrutura esférica, contudo, alguns traços de desvio no comportamento dos experimentos foram visualizados nas amostras GA/GEL/2CA e GA/GEL/2CA, como formação de aglomerados e presença de partículas sem recheio.

Quanto ao tamanho de partícula, percebeu-se que esse variou de acordo com o aumento de concentração de bioativo. Apesar disso, a amostra GA/GEL/2,5CA apresentou distribuições mais largas de diâmetro.

Todas as amostras apresentaram características químicas que identificam a presença do bioativo. Todavia a amostra GA/GEL/2,5CA apresentou maior intensidade de presença de carvacrol. Com isso, pode ter tido uma maior eficiência de encapsulação.

Avaliando as partículas quanto à resistência térmica, verificou-se que a amostra GA/GEL/2,5CA apresentou melhor comportamento. Quando reticulada essa amostra, observou-se que a enzima transglutaminase retardou a degradação do carvacrol, entretanto não apresentou resultado significativo para os biopolímeros.

REFERÊNCIAS

- ABBASZADEH, S.; SHARIFZADEH, A.; SHOKRI, H.; KHOSRAVI, A. R.; ABBASZADEH, A. Antifungal efficacy of thymol, carvacrol, eugenol and menthol as alternative agents to control the growth of food-relevant fungi, **Journal de Mycologie Médicale**, Volume 24, Issue 2, Pages e51-e56. 2014.
- AGÜERO, L.; ZALDIVAR-SILVA, D.; PEÑA, L.; DIAS, M. L. Alginate Microparticles as Oral Colon Drug Delivery Device: A Review, **Carbohydrate Polymers**, Volume 168, Pages 32-43, 2017.
- AHMAD, A.; VAN VUUREN, S.; VILJOEN, A. **Unravelling the complex antimicrobial interactions of essential oils—the case of Thymus vulgaris (thyme)**. *Molecules* 2014, 19, 2896–2910.
- AIZPURUA-OLAIZOLA, O.; NAVARRO, P.; VALLEJO, A.; OLIVARES, M.; ETXEBARRIA, N.; USOBIAGA, A. Microencapsulation and storage stability of polyphenols from Vitis vinifera grape wastes. **Food Chemistry**, Volume 190, pages 614-621. 2016.
- ALEXANDRE, Joana de Barros *et al.* Cross-linked coacervates of cashew gum and gelatin in the encapsulation of pequi oil. **Cienc. Rural**, Santa Maria, v. 49, n. 12, 2019.
- ALMEIDA M. P.; ROMERO R. B.; ROMERO A. L.; Crespan, E. R. **Explorando a química e a atividade antifúngica de óleos essenciais: Uma proposta de projeto para a Educação Básica**. *Lat. Am. J. Sci. Educ.* 2015;
- ALMEIDA, R. R. **Mecanismos de Ação dos Monoterpenos Aromáticos: Timol e Carvacrol**. 2015. Monografia – UFSJ, 2015.
- ALVIM, I. D.; GROSSO, C. R. F. Micropartículas Obtidas por Coacervação Complexa: Influência do Tipo de Reticulação e do Processo de Secagem na Liberação do Material Central. **O Ciênc. O Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 30, n. 4, p. 1069-1076. 2010
- ANDERSON, J. A.; COATS, J. R. **Acetylcholinesterase Inhibition by Nootkatone and Carvacrol in Arthropods**. *Pestic. Biochem. Phys.*, 102,124 – 128, 2012.
- ANVARI, M.; CHUNG, D. Dynamic rheological and structural characterization of fish gelatin – Gum Arabic Coacervate Gels Cross-Linked by Tannic Acid, **Food Hydrocolloids**, Volume 60, Pages 516-524. 2016.

ANVISA (2007). **RDC Nº 2, DE 15 DE JANEIRO DE 2007**. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/resolucao-rdc-no-2-de-15-de-janeiro-de-2007.pdf/view>. Acessado em: 01 de jul. de 2020.

