

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE ALIMENTOS
CURSO SUPERIOR DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

JÉSSICA THAÍS DO PRADO SILVA

**DESENVOLVIMENTO DE MICROPARTÍCULAS ESTRUTURADAS
CONTENDO CURCUMINA**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

CAMPO MOURÃO
2014

JÉSSICA THAÍS DO PRADO SILVA

**DESENVOLVIMENTO DE MICROPARTÍCULAS ESTRUTURADAS
CONTENDO CURCUMINA**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação, apresentado à disciplina de Trabalho de Diplomação, do Curso Superior de Engenharia de Alimentos, do Departamento de Alimentos – DALIM– da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, como requisito parcial para obtenção do título de Engenheira de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Odinei Hess Gonçalves

Co-orientadora: Prof. Dra. Fernanda Vitória Leimann

CAMPO MOURÃO
2014



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Departamento Acadêmico de Alimentos



TERMO DE APROVAÇÃO

**DESENVOLVIMENTO DE MICROPARTÍCULAS ESTRUTURADAS CONTENDO
CURCUMINA**

POR

JÉSSICA THAÍS DO PRADO SILVA

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado em 18 de dezembro de 2014 às 08:00 como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho APROVADO.

Prof^o. Dr. Odinei Hess Gonçalves
Orientador

Prof^a. Dr^a. Fernanda Vitória Leimann
Co - Orientadora

Profa. Msc. Mirian Sousedaleff Laczkowski
Membro da banca

Nota: O documento original e assinado pela Banca Examinadora encontra-se na Coordenação do Curso de Engenharia de Alimentos da UTFPR *Campus* Campo Mourão.

À Inês do Prado e José Antônio da Silva
Filho, por todo amor, suporte e incentivo aos
estudos. Essa conquista é nossa.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida, por me proteger e guiar nos momentos difíceis e por me acompanhar em toda minha trajetória.

Agradeço a Inês do Prado e José Antônio da Silva Filho, por serem pais tão dedicados, meus melhores exemplos e maiores inspirações. Sou grata por todos os conselhos, apoio e confiança que depositaram em mim ao longo desse período. Sem eles, nada disso seria possível.

Ao meu orientador, Dr. Odinei Hess Gonçalves, por ter permitido a minha entrada em sua equipe de pesquisa, pela idealização deste trabalho, por toda ajuda e conhecimento compartilhado, e à minha co-orientadora, Dra. Fernanda Vitória Leimann, por sua valiosa contribuição para realização deste trabalho, através de sugestões e boas ideias. Sou muito grata pela dedicação de vocês.

Agradeço também à Julio Cesar Eduardo de Souza, por todo amor, dedicação e companheirismo ao longo desses anos. Por ter me orientado na escolha da minha profissão, e, mesmo de longe, se fazer presente em minha vida e me incentivar a ser uma pessoa melhor.

À Luana Tabalipa de Medeiros, pela amizade incondicional ao longo desses anos e por ser a irmã que eu nunca tive.

Aos meus padrinhos, Laura do Prado Elizario Martins e José Elizario Martins, por todo apoio, bons conselhos e vistas animadas ao longo desses anos.

Por fim, agradeço aos meus colegas de classe, em especial à Mateus Ferreira de Souza, Alini Fernanda Gomes, Fernanda Thais Vieira Rubio e Karine Cristine Kaufmann pelo companheirismo e amizade.

“Entregue o seu caminho ao senhor;
confie nele, e ele agir.”
(Salmos 37:5)

RESUMO

SILVA, Jéssica Thaís do Prado. **Desenvolvimento de micropartículas estruturadas contendo curcumina**. 2014. 37 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso Superior de Engenharia de Alimentos), Departamento de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2014.

A curcumina é um corante natural amarelo – alaranjado extraído do rizoma da *Curcuma longa*. Trata-se de um polifenol com importantes efeitos biológicos comprovados por estudos científicos, atuando como um potente antioxidante, inibindo a formação de células cancerígenas, além de possuir efeito antiinflamatório. O emprego da curcumina como corante na indústria de alimentos é limitado devido à sua baixa solubilidade em água, sensibilidade ao tratamento térmico, luz, presença de íons metálicos, enzimas, ácido ascórbico, entre outros. Deste modo, a técnica de encapsulação deste corante vem sendo ressaltada na literatura como um método eficaz para melhorar sua aplicabilidade tecnológica. Neste trabalho, curcumina foi encapsulada em micropartículas de policaprolactona (PCL) recobertas com gelatina reticulada por transglutaminase através da técnica de emulsificação/evaporação do solvente. Foram realizadas análises para a caracterização das micropartículas, que apresentaram formato esférico e eficiência de encapsulação de $(81 \pm 13)\%$. Além disso, foram avaliados os perfis de liberação da curcumina das micropartículas de PCL sem recobrimento e em micropartículas de PCL recobertas com gelatina reticulada com 1,96 e 5,9% de transglutaminase (em relação à massa de gelatina), onde as micropartículas de PCL sem recobrimento apresentaram uma taxa de liberação de $4,3 \text{ mg.mL}^{-1}.\text{min}^{-1}$, enquanto que as micropartículas de PCL recobertas com gelatina reticulada com 1,96% de transglutaminase apresentaram taxa de liberação de $3,2 \text{ mg.mL}^{-1}.\text{min}^{-1}$. Os resultados indicam que a técnica utilizada é viável para modificar a liberação do corante das microcápsulas.

Palavras chave: Curcumina. Microencapsulação. Gelatina. Transglutaminase. Liberação modificada.

ABSTRACT

SILVA, Jéssica Thaís do Prado. **Development of structured microparticles containing curcumin.** 2014. 37 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso Superior de Engenharia de Alimentos), Departamento de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2014.

Curcumin is a natural yellow – orange dye extracted from *Curcuma longa*. It is a polyphenol with important biological effects since it acts as a potent antioxidant, inhibits the formation of cancer cells and also has anti-inflammatory effect. The use of curcumin as a dye in the food industry is limited due its low water solubility, sensibility to heat treatment, light, presence of metal ions, enzymes, ascorbic acid and others. Encapsulation techniques have been emphasized in the literature as an effective method to improve its technological applicability. In this study curcumin was encapsulated in polycaprolactone (PCL) microparticles obtained by emulsification/solvent evaporation technique and coated with transglutaminase crosslinked gelatin. Analyzes were performed to characterize the microparticles which presented spherical shape and encapsulation efficiency of $(81 \pm 13)\%$. In addition, the curcumin release profiles from uncoated PCL microparticles and gelatin crosslinked-PCL microparticles (1.96 and 5.9% of transglutaminase) were evaluated. Uncoated PCL microparticles showed a release rate of $4.3 \text{ mg.mL}^{-1}.\text{min}^{-1}$ whereas the PCL microparticles coated with gelatin crosslinked with 1.96% of transglutaminase showed liberation rate of $3.2 \text{ mg.mL}^{-1}.\text{min}^{-1}$. Results indicate that the technique is viable to modify the curcumin release rate from the microcapsules.

Keywords: Curcumin. Microencapsulation. Gelatin. Transglutaminase. Modified release.