ANVISA. **RESOLUÇÃO-RDC Nº 2, DE 7 DE JANEIRO DE 2002**. Disponível em https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2002/rdc0002_07_01_2002.html. Acessado em: 01 de jul. de 2020.

AOAC. **Association of official analytical chemist's official methods of analysis**. 16th Ed. Washington, 2006.

ARANHA, C. P. M. **Microencapsulação por gelificação iônica e interação eletrostática do corante de buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.)**. 117 f. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciência de Alimentos). Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, São José do Rio Preto, 2015.

ARAÚJO, A. L. **Microencapsulação do ferro através da Técnica de coacervação complexa**. Tese. Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Porto Alegre, 2011.

ARENAS-JAL, M.; SUÑÉ-NEGRE, J.M.; GARCÍA-MONTOYA, E. Uma visão geral da microencapsulação na indústria alimentícia: oportunidades, desafios e inovações. ***Eur Food Res Technol* 246**, 1371-1382. 2020.

AREVALO, C.; Daniel & Montoille, Lissette & Rivas, Lina & Ortiz, J. & Yáñez-S, Mauricio & Rabagliati, Franco & Ulloa, Maria & Alvarez Duarte, Eduardo & Zapata, Paula A. Fungicides Films of Low-Density Polyethylene (LDPE)/Inclusion Complexes (Carvacrol and Cinnamaldehyde) Against Botrytis Cinerea. *Coating*. 9. 795. 2019.

ASSUNÇÃO, L. S. Estudo prospectivo sobre encapsulamento de compostos bioativos. ***Revista Geintec - Gestão, Inovação E Tecnologias***, v. 4, p. 1382-1391, 2014.

AZEREDO, H. M. C. Encapsulação: Aplicação à Tecnologia de Alimentos. ***Alimentos e Nutrição***, v. 16, n. 1, p. 89–97, 2005.

BAKIR, M.; GEYIKOGLU, F.; COLAK, S. *et al.* O carvacrol ameniza lesão hepática induzida por pancreatite aguda através de resposta antioxidante. ***Cytotecnologia* 68**, 1131-1146. 2016.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review, ***Food and Chemical Toxicology***, Volume 46, Issue 2, Pages 446-475. 2008.

BAKRY, A. M.; ABBAS, S.; ALI, B.; MAJEED, H.; ABOUELWAFI, M. Y.; MOUSA, A.; LIANG, L. Microencapsulação de Óleos: Uma Revisão Abrangente de Benefícios, Técnicas e Aplicações. **Revisões abrangentes em ciência de alimentos e segurança alimentar**, 15: 143-182. 2016.

BARANAUSKAITE, J.; KOPUSTINSKIENE, D.M.; BERNATONIENE, J. Impacto da Gelatina Complementada com Goma Árabe, Tween 20, e β -Ciclodextrina na Microencapsulação do Extrato de Orégano Turco. **Moléculas** 2019, 24, 176. 2019.

BARRETO, A. R.; RAMÍREZ-MÉRIDA, L. G.; ETCHEPARE, M. A.; JACOB-LOPES, E.; MENESES, C. R. Coating Materials Used in the Microencapsulation of Probiotics. **Ciência e Natura**, v. 37, p. 164-174, 2015.

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

BRITO, G. F.; AGRAWAL P.; ARAÚJO E. M.; MÉLO T. J. A. Biopolímeros, Polímeros Biodegradáveis e Polímeros Verdes. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, V.6.2, n. 127 –139, 2011.

BUREY, P.; BHANDARI, B. R.; HOWES, T.; GIDLEY, M. J. Hydrocolloid Gel Particles: Formation, Characterization, And Application. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 48, n. 5, p. 361-377, 2008.

BURT, S. A.; Reinders, R. D. **Antibacterial Activity of Selected Plant Essential Oils Against Escherichia coli O157:H7**. Lett. Appl. Microbiol, 36, 162–167. 2003.

CALVO, P.; CASTANO, A. L.; HERNANDEZ, M. T.; GONZALEZ-GOMEZ D. **Effects of microcapsule constitution on the quality of microencapsulated walnut oil**. Eur J Lipid Sci Technol 113:1273–80. 2011.

CAMPELO, P.; FIGUEIREDO, J.; MARQUES, G.; BOTREL, D.; BORGES, S. Termogravimetria (TGA) de micropartículas de óleo essencial de canela. 2015.

CARVALHO, I. T.; ESTEVINHO, B. N. E.; SANTOS, L. Aplicação de óleos essenciais microencapsulados em produtos cosméticos e de saúde pessoal – uma revisão. **Int J Cosmet Sci**, 38: 109-119. 2016.

CARVALHO, N. B.; SANTOS, A. N. S.; PINHEIRO, E. O.; LEAL, L. R. A. Potencial antioxidante e antimicrobiano de óleos essenciais de especiarias: uma revisão. **Higiene Alimentar**. 30:12–20. 2016.

CARVALHO, R. A.; GROSSO, C. R. F. Efeito do tratamento térmico e enzimático nas propriedades de filmes de gelatina. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 26, n. 3, p. 495-501, Sept. 2006.

CASANOVA, F.; SANTOS, L. Encapsulation of cosmetic active ingredients for topical application - a review. **J Microencapsul** 33:1–17. 2016.

CÉLIS, F. T. **Efeito da Reticulação Induzida pela Transglutaminase e o Glutaraldeído Sobre as Propriedades das Micropartículas Obtidas por Coacervação Complexa** – Mestrado. Campinas, SP: [s.n.], 2009.

CÉLIS, F. T. **Partículas de alginato e pectina produzidas por gelificação iônica e recobertas com proteínas**. Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, SP. 2014.

CHAILLOT, J.; TEBBJI, F.; REMMAL, A.; BOONE, C.; BROWN, G.W.; BELLAOUI, M.; SELLAM, A. **The Monoterpene Carvacrol Generates Endoplasmic Reticulum Stress in the Pathogenic Fungus *Candida albicans***. *Antimicrob. Agents Chemother*, 59, 4584–4592, 2015.

CHAMPAGNE C. P.; FUSTIER P.; Microencapsulation for the improved delivery of bioactive compounds into foods, **Current Opinion in Biotechnology**, Volume 18, Issue 2, Pages 184-190, 2007.

CHEN, B.; LI, H.; DING, Y.; SUO, H. Formation and microstructural characterization of whey protein isolate/beet pectin coacervations by laccase catalyzed cross-linking, **LWT - Food Science and Technology**, Volume 47, Issue 1, Pages 31-38. 2012.

CHO, T.J.; PARK, S.M.; YU, H.; SEO, G.H.; KIM, H.W.; KIM, S.A.; RHEE, M.S. Recent Advances in the Application of Antibacterial Complexes Using Essential Oils. **Molecules** 2020, 25, 1752. 2020.

COMUNIAN, T. A.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Microencapsulation using biopolymers as an alternative to produce food enhanced with phytosterols and omega-3 fatty acids: A review. **Food Hydrocolloids, Oxford**, v.61, p.442457, 2016.

COSTA, A. C. da *et al.* Atividade antibacteriana do óleo essencial de *Origanum vulgare* L. (Lamiaceae) contra cepas bacterianas multirresistentes isoladas de pacientes nosocomiais. **Rev. bras. farmacogn.**, João Pessoa, v. 19, n. 1b, p. 236-241, 2009.

COZIC, C. *et al.* Analysis of arabic gum: Study of degradation and water desorption processes. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 23, n. 7, p. 1930–1934, Oct. 2009.

D'AGOSTINO, M.; TESSE, N.; FRIPPIAT, J.P.; MACHOUART, M.; DEBOURGOGNE, A. Essential Oils and Their Natural Active Compounds Presenting Antifungal Properties. **Molecules**, 24, 3713. 2019.