LISTADE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura química de curcuminóides extraídos de <i>Curcuma longa</i> /.....	15
Figura 2 - Modelo da estrutura dos diferentes tipos de micropartículas.....	16
Figura 3 - Cadeia principal da Policaprolactona.....	17
Figura 4 - Imagens de microscópio óptico das micropartículas de PCL contendo curcumina em diferentes magnificações.....	24
Figura 5 - Imagens de microscópio óptico das micropartículas de PCL contendo curcumina após o recobrimento com gelatina reticulada por transglutaminase (1,96%) em diferentes magnificações.....	25
Figura 6 - Imagens de microscópio óptico das micropartículas de PCL contendo curcumina após o recobrimento com gelatina reticulada por transglutaminase (5,9%) em diferentes magnificações.....	26
Figura 7 - Espectro de FTIR das micropartículas de PCL contendo curcumina antes e após o recobrimento com gelatina reticulada por transglutaminase (1,96% em relação à massa de gelatina).....	28
Figura 8 - Curva de calibração da curcumina em solução aquosa de etanol 60%vol.....	29
Figura 9 - Perfis de liberação da curcumina em micropartículas de PCL antes e depois do recobrimento (concentração de transglutaminase em relação à massa de gelatina).....	30
Figura 10 - Liberação inicial da curcumina em micropartículas de PCL antes e depois do recobrimento (concentração de transglutaminase em relação à massa de gelatina).....	30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Formulação das micropartículas de curcumina.....	20
Tabela 2 - Formulação do recobrimento das micropartículas de curcumina.....	21
Tabela 3 - Taxas de liberação da curcumina calculadas até o tempo de 8 minutos de liberação.....	31

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. OBJETIVOS	12
2.1. Objetivo Geral.....	12
2.2. Objetivos Específicos	12
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
3.1. Curcumina	14
3.2. Técnicas de Microencapsulação	16
3.3. Liberação Modificada da Curcumina	18
4. MATERIAL E MÉTODOS	19
4.1. Material.....	19
4.2. Elaboração das micropartículas contendo curcumina	19
4.3. Recobrimento das micropartículas	20
4.4. Caracterização das micropartículas.....	21
4.5. Preparo da curva de calibração.....	22
4.6. Avaliação da liberação modificada da curcumina.....	23
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
5.1. Obtenção das micropartículas e recobrimento	24
5.2. Caracterização das Micropartículas.....	27
5.3. Avaliação da liberação modificada da curcumina.....	29
6. CONCLUSÕES	33
7. REFERÊNCIAS	34

1. INTRODUÇÃO

Corantes são aditivos utilizados para repor a cor dos alimentos que foi eventualmente perdida durante o processamento ou mesmo para tornar o produto mais atraente aos olhos do consumidor. Podem ser de origem natural ou artificial, sendo que os corantes artificiais vêm sendo condenado por profissionais da saúde por conterem em sua composição substâncias capazes de causar não somente alergias, como também anemia e outras doenças mais graves (BORGES, 1999). A cor interage com outras características sensoriais, influenciando na aceitação do produto por parte do consumidor (PRADO & GODOY, 2003).

Os corantes naturais, apesar de desejados, apresentam certas limitações em sua aplicação como falta de estabilidade na presença de luz e pH, resistência ao tratamento térmico, solubilidade e preço elevado (GAVA; SILVA & FRIAS, 2008). A curcumina apresenta inúmeras propriedades biológicas de interesse, contudo sua aplicação se torna limitada devido à sua baixa solubilidade em água, entre outros fatores.

Nesse contexto, a encapsulação da curcumina em materiais biodegradáveis e/ou biocompatíveis se apresenta como uma alternativa promissora para melhorar suas propriedades tecnológicas, possibilitando a substituição dos corantes amarelos sintéticos em escala industrial.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Obtenção de micropartículas estruturadas de policaprolactona (PCL) e gelatina reticulada contendo curcumina.

2.2. Objetivos Específicos

- Obter micropartículas de policaprolactona contendo a curcumina;
- Realizar o recobrimento dessas micropartículas com gelatina reticulada com transglutaminase;
- Caracterizar as micropartículas estruturadas em relação à morfologia e eficiência de encapsulação;
- Avaliar a liberação da curcumina das micropartículas.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, BRASIL, 1997), aditivo alimentar é qualquer ingrediente adicionado intencionalmente aos alimentos, sem propósito de nutrir, com o objetivo de modificar as características físicas, químicas, biológicas ou sensoriais, durante a fabricação, processamento, preparação, tratamento, embalagem, acondicionamento, armazenagem, transporte ou manipulação de um alimento.

A cor é um dos atributos mais importantes de um alimento, pois é o fator determinante para o julgamento da qualidade do produto. Se a cor de um alimento é alterada, a seleção e a avaliação de sua qualidade se tornam muito difíceis (RIBEIRO; SERAVALLI, 2007). Em alguns casos, a adulteração da cor era realizada pelo próprio consumidor com o objetivo de deixar o alimento mais atraente e, muitas vezes, não era levado em conta o efeito colateral desta ação. Os vegetais verdes, por exemplo, eram cozidos em panelas de cobre ou de latão, o que dava uma coloração verde brilhante ao vegetal. Muitas pessoas morreram de envenenamento por cobre como consequência desta prática (HUGHES, 1994). Muitos produtos alimentícios originalmente não apresentam cor, e, em outros, a cor é perdida ou alterada durante o processo de industrialização. Desta forma, surge a necessidade de adicionar corantes a fim de conferir ou restaurar a coloração perdida (VIDOTTI, ROLLEMBERG; 2006).

Usualmente na indústria de alimentos utilizam-se corantes de origem artificial, devido a diversas razões técnicas: estabilidade, pureza, disponibilidade e superioridade tecnológica com relação aos corantes naturais (ARAÚJO, 2008; LOPES et al., 2007). Apesar de todas suas vantagens tecnológicas, os corantes artificiais vêm sendo derrotados no principal aspecto de avaliação, que é o aspecto mercadológico. A nova era, conhecida como “verde” ou “ecológica”, traça um novo perfil de consumidor, para o qual a qualidade de vida é mais que uma prioridade, é uma necessidade (FRINHANI, 2003). Segundo Polônio e Peres (2009), os corantes artificiais como tartrazina, amaranto, vermelho ponceau, eritrosina e caramelo amoniacal estão sendo relacionados a alterações no comportamento humano, como a hiperatividade e transtorno de déficit de atenção, por exemplo, que são distúrbios

acompanhados por sinais de impulsividade e falta de atenção, que podem acompanhar o indivíduo ao longo da vida adulta.

Segundo Lopes et al. (2007), existe grande demanda de pesquisas para desenvolver corantes alimentícios a partir de fontes naturais, visando diminuir gradativamente a dependência do uso de corantes alimentícios artificiais no processamento de alimentos. Além disso, estes estão diretamente relacionados com importantes atividades biológicas. Seus efeitos benéficos em relação à saúde estão relacionados com suas propriedades antioxidantes, proteção contra danos oxidativos a componentes celulares, efeitos antiinflamatórios e prevenção das doenças crônicas não transmissíveis (VOLP, RENHE, STRINGUETA; 2009). Os pigmentos naturais utilizados em alimentos são derivados de diversas substâncias, como substâncias fenólicas; derivados de porfirinas, como grupo heme e clorofilas; pigmentos escuros produzidos enzimaticamente ou não; complexos de metais pesados com proteínas ou compostos fenólicos; carotenóides e pigmentos relacionados. A utilização de corantes naturais requer o conhecimento químico de suas moléculas para adaptá-las às condições de uso em processos. Na prática, alguns corantes naturais apresentam dificuldades tecnológicas de aplicação (ARAÚJO, 2008).

3.1. Curcumina

Curcuma longa L. é uma planta herbácea, perene, com aproximadamente um metro de altura. É cultivada em regiões tropicais e subtropicais da Ásia, Índia, China e América Latina. No Brasil, esta planta é conhecida como açafrão da terra e é comumente usada na culinária como corante pra alimentos (JARDIM, 2013).

A cúrcuma em pó é o rizoma da *Curcuma longa L.*, dessecado e pulverizado, tendo como princípio ativo principal a curcumina, com teores entre 1 e 5%. Apresenta também teores reduzidos de demetoxicurcumina e bisdemetoxicurcumina. O extrato purificado por cristalização permite a obtenção de curcumina em pó concentrado, com teor mínimo de 90% de curcumina. O pó é cristalino, amarelo-alaranjado, inodoro, insolúvel em água e éter e solúvel em etanol, diclorometano, ácido acético glacial, óleo e gorduras. Em razão de sua alta intensidade de cor, pequenas quantidades são

suficientes para colorir o produto (FRINHANI, 2003). A Figura 1, abaixo, apresenta a estrutura química dos curcuminóides citados acima.