DE SOUZA B.; PIAS K.; BRAZN.; BEZERRA A. Aditivos alimentares: aspectos tecnológicos e impactos na saúde humana. **Revista Contexto & Saúde**, v. 19, n. 36, p. 5-13, 11 jul. 2019.

EL ASBAHANI, K.; MILADI, W.; BADRI, M.; SALA, E.H.; AÏT ADDI, H.; CASABIANCA, A.; EL MOUSADIK, D.; HARTMANN, A.; JILALE, F. N. R.; RENAUD, A. E. Essential oils: From extraction to encapsulation, **International Journal of Pharmaceutics**, Volume 483, Issues 1–2, Pages 220-243. 2015.

FANG, Z.; BHANDARI, B. Encapsulation of Polyphenols – A Review, **Trends in Food Science & Technology**, Volume 21, Issue 10, Pages 510-523. 2010.

FAVARO-TRINDADE, C. S; PINHO, S. C.; ROCHA, G. A. Microencapsulação de ingredientes alimentícios. **Brazilian Journal of Technology**. V.11, n.2, p. 103-112, abr./jun. 2008.

FERNANDES, R. V. B. *et al.* Microencapsulated oregano essential oil in grated Parmesan cheese conservation. **International Food Research Journal**, v. 25, p. 661–669, 2018.

GALLO, T. C. B. Transferência de massa e cinética de liberação de óleo essencial de orégano encapsulado pelos métodos de gelificação iônica e coacervação complexa. **Dissertação**. UNESP- São José do Rio Preto, 2019.

GOBBO NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: Fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v.30, n.2, p.374-81, 2007.

GONTARD, N. *et al.* Edible composite films of wheat gluten and lipids: water vapour permeability and other physical properties. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 29, n. 1, p. 39–50, 1994.

GUIMARÃES, A. G.; XAVIER, M. A.; SANTANA, M. T.; CAMARGO E. A.; SANTOS, C. A; BRITO, F. A.; BARRETO, E. O.; CAVALCANTI, S. C. H.; ANTONIOLLI, A. R.; OLIVEIRA, R. C. M.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J. Carvacrol attenuates mechanical hypernociception and inflammatory response. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 385, 253–263, 2012.

GUIMARÃES-INÁCIO, A.; FRANCISCO, C. R. L.; ROJAS, V. M.; DE SOUZA, L. R.; VALDERRAMA, P.; BONA, E.; LEIMANN F. V.; TANAMATI, A. A. C.; GONÇALVES, O. H. Evaluation of the oxidative stability, of chia oil-loaded microparticles by thermal, spectroscopic and chemometric methods. **LWT Food Science Technology** 87:498–506. 2018.

HERNÁNDEZ-NAVA, R.; LÓPEZ-MALO, A.; PALOU, E.; RAMÍREZ-CORONA, N.; JIMÉNEZ-MUNGUÍA, M. T. Encapsulation of oregano essential oil (*Origanum vulgare*) by complex coacervation between gelatin and chia mucilage and its properties after spray drying, **Food Hydrocolloids**, Volume 109, 2020.

HOMAYOUNI, H.; KAVOOSI, G.; NASSIRI, S. M. Physicochemical, antioxidant and antibacterial properties of dispersion made from tapioca and gelatinized tapioca starch incorporated with carvacrol, **LWT**, Volume 77, Pages 503-509. 2017.

HONORATO, T.; SILVA, E.; PEREIRA, T.; NASCIMENTO, K. Aditivos alimentares: aplicações e toxicologia. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, 8(5), 01 - 11. 2014.

HOTTA, M.; NAKATA, R.; KATSUKAWA, M.; HORI, K.; TAKAHASHI, S.; INOUEM, H.J. Carvacrol, a component of thyme oil, activates PPAR alpha and gamma, and suppresses COX-2 expression. **Lipid Res.**, 51, 132–139, 2010.