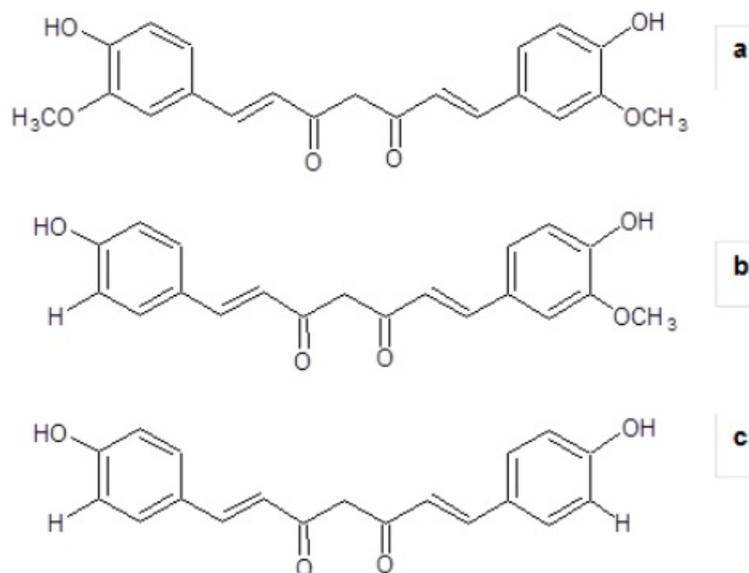


Figura 1. Estrutura química de curcuminóides extraídos de *Curcuma longa L.* Curcumina (a); Demetoxicurcumina (b) e Bisdemetoxicurcumina (c). Fonte: JARDIM, 2013.

A curcumina foi isolada pela primeira vez em 1842 e foi quimicamente caracterizada em 1910. Desde então, diversos estudos vêm sendo realizados com a finalidade de investigar suas atividades biológicas e farmacológicas, tais como sua ação antimicrobiana, anti-inflamatória, imunomoduladora, hipolipodérmica, antioxidante, antitumoral, anticarcinogênica, hipercolesterêmica, por estimular a secreção da bÍlis, dentre outras (JARDIM, 2013; FRINHANI, 2003). Muitos pigmentos naturais vêm sendo utilizados não somente como corantes alimentÍcios como também promotores de saúde e bem estar, pela capacidade de prevenção de doenças (MARTINS et al, 2013).

Em relação à sua aplicabilidade tecnológica na indústria de alimentos, o uso de curcumina é bastante limitado devido à baixa solubilidade em água e sensibilidade frente a condições alcalinas, tratamento térmico, luz, íons metálicos, enzimas, ácido ascórbico, dentre outros (SILVA-BUZANELLO, 2013). Para viabilizar este tipo de aplicação, novos estudos de formulações, liberação controlada e sistemas de direcionamento de fármacos são necessários (MASSIMINO e YOSHIOKA; 2014).

3.2. Técnicas de Microencapsulação

Encapsulação é a tecnologia de recobrir partículas sólidas ou pequenas gotas de material líquido ou gasoso, formando cápsulas em miniatura, as quais podem liberar seu conteúdo em taxas controladas sob condições específicas. O material externo é o agente encapsulante, enquanto que o ingrediente interno é o material ativo (ZUANON, 2012). A Figura 2 apresenta a diferença entre microcápsulas e microesferas.

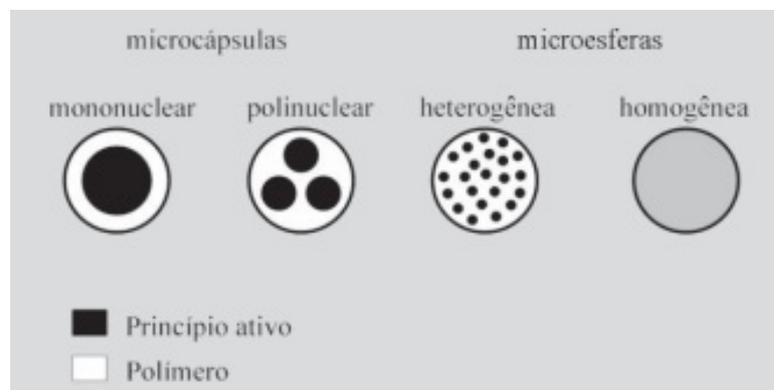


Figura 2. Modelo da estrutura dos diferentes tipos de micropartículas. Fonte: SILVA et al., 2003.

A técnica de microencapsulação por emulsificação/evaporação do solvente consiste em dispersar o material ativo na fase interna em que há o polímero, em seguida, a fase interna é emulsificada na fase externa, que contém um estabilizante da emulsão, para prevenir agregação e a coalescência. O solvente orgânico é então removido por evaporação sob agitação, favorecendo a formação de glóbulos poliméricos compactos nos quais o material ativo encontra-se encapsulado (SUAVE et al., 2006).

O agente encapsulante é selecionado em função das propriedades físicas e químicas do material ativo, da aplicação pretendida e do método utilizado para formar as micropartículas. De modo geral, deve apresentar baixa viscosidade em altas concentrações, ser de fácil manipulação durante o processo, não ser reativo com o material a ser encapsulado, liberar completamente o solvente durante o processo de encapsulação, proporcionar máxima proteção ao material ativo contra condições

adversas, não apresentar sabor desagradável, ser econômico e possuir propriedades desejadas da liberação do material ativo (SUAVE et al., 2006).

A policaprolactona (PCL, Figura 3) é um poliéster alifático e linear com caráter semicristalino e de baixo custo recomendado para utilização como agente encapsulante em sistemas de liberação prolongada devido a sua lenta degradação no organismo. Assim, comparado a outros, o PCL apresenta maior estabilidade e atividade terapêutica. Há décadas esse polímero vem sendo utilizado para sistemas de liberação controlada (FERREIRA, 2013).

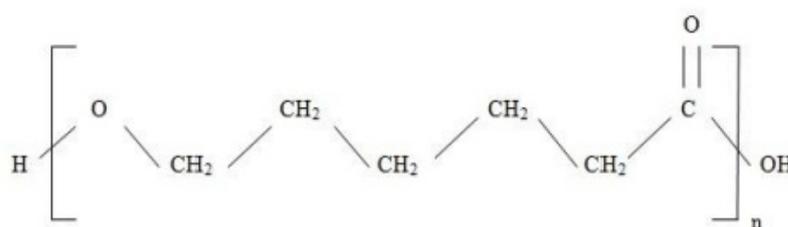


Figura 3. Cadeia principal da Policaprolactona. Fonte: TAVARES, 2011.

A gelatina é o produto obtido da dissociação térmica ou química das cadeias polipeptídicas do colágeno. O colágeno insolúvel é convertido em gelatina solúvel por tratamentos hidrolíticos. Sua principal propriedade é a formação de géis estáveis em temperaturas menores que 40°C. Suas propriedades dependem do método de produção (ácido ou básico), do tipo e número de aminoácidos e da massa molar. No geral, uma gelatina típica contém 84% de proteína, que consiste em sequências dos aminoácidos glicina, prolina e hidroxiprolina. A gelatina tem sido amplamente utilizada para a preparação de microesferas, principalmente em combinação com outros polímeros e como veículo para sistemas de liberação controlada (ZUANON, 2012; VEIGA, 2014). Durante o processo de microencapsulação, os coacervatos formados por gelatina e goma arábica geralmente têm menor resistência mecânica devido à natureza iônica da interação entre as camadas poliméricas e eles são geralmente reticulados e endurecidos pela adição de um agente reticulante. Para ultrapassar as limitações na utilização de agentes de reticulação tóxicos, como o glutaraldeído e o formaldeído, a transglutaminase tem sido proposta como reagente de ligação cruzada para proteína, uma vez que sua utilização não introduz problemas de toxicidade (PRATA et al., 2008).

3.3. Liberação Modificada da Curcumina

A liberação controlada de substâncias é uma técnica muito utilizada na área farmacêutica, que tem por base a diminuição de administrações medicamentosas aos pacientes, já que o medicamento em si está contido em um material altamente desenvolvido e, assim, as administrações medicamentosas acontecem controladamente em tempos pré-definidos. A vantagem desta técnica é a melhor resposta aos tratamentos. Nessa perspectiva, surge a oportunidade de utilizar sistemas de liberação controlada como princípio ativo uma substância com potencial farmacológico encontrado em alimentos, como a curcumina (NUNES, 2013). A liberação modificada depende de diferentes fatores, tais como: dessorção do material ativo da superfície das partículas, difusão do material ativo por meio da matriz das micropartículas, difusão por meio da parede polimérica das micropartículas, erosão da matriz polimérica e o tipo de polímero utilizado, pois é ele que determina o mecanismo da liberação do material ativo envolvido (JARDIM, 2013).