JUSTI, P. N.; SANJINEZ-ARGANDOÑA, E. J.; MACEDO, M. L. R. Microencapsulação de óleo da polpa de Pequi por coacervação complexa. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal, v. 40, n. 2, 2018.

KAUSHIK, P.; DOWLING, K.; BARROW, C. J.; ADHIKARI, B. Microencapsulation of omega-3 fatty acids: A review of microencapsulation and characterization methods. **Journal of Functional Foods**, v. 19, p. 868–881, 2015.

KLEIN, T. *et al.* Microparticles containing guarana extract obtained by spray-drying technique: development and characterization. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 25, n. 3, p. 292–300, 2015.

LAOKULDILOK, N.; THAKEOW, P.; KOPERMSUB, P.; UTAMA-ANG, N. Optimisation of microencapsulation of turmeric extract for masking flavour, **Food Chemistry**, Volume 194, Pages 695-704. 2016.

LEIMANN, F. V. **Microencapsulação de óleo essencial de capim-limão utilizando o processo de coacervação simples**. Dissertação - UFSC, Florianópolis, 2008.

LIMA, I. O. *et al.* Atividade antifúngica e óleos essenciais sobre espécies de *Candida*. **Revista Brasileira Farmacognosia**, v.16, n.2, p.197-201, 2006.

LIMA, M. S.; QUINTANS-JUNIOR, L. J.; DE SANTANA W. A.; KANETO, C. M.; SOARES, M. B. P.; VILLARREAL, C. F. Anti-inflammatory effects of carvacrol: evidence for a key role of interleukin-10. **Eur. J. Pharmacol.**, 699, 112–117, 2013.

LIU, Q.; MENG X.; LI Y.; ZHAO C. N.; TANG G. Y.; LI H. B. Atividade antibacteriana e antifúngica de especiarias. **Jornal internacional de ciências moleculares**; 18, N° 6, 1283. 2017.

LOVISON, M. M. Óleo essencial de orégano nanoemulsionado: produção, caracterização físico-química, atividade antimicrobiana e antioxidante *in vitro* e aplicação em patê de frango. **Tese**. Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga-SP, 2017.

MACEDO, J. A.; SATO, H. H. **Propriedades e aplicações da transglutaminase microbiana em alimentos**. Tese de Doutorado – UNICAMP. SP, 2005.

MALHERBI, N. M. **Desenvolvimento e caracterização de embalagens biodegradáveis ativas: estudo da eficácia antioxidante para azeite de oliva extravirgem**. 2018. 108 f. Dissertação (Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal da Fronteira Sul, Laranjeiras do Sul, 2018.

MARFIL, P. H. M.; VASCONCELOS, F. H. T.; PONTIERI, M. H.; TELIS, V. R. N. Development and Validation of Analytical Method for Palm Oil Determination in Microcapsules Produced by Complex Coacervation. **Química Nova**, v. 39, n. 1, p. 94– 99, 2016.

MOREIRA, A. C. G. **Microencapsulação de óleos essenciais**. Dissertação (mestrado). Faculdade de Engenharia da Universidade de Porto – Porto, 2014.

MOREIRA, A. C. G.; MARTINS, I. M.; FERNANDES, I.; BARREIRO, M. F. E.; RODRIGUES, A. E. Microencapsulação de óleo de tomilho vermelho e branco em ácido poli (lático-co-glicólico): avaliação da eficiência do encapsulamento e da capacidade antimicrobiana de as microcápsulas produzidas. **Lata. J. Chem. Eng.** 94: 469-475. 2016.

MOUREY, A.; CANILLAC, N. Anti-Listeria Monocytogenes Activity of Essential Oils Components of Conifers. **Food Control**, 13, 289–292. 2002.

NEVES, D. P. **Estudo Farmacológico do Timol e Carvacrol Sobre a Contratilidade da Aorta Isolada de Rato**. Dissertação – UECE, Fortaleza, 2009.

OZKAN, G.; FRANCO, P.; DE MARCO, I. *et al.* A Review of Micro- Encapsulation Methods for Food Antioxidants: Principles, Advan- Tages, Drawbacks and Applications. **Food Chemistry** 272:494–506, 2019.

PARTHENIADIS, I. *et al.* Formulation, Characterization and Antimicrobial Activity of Tablets of Essential Oil Prepared by Compression of Spray-Dried Powder. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 50, p. 226–236, 2019.

PEREIRA, K. C. **Microencapsulação e liberação de micropartículas de óleo essencial de orégano obtidos pelo processo de secagem por atomização**. Dissertação. UFVJM. Diamantina-MG. 2018.

POMBO, J. C. P.; RIBEIRO, E. R.; PINTO, R. DE L.; SILVA, B. J. M. DA. Efeito antimicrobiano e sinérgico de óleos essenciais sobre bactérias contaminantes de alimentos. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 25, n. 2, p. 108-117, 2 ago. 2018.

PRATA, A. S. **Estudo dos parâmetros físico-químico envolvidos na formação de microcápsulas produzidas por coacervação complexa**. 242 f. Tese (Doutorado). Universidade Estadual De Campinas - Campinas, 2006.

ROCHA, G. A.; FÁVARO-TRINDADE, C. S.; GROSSO, C. R. F. Microencapsulation of lycopene by spray drying: Characterization, stability and application of microcapsules, **Food and Bioproducts Processing**, Volume 90, Issue 1, Pages 37-42. 2012.

RODRIGUES, S. N.; MARTINS, I. M.; FERNANDES, I. P.; GOMES, P. B.; MATA, V.G.; BARREIRO, M. F.; RODRIGUES, A.E. Microencapsulated perfumes for textile application, **Chemical Engineering Journal**, Volume 149, Issues 1–3, Pages 463-472. 2009

ROSA, J. G. **Aglomerção de goma arábica em leite fluidizado: análise dos parâmetros do processo e da viabilidade de utilização de inulina como ligante**. Tese (Doutorado) –UNICAMP, Campinas, SP: [s.n.], 2019.

RUBERTO, G.; BARATTA, M.T. Antioxidant Activity of Selected Essential Oil Components in Two Lipid Model Systems. **Food Chem**, 69, 167–174. 2000.

SARTO, M. P. M.; ZANUSSO, J. G. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais. **Revista UNINGÁ Review**. 20(1):98–102. 2014.

SCIENCE DIRECT (2010). Acessado em 11 de julho de 2020, disponível em <http://www.sciencedirect.com>

SCOPUS. (2020). Acessado em 11 de julho de 2020, disponível em <http://www.scopus.com>.

SILVA, A. M. M. da. **Estudo das propriedades funcionais de proteínas comerciais de origem vegetal: caracterização, estabilização de emulsões e aplicação em complexos coacervados**. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2019.

SILVA, M. T. N. *et al.* Atividade antibacteriana de óleos essenciais de plantas frente as linhagens de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* isoladas de casos clínicos humanos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 11, n. 3, p. 257-262. 2009.

SILVA, N. B.; MOURA, V. M. das C.; IBIAPINAD, F. N.; BEZERRAK, C. B. Aditivos químicos em alimentos ultraprocessados e os riscos à saúde infantil. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, n. 21, p. e542, 19 mar. 2019.

SILVA, P. T. *et al.* Microencapsulação: conceitos, mecanismos, métodos e algumas aplicações em tecnologia de alimentos. **O Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 7, p. 1304-1311, julho de 2014.

SILVA, T. M. *et al.* Estudo de desenvolvimento, caracterização e viabilidade de microcápsulas probióticas produzidas por coacervação complexa seguida de secagem congelante. **O Ciência Rural**, Santa Maria, v. 49, n. 7, e20180775, 2019.

SILVERIO, G. B. *et al.* Produção e caracterização de micropartículas de alginato obtidas por gelificação iônica e adsorção eletrostática de proteína concentrada de soja. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 48, n. 12. 2020.