Manju e Sreenivasan (2011) produziram micropartículas ocas pela técnica de camada-sobre-camada (*layer by layer assembly*) para a liberação controlada de curcumina. As partículas apresentaram em torno de 2,5 micrômetros e concentração de curcumina de 4,5 µg/mg de partículas. Após 1 semana em meio aquoso, apenas 2,77% da curcumina encapsulada foi liberada, indicando que houve interação entre o encapsulante e a curcumina.

Chen, Bei e Wang (2000) produziram micropartículas de policaprolactona (PCL) pela técnica de emulsificação/evaporação do solvente. Os estabilizantes utilizados foram gelatina, poli(álcool vinílico) e um derivado hidrofílico da poliacrilamida. Os autores verificaram que o uso da gelatina levou à formação de partículas com distribuição mais estreita de tamanhos, o que pode ser interessante em aplicação de liberação modificada de algum composto encapsulado.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material

Policaprolactona (PCL) foi utilizada como agente encapsulante, diclorometano (Vetec, 99,5%) como solvente da fase orgânica, água destilada e gelatina (Dinâmica) como fase aquosa. Goma arábica (Vetec, 85%) e transglutaminase activa WM gentilmente doada pela Ajinomoto (80 unidades ativas por grama) foram utilizados no recobrimento das micropartículas. Solução de ácido clorídrico (0,1 M) e hidróxido de sódio (0,05 M) foram utilizados para a correção de pH. Curcumina (99%) foi adquirida da Sigma-Aldrich. Metanol (Isofar, 99,8%) e diclorometano (Vetec, 99,5%) foram utilizados como solvente na determinação da eficiência de encapsulação da curcumina e etanol (Impex, 99%) foi utilizado como solvente para o teste de liberação modificada da curcumina.

4.2. Elaboração das micropartículas contendo curcumina

As micropartículas contendo curcumina foram elaboradas através da técnica de emulsificação/evaporação do solvente conforme descrito por Chen, Bei e Wang (2000), com algumas modificações. Inicialmente, PCL foi dissolvido em diclorometano sob agitação magnética. Após 10 minutos, adicionou-se a curcumina à solução sob agitação magnética. Para a obtenção da fase aquosa, água destilada foi aquecida até 70°C e, em seguida, gelatina foi adicionada e dissolvida sob agitação magnética. Após completa dissolução, resfriou-se a fase aquosa até temperatura ambiente. Transferiu-se a fase aquosa para béquer de 600 mL e posicionou-o devidamente no agitador mecânico (Fisatom 713) a 500 rpm. Por fim, transferiu-se a fase orgânica para o béquer contendo a fase aquosa, a mistura permaneceu em agitação mecânica por 2 horas e, em seguida, em agitação magnética por 12 horas para evaporação do

solvente. A Tabela 1 apresenta a formulação utilizada para a confecção das micropartículas contendo curcumina.

Tabela 1. Formulação das micropartículas de curcumina.

Reagentes	Massa (g)
PCL	1,5000
Diclorometano	20,0000
Água destilada	200,0000
Gelatina	0,7500
Curcumina	0,0150

4.3. Recobrimento das micropartículas

Para o recobrimento das micropartículas, utilizou-se o princípio da técnica de coacervação complexa. Segundo Kissel et al. (2006), a coacervação complexa consiste na adição de um polímero de carga oposta à solução polimérica, levando a formação de uma fase de coacervato através de interação anion-cátion. A coacervação de gelatina e goma arábica é um exemplo do processo de coacervação complexa.

Para isso, adicionou-se goma arábica em um béquer contendo água destilada previamente aquecida a 70°C. Tal mistura foi submetida à agitação magnética até completa dissolução da goma arábica. O pH da dispersão de micropartículas e da solução de goma arábica foram corrigidos para 7,0 pela adição de solução de hidróxido de sódio 0,1 mol/L. Em um reator encamisado com banho termostático (QUIMIS MOD-O214M2) a 10°C e agitação magnética, a dispersão de micropartículas e a solução de goma arábica foram misturadas e permaneceram em agitação por 20 minutos. Corrigiu-se o pH da mistura para 4,0 através de solução de ácido clorídrico. Em seguida, elevou-se a temperatura do banho termostático para 25°C e adicionou-se a transglutaminase. Por fim, a mistura obtida foi transferida do reator encamisado para um béquer de 250 mL e submetida à agitação magnética por 12 horas. A Tabela

2 apresenta a formulação utilizada para o recobrimento das micropartículas de curcumina.

Tabela 2. Formulação do recobrimento das micropartículas de curcumina.

Reagentes	Massa (g)
Goma arábica	0,7500
Água destilada	30,0000
Transglutaminase	0,0140

Do mesmo modo, realizou-se outra amostra contendo três vezes mais transglutaminase que a formulação exposta acima, a fim de avaliar a influência da concentração de transglutaminase no sistema. Assim, obteve-se duas amostras com concentrações de transglutaminase distintas: 1,96% e 5,9% (em relação a massa de gelatina).

4.4. Caracterização das micropartículas

O tamanho e morfologia das micropartículas foram analisadas em microscópio óptico (BIOVAL, L2000A), com câmera acoplada ao computador (DCM130E), pelos aumentos de 40, 100 e 400 vezes, utilizando o *software* ScopePhoto. Com auxílio de Pipeta de Pasteur, as micropartículas foram depositadas em lamina de vidro e cobertas através da lamínula.

Para a determinação da concentração real de curcumina nas micropartículas, uma amostra homogênea de aproximadamente 0,5 g da solução de micropartículas foi liofilizada (Liotop, L101) e armazenada sob refrigeração, sendo então dissolvida em 1mL de diclorometano e adicionado 1 mL de metanol. A solução foi filtrada (Millipore, 0,45 μm). A concentração total de curcumina (encapsulada e não encapsulada, $[\text{cur}]_{\text{total}}$) foi determinada por espectrofotometria UV-Vis (OCEAN OPTICS, UV-RED TIB USB 650 UV) em 465 nm de acordo com Silva-Buzanello et al. (2015). As análises foram realizadas em duplicata. Para a determinação da eficiência de encapsulação da curcumina, as micropartículas foram lavadas com etanol absoluto

em filtro quantitativo (porosidade de 3 μm) e secas em estufa de circulação forçada (CIENLAB) a 60°C até massa constante. Dissolveu-se aproximadamente 10 mg do material seco em 1 mL de diclorometano e adicionado 1 mL de metanol. A concentração de curcumina encapsulada ($[\text{cur}]_{\text{encapsulada}}$) foi determinada como descrito acima. Esta análise foi realizada em duplicata e a eficiência de encapsulação (EE(%)) foi calculada pela Equação 1.

$$EE (\%) = \frac{[\text{cur}]_{\text{encapsulada}}}{[\text{cur}]_{\text{total}}} \cdot 100 \quad (1)$$

Para a caracterização das ligações químicas formadas após a reticulação da gelatina foram realizados ensaios de Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR). Para isto, com auxílio de um pistilo e um almofariz, 10 mg de amostra foram trituradas juntamente com 0,2 g de brometo de potássio (KBr) para formação da pastilha, possibilitando a análise. As pastilhas de KBr foram produzidas em um pastilhador submetido a 7 kgf/cm^2 em prensa hidráulica (Bovenau, P15 ST). A leitura do espectro foi realizada em espectrofotômetro de infravermelho com transformada de Fourier (IR AFFINITY-1, Shimadzu) na faixa de 4000-400 cm^{-1} utilizando 32 acumulações e resolução de 4 cm^{-1} .

4.5. Preparo da curva de calibração

Inicialmente, preparou-se a solução mãe, que consistiu de uma solução aquosa de etanol 60%_{vol} contendo 4 mg de curcumina em balão volumétrico de 500 mL. Posteriormente, foram adicionados 20 mL, 15 mL, 10 mL, 5 mL, 2 mL e 1 mL em balões volumétricos de 25 mL utilizando pipetas volumétricas. As soluções foram analisadas em espectrofotômetro UV-Vis a 465 nm. O cálculo da concentração de curcumina em cada diluição ($[\text{cur}]$) foi realizado a partir da Equação 2, onde m_{cur} é a massa de curcumina adicionada ao meio de liberação e $V_{\text{sol.mãe}}$ é o volume de solução mãe adicionada ao balão volumétrico de 25 mL.

As concentrações resultantes das soluções foram de 0,009 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$; 0,0072 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$; 0,0054 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$; 0,0036 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$; 0,0018 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ e 0,00036 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$.

$$[cur] = \frac{m_{cur}}{500} \cdot \frac{V_{sol.m\tilde{a}e}}{25} \quad (2)$$

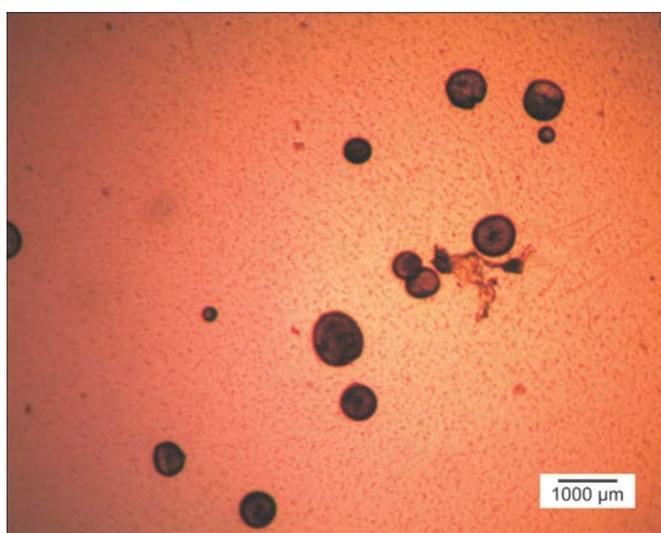
4.6. Avaliação da liberação modificada da curcumina

Avaliou-se a liberação modificada de curcumina da seguinte forma: transferiu-se cerca de 16 g da dispersão de micropartículas para Erlenmeyer de 250 mL, que foi acondicionado em banho térmico com agitador orbital (DIST-Mod-DI-950M) a 37°C. Em seguida, adicionou-se ao Erlenmeyer o meio de liberação (solução de etanol 60%), dando início à liberação. Em tempos predeterminados, foram retiradas alíquotas de 2 mL da amostra. Cada retirada de amostra foi seguida pela reposição da mesma quantidade do meio de liberação, a fim de manter o volume total constante. As alíquotas de amostra foram imediatamente filtradas (Millipore, 0,45µm) e analisadas por espectrofotometria UV-Vis.

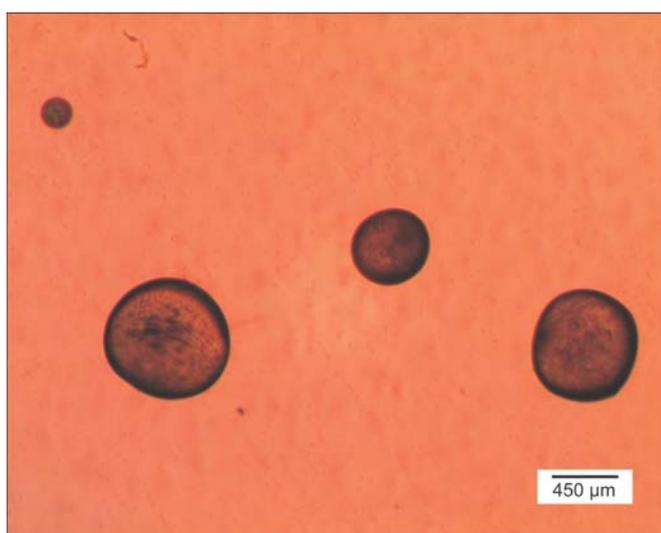
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Obtenção das micropartículas e recobrimento

As Figuras 4 e 5 apresentam as imagens das micropartículas de PCL contendo curcumina antes e depois do recobrimento com gelatina reticulada por transglutaminase.

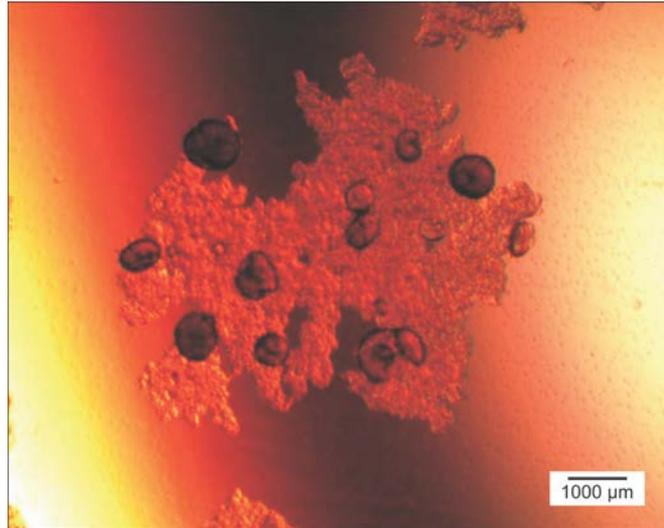


(a) Ampliação: 40x.

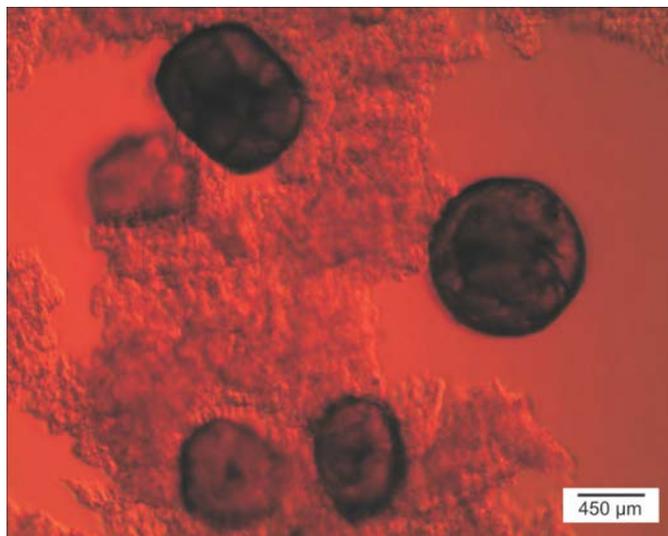


(b) Ampliação: 100x.

Figura 4. Imagens de microscópio óptico das micropartículas de PCL contendo curcumina em diferentes magnificações: (a) 40x e (b) 100x.



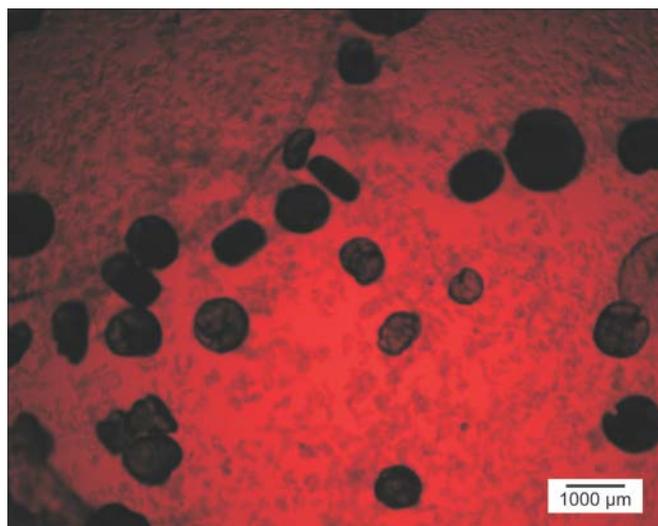
(a) Ampliação: 40x.



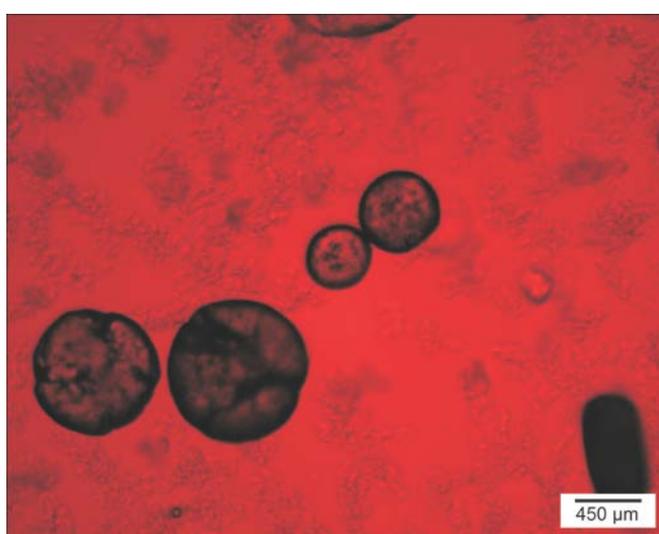
(b) Ampliação: 100x.