SKOOG, D.A.; WEST, D.M.; HOLLER, F.J., Analytical Chemistry. An Introduction, 7.ed. **Fort Worth: Harcourt College Publishers**, 2000

SLEMAN KADAN, MAHMOUD RAYAN E ANWAR RAYAN. Atividade anticâncer do extrato de sementes de anis (*Pimpinella anisum* L.). **The Open Nutraceuticals Journal**, 2013, 6, 1-5.

SOBRINHO, E. C. S.; FARIAS M. C. A. Microencapsulação na Indústria Alimentícia. **Infarma**, V. 24, n. 1-3, 2012.

SOHAIL, A.; TURNER, M. S.; COOMBES, A.; BOSTROM, T.; BHANDARI, B. Survivability of Probiotics Encapsulated in Alginate Gel Microbeads Using a Novel Impinging Aerosols Method. **International Journal of Food Microbiology**, v. 145, n. 1, p. 162-68, 2011.

SOW, L. C.; TIRTAWINATA, F.; YANG, H.; SHAO, Q.; WANG, S. Carvacrol nanoemulsion combined with acid electrolysed water to inactivate bacteria, yeast in vitro and native microflora on shredded cabbages, **Food Control**, Volume 76, Pages 88-95. 2017.

STANOJEVIC, L. P. *et al.* Atividade antioxidante do óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare* L.). **Biologica Nyssana, Kopaonik**, v. 7, n. 2, 2016.

SUAVE, J.; DALL'AGNOL, E. C.; PEZZIN, A. P. T.; SILVA, D. A. K.; MEIER, M. M.; SOLDI, V. Microencapsulação: Inovação em diferentes áreas. **Revista Saúde e Ambiente**, v. 7, n. 2, p. 12-20, 2006.

SUGANYA, V. Microencapsulação e Nanoencapsulação: Uma Revisão. **Revista Internacional de Pesquisa Farmacêutica e Clínica**, Vol 9, No. 3, 2017.

TEODORO, R. A. R. Microencapsulação do Óleo Essencial de Cravo-Da-Índia (*Caryophyllus Aromaticus* L.) por Secagem e por Atomização. Lavras: UFLA, 2016.

TIMILSENA, Y.; HAQUE, M. E.; ADHIKARI, B. Encapsulamento na Indústria de Alimentos: Uma Breve Visão Histórica dos Desenvolvimentos Recentes. **Ciências Alimentares e Nutricionais**, **11**, 481-508. 2020.

TRINO, A. S. M. **Estudo sistemático da formação de estrutura em processos de microencapsulação por evaporação de solvente**, Universidade de Coimbra, 6-13. 2012.

UMER, H.; NIGAM, H.; ASIF, T. M.; SUNDARA, M. N. M, Microencapsulation: Process, Techniques and Applications, **International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences**, 2(2): 474-481. 2011.

VALDERRAMA, A. C. S.; ROJAS, de G. C.; Traceability of Active Compounds of Essential Oils in Antimicrobial Food Packaging Using a Chemometric Method by ATR-FTIR. **American Journal of Analytical Chemistry**, v.8, p.726-741, 2017.

VANISKI, R.; CORTI, D.; DRUNKLER, D. A. Técnicas e Materiais Empregados na Microencapsulação de Probióticos. **Brasil Journal of Food Research**, V. 8, n. 1, 2017.

VEIGA, C. C. **Encapsulamento de Óleo de Café em Microcápsulas de Gelatina/Goma Arábica Reticuladas por Transglutaminase**. Trabalho de conclusão de curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2014.

XIAO, Z.; LIU, W.; ZHU, G.; ZHOU, R.; NIU, Y. Production and characterization of multinuclear microcapsules encapsulating lavender oil by complex coacervation. **Flavour and Fragrance Journal**, v.29, 166-172, 2014.

ZHANG, C. *et al.* Utilization of Microcapsule Technology in Foods. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 15, p. 9330-9340. 2015.