Figura 5. Imagens de microscópio óptico das micropartículas de PCL contendo curcumina após o recobrimento com gelatina reticulada por transglutaminase (1,96%) em diferentes magnificações:

(a) 40x e (b) 100x.



(a) Ampliação: 40x.



(b) Ampliação: 100x.

Figura 6. Imagens de microscópio óptico das micropartículas de PCL contendo curcumina após o recobrimento com gelatina reticulada por transglutaminase (5,9%) em diferentes magnificações: (a) 40x e (b) 100x.

As micropartículas de PCL apresentaram morfologia esférica, o que é esperado para a técnica de emulsificação/evaporação do solvente. Na Figura 4, apesar de a gelatina estar presente, esta não pode ser visualizada, pois a sua precipitação por coacervação ocorre em um estágio posterior, após a adição da goma arábica e mudança do pH.

Após a reticulação utilizando 1,96% de transglutaminase (TGase, Figura 5), é possível observar que a houve a inclusão das micropartículas de PCL em seu interior. O mesmo não ocorreu com 5,9% de transglutaminase (Figura 6), onde houve a

formação de partículas de gelatina dispersas na fase aquosa, não havendo incorporação das micropartículas de PCL. Isso pode ter ocorrido devido à maior velocidade da reação com o aumento da concentração de TGase, desfavorecendo a formação da camada de gelatina sobre as micropartículas de PCL.

5.2. Caracterização das Micropartículas

A partir do cálculo da concentração real de curcumina presente na dispersão de micropartículas, foi possível determinar, com auxílio da Equação 1, a eficiência de encapsulação, ou seja, a porcentagem de curcumina que foi incorporada nas micropartículas. As micropartículas confeccionadas neste estudo apresentaram média de (81 ± 13) % de eficiência de encapsulação.

Silva-Buzanello et al. (2015) produziram nanopartículas de poli (L-ácido láctico) variando a concentração de curcumina a ser encapsulada através da técnica de miniemulsificação/evaporação de solvente. Foram obtidas 3 formulações contendo 173 ppm, 499 ppm e 1028 ppm de curcumina, respectivamente, que apresentaram eficiência de encapsulação de 98,3%, 98,4% e 67,0%. Dandekar et al. (2010) produziram nanopartículas de curcumina encapsulada em hidrogel hidroxilpropilmetilcelulose e poli(vinil pirrolidona), também pela técnica de miniemulsificação/evaporação de solvente. Os valores obtidos para a eficiência de encapsulação foram de 72%, indicando que houve uma baixa afinidade entre a curcumina e os agentes encapsulantes utilizados. Yallapu et al. (2010) utilizaram a técnica de nanoprecipitação para encapsular curcumina em poli (ácido láctico-co-glicólico), usando poli (álcool vinílico) e poli (L-lisina) como estabilizantes. Os autores obtiveram eficiência de encapsulação de $49,6 \pm 4,5\%$ e $89,5 \pm 3,2\%$ nesse estudo. É possível perceber que a eficiência de encapsulação é função da técnica de obtenção e do encapsulante utilizado, o que explica a diferença entre os valores encontrados nesse trabalho e os disponíveis em literatura.

A Figura 7 apresenta os espectros de FTIR para as micropartículas de PCL sem e com recobrimento de gelatina (1,96% TGase).

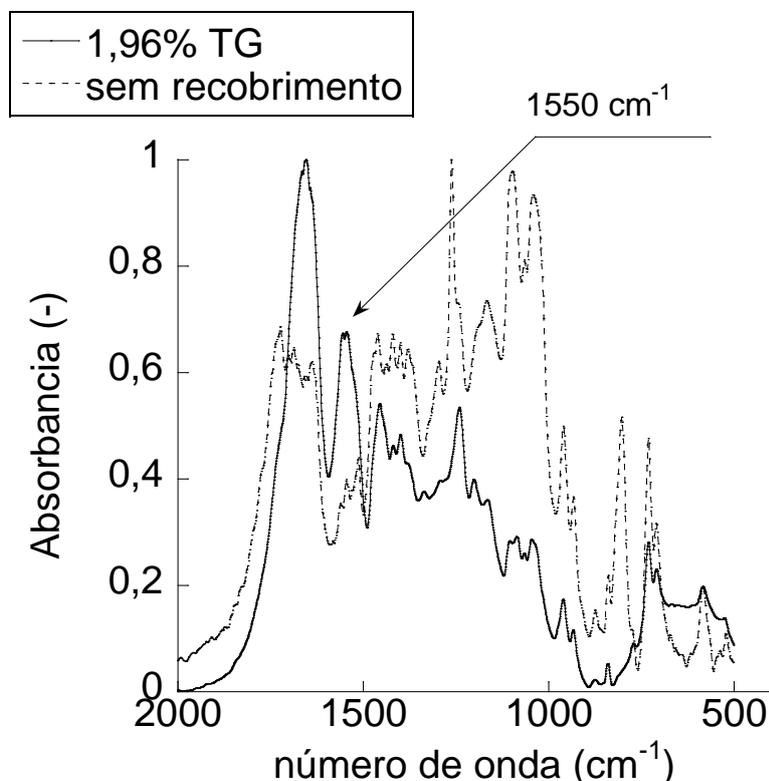


Figura 7. Espectro de FTIR das micropartículas de PCL contendo curcumina antes e após o recobrimento com gelatina reticulada por transglutaminase (1,96% em relação à massa de gelatina).

A banda de absorção localizada em 1550 cm^{-1} , referente ao grupamento amida monosubstituída, pode ser encontrada nas partículas antes e depois da reticulação, já que faz parte da estrutura da gelatina. Após a reticulação, esta banda aumentou de intensidade devido à formação das ligações de reticulação promovidas pela transglutaminase. Dessa forma é possível confirmar que a transglutaminase promoveu a reticulação da gelatina. O mecanismo de ação da enzima transglutaminase na reticulação da gelatina ocorre de acordo com a descrição de Macedo e Sato (2005) apresentada na Equação 3.

Resíduo de glutamina (amida primária) + Resíduo de lisina (amina primária) →



A gelatina apresenta tanto resíduos de grupamento glutamina e quanto de lisina (FUCHSBAUER et. al., 1996; CARVALHO e GROSSO, 2006; CORTESI et. al., 1999). Dessa forma o produto da reação de reticulação é a formação de um grupamento amida monosubstituída bem como amônia. A transglutaminase é uma enzima capaz de catalisar reações de acil-transferência, introduzindo ligações cruzadas covalentes entre proteínas, peptídeos e aminas primárias (ZHU et al., 1995).

5.3. Avaliação da liberação modificada da curcumina

A Figura 8 apresenta a curva de calibração obtida (média de duplicatas) para a curcumina em solução aquosa de etanol 60%_{vol}. Na Figura 9, os perfis de liberação da curcumina ao longo do tempo para as micropartículas de PCL sem recobrimento e as micropartículas de PCL recobertas com gelatina reticulada com 1,96 e 5,9% (em relação à massa de gelatina). O período inicial da liberação é destacado na Figura 10, apresentando as retas de ajustes lineares para cada experimento. As taxas iniciais de liberação da curcumina são apresentadas na Tabela 3.

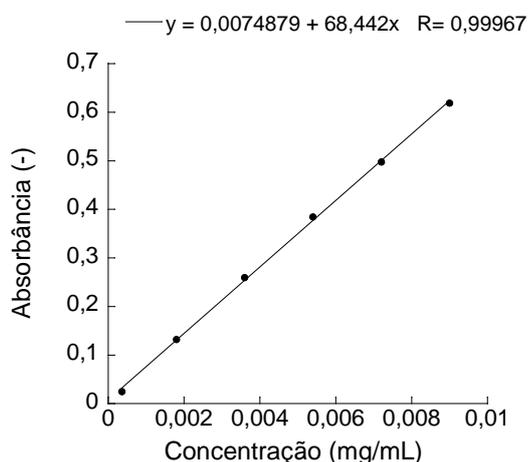


Figura 8. Curva de calibração da curcumina em solução aquosa de etanol 60%_{vol}.

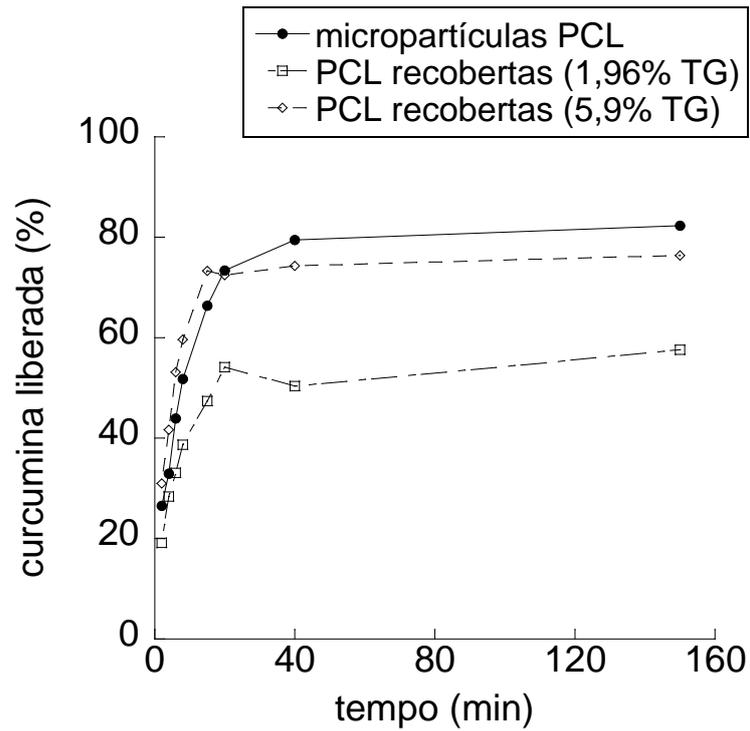


Figura 9. Perfis de liberação da curcumina em micropartículas de PCL antes e depois do recobrimento (concentração de transglutaminase em relação à massa de gelatina).

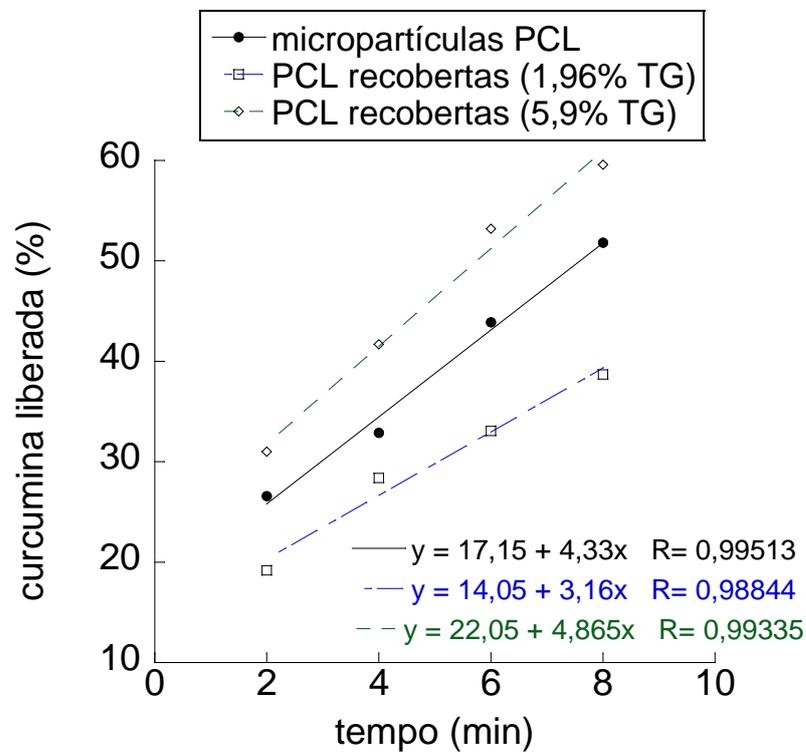


Figura 10. Liberação inicial da curcumina em micropartículas de PCL antes e depois do recobrimento (concentração de transglutaminase em relação à massa de gelatina).

Tabela 3. Taxas de liberação da curcumina calculadas até o tempo de 8 minutos de liberação.

Experimento	Taxa de liberação (mg/mL.min)
Micropartículas de PCL (sem recobrimento)	4,3
Micropartículas recobertas (5,9% TG)*	4,9
Micropartículas recobertas (1,96% TG)*	3,2

*Concentração de transglutaminase em relação à massa de gelatina.

Para todos os casos, a liberação da curcumina ocorreu até aproximadamente 40 minutos, a partir do qual os percentuais liberados permaneceram constantes. Para as partículas sem recobrimento foi liberada cerca de 80% da curcumina total. No caso das partículas recobertas contendo 1,96% de transglutaminase (TG), o percentual máximo liberado foi em torno de 55% da curcumina total. No caso do uso de 5,9% de TG, não ocorreu diminuição da quantidade do máximo liberado. Esse resultado está de acordo com as imagens apresentadas pela Figura 6, onde é possível observar que, quando a maior concentração de TGase foi utilizada não ocorreu o recobrimento das partículas.

Parize (2009) analisou a liberação controlada de curcumina em micropartículas de quitosana contendo reticulante iônico tripolifostato de sódio (TPF) em solução tampão pH 1,2 e 6,8 a 25°C. Foi observado que a liberação de curcumina ocorreu mais lentamente na solução tampão pH 6,8. Além disso, o uso de TPF como reticulante melhorou o perfil de liberação da curcumina a partir de micropartículas de quitosana, onde quanto maior a concentração de TPF, menor a velocidade de liberação do corante. Alvim e Grosso (2010) produziram micropartículas por coacervação complexa reticuladas por glutaraldeído e transglutaminase, avaliando a liberação do recheio (oleoresina de páprica) em solução de álcool anidro. Nos primeiros 30 minutos de ensaio foi observado que 100% da oleoresina de páprica foi liberada das micropartículas sem reticulação; aproximadamente 80% foi liberada das micropartículas reticuladas por transglutaminase e aproximadamente 50% foi liberado das micropartículas reticuladas por glutaraldeído. Neste caso, a reticulação por glutaraldeído foi mais eficiente para a retenção do recheio das micropartículas. A fim de avaliar a influência de ciclodextrinas na liberação controlada de insulina, Fernandes et al. (2007) compararam microesferas de poli (L-ácido láctico-co-ácido glicólico) (PLGA) contendo insulina, insulina complexada com 2,6-dimetil- β -ciclodextrina

(complexo INS:DM- β -CD) e insulina complexada com 6,5-hidroxipropil- β -ciclodextrina (complexo INS:HP- β -CD). Nos primeiros 30 minutos de ensaio em solução tampão fosfato pH 7,4 a 37°C, 80% de insulina foi liberada das micropartículas de PLGA, \pm 70% de insulina foi liberada das micropartículas de PLGA contendo o complexo INS:DM- β -CD e \pm 53% liberado a partir das micropartículas de PLGA contendo o complexo INS:HP- β -CD. Deste modo, os autores concluem que as ciclodextrinas podem funcionar como uma ferramenta adicional para modular a taxa de liberação de insulina em microesferas.

6. CONCLUSÕES

A microencapsulação de curcumina em policaprolactona (PCL) através da técnica de emulsificação/evaporação do solvente resultou em partículas de formato esférico e a eficiência de encapsulação apresentou média de $(81\pm 13)\%$. As imagens obtidas por microscopia óptica e os espectros de infravermelho permitiram constatar que houve a reticulação das micropartículas por gelatina.

Os perfis de liberação modificada da curcumina em micropartículas de PCL permitiram constatar que a reticulação influenciou na taxa de liberação do material de recheio das micropartículas. Entretanto, altas concentrações de transglutaminase (5,9%) não favoreceram o recobrimento das micropartículas e, conseqüentemente, não houve mudança no perfil de liberação quando comparado ao das partículas não recobertas.

Os resultados permitiram concluir que a técnica de emulsificação/evaporação do solvente seguida do recobrimento por reticulação enzimática é uma boa alternativa para encapsular a curcumina e modificar seu perfil de liberação, informações importantes para a aplicação tecnológica do corante curcumina na indústria de alimentos.

7. REFERÊNCIAS

ALVIM, I. D.; GROSSO, C. R. F. Microparticles obtained by complex coacervation: influence of the type of reticulation and the drying process on the release of the core material. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 30, n. 4, p. 1069-1076, Out/Dez, 2010.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos: teoria e prática**. 4. ed. Viçosa: UFV-Universidade Federal de Viçosa, 2008. 596 p.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Portaria nº 540, de 27 de outubro de 1997**, que Aprova o Regulamento Técnico sobre aditivos alimentares – definições, classificações e emprego. Diário Oficial da União, 28 out. 1997. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/d1b6da0047457b4d880fdc3fbc4c6735/PORTARIA_540_1997.pdf?MOD=AJPERES> Acesso em: 25 nov. 2014.

CARVALHO, R. A. de; GROSSO, C. R. F. **Efeito do tratamento térmico e enzimático nas propriedades de filmes de gelatina**. Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 26, 2006.

CHEN, D.R.; BEI, J.Z.; WANG S.G. Polycaprolactone microparticles and their biodegradation. **Polymer Degradation and Stability**, v. 67, p. 455-459, 2000.

CORTESI, R. et al. Dextran cross-linked gelatin microspheres as a drug delivery system. **European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics**, v. 47, n. 2, p. 153-160, 1999.

DANDEKAR, P. P. et al. Curcumin – loaded hydrogel nanoparticles: Application in anti – malarial therapy and toxicological evaluation. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 99, p. 4992 – 5010. 2010.

FERNANDES, V. C. et al. Caracterização físico-química de complexos de insulina:dimetil- β -ciclodextrina e insulina:hidroxipropil- β -ciclodextrina e avaliação da influência do tipo de complexo na produção de microesferas biodegradáveis. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, n. 4, p. 543 – 553, Dez. 2007.

FERREIRA, C. T. G. **Nanopartículas poliméricas para inclusão de compostos de origem natural**. 2013. 41 f. Monografia (Graduação em Farmácia) – Instituto Federal do Rio de Janeiro, Realengo (RJ), 2013.

FRINHANI, E. M. D. **Estudos de aplicação de corantes naturais (norbixina, curcumina e clorofilina cúprica) para a produção de papéis**. 2003. 181 f. Tese (Doutorado em Ciência Florestal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa (MG), 2003.

FUCHSBAUER, H. L. et al. Influence of gelatin matrices cross-linked with transglutaminase on the properties of an enclosed bioactive material using P-galactosidase as model system. **Biomaterials**, p. 1481-1488, 1996.

GAVA, A. J.; SILVA, C. A. B.; FRIAS, J. R. G. **Tecnologia de alimentos: princípios e aplicações**. São Paulo: Nobel, 2008.

HUGHES, C. C. **Guía de aditivos**. Zaragoza: Acribia, 1994. 190 p.

JARDIM, K. V. **Desenvolvimento de nanopartículas de quitosana/sulfato de condroitina para nanoencapsulação da curcumina visando sua liberação controlada e avaliação de sua atividade antitumoral**. 2013. 115 f. Dissertação (Mestre em Ciências de Materiais) – Universidade de Brasília, Brasília (DF), 2013.

KISSEL, T. et al. Microencapsulation techniques for parenteral depot systems and their application in the pharmaceutical industry. **Drugs and the Pharmaceutical Sciences Journal**, n. 2, v. 158, p. 99-118. 2006.

LOPES, T. J. et al. Antocianinas: uma breve revisão das características estruturais e da estabilidade. **R. Bras. Agrociência**, Pelotas, n. 3, v. 13, p. 291-297, Set. 2007.

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

MANJU, S.; SREENIVASAN, K. Hollow microcapsules built by layer by layer assembly for the encapsulation and sustained release of curcumin. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 82, p. 588–593, 2011.

MARTINS, R. M. et al. Curcuminoid content and antioxidant activity in spray dried microparticles containing turmeric extract. **Food Research International**, v. 50, p. 657-663, 2013.

MASSIMINO, L. C.; YOSHIOKA, S. A. **Nanopartículas do antitumoral curcumina: obtenção e caracterização**. XXIV Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica – CBEB, Uberlândia (MG), 2014.

NUNES, A. R. **Liberção controlada de curcumina ancorada em sílica hexagonal mesoporosa**. 2013. 99 f. Dissertação (Mestrado em Química). Instituto de Química. Universidade de Brasília, Brasília (DF), 2013.

PARIZE, A. L. **Desenvolvimento de sistemas microparticulados e de filmes a base de quitosanae corante natural cúrcuma**. 2009. 187 f. Tese (Doutorado em Química). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis (SC), 2009.

POLÔNIO, M. L. T.; PERES, F. Consumo de aditivos alimentares e efeitos à saúde: desafios para a saúde pública brasileira. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, n. 8, v. 25, p. 1653-1666, Ago. 2009.

PRADO, M. A.; GODOY, H. T. Corantes artificiais em alimentos. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v. 14, n. 2, p. 237-250. 2003.

PRATA, A. S. et al. Release properties of chemical and enzymatic crosslinked gelatin-gum Arabic microparticles containing a fluorescent probe plus vetiver essential oil. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 67, n. 2, p. 171-178, 2008.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química de alimentos**. 2. ed. São Paulo: Instituto Mauá de Tecnologia, Blucher, 2007.

SILVA-BUZANELLO, R. A. **Nanoencapsulação de curcumina em polímeros biodegradáveis/biocompatíveis**. 2013. 110 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos). Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão/Medianeira, 2013.

SILVA – BUZANELLO, R. A. et al. Validation of na Ultraviolet – visible (UV – Vis) technique for the quantitative determination of curcumin in poly (L – lactic acid) nanoparticles. **Food Chemistry**, v. 172, p. 99 – 104. 2015.

SILVA, C. et al. Administração oral de peptídeos e proteínas: II. Aplicação de métodos de microencapsulação. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 39, n. 1, p. 1-20, Jan/Mar. 2003.

SUAVE, J. et al. Microencapsulação: Inovação em diferentes áreas. **Health and Environment Journal**, n. 2, v. 7, p. 12-20, Dez. 2006.

TAVARES, V. A. C. D. B. **Matrizes de Policaprolactona e Quitosano para aplicação em Engenharia de Tecidos**. 2011. 59 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica). Universidade Nova de Lisboa – Faculdade de Ciências e Tecnologia, Lisboa, 2011.

VEIGA, C. C. **Encapsulamento de óleo de café em microcápsulas de gelatina/goma arábica reticuladas por transglutaminase**. 2014. 44 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Tecnologia de Alimentos). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão (PR), 2014.

VIDOTTI, E. C.; ROLLEMBERG, M. C. E. Espectrofotometria derivativa: uma estratégia simples para a determinação simultânea de corantes em alimentos. **Quim. Nova**, n. 2, v. 29, p. 230-233, Jan. 2006.

VOLP, A. C. P.; RENHE, I. R. T.; STRINGUETA, P. C. Pigmentos naturais bioativos. **Alim. Nutr**, Araraquara, n. 1, v. 20, p. 157-166, Jan/Mar. 2009.

ZUANON, L. A. C. **Microencapsulação de oleoresina de cúrcuma (Curcuma longa L.) em matrizes de gelatina, goma arábica e colágeno hidrolisado**. 2012. 100 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, São José do Rio Preto, 2012.

ZUH, Y. et al. Microbial transglutaminase – a review of its production and application in food processing. **Appl Microbiol. Biotechnol.**, v. 44, p. 277-282, Mar. 1995.

YALLAPU, M. M. et al. Fabrication of curcumin encapsulated PLGA nanoparticles for improved therapeutic effects in metastatic cancer cells. **Journal of Colloid Interface Science**, v. 351, p. 19 – 29. 2010